

横田 隆徳

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
教授

画期的な新規核酸医薬の分子技術の創出

§ 1. 研究実施体制

1) 「横田」グループ

① 研究代表者: 横田 隆徳 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科、教授)

② 研究項目

- ・ヘテロ2本鎖核酸の霊長類での有効性の検証
- ・新規ヘテロ2本鎖核酸の創生

(2) 「和田」グループ

① 主たる共同研究者: 和田 猛 (東京理科大学薬学部、教授)

② 研究項目

- ・立体が制御されたホスホロチオエート結合を有する新規架橋型人工核酸の合成
- ・立体が制御されたボラノホスフェート結合を有する人工核酸の合成
- ・高活性核酸医薬の分子選択とリン原子絶対立体配置の決定手法の開発
- ・カチオン性人工オリゴ糖および人工ペプチドによるヘテロ2本鎖核酸の安定化

(3) 「小比賀」グループ

① 主たる共同研究者: 小比賀 聡 (大阪大学大学院薬学研究科生物有機化学分野・教授)

② 研究項目

- ・リン原子上のキラリティー制御に資する新規な架橋型人工核酸の設計・合成・機能評価

(4) 「村上」グループ

① 研究代表者: 村上 正裕 (大阪大谷大学薬学部薬剤学講座、教授)

② 研究項目

「核酸分子の経口投与を達成するための分子技術の開発」

- ・核酸分子の腸管粘膜透過制御に関する検討
- ・核酸分子の腸管における安定性の制御に関する検討

(5)「津本」グループ

① 主たる共同研究者:津本 浩平 (東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻、教授)

② 研究項目

- ・神経細胞系への DDS 分子技術の検討

§ 2. 研究実施の概要

1) ヘテロ2本鎖核酸の霊長類での有効性の検証 (横田グループ)

昨年度までにげっ歯類でのヘテロ2本鎖核酸での優れた遺伝子制御効果を明らかにしていた。本年度では霊長類においてもビタミンE結合第1世代ヘテロ2本鎖核酸が従来の1本鎖核酸に比して優れた遺伝性制御効果を達成した。加えて、前年度までに従来のヘテロ2本鎖核酸と構造の異なる第2世代ヘテロ2本鎖核酸のげっ歯類での高いマイクロRNA制御効果を明らかにしていたが、本年度では霊長類での検証を行った。結果、第2世代ヘテロ2本鎖核酸による高いマイクロRNA抑制効果及びそれに伴う血中コレステロール値への高い制御効果を達成した。

2) 新規ヘテロ2本鎖核酸の創生 (横田グループ)

従来のヘテロ2本鎖核酸による遺伝子制御効果の向上に加えて、本年度では新規ヘテロ2本鎖核酸構造を用いることにより、遺伝子抑制効果の向上を達成した。

3) リン原子上のキラリティーを制御したヘテロ2本鎖核酸の設計 (和田・小比賀グループ)

和田グループでは昨年度に引き続き、リン原子上のキラリティー制御技術(オキサザホスホリジン法)を用い、小比賀グループが合成した新規架橋型人工核酸を含むオリゴマーの固相合成を行った。

4) 高活性核酸医薬の分子選択とリン原子絶対立体配置の決定手法の開発 (和田・横田グループ)

安定同位体標識を含むリン原子の立体が制御されたモノマーを合成し、固相合成法による縮合反応を行い、高収率、高立体選択的にホスホロチオエート結合を構築する反応条件を確立した。

5) 2本鎖核酸の主溝に静電的に結合する新規カチオン性分子の設計 (和田・横田グループ)

人工カチオン性オリゴ糖、オリゴペプチドが、RNase Aによるヘテロ二本鎖核酸の分解をほぼ完全に抑制することを明らかにした。また、ヘテロ二本鎖核酸に有効な Dab8-DNA コンジュゲートの合成法を確立した。

6) リン原子上のキラリティー制御に資する新規な架橋型人工核酸の設計・合成・機能評価 (小比賀グループ)

リン原子上のキラリティー制御に資すると予想される新たな人工核酸として、三環性シトシン人工塩基を有する糖部架橋型人工核酸 BNAP-AEO を設計・合成し、オリゴヌクレオチドへの導入に成功した。BNAP-AEO は相補鎖 RNA に対して、これまでに類を見ない極めて優れた二重鎖形成能とグアニン塩基に対する十分な塩基識別能を有することを明らかとした。

一方、これまでにシクロプロパン導入型糖部架橋型核酸 *scpBNA* の全4塩基体の合成を達成しており、本年度は全4塩基を有する *scpBNA* を組み込んだオリゴヌクレオチドを合成し、プロトタイプの 2',4'-BNA/LNA と同等の二重鎖形成能と 2',4'-BNA/LNA を上回る酵素耐性能を有することを見出した。

7)核酸分子の経口投与を達成するための分子技術の開発(村上・横田グループ)

当チームで開発された新規ヘテロ二本鎖核酸を、マウスの腸管から標的臓器である肝臓に選択的に送達することに成功し、これに基づく標的遺伝子の発現の抑制、また、繰り返し注腸投与することにより、総コレステロール値および血清中トリグリセリド値が有意な抑制効果を示すことを実証した。

8)ヘテロ2本鎖核酸の DDS 分子技術の検討(津本・横田グループ)

ペプチド・抗体を基盤としたデリバリー分子の開発と、それらの核酸分子への融合法について検討を行っている。この研究では、抗体の特異性をもち、かつ熱安定性・修飾容易性・デリバリーにおける拡散能にすぐれた分子であるシングルドメイン抗体を用いる。デリバリー分子の開発においては、前年度に引き続き血管内皮細胞に対して結合するシングルドメイン抗体の探索を行った。本年度は前年度までの探索系の課題点を改善した探索を新たに行い、探索対象に特異的に結合するクローンを複数同定した。

代表的な原著論文:

- Sato, K., Wada, T. "One-pot conversion reactions of glycosyl boranophosphates into glycosyl phosphate derivatives via acyl phosphite intermediates" *Org. Biomol. Chem.* 14, 11092-11095, 2016.
- Masahiko Horiba, Takao Yamaguchi and Satoshi Obika, "Synthesis of scpBNA-^mC, -A, and -G Monomers and Evaluation of the Binding Affinities of scpBNA-Modified Oligonucleotides toward Complementary ssRNA and ssDNA", *J. Org. Chem.*, 81, 11000-11008, 2016.
- Masahiro Murakami, Kazutaka Nishina, Chie Watanabe, Kie Yoshida-Tanaka, Wenying Piao, Hiroya Kuwahara, Yuji Horikiri, Kanjiro Miyata, Nobuhiro Nishiyama, Kazunori Kataoka, Masayuki Yoshida, Hidehiro Mizusawa and Takanori Yokota, "Enteral siRNA delivery technique for therapeutic gene silencing in the liver via the lymphatic route", *Sci. Rep.* 17035-17047, 2015.