

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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	西澤周平	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	大窪 章寛	准教授	小倉 俊一郎	准教授
	審査員	湯浅 英哉	教授		
		清尾 康志	准教授		
秦 猛志		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「核酸医薬開発を指向した新規修飾核酸の合成研究」と題し、序論、第一章、第二章、第三章より構成されている。

序論では、化学合成した核酸分子である核酸医薬が、ゲノム DNA や mRNA の標的配列に選択的に結合し、これらの機能を阻害する作用機序をアンチセンス核酸や siRNA、三重鎖形成核酸 (TFO) を例に説明している。また、核酸医薬には遺伝子発現制御分子だけではなく、低分子化合物やタンパクに特異的に結合できるアプタマーや自然免疫を惹起できるアジュバントも含まれることを述べている。さらに、核酸医薬は薬効向上や副作用低減のために、適切な化学修飾の導入が有用であり、新規修飾核酸や新たなドラッグデリバリーシステムの開発が必要であると述べている。

第一章「キノリン誘導体を有するアンチパラレル型三重鎖形成核酸の開発」では、TFO の結合能向上や塩基認識の拡張が可能な化学修飾について最近の知見を述べている。さらに、アンチパラレル型の TFO に導入することで、標的三重鎖中の T-A 塩基対をメジャーグループ側から認識できる 2-アセトアミドキノリンを有する新規ヌクレオシドを設計したことについて述べている。そして、2-アセトアミドキノリンの 6 位 (もしくは 7 位) から糖部に結合したヌクレオシド 6DAQAc (もしくは 7DAQAc)、または 6DAQAc に β -アラニンリンカーを含んだ $\text{C-}26\text{DAQAc}$ をそれぞれ合成し、常法を用いて TFO に導入したことを述べている。

次いで、合成した TFO の結合能や塩基識別能を蛍光ラベル化したヘアピン DNA を用いたゲルシフトアッセイにより検証した結果を述べている。その結果、 6DAQAc 、 7DAQAc 、および $\text{C-}26\text{DAQAc}$ はすべて、T-A 塩基対を選択的に認識し、その中でも 6DAQAc を含む TFO は結合能が最も高いことを明らかにしている。また、 6DAQAc は他の修飾ヌクレオシドと併用して TFO へ導入することが可能であることを示し、 6DAQAc が特定の遺伝子の転写を抑制する核酸医薬に有用であると述べている。

第二章「U1 snRNA 誘導体の化学合成法の開発」では、U1 snRNA のスプライシング制御活性およびアジュバント活性について最近の知見を述べている。さらに、化学合成が可能な 120 量体以下の RNA オリゴマー 3 分子を T4 DNA Ligase を用いて同時に連結することで、効率よく U1 snRNA 誘導体を合成できたことを述べている。

次いで、合成した複数の U1 snRNA 誘導体をマウスのマクロファージ細胞に作用させ、 $\text{INF-}\beta$ の産生を比較した結果を述べている。その結果、トリメチルグアノシンキャップ構造、または、そのアナログを有する U1 snRNA 誘導体が、Toll 様受容体 3 に認識される一方で、RIG-I や MDA-5 などの細胞質 RNA センサーは刺激しないことを明らかにし、U1 snRNA 誘導体が核酸アジュバントとして有用であると述べている。

第三章「5'-および 3'-末端に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」では、核酸医薬のドラッグデリバリーについて最近の知見を述べている。さらに、核酸医薬の生体内安定性、および細胞取り込みを向上できる新規修飾核酸として、5'-および 3'-末端にアシル基を有する環状オリゴヌクレオチドを設計したことについて述べている。そして、塩基部無保護ホスホロアミダイト法による鎖伸長や中性条件下での切り出し、ジスルフィド結合形成による環状化によって、高効率で 5'-および 3'-末端にアシル基を有する環状オリゴヌクレオチドを合成できたことを述べている。

次いで、合成した環状オリゴヌクレオチドの二重鎖形成能や血清安定性、細胞取り込み効率について検証した結果を述べている。その結果、環状オリゴヌクレオチドは二重鎖形成能が著しく低いこと、相補鎖に結合できないものの、還元条件下エステラーゼにより加水分解されることで相補鎖と二重鎖を形成することができることを明らかにしている。また、未修飾のオリゴヌクレオチドと比較して、血清安定性が 100 倍以上向上するだけでなく、リポソームを利用した細胞取り込み効率も向上することを明らかにし、この知見が核酸医薬のデリバリーに有用であると述べている。

以上を要するに、本論文は TFO や U1 snRNA、核酸医薬のデリバリーに有用な化学修飾について、その導入法を開発し、合成した修飾核酸の特性について明らかにしたものであり、理學上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。