

論文 / 著書情報
Article / Book Information

| | |
|-------------------|---|
| 題目(和文) | 核酸医薬開発を指向した新規修飾核酸の合成研究 |
| Title(English) | |
| 著者(和文) | 西澤周平 |
| Author(English) | Shuuhei Nishizawa |
| 出典(和文) | 学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11897号, 授与年月日:2021年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:大窪 章寛,湯浅 英哉,清尾 康志,秦 猛志,小倉 俊一郎 |
| Citation(English) | Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11897号, Conferred date:2021/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,, |
| 学位種別(和文) | 博士論文 |
| Category(English) | Doctoral Thesis |
| 種別(和文) | 要約 |
| Type(English) | Outline |

核酸医薬開発を指向した新規修飾核酸の合成研究

西澤 周平

核酸医薬品は人工合成した核酸分子を用いて生体内で作用させるものである。例えば、アンチセンス核酸や siRNA は特異的に標的 mRNA に結合することで翻訳過程を阻害する。また、三重鎖形成核酸(TFO)はゲノム DNA に結合し転写過程を阻害する。このように遺伝子発現を制御できる核酸医薬品は様々開発されてきた。さらに、近年核酸化学の研究が進み、遺伝子発現制御だけでなく、標的分子に特異的に結合できる抗体のような機能を持つ核酸アプタマーや自然免疫を惹起できる核酸アジュバントなどが開発されてきており、核酸分子を利用した治療法は多岐にわたる可能性が示された。

しかし、核酸医薬品の課題として生体内安定性や不十分な結合能力、副作用、ドラッグデリバリーシステム(DDS)があり、未だ医薬品承認されている例は少ない。本博士論文では新しい核酸医薬品創出、及び化学修飾による核酸医薬品の課題解決を目指した開発研究を行った。

第一章では、三重鎖形成核酸(TFO)の課題解決のために新規化学修飾を有するアンチパラレル型 TFO の研究開発を行なった。天然核酸で構成された TFO では結合できる配列が A-T または G-C などのホモプリン-ホモピリミジン塩基配列しか結合できない。この配列制限が、医薬品応用の障壁となっている。そこで、本章では認識配列の拡張を目指し、T-A 塩基対を認識できるキノリン誘導体を有するアンチパラレル型 TFO の開発研究をおこなった。新しく開発した ${}^6\text{DAQ}_{\text{Ac}}$ は T-A 塩基対と優先的に結合することを見出した。さらに、他の修飾塩基と併用できることも明らかにした。この結果はアンチパラレル型 TFO におけるアンチジーンに適應できる可能性を示した。(図 1)

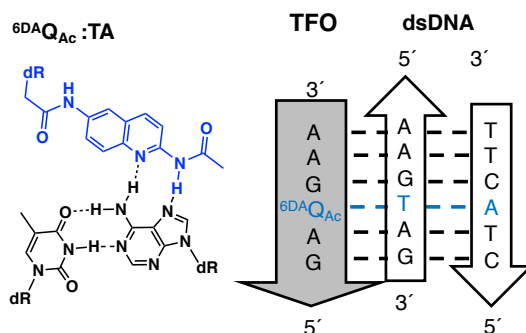


図 1 ${}^6\text{DAQ}_{\text{Ac}}$ による T-A 塩基対認識

第二章では新たな核酸医薬品候補となりうる U1 snRNA 誘導体の合成法開発研究を行なった。U1 snRNA(図 2)はスプライスサイトに結合し、スプライシングの初期段階

を触媒する重要な役割を担う分子であり、この特性を活かした遺伝子治療が可能である。また、U1 snRNA が Toll-like receptor3 を選択的に活性化し免疫調節できる知見から、U1 snRNA は免疫賦活剤としても期待できる。しかし、U1 snRNA を医薬品へ応用するためには生体内安定性向上等の化学修飾導入や大量合成を行う必要があるが、U1 snRNA は 164 塩基の長鎖 RNA である事と 5'末端にトリリン酸結合を介しトリメチルグアノシンキャップ($m_3^{2,2,7}G$ cap)構造を有するため化学合成が難しい。そこで、本章では複数の RNA 断片から U1 snRNA 誘導体の合成検討を行なった(図 2)。また、合成した U1 snRNA を用いて免疫応答の評価を行なった。

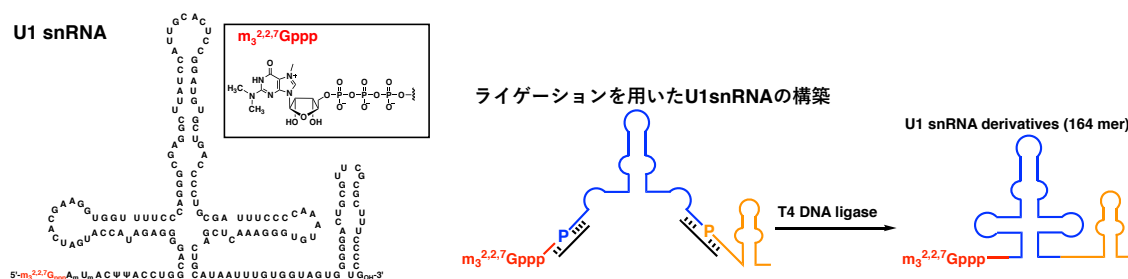


図 1 U1 snRNA の構造と新しい合成法

第三章では核酸医薬品全般における問題点であるドラッグデリバリーに注目し、改善できるような化学修飾オリゴヌクレオチドを設計した。核酸は負に帯電している事で細胞膜と負電荷反発を引き起こし細胞内に取り込まれにくい。また、生体内の核酸分解酵素により速やかに分解されてしまう。これらの課題を解決すべく、核酸分解酵素により分解されず、生体内で機能できる構造体としてアシル基を 5'、3'末端に導入し、リンカーを介して環化したオリゴヌクレオチド(図 3)を合成し、DDS キャリアとして活用できる可能性を検討した。*in vitro*での構造変換評価において還元条件とエステラーゼによって天然型オリゴヌクレオチドへ変換することや DDS で重要となる血清安定性向上に成功した。さらに、天然型 DNA と比較して低量のトランスフェクション試薬で細胞取り込みされることも見出し、核酸医薬品の DDS の問題点を改善できる可能性を見出した。

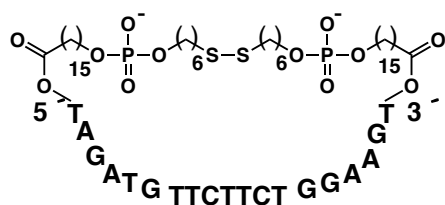


図 3 U1 snRNA の構造と新しい合成法

【論文発表】

- 1, Nishizawa, S., Ohkubo, A. *Bioorg Med Chem.* **2020**, 115799 Accepted 28 September 2020 "Chemical synthesis and biochemical characterization of cyclic oligonucleotides containing acyl groups at both 5'- and 3'- terminal positions "
- 2, Ohkubo, A.; Ohnishi, T.; Nishizawa, S.; Nishimura, Y.; Hisamatsu, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2020**, *28*, 115350. " The ability of a triplex-forming oligonucleotide to recognize TA and CG base pairs in a DNA duplex is enhanced by incorporating N-acetyl-2, 7-diaminoquinoline"
- 3, Ohkubo, A.; Muto, K.; Watanabe, R.; Nishizawa, S.; Hisamatsu, S. Kanamori, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2020**, *28*, 115407 " Chemical synthesis and properties of modified oligonucleotides containing 5'-amino-5'-deoxy-5'-hydroxymethylthymidine residues"
- 4, Kaewsomboon, T.; Nishizawa, S.; Kanamori, T.; Yuasa, H.; Ohkubo, A. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 1320-1327 " pH-Dependent Switching of Base Pairs Using Artificial Nucleobases with Carboxyl Groups"

【学会発表】

- 1, 西澤周平、橋下律、三宅優、金森功史、湯浅英哉、大窪章寛 【アシル基を有する環状オリゴヌクレオチドの合成と性質】 日本核酸医薬学会第4回年会 2018年7月9日~11日 (ポスター発表)
- 2, Shuhei Nishizawa, Tatsuya Ohnishi, Lintaro Watanabe, Takashi Kanamori, Hideya Yuasa, Akihiro Ohkubo, 【Synthesis and properties of triplex-forming oligonucleotides containing modified sugar moieties and nucleobases】 The 45th International Symposium on Nucleic Acid Chemistry (ISNAC), 2018/11/7~9 (Oral presentation)
- 3, 西澤周平、上原廉二郎、大窪章寛 【TMG キャップ構造誘導体を有する U snRNA の化学的合成】 日本化学会第99回春季年会 2019年3月(口頭発表)
- 4, 西澤周平、塚本将大、大窪章寛 【Synthesis and properties of parallel and antiparallel triplex-forming oligonucleotides containing 2-Aminoquinoline derivatives】 日本核酸医薬学会第5回年会 2019年7月10日~12日 (ポスター発表)