

# RNA 医薬の創薬研究

〔研究代表者〕 北出幸夫（工学部応用化学科）

〔共同研究者〕 宮本寛子（工学部応用化学科）

## 研究成果の概要

ゲノム創薬化学研究室はノーベル賞を受賞した生命現象である RNA 干渉を基盤とする新規核酸医薬の開発のプロジェクトを実施する。DDS (drug delivery system) を有する新たなタイプのマイクロ RNA 医薬の開発を行う。

- 1 特定のがん細胞などの疾患細胞膜に発現しているレセプターに認識される特異性の高いリガンド分子（各種糖類やペプチド類など生体分子）を探索する。
- 2 得られたリガンド分子を架橋した修飾 RNA 分子を分子設計・合成する。
- 3 合成した修飾 RNA 分子を用いて 2 本鎖化し、疾患細胞を自己認識するマイクロ RNA 医薬を開発する。次いで、がん細胞への選択的移行性やや抗がん活性など生物機能を詳細に評価する。

**研究分野：**創薬化学、生物化学、核酸化学

**キーワード：**RNA 干渉、RNA 創薬

## 1. 研究開始当初の背景

近年、RNA は複雑な生命現象を制御している重要な分子であることが明らかになっている。RNA 分子は COVID-19 の mRNA ワクチンにみられるようなワクチンの応用に加えさまざまな創薬としての可能性を秘めている。特に、生体内に存在する 22-25 塩基からなる maicro RNA(miRNA)は様々な疾患に関連していることが明らかとなっており、今後の創薬の進展が期待される。

RNA 医薬の開発において、RNA 干渉 (2008 年にノーベル生理学賞を受賞した現象) を効率良く誘導することが望まれている。RNA 干渉は、RNA-induces silencing complex (RISC)と呼ばれる RNA-タンパク質複合体を形成し、mRNA のタンパク質の翻訳抑制を行う。RISC 形成は、がん遺伝子の発現制御や、他の疾患関連タンパク質の発現を抑制できる。この RISC と RNA 医薬の相互作用が RNA 干渉誘導のポイントである。RISC を形成するタンパク質群を Argonaute(Ago)と呼び、4 つのドメインから構成される。そのうち PAZ ドメインは、RNA3'末端結合ポケットを有し、RNA の結合力に深く関わっている。我々の先行研究では、RNA 医薬の末端の高度修飾による安定な RISC 形

成を報告している。本研究では、新規高度修飾 RNA の開発を目指し研究を遂行する。

## 2. 研究の目的

新規高度修飾による、高機能 RNA 分子の開発を目指して、(1)新規リガンド修飾 RNA、(2)新規ダンダリングエンドの開発と、(3)新規イメージング分子の開発を行う。

### (1)新規リガンド修飾 RNA

新規リガンド修飾 RNA の合成として、アジド修飾リガンド誘導体の合成を目指す。アジド修飾リガンド誘導体は、アセチレンを導入した RNA とのクリック反応を介して容易に連結することが可能である。先行研究では、アセチレン導入アミダイトを報告している。

### (2)新規ダンダリングエンド誘導体

新規ダンダリングエンド誘導体は、先行研究で報告した、ベンゼン-ピリジン(BP)、ベンゼン-ウレア結合-ピリジン(BuP)同様に、血中内でのヌクレアーゼ耐性の向上に加えて安定な RISC 形成を期待して、ベンゼン-アミド結合

ーピリジン(BaP)の合成を目指す。

### (3)新規イメージング分子の開発

オリゴ DNA や RNA をはじめとする核酸医薬品の動態解析は、蛍光分子や陽電子放出各種(PET)の標識が用いられている。先行研究では、簡便な陽電子放出各種(PET)ラベル技術を開発している。しかしながら、これらの導入は、オリゴ鎖の一部の標識であることから、代謝によってオリゴ鎖の全体の追跡ができなくなる。さらに、陽電子放出各種の導入は、製造者や医療従事者の放射線の被曝のリスクを避けることは難しく安全な物質による技術開発が求められる。

本研究では、新たに水素の安定同位体である重水素を RNA の骨格に導入した新規イメージング分子の合成を目指している。重水素は、既に臨床の診断で用いられている重水素 MRI で診断可能であるが、これまでに核酸医薬の診断技術として確立してないのが現状である。

## 3. 研究の方法

### (1)新規リガンド修飾 RNA

新規リガンド修飾 RNA の合成として、種々の合成ステップを経てアジド修飾リガンド誘導体を合成した。

### (2)新規ダングリンド誘導体

新規ダングリンド誘導体の開発として、先行研究で報告した、ベンゼンーピリジン(BP)、ベンゼンーウレア結合ーピリジン(BuP)に加え、ベンゼンーアミド結合ーピリジン(BaP)の合成を行った。

### (3)新規イメージング分子の開発

本研究では、新たに水素の安定同位体である重水素を RNA の骨格に導入した新規イメージング分子の合成を行った。重水素標識は、岐阜薬大・佐治木らの不均一触媒的重水素標識法を用いた。本手法は、従来の重水素標識技術よりも安価でリボースの 2,3,5 位炭素選択的に高効率な重水素標識を可能とする。軽水素リボースを出発原料に重水素化を行ったのち、塩基付加、さらに、ホスホロアミダイト体(核酸合成機で連結可能な核酸の材料)を合成した。その後、核酸合成機を用いて重水素標識オリゴ核酸を新規に合成した。

## 4. 研究成果

### (1)新規リガンド修飾 RNA

新規リガンド修飾 RNA の合成として、アジド修飾の単糖(グルコース、ガラクトース、フコース、マンノース)や二糖(ラクトース)などの誘導体を合成した。さらに、オリゴ核酸の固相合成で合成可能な、糖アミダイト誘導体の合成を検討した。グルコースアミダイト誘導体や、ガラクトース誘導体の合成指針が確立した。一部の検討では、リガンド結合 RNA はリガンドなし RNA の送達量と比較して送達量が向上した。

### (2)新規ダングリンド誘導体

新規ダングリンド誘導体として、ベンゼンーアミド結合ーピリジン(BaP)の合成を検討した。アミド結合を有するダングリンド誘導体は、核酸合成にて RNA の 3'末端に結合した後、今後 RISC 形成について評価する。

### (3)新規イメージング分子の開発

核酸医薬の実用化技術のための送達技術の開発に加え、診断を可能とする重水素標識核酸医薬の開発を目指した新規イメージング分子の開発に取り組んだ。PET 標識に変わる新規トレーサー分子の重水素で標識したピリミジンヌクレオシドを合成した。ピリミジンヌクレオシドの重水素化率は9割以上で合成可能であることを明らかにした。さらに、プリンヌクレオシド誘導体についても合成を検討した。

RNA 創薬を中心とした、送達技術の開発から RNA 干渉の促進化学合成技術とイメージング技術の開発に取り組んだ。今後は、これらの研究をより詳細に機能解析を行い核酸医薬の創薬を通してさらなる生命科学の発展に寄与したい。