	研究代表者	東北大学・多元物質科学研究所・教授
		和田 健彦（わだ たけひこ）
研究課題情報	課題番号：23H05465	研究期間：2023年度～2027年度
	キーワード：核酸医薬、触媒的切断、RNase H、薬効向上、オフターゲット効果低減	

なぜこの研究を行おうと思ったのか（研究の背景・目的）

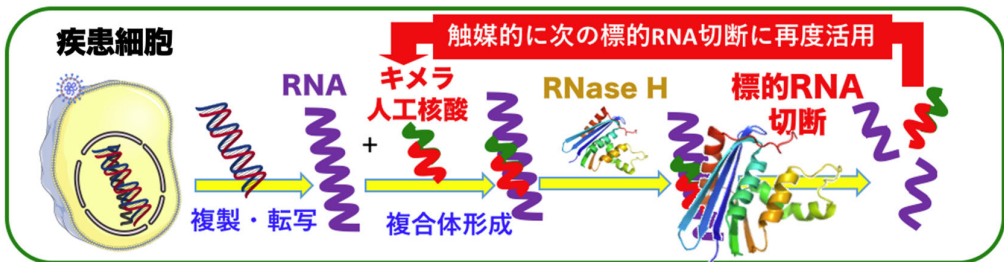
● 研究の全体像

短いアミノ酸型（アミド骨格）人工核酸とオリゴDNAを融合させた我々独自のデザインコンセプトに基づくハイブリッド型核酸医薬「キメラ人工核酸」を設計/合成し、初期的知見獲得に成功している。本研究では、このキメラ人工核酸医薬をCOVID-19をモデルとして、今後も危惧される高病原性ウイルス感染症、癌そして遺伝性疾患に対する新規薬として戦略的に活用するための基礎研究を展開する。

次世代の分子標的薬として期待されている核酸医薬の実用化を阻む「少ない細胞内導入による低い治療効果」を改善させるために、キメラ人工核酸の作用機構解明と薬効向上につながる最適化と細胞膜透過性向上に向けた設計指針の構築に挑戦する。本研究で取り組むキメラ人工核酸は、病原性をもたらすRNAをRNA特異的分解酵素（RNase H）を利用して選択的に切断するだけでなく、標的RNAを分解したあとにも再利用され、極めて効率的に標的RNAを切断し、高い薬剤力価を実現する。さらなる治療効果向上のために細胞膜透過性の向上も目指す。

このキメラ人工核酸（高活性触媒的標的RNA切断機能付与型人工核酸）を用い、COVID-19等新興感染症、癌や遺伝性疾患に対する合理的治療戦略を構築し、キメラ核酸の単独ならびにカクテル投与による効果的な難治性疾患の治療法構築を目指す。このキメラ人工核酸医薬戦略は、東北メディカルメガバンク機構などとの協働により、治療方法の糸口すらない幅広いゲノム関連希少性・難治性疾患に対する治療方法としてのパラダイムシフトをもたらす得ると考えている。

本基礎研究の推進は、従来の薬剤治療とは異なる革新的な治療戦略を、迅速かつ効率的に人類にもたらすと期待されている。



核酸医薬の細胞内低濃度問題を解決しうる戦略
⇒ RNase Hを活用した触媒的アンチセンス法

図1 標的RNA切断機能付与型次世代核酸医薬のイメージ図

● 研究の背景と目的

本研究で用いる核酸医薬は細胞内外に存在する疾患関連タンパクを作る設計図のひとつであるRNAに直接作用し、疾患を引き起こすタンパク質の上流でその働きを抑えるものである。現在でも治療薬がない難治性疾患に対する新規薬につながることから、実用化が期待されている。これまでの核酸医薬は、マイナスイオンが多い化学構造を取っており、細胞内へ入りにくく、低い治療効果にとどまっていた。また、標的RNAを分解する細胞内RNase H濃度は非常に低く、さらに塩基配列選択性のないエンドヌクレアーゼであるため、標的RNA切断反応の触媒回転数は低く、治療効果の大きな向上が報告されている系は限られていた。

この課題を解決するため私たちは、触媒回転数の増加に基づく薬効向上に取り組んだ。RNase Hによる一度のRNA切断で核酸医薬とRNA二重鎖複合体の安定性を体温以下に低下させるため、標的RNAの中央付近での位置選択的切断を目指し、負電荷をもつリン酸骨格DNAと、中性のアミド骨格をもつ人工核酸を結合させたキメラ人工核酸と名付けた新規核酸医薬を設計し、標的RNAはアミド骨格人工核酸とDNAのジャンクション付近で位置選択的に切断され、従来型核酸医薬に対し約200倍も触媒回転数を増加出来ることを明らかにした。

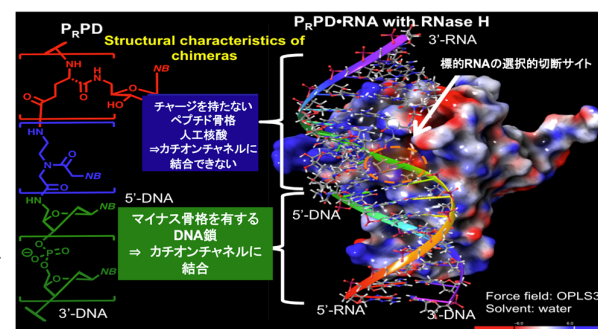


図2 キメラ人工核酸・標的RNA二重鎖とRNase Hとの複合体イメージ図

本研究では「高活性触媒的標的RNA切断機能付与型人工核酸(キメラ人工核酸)」の位置選択的標的RNA切断メカニズムや触媒回転数増加機構に対する物理化学的検討、そして複合体構造や機能解明などに基づく基礎研究を推進し、構造化学と生物学的活性評価を中心に、種々の解析手法を駆使してキメラ人工核酸医薬戦略に基づく高活性触媒的標的RNA切断機能が一般性と普遍性を有することの実証に挑戦する。

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

● キメラ人工核酸による標的RNA位置選択的切断メカニズムの解明

キメラ人工核酸戦略は、RNase Hのカチオンチャンネルにキメラ人工核酸のDNAアニオン骨格を位置選択的に結合させることにより標的RNAはDNAと中性のアミド骨格人工核酸とのジャンクション付近で位置選択的に切断されることが鍵となる。ゲル電気泳動等を用いたキメラ人工核酸による各種標的RNAの触媒的切断挙動に対する解析から、本仮説が有効に機能していることを明らかとしているが、未だ直接的メカニズム解明が待たれている。本研究では、FRET法や、SPR、ITCを用いた各種物理化学的手法を駆使することで複合体構造や選択的切断ダイナミクスを詳細に検討する。

● キメラ人工核酸によるRNase Hを活用した標的RNA切断反応触媒回転数向上メカニズムの解明

キメラ人工核酸戦略では、ジャンクションでの標的RNAの位置選択的切断後の両RNA断片と核酸医薬が形成する2種類の複合体安定性が、共に体温以下に大きく低下する位置にジャンクションを設定することで、一度のRNase H切断による核酸医薬解離を実現し、極めて効率的な標的RNA切断と薬効向上を実現していると予想しており、既に幾つかの系で概念実証実験に成功している。

本研究では、物理化学的/構造生物学的手法を駆使し、触媒回転数増加機構を詳細に検討すると共に、合理的設計指針構築により一般性ある方法論としての確立を目指す。

● キメラ人工核酸によるCOVID-19などの治療薬開発に向けた基盤技術の構築

AMED COVID-19プロジェクトで、ウイルス側の標的として変異株でも高度に保存されているRNA配列領域やスパイクタンパク質、ヌクレオキャプタンパク質に対する従来型核酸医薬を用いた感染抑制効果を指標とした標的配列網羅的探索研究により、標的RNA配列に関する初期的知見を取得している。

本研究では、これら標的RNA候補配列に対し、位置選択的切断メカニズムならびに切断反応の触媒回転数増加メカニズムに関する基礎的知見を活用した合理的設計に基づく新しいキメラ人工核酸の設計、そして効率的合成法確立に取り組む。得られたキメラ人工核酸医薬を用い、ハイスループット in vitro試験ならびに in vivo細胞試験を並行して推進し、従来型核酸医薬や最新のギャップマー型核酸医薬、そしてダミー配列キメラ人工核酸などを用いた比較対照実験を通じ、キメラ人工核酸医薬の優位性を明らかにする。得られた研究結果を活用し、安全性を有するCOVID-19治療薬の論理的開発を目指す。

さらにCOVID-19治療薬開発過程で得られる知見と経験を活用し、難治性癌として知られる膵臓癌など難治性疾患に対する治療薬開発にも挑戦する。

本研究推進により「高活性触媒的標的RNA切断機能付与型核酸医薬:キメラ人工核酸を活用した革新的治療基盤構築を目指す。