［医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス，PMDRS，50(1)，12～22（2019)］

SERIES アンチセンス医薬開発の最前線 （1）

アンチセンス医薬開発の潮流

井上 貴雄*

Current Status of Development of Antisense Oligonucleotide Therapeutics

Takao INOUE*

1. はじめに

アンチセンス医薬品は近年注目を集めている核酸医薬品の中でも最も開発が進んでいるモダリティであり，2018年10月までに5品目が承認されているほか，現在も多くのアンチセンス医薬候補品について臨床試験が進められている．アンチセンスは最もシンプルな短鎖の1本鎖オリゴ核酸であるが，修飾核酸技術等の進展により安定性と有効性が飛躍的に向上しており，また，シンプルであるがゆえに，RNAとの相補鎖形成の特性をうまく利用し，作用機序の異なる医薬品が創出されている．

対象疾患としては，アンメット・メディカルニーズの強い遺伝性疾患に対する開発が先行している．例えば，2017～2018年にかけて承認された二つのアンチセンス医薬品nusinersen（商品名：Spinraza®）並びにinotersen（商品名：Tegsedi®）は，それぞれ脊髄性筋萎縮症及び遺伝性異型トランスサイレチン（ATTR）アミロイドーシスと呼ばれる治療法に乏しい遺伝性神経疾患に対して開発されたものであり，前者はmRNA前駆体を標的としたスプライシングの制御，後者はmRNAを標的としたRNAの切断という異なる機序で作用する．nusinersenについては国内初のアンチセンス医薬品として承認され，その高い治療効果が国内の学会でも報告され，注目を集めている．

以上のようなアンチセンス医薬開発の進展を踏まえ，本誌「医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス」では，2019年の幕開けを飾る新連載として，「シリーズ：アンチセンス医薬開発の最前線」が企画された．第1弾となる本稿では，アンチセンス医薬品の作用機序と世界的な開発動向を概説すると共に，アンチセンス医薬開発の今後の展望について，アンチセンスと競合/共存しうる他のモダリティにも触れながら考察する．シリーズ第2回以降は，国内においてアンチセンス医薬品の研究開発を牽引されている青木吉嗣氏（国立精神・神経医療研究センター），斯波真理子氏（国立循環器病研究センター），中野賢二氏（福岡県赤十字血液センター）に，それぞれ「神経・筋疾患に対するアンチセンス医薬（2019年3月号掲載予定）」，「循環器疾患に対するアンチセンス医薬（2019年5月号掲載予定）」，「がん治療の新たな手法としてのアンチセンス医薬（2019年7月号掲載予定）」について，医師の視点から御自身の研究開発を御紹介いただく．

本稿ではまず，アンチセンス医薬品のイントロダクションとして，核酸医薬品におけるアンチセンス医薬品の位置づけから整理する．

2. 核酸医薬品におけるアンチセンス医薬品の位置づけ

アンチセンス医薬品はsiRNA，アプタマーなどと共に「核酸医薬品」の範疇に分類される．世界的に見ても核酸医薬品の公式な定義は存在しないが，一般には「核酸ある

* 国立医薬品食品衛生研究所遺伝子医薬部第2室（核酸医薬室） 神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-26（〒210-9501）
Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences, 3-25-26, Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa 210-9501, Japan

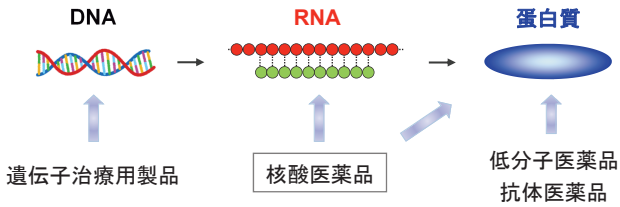
本誌掲載記事の無断転載・翻訳を禁止します．また，無断複写・複製は著作権法上の例外を除き禁止されています．

いは修飾核酸が十～数十塩基連結したオリゴ核酸で構成され，遺伝子発現を介さず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．ここで定めた定義は，同じ核酸で構成される遺伝子治療用製品が「数千塩基以上の天然核酸で構成され，遺伝子発現を介して作用し，生物学的に製造される」ことと対比すると理解しやすい（Table 1）．この核酸医薬品の定義を，現在開発されているアンチセンス医薬品に限定して書き換えると，「修飾核酸が 13 ～ 30 塩基程度連結した 1 本鎖のオリゴ核酸で構成され，相補的二重鎖形成により直接 RNA に作用するもので，化学合成により製造される医薬品」となる（Fig. 1）．定義としては，「修飾核酸」や「13 ～ 30 塩基長」に限定する必要はないが，安定性等を付与するため，現在臨床開発されている全てのアンチセンスに修飾核酸が用いられており，また，有効性，安全性，製造コスト等の観点から，塩基長については現実的には 13 ～ 30 塩基長が採用されている．

Table 1　核酸医薬品と遺伝子治療用製品の比較

項目	核酸医薬品	遺伝子治療用製品
本体	オリゴ核酸	プラスミドベクター又はウイルスベクター（DNA 又は RNA ゲノムをもつウイルス粒子）
塩基長	10-50 塩基程度	数千塩基以上
作用機序	オリゴ核酸が直接作用	遺伝子発現により産生された蛋白質が作用（RNA が作用するケースもある）
製造	化学合成	生物学的に製造（遺伝子組換え技術を用いて細胞で製造）
特徴	修飾核酸を含む	修飾核酸は含まない

アンチセンス医薬品は従来の低分子医薬品や抗体医薬品では標的にできなかった「RNA」に作用して機能する点が大きな特色である（Fig. 1, Table 2）．RNA を標的とする核酸医薬品としては他に siRNA と miRNA が知られているが，これらの医薬品は共に RISC（RNA-induced silencing complex）複合体に認識される必要があることから，基本骨格が 20 数塩基の 2 本鎖 RNA に限定され（Fig. 1, Table 2），アンチセンスに比べると修飾核酸を導入しにくい．また，標的となる RNA 分子も mRNA に限定される（Table 2）．一方，アンチセンスは標的 RNA と適切に相補結合できればよく，構造的な自由度が高い．標的についても，蛋白質をコードする pre-mRNA，mRNA に留まらず，近年，生理機能の解明が進んでいる非コード RNA（miRNA，long noncoding RNA 等）も対象とすることが可能であり（Table 2），今後の RNA 研究の進展と共に創



	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	13-30	20-25	20-25	20 程度	26-45	20 程度
標的	RNA	RNA	RNA	転写因子（蛋白質）	蛋白質	TLR9（蛋白質）

Fig. 1　核酸医薬品の作用点と分類

Table 2　RNA を標的とする核酸医薬品の分類

	アンチセンス			siRNA	miRNA
分類	RNA 分解型（Gapmer）	スプライシング制御型（SSO）	miRNA 阻害型		
標的	pre-mRNA mRNA	pre-mRNA	miRNA	mRNA	mRNA
作用部位	核内	核内	細胞質	細胞質	細胞質
原理	RNase H との複合体形成	立体障害	立体障害	Argonaute(RISC)との複合体形成	Argonaute (RISC)との複合体形成
作用機構	RNA の分解	pre-mRNA とスプライシング因子の結合阻害	miRNA と mRNA の結合阻害	mRNA の分解	翻訳の阻害

No reproduction or translation of articles in this journal without permission. Moreover, copy or reproduction without permission is prohibited except for exception under copyright laws.

薬対象が大きく拡大していくことが期待される．後に詳述するように，作用機序についてもRNA分解，スプライシング制御，miRNA阻害と多彩であり（Table 2），病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アプローチも可能である．

3. アンチセンス医薬品の基本的性質

アンチセンス医薬品の分子量は6,000–10,000程度であり，一般的な低分子医薬品（＜500）と比較するとはるかに大きい．一方で，抗体医薬品（～15万）あるいは次世代型の改変抗体（＞2万）よりは小さいため，蛋白質間相互作用（PPI）を阻害する特殊ペプチド等の医薬品（1,500–4,000）と共に，「中分子医薬」とも称される．アンチセンス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，アンチセンスには核酸間の結合部に負電荷を有するリン酸ジエステル結合が存在することから，分子全体としては水溶性の高い中分子であり，基本的には生体膜を通過しにくい．この課題に対し，現在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アート修飾（S化）が施されている（Fig. 2A, Table 3）．S化されたオリゴ核酸（Sオリゴと呼ばれる）は蛋白質との親和性が向上し，脂溶性も増すことから，細胞膜へのアンカリング並びに膜透過性が亢進する．また，S化はヌクレアーゼ耐性の獲得に大きく寄与しており，生体内における安定性が顕著に改善される．アンチセンス医薬品ではこのS化に加えて，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（Fig. 2, Fig. 3, Table 3：後述）．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等のキャリアを用いずにそのまま生体に投与しても，「移行効率は限定的ではあるが，標的RNAに対する作用が十分に確認できるだけの量のアンチセンス」が細胞内に導入され，有効性を発揮する．

上記のように，修飾核酸技術の進展により，アンチセンス医薬品の安定性並びに有効性は飛躍的に向上しており，現在では皮下注，静注などの全身投与が可能となっている．全身投与されたアンチセンスの分布は，組織内の毛細血管の内皮細胞の構造に依存するとされている．具体的には，毛細血管の内腔を裏打ちする内皮細胞のシート構造が緩く，内皮細胞間に一定の間隙がある肝臓，腎臓，脾臓，骨髄，固形がん等の組織に集積しやすい．

4. アンチセンス医薬品の開発動向

2018年10月現在，米国あるいは欧州で承認／上市された核酸医薬品は8品目であるが，このうち，アンチセンス

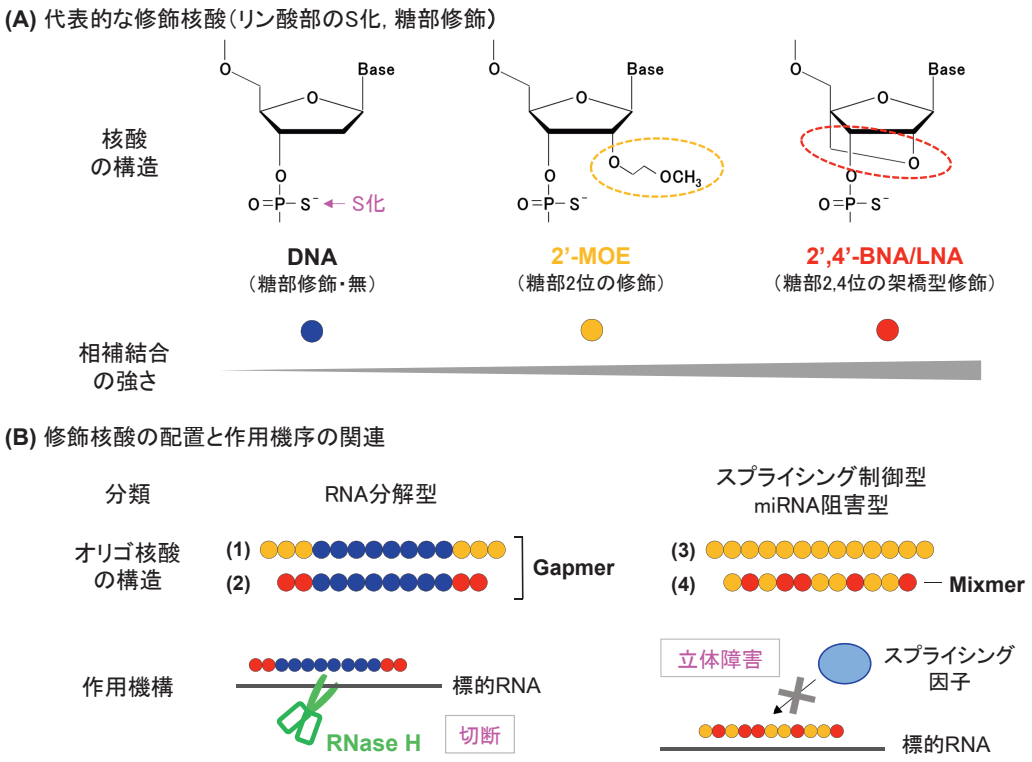


Fig. 2　アンチセンス医薬品に用いられる修飾核酸と作用機構

本誌掲載記事の無断転載・翻訳を禁止します．また，無断複写・複製は著作権法上の例外を除き禁止されています．

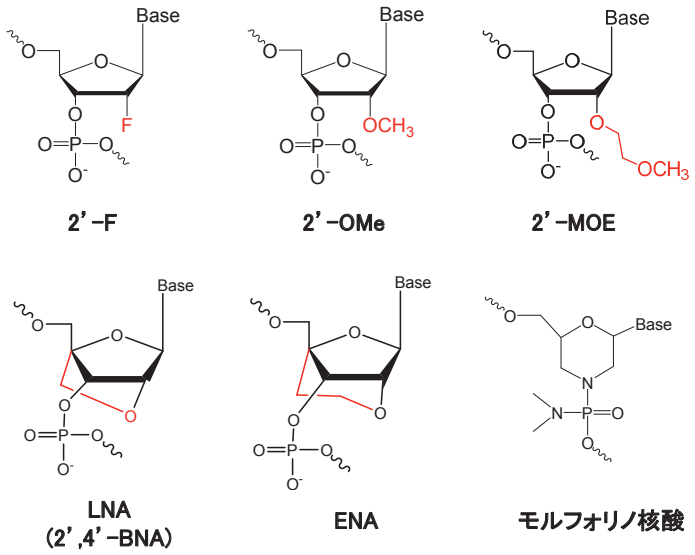


Fig. 3　代表的な糖部修飾核酸とモルフォリノ核酸の構造

Table 3　これまでに上市された核酸医薬品（2018 年 10 月現在）

商品名	一般名	分類	塩基長 (DDS 等)	化学修飾	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)	滲出型 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	SMN2 pre-mRNA	脊髄性筋萎縮症	髄腔内
注 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	TTR mRNA	遺伝性 ATTR アミロイドーシス	静脈内

注 HEPLISAV-B® は B 型肝炎ウイルス表面抗原 (HBsAg protein)とアジュバントとして添加された CpG オリゴ (CpG1018)の合剤であるが，オリゴ核酸で構成される CpG1018 を核酸医薬とみなして本表に組み込んだ．なお，Defibrotide (Defitelio) もオリゴ核酸で構成される医薬品であるが，本稿における核酸医薬品の定義 (化学合成品)から外れるため，ここでは除外している．

医薬品は fomivirsen (商品名：Vitravene®，21 塩基長，分子量 7,122)，mipomersen (商品名:Kynamro®，20 塩基長，分子量 7,595)，eteplirsen (商品名：Exondys 51®，30 塩基長，分子量 10,306)，nusinersen (商品名：Spinraza®，18 塩基長，分子量 7,501)，inotersen (商品名：Tegsedi®，20 塩基長，分子量 7,601) の 5 品目であり，国内で承認されているアンチセンス医薬品は nusinersen の 1 品目のみである (Table 3)．

特許庁がまとめた調査によると，臨床試験段階にあるアンチセンス医薬候補品は 2015 年 10 月時点で世界で 68 品目存在している[1]．疾患分野としては神経・筋 (24%)，がん (22%)，内分泌・代謝系 (16%)，皮膚 (10%)，感染症 (9%)，眼 (6%) などの分類になっており，遺伝性疾患並びに難治性疾患を対象とするものが多い[1,2]．冒頭に脊髄性筋萎縮症や遺伝性 ATTR アミロイドーシスに対するアンチセンス医薬品の承認例 (nusinersen 及び inotersen) を挙げたように，近年では神経疾患に対する開発も増加する傾向がある．

No reproduction or translation of articles in this journal without permission. Moreover, copy or reproduction without permission is prohibited except for exception under copyright laws.

5. アンチセンス医薬品の分類と修飾核酸

アンチセンス医薬品にはRNA分解型，スプライシング制御型，miRNA阻害型の三つのタイプが存在する．それぞれのアンチセンスが標的とするRNA分子，細胞内での作用部位，作用原理並びに作用機構をTable 2に示す．RNA分解型は文字どおり，内在的なヌクレアーゼ（RNase H）を利用して標的RNAを切断/分解するが，スプライシング制御型とmiRNA阻害型については標的RNAに結合して，本来結合すべき分子と標的RNAとの相互作用を立体障害によりブロックする．現在開発されているアンチセンス医薬品を構造的に分類すると，その多くは修飾核酸が連結したオリゴ核酸であるが，リボースの代わりにモルフィリン環を有する核酸アナログ（モルフォリノ核酸：Fig. 3）が連結したモルフォリノオリゴもアンチセンス医薬品として開発されている．このモルフォリノアンチセンスは上述の立体障害のみで作用し，RNase Hを介したRNA切断はできない．一方，前者の「修飾核酸が連結したアンチセンス」については，修飾核酸の配置を工夫することにより，RNA分解あるいは立体障害の機序を付与することができる（Fig. 2B）．

モルフォリノアンチセンスを除くと，現在，臨床試験段階にあるアンチセンス医薬品はリン酸部がS化されたSオリゴであるが，これをベースとして，更に糖部にも化学修飾が導入されている．糖部修飾核酸（Fig. 3）は大きく分けて，糖部の2’位を修飾した核酸（Fig. 2A：オレンジ）と2’位と4’位を架橋した架橋型核酸（Fig. 2A：赤）の二つに分類することができる．2’位を修飾した核酸としては2’-F，2’-OMe，2’-MOEなどがあり（Fig. 3），これらをオリゴ核酸に導入すると相補鎖との結合力が強くなる．架橋型核酸は「揺らぎのある糖部の立体配座を架橋により固定化する」というコンセプトで開発されたものであり，その結合力は2’位を修飾した核酸を導入した場合と比べてはるかに強い（Fig. 2A）．架橋型核酸は1997年に大阪大学薬学部の今西，小比賀らによって報告された2’,4’-BNA/LNAが最初の例である（Fig. 3）[3]．その後もENA，AmNA，GuNA，scpBNAなど改良を加えた架橋型核酸が開発されており[4,5]，現在でも日本が世界をリードしている．以降の項では，RNA分解型，スプライシング制御型，miRNA阻害型のそれぞれについて，修飾核酸と作用機序の関連を概説し，この中で既承認のアンチセンス医薬品がどこに位置づけられるかを紹介したい．

5.1 RNA分解型アンチセンス（Gapmer型アンチセンス）

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が配置され，中央のGap領域には糖が修飾されていないDNAが用いられる（Fig. 2B：左）．このアンチセンスが標的RNAと結合すると，「DNAとRNAの2本鎖を認識してRNA鎖を切断するエンドヌクレアーゼ」であるRNase Hが，Gap領域に形成されるDNA/RNAの2本鎖を認識し，RNA鎖を切断する．このように，RNA分解型アンチセンスにはDNAで構成される“Gap”が存在することから，一般に「Gapmer」と呼ばれている．Gapmerは疾患の原因となる蛋白質そのものを減少させるという，従来の医薬品にはないコンセプトでの治療が可能になることから，アンチセンス医薬開発の主流となっている．

既に承認されているmipomersen及びinotersenは共に20塩基長のGapmerであり，Wing領域に2’-MOEが5塩基ずつ導入された「5+10+5」でデザインされている（Table 3）．これらのGapmer型アンチセンスは共に皮下投与（リンパ管から吸収され全身に作用する全身性投与の一つ）されるが，上述のように全身性に投与されたアンチセンスは肝臓に集積する傾向があり，肝臓に発現するApoB-100 mRNAあるいはトランスサイレチン（TTR）mRNAを分解することで有効性を発揮する（Table 3）．Wing領域に2’-MOEより結合力の強い架橋型核酸を用いた場合，塩基長が短くてもアンチセンスと標的RNAの結合力は維持されると考えられる〔Fig. 2B：(1)と(2)の概念図〕．例えば，Isarna社が開発するアンチセンスISTH0036は，Wing領域に2’,4’-BNA/LNAが3塩基ずつ導入された「3+8+3」=14塩基長のGapmerでデザインされている．なお，RNase Hは種・組織・細胞を超えて普遍的に発現しているため，Gapmerの標的組織/細胞を制約しない．また，RNase Hは主に核に発現していることから，標的組織に到達したGapmerは細胞膜並びに核膜を通過して，核内で機能していると考えられている（Table 2）．

国内におけるGapmerの開発においては，日本に優位性のある架橋型核酸が主に用いられている．その具体例として，本誌2019年5月号（斯波真理子氏）及び7月号（中野賢二氏）において，「肝臓」並びに「がん」に対するGapmerの開発状況を紹介して頂く．「シリーズ：アンチセンス医薬開発の最前線」を是非ご覧頂きたい．

5.2 スプライシング制御型アンチセンス

Gapmer型アンチセンスが標的RNAを切断するのに対し，スプライシング制御型アンチセンスは，mRNA前駆体（pre-mRNA）に結合し，スライシング因子とpre-mRNAの結合を阻害する（Table 2, Fig. 2B：右）．スプライシングを促進あるいは抑制するスライシング因子を立体

本誌掲載記事の無断転載・翻訳を禁止します．また，無断複写・複製は著作権法上の例外を除き禁止されています．

的に阻害することより，特定のエクソンが mRNA に取り込まれるか否かを制御することが可能となり，これによりコドンの読み枠を正常化し，機能的な蛋白質を新たに発現させる．スプライシング制御型アンチセンスはスプライシングのパターンを変化させるため，Splice-switching oligonucleotide (SSO) と呼ばれる．スプライシング制御型アンチセンスには，特定のエクソンを mRNA から排除する「エクソンスキップ」と特定のエクソンを mRNA に取り込む「エクソンインクルージョン」の機序が知られており，前者については eteplirsen，後者については nusinersen が既に上市されている (Table 3)．

5.2.1　エクソンスキップの機序で作用するスプライシング制御型アンチセンス

eteplirsen は，デュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因遺伝子であるジストロフィン遺伝子の pre-mRNA を標的とするアンチセンス医薬品である (Table 3)．デュシェンヌ型筋ジストロフィーの疾患では，79 のエクソンから構成されるジストロフィン遺伝子がエクソン単位で欠失する症例が多く，この結果，筋細胞の維持に必須であるジストロフィンが生成しない．eteplirsen はデュシェンヌ型筋ジストロフィー疾患の中で最も頻度の高い「エクソン 50 欠損」の遺伝子型 (患者の約 13% を占める) を対象としている．Fig. 4 に示すように，エクソン 50 が欠失した病態では，「エクソン 49 と 51 が連結した mRNA」が生じ，エクソン 51 以降で読み枠がずれることにより，C 末側が欠失したジストロフィンが生じ，速やかに分解される．この疾患に対し，エクソン 51 と相補的に結合するアンチセンス (eteplirsen) を導入すると，スプライシングを促進する蛋白質と pre-mRNA の結合が阻害され，エクソン 51 が mRNA から排除 (すなわち“スキップ”) される．これにより生じる「エクソン 49 とエクソン 52 が連結した mRNA」は読み枠が合い，結果として，「エクソン 50, 51 にコードされるアミノ酸は欠失しているが，C 末端までインフレームで翻訳された少し短いジストロフィン蛋白質」が生成する．ジストロフィンは N 末側と C 末側のモチーフが機能発現に必須であるが，繰り返しモチーフである中央部は多少抜けても機能が保持されるため，筋機能が回復する (Fig. 4)．

eteplirsen は前述したモルフォリノ核酸で構成されており，その結合様式はリン酸ジエステル結合ではなく，ホスホロジアミダート結合である．このため，ヌクレアーゼの標的とはならず，生体内で安定であり，また，細胞毒性が極めて低いという利点を有する．eteplirsen は 2016 年に米国の迅速承認制度に基づき承認 (accelerated approval) されているが，これは「仮免許」に相当し，市販後に臨床上の有用性を確認することが最終的な承認の条件とされている．

国内においても，eteplirsen と同様にエクソンスキップの機序で機能するモルフォリノアンチセンスが開発されている．このモルフォリノアンチセンスはジストロフィン遺伝子のエクソン 53 を標的としており，2018 年 10 月現在，国内発のアンチセンス医薬品としては最も開発が進んでいる．詳細については，本誌 2019 年 3 月号に掲載される青木吉嗣氏の「シリーズ：アンチセンス医薬開発の最前線」をご覧頂きたい．

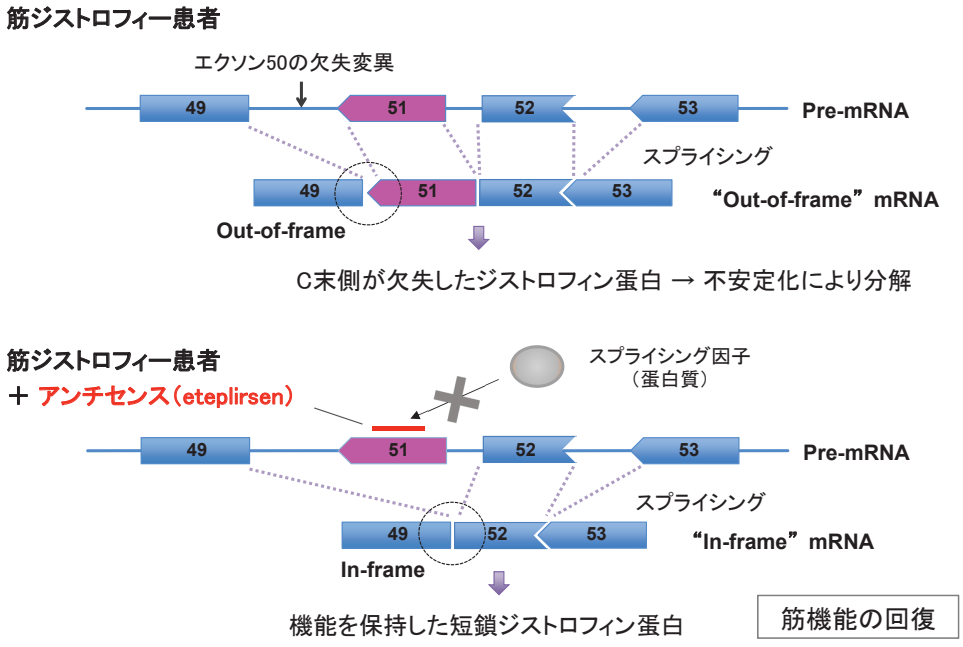


Fig. 4　スプライシング制御型アンチセンスによるエクソンスキップ療法の例 (eteplirsen)

No reproduction or translation of articles in this journal without permission. Moreover, copy or reproduction without permission is prohibited except for exception under copyright laws.

5.2.2　エクソンインクルージョンの機序で作用するスプライシング制御型アンチセンス

nusinersen の承認（Table 3）は，「これまで根本的な治療法が存在しなかった脊髄性筋萎縮症に対する初めての治療薬の誕生」という観点から注目を集めた．その作用機序は進化的に不要になった遺伝子の機能をアンチセンスを用いて復活させるというもので，これまでの医薬品にはない斬新なストラテジーである．このコンセプトを Fig. 5 に示す．*SMN1*（survival of motor neuron 1）遺伝子は神経細胞の核に存在するアポトーシス抑制蛋白質をコードしており，そのホモ欠損は重度の運動ニューロン疾患（脊髄性筋萎縮症）を引き起こす．ヒトには *SMN1* 遺伝子に隣接し，*SMN1* と配列がほぼ同一である *SMN1* 遺伝子のコピー（*SMN2* 遺伝子）が存在する．*SMN1* に由来する mRNA はエクソン 1 から 8 で構成されており，これにより機能的な SMN1 蛋白質が生じる（Fig. 5, 健常人）．一方，*SMN2* はエクソン 7 上の塩基配列の違い（C → T）により，スプライシングが変化しており，「エクソン 7 が含まれない mRNA」が優先的に生成する．エクソン 7 が含まれない mRNA から生じる SMN2 蛋白質はフレームシフトより C 末側が欠失することから不安定であり，機能しない．すなわち，健常人では SMN1 が機能しており，SMN2 が十分に機能しなくても問題が生じない（Fig. 5, 健常人）．nusinersen は *SMN1* 欠損患者において，*SMN2* 遺伝子の機能を回復させることを意図して設計されている．具体的には，*SMN2* pre-mRNA のエクソン 7 に近接するイントロンに相補結合するようにデザインされており，これにより *SMN2* のスプライシングが変化し，*SMN2* mRNA にエクソン 7 が組み込まれる（すなわち，“インクルージョン”される）．この結果，*SMN1* 欠損患者において SMN1 蛋白質の欠損を補完する機能的な SMN2 蛋白質を発現し，病態が改善される（Fig. 5, *SMN1* 欠損患者 + アンチセンス）．

nusinersen については，リスク・ベネフィットの観点から比較的早い判断がなされ，2016 年 12 月の米国を皮切りに，欧州，日本においても短期間のうちに承認がなされた（Table 3）．

5.2.3　スプライシング制御型アンチセンスにおける修飾核酸の配置

スプライシング制御型アンチセンスは内在的な RNA を活かして機能的蛋白質を発現させるため，pre-mRNA を切断することなく pre-mRNA に結合することが重要であり，構造としては Gap 領域が生じないように修飾核酸が配置される．上述の nusinersen は全ての核酸が 2’-MOE 化された S オリゴである（Fig. 2B：(3) の概念図）．第一三共はジストロフィン遺伝子のエクソン 45 を標的としたエクソンスキップ型アンチセンス医薬 DS-5141b を開発している．DS-5141b は結合力の強い架橋型核酸 ENA と糖部 2 位を修飾した 2’-OMe が“Mix”された Mixmer の構造を有しており（Fig. 2B：(4) の概念図），国内において臨床試験が進行中である．

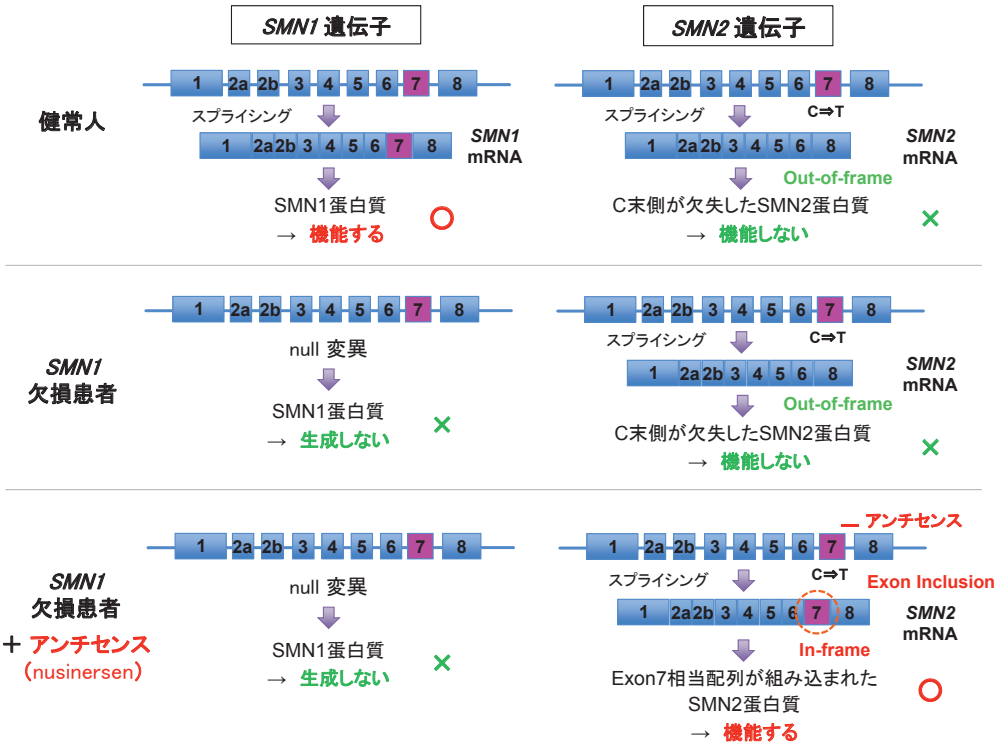


Fig. 5　スプライシング制御型アンチセンスによるエクソンインクルージョン療法の例（nusinersen）

本誌掲載記事の無断転載・翻訳を禁止します．また，無断複写・複製は著作権法上の例外を除き禁止されています．

スプライシング制御型アンチセンスの塩基長の設定については，Gapmer と同様に標的 RNA との結合力に依存する部分が大きい．糖部修飾核酸を搭載した S オリゴである nusinersen と DS-5141b は共に 18 塩基長であるが，糖部修飾核酸より結合力が弱い傾向にあるモルフォリノ核酸を用いた eteplirsen は 30 塩基長である（Table 3）．モルフォリノアンチセンスを除外して考えると，現在開発されているアンチセンス医薬品の塩基長は，Gapmer も含めて，おおよそ 20 塩基長以下である．塩基長の下限については，アンチセンスの安全性と密接に関与してくる．すなわち，アンチセンスの塩基長を短くしていくと相補結合する遺伝子の数が増大するため[6]，オフターゲット効果に起因する毒性への懸念が高まる．この観点に基づき，塩基長の下限について検討がなされていると考えられ，おおむね 14 塩基程度が一つの目安になっていると推定される．

5.3　miRNA 阻害型アンチセンス

非コード RNA の一つである miRNA は 20 数塩基の短い一本鎖 RNA で，主に mRNA の 3’ 非翻訳領域に結合することで，mRNA の機能を阻害する．miRNA の機能発現に関与する分子機構は siRNA の分子機構と重複している．すなわち，ゲノム DNA から転写された pri-miRNA が二段階の切断を受けて生成する 2 本鎖 RNA は，人工的に合成・導入される siRNA と相同であり，以降は共通の分子基盤を介して作用する．pri-miRNA から生じた 2 本鎖 RNA は siRNA と同様に RISC 複合体に取りこまれた後，相補鎖であるパッセンジャー鎖が除かれて，1 本鎖ガイド鎖（＝miRNA）が RISC 複合体に残る．この複合体が miRNA と相補的な mRNA を認識し，主に mRNA の翻訳抑制を引き起こす（Table 2）．miRNA と標的 mRNA の結合部位にはミスマッチなどの不適合性が許容されることが知られており，これにより一つの miRNA が多くの標的 mRNA の発現を調節できると考えられている．

近年，miRNA と病態の関連が次々に明らかにされており，miRNA の機能を増強あるいは阻害することを意図した核酸医薬品の開発が行われている[7]．この中で，アンチセンスは miRNA の機能を阻害するツールとして利用可能であり，医薬品としての研究開発が行われている．具体的には，標的 miRNA と相補的に結合するアンチセンスを導入し，miRNA と miRNA の標的 mRNA の結合を立体障害にブロックする（Table 2）．miRNA は標的 mRNA の翻訳を抑制するため，miRNA 阻害型アンチセンスの導入により，miRNA の標的分子の発現を上昇させることができる．miRNA 阻害型アンチセンスの中で臨床試験が進んでいるものは，miR-17 標的（RGLS4326，Regulus 社，常染色体優性多発性嚢胞腎，第 1 相），miR-155 標的（cobomarsen, miRagen 社，皮膚 T 細胞リンパ腫，第 1 相），miR-92a 標的（MRG-110, miRagen 社，慢性虚血性心疾患，第 1 相）などがある．miR-122 標的（C 型肝炎）については，Santaris 社の miravirsen が第 2 相試験で良好な結果が得ていたが，その後，5 年間開発が中断している．また，同じ miR-122 を標的とする Regulus 社の RG-101 は第 1 相試験で開発中止となっている．Regulus 社については，miR-21 標的の RG-012（慢性腎炎等を呈するアルポート症候群，第 2 相）についても中断しており，miRNA 阻害型アンチセンスの開発は継続するものの，対象疾患領域の絞り込みなど方針の転換が行われていると思われる．

6.　アンチセンス医薬品の今後の展望

アンチセンス医薬品はこれまで未開拓であった RNA を標的とする新規モダリティとして，今後も承認品目が増加していくと考えられ，将来的には一定のメディカルニーズに応える領域を確立していくものと期待される．この項では，アンチセンス医薬品と原理的に競合あるいは共存しうる他のモダリティと比較することで，アンチセンス医薬品の今後の展望を考察したい．

6.1　RNA 分解型アンチセンスとの比較

RNA 分解型アンチセンスは疾患の原因となる蛋白質を低減させる医薬品であり，これと同様のコンセプトを持つモダリティとしては，siRNA 医薬品（Table 2, Fig. 6）と蛋白質分解医薬品[8,9]が挙げられる．siRNA 医薬品は核酸医薬品の一種であり，ごく最近，世界初の siRNA 医薬品 patisiran（商品名：Onpattro®）が誕生するなどアンチセンス医薬品と共に開発が大きく進展している．この patisiran（siRNA）と上述の inotersen（アンチセンス）はいずれも遺伝性 ATTR アミロイドーシスを対象疾患としており，同じ TTR の mRNA を分解する（Table 3）．両者の性状並びに第 3 相試験の概要を Table 4 に示した．patisiran は脂質ナノ粒子（LNP：lipid nanopaticle）に封入された製剤で（Fig. 6B），3 週間に 1 回，点滴を行う．一方，inotersen はキャリアを用いず，週に 1 回，皮下に注射される．種々の要因が異なるため，両者を単純に比較することはできないが，投与量，投与間隔，治療効果の点から patisiran（siRNA）の方が有効性が高いと考えられ，一方で，利便性の観点では注射剤の inotersen（アンチセンス）が優位と考えられる．この比較はあくまで inotersen と patisiran の比較であり，アンチセンスと siRNA の優劣を示したものではないが，効き目の観点では，inotersen（アンチセンス）で用いられている 2’-MOE を架橋型核酸に変えることで有効性が大きく向上すると期待され（Fig. 1B），

No reproduction or translation of articles in this journal without permission. Moreover, copy or reproduction without permission is prohibited except for exception under copyright laws.

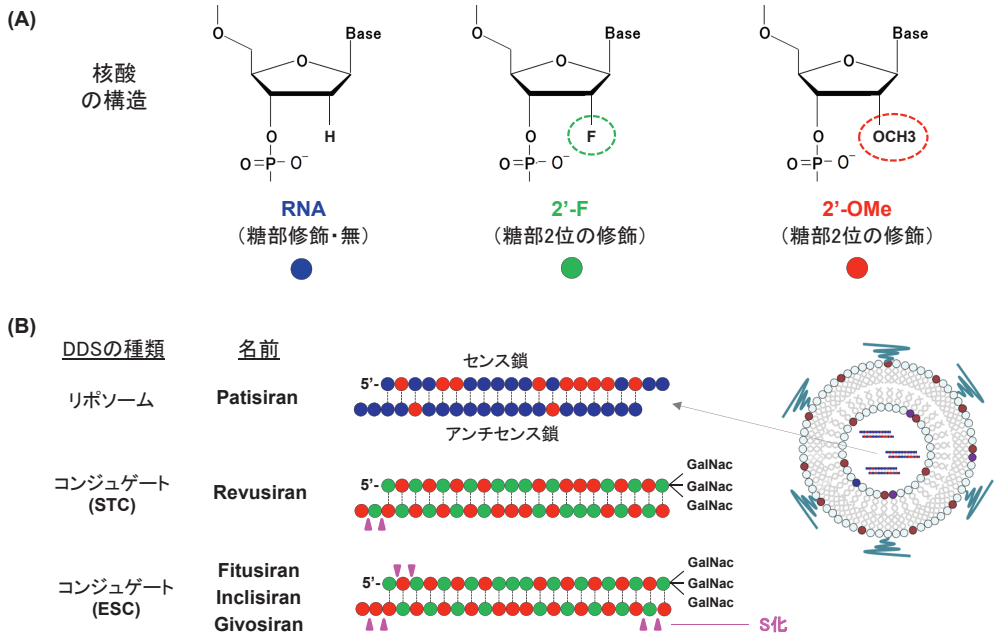


Fig. 6　siRNA 医薬品に用いられる修飾核酸と DDS の例

Table 4　inotersen（アンチセンス）と patisiran（siRNA）の比較

項目	inotersen	patisiran
分類	アンチセンス	siRNA
構造	1 本鎖, 20 塩基長	2 本鎖, 21 塩基長
DDS	なし	脂質ナノ粒子
投与ルート	皮下（注射）	静脈内（点滴）
投与量	284mg	0.3mg/kg (18mg/60kg)
投与頻度	1 週間に 1 回	3 週間に 1 回
評価の時期	66 週目	18 か月目（約 78 週目）
mNIS+7（治療効果）	19.7 ポイントの改善	34.0 ポイントの改善
QOL-DN（治療効果）	11.7 ポイントの改善	21.1 ポイントの改善

参考文献：*N Engl J Med.* 2018, 379(1), p.11-21, *N Engl J Med.* 2018, 379(1), p.22-31.

また，適切なリガンド等でデリバリー機能を付与することでも効果を高めることができると考えられる．実際，アンチセンスに対する新規修飾核酸の導入や DDS 技術の探索が国内外で行われており，アンチセンス医薬品の更なる高機能化が進んでいる．一方，siRNA については，例えば siRNA 医薬開発のリーディングカンパニーである Alnylam 社では，siRNA 活性を保持した修飾核酸の導入とリガンド修飾が検討されており，皮下投与（注射）の siRNA が次々に臨床開発されている（Fig. 6B：GalNAc-conjugated siRNA）．

蛋白質分解医薬品は細胞内のユビキチン・プロテアソーム系を利用して，標的蛋白質を分解に導く低分子医薬品であり，複数の候補医薬品が臨床試験に入っている[8,9]．アンチセンスと比較した際の蛋白質分解医薬品の利点は組織 / 細胞への移行性である．標的の観点では，アンチセンスは mRNA をターゲットにするため，原理的には全ての遺伝子が創薬標的となるが，蛋白質分解医薬品はユビキチン・プロテアソーム系と接点のない分泌蛋白質は標的にできない（例えば，inotersen の標的である TTR は分解できない）．また，アンチセンスは蛋白質をコードしない非コード RNA も標的にすることが可能である．今後，非コード RNA と病態の関連が明らかになっていくことでアンチセンスの優位性が広がっていくと考えられる．

6.2　スプライシング制御型アンチセンスとの比較

近年，RNA を標的とする低分子医薬品の開発が進んでおり[10]，臨床試験に進んでいる開発品の中にはスプライシング制御が作用点となっているものが存在する．上述の nusinersen と同じ作用，すなわち，「*SMN2* 遺伝子のエクソン 7 を mRNA にインクルージョンすることにより，機能的な SMN2 蛋白質を発現させる作用」を有する候補品としては，Roche/PTC 社が開発する Risdiplam（RG7916/

本誌掲載記事の無断転載・翻訳を禁止します．また，無断複写・複製は著作権法上の例外を除き禁止されています．

RO7034067）と Novartis 社が開発する Blanaplam（LMI-070/NVS-SM1）があり，それぞれ第 2/3 相及び第 1/2 相の臨床試験が進められている．いずれも *SMN2* pre-mRNA のスプライシングサイトに形成される RNA 二重鎖の局所的構造と相互作用することで，エクソン 7 のインクルージョンを誘導すると考えられている[11]．これらの医薬品と nusinersen を対比して優位性を考えると，特異性と利便性が論点になると思われる．特異性に関しては，相補鎖形成で標的 RNA を認識するアンチセンスの方が原理が明確であり，特異性も優れていると考えられる．上述の低分子医薬については，RNA-seq を用いた解析により一定の特異性が示されているが[11]，一方で毒性発現が懸念される非特異的なスプライシングが報告されており[12]，今後，特異性に関する更なる基盤研究が必要と考えられる．利便性の観点では，nusinersen が患者への負担が比較的大きい髄腔内投与であるのに対し，低分子医薬は経口薬であり，低分子の方が圧倒的に有利である．この観点はアンチセンスで皮下注等が可能な疾患を選択すれば両者の利便性の差は小さくなると思われる．スプライシングの制御に関して仮にアンチセンスと低分子で同程度の効果が得られると仮定すると，（現時点では）特異性に関する根拠に乏しい低分子医薬については，リスクよりベネフィットが上回る疾患，あるいは，アンチセンスでは治療（送達）できない疾患であれば創薬の対象として検討されやすいと思われる．

スプライシング制御型アンチセンスと同様に立体障害で作用する miRNA 阻害型アンチセンスについては，標的となる miRNA が 20 数塩基と短く，低分子化合物が認識できるような立体構造を取り得ないために，実質的にはアンチセンスでしか阻害できないと考えられる．miRNA に対する創薬については，1 分子標的の分子標的薬が主流の現状において，一つの miRNA 標的で関連する多くの mRNA を同時に制御できる点が特色であり，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．本稿では取り上げなかった miRNA を補充する核酸医薬品を含めて（Table 2），今後，オリゴ核酸ならではの新しい展開が期待される．

7. おわりに

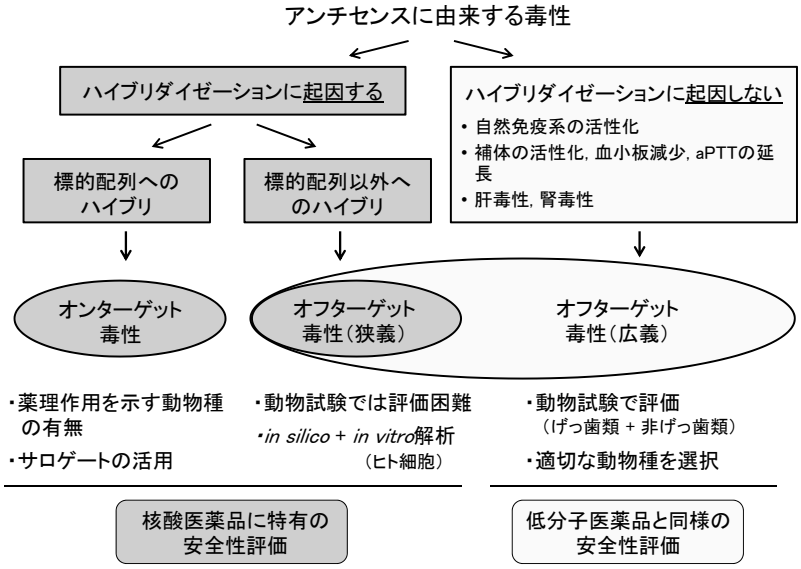
以上，アンチセンスの作用機序と開発動向を紹介し，関連する他のモダリティに触れながら今後の展望を述べた．既に述べた内容と重複する部分もあるが，最後に今後取り組むべき課題をまとめたい．

アンチセンス医薬品の利点は標的遺伝子の RNA 配列に基づき，高い有効性を持つアンチセンス配列を極めて短期間に取得できる点にあり，リード化合物の探索とその後の構造展開に時間を要する低分子医薬と比べると大きなアドバンテージである．また，現状の技術で送達できる組織であれば，十分な効果が期待される．すなわち，速いスピードで開発を進めるための準備は整っており，現実的には「何を標的とするか」がアンチセンス医薬開発の一つのボトルネックになっている．これに対して今後取り組むべきは，「①標的となる RNA 分子を発掘するための基盤整備」である．これには二つの要素があると考える．一つ目は RNA データベースの整備であり，次世代シークエンサー技術を駆使し，完全長 pre-mRNA や非コード RNA を包括的したデータベースを整理すると共に，病態との紐付けを行っていくことが肝要と考える．また，有効性 / 安全性を検証するための動物試験が必要であることを考えると，動物の RNA についてもデータベースの整備が求められる．二つ目は膨大な RNA データの中から，創薬標的を抽出するためのアルゴリズムの開発である．例えば，nusinersen の作用機構を念頭におくと（Fig. 5），仮に病態の RNA データベースがなくても，pre-mRNA データベースの中からスプライシング制御によって正常化することができる遺伝子を抽出することが可能であり，網羅的に，かつ，効率よく探索する技術の確立が望まれる．

アンチセンス医薬品の高機能化に関しては，有効性の向上と安全性の向上の両方の側面が考えられる．有効性に関しては上述のとおり，標的組織 / 細胞に入ってしまえば十分な効果が得られる技術レベルに達しているので，有効性が得られる疾患領域を拡大するという意味で，「②現状では効率よく送達できない組織へのデリバリー技術の確立」が求められる．安全性に関する高機能化は，すなわち，「③毒性を回避する技術の確立」である．アンチセンスは配列によっては毒性が生じるケースがあるが，この毒性は原理的にハイブリダイゼーションに起因する毒性と起因しない毒性に分けられ，前者に関しては主にオフターゲット効果に由来する毒性，後者についてはアンチセンスの物理化学的性質に由来する毒性が懸念されるところである（Fig. 7）[13]．オフターゲット効果については *in silico* 解析で配列を選択することで回避可能と考えられるが，物理化学的性質に基づく毒性に関しては，何らかの蛋白質が介在することが予想されるものの，作用機構が不明な毒性も存在する．この毒性を低減する方法論としては，原因蛋白質との相互作用を阻害する修飾核酸の導入や体内動態を変化させるデリバリー技術が有効と考えられる．

以上に挙げた，①標的となる RNA 分子を発掘するための基盤整備，②現状では効率よく送達できない組織へのデリバリー技術の確立，③毒性を回避する技術の確立，がアンチセンス医薬の開発促進に向けて今後取り組むべき課題の例であり，部分的にではあるが，日本医療研究開発機構

No reproduction or translation of articles in this journal without permission. Moreover, copy or reproduction without permission is prohibited except for exception under copyright laws.



文献13の「Fig. 1 核酸医薬品による毒性の分類」を改変

Fig. 7　アンチセンス医薬品に由来する毒性の分類と安全性評価の考え方

（AMED）等の支援を受けながら既に取り組みが始まっている．本シリーズにより，アンチセンス医薬品の包括的な理解が進み，関連する研究領域との有機的な相互作用が生まれることを期待したい．

文　献

1) 特許庁．平成 27 年度特許出願技術動向調査報告書（概要），核酸医薬．平成 28 年 3 月．http://www.jpo.go.jp/shiryou/pdf/gidou-houkoku/h27/27_11.pdf
2) 世界の核酸医薬品開発の現状と将来展望，2016 年版．（株）シード・プランニング．
3) Obika, S.; Nanbu, D.; Hari, Y.; Morio, K.; In, Y.; Ishida, T.; Imanishi,T. Synthesis of 2′-O,4′-C-methyleneuridine and -cytidine. Novel bicyclic nucleosides having a fixed C_3,-endo sugar puckering. *Tetrahedron Lett.* 1997, **38**, p.8735-8738.
4) Ito K R.; Obika S. Comprehensive Medicinal Chemistry. 3rd Edition, Elsevier, 2017, p.216-232. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12420-5
5) Morihiro, K.; Kasahara, Y.; Obika, S. Biological applications of xeno nucleic acids. *Mol Biosyst.* 2017, **13** (2), p.235-245.
6) Yoshida T.; Naito, Y.; Sasaki, K.; Uchida, E.; Sato, Y.; Naito, M.; Kawanishi, T.;, Obika, S.; Inoue, T. Estimated number of off-target candidate sites for antisense oligonucleotides in human mRNA sequences. *Genes to Cells.* 2018, **23** (6), p.448-455.
7) Rupaimoole, R.; Slack, F.J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2017, **16** (3), p.203-222.
8) 大岡伸道，内藤幹彦．蛋白質分解医薬品の開発動向．医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス．2018, **49** (8), p.513-524.
9) 久保田文；臨床入り目前の標的蛋白質分解誘導薬．日経バイオテク．2018.2.26. https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/report/16/082400016/022100047/
10) 久保田文；低分子薬で核酸を標的に．日経バイオテク．2018.9.24. https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/report/16/082400016/091900064/
11) Sivaramakrishnan, M. *et al*. Binding to SMN2 pre-mRNA-protein complex elicits specificity for small molecule splicing modifiers. *Nat Commun*. 2017, **8** (1), 1476.
12) Ratni, H. *et al*. Discovery of Risdiplam, a Selective Survival of Motor Neuron-2 (SMN2) Gene Splicing Modifier for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy (SMA). *J Med Chem*. 2018, **61** (15), p.6501-6517.
13) ICH S6 対応研究班．核酸医薬の非臨床安全性を考える <3> 核酸医薬品に由来する代謝物の評価．医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス．2015, **46** (8), p.523-527.

本誌掲載記事の無断転載・翻訳を禁止します．また，無断複写・複製は著作権法上の例外を除き禁止されています．