

28M-am06

合成致死性を利用した PTEN 欠損がんに対する RNA 干渉療法

○櫻井 尚之¹, 磯村 秀樹¹, 横田 将史¹, 浅井 知浩¹, 出羽 毅久², 奥 直人¹ (¹静岡県大薬,
²名工大工)

【目的】合成致死性とは、単独では致死性を示さない複数の遺伝子変異が同時に生じることによってはじめて起こる致死性のことを指す。本研究では、合成致死性の関係にある遺伝子として PTEN と PARP1 に着目した。両者はともに DNA の修復に関与しており、また PTEN は多くのがんで欠損が認められている。そこで、PARP1 を標的とした siRNA (siPARP1) を用い、その抗がん活性の PTEN 欠損がんに対する選択性を評価した。

【方法】がん細胞として MDA-MB-468 (PTEN 欠損) および MDA-MB-231 (PTEN 陽性) ヒト乳がん細胞、正常細胞としてヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を用いた。我々が開発した dicetyl phosphate-tetraethylenepentamine-based polycation liposomes を siRNA ベクターとして使用し、各細胞に siPARP1 を導入した。遺伝子ノックダウンの確認には、リアルタイム PCR 法及び Western blotting 法を用いた。PARP1 ノックダウンによる DNA 損傷の蓄積は、comet assay にて検討した。さらに、siPARP1 の導入による細胞増殖抑制効果、アポトーシス誘導について、それぞれ WST-8 assay、フローサイトメトリー解析により評価した。

【結果・考察】PTEN を欠損した MDA-MB-468 細胞の PARP1 遺伝子をノックダウンした結果、断片化 DNA の増加、細胞増殖抑制、およびアポトーシス細胞の増加が観察された。しかしながら、PTEN 陽性の MDA-MB-231 細胞における PARP1 ノックダウンでは、このような効果は認められなかった。PARP1 ノックダウンは、正常細胞として用いた HUVEC に対して致死性を示すことはなく、その抗がん活性の選択性が示唆された。以上より、siPARP1 による RNA 干渉療法は、PTEN 欠損がんに対して選択性の高い治療法になりうると考えられる。