

審査の結果の要旨

氏名 森田 浩司

核酸分子（オリゴヌクレオチド）は、従来の低分子やタンパク質とは異なる、新たな作用機序を有する核酸医薬としての開発が期待されている。しかしながら、核酸分子の体内での安定性・細胞内移行性の低さから、治療薬としての実用化は現状において局所投与薬に限定されている。より汎用的な全身投与薬を目指し、核酸分子の体内での安定性・作用特異性を同時に実現する核酸修飾技術の開発は、核酸化学分野における重要な研究課題である。「新規糖部架橋核酸の創製及び生物活性に関する研究」と題する本論文において森田浩司は、糖部架橋修飾核酸に関する合成展開を行い、第1部ではアンチセンス核酸としての新規化学修飾法の開発を、第2部ではRNase L酵素活性化剤の開発を目指した研究を行った。

第1部 新規アンチセンス核酸 ENA の開発

近年、RNAの二重鎖形成時と同じN型糖構造に骨格固定した2'-O,4'-C-メチレン架橋核酸（2'-O,4'-C-methylene-bridged nucleic acid / locked nucleic acid: 2',4'-BNA/LNA）が、相補鎖RNAに対する高い親和性を発揮することが報告されている。森田は、血漿中での高い安定性をさらに付与した、2'-O,4'-C-架橋型核酸の構造最適化に着手した。森田は、メチレン架橋鎖を一炭素ずつ増加させたエチレン、プロピレン架橋の核酸（2'-O,4'-C-ethylene-bridged nucleic acid (ENA) 及び2'-O,4'-C-propylene-bridged nucleic acid (PrNA), Fig. 1) の合成を行った。これらと相補鎖RNAとの親和性を評価した結果、ENA, PrNAはともにN型糖構造を有しながらも相補鎖との親和性は一炭素の違いで大きく異なり、ENAでは2',4'-BNA/LNAと同等の非常に高い親和性を保持すること、逆にPrNAでは未修飾RNAよりも親和性が低下することを見出した。次にヌクレアーゼに対する抵抗性を検討した結果、架橋環構造が一炭素ずつ増加することで、ヌクレアーゼ抵抗性が飛躍的に向上していく効果を見出した。血漿中での安定性を評価したところ、2',4'-BNA/LNAでは数時間内に分解されていたのに対し、ENAでは血漿中での分解に対してほぼ完全な抵抗性を示すことを明らかとした。これらの実験検討から、高いRNA親和性と血漿中安定性を併せ持つ最適化分子としてENAを見出すに至った。次いで森田は、ENAの実際の細胞内でのアンチセンス分子としての機能評価を行った。ヒト血管内皮増殖因子(VEGF)に対するアンチセンス配列にENAを適用した場合、ENAアンチセンス分子は、現在実用化されているホスホロチオエート(PS)修飾と比較して

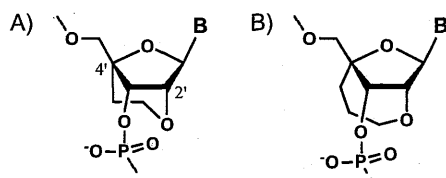


Figure 1. Structures of ENA (A) and PrNA (B)

顕著に高い、90%以上の VEGF mRNA 発現抑制効果を有することを明らかとした。その効果は、ENA ユニットの導入量に応じて配列特異的に増減し、ENA は細胞内において配列特異性にに基づくアンチセンス効果を示す修飾核酸であることを示した。

第2部 2',5'-Oligoadenylate (2-5A)の新規誘導体開発

2',5'-Oligoadenylate (2-5A)は、I型インターフェロン下流において、ヌクレアーゼ RNase L を特異的に活性化する細胞内核酸分子であり、抗ウィルス作用・抗腫瘍作用を示す分子として期待される。しかしながら、そのまま体内に投与した場合にはヌクレアーゼにより容易に分解されるため上記作用の発現は期待できない。森田は、核酸分解酵素に抵抗性の2-5A誘導体の合成に着手した。ここで、第1部で見出した、4'位からの架橋修飾によって修飾ヌクレオシドの5'側のリン酸ジエステル結合がヌクレアーゼ抵抗性になる効果に着目し、これを2-5A誘導体合成展開へと適用した。その結果、これまでPS修飾以外の技術では困難であった2-5A構造中の活性必須3'-水酸基を保持しながら、ヌクレアーゼ抵抗性を実現した誘導体6a (Fig. 2)を見出すことに成功した。すなわち、本誘導体が、天然型2-5Aと同等の数nMレベルの高いRNase L酵素活性化能を有すること、核酸分解酵素(ヌクレアーゼ及びホスファターゼ)に対して分解抵抗性であり、癌細胞A549に対してRNase L特異的な殺細胞効果を示すことを明らかとした。本誘導体は、非特異的な作用が知られているPS修飾やトランスフェクション試薬を必要とせずに、細胞でのRNase L活性化を示すことのできる初の2-5A誘導体である。

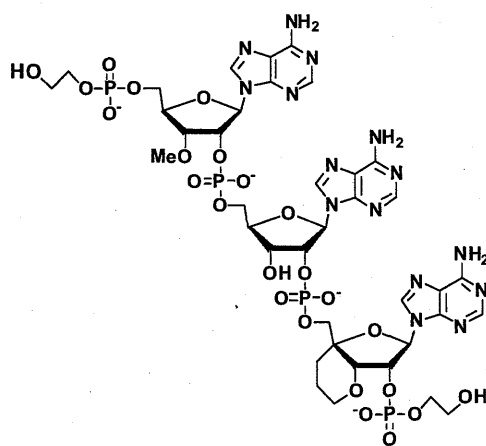


Figure 2. Structure of 2-5A analog 6a

以上、森田は、糖架橋構造に着目した修飾核酸研究を展開し、核酸糖部における架橋修飾が、その鎖長に応じてヌクレアーゼに対して顕著な抵抗性を発生させること、また、従来の核酸の糖修飾技術では困難であった5'側のリン酸ジエステルのヌクレアーゼ抵抗性も付与できることを明らかとした。さらに、2'-4'架橋、3'-4'架橋それぞれについて応用研究を

展開し、細胞系で有効に機能し *in vivo* への適用も期待できる機能性核酸分子として、新規アンチセンス核酸 ENA 及び新規 2-5A 誘導体を見出した。これらの研究成果は核酸化学研究並びに核酸医薬の研究開発に貢献するものであり、博士（薬学）の学位を授与するに値すると判断した。