

【開発編】

第4章 核酸医薬品の開発動向

井上貴雄

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） 室長

（株）シーエムシー出版

2018年10月発刊『バイオ医薬品の開発と市場 2019』別刷

第4章 核酸医薬品の開発動向

井上貴雄*

1 はじめに

アンチセンス、siRNA、アプタマーに代表される核酸医薬品は、これまで治療が難しかった難治性疾患／遺伝性疾患に対する新しいモダリティ（治療手段）として注目を集めている。現在、製薬業界では創薬ターゲットの枯渇が大きな問題となっているが、核酸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」をターゲットにできる点が大きな特色である。核酸医薬品の標的となるRNAは、タンパク質をコードする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、lncRNA等）も対象とすることが可能であり、今後のRNA研究の進展と共に創薬対象が大きく拡大していくと考えられる。これまで核酸医薬品は生体内における易分解性等の問題が指摘されていたが、修飾核酸技術やDDS技術が進展したことから、安定で有効性の高い候補品が次々と開発されている。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、薬効本体が核酸モノマーを連結したオリゴ核酸で構成されるという共通の特徴を有すること、有効性の高いオリゴ核酸配列のスクリーニングが低分子医薬品と比較して容易であること等から、ひとつのプラットフォームが完成すれば短期間のうちに新薬が誕生すると考えられている。

2018年7月現在、アンチセンス医薬5品目を含む7つの核酸医薬品が上市されており（表1）、世界初のsiRNA医薬品も承認間近と考えられている。本稿では、まさに花開こうとしている核酸医薬品について、その基本的性質、作用機序、開発動向を概説する。

2 核酸医薬品の分類

一般に核酸医薬品とは、「核酸あるいは修飾核酸が十～数十塩基程度連結したオリゴ核酸で構成され、タンパク質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。遺伝子治療用製品も核酸医薬品と同様に核酸で構成されるが、遺伝子発現を介してタンパク質が作用する点、生物学的に製造される点で核酸医薬品とは異なる（表2）。また、DNA合成を阻害する抗がん剤として核酸モノマー（あるいは核酸塩基部）の誘導体が用いられるが、これらの医薬品は核酸医薬品の範疇には入らない。shRNA（short hairpin RNA）を細胞内に導

* Takao Inoue 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） 室長

表1 上市された核酸医薬品

商品名	一般名	分類	承認国／年	標的	適応	投与
Vitravene [®]	fomivirsen	アンチセンス	US 1998 EU 1999	サイトメガロウイルス (CMV) IE2 mRNA	CMV 性網膜炎 (AIDS 患者)	硝子体内
Macugen [®]	pegaptanib	アプタマー	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 (RNA 分解)	US 2013	ApoB100 RNA	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 (スプライシング制御)	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 (スプライシング制御)	US 2016 JP 2017 EU 2017	SMN2 pre-mRNA	脊髄性筋萎縮症	髄腔内
HEPLISAV-B [®]	^{注)} HBsAg protein with CpG 1018 adjuvant	^{注)} CpG オリゴ	US 2017	^{注)} TLR9	B 型肝炎 (予防)	筋肉内
Tegsedi [®]	inotersen	アンチセンス (RNA 分解)	EU 2018	TTR RNA	遺伝性トランスサイレチンアミロイドーシス	皮下

2018 年 7 月現在, 日米欧のいずれかで承認された核酸医薬品。

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, 核酸医薬品に相当する CpG1018 に着目して本表に組み込んだ。なお, Defitelio[®] (Defibrotide) 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, ここでは除外した。

表2 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 または ウイルスベクター (DNA または RNA ゲノムをもつウイルス粒子)
塩基長	十～数十塩基 (10～50 塩基程度)	数千塩基以上
製造	化学合成	生物学的製造 (遺伝子組換え技術を用いて細胞で製造)
導入	単独, コンジュゲート, LNP 等	単独, LNP 等 または ウイルス
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タンパク質が作用 (RNA が作用するケースもある)
特徴	ほとんどの場合, 修飾核酸を含む	修飾核酸は含まない

入し、細胞内で生成した siRNA が標的 mRNA を分解する治療法が試みられているが、この手法は作用機構としては siRNA と同じであるが、核酸をベクター（プラスミドベクターあるいはウイルスベクター）で細胞内に導入する観点から規制的には遺伝子治療用製品に分類される。また、近年、*in vitro* で酵素的に合成した mRNA を生体に導入する遺伝子補充療法やワクチン（感染症予防ワクチン、がん治療用ワクチン）の開発が進んでいるが、これらの mRNA を用いる医療技術は核酸医薬品と遺伝子治療薬の両方の要素を兼ね備えており、規制の観点から今後議論が必要である。

核酸医薬品は構造、標的、作用機序等の違いから様々な種類が存在するが、「RNA を標的とするか、タンパク質を標的とするか」で整理するとわかりやすい（表3、図1）。RNA を標的とする核酸医薬品としてはアンチセンスと siRNA が代表的である。アンチセンスの標的は pre-mRNA、mRNA ならびに miRNA（microRNA）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（表4）。これにより、病因となるタンパク質を減少させるだけでなく、機能的なタンパク質を増加させることも可能である。一方、siRNA は mRNA に特異的であり、mRNA の分解を介して、病因タンパク質を低減させる。miRNA mimic も RNA を標的とする核酸医薬品であり、生体内に内在的に存在する miRNA を補充するという概念で用いられる。標的 mRNA の 3'UTR（非翻訳領域）に結合し、その翻訳を阻害する。タンパク質を標的と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（表3、図1）。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（表3、図1）。CpG オリゴ（CpG oligodeoxynucleotides）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（表3）。CpG オリゴはエンドサイトーシスによって細胞に取り込まれた後、エンドソーム内で TLR9 に作用するが、膜との配向性を考えると細胞質と膜を挟んで反対側で機能する。すなわち、アプタマーと

表3 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	20～25	20～25	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 (細胞外蛋白)	タンパク質 (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	タンパク質の 機能阻害	自然免疫の 活性化

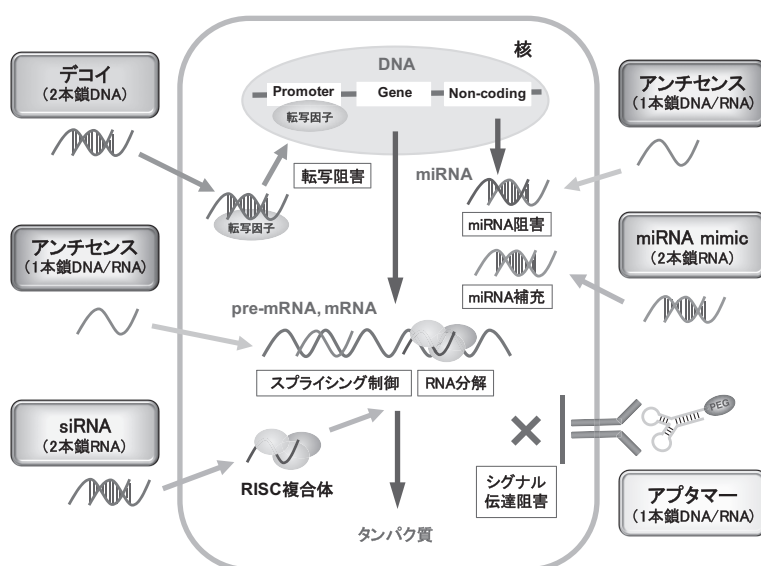


図1 多様な核酸医薬品

表3に掲載した核酸医薬品のうち、CpG オリゴは本図に記載していない。

表4 アンチセンス医薬品の分類

分類	標的	原理	作用部位	作用機構
RNA 分解型 (Gapmer 型)	RNA	RNase H	核内	mRNA の分解
スプライシング制御型	pre-mRNA	立体障害	核内	pre-mRNA とスプライシング 関連タンパク質の結合阻害
miRNA 阻害型	miRNA	立体障害	細胞質	miRNA と mRNA の結合阻害

同様に細胞膜を通過する必要はなく、薬剤送達の観点から考えると細胞外で作用する核酸医薬品と捉えることができる。

3 核酸医薬品の性質

核酸の分子量は310～330程度であり、近年開発が進む修飾核酸でもその値は大きくは変わらない。したがって、10～30塩基長の核酸医薬品を考えた場合、分子量は3,000～10,000程度となる。既に上市されたアンチセンス医薬品（表1）を例にとると、Vitravene[®]（一般名：fomivirsen, 21塩基長, C₂₀₄H₂₄₃N₆₃Na₂₀O₁₁₄P₂₀S₂₀）、Kynamro[®]（一般名：mipomersen, 20塩基長, C₂₃₀H₃₀₅N₆₇Na₁₉O₁₂₂P₁₉S₁₉）、Exondys 51[®]（一般名：eteplirsen, 30塩基長, C₃₆₄H₅₆₉N₁₇₇O₁₂₂P₃₀）、Spinraza[®]（一般名：nusinersen, 18塩基長, C₂₃₄H₃₂₃N₆₁Na₁₇O₁₂₈P₁₇S₁₇）、Tegsedi[®]（一般名：

Inotersen, 20 塩基長, $C_{230}H_{299}N_{69}Na_{19}O_{121}P_{19}S_{19}$) の分子量はそれぞれ 7,122, 7,595, 10,306, 7,501, 7,601 である。siRNA は一般に 20 数塩基の 2 本鎖であることから分子量も約 2 倍となり、13,000 程度である。アプタマー医薬品は三次元的にタンパク質を認識するという特徴から塩基鎖が長い傾向にあり、また、血中滞留性を向上させるために PEG 化されるケースも多い。日米欧で承認されている RNA アプタマー Macugen[®] (一般名: pegaptanib, 28 塩基長, $C_{294}H_{342}F_{13}N_{107}Na_{28}O_{188}P_{28}[C_2H_4O]_{2n}$, $n \approx 900$) も PEG 化されており、分子量は 50,000 程度である。低分子医薬品は一般に分子量が 500 以下、抗体医薬品は 15 万であることから、核酸医薬品はタンパク質間相互作用を阻害する特殊ペプチド医薬等とともに「中分子医薬」とも称される。

以上のように、核酸医薬品は低分子医薬品よりはるかに大きい化合物であり、また、負電荷を持つホスホジエステル構造が連続したポリアニオン構造を有することから、疎水性の細胞膜を透過しにくいという特徴がある。上述の核酸医薬品の分類の中で、細胞の内側で機能するアンチセンス、siRNA、miRNA、デコイに関しては、オリゴ核酸が細胞膜を通過して細胞内に到達しなければならない (図 1)。さらに、核内で機能するアンチセンス (表 4: RNA 分解型アンチセンス, スプライシング制御型アンチセンス) は核膜を通過する必要がある。オリゴ核酸の細胞内移行に関わる分子機構については不明な点が多いが、エンドサイトーシスによって取り込まれたオリゴ核酸がエンドソーム内腔に移行した後、エンドソーム膜を通過して細胞質に入ると考えられている。エンドソームは「初期エンドソーム → 後期エンドソーム → リソソーム」と成熟していくため、エンドソーム膜を通過できなかったオリゴ核酸はリソソーム内で分解される。このため、核酸医薬品が有効性を発揮するためには、エンドソームの段階で細胞質に移行する必要がある。上述のように、核酸医薬品は分子量数千以上のポリアニオンであることから、エンドソーム膜を通過できるオリゴ核酸の割合は限定的と考えられている。この問題を克服するため、アンチセンスや siRNA 等細胞内で機能する核酸医薬品については、①オリゴ核酸を構成する核酸の化学修飾、②オリゴ核酸の末端の修飾 (コンジュゲート)、③機能的キャリア (脂質ナノ粒子、ポリプレックス、高分子ミセル等) の活用等、膜あるいは膜タンパク質との親和性を高める工夫が施されている。①の代表例としては、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) が知られている (図 2)。S 化されたオリゴ核酸 (S オリゴ) はタンパク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ならびに膜透過性が亢進すると考えられる。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、これらの相乗効果により、S オリゴはキャリア無しでも細胞内に到達する (ただし、送達効率は限定的である)。

2 本鎖の siRNA は 1 本鎖のアンチセンスに比べて分子量、負電荷とも大きくなることから、膜透過性はさらに低下する。また、siRNA は細胞質において RISC 複合体に認識される必要があるため、アンチセンスに比べると S 化等の修飾核酸を導入しにくく、この観点からも細胞内に取り込まれにくくなる。したがって、一般には 2 本鎖になるとキャリアが必要とされる。2 本鎖 siRNA のデリバリーは標的組織や投与経路にも依存しており、硝子体内注射や肺への吸入等

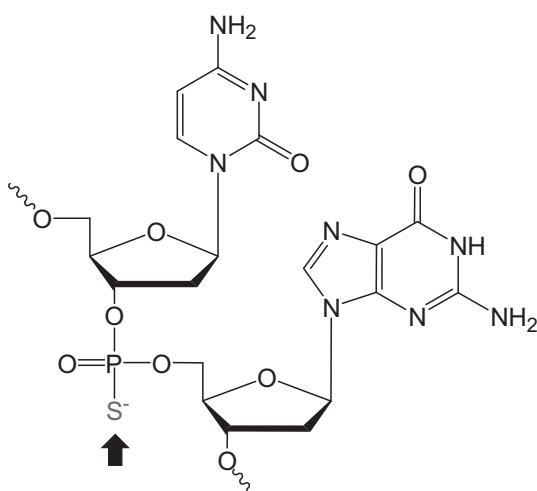


図2 リン酸部の修飾例
ホスホロチオエート化 (S 化)

局所的に投与する場合にはキャリアを必要としない場合がある。

以上、オリゴ核酸の細胞レベルでの動態を述べたが、個体レベルの動態として全身投与されたオリゴ核酸の組織分布に着目する。全身性に投与されたオリゴ核酸は、各組織の毛細血管の内皮細胞を通過した後、組織を構成する細胞に到達する。したがって、全身投与されたオリゴ核酸の組織分布は毛細血管の内皮細胞の構造に大きく依存し、内皮細胞間に一定の間隙がある組織に集積しやすい。具体的には、肝臓、腎臓、脾臓、骨髄等の組織に移行しやすく、また、内皮細胞のシート構造が緩い固形がんにも集積しやすい。

4 核酸医薬品に用いられる修飾核酸

従来、核酸医薬品はヌクレアーゼにより速やかに分解される易分解性が課題となってきたことから、分解の影響を受けにくい局所投与型の核酸医薬品が先行して開発されてきた。実際、2008年までに承認された Vitravene[®]（アンチセンス）および Macugen[®]（アプタマー）はいずれも硝子体内へ局注する医薬品であった。しかし、近年、修飾核酸の開発が顕著に進展したことにより、オリゴ核酸のヌクレアーゼ耐性が向上し、体内での安定性は大きく改善した。また、化学修飾により標的配列との結合力が著しく向上し、細胞内への取り込み効率も従来より改善している。さらに、これら一連の流れにより、より低濃度で有効性を得ることが可能となり、毒性発現の問題も改善しつつある。CpG 配列を持つ 1 本鎖オリゴ核酸は TLR9 を活性化するポテンシャルを有するが、この作用は CpG のシトシンの 5 位をメチル化することにより抑制されることが示されている。このように、オリゴ核酸によるパターン認識受容体を介した自然免疫活性化につ

いては、化学修飾により回避できると考えられている。以上のような利点から、現在開発されているほとんどの核酸医薬品は何かしらの化学修飾が施されている。以下に核酸の化学修飾のうち、リン酸部の修飾と糖部の修飾について概説する。

リン酸部の修飾としては、上述のようにS化がよく知られている（図2）。既承認のアンチセンス医薬品のうち、モルフォリノ核酸（後述）を用いた Exondys 51[®]を除く4つのアンチセンス（Vitravene[®], Kynamro[®], Spinraza[®], Tegsedi[®]）は全てリン酸部がS化されており、また、現在、臨床試験が行われているアンチセンス医薬候補品もほとんどがS化されている。Sオリゴにおいては、リン原子上に不斉点が発生し、合成されたオリゴ核酸は立体異性体が混在した化合物となる。現在開発されているSオリゴ-アンチセンスは有効成分が立体異性体の混合物であるが、WAVE Life Sciences社はリン原子の立体配置を厳密に制御したアンチセンス医薬品の開発を進めている。

糖部の修飾としては、2'位の修飾と架橋型修飾が挙げられる（図3）。2'位の修飾は核酸医薬開発の初期から試みられており、2'-F, 2'-O-Methyl (2'-OMe), 2'-O-Methoxyethyl (2'-MOE)等が知られている。既に上市された核酸医薬品（表1）を例にとると、Macugen[®]ではピリミジン塩基を持つ核酸（シトシン、ウラシル）の糖部が2'-F化されており、プリン塩基を持つ核酸（アデニン、グアニン）は2'-OMeが施されている。Kynamro[®]ならびに Tegsedi[®]については、S化に加えて、オリゴ核酸の両端に位置する核酸糖部に2'-MOEが導入されている。また、

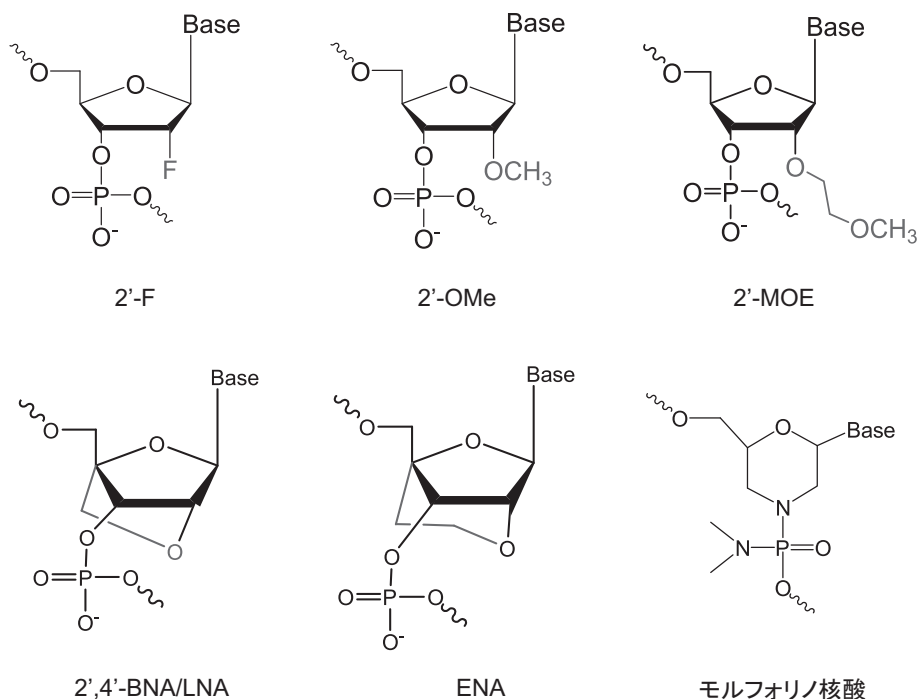


図3 糖部の修飾例

Spinraza[®] は全ての核酸が 2'-MOE 化された S オリゴである。架橋型修飾は、「揺らぎのある糖部の立体配座を架橋により固定化する」というコンセプトにより創製されたものである。通常、核酸は RNA 型 (N 型) と DNA 型 (S 型) の両方のコンフォメーションをとることができるが、糖部 2' 位と 4' 位を化学的に架橋することにより、厳密に RNA 型 (N 型) に固定することができる。これにより、相補鎖との結合力が顕著に向上すると共に、ヌクレアーゼに対する立体障害によりヌクレアーゼ耐性も付与される。糖部架橋型人工核酸は日本が世界に先駆けて開発を進めており、1997 年に大阪大学薬学部の今西、小比賀らによって 2',4'-BNA [2',4'-Bridged Nucleic Acid, 別名 LNA (Locked Nucleic Acid)] が開発されたのが最初の報告である¹⁾ (図 3)。架橋型核酸としては、他に ENA (2'-O,4'-C-Ethylene-bridged Nucleic Acids, 図 3), AmNA, GuNA, scpBNA 等が開発されている^{2,3)}。糖部修飾ではないが、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, 図 3) も核酸医薬品の原料として用いられている。モルフォリノ核酸で構成されるモルフォリノアンチセンスはヌクレアーゼで分解されず、また毒性が低いという利点があり、開発例としては Exondys 51[®] が挙げられる (表 1)。

5 核酸医薬品の開発動向

2018 年 7 月現在、上市された核酸医薬品はアンチセンス 5 品目 (Vitravene[®], Kynamro[®], Exondys 51[®], Spinraza[®], Tegsedi[®]), アプタマー 1 品目 (Macugen[®]) であり、CpG オリゴ (CpG1018) をアジュバントとして含有する B 型肝炎ワクチン (HEPLISAV-B[®]) を含めると、合計 7 品目となる (表 1)。臨床試験段階にある核酸医薬品は 2015 年 10 月時点で 140 程度であり、その約半分がアンチセンス、約 3 分の 1 が siRNA に分類される^{4,5)}。対象疾患としては、がんをはじめとする難治性疾患や遺伝性疾患が先行しており、アンメット・メディカルニーズに対する核酸医薬品をまず実用化することにより、市場が拡大していくと考えられる。特筆すべきは、近年になり全身投与性 (皮下投与、静脈内投与等) の核酸医薬品が実用化されている点である (Kynamro[®], Exondys 51[®], Tegsedi[®])。今後は、従来から開発されている局所投与型の核酸医薬品に加えて、皮下注/静注が可能な全身投与型の核酸医薬品が実用化されると予想される。本稿では誌面の関係上、承認例の多いアンチセンスを中心に概説する。開発品目の詳細については文献 4, 5) を参照して頂きたい。また、核酸医薬開発の現状がバランス良くまとめられた特集号 (最新医学: 2018 年 6 月号) が出版されているので、合わせてご覧頂きたい⁶⁾。

6 アンチセンス医薬品の開発例

アンチセンス医薬品は、標的 RNA と相補的に 2 本鎖を形成する 1 本鎖オリゴ核酸を薬効本体とする。現在、臨床試験が行われているアンチセンスは、RNA 分解型、スプライシング制御型、miRNA 阻害型の 3 つに分類できるが (表 4)、これらの作用機序の違いはアンチセンスにおけ

る修飾核酸の配置と深く関連する（図4）。上述のように、現在開発されているアンチセンスの多くはSオリゴであり、これをベースにさらに核酸の糖部に修飾が施されている。糖部2'位を修飾した核酸（2'-F, 2'-OMe, 2'-MOE等, 図4(A)灰丸）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が、これを架橋型核酸（2',4'-BNA/LNA等, 図4(A)黒丸）に置き換えるとその結合力が著しく向上する（図4(A)）。

6.1 RNA 分解型アンチセンス

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2位が修飾されていないDNAが用いられる（図4(B)左）。このアンチセンスが標的RNAと結合すると、「DNAとRNAの相補鎖を認識してRNA鎖を切断するヌクレアーゼ」であるRNase HがGap領域でDNA/RNA二重鎖を認識し、RNA鎖を切断する。RNase Hは主に核内に存在することから、RNA 分解型アンチセンスは核内で機能していると考えられている。RNA 分解型アンチセンスはGap領域を持つことから一般に「Gapmer」と呼ばれる。全身投与の核酸医薬品として初めて上市されたKynamro[®]ならびにTegsedi[®]（共に20塩基長）は、Wing領域に2'-MOEが5塩基ずつ導入された5+10+5の

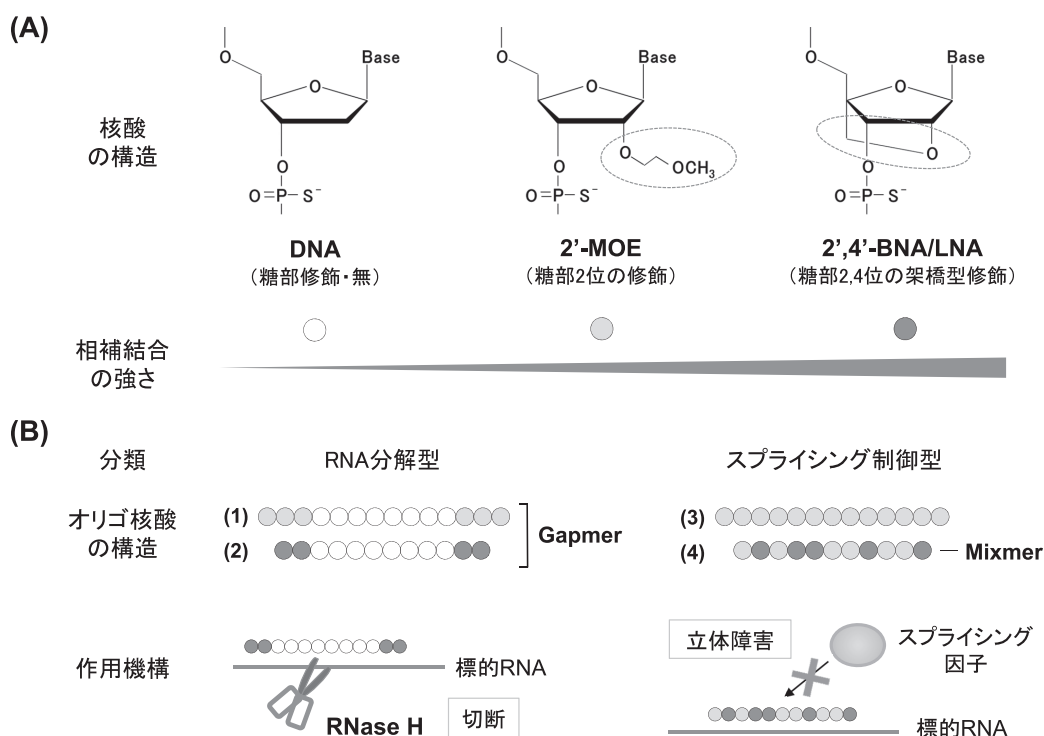


図4 修飾核酸の配置とアンチセンス医薬品の作用機序

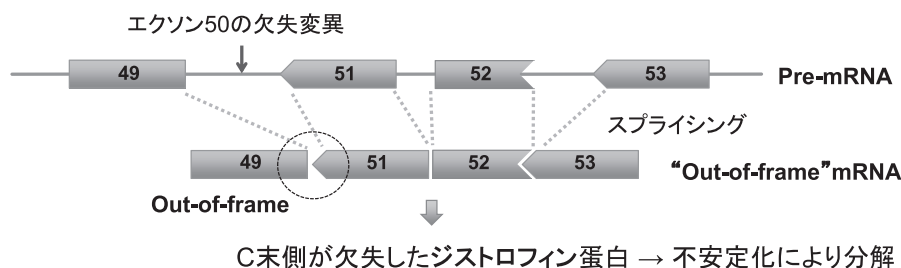
(A)代表的な修飾核酸と相補結合の強さ, (B)アンチセンス医薬品における修飾核酸の配置と作用機序

Gapmer である。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。例えば、Isarna 社が開発するアンチセンス (ISTH0036, 14 塩基長, Phase1) においては、Wing 領域に 2',4'-BNA/LNA が 3 塩基ずつ導入されており、3+8+3 の Gapmer でデザインされている。

6.2 スプライシング制御型アンチセンス

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アンチセンスである (図 4(B) 右)。代表例として、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する治療薬が知られており、エクソンスキップの機序によって作用する (図 5)。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。図 5 に示した例では、エクソン 50 の欠失により、「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。この状況において、エクソン 51 と相補的に結合するアンチセンスを導入すると、スプライシングを促進するタンパク質と pre-mRNA の結合が阻害され、エクソン 51 がスプライスアウト (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、「エクソン 50, 51 にコードされるアミノ酸が欠失し

筋ジストロフィー患者



筋ジストロフィー患者 + アンチセンス投与

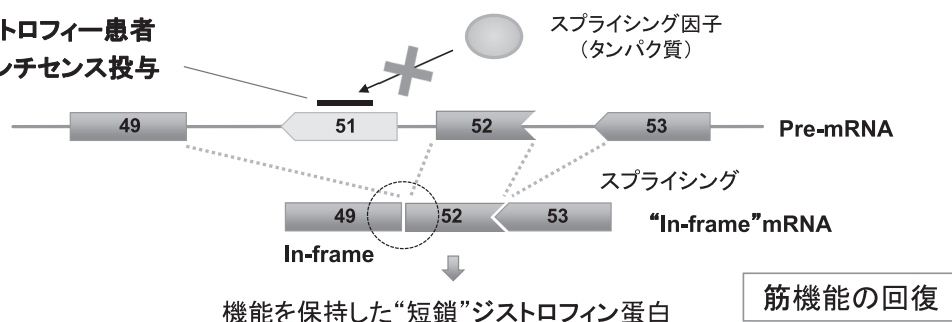


図 5 スプライシング制御型アンチセンスの作用機序の例：エクソンスキップ療法

た短いジストロフィン」が生成する。ジストロフィンはN末とC末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。スプライシング制御型アンチセンスとしては、図5に示した機序で機能する Exondys 51[®] が米国で迅速承認 (accelerated approval) されている (表1)。Exondys 51[®] は図4に示したモルフォリノ核酸が連結したモルフォリノアンチセンスである。

以上のように、スプライシング制御型アンチセンスはスプライシングを変化させることにより、機能的なタンパク質を新たに発現させて病態を改善する。したがって、「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糖部修飾核酸が配置される (図4(B))。第一三共は上記と同じエクソンスキップの機序で作用するアンチセンス医薬品として、ジストロフィン遺伝子のエクソン45を標的としたDS-5141b (18塩基長)を開発している。DS-5141bは上述の架橋型核酸ENA (図3)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 (図4(B):(4)の概念図)、国内においてPhase 1/2が進行中である。国内においてはもうひとつ、日本新薬がエクソン53を標的としたモルフォリノアンチセンス (NS-065/NCNP-01)を開発している。2018年6月に発表された臨床試験の結果は良好であり、2018年度内に日米での承認申請が計画されている。なお、エクソン53ならびにエクソン45のエクソンスキップ療法は、エクソン51に次いで対象患者数が多いとされているもので、対象患者が多いエクソンから順に国内外で開発が進められている。

スプライシング因子にはスプライシングを促進する分子と抑制する分子が存在する。スプライシングを促進する分子をアンチセンスでブロックすると前述の「エクソンスキップ」が起こるが、スプライシングを抑制する分子をブロックするとスプライスアウトされていたエクソンがmRNAに組み込まれる「エクソンインクルージョン」が起こる。脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy : SMA) の治療薬として承認されたSpinraza[®]は、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であり、すべての核酸が2'-MOE化されたSオリゴである (図2(B):(3)の概念図)。以下にSpinraza[®]が適用される疾患とその作用機序について解説する。

SMN1 (survival of motor neuron 1) は神経細胞の核に存在するアポトーシス抑制タンパク質であり、SMN1をコードするSMN1遺伝子のホモ欠損は重度の脊髄性筋萎縮症 (運動ニューロン疾患)を引き起こす。ヒトにはSMN1遺伝子に隣接し、SMN1遺伝子と配列がほとんど同一であるSMN2遺伝子のコピー (SMN2遺伝子)が存在する (図6)。SMN1遺伝子に由来するmRNAは「Exon1+2+3+4+5+6+[7]+8」のエクソン構造を有しており、エクソン7がmRNAに含まれている。一方、SMN2はエクソン7上の塩基配列の違い (C → T) からSMN1とはスプライシング様式が異なっており、通常はエクソン7が含まれないmRNA「Exon1+2+3+4+5+6+8」が優先的に生成する。この「エクソン7が含まれないmRNA」から生じるSMN2タンパク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、通常は機能

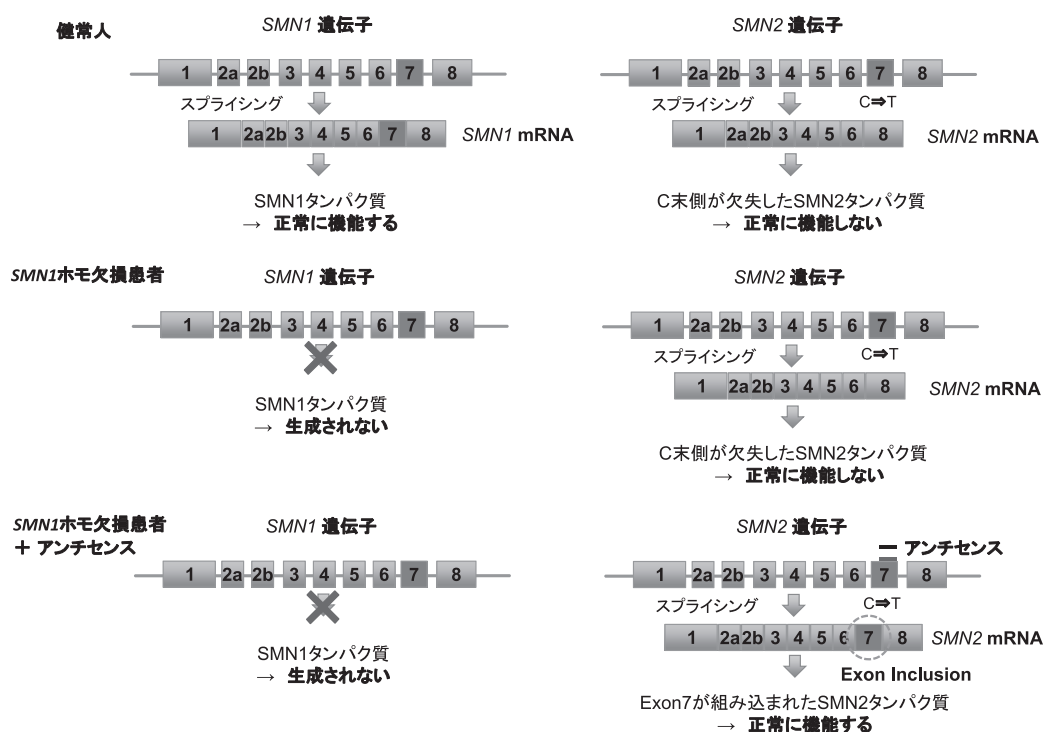


図6 スプライシング制御型アンチセンスの作用機序の例：エクソンインクルージョン療法

しない（すなわち、*SMN2* 遺伝子は通常は偽遺伝子と考えてよい）（図6、「健康人」を参照）。Spinraza[®]は*SMN1* ホモ欠損患者において、*SMN2*の機能を回復させることを意図したアンチセンスである。Spinraza[®]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設計されており、これにより「エクソン7のスプライシングインを抑制する因子」がpre-mRNA に結合するのを阻害する。この原理から、Spinraza[®]の投与により*SMN2* mRNAにエクソン7を組み込むことが可能となり（＝エクソンインクルージョン）、その結果、*SMN1*欠損を補完する機能的な*SMN2* タンパク質を発現させることができる（図6、「*SMN1* ホモ欠損患者+アンチセンス」の段を参照）。Spinraza[®]は日本においてはアプタマー医薬品 Macugen[®]に続く2番目の核酸医薬品であり、アンチセンスとしては初の承認例となる。髄腔内投与され、顕著な治療効果があることから注目を集めている。

7 siRNA 医薬品の開発例

ここまで、アンチセンス医薬品を中心に作用機序等を概説したが、「承認間近」として注目を集めている siRNA 医薬品を紹介する。世界初の siRNA 医薬品になると考えられている Patisiran（一般名）は、アミロイドーシスの原因となるトランスサイレチン（TTR）の mRNA

を分解する siRNA 医薬品であり、2018 年 7 月現在、米国と欧州で承認申請されている。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 蛋白が繊維状に凝集したアミロイドが生じ、全身の臓器に沈着する。この結果、末梢神経障害を呈する TTR 型家族性アミロイドポリニューロパチーを発症する。上述のように、2 本鎖の siRNA は基本的にキャリアを必要とするが、Patisiran では SNALP (stable nucleic acid lipid particles) と呼ばれるリボソーム製剤が用いられており、静脈内に投与される。リボソームに乗った siRNA は肝臓に取り込まれ、肝臓内で TTR の mRNA を分解することで血中の変異 TTR を減少させる。上述の Tegsedi[®] も同じ TTR 遺伝子を標的とするアンチセンスであり (表 1)、作用機序は異なるが、TTR RNA を分解するという意味で同じ作用を有する。

Patisiran を開発した Alnylam 社は、siRNA の末端に糖鎖を付加した「GalNAc-conjugated siRNA」と呼ばれる siRNA 医薬の開発を推進している。この技術は肝実質細胞の細胞表面に発現するアジアロ糖タンパク質受容体と GalNAc (N-アセチルガラクトサミン) の結合を利用したもので、キャリアなしで全身投与 (皮下投与) することが可能であり、肝臓に集積し、機能する。開発当初は「Standard Template Chemistry (STC)-GalNAc-conjugate delivery」と呼ばれる手法であったが、siRNA に用いられている修飾核酸を改変した「Enhanced Stabilization Chemistry (ESC)-GalNAc-conjugate delivery」技術等が新たに開発されており、STC に比べ、有効性が 10 倍程度向上するとされている。GalNAc-conjugated siRNA は既に 3 品目 (Givosiran, Fitusiran, Inclisiran) が臨床試験後期の段階にあり、上記の TTR を標的とした GalNAc-conjugated siRNA も臨床試験が進められている (ALN-TTRsc02)。

8 終わりに

核酸医薬品の開発は世界的に大きく進展しているが、国内においても核酸医薬品に対する取り組みがこの数年で変化してきており、主要企業の多くが何らかの形で核酸医薬開発に着手している。2015 年 4 月に設立された日本核酸医薬学会は、「日本発の核酸医薬品の創出」を第一に掲げ、化学、生物、DDS に加え、臨床とレギュラトリーサイエンスの各部門が設けられており、産官学の連携を深化させる要として機能しつつある。国家戦略においても、「核酸医薬」がゲノム創薬、AI、個別化医療、ビッグデータと肩を並べて取り上げられるようになり、機運の高まりを感じる⁷⁾。核酸医薬品の規制面については、現状ではケーススタディが少なく、世界的に整備されていない状況であるが、国内においても品質評価、安全性評価の考え方を整理する動きがある。今後、医薬品開発とレギュラトリーサイエンス研究の両輪で前進し、日本発の核酸医薬品が早期に誕生することを期待したい。

文 献

- 1) Obika S. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **38**, 8735-8738 (1997)
- 2) Ito K. R., Obika S., *Comprehensive Medicinal Chemistry*, 3rd Edition, Elsevier, 216-232 (2017)
- 3) Morihiro K. *et al.*, *Mol. Biosyst.*, **13**, 235-245 (2017)
- 4) 特許庁, 平成 27 年度特許出願技術動向調査報告書 核酸医薬
- 5) シード・プランニング社, 2016 年版 世界の核酸医薬品開発の現状と将来展望
- 6) 最新医学, 特集: 核酸医薬の現状と展望, 2018 年 6 月号
- 7) 医薬品産業強化総合戦略 ～グローバル展開を見据えた創薬～ (平成 27 年 9 月 4 日策定, 平成 29 年 12 月 22 日一部改訂), 厚生労働省