

# 血液がん治療用 RNA 薬創出への挑戦

育成研究：JST イノベーションサテライト新潟 平成 20 年度採択課題  
「がん治療用 sgRNA 薬スクリーニングシステムの開発」

代表研究者：新潟薬科大学 応用生命科学部 教授 梨本正之



## ■ 研究概要

tRNase ZL と small guide RNA (sgRNA)を用いた新たな遺伝子発現制御法である TRUE (tRNase ZL-utilizing efficacious) gene silencing 法を基盤とした、がん治療用 sgRNA 薬スクリーニングシステムを開発する。

## ■ 研究内容、研究成果

本研究の最終目的は、tRNase ZL と sgRNA を用いた新たな遺伝子発現制御法である TRUE gene silencing 法（図 1）を基盤とした、がん治療用 sgRNA 薬スクリーニングシステムを開発することである。このスクリーニングシステムの具体的な製品像は、heptamer 型 sgRNA の全 16,384 種類がウエルに固定化された細胞培養プレートと試薬・細胞の分注システム、および生細胞と死細胞を判別するアッセイ用装置からなるスクリーニングシステムである（図 2 にスクリーニングの流れを示す）。

TRUE gene silencing 法は、基本特許がすでに成立しており、理論上あらゆる標的 RNA に対して有効であること、さらに標準的手法である RNAi 法に匹敵するだけでなく細胞内導入・費用等の点で勝ることが示されている。特に、sgRNA として 7 塩基（heptamer）タイプを用いると、合成費用は siRNA（21 塩基の RNA が 2 本必要）の 10 分の 1 程になることに加え、リボソームなどの細胞内導入試薬なしで裸のまま細胞内に効率よく導入することができる。

我々は、平成 21 年度から平成 22 年度までの間に、heptamer 型 sgRNA 全 16,384 種類の 1% に相当する 170 種類からなる heptamer ライブラリーのスクリーニングをヒト骨髄腫細胞および白血病細胞を用いて行い、その約 25%（45 種類）が 80%以上の細胞増殖抑制効果を示した（図 3 に一例を示す）。また、約 18%が標的 mRNA 量を 50%以上減少させることも示した。さらに、ヒト白血病細胞を移植したマウスゼノグラフト実験において、腫瘍増殖抑制効果を示す heptamer を 10 種類見出すことができた（図 4）。これらの成果から、平成 22 年度までに、「がん治療用 sgRNA 薬スクリーニングシステム」の基盤技術の開発は成功したと考える。

平成 23 年度は、本スクリーニングシステムの製品化や創薬開発のための sgRNA スクリーニング受託ビジネスを目指して、本システムの有用性を証明するデータの蓄積を行うことを新たな目標とした。その成果の 1 つとして、heptamer 型 sgRNA ががん細胞に apoptosis を誘導する機構を概ね解明することができた。

## ■ 今後の展開、将来の展望

研究期間終了後 2 年以内に、sgRNA 完全ライブラリー細胞培養プレートを売り出す方向で検討している。RNA は自動機械により合成が可能であり、16,384 種類の heptamer を含む完全ライブラリーの作成は容易である。最初の製品の RNA 合成および固定は、メーカーに依頼する予定である。また、2 年以内にスクリーニング機械を販売できるように検討しており、3 年以内には「がん治療用 sgRNA 薬スクリーニングシステム」の研究開発および販売を行うベンチャーを立ち上げたいと考えている。このベンチャーでは、大学、病院、企業の研究室からの sgRNA スクリーニングの受託業務も行う予定である。さらに、本研究期間中に発見された有望がん治療薬候補の heptamer 型 sgRNA に関して、製薬企業と共同で創薬に向けた開発を進めることを検討していきたい（図 2）。

本製品の販売を促進するための今後の課題として、このシステムを使って、実際に臨床試験にかけられるレベルの血液がん治療薬候補を発見することができることを示す必要がある。

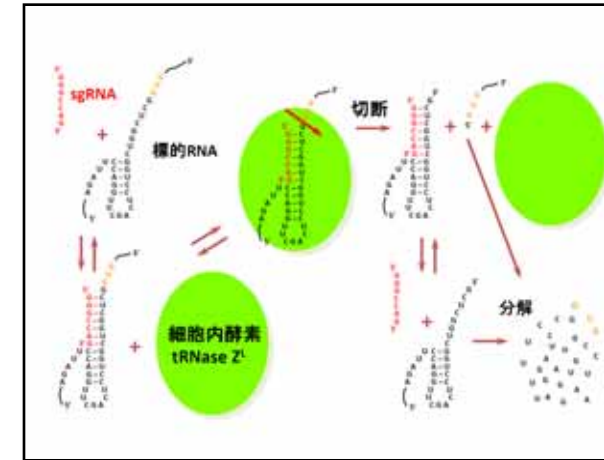


図 1. TRUE gene silencing の機構

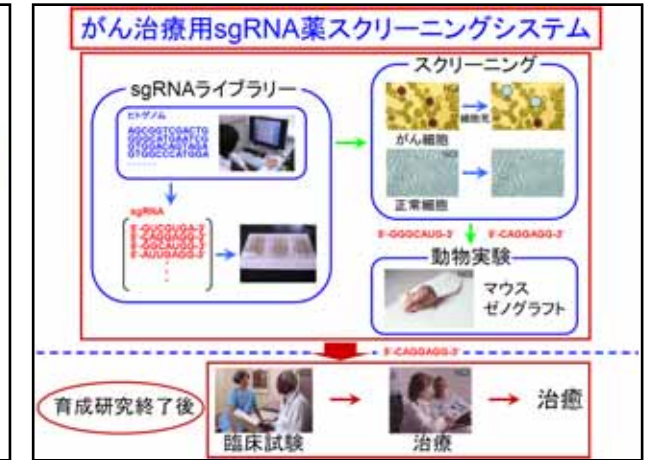


図 2. 研究開発の流れ

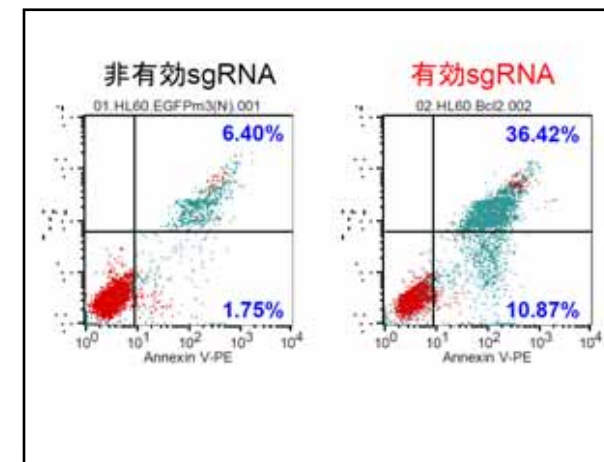


図 3. 有効 heptamer 型 sgRNA の例

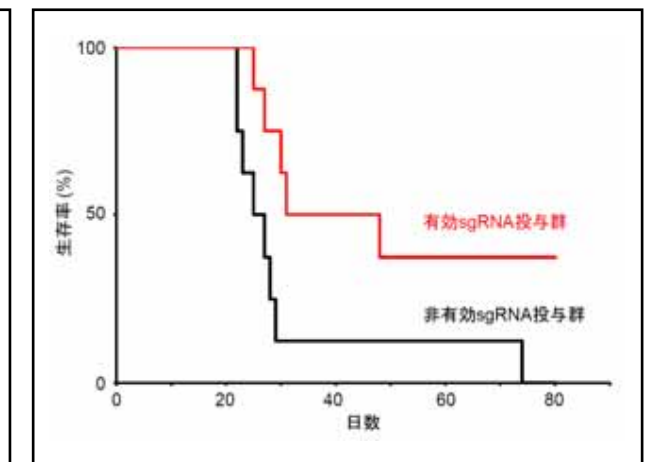


図 4. マウス実験における腫瘍増殖抑制効果

## ■ 研究体制

- ◆ 代表研究者  
新潟薬科大学 応用生命科学部 教授 梨本 正之
- ◆ 研究者  
阿部 真由美、宮本 愛子、リアド・エルバリバリ、竹田 美春（新潟薬科大学）  
高橋 由明、高橋 益廣、成田 美和子、渡部 紀宏（新潟大学）  
田村 正人、川野 光興（北海道大学）  
吉田 哲郎、宮澤 達也、山田 陽史、中野 春男（協和発酵キリン）  
竹内 佑一（新潟科学）
- ◆ 共同研究機関  
新潟大学、北海道大学、協和発酵キリン株式会社、株式会社新潟科学

## ■ 研究期間

平成 21 年 4 月 ~ 平成 24 年 3 月