

核酸医薬品の創出に向けた 産官学の取り組み

第 1 回

核酸医薬品の開発動向と 規制整備の現状

Coordinated activities of industry-government-academia for efficient development of
oligonucleotide therapeutics

Part 1

Current Status of Development of Oligonucleotide Therapeutics

国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部

井上貴雄

TAKAO INOUE

Division of Molecular Target and Gene Therapy Products,
National Institute of Health Sciences

はじめに

近年、製薬業界では創薬標的の枯渇が問題となっているが、これに対する戦略の1つとして、新しい機序で薬理作用を発揮する新規モダリティの開拓が活発化している。核酸医薬品はタンパク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(図1)、この数年で急速に実用化が進んでいることから注目を集めている。核酸医薬品は最近まで、「原理的には魅力的だが、実際に医薬品にするのは難しい」という認識が根強かったが、遺伝性疾患を対

象とする複数の既承認核酸医薬品で劇的な治療効果が得られてきたことから、「アンメットメディカルニーズに対応しうる実現可能なモダリティ」という認識に変化してきている。国内においても、有効性、安全性、体内動態等の観点から核酸医薬品を高機能化する優れた技術が開発されており、実用化に向けた動きが加速している。

この背景のもと、本誌『PHARM TECH JAPAN』では、国内における核酸医薬品開発の現状を整理すべく、全12回にわたる連載特集「核酸医薬品の創出に向けた産官学の取り組み」を企画した。本企画では、産官学それぞれの立場から核酸医薬品創出に向けた動きをご執筆いただくが、「学」については特に、日本発の優れた技術を実用化につなげる道筋(ベンチャー設立、企業導出等)について紹介していただく。また、「産」における核酸医薬品への期待と具体的な取り組み、さらには、「官」が主導する規制整備の現状とその考え方についても、最新の動向を解説していただく。第1回となる本稿では、以降の連載の理解を助けるため、核酸医薬品に関する基礎知識をお伝えするとともに、その世界的な開発動向を

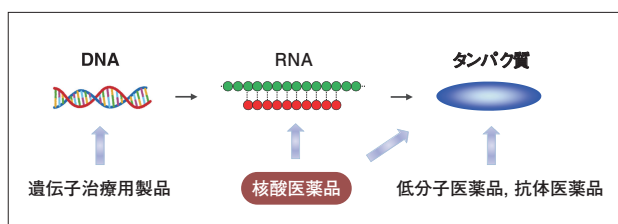


図1 核酸医薬品の作用点

紹介したい。

1. 核酸医薬品の分類

核酸医薬品とは一般に、「(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、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(表 1)。この定義は同じ核酸で構成され

表 1 核酸医薬品と遺伝子治療用製品の比較

項目	遺伝子治療用製品	核酸医薬品
本体	プラスミドベクター or ウイルスベクター	オリゴ核酸
塩基長	数千以上(天然型核酸)	十数～数十(修飾核酸)
製造	生物学的製造	化学合成
作用機序	遺伝子発現により タンパク質が作用	オリゴ核酸が直接作用

表 2 核酸医薬品の分類

	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程度	20程度	20程度	26～45	20程度
標的	mRNA pre-mRNA miRNA	mRNA	mRNA	タンパク質 (転写因子)	タンパク質 (細胞外/細胞 表層タンパク)	タンパク質 (TLR9)
作用部位	細胞内	細胞内	細胞内	細胞内	細胞外	細胞外 (エンドソーム内)

表 3 これまでに上市された核酸医薬品(2019年 8 月現在)

商品名	一般名	分類	塩基長 (DDS等)	化学修飾等	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 (タンパク質)	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®	注CpG1018	CpGオリゴ	22	S化	US 2017	TLR9 (タンパク質)	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 高カイルミクロン血症	皮下

注：HEPLISAV-Bは、B型肝炎ウイルス表面抗原(HBsAg protein)とCpGオリゴ(CpG1018：アジュバントとして添加)の合剤であるが、オリゴ核酸で構成されるCpG1018を核酸医薬品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。

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製品」であることと対照的であり、また、無細胞系で酵素的に合成され、遺伝子発現を介して機能するmRNA製品とも区別できる。核酸医薬品の薬効本体であるオリゴ核酸は生体に備わった機構をうまく活用することで多彩な機能を生み出すことができ、これにより作用機序の異なる多様な核酸医薬品が開発されている¹⁾。臨床開発が行われているものに限定しても、アンチセンス、siRNA、miRNA、デコイ、アプタマー、CpGオリゴ(CpG oligodeoxynucleotides)の少なくとも6種類が存在し(表 2)、このうち、アンチセンス、siRNA、アプタマー、CpGオリゴの4種類がすでに実用化されている(表 3)。オリゴ核酸の作用機序の根底にある基本原理は大きく分けて2つあり、1つはRNAとの相補的な結合、もう1つはタンパク質との結合である(図 1、表 2：標的)。

表4 RNAを標的とする核酸医薬品の分類

分類	アンチセンス			siRNA	miRNA
	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 (lncRNA)	pre-mRNA	miRNA	mRNA (lncRNA)	mRNA
作用部位	核内	核内	細胞質	細胞質	細胞質
原理	RNase H	立体障害	立体障害	Argonaute (RISC)	Argonaute (RISC)
作用機構	RNA 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	RNA 分解	翻訳 阻害

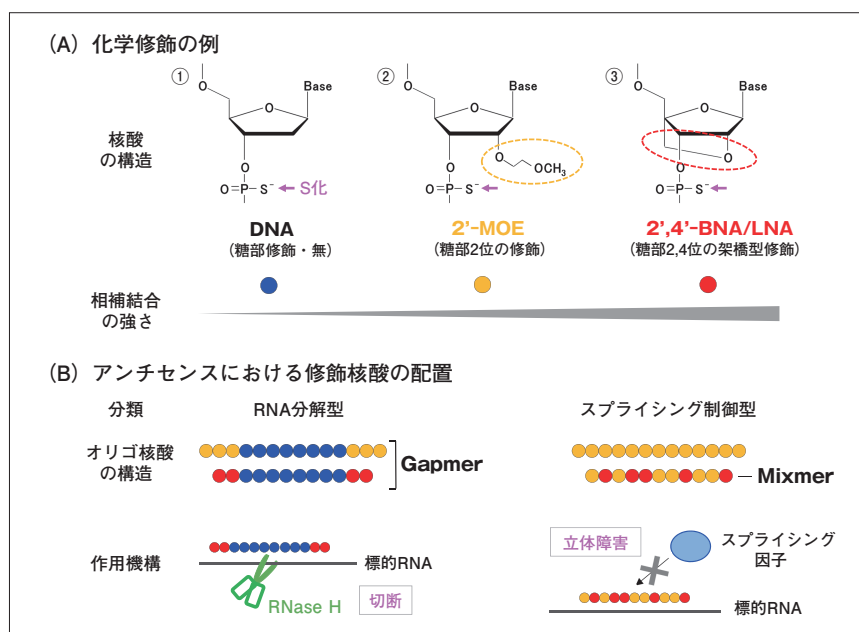


図2 修飾核酸の配置とアンチセンス医薬品の作用機序

(1) RNAを標的とする核酸医薬品(表4)

RNAと相補的に結合して機能する核酸医薬品としては、アンチセンス、siRNA、miRNAの3種類がある。アンチセンス医薬品はpre-mRNA、mRNAおよびmiRNAを標的とするものが臨床開発されており、その作用機序はRNA分解、スプライシング制御、miRNA阻害に分類することができる。RNA分解型アンチセンスは核内に存在するRNase Hと協調的に機能するため、核内に存在するRNAを分解すると考えられている(図2(B)左)。スプライシング制御型アンチセンスならびにmiRNA阻害型アンチセンスについては、RNAとRNA結合分子の結合を立体的に阻害することで機能する。siRNA医薬品はRISC(RNA-induced silencing complex)複合体に含まれるArgonauteを介して標的RNAを切断する。RISC複合体は細胞質に存在するため、siRNAの標的は細胞質に存在するRNAに限定され、mRNAが主な標的である。

miRNA医薬品は病態において低下した内在的なmiRNAを、化学合成したmiRNAで補うというコンセプトで開発が行われている。

以上に述べたRNAを標的とする核酸医薬品は、疾患の原因となるタンパク質を減少させることが可能であり、RNA分解型アンチセンスならびにsiRNAについては特定の標的分子を減少させる。また、miRNA医薬品は複数の標的mRNAと結合して、その翻訳を阻害するため、機能的に関連するタンパク質群を同時に減少させることができる。一方、スプライシング制御型アンチセンスならびにmiRNA阻害型アンチセンスについては、機能的なタンパク質を増加させることが可能である(図3、図4：後述)。このようにタンパク質の量を増減させる手法は従来の低分子医薬品や抗体医薬品では難しかった治療戦略であり、アンメットメディカルニーズに対応しうる核酸医薬品の優位性と捉えることができる。

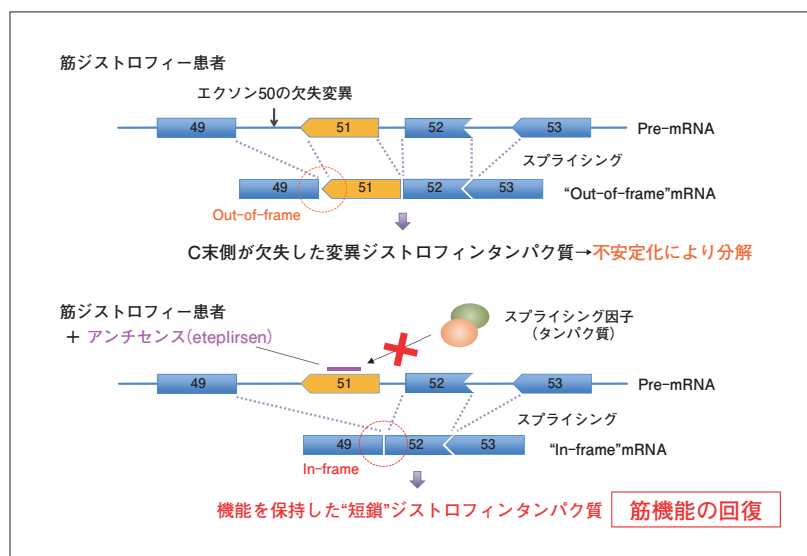


図3 スプライシング制御型アンチセンスの作用機序の例：エクソンスキップ療法

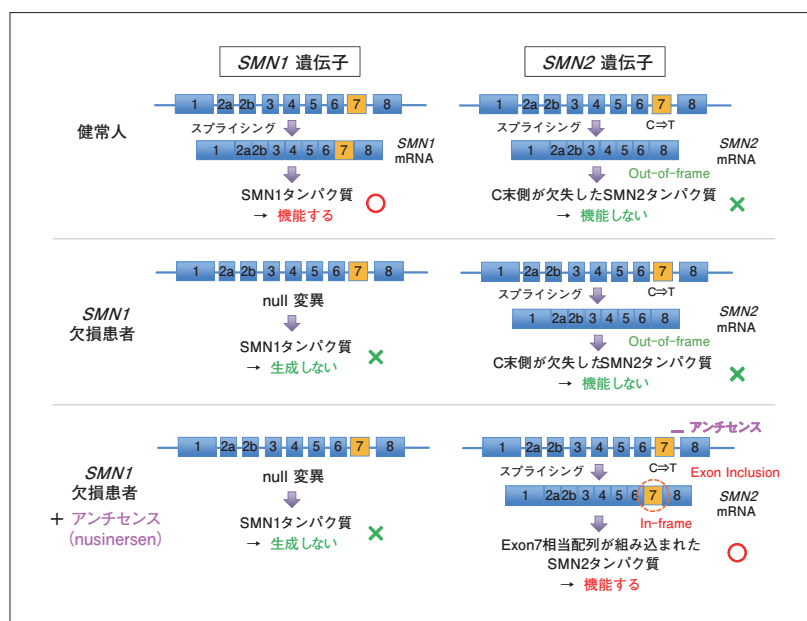


図4 スプライシング制御型アンチセンスの作用機序の例：エクソンインクルージョン療法

(2) タンパク質を標的とする核酸医薬品(表2：青字)

タンパク質に結合して機能する核酸医薬品としては、抗体医薬品と同様の機序で作用するアプタマーが知られており、細胞外あるいは細胞表層タンパク質と結合してその機能を阻害するのが臨床開発されている。デコイは転写因子が結合するプロモーター領域と同じ配列を有する2本鎖DNAであり、細胞内で転写因子と結合して転写を阻害する。CpGオリゴはToll様受容体9 (TLR9)に作用して自然免疫を活性化させる作用を有する。以降では、開発が特に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、その特徴、作用機序、開発

動向を概説する。

2. アンチセンス医薬品の 特徴と開発動向

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ことから、

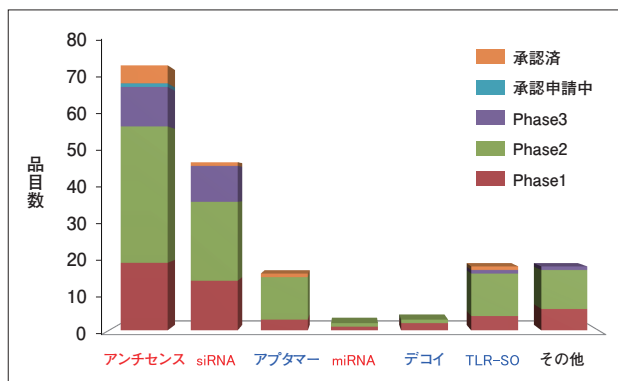


図5 核酸医薬品の開発状況(臨床試験以降：文献2を改変)

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には、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(図2(A)①)。S化されたオリゴ核酸(Sオリゴとよばれる)はタンパク質との結合性が向上し、脂溶性も増すことから、細胞膜との親和性ならびに膜透過性が向上する。また、S化によりヌクレアーゼ耐性が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2(A)②,③)。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3：投与)。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、アンチセンス医薬品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。

以上に述べたように、アンチセンスの実用化には修飾核酸技術の活用が不可欠であるが、この領域の発展にはこれまで日本の研究者が大きく貢献してきたという歴史的経緯がある。本連載では第2回および第3回において、小比賀聡氏(大阪大学)ならびに和田猛氏(東京理科大学)に本邦で開発された優れた修飾核酸技術についてご紹介いただく。

表3に示したように、2019年8月までに承認されたア

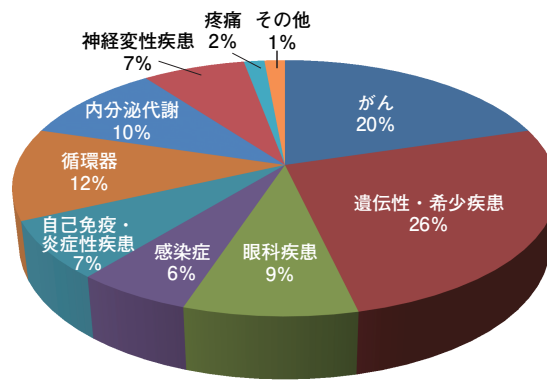


図6 アンチセンス医薬品の対象疾患領域(臨床試験以降：文献2を改変)

ンチセンス医薬品はfomivirsen(Vitravene®), mipomersen(Kynamro®), eteplirsen(Exondys 51®), nusinersen(Spinraza®), inotersen(Tegsedi®), volanesorsen(Waylivra®)の6品目があり、核酸医薬品のなかで最も多く実用化されている。また、臨床試験段階にあるアンチセンス医薬品候補品は2018年12月時点で70程度あり、こちらも核酸医薬品のなかで最も開発数が多い(図5)²⁾。疾患分野としては、遺伝性・希少疾患(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(図6)²⁾、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3)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であると思われる。

これまでに実用化されているアンチセンス医薬品の作用機序はRNA分解型とスプライシング制御型に大別される(表4、図2(B))。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2(B)：●、●)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2(B)：○)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2(B)左)。このように、このタイプのアンチセンスは連続したDNAからなる“Gap”を有することから、一般に「Gapmer」とよばれる。アンチセンス創業のリーディングカンパニーであるIONIS社が開発した3つの既承認アンチセンス(mipomersen, inotersen, volanesorsen：表3)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が5塩基ずつ配置されたGapmerである。この例のように、基本骨格を特定の様式(ここでは、5+10+5=20塩基長の2'-MOE Gapmer)に固定し、その配列を変えるだけで新規の薬剤を迅速に開発できる点が核酸医薬品の利点である。IONIS社における後続品についても、基本骨格を改良する試みは当然あるものの、このコンセプトに基づいた候補品が次々にあがってきており、今後もGapmerの実用化が進むと考えられる(<https://www.ionispharma.com/ionis-innovation/pipeline/>)。なお、国内では2'-MOE GapmerよりRNAとの結合力が強い架橋型核酸(図2(A)③のタイプ)を用いたGapmerの開発が行われている(連載第2回、小比賀聡氏の回を参照)。

スプライシング制御型アンチセンスは、スプライシング因子のpre-mRNAへの結合を阻害することで、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(表4、図2(B)右)。この結果、C末端までが翻訳された機能的なタンパク質を新たに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。

既承認核酸医薬品の例を図3および図4に示す。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 は、ジストロフィン遺伝子のエクソン51(図3：51)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タンパク質を発現させる(エクソンスキップ療法)。一方、脊髄性筋萎縮症に対するアンチセンス医薬品 nusinersen は、神経細胞のアポトーシス抑制タンパク質と考えられているSMN2遺伝子のエクソン7(図4：7)をスプライス“イン”させることにより、機能的なSMN2タンパク質を発現させる(エクソンインクルージョン療法)。いずれの場合も、フレームシフトを起こしたRNAの読み枠を是正することで当該RNAを復活させる手法であるため、アンチセンスには「pre-mRNAを切断し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2(B)右)。種類の異なる核酸を“Mix”して配置したアンチセンスは「Mixer」とよばれる。なお、スプライシング制御型アンチセンスについては、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)を用いたアンチセンスも開発されている。上述の eteplirsen が代表例であり(表3)、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(承認申請準備中)。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おり、連載の第4回において武田伸一氏(国立精神・神経医療研究センター)にその詳細をご紹介いただく。

3. siRNA 医薬品の特徴と開発動向

2本鎖の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(14,000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。例えば、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分解等の作用を発揮するが、siRNAについてはご承知のとおり、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ポリプレックス、高分子ミセル等の送達キャリア(DDS)が必要である。アンチセンス

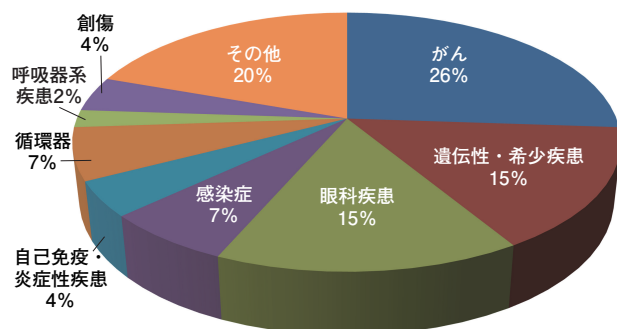


図7 siRNA医薬品の対象疾患領域
(臨床試験以降：文献2を改変)

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。このことからsiRNA医薬品の開発については、siRNA(オリゴ核酸)そのものの高機能化よりも、DDSの開発に係る労力・コストのウェイトが相対的に大きいケースがある。国内におけるsiRNA医薬品の開発についても、DDSに重点をおいた研究が目立っており、産学の双方で優れたDDS技術が開発されている。本連載では第6回および第7回において、片岡一則氏(ナノ医療イノベーションセンター)ならびに石原比呂氏(エーザイ)に、それぞれ高分子ミセルおよび脂質ナノ粒子を用いたsiRNA医薬品の開発についてご紹介いただく。

siRNA医薬品の開発動向については、2018年に世界初のsiRNA医薬品として承認されたpatisiranのほか(表3)、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いる(図5)。疾患分野としては、アンチセンス医薬品と同様にがん(26%)、遺伝性・希少疾患(15%)、眼科疾患(15%)への適応が多い(図7)²⁾。現在臨床開発されているsiRNA医薬品を投与方法とDDSの観点から分類すると、①局所投与(硝子体内、点眼、吸入、皮内等)、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³⁾。

①の例としては、田辺三菱製薬がステリック社から導入した糖硫酸転移酵素15(CHST15)mRNAを標的とするsiRNA医薬品STMN01があげられ、現在、Phase 2の段階にある。STMN01は潰瘍性大腸炎を適応症とし、内視鏡下で粘膜下注射

することが想定されている。局所投与については、現状ではDDSを用いないケースが多い。②については、Alnylam社が開発・上市した先述のpatisiranが好例である。patisiranは脂質ナノ粒子に包含されたsiRNA医薬品であり(図8(B))、静脈内投与により肝臓に到達した後、遺伝性異型トランスサイレチン(ATTR)アミロイドーシスの原因となる変異トランスサイレチン(TTR)のmRNAを切断する。TTRは主に肝臓で発現し、血中に分泌されて機能するタンパク質であるが、TTR遺伝子に特定の変異を有する病態においては、変異TTRタンパク質が繊維状に凝集したアミロイドを生じ、全身の臓器に沈着する。この結果、末梢神経障害、自律神経障害、心筋症等を発症する。patisiranは日本では2019年6月に承認されており、国内においても高い治療効果が得られていることから注目を集めている。③については、Alnylam社によるGalNAc-siRNAの開発を契機に注目を集めることとなった(図8(B):コンジュゲート)。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ジア糖タンパク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、送達キャリアによる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

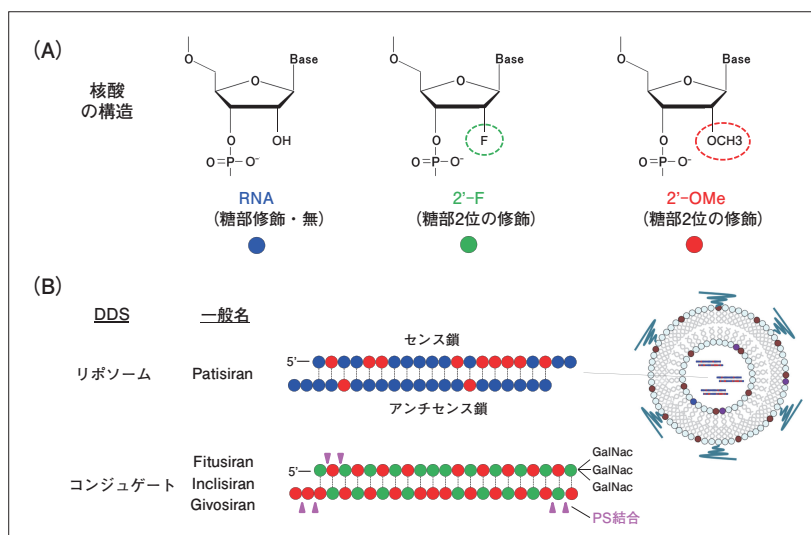


図8 siRNA医薬品に用いられている修飾核酸とDDSの例(Alnylam社)

なるが、GalNAc-siRNAではRISC形成に影響を与えない範囲で糖部修飾核酸が導入されており、また、オリゴ核酸の末端が部分的にS化されている(図8(A),(B):コンジュゲート)。GalNAc-siRNAはすでに複数品目が臨床試験後期の段階にあるが、これらの中にはgivosiran(急性肝性ポルフィリン症)、fitusiran(血友病)、inclisiran(高コレステロール血症)、lumasiran(原発性高シュウ酸尿症1型)等があるほか、上記のTTR遺伝子を標的としたvutrisiran(遺伝性ATTRアミロイドーシス)も含まれる。脂質ナノ粒子で包まれたpatisiranは時間をかけて点滴(静注)する必要があるが、GalNAc-siRNAのvutrisiranは注射(皮下注)が可能という利点がある。

以上に示したとおり、siRNA医薬品についてはAlnylam社が世界に先駆けてその有用性と実現性を示してきた経緯があり、現在もsiRNA医薬品の開発をリードしている。本連載では第8回において、鎌倉稔氏(Alnylam Japan)にAlnylam社におけるsiRNA医薬品開発の最前線をご紹介いただく。

siRNA医薬品の開発については、今後も上述の①、②、③の開発が同時に進展していくと考えられるが、③のコンジュゲート体については、②の送達キャリアと比べて品質管理が容易であること、また、注射剤が可能であるという利点から、各臓器を標的とするリガンドの開発が進めば、コンジュゲート体の開発数が大きく増加すると予想される。コンジュゲート技術はRNA分解型アンチセンス(Gapmer)にも応用されつつあり、同じRNA分解の機序で機能するsiRNAとGapmerが、今後どのような形で競合/共存するか、注目されるところである。国内においては、siRNAのように2本鎖の構造を有し、Gapmer等のアンチセンスの作用機序で機能する新規の核酸医薬品が開発されており、ヘテロ2本鎖核酸とよばれている。本連載では第5回において、そのユニークな特性と高い有効性について横田隆徳氏(東京医科歯科大学)に詳細をご紹介いただく。

4. 核酸医薬品の 規制整備に向けた取り組み

以上に述べたアンチセンス医薬品ならびにsiRNA医薬品は、「オリゴ核酸で構成された、RNAを標的とするまったく新しい医薬品」であり、これまでの医薬品にはない特有の性質を有する。規制の観点から考慮すべき核酸医薬品の特性としては以下の点があげられる。

- ① 核酸医薬品は生体の構成成分である“核酸”で構成されるため、バイオ医薬品として扱われることがあるが、上述のとおり、実際には生体に存在しない修飾核酸(あるいは核酸アナログ)を含むケースがほとんどであることから、化学合成医薬品の一種と考えることができる。
- ② リン酸ジエステル結合のOがSに置換されたS化アンチセンス医薬品では、リン原子が不斉中心となるため、合成されたS化オリゴは立体異性体が混在した化合物となる。一般には、リン原子の立体化学に起因する異性体はいずれも有効成分と考えられているが、近年は立体を厳密に制御したアンチセンス医薬品も開発されており、臨床試験が進められている(連載第3回、和田猛氏の総説を参照)。前述のとおり、siRNA医薬品についても部分的にS化が導入されているケースがある。
- ③ 核酸医薬品に特有の不純物として「オリゴヌクレオチド類縁物質」が含まれる。具体的には、N塩基長のオリゴ核酸を想定した場合、N-1塩基長などの鎖長の異なるオリゴ核酸(ヌクレオシド欠失体)、一部の塩基が欠落したオリゴ核酸(塩基部欠失体)、Sオリゴにおけるリン酸ジエステル結合部が一部O(酸素原子)に置換されたオリゴ核酸(PS→PO置換体)などが混入することが知られている。オリゴ核酸は一般的に固相合成で製造されるため、精製の機会が限定される。また、有効成分のオリゴ核酸とその類縁物質の物理化学的性質が類似していることから、類縁物質(不純物)の分離/精製には限界がある。したがって、核酸医薬品は一般的な化学合成医薬品と比較して、不純物の混入率が高い傾向にある。なお、本連載では第9回において、南海浩一氏(味の素バイオファーマサービス)に核酸医薬品の製造ならびに分析について解説していただく。
- ④ アンチセンス医薬品やsiRNA医薬品では、標的RNAへの結合に起因する毒性(オンターゲット毒性:過剰な薬理作用に起因する毒性)と標的RNA以外への結合に起因する毒性(ハイブリダイゼーション依存的オフターゲット毒性)のリスクを考慮する必要がある。これらのRNAを標的とする核酸医薬品は種の特異性が極めて高いことが特徴である。
- ⑤ 核酸医薬品においては、従来の化学合成医薬品と同様にその物理化学的性質に起因する毒性のリスクも考えられる(ハイブリダイゼーション非依存的オフター

ゲット毒性)。このうち、オリゴ核酸に共通する特有の毒性はクラスエフェクトとよばれ、自然免疫の活性化、血液凝固時間の延長、補体の活性化などが知られている。自然免疫の活性化については、オリゴ核酸がToll様受容体 (TLR) をはじめとするパターン認識受容体に認識されて誘導されることが明らかとなっているが、その他のクラスエフェクトについては詳細な分子機構は不明である。また、クラスエフェクトは動物種によって反応性が異なることが知られているため、ヒトへの外挿性に関しては慎重を要する。

以上に例示したオリゴ核酸に特有の性質を考慮すると、核酸医薬品の品質ならびに安全性を確保するためには、既存のガイドラインでは十分に評価できない点があると

考えられる。この状況を踏まえ、国内においては2012年以降、核酸医薬品の規制整備に向けた公的な研究班が複数立ち上げられ(表5)、核酸医薬品の品質・安全性評価における考慮事項が議論されてきた。これらの研究班はいずれも産官学のメンバーで構成されており、その成果は厚生労働省通知や総説等で発表されているほか、核酸医薬レギュラトリーサイエンスシンポジウム(表6：後述)等を活用して、広く周知する取り組みが行われている。以降では、核酸医薬品の規制整備を推進する公的研究班(表5)、日本製薬工業協会タスクフォース(表7)ならびに日本核酸医薬学会レギュラトリーサイエンス (RS) 部会における取り組みを紹介する。

表5 核酸医薬品の規制整備に関与する研究班

研究課題名	核酸医薬の臨床有効性、安全性の評価方法	医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の国際調和の推進に係わる研究	アンチセンス医薬品の品質及び安全性評価に関する研究
研究代表者 (所属機関)	小比賀 聡 (大阪大学大学院薬学研究科)	平林 容子 (国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター)	井上 貴雄 (国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部)
通称名	小比賀班	平林班 (ICH-S6対応研究班)	井上班
研究内容	品質・安全性評価 (ドライ)	安全性評価 (ドライ)	品質・安全性評価 (ウェット・ドライ)
研究期間	2012～2016	*2015～2020	2018～2020
研究事業名	革新的医薬品・医療機器・ 再生医療製品実用化促進事業	医薬品等規制調和・ 評価研究事業	医薬品等規制調和・ 評価研究事業
管轄機関	厚生労働省	日本医療研究開発機構 (AMED)	日本医療研究開発機構 (AMED)

* 前身の研究班の活動期間を含む

表6 核酸医薬レギュラトリーサイエンスシンポジウム

回次	開催日	演題
第1回	2014.8.4	「非臨床安全性試験に関するコンセプト」に関する意見交換
第2回	2014.11.26	「品質管理に関するコンセプト」に関する意見交換
第3回	2015.3.13	核酸医薬品の非臨床安全性評価の課題
第4回	2015.8.31	核酸医薬の非臨床安全性を考える -既存ガイドラインの適用の可否からみた問題点
第5回	2015.12.1	核酸医薬の開発における留意点と課題について
第6回	2016.11.16	ナノ医薬品のレギュラトリーサイエンス -核酸医薬DDSへの適応-
第7回	2017.3.15	開発中止品目の整理と考察 -毒性発現の観点から-
第8回	2017.7.14	核酸医薬品の安全性評価に関する考え方 -仮想核酸医薬品をモデルとして-
第9回	2018.1.29	核酸医薬創出に資するDNA/RNAデータベース整備の現状と課題
第10回	2018.7.10	mRNA医薬の開発動向と品質・安全性評価の考え方
*特別企画 第1回	2018.12.11	核酸医薬開発の現状と課題 -原料供給・製造・品質担保の観点から-
第11回	2019.2.13	既承認核酸医薬品の審査報告書を読み解く
第12回	2019.7.11	核酸医薬品の品質評価に関する考え方 -仮想核酸医薬品をモデルとして-
第13回	2019.10.8	核酸医薬の原料供給・製造・品質担保に関する課題抽出とその解決へ向けた提言

* 定例外での特別企画(通常は年度あたり2回の開催)

表7 核酸医薬品の規制整備に関与する日本製薬工業協会のタスクフォース(2019年9月現在)

議論の内容	安全性評価	品質評価	動態評価
グループ名 (略称)	基礎研究部会 新規安全性評価技術 (KT6)	核酸医薬品質評価 タスクフォース (核酸品質TF)	核酸医薬動態評価 タスクフォース (核酸動態TF)
所属委員会 (関連委員会)	医薬品評価委員会	委員会横断型 (品質委員会, バイオ医薬品委員会)	委員会横断型 (医薬品評価委員会, バイオ医薬品委員会)
代表者 (所属企業)	木下 潔 (MSD)	滝口 直美 (大日本住友製薬)	岩崎 紀彦 (田辺三菱製薬)
参画企業数	17	22	15
設立年	2007	2018	2019

(1) 研究班における取り組み(表5)

公的な研究班としては、まず最初に、厚生労働省が実施した革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業において、大阪大学の小比賀聡氏を中心とした研究班が立ち上げられた(小比賀班, 2012~2016)。本事業は医薬品医療機器総合機構(PMDA)や国立医薬品食品衛生研究所(国立衛研)などレギュラトリーサイエンスの拠点となる組織とアカデミアの間で、人材交流を行いながらレギュラトリーサイエンス研究を推進していくものであり、小比賀班では核酸医薬品の品質管理ならびに非臨床安全性評価に関して考慮すべき課題点が抽出された。これらの成果は「核酸医薬の品質の担保と評価における考慮事項」ならびに「核酸医薬の非臨床安全性評価における考慮事項」としてとりまとめられており、PMDAのホームページで公開されている⁴⁾。このうち、品質評価に関する文書については、厚生労働省においてパブリックコメント等を経て適宜修正され、2018年9月に「核酸医薬品の品質の担保と評価において考慮すべき事項(薬生薬審発0927第3号)」が発出されている⁵⁾。

非臨床安全性評価については、AMED医薬品等規制調和・評価研究事業において、国立衛研・安全性生物試験研究センターの平林容子氏を中心とする研究班においても調査研究ならびに考慮事項の整理が行われてきた(平林班, 2015~2017, 2018~2020)。平林班ではバイオ医薬品の非臨床安全性評価(ICH-S6ガイドライン)の考え方を発展させる形で、サロゲート、代謝物、クラスエフェクト、遺伝毒性などの項目ごとに考慮事項が整理され、『医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス』誌の連載特集「シリーズ：核酸医薬の非臨床安全性を考える(全9回)」において、その成果が発表されている^{6~14)}。また、上述の小比賀班で作成された安全性評価に関する文書は、小比賀班が終了した2017年以降は平林班においてさらに

改訂が進められ、2019年2月から5月にかけて厚生労働省よりパブリックコメントが募集された。今後はこれを踏まえた形で、厚生労働省より関連通知が発出されると期待される。

AMED医薬品等規制調和・評価研究事業においては、別途、核酸医薬品の品質・安全性評価法の確立や審査指針の根拠となる実験データの取得を念頭に、ウェット研究を行うレギュラトリーサイエンス研究班が設置されている(井上班, 2018~2020)。井上班ではハイブリダイゼーション依存的オフターゲット毒性を予測する評価法の整備、不純物閾値の設定に資する研究を行うとともに、分担研究者の小比賀聡氏が中心となり、核酸医薬品の分析手法に関する研究を行っている。

(2) 日本製薬工業協会における取り組み(表7)

日本製薬工業協会(製薬協)では、医薬品評価委員会・基礎研究部会において、国内としては最も早く2007年より核酸医薬品の非臨床安全性評価に関する議論が開始され「新規安全性評価技術(KT6)」, 2010年にはその成果が総説として発表されている¹⁵⁾。製薬協において、安全性評価以外の規制について議論するグループはなかったが、2018年になり、国立衛研のよびかけで核酸医薬品の品質評価を議論するタスクフォースが立ち上げられ(核酸医薬品質評価タスクフォース: 核酸品質TF), さらにごく最近、動態評価に関するグループも設置された(核酸医薬動態評価タスクフォース: 核酸動態TF)。基礎研究部会KT6や核酸品質TFのリーダーは上述の公的研究班や日本核酸医薬学会RS部会にも参画しており、産業界の意見を集約・インプットするとともに、調査研究や総説の共同執筆等の観点から多大な研究協力を行っている。

(3) 日本核酸医薬学会RS部会における取り組み

日本核酸医薬学会RS部会は、上に述べた公的研究班や製薬協タスクフォースの中核メンバーで構成されており、それぞれのグループ間の連携を深めるハブとして機能している。RS部会では「核酸医薬RSシンポジウム」を定期的に開催しており(表6)、これにより核酸医薬品の規制整備の現状を広く周知するとともに、パネルディスカッションを通して、品質・安全性評価等の考慮事項について産官学で認識を共有している。核酸医薬RSシンポジウムは2019年9月の時点で12回を開催しているが、このうち、第8回(核酸医薬品の安全性評価に関する考え方-仮想核酸医薬品をモデルとして-)および第10回(mRNA医薬の開発動向と品質・安全性評価の考え方)のシンポジウムについては、議論された内容が総説としてとりまとめられている¹⁶⁻²⁰⁾。第11回(既承認核酸医薬品の審査報告書を読み解く)ならびに第12回(核酸医薬品の品質評価に関する考え方-仮想核酸医薬品をモデルとして-)についても今後文書化される予定である。なお、これらの総説を含め、核酸医薬品の規制に関連する文書の多くは日本核酸医薬学会のホームページに掲載されており、「レギュラトリーサイエンス関連文書」のサイトより入手できるように整備している(<http://nats.kenkyuukai.jp/special/?id=27807>)。是非ご活用いただきたい。

(4) 海外における取り組み

核酸医薬品の臨床試験の約7割が米国に拠点をもつ企業で実施されるなど、核酸医薬品開発はこれまで米国が中心となり進められてきた²¹⁾。米国では2007年に規制当局と70社以上の製薬企業等が参画したワーキンググループOSWG (Oligonucleotide Safety Working Group) が組織され、OSWGを核に規制に関する議論が行われている

[OSWGは現在、Drug information association (DIA) の傘下に吸収されている]。OSWGではこれまで、ハイブリダイゼーション依存的オフターゲット効果、過剰薬理作用、生殖発生毒性、補体活性化など主に非臨床安全性評価に関するトピックスについて分科会が設置され、その議論の成果がホワイトペーパーとして順次発表されてきた(表8)。また、最近では安全性評価以外のトピックも議論されており、2017年にはドラッグデリバリーシステムならびに不純物に関するホワイトペーパーが発表されている。品質評価に関連する文書としては、上述の不純物に関するホワイトペーパーのほか、2012年にCapaldiらのグループが核酸医薬品の品質確認に必要な規格試験項目を提案している²²⁾。一方、欧州では2005年初頭にEMEA(欧州医薬品庁: EMAの前身)において、核酸医薬品の遺伝毒性に関するリフレクションペーパーが公表されているものの²³⁾、その後、文書の発出等など表立った動きはない。ワーキンググループとしては、2017年に欧米7社の製薬企業等によりEPOC (European Pharma Oligonucleotide Consortium) が設立され、主に品質評価に関する議論が開始されている。

5. 核酸医薬品の品質・安全性評価の考え方

以上のように、ここ数年において国内外で核酸医薬品の規制に関する議論が進み、国内では産官学で統一的な見解が得られつつある。品質評価および安全性評価の考え方については、本連載における第10回および第11回において、伊藤浩介氏(PMDA)ならびに真木一茂氏(PMDA)にその詳細を解説していただく。ここでは、核酸医薬品ならではの考え方をごく簡単に紹介する。

表8 OSWG (Oligonucleotide Safety Working Group) より発表されたホワイトペーパー

項目	参考文献
吸入型オリゴ核酸	<i>Nucleic Acid Ther.</i> 22 (4) : 246-254, 2012
ハイブリダイゼーション依存的オフターゲット効果	<i>Nat. Biotechnol.</i> 30 (10) : 920-923, 2012
過剰薬理作用	<i>Nucleic Acid Ther.</i> 23 (1) : 21-28, 2013
安全性薬理作用	<i>Nucleic Acid Ther.</i> 24 (4) : 291-301, 2014
生殖発生毒性	<i>Nucleic Acid Ther.</i> 24 (5) : 313-325, 2014
補体活性化	<i>Nucleic Acid Ther.</i> 26 (4) : 210-215, 2016
遺伝毒性	<i>Nucleic Acid Ther.</i> 26 (1) : 73-85, 2016
ドラッグデリバリーシステム	<i>Nucleic Acid Ther.</i> 27 (4) : 183-296, 2017
不純物	<i>Nucleic Acid Ther.</i> 27 (6) : 309-322, 2017

表9 核酸医薬品の毒性の分類と評価手法

毒性の分類	メカニズム	動物試験による評価	その他の評価法
オンターゲット毒性	標的RNAとの相補結合	薬理作用を示す動物種の有無による	サロゲートを用いた評価
ハイブリダイゼーション依存的 オフターゲット毒性	標的RNA以外のRNAとの相補結合	不可	ヒトRNAを対象とした <i>in silico</i> 解析 ヒト細胞を用いた <i>in vitro</i> 解析
ハイブリダイゼーション非依存的 オフターゲット毒性	RNA以外の生体内分子 (タンパク質等)との相互作用等	可	ヒトTLR発現細胞を用いた評価

(1) 品質評価に関する考慮事項

上述の「核酸医薬品の品質の担保と評価において考慮すべき事項(薬生薬審発0927第3号)」において、核酸医薬品の製造・不純物の管理、規格及び試験方法に関連する考え方が述べられている。核酸医薬品に特有の考え方としては、特に立体異性体と不純物の管理が論点としてあげられる。例えば20塩基長のアンチセンス(Sオリゴ)であれば、不斉中心となる核酸のリン酸部(連結部)が19カ所存在するため、 2^{19} (約52万)の異性体が混在することとなる。性質が類似した膨大な数の異性体を分離・同定することは現実的に困難であるため、その品質を評価する手法として、「立体化学に影響を与える製造工程やパラメータを適切に管理することで、立体異性体の分布の恒常性を担保する」という考え方が示されている^{5, 24, 25)}。核酸医薬品に特有の不純物であるオリゴヌクレオチド類縁物質についても、現在の分析技術では類縁物質(N-1塩基長の不純物等)をそれぞれ個別に管理することが困難であるケースが多い。この場合、一群の類縁物質を1つの「オリゴヌクレオチド類縁物質群」として管理する考え方が提唱されている^{5, 24, 25)}。その際、各群にどのような類縁物質が含まれているかを多角的に検討することが望まれる。

(2) 安全性評価に関する考慮事項

RNAを標的とする核酸医薬品では、標的RNAとの相補結合に起因する「オンターゲット毒性」ならびに「ハイブリダイゼーション依存的オフターゲット毒性(いわゆるオフターゲット効果に起因する毒性)」の懸念がある(表9)。これらの毒性は従来の低分子医薬品や抗体医薬品にはない発現機序で起こるため、新たな評価法ならびに判断基準を検討する必要がある。オンターゲット毒性については、「ヒトRNAに対して設計された核酸医薬品が動物の相同RNAにもクロスするか」がポイントとなる。クロスする動物が存在しない場合には、動物の相同RNAに対して新たに設計した代替品(サロゲート)の

利用が議論される⁷⁾。後者のオフターゲット効果に起因する毒性については、ヒトと動物ではゲノム配列が異なるため、動物試験では評価できない。そこで新たな評価系として、「ヒトRNAを対象とした*in silico*解析でオフターゲット効果が起こる可能性がある遺伝子を選別し、そのうえで、ヒト細胞を用いた*in vitro*解析を行うことで実際にオフターゲット効果が起こる遺伝子を絞り込む」という評価スキームが考えられる。この手順で同定されたオフターゲット遺伝子については、発現が抑制された際に予想される影響等を調査・考察することが求められる。このオフターゲット効果の評価手法については、本連載の第12回において、吉田徳幸氏(国立衛研)にデータを交えながら解説していただく。オリゴ核酸の物理化学的性質に起因する「ハイブリダイゼーション非依存的オフターゲット毒性」については、基本的には低分子医薬品と同様に動物試験で評価できるとされている¹⁰⁾(表9)。

おわりに

以上、本連載で取り上げるテーマに触れながら、核酸医薬品の基礎知識、開発動向ならびに規制整備の現状を概説した。冒頭に述べたように、本連載では国内における核酸医薬品開発の現状を俯瞰するため、産官学それぞれの立場から核酸医薬品創出に向けた取り組みを解説していただく。本連載により本邦における核酸医薬品の理解が深まり、産官学のさらなる連携が強化されるとともに、そのネットワークが大きく広がっていくことを期待したい。

参考文献

- 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, 37(1): 2-7, 2019
- 2019年度版 世界の核酸医薬品開発の現状と将来展望。シードプランニング, 2019
- 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, 37(1): 15-20, 2019
- 核酸医薬の臨床有効性、安全性の評価方法 報告書。大阪大学大学院薬学研究科, 平成29年3月31日。https://www.pmda.go.jp/files/000221600.pdf
- 核酸医薬品の品質の担保と評価において考慮すべき事項につ

- いて(薬生薬審発0927 第3号)。厚生労働省医薬・生活衛生局 医薬品審査管理課, 平成30年9月27日
- 6) ICH S6対応研究班: 核酸医薬の非臨床安全性を考える一連載の開始にあたってー(核酸医薬の非臨床安全性を考える(1))。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 46(5): 286-289, 2015
 - 7) ICH S6対応研究班: サロゲートを用いた毒性試験(核酸医薬の非臨床安全性を考える(2))。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 46(6): 374-379, 2015
 - 8) ICH S6対応研究班: 核酸医薬品に由来する代謝物の評価(核酸医薬の非臨床安全性を考える(3))。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 46(8): 523-527, 2015
 - 9) ICH S6対応研究班: 核酸医薬品のオフターゲット作用の評価(核酸医薬の非臨床安全性を考える(4))。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 46(10): 681-686, 2015
 - 10) ICH S6対応研究班: 核酸医薬品のクラスエフェクトの評価(核酸医薬の非臨床安全性を考える(5))。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 46(12): 846-851, 2015
 - 11) ICH S6対応研究班: 核酸医薬の非臨床安全性試験における動物種選択(核酸医薬の非臨床安全性を考える(6))。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 47(2): 101-104, 2016
 - 12) ICH S6対応研究班: 核酸医薬品の遺伝毒性評価(核酸医薬の非臨床安全性を考える(7))。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 47(4): 250-253, 2016
 - 13) ICH S6対応研究班: 核酸医薬の生殖発生毒性試験(核酸医薬の非臨床安全性を考える(8))。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 47(8): 568-574, 2016
 - 14) ICH S6対応研究班: 試験デザインやその他の試験(核酸医薬の非臨床安全性を考える(9))。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 47(10): 724-729, 2016
 - 15) 大谷章雄, 池田孝則, 石川 誠, 他: 核酸医薬品の非臨床安全性評価の課題。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 41(2), 158-163, 2010
 - 16) 木下 潔, 真木一茂, 荒戸照世, 他: 核酸医薬品の安全性評価に関する考え方ー仮想核酸医薬品をモデルとしてー第1回: オンターゲット毒性評価の省略。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 49(2): 105-111, 2018
 - 17) 木下 潔, 真木一茂, 荒戸照世, 他: 核酸医薬品の安全性評価に関する考え方ー仮想核酸医薬品をモデルとしてー第2回: 局所投与剤の毒性評価。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 49(3): 157-163, 2018
 - 18) 木下 潔, 真木一茂, 荒戸照世, 他: 核酸医薬品の安全性評価に関する考え方ー仮想核酸医薬品をモデルとしてー第3回: 既存情報の有効活用。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 49(4): 207-214, 2018
 - 19) 位高啓史, 秋永士朗, 井上貴雄: mRNA医薬開発の世界的動向。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 50(5): 242-249, 2019
 - 20) 荒戸照世, 位高啓史, 秋永士朗, 他: mRNA医薬品の品質・安全性評価の考え方。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 50(6): 300-306, 2019
 - 21) 平成27年度 特許出願技術動向調査報告書 核酸医薬。特許庁, 2016。 https://www.jpo.go.jp/resources/report/gidou-houkoku/tokkyo/document/index/27_11.pdf
 - 22) Capaldi D, Ackley K, Brooks D, et al: Quality Aspects of Oligonucleotide Drug Development: Specifications for Active Pharmaceutical Ingredients. Drug Inf J, 46(5): 611-626, 2012
 - 23) CHMP SWP Reflection Paper on the Assessment of the Genotoxic Potential of Antisense Oligodeoxynucleotides (Genotoxicity; EMEA/CHMP/SWP/199726/2004). EMEA, London, 20 January 2005. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003149.pdf
 - 24) 伊藤浩介, 小林直之, 橘 敬祐, 他: オリゴヌクレオチドを有効成分とする医薬品の品質管理に関する考え方。日本核酸医薬学会誌, 20: 15-23, 2016
 - 25) 藤坂朱紀, 伊藤浩介, 小比賀聡: 核酸医薬品の現状と品質管理に関わるレギュラトリーサイエンス上の課題。レギュラトリーサイエンス学会誌, 7(2): 113-120, 2017