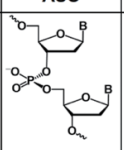
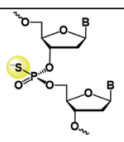
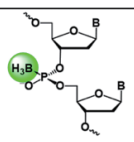
革新的次世代核酸医薬の開発

東京理科大学 薬学部
生命創薬科学科 教授　和田（わだ）　猛（たけし）

東京理科大学 薬学部
生命創薬科学科 嘱託特別講師　佐藤（さとう）　一樹（かずき）

1. はじめに

核酸医薬は，化学合成されたDNAやRNA誘導体を活性の本体とする新しい医薬で，疾病に関連するDNA，RNAあるいはタンパク質を標的とします．2024年4月現在，19品目の核酸医薬が日米欧で承認されており，従来の医薬では治療できなかった希少疾患や難治性疾患に対しても有効であることから，低分子医薬，抗体医薬に続く新しい医薬のモダリティとして近年世界的に開発が加速しています．核酸医薬は，作用機序が明確で副作用も少ないという特徴がありますが，生体内での安定性向上やデリバリー技術の確立，高騰する生産コストの削減など解決すべき課題も多く残されています．このような状況の中で，令和3年度にスタートした国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）が推進する「次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業（RNA標的創薬技術開発）」の研究課題の一つである「革新的次世代核酸医薬（英語名：Innovative Next Generation of Oligonucleotide Therapeutics，略称：INGOT）」は，東京理科大学を総代表機関として，東京医科歯科大学，千葉工業大学，東京大学，琉球大学のアカデミアグループと，（一財）バイオインダストリー協会に加え，味の素（株），田辺三菱製薬（株），日本新薬（株），日本触媒（株），レナセラピューティクス（株），エーザイ（株）の6つの関連企業を含めた全12機関による産学連携コンソーシアムを形成し，革新的次世代核酸医薬の産業化を目指しています．本稿では，INGOTプロジェクトの研究課題について紹介します[1]．

	PO-DNA ASO	PS-DNA ASO	PB-DNA ASO
化学構造式			
標的RNAとの親和性	++	+	+
RNase H誘導活性	++	+	+
分解酵素耐性	–	+	++
毒性	–	++	–
血中滞留性	–	++	未解明

【図1】核酸医薬分子の構造と性質

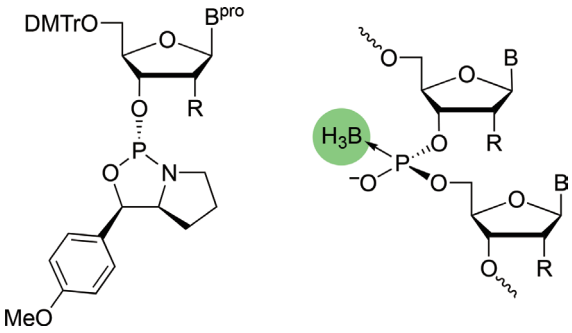
2. キラリティ制御 ボラノホスフェート核酸の合成

現在，核酸医薬としてはリン原子に硫黄が導入されたホスホロチオエート（PS）核酸が汎用されています．PS核酸は，高い分解酵素耐性を有する反面，重篤な副作用を発現する有害事象が多数報告されており，毒性の軽減が核酸医薬品開発における解決すべき重要な課題となっています．我々は，PS核酸に代わる新しいリン原子修飾核酸としてボラノホスフェート（PB）核酸に注目して研究を進めています【図1】．

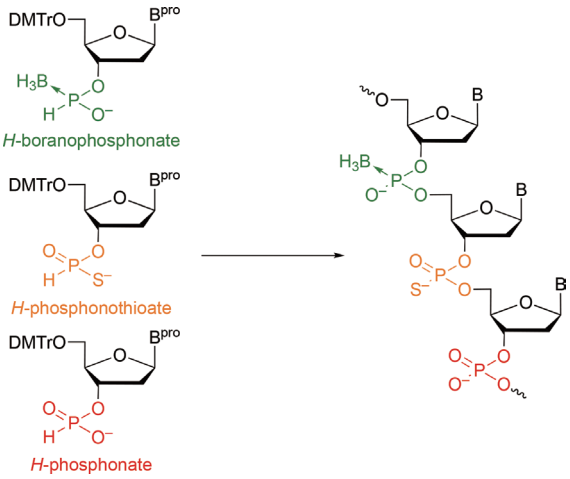
これまで，ホスホロチオエート型アンチセンスオリゴヌクレオチド（PS-ASO）が致死的な毒性を発現する事例が多数報告されており，このことが臨床研究の妨げになっています．一方，我々は予備的検討で，ボラノホスフェート型アンチセンスオリゴヌクレオチド（PB-ASO）の毒性が低いことを確認しています．

このように，PB核酸を用いることで毒性を顕著に軽減することができましたが，有効性は十分ではなく，改善の余地がありました．実験に用いたPB-ASOのリン原子のキラリティは制御されておらず，多くの立体異性体の混合物を用いていたことが原因の一つと考えられます．リン原子のキラリティは，核酸医薬分子の生体内における安定性，標的親和性，RNase H活性，体内動態，臓器分布など，あらゆる性質に影響を及ぼすことが近年明らかになりつつあり，そのキラリティ制御は極めて重要な課題です．そこで本研究では，キラリティ制御PB核酸[2]を開発することで，高い有効性と安全性を併せ持つ優れた核酸医薬の実用化を目指しています【図2】．

さらに，本研究では，全てのインターヌクレオチドがボラノホスフェートである誘導体だけでなく，ボラノホスフェート（PB），ホスホロチオエート（PS）及びホスフェート（PO）を同一分子内に有する，PB/PS/POキメラ型核酸の合成手法の確立を目指します[3]．



【図 2】キラリティ制御 PB 核酸（右）の合成に用いるモノマー



【図 3】PB/PS/PO キメラ型核酸の合成

それぞれの修飾には長所と短所がありますが，オリゴマーの各インターヌクレオチド結合に最も有効な修飾を自在に導入することができれば，核酸医薬として理想的な性質を有する，有効性と安全性を兼ね備えた核酸医薬の創製が期待されます【図 3】.

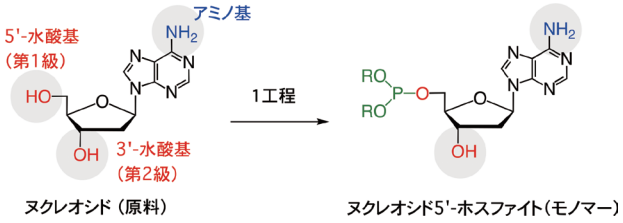
3. 核酸医薬の革新的製造法

核酸は，アミノ基，水酸基，リン酸基など，反応性の高い官能基を多数有しており，オリゴマー合成に必要なモノマーユニットは，多段階の保護基の導入，脱保護を経て合成されます．現在 DNA 合成法として確立されているホスホロアミダイト法では，モノマー合成に多段階の反応工程を必要とするため，製造コスト高騰の要因となっています．さらにオリゴマーの合成を大量合成に適した液相で行うと，鎖長伸長反応の度に抽出やクロマトグラフィーによる精製など，煩雑な操作を行う必要があります．そこで，核酸医薬の製造では，精製を簡便な洗浄のみで行うことが可能な固相法でオリゴマーが合成されますが，これは大スケール化には不向きです．以上のことから，モノマーを短工程で得ることができ，さらに液相法で簡便な精製のみで鎖長伸長が可能な手法の開発が望まれます．我々は，核酸合成の概念を覆すヌクレオシドから 1 工程で得られるモノマーを用いる画期的な DNA 合成法を開発しました（5'- ホスファイト法）[4]．本研究では，本手法の工業的製造法確立へ向けたプロセス化学の最適化を行っています【図 4】.

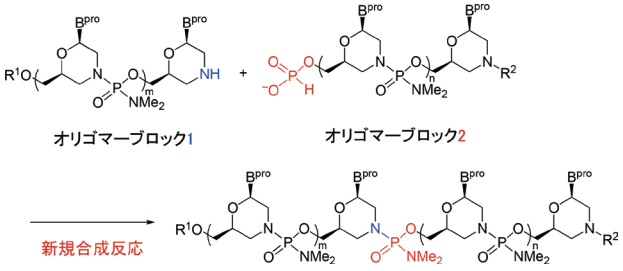
4. モルフォリノ核酸（PMO）医薬の革新的製造法

一方，モルフォリノ核酸（PMO）と呼ばれる核酸医薬分子は，モルフォリン環を基本骨格とした修飾型核酸であり，ホスホロジアミデート結合で連結された構造を有します．このオリゴマーは，電荷を持たない中性の誘導体であるにも関わらず，水溶性が高く，高い分解酵素耐性，相補的な RNA に対する高い親和性を有しており，核酸医薬として魅力的な性質を有しています．これまでに PMO はデュシェンヌ型筋ジストロフィー治療薬として 4 品目が上市されています．PMO の工業的製造には，リン酸誘導体がモノマーとして用いられていますが，反応性が低いため縮合反応に長時間を要し，反応効率に改善の余地があることが指摘されています．また，用いる誘導体の反応性の低さから，オリゴマー同士のブロック縮合は行うことができませんでした．我々は，従来法と比較して圧倒的に効率的な新規 PMO の新規液相合成法を開発し，世界で初めて PMO のブロック縮合に成功しました【図 5】[5]．本研究では PMO の効率的な大量合成法と精製法の確立を目指しています．

現在，上市されている PMO の医薬としての改善す

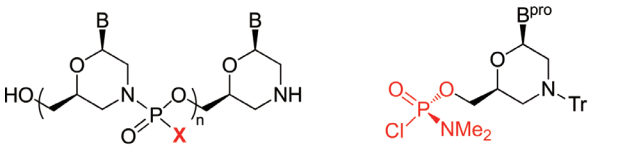


【図 4】5'- ホスファイト法のモノマー合成



【図 5】PMO のブロック縮合

べき性質として，細胞膜透過性，血中滞留性，臓器選択性などが挙げられます．本研究では，PMO のリン原子上に種々の置換基を導入可能な新規反応を開発し，リン原子上に種々の置換基を有する新規 PMO 誘導体を合成し，その機能評価を行い，従来の PMO 医薬の性能改善を目指しています．また，現在上市されている PMO 核酸医薬は数百万～数億立体異性体の混合物であり，PS-ASO や本研究の PB-ASO 同様，リン原子のキラリティ制御は核酸医薬の性能向上に極めて重要な要素であると言えます．本研究では，新規不斉リン原子構築法を開発し，リン原子のキラリティが制御されたモノマーの合成及びキラリティ制御 PMO を合成する手法を開発し，その機能評価を行い，従来の PMO 医薬の性能改善を目指しています【図 6】.



【図 6】新規 PMO 誘導体の合成

5. 核酸医薬の革新的分析法

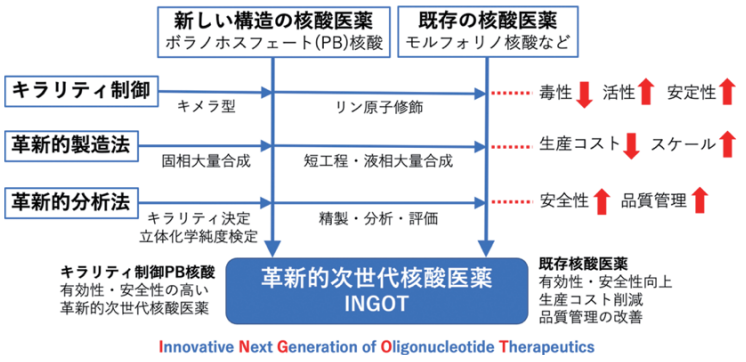
従来のキラリティ非制御核酸医薬は，数千～数億立体異性体の混合物であるため，種々の物理化学的性質に統計学的な分布が生じ，クロマトグラフィーによる精製の際に“目的の鎖長を有する立体異性体混合物”と不純物の完全分離が実質的に不可能であるという避け難い問題があります．一方，キラリティ制御核酸は単一の立体異性体であるため，物理化学的性質も単一であり，クロマトグラフィーによる精製の難易度は天然型核酸と同等です．そこで本研究では，キラリティ制御 PB-ASO の分離・精製・分析技術，絶対立体配置の決定法，立体化学純度検定法の確立を目指します．また，本研究では，安定同位体標識したオキサザホスホリジンモノマーを用いるキラリティ制御 PB-ASO の合成技術と精密質量分析の技術を組み合わせることにより，数千～数億立体異性体の混合物から PB-ASO として理想的な性質を有する立体化学を迅速に特定する手法の開発を進めています．

6. おわりに

本研究は，従来の核酸医薬品と比べて，体内での安定性と有効性の飛躍的向上と副作用の低減が期待される新しい構造を有する革新的次世代核酸医薬の開発を目指しています【図 7】．本研究が達成されれば，欧米との競争が激しい核酸医薬開発において，我が国独自の核酸医薬開発につながることが大いに期待されます．特に，本研究によって，生体内で最も有効に働く核酸医薬の分子選択とリン原子の絶対立体配置の決定法が確立されれば，リン原子修飾核酸医薬創製の車の両輪である構造決定手法と立体選択的合成手法がそろうことになり，他の追随を許さない，核酸医薬の分野における革新的なプラットフォーム技術が確立できます．本事業により，革新的次世代核酸医薬が創製されれば，核酸医薬の毒性の低減，飛躍的な活性の向上に伴う投薬量の軽減，生産コストの削減，患者の肉体的，経済的負担の軽減，核酸医薬の安全性や品質管理の飛躍的改善が期待でき，核酸医薬開発における新しいグローバルスタンダードの確立が期待されます．

[参考文献]

1）和田猛，バイオサイエンスとインダストリー，81, 442–446 (2023).
2）Hara, R. I. *et al. J. Org. Chem*. 84, 7971–7983 (2019).
3）Takahashi, Y. *et al. J. Org. Chem*. 87, 3895–3909 (2022).
4）Matsuda, H. *et al. RSC Adv*. 11, 38094–38107 (2011).
5）Tsurusaki, T. *et al. Sci. Rep*. 13, 12576 (2023).



【図 7】INGOT プロジェクトの概要