

Wykorzystanie sztucznych miRNA w terapii choroby Huntingtona

Choroba Huntingtona (HD) jest neurodegeneracyjną poliglutaminową (poliQ) chorobą spowodowaną przez ekspansję niestabilnych powtórzeń CAG w genie kodującym białko huntingtynę. Innymi chorobami wywołanymi przez tę mutację są: zanik czerwienno-zębaty (DRPLA), ataksje rdzeniowo-mózdkowe typu 1, 2, 3, 6, 7, 17 oraz rdzeniowo-opuszkowy zanik mięśni (SBMA). Tego typu mutacja powoduje powstanie toksycznego białka z wydłużoną domeną glutaminy. Przyczynia się to do powstania agregatów białkowych w komórkach nerwowych prowadząc do ich degeneracji. Niestety do tej pory nie ma skutecznej terapii pozwalającej na spowolnienie lub cofnięcie procesów degeneracyjnych. Od wielu lat prowadzone są badania mające na celu wyłonienie najlepszej terapii dla pacjentów cierpiących na te śmiertelne choroby. Jednym z bardzo obiecujących podejść jest wykorzystanie technologii interferencji RNA (RNAi), a w szczególności sztucznych miRNA (amiRNA). W naszym laboratorium zostały zaprojektowane i opatentowane cząsteczki RNAi, których celem są powtórzenia CAG. Cząsteczki te są wprowadzane do komórek w postaci wektorów wirusowych, dzięki czemu można uzyskać stabilne i długotrwałe obniżanie poziomu zmutowanych białek po jednorazowym podaniu. Ponadto, wykorzystywana jest strategia pozwalająca na wyciszenie ekspresji jedynie zmutowanego białka, pozostawiając nieobniżony poziom białka normalnego (strategia selektywna). Sztuczne miRNA przypominają występujące w organizmach naturalne prekursor miRNA (pri-miRNA), ale posiadają w odpowiedniej pozycji wstawioną sekwencję (wstawkę) celującą w dany gen, w naszym przypadku kodujący huntingtynę. Wykazaliśmy, że cząsteczka ta obniża poziom zmutowanej huntingtyny w komórkach pochodzących od pacjentów jak i w mysim modelu choroby Huntingtona. Przed przystąpieniem do badań klinicznych należy dokładnie zbadać bezpieczeństwo proponowanej terapii. Wiadomo, że ryzyko wystąpienia efektów niepożądanych jest zależne od ilości podanej cząsteczki terapeutycznej. W związku z tym powstają pytania: czy można zwiększyć efektywność amiRNA, tak aby uzyskać podobny efekt terapeutyczny przy zastosowaniu mniejszego stężenia wektora? W jaki sposób uzyskać ten efekt nie wpływając negatywnie na selektywność działania cząsteczki?

Dlatego też, celem tego projektu będzie zwiększenie efektywności opracowanego przez nas amiRNA w obniżaniu poziomu nieprawidłowego białka. Jednym z zastosowanych podejść do osiągnięcia tego celu będzie zmodyfikowanie sekwencji tej cząsteczki, tak aby wstawka była uwalniana w większej ilości w komórce. Ponadto zostanie zastosowane podejście kombinatoryczne, w którym zaprojektowane będą dodatkowe cząsteczki, które po podaniu razem z naszym amiRNA zwiększą efektywność hamowania powstawania zmutowanego białka.

Ostatnie lata obfitowały w badania nad chorobą Huntingtona, co pozwoliło na rozpoczęcie badań klinicznych i jednocześnie dało nadzieję chorym. Większość z tych badań opiera się jednak na strategii wyciszenia białka zmutowanego jak i normalnego (nieselektywnie). Dominują też podejścia, w których cząsteczkę trzeba dostarczać pacjentowi wielokrotnie, a nie jednorazowo jak w przypadku podejść wektorowych. W związku z tym, opracowanie strategii pozwalającej na selektywne i uniwersalne wyciszenie białek poliQ jest niezwykle ważne dla pacjentów zmagających się z tymi rzadkimi chorobami.