

がんに対する核酸医薬品の開発

Current status of development of oligonucleotide therapeutics for cancer

井上 貴雄¹ / 柴田 識人²

Takao Inoue / Norihito Shibata

国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部 部長¹

国立医薬品食品衛生研究所 生化学部 室長²

KEY WORDS

◆核酸医薬品

oligonucleotide therapeutics

◆アプタマー

aptamer

◆アンチセンス

antisense oligonucleotides

◆CpGオリゴ

CpG oligodeoxynucleotides

◆siRNA

siRNA therapeutics

SUMMARY

がんゲノム医療の推進を背景に、がん治療の新たなモダリティとして核酸医薬品が注目されている。現在のがん治療薬開発は低分子医薬品や抗体医薬品が主流であるが、これらのモダリティでは、たとえば酵素活性のない細胞内分子を標的にすることは困難であり、有望と考えられるターゲット分子があっても創薬が難しいケースがあった。一方、アンチセンスやsiRNAに代表される核酸医薬品はRNAを標的にすることから、原理的にすべての分子を標的にすることが可能である。近

年、修飾核酸技術の進展などにより難治性疾患や遺伝性疾患を対象にした核酸医薬品が次々と承認されており、高い治療効果が得られていることから、アンメットメディカルニーズの高い疾患に対する有望なモダリティとして認知されつつある。がんを対象にした核酸医薬品も盛んに開発されており、臨床段階にあるものも多数存在する。今後、核酸医薬品が主要ながん治療薬として治療成績の向上に貢献すると期待される。

Oligonucleotide therapeutics have been developed extensively over the past few decades and are emerging as the third platform (after small molecules and biologics) for drug development. So far, eleven oligonucleotide therapeutics have been approved for clinical use and more than 200 oligonucleotide therapeutic candidates are currently in clinical development. In this review, we would like to introduce the current status of development of oligonucleotide therapeutics, such as antisense oligonucleotides, siRNA, miRNA, aptamer, and CpG oligodeoxynucleotides, and discuss the usefulness and superiority of oligonucleotide therapeutics for cancer therapy.

はじめに

近年、製薬業界では創薬標的の枯渇が指摘されているが、その打開策の1つとして、新規の作用機序で機能する医薬品の開拓が活発化している。核酸医薬品は蛋白質を標的とする従来の医薬品とは異なり、RNAのレベルで生体を制御できる点が大きな特色であり、原理的にはすべての分子が創薬対象となりうる。この数年で急速に実用化が進み、高い治療効果が得られつつあることから注目を集めており、アンメットメディカルニーズの高い遺伝性疾患や難治性疾患を治療しうる次世代のモダリティとして期待されている。従来の核酸医薬開発では薬効本体であるオリゴ核酸の生体内における安定性や有効性に課題があったが、修飾核酸技術や薬物送達技術が進展したことで状況は一変しており、局所投与のみならず、全身投与でも高い効果を発揮する候補品が次々に開発されている。核酸医薬品は抗体医薬品と同様に高い特異性と有効性が期待される一方で、低分子医薬品と同じく化学合成により製造することができる。また、核酸モノマーが連結した「オリゴ核酸」という共通の構造を有すること、有効性の高いシーズ(核酸配列)

を短期間で取得できること、得られたシーズがそのまま臨床開発品になることなどから、一度開発スキームが完成すれば、創薬標的が変わっても迅速に開発を進めることが可能である。

本稿では低分子医薬品、抗体医薬品に続く「第3のモダリティ」として注目を集めている核酸医薬品について、定義、分類、作用機序、開発動向などを概説する。そのうえで、がんに対する核酸医薬品の開発状況を紹介したい。

核酸医薬品の分類

核酸医薬品とは一般に、「核酸あるいは修飾核酸が十数～数十塩基連結したオリゴ核酸で構成され、蛋白質に翻訳されることなく直接生体に作用するもので、化学合成により製造される医薬品」を指す。遺伝子治療用製品も核酸で構成されるが、蛋白質に翻訳されて作用する点、また、生物学的に製造される点で核酸医薬品とは異なる。核酸医薬品は構造、標的、作用機序などの違いからさまざまな種類が存在するが、「RNAを標的とするか、蛋白質を標的とするか」で整理するとわかりやすい(表1)¹⁾。RNAを標的とす

る核酸医薬品のなかですでに実用化されているものはアンチセンス医薬品とsiRNA医薬品である(表1, 2)。アンチセンス医薬品の標的はpre-mRNA, mRNAならびにmiRNAと幅広く、作用機序についてもRNA分解、スプライシング制御、miRNA阻害と多彩である。これにより、疾患の原因となる蛋白質を減少させるだけでなく、機能的な蛋白質を増加させることも可能である。一方、siRNA医薬品はmRNAに特異的であり、標的mRNAを切断・分解するこ

とで病因蛋白質を低減させる。

蛋白質を標的とする核酸医薬品としては、アプタマーとCpGオリゴが実用化されている(表1, 2)。アプタマー医薬品は細胞外あるいは細胞表層蛋白質と結合し、その機能を阻害することで有効性を発揮する²⁾。アプタマー医薬品のシード配列は、標的蛋白質をオリゴ核酸ライブラリーと混合し、「標的蛋白質に結合するオリゴ配列の分離→PCRによるオリゴ配列の増幅」のステップを繰り返すこ

表1 核酸医薬品の分類(臨床試験以降の段階にある核酸医薬品を抜粋: 2020年2月現在)

	アンチセンス	siRNA	miRNA	デコイ	アプタマー	CpGオリゴ
構造	1本鎖 DNA/RNA	2本鎖 RNA	2本鎖 RNA	2本鎖 DNA	1本鎖 DNA/RNA	1本鎖 DNA
塩基長	14-25	20-25	20-25	20程度	26-45	20程度
標的	mRNA pre-mRNA miRNA	mRNA	mRNA	蛋白質 (転写因子)	蛋白質 (細胞外/細胞 表層蛋白質)	蛋白質 (TLR9)
作用部位	細胞内 (核内, 細胞質)	細胞内 (細胞質)	細胞内 (細胞質)	細胞内 (核内)	細胞外	細胞外 (エンドソーム内)
作用機序	RNA分解 スプライシング制御 miRNA阻害	mRNA分解	miRNAの補充	転写阻害	蛋白質の機能阻害	自然免疫の活性化

表2 これまでに上市された核酸医薬品(2020年2月現在)

商品名	一般名	分類	塩基長 (DDSなど)	化学修飾など	承認国/年	標的	適応	投与
Vitravene®	fomivirsen	アンチセンス	21	S化	US 1998 EU 1999	CMV IE2 mRNA	CMV性網膜炎 (AIDS患者)	硝子体内
Macugen®	pegaptanib	アプタマー	28 (PEG)	2'-F 2'-OMe	US 2004 EU 2006 JP 2008	VEGF165 (蛋白質)	滲出性 加齢黄斑変性症	硝子体内
Kynamro®	mipomersen	アンチセンス (Gapmer)	20	S化 2'-MOE	US 2013	ApoB-100 mRNA	ホモ接合型家族性 高コレステロール血症	皮下
Exondys 51®	eteplirsen	アンチセンス (SSO)	30	モルフォリノ 核酸	US 2016	Dystrophin pre-mRNA	デュシェンヌ型 筋ジストロフィー	静脈内
Spinraza®	nusinersen	アンチセンス (SSO)	18	S化 2'-MOE	US 2016 EU 2017 JP 2017	SMN 2 pre-mRNA	脊髄性筋萎縮症	髄腔内
HEPLISAV-B®	— (CpG1018)	CpGオリゴ	22	S化	US 2017	TLR9 (蛋白質)	B型肝炎 (予防)	筋肉内
Tegsedi®	inotersen	アンチセンス (Gapmer)	20	S化 2'-MOE	US 2018 EU 2018	TTR mRNA	遺伝性ATTR アミロイドーシス	皮下
Onpattro®	patisiran	siRNA	21 (LNP)	2'-OMe	US 2018 EU 2018 JP 2019	TTR mRNA	遺伝性ATTR アミロイドーシス	静脈内
Waylivra®	volanesorsen	アンチセンス (Gapmer)	20	S化 2'-MOE	EU 2019	ApoCIII mRNA	家族性 高カイロミクロン血症	皮下
Givlaari®	givosiran	siRNA	23 (GalNAc)	S化 2'-Ome 2'-F	US 2019	ALAS1 mRNA	急性肝性 ボルフィリン症	皮下
Vyondys 53®	golodirsen	アンチセンス (SSO)	25	モルフォリノ 核酸	US 2019	Dystrophin pre-mRNA	デュシェンヌ型 筋ジストロフィー	静脈内

とによって取得される。この手法はsystematic evolution of ligands by exponential enrichment(SELEX)法と呼ばれ、結合力の高いオリゴ核酸を迅速に濃縮/特定することが可能である。アプタマー医薬品は作用機序の観点から抗体医薬品と競合するモダリティであるが、今後、核酸医薬品の実用化が進むにつれて、開発コストや製造コスト等の利点が注目されると考えられ、抗体医薬品を代替する開発品目が出てくると期待される。CpGオリゴ(CpG oligodeoxynucleotides)はToll様受容体9(TLR9)を介する生体防御機構、すなわち、「細菌由来のDNA断片(オリゴ核酸)に含まれるCpGモチーフをTLR9が感知し、自然免疫系を活性化する機構」を意図的に刺激する核酸医薬品である。アンチセンス医薬品における「副作用」に相当する生体応答を「薬効」として活用するものであり、これまでの実用化例としては、B型肝炎のワクチンHEPLISAV-B®に添加されたCpGオリゴ(CpG1018, アジュバントとして活用: **表2**)がある。近年ではがん治療薬としての臨床開発も進んでいる³⁾(後述)。以降では、特に開発が進んでいるアンチセンス医薬品とsiRNA医薬品に焦点を絞り、その性質や作用機序を解説する。

アンチセンス医薬品の特徴と開発状況

1 本鎖オリゴ核酸で構成されるアンチセンス医薬品は、細胞内に存在するRNAと相補的に結合して機能することから、細胞内に移行する必要がある。しかし、アンチセンス医薬品(分子量: 5,000~10,000程度)は低分子医薬品(分子量: <500)よりはるかに大きく、また、核酸間のリン酸ジエステル結合に負電荷が存在するポリアニオンであることから、基本的には生体膜を通過しにくい。この課題に対し、現在臨床開発されているアンチセンス医薬品の多くは、リン酸部のO(酸素原子)をS(硫黄原子)に置換したホスホロチオエート修飾(S化)が施されている(**図1A**)。S化されたオリゴ核酸(Sオリゴと呼ばれる)は蛋白質との結合性が向上し、脂溶性も増すことから、細胞膜上の蛋白質を介した細胞親和性ならびに膜透過性が向上する。また、血中蛋白質との結合により血中滞留性が増し、さらにヌクレアーゼ耐性も付与されることから、生体安定性が顕著に改善される。このS化に加えて、アンチセンス医薬品では核酸の糖部にも化学修飾が導入されており、これにより標的RNAとの結合力が大きく向上する(**図1A**)。

以上に示したリン酸部と糖部における化学修飾の相乗効果により、アンチセンス医薬品はリポソームなどのキャリアを用いずにそのまま生体に投与され、有効性を発揮する。投与方法としては、局所投与のみならず、皮下注や静注による全身性の投与が可能になっている(**表2**)。全身投与されたアンチセンス医薬品の体内分布については、各組織の毛細血管の内皮の状態に依存するとされる。内皮に比較的

大きな間隙のある肝臓および腎臓では、アンチセンスが毛細血管から組織側に通過しやすいため、全身投与されたアンチセンスが集積する傾向がみられる。

2020年2月現在、世界的に7つのアンチセンス医薬品が承認されており(**表2**)、臨床試験段階にあるアンチセンス医薬候補品も2018年12月時点で70程度存在する⁴⁾。いずれも核酸医薬品のなかで最も数が多く、今後も核酸医薬品の中心的モダリティと考えられる。疾患分野としては、遺伝性・稀少疾患(26%)とがん(20%)に対するアンチセンスの開発が約半数を占めており、アンメットメディカルニーズの高い領域の開発が先行している。特徴的な点として、神経変性疾患を対象とした開発品が増加傾向にあるが(7%)、これはnusinersen(適応: 脊髄性筋萎縮症)およびinotersen(適応: 遺伝性異型トランスサイレチンアミロイドーシス)の承認(**表2**)が、この領域における成功例として認知されたことが一因にあると思われる。これまでに実用化されているアンチセンス医薬品は、作用機序の違いからRNA分解型アンチセンス(Gapmer)とスプライシング制御型アンチセンス(SSO: splice-switching oligonucleotide)に大別される(**図1B**)。

1. RNA分解型アンチセンス(Gapmer)

RNA分解型アンチセンスでは、オリゴ核酸の両端(Wing領域)にRNAとの結合力が強い糖部修飾核酸(**図1B**: オレンジ, 赤)が配置され、中央部分(Gap領域)には糖部が修飾されていないDNA(**図1B**: 白)が用いられる。このアンチセンスが標的RNAと結合すると、DNA/RNA二重鎖を認識してRNA鎖を切断するRNase HがGap領域に生じたDNA/RNA鎖に結合し、標的RNAを切断する(**図1B**: 左)。このタイプのアンチセンスは連続したDNAからなる“Gap”領域を有することから、一般に「Gapmer」と呼ばれる。IONIS社が開発した3つの既承認アンチセンス(mipomersen, inotersen, volanesorsen: **表2**)は、いずれも10塩基のGap領域の両端に糖部2'位が修飾された2'-MOE(**図2**: オレンジ)が5塩基ずつ配置されたGapmerであり、IONIS社の後続品についても、引き続き、この骨格をもつアンチセンス医薬品が開発されている。このようにオリゴ核酸の基本骨格、標的組織、投与経路を固定し(前記の例では、塩基長→20塩基長、修飾核酸の種類→2'-MOE・S化、修飾核酸の導入様式→5+10+5 Gapmer、肝臓標的、皮下注)、オリゴ核酸の配列を変えるだけで新規の薬剤を次々に開発できる点が核酸医薬品の優位性の1つである。今後もこの利点を生かして、核酸医薬品の開発・実用化が加速度的に進んでいくと予想される。

近年、大阪大学の今西、小比賀らが世界に先駆けて開発した架橋型核酸が注目を集めている。架橋型核酸は**図1A**に示した2',4'-BNA/LNAがそのプロトタイプであり⁵⁾、RNAとの結合力がきわめて強い。国内では、有効性、動

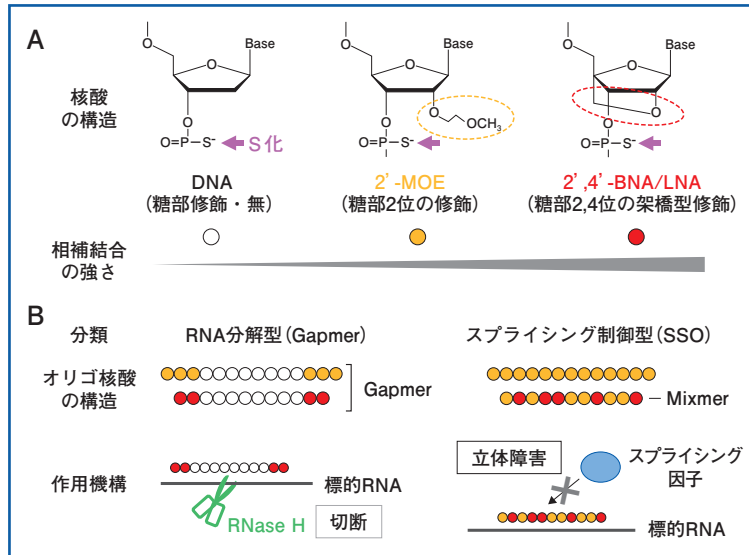


図1 アンチセンス医薬品における修飾核酸の配置(例)と作用機序

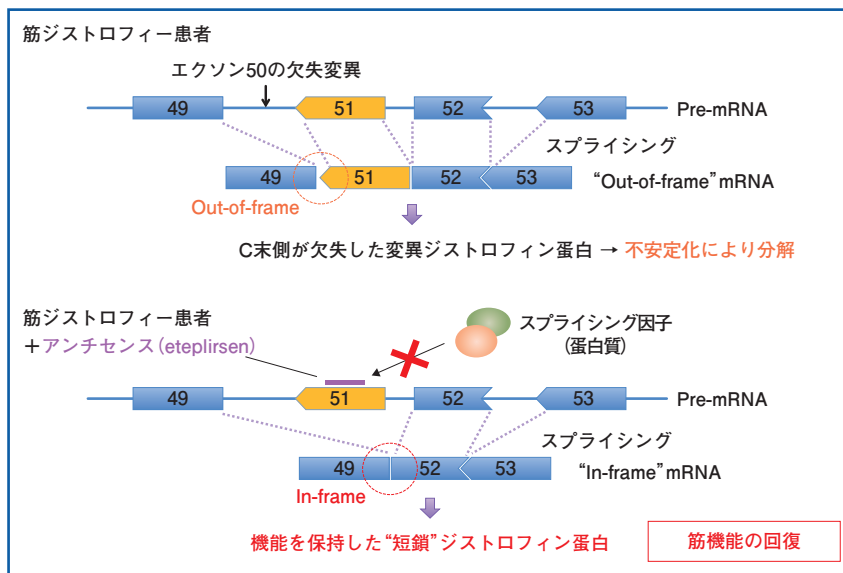


図2 スプライシング制御型アンチセンスの作用機序：エクソンスキップ療法の例

態、安全性などの観点から2',4'-BNA/LNAを改良した架橋型核酸が数多く創出されており、これらを用いた高機能化Gapmerの開発が進んでいる^{6,7)}。

2. スプライシング制御型アンチセンス (SSO)

スプライシング制御型アンチセンス (splicing switching oligonucleotides ; SSO) は、スプライシング因子のpre-mRNAへの結合を阻害することで(図1B：右)、近傍に存在するエクソンのスプライシング(スプライスイン or スプライスアウト)をスイッチし、フレームシフトを起こした異常RNAの読み枠を正常化する。この結果、N末端か

らC末端までがインフレームで翻訳された機能的な蛋白質を発現させることが可能となり、これにより病態を改善する(図2)。デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するアンチセンス医薬品 eteplirsen(図2, 表2)を例に挙げると、ジストロフィン遺伝子のエクソン51(図2：オレンジ)をスプライスアウトさせることにより、機能発現に重要なN末端とC末端を保持したジストロフィン蛋白質を発現させる。このスプライシングの変化によりエクソン51がスキップされるので、エクソンスキップ療法と呼ばれる。一方、脊髄性筋萎縮症に対するアンチセンス医薬品 nusinersen(表2)は、eteplirsenとは逆に、アンチセンス的作用によりスプライスアウトされていたエクソンをスプライスインさせることで蛋白質の読み枠を合わせ、機能的な蛋白質を発現させる⁸⁾。こちらは除外されていたエクソンを新たにmRNAに組み込む(インクルードする)ので、エクソンインクルージョン療法と呼ばれる。

エクソンスキップ療法ならびにエクソンインクルージョン療法はいずれも、フレームシフトを起こした異常RNAの読み枠を是正することで当該RNAの機能を復活させる手法であるため、アンチセンスには「pre-mRNAを切断ないようにスプライシング因子をブロックする」ことが求められる。したがって、アンチセンスの構造としては、RNase Hの認識部位となるGap領域が生じないように糖部修飾核酸が配置される(図1B：右)。前述のnusinersenではすべての核酸に

2'-MOE(図1：オレンジ)が導入されている。また、スプライシング制御型アンチセンスでは複数の種類の核酸を“Mix”して配置した「Mixmer」と呼ばれるアンチセンスも臨床開発されている。さらに、核酸の糖部をモルフォリノ環に置換した核酸類縁体(モルフォリノ核酸)を用いたスプライシング制御型アンチセンスも開発されている。前述のeteplirsenと golodirsenがその代表例であり(表2)、国内においてもジストロフィン遺伝子のエクソン53を標的としたモルフォリノアンチセンス医薬品 viltolarsenが国立精神・神経医療研究センター/日本新薬により開発されている(日米で承認申請中：2020年2月現在)。Viltolarsenは国

内で開発された核酸医薬品の承認第1号になると期待されている。

● siRNA医薬品の特徴と開発状況

2本鎖RNAから構成されるsiRNAは、分子量がアンチセンス医薬品の約2倍であり(13,000程度)、負電荷も大きくなることから、その膜透過性はさらに低下する。たとえば、アンチセンス(1本鎖Sオリゴ)であれば培養細胞にそのまま添加しても、その一部が細胞内に取り込まれてRNAの分解などの作用を発揮するが、siRNAについてはリポフェクトアミンのような導入試薬を用いなければ細胞内に入らない。したがって、siRNA医薬品の開発については、基本的に脂質ナノ粒子や高分子ミセルなどの送達キャリアが必要である⁹⁾。アンチセンス医薬品は塩基長や修飾核酸の導入について比較的自由度が高いが、siRNAはRNA-induced silencing complex(RISC)に認識される必要があるため、長さは20塩基長程度に固定され、修飾核酸の導入についてもRISC形成を邪魔しない程度に限定される。

siRNA医薬品の開発状況については、2018年に世界初のsiRNA医薬品patisiranが上市されたのに続き、2品目目のgivosiranが最近承認された(表2)。2018年12月時点で50近い品目について臨床試験が行われており、さらに、非臨床段階の開発品が近年大幅に増加しているのが特徴である⁴⁾。疾患分野としては、アンチセンス医薬品と同様ながん(26%)、遺伝性・希少疾患(15%)、眼科疾患(15%)への適応が多い(図3)。

開発されているsiRNA医薬品を投与方法と送達手法の観点から分類すると、①局所投与(硝子体内、点眼、吸入、皮内など)、②送達キャリアを用いた全身投与(静注)、③コンジュゲート体の全身投与(皮下注)に大別することがで

きる。①の局所投与については、全身性の投与が可能になった現在でも一定数の開発が継続的に行われており、送達キャリアを用いないケースも多い。②については、脂質ナノ粒子(lipid nanoparticle; LNP)に包含された前述のpatisiranが好例である(表2)。Patisiranは点滴により静脈内投与され、肝臓に到達した後、主に肝臓で発現する標的mRNAを切断する。全身投与されたLNPは基本的に肝臓に集積する性質を有するが、LNPに包含したsiRNAを局所投与する例もある。③については、GalNAc-siRNAが代表例であり、givosiranがこれに相当する(表2)。GalNAc-siRNAでは2本のRNA鎖のうち、薬効に直接関与しないセンス鎖の3'末端に糖鎖の一種であるGalNAc(N-アセチルガラクトサミン)が付加されている。GalNAcは肝実質細胞の細胞表面に特異的に発現するアシアロ糖蛋白質受容体と強く結合し、エンドサイトーシスされるが、この受容体はエンドサイトーシスとエキソサイトーシスのリサイクリングが活発に行われるため、siRNAが効率よく肝実質細胞に引き込まれる。GalNAc-siRNAでは送達キャリアを用いないため、送達キャリアをバリアとしたヌクレアーゼ回避ができない。したがって、siRNA自体にヌクレアーゼ耐性を付与することが必須となるが、GalNAc-siRNAではRISC形成に影響を与えない範囲で修飾核酸が導入されている。脂質ナノ粒子で包まれたsiRNAは時間をかけて点滴(静注)する必要があるのに対し、GalNAc-siRNAは注射(皮下注)が可能であることから、臨床現場ではGalNAc-siRNA(コンジュゲート体)のほうが利用しやすいとされる。また、製造・品質管理の観点からも、複雑な構造をもつ送達キャリアと組み合わせるより、1つの化学合成医薬品と見なすことができるコンジュゲート体のほうが優位と考えられる。

siRNA医薬品の開発については、今後も前述の①、②、③の開発が同時に進展していくと考えられるが、③のコン

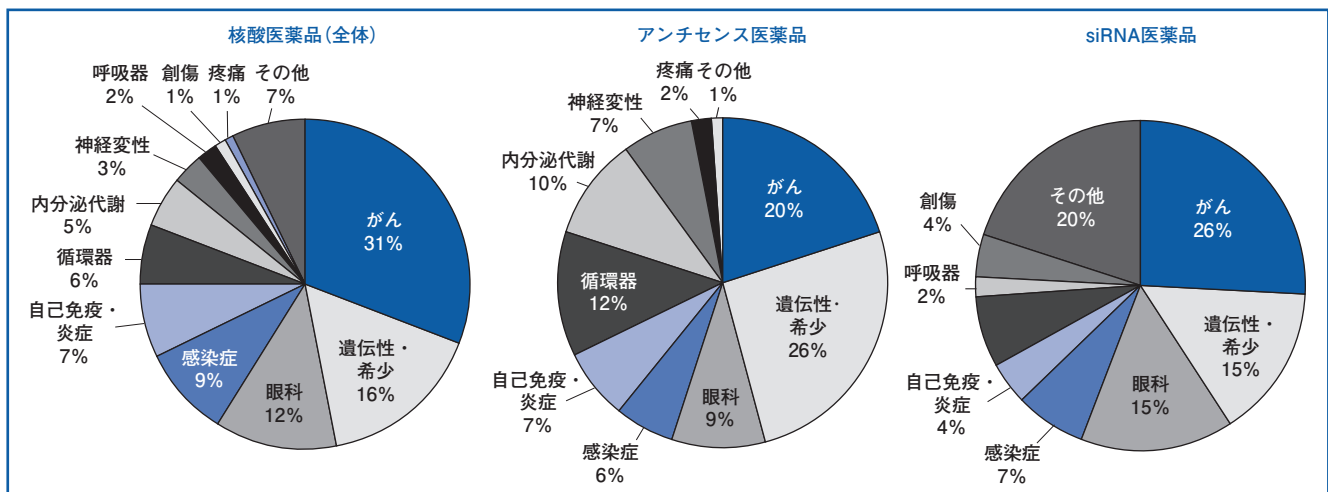


図3 核酸医薬品の対象疾患領域(2018年12月現在：臨床試験以降)

ジュゲート体については、各臓器への送達を可能にする「リガンド-受容体」の同定とリガンドをオリゴ核酸に付加するコンジュゲート技術が進展すれば、今後、開発数が増加すると予想される。一方で、②の送達キャリアについても、patisiranの承認により実用化へのハードルが大きく下がった感があり、また、国内外で優れた送達キャリアが開発されつつあることから、今後実用化が大きく加速すると期待される。

がんに対する核酸医薬品の開発

がんは遺伝子異常に起因する疾患であり、がんの発生や進展に直接的な役割を果たす遺伝子をドライバー遺伝子と呼ぶ。たとえば慢性骨髄性白血病のドライバー遺伝子はBCR-ABLであるが、この遺伝子がコードする蛋白質は恒常的にチロシンキナーゼ活性が亢進しており、これが細胞の無秩序な増殖を引き起こす。この酵素活性を阻害する低分子医薬品イマチニブが2001年に承認され、慢性骨髄性白血病の治療成績が劇的に改善された。これ以降、ドライバー遺伝子を標的とした分子標的薬の開発が大きく進展し、有効性の高い薬剤が次々と誕生した。また、2019年にはがんの遺伝子異常を網羅的に特定する「がん遺伝子パネル検査」が保険適用され、個々の患者の遺伝子異常に適した薬剤・治療法を選択するための環境が整いつつある。しかしながら、現時点では遺伝子異常が特定されても対応する薬剤がない場合も多く、実際、国立がん研究センターの行った臨床研究において、パネル検査で見つかった187例の遺伝子異常のうち、治療薬に結びついた症例は25例に留まることが報告されている¹⁰⁾。この状況を考えると、今後も分子標的薬のさらなる開発が求められるところであるが、このためには従来の低分子医薬品や抗体医薬品に加えて、新たなモダリティをがん治療薬に導入していくことが重要と思われる。

核酸医薬品は遺伝子変異(RNA配列)に基づいて配列設計を行うこと、また、開発スピードが非常に早いことから、多様な遺伝子異常への対応が求められるがんゲノム医療に適していると考えられる。さらに、RNAを標的とすることで、蛋白質の構造にかかわらず原因分子を減少(消失)させることが可能であることから、従来の医薬品では開発が難しかった分子に対する創薬も期待される。以上の観点からは核酸医薬品の標的疾患の選定にも反映されていると考えられ、実際、現在臨床開発されている核酸医薬品はがんを対象とするものが最も多い⁴⁾(図3：核酸医薬品)。がんに対する核酸医薬品を各モダリティで分類すると、前述のアンチセンス、siRNAに加えて、非臨床段階ではmiRNA医薬品(後述)についても開発が進んでいる⁴⁾(図4)。また、蛋白質を標的とする核酸医薬モダリティも開発されており、CpGオリゴに代表されるTLR刺激オリゴ核酸ならびにア

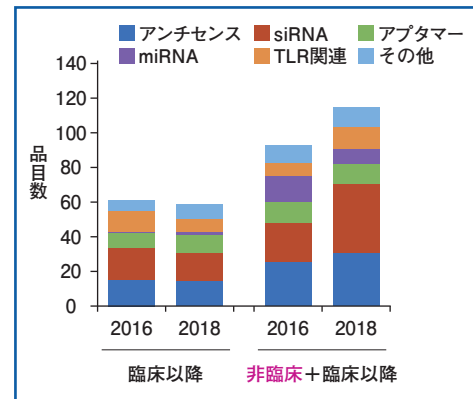


図4 がんを対象とした核酸医薬品の開発数

プタマーがそれぞれ10品目程度、臨床試験段階にある(図4)。表3には第II相試験以降の核酸医薬候補品を示した⁴⁾。15の開発品のうち、アンチセンスが7品目と最も多く、次いでCpGオリゴが5品目、siRNA、miRNA、アプタマーがそれぞれ1品目である。以降では、表3に示した開発品を中心に、がんと核酸医薬品の関連を考察したい。

1. がんに対するアンチセンス医薬品およびsiRNA医薬品の開発

RNAを標的とするアンチセンスならびにsiRNAについては、GRB2、AR、KRASなどのドライバー遺伝子やその下流で機能する分子を標的とする開発品が多い。これらの標的分子では低分子阻害薬が開発されているものも多いが、低分子G蛋白質であるRASについては従来の手法での創薬が難しいとされてきた。RASには、KRAS、NRAS、HRASの3種類のパラログが存在し、増殖因子の刺激に応じてRAFやPI3Kなどのエフェクター分子と結合し、細胞増殖等を制御する。およそ30%のがんでいずれかのRASに変異が生じていることが知られており、膵臓がんに至っては90%以上でKRASに変異が見つかる¹¹⁾。非小細胞肺がんではKRASのG12C変異が多く、このシステインに共有結合する低分子阻害薬が開発されつつあるが(2020年2月現在、第I相試験段階)、その他のがんにも多いG12D変異やG12V変異などについては、低分子化合物が強固に結合できるポケットが見出されず、創薬困難とされている。

この背景において、KRAS(G12D変異)mRNAに対するsiRNA医薬品の開発が進んでおり、2020年2月現在、第II相試験の段階にある(siG12D-LODER：表3)。この薬剤はLODERと呼ばれる生分解性のpolymeric matrixに包含されており、膵臓がんへの適応が想定されている。このように低分子医薬品の開発が難しい標的に対して、アンチセンスやsiRNAによる発現抑制を行う戦略が1つの主流になりつつあるが、この際、「正常遺伝子に由来するmRNAを発現抑制してもよいか」が重要なポイントとなる。前述

表3 がんを対象とした核酸医薬品(第II相試験以降:2018年12月現在)

開発品名	分類	標的	適応	臨床試験
apatorsen	アンチセンス (MOE-Gapmer)	HSP27 mRNA	非扁平上皮非小細胞肺癌, 再発性又は不応性転移性尿路上皮がん, 転移性膵臓がん 進行性扁平細胞肺癌	P2終了 P2
IONIS-AR-2.5Rx	アンチセンス (cET-Gapmer)	AR mRNA	前立腺がん	P1/2終了
danvatirsen	アンチセンス (cET-Gapmer)	STAT3 mRNA	膵臓がん, 非小細胞性肺癌, 結腸直腸がん	P2
			非小細胞性肺癌(デュルバルマブとの併用)	P2
trabedersen	アンチセンス	TGF- β 2 mRNA	再発性または難治性多形神経膠芽腫, 進行性膵がん, 悪性メラノーマ	P2/3
prexigebersen	アンチセンス (LNPに封入)	GRB2 mRNA	慢性骨髄性白血病	P1/2
			急性骨髄性白血病	P2
cobomarsen	アンチセンス (miRNA阻害)	miR-155(miRNA)	皮膚T細胞リンパ腫	P2
imetelstat	アンチセンス	Telomerase複合体 (に含まれるRNA鎖)	骨髄線維症	P2
siG12D-LODER	siRNA	KRAS(G12D) mRNA	膵臓がん	P2b
TargomiR	miRNA	miR-15/107の補充	中皮腫	P2
			リンパ腫	P1/2
SD-101	CpGオリゴ	TLR9(蛋白質)	低悪性度B細胞リンパ腫(放射線療法との併用)	P1/2終了
			転移性メラノーマ, 頭頸部扁平上皮がん(ベムプロリズマブとの併用) 前立腺がん(ベムプロリズマブとの併用)	P1/2 P2
			再発性および抵抗性の低悪性度濾胞性リンパ腫(イブルチニブおよび局所放射線療法との併用)	P1/2
			リンパ腫, 進行性固形がん(epacadostatおよび放射線療法との併用)	P1/2
IMO-8400	CpGオリゴ	TLR9(蛋白質)	びまん性大細胞型B細胞リンパ腫, ワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症	P1/2終了
IMO-2125	CpGオリゴ	TLR9(蛋白質)	転移性黒色腫(ベムプロリズマブまたはイピリムマブとの併用)	P1/2
CMP-001	CpGオリゴ	TLR9(蛋白質)	悪性メラノーマ	P1/2
leftolimod	CpGオリゴ	TLR9(蛋白質)	固形がん	P3
NOX-A12	アプタマー	CXCL12(蛋白質)	多発性骨髄腫, 慢性リンパ性白血病	P2終了
			膵がん, 結腸直腸がん	P1/2

のpatisiranの標的遺伝子(トランスサイレチン)はノックアウトしても目立った有害事象が起らないため, 正常遺伝子を含めたすべてのトランスサイレチンRNAを発現抑制することを念頭にsiRNAがデザインされている。一方, KRASについては, 正常遺伝子の抑制は毒性発現につながると考えられるため(ノックアウトマウスは胚性致死), 変異遺伝子のみを抑制するデザインが必要である。今後, 特異性を高めるための基盤技術が求められるところであるが, 国内ではより高い精度で塩基置換を識別するsiRNA技術が開発されており, 今後の進展が期待される。

siRNA医薬品と関連して, がんに対してshRNA(small hairpin RNA)を発現させる治療法も開発されている。生体内でshRNAを発現させるベクター(ウイルスベクターあるいはプラスミドベクター)は, 規制上は核酸医薬品ではなく遺伝子治療用製品に分類されるが, 原理的にはRNAiの機構で作用するため, 前記と同じ考察が可能である。具体的な開発例としては, EGFR mRNAを標的としたBB-401

(39塩基長のshRNAを発現させるプラスミドベクター)が挙げられる。頭頸部扁平上皮がんに対する適応で, 第II相試験の段階にある。

アンチセンス医薬品に関してはGapmerを用いた開発品が多いが, 翻訳(リボソーム)を阻害すると考えられる古典的なアンチセンスも一部含まれている。特徴的なアンチセンスとしては, テロメラーゼを阻害するimetelstat(表3)がある。テロメラーゼは真核生物の染色体末端(テロメア)の特異的配列を伸長させる酵素であり, ヒトでは一過的に幹細胞で高い活性がみられるが, 分化した体細胞では機能しない。一方で, 多くのがん組織ではテロメラーゼ活性が高いことが知られており, これによりテロメア長を維持し, 染色体を安定化することで, 細胞の異常増殖が保持されると考えられている。テロメラーゼは, テロメア伸長の鋳型となるRNA, 逆転写活性を有する触媒サブユニット, 制御サブユニットなどからなる複合体を形成しているが, imetelstat(13塩基長の1本鎖オリゴ核酸)は鋳型RNAのテ

ロメア認識部位と相補結合するように設計されており、これによりテロメアの伸長を阻害する。テロメアーゼを阻害する低分子医薬品も臨床開発されていることから(KML-001/sodium meta-arsenite), テロメアーゼががん治療薬の新しい作用点になる可能性がある。

2. がんに対するmiRNA関連医薬品の開発

miRNAは非コードRNAの一種であり、主に翻訳阻害の機構により標的遺伝子の発現を抑制する。がんとmiRNAには密接な関連があることが知られており、これまでにがんの発生や進展に関わるmiRNAが多数報告されている。具体的には、がん促進遺伝子と結合し、その発現を抑制するmiRNAとして、let-7ファミリー、miR-34a, miR-143, miR-200ファミリーなどが同定されている。また、がん抑制遺伝子と結合し、その発現を抑制するmiRNAとして、miR-10b, miR-155, miR-221, miR-222などが知られている¹²⁾。

前者のmiRNA群については、各種がんにおいて発現が大きく低下している例が多く、これががん促進遺伝子の発現上昇につながっている。したがって、当該miRNAを外側から補充することにより、がん促進遺伝子の発現を抑制するという治療コンセプトが成り立つ(=miRNA医薬品)。miRNAとは一般には標的mRNAと結合する1本鎖RNAを指すが、化学合成したmiRNA医薬品を生体に作用させるためには、まずmiRNAがRISC複合体に取り込まれる必要がある。このため、miRNA医薬品はsiRNA医薬品と同様にRISC複合体が認識する20塩基程度の2本鎖RNAとしてデザインされる。miRNA医薬品の具体的な開発例としては、miR-15/107を補充するTargomiR(表3)がある。TargomiRではmiRNAがEnGeneIC Dream Vectorと呼ばれる細菌由来の送達キャリアに包含されているが、このキャリアには免疫賦活作用があるため、miRNA補充とがん免疫療法の相乗効果で有効性が得られるとされている。

一方、後者のmiRNA群については、miRNAと相補的に結合するアンチセンスを用いることにより、miRNAの機能を阻害する戦略がとられる(=miRNA阻害型アンチセンス)。これにより、結果的にがん抑制遺伝子の発現を上昇させることが可能となり、がんを治療できると考えられる。表3にあるcobomarsenはmiR-155に相補結合するアンチセンスであり、miR-155とその標的mRNA(がん抑制遺伝子)との結合を立体障害によって阻害する。

以上のようなmiRNAレベルでの病態の制御については、従来の低分子医薬品や抗体医薬品では原理的に実施が困難であり、核酸医薬品に特有の治療戦略と考えることができる。miRNAは機能的に関連する複数の遺伝子に結合する性質を有するため、これを制御するmiRNA医薬品やmiRNA阻害型アンチセンスは、単剤の投与で複数の分子を同時に制御することで有効性を発揮することとなる。これは特定の1分子を標的とする分子標的薬が主流の現状

において、新しい概念を提唱するものであり、これまでにない治療効果を生み出すポテンシャルがあると考えられる。miRNA関連医薬品の今後の展開に期待したい。

3. がんに対するCpGオリゴの開発

ニボルマブやペムブロリズマブに代表される免疫チェックポイント阻害薬の成功を契機に、免疫細胞の活性化によりがん細胞を駆逐するがん免疫療法に注目が集まっている。CpGオリゴはTLR9を介して自然免疫機構を意図的に刺激することで抗腫瘍免疫応答を引き起こす医薬品であり、前述のアンチセンスやsiRNA(=分子標的薬)とは異なり、がん免疫療法に分類される核酸医薬品である。単剤としての開発も行われているが、現状では他剤や他療法との併用での開発が多い(表3)。たとえば免疫チェックポイント阻害薬であるペムブロリズマブ(抗PD-1抗体)やイビリムマブ(抗CTLA-4抗体)との併用は、「がん細胞における免疫抑制機構の抑制」と「宿主細胞における免疫応答の活性化」を組み合わせることによって、抗腫瘍効果の増強を企図している。これは、免疫チェックポイント阻害薬(がん細胞における免疫抑制機構の抑制)のみでは治療効果が得られない症例では宿主細胞の免疫能力が不十分であることが一因と考えられているため、CpGオリゴとの併用がこれを補うと期待されている。また、CpGオリゴの臨床開発では、従来の分子標的薬(イブチニブ:チロシンキナーゼ阻害薬)や放射線療法など、がん細胞自体を標的とする治療との併用によって相乗効果を狙ったものもある。どのようながん種でどのような併用が最適な効果を生むか、今後の検証が待たれる。

おわりに

がんゲノム医療の推進を背景に、がん治療薬開発において新たなモダリティの開拓が求められている。低分子医薬品や抗体医薬品といった従来のモダリティは標的蛋白質の「機能阻害」で作用するが、本稿では標的蛋白質の「消失」を狙ったアンチセンスやsiRNAなど、オリゴ核酸の特性を生かした新しい機序で作用する核酸医薬品を紹介した。標的蛋白質の「消失」を狙うモダリティとしてはもう1つ、ユビキチン・プロテアソーム系を活用する蛋白質分解医薬品の臨床開発が進んでいる¹³⁾。核酸医薬品と蛋白質分解医薬品は開発上の課題(開発スピード、デリバリーなど)を互いに補完する関係にあり、今後、がん種の特徴に応じた使い分けなど協調的に発展していくことが期待される。

前述のとおり、世界的にはがんを対象とした核酸医薬品の開発が数多く行われているが、日本においては、がんを対象とした開発品の割合が比較的少ない印象を受ける。これはがんを専門とする医師・研究者が核酸医薬品に関する基礎知識を得る機会に乏しく、核酸医薬品の現在の技術レ

ベルや優位性が知られていないためと考える。本稿により核酸医薬品の認知度が高まり、日本におけるがん標的核酸医薬の開発の機運が少しでも高まっていけば幸いである。

謝 辞

本稿を執筆するにあたり、大阪大学大学院薬学研究科の小比賀聡氏、東京大学大学院理学系研究科の程久美子氏、ルクサナバイオテックの佐藤秀昭氏に多くの御助言を賜りました。また、本稿の図3、図4および表3は、シード・プランニング社が「2019年版 世界の核酸医薬品開発の現状と将来展望」(文献3)において調査したデータの一部を提供して頂き、作成したものです(筆者が独自に調査したデータを含めて一部改変)。この場を借りて深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 井上貴雄. 概論 - 核酸医薬 オリゴ核酸が生み出す多彩な機能. 実験医学. 2019 ; 37 : 2-7.
- 2) 藤原将寿, 中村義一. アプタマーの医薬品開発 進化分子工学に基づいたSELEX法によるスクリーニングと創製. 実験医学. 2019 ; 37 : 21-5.
- 3) 小椋山康司, 石井健. CpGオリゴデオキシヌクレオチドの開発動向. 実験医学. 2019 ; 37 : 26-33.
- 4) 2019年版 世界の核酸医薬品開発の現状と将来展望. 東京 : 株式会社シード・プランニング ; 2019.
- 5) Obika S, Nanbu D, Hari K, et al. Synthesis of 2'-O,4'-C-methyleneuridine and -cytidine. Novel bicyclic nucleosides having a fixed C3, -endo sugar pucker. Tetrahedron Lett. 1997 ; 38 : 8735-8.
- 6) 山口卓男, 小比賀聡. アンチセンス核酸医薬の開発動向 作用メカニズムから分子設計戦略まで. 実験医学. 2019 ; 37 : 8-14.
- 7) Ito KR, Obika S. Comprehensive Medicinal Chemistry. 3rd Edition. Elsevier ; 2017 p.216-32.
- 8) 橋本泰昌, 武田伸一, 青木吉嗣. アンチセンス医薬開発の最前線 (2) 神経・筋疾患に対するアンチセンス医薬品. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2019 ; 50 : 142-9.
- 9) 山田陽史. siRNA医薬の開発動向 その課題と克服のための要素技術. 実験医学. 2019 ; 37 : 15-20.
- 10) Sunami K, Ichikawa H, Kubo T, et al. Feasibility and utility of a panel testing for 114 cancer-associated genes in a clinical setting : A hospital-based study. Cancer Sci. 2019 ; 110 : 1480-90.
- 11) Prior IA, Lewis PD, Mattos C. A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. Cancer Res. 2012 ; 72 : 2457-67.
- 12) Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics : towards a new era for the management of cancer and other diseases. Nat Rev Drug Discov. 2017 ; 16 : 203-22.
- 13) 大岡伸通, 内藤幹彦. 標的タンパク質を分解する新たな低分子薬の開発技術. 実験医学. 2018 ; 36 : 3125-32.