第17回 日本臨床薬理学会 1996年11月1日 東京・京王プラザホテル
ワークショップ1：抗炎症薬開発の動向

4. 抗炎症薬としてのアンチセンス療法

川 合 眞 一*

炎症反応には種々のサイトカインや酵素などの生体内微量蛋白が関与しているが、近年、分子生物学の飛躍的な進歩により、さまざまな病態におけるそれらの役割の詳細が明らかにされてきた。例えばサイトカインは、免疫機構や炎症反応などの種々の生体機能を調節する上で、重要な役割を演じている。また、シクロオキシゲナーゼ(COX)やホスホリパーゼA2などのアラキドン酸代謝を触媒する酵素も炎症のケミカルメディエータを産生する。

サイトカインのターゲティングは、ある薬物により特異的にサイトカイン産生を抑制する方法か、あるいは過剰産生されたサイトカインをその拮抗物質や特異抗体により作用させない方法が一般的であった¹⁾。また、炎症部位では様々な酵素が働いているが、中でもCOXについては、近年その亜型であるCOX-1および-2が発見され、非ステロイド抗炎症薬の作用機序の新たな展開が議論されている²⁾。

こうした炎症関連物質の遺伝子配列も次々と明らかにされて来た。そのため、こうした物質の過剰産生を核酸レベルで特異的に抑制しようというアンチセンス法が研究されている。そこで、我々は炎症性サイトカインの代表としてインターロイキン(IL)-1 β 、炎症関連の酵素としてCOX-2をターゲットとしたアンチセンス法に関する我々の成績を紹介し、将来の可能性についても述べてみたい。

方法・結果

① IL-1 β

活性化ヒトマクロファージ様細胞株、U937のIL-1 β 産生を指標として、ヒトIL-1 β 遺伝子の開始コドン領域に相補的な20量体のチオール型アンチセンスDNAの効果を検討した。その結果、濃度依存的に24時間のIL-1 β 産生を有意に抑制した(図)1)。一方、図にはないが天然型DNAでは100 μ Mでも全く効果がなかった。

このように修飾核酸を用いたアンチセンス法では一定の効果は得られたものの、IC₅₀は10 μ M以上であり、十分な効果を得るにはかなりの濃度が必要であった。また、対照のセンスおよび2種類のスクランブル配列のチオール型DNAでも、高濃度になるとU937のIL-1 β 産生を抑制した。

共焦点レーザー顕微鏡によりチオール型アンチセンスDNAの細胞内分布を調べたところ、主として細胞質内に分布していた。

② COX-2

関節形成術時に得られた慢性関節リウマチ患者の滑膜組織を、コラゲナーゼ処理後にプラスチックプレート付着性細胞を滑膜細胞と呼び、以下の実験に用いた。ヒトCOX-2の開始コドン領域に相補的な20量体のチオール型アンチセンスDNAを合成し、滑膜細胞の培養系に添加したところ、培養上清のプロスタグランジンE₂濃度を用量依存性に低下させた。

* 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター
〒216 川崎市宮前区菅生 2-16-1

図. チオール型IL-1 β アンチセンスDNAによる、U937細胞のIL-1 β 産生阻害作用¹⁾。●=アンチセンス、○=センス、△=スクランブル-1、▽=スクランブル-2
 *=p<0.05 (vs △,▽)、**=p<0.05 (vs ○)、***=p<0.05 (vs ○,△,▽)、各ポイントは平均±SD。

一方、リポキシゲナーゼを介したアラキドン酸代謝経路の結果合成されるロイコトリエンB₄合成は、COX-2のチオール型アンチセンスDNAでは抑制されなかった。

共焦点レーザー顕微鏡により細胞内分布を調べたところ、U937とは異なり、主として核内に分布していた。

考 案

サイトカインや炎症関連酵素の働きを特異的に阻害する目的で、アンチセンスDNAによる遺伝子薬の基礎的実験を行った。その結果、これらのアンチセンスDNAには、少なくとも基礎実験で認められた一定の炎症抑制効果があることが明らかとなった。しかし、チオール型アンチセンスDNAには限界もあり、今後新たな試みも必要と考えられた。

結 論

アンチセンス法による抗炎症の試みについての我々の成績を述べた。これらは、少なくともin vitroの実験では一定の効果は認められたものの、特異性などの点で未だ問題は少なくない。しかし、将来的には、難治性炎症性疾患に対する治療法の代表となる可能性もあり、今後さらに詳細に検討したい。

本研究は、共同研究者である聖マリアンナ医科大学・難病治療研究センターの水島裕センター長をはじめとして、八幡直和、檜垣恵、西田信一、古厩泰子、加藤美也子、および横浜市大・整形外科の岡本連三、腰野富久との共同研究である。

参考文献

- 1)Yahata N, Kawai S, Higaki M, Mizushima Y: Antisense phosphorothioate oligonucleotide inhibits interleukin 1 β production in the human macrophage-like cell line, U937. Antisense Nucl Acid Drug Dev 6:55-61, 1996
- 2) Kawai S, Nishida S, Furumaya, Yahata N, Okamoto R, Koshino T, Mizushima Y: Human cyclooxygenase-2 antisense oligonucleotide inhibits prostaglandin production in rheumatoid synoviocytes. II nd World Congress on Inflammation. (abstract), Brighton, UK, 1995