

核酸創薬研究部門における基礎研究の現状

研究推進機構

総合研究院

核酸創薬研究部門

研究概要

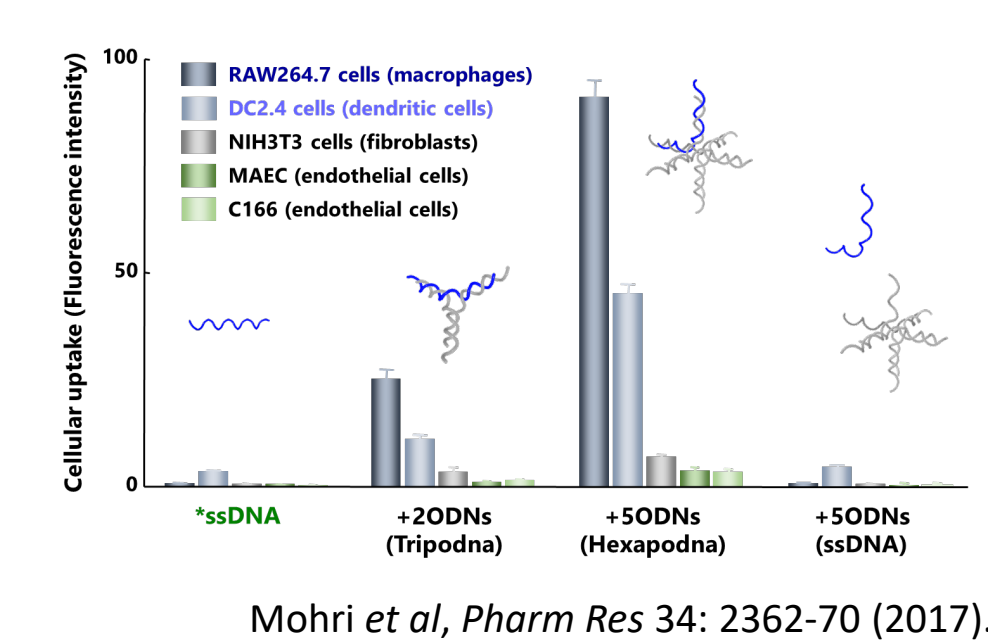
- ・核酸医薬は、低分子医薬、抗体医薬に次ぐ次世代の医薬として注目されています。
- ・本部門では、種々のモダリティーをターゲットに、幅広く核酸医薬に関する研究を行っています。
- (各種モダリティーと作用機序に関しては右図参照)
- ・部門内の総力を結集し、理科大発の核酸医薬の創製を目標に活動を行っています。
- ・本年度は、1)ナノ構造化とリガンド修飾による核酸医薬品の標的志向化 2) A型2本鎖核酸に特異的に結合するカチオン性オリゴ糖の合成と性質、以上2点について発表します。

研究開発成果

1. ナノ構造化とリガンド修飾による核酸医薬品の標的指向化に関する検討

核酸医薬品は中分子であることから体内動態が制限される。これまでの検討において、核酸医薬品を3次元の立体構造とすることで、抗原提示細胞へのデリバリー効率が上昇することを見出している。本研究では、ナノ構造化に加えてリガンド修飾を組み合わせることで、抗原提示細胞へのさらなるデリバリー効率の向上を試みた。

立体構造依存的な核酸の細胞取り込み

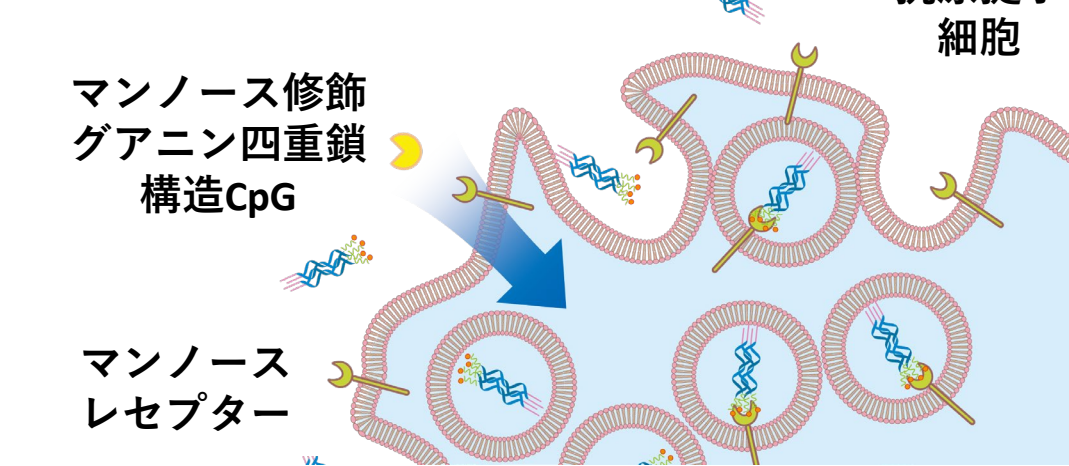


Mohri et al, Pharm Res 34: 2362-70 (2017).

多型ナノ構造体とすることで、核酸の抗原提示細胞 (RAW264.7細胞、DC2.4細胞) による取り込みが上昇する。

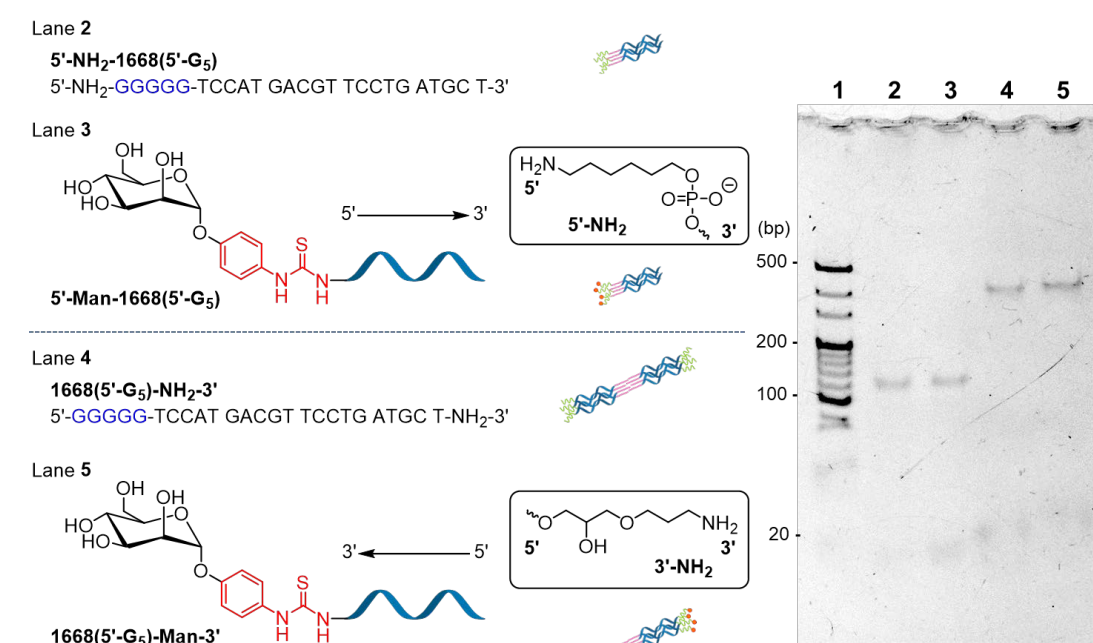
リガンド修飾による免疫刺激性CpGオリゴの抗原提示細胞へのデリバリー

① グアニン四重鎖構造CpGのマンノース修飾による抗原提示細胞へのデリバリー効率の向上

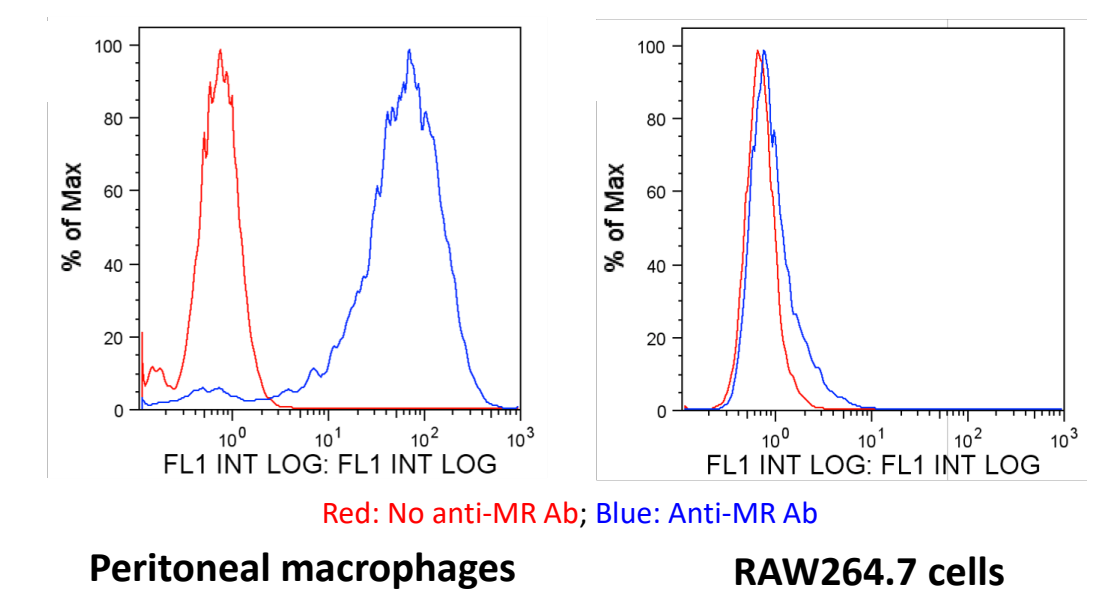


② ステアリン酸修飾によるアルブミンへの結合を介した抗原提示細胞が豊富に存在するリンパ節デリバリー

マンノース修飾グアニン四重鎖構造CpGの形成

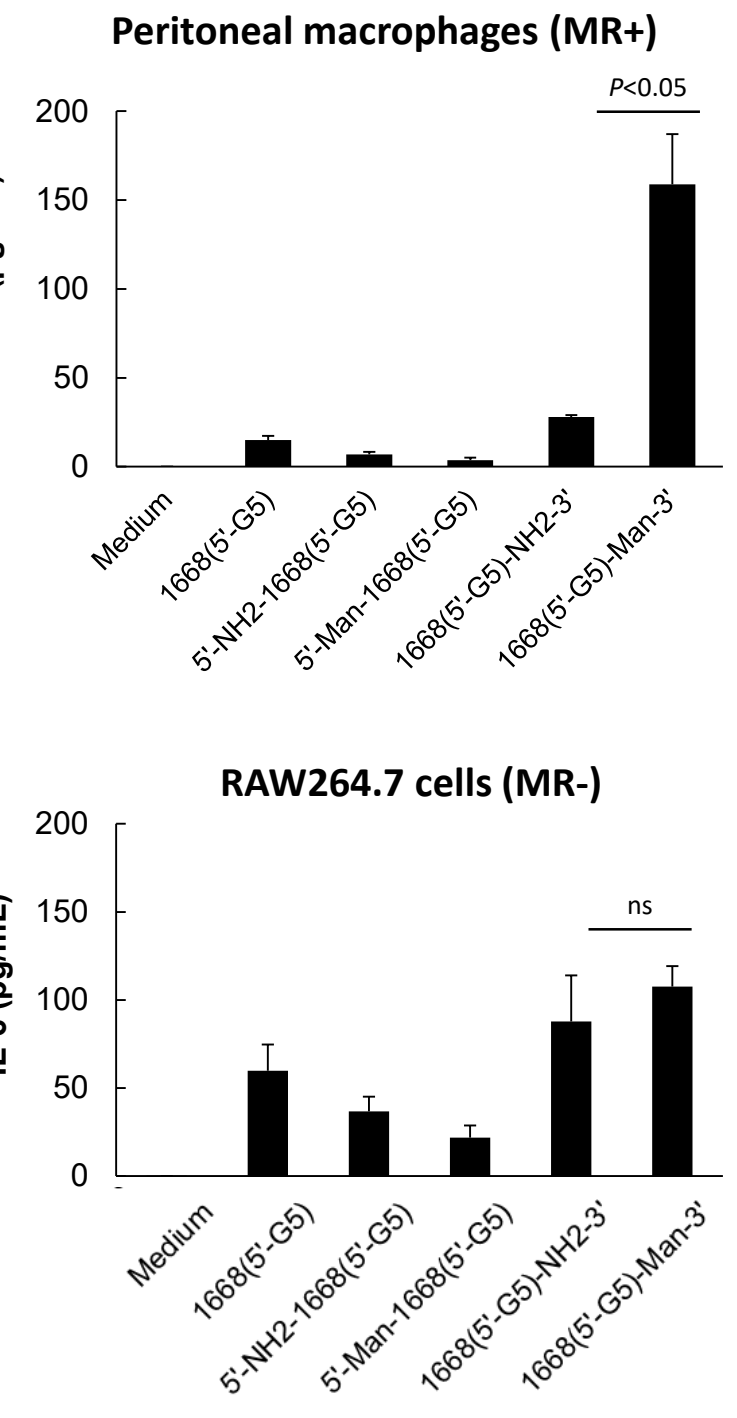


細胞表面におけるマンノースレセプター発現

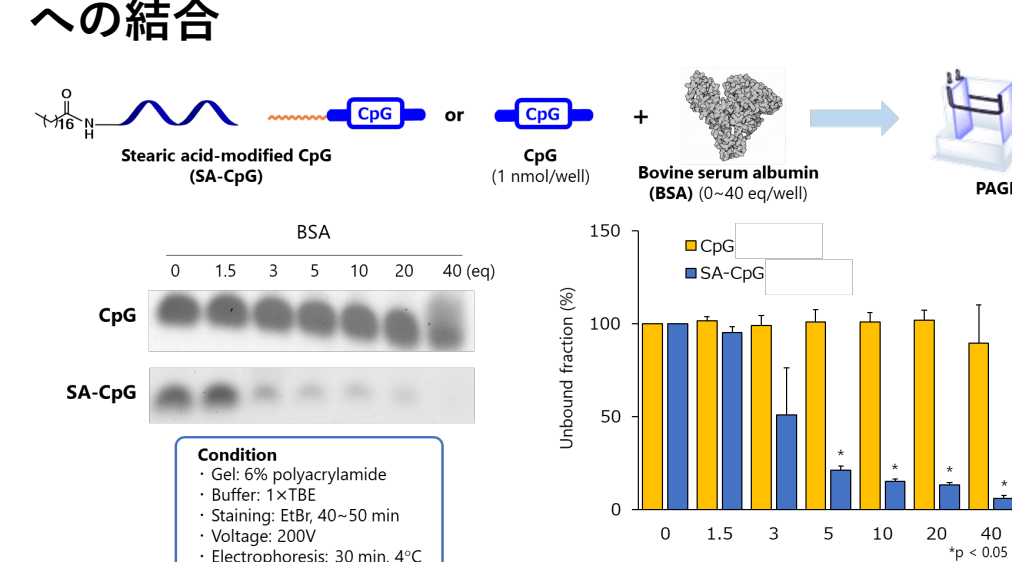


グアニン四重鎖構造CpGへのマンノース修飾によりマンノースレセプター発現細胞でのみサイトカイン (IL-6) 産生が有意に上昇した。

抗原提示細胞からのIL-6産生

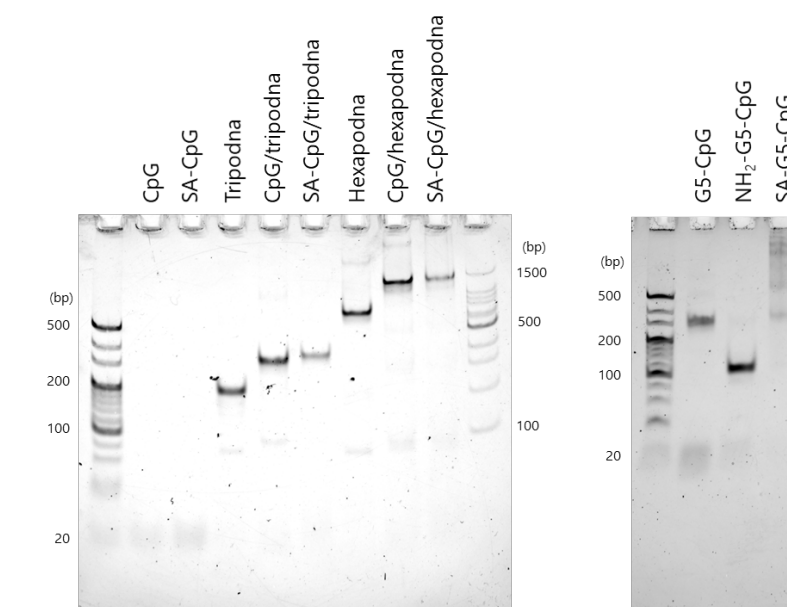


ステアリン酸 (SA) 修飾CpGの血清アルブミンへの結合

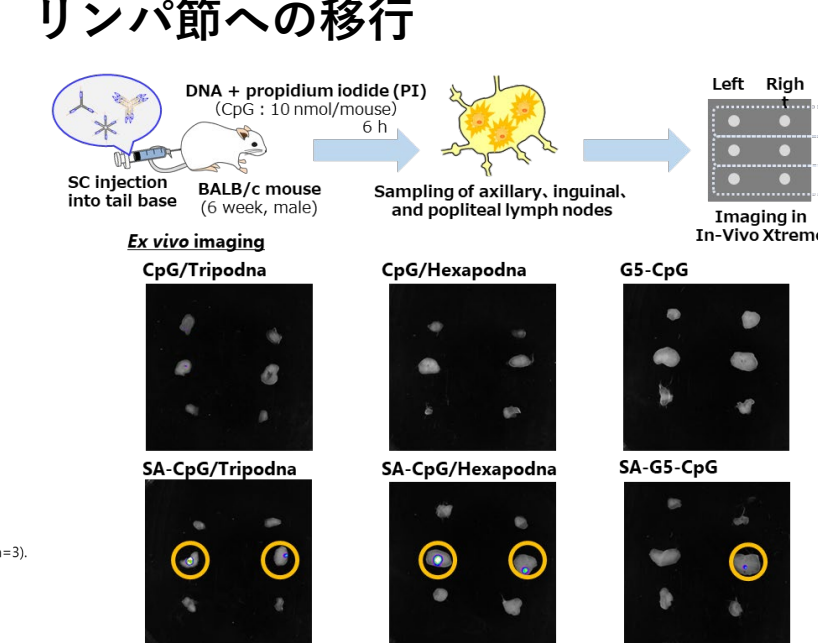


SA-CpG搭載ナノ構造化核酸の形成

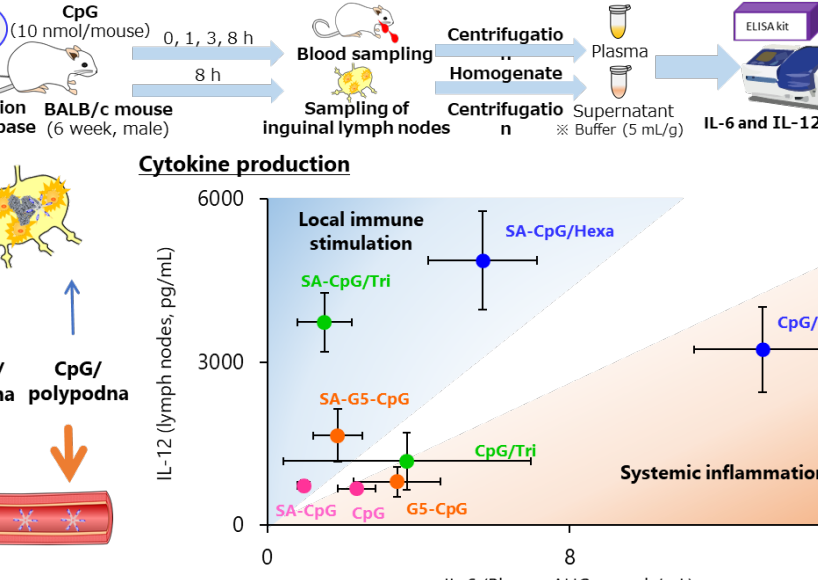
SA-CpG/tripodna, SA-CpG/hexapodna, SA-GS-CpG



マウス皮下投与後のナノ構造化CpGのリンパ節への移行



マウス皮下投与後の血中およびリンパ節でのサイトカイン産生

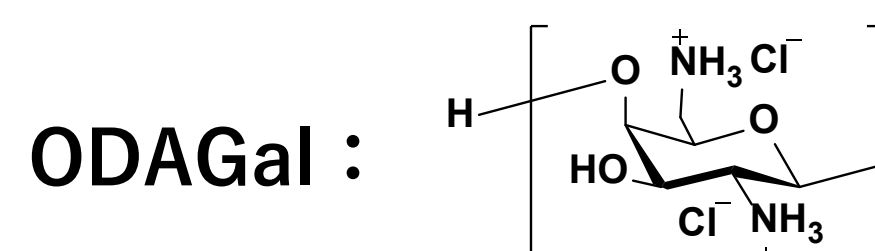


Nagaoka et al, Int J Mol Sci 23: 1350 (2022).

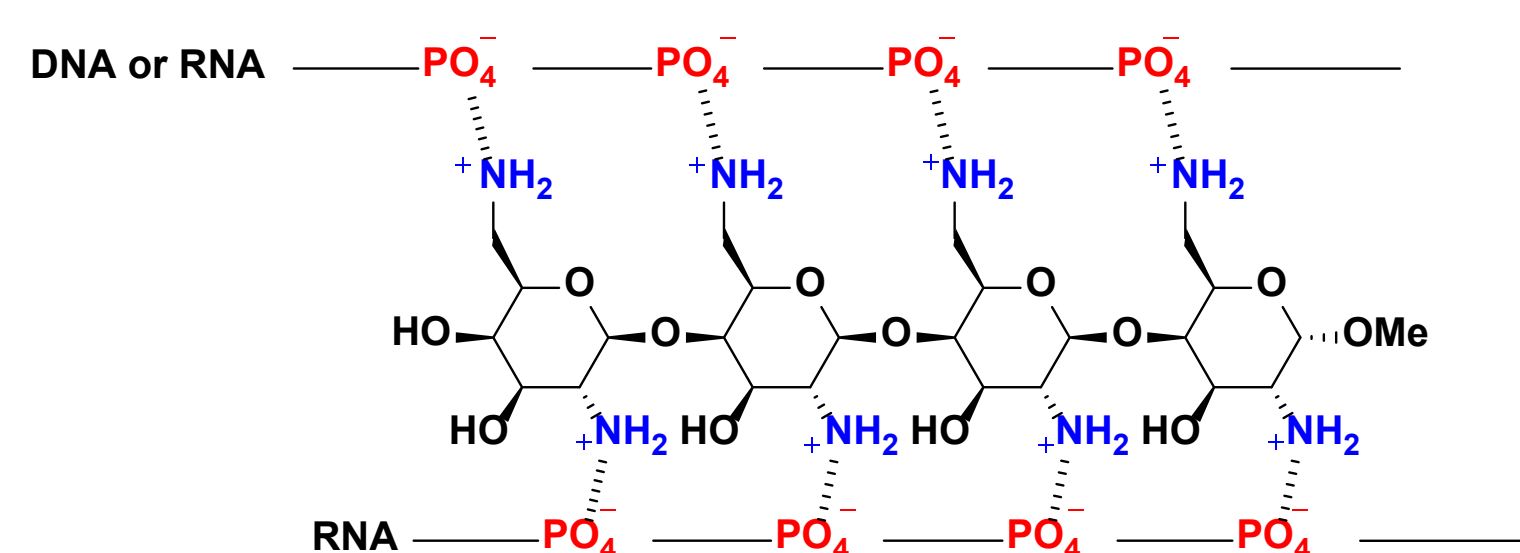
SA-CpGを多型ナノ構造体tripodnaまたはhexapodnaに搭載することで、皮下投与後のCpGのリンパ節へのデリバリー効率が上昇した。

2. A型2本鎖核酸に特異的に結合するカチオン性オリゴ糖の合成と性質

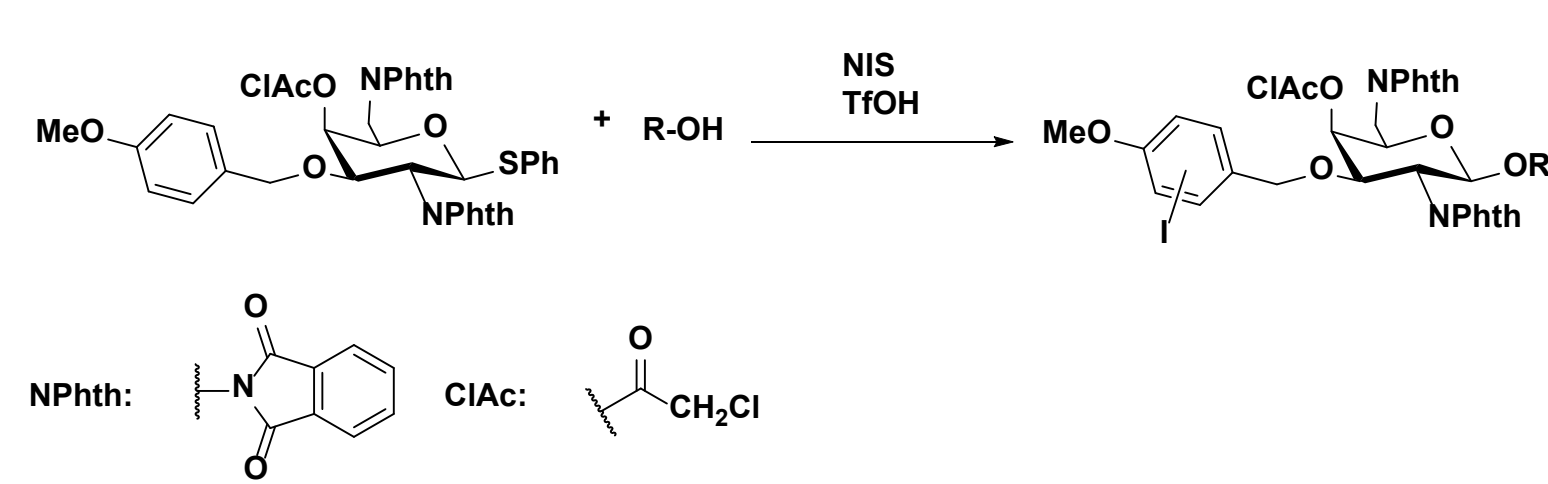
核酸医薬のモダリティーとして注目されるsiRNAやヘテロ二本鎖核酸 (HDO)は、2本鎖が構成する主溝が狭くて深い、A型の2重らせん構造をとる。当研究室では、この構造を特異的に認識してカチオン-アニオン相互作用を介して結合し、2本鎖の熱的、生物学的な安定性を向上可能な人工分子の開発を行っている。中でも、オリゴ2,6-ジアミノガラクトース (ODAGal) の誘導体は、特に安定化効果が高く、核酸医薬の機能向上が可能な有用な分子として注目される。本年度は、このODAGalの効率的な合成法の確立と、新たに合成が可能になったより鎖長の長いODAGalの性質について調査した。



ODAGalとA型2本鎖核酸の結合様式

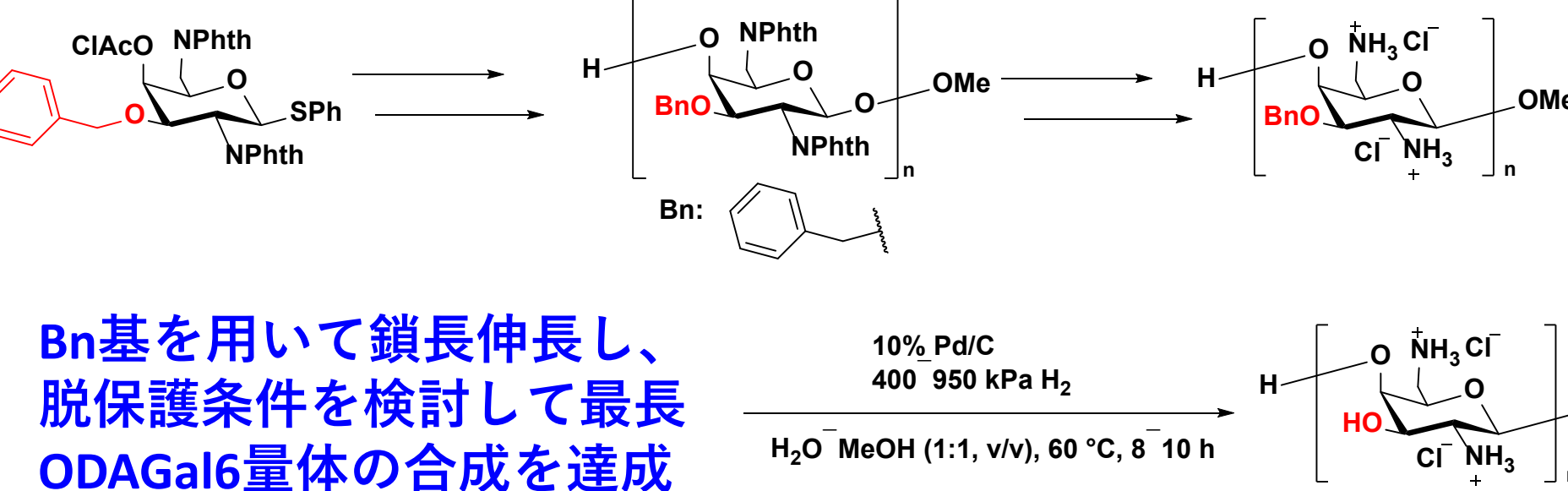


従来合成法の問題点



保護基 (PMB基) のヨウ素化が進行し、長鎖の誘導体合成が困難

改良合成法



グリコシルドナーからの総収率 (%)

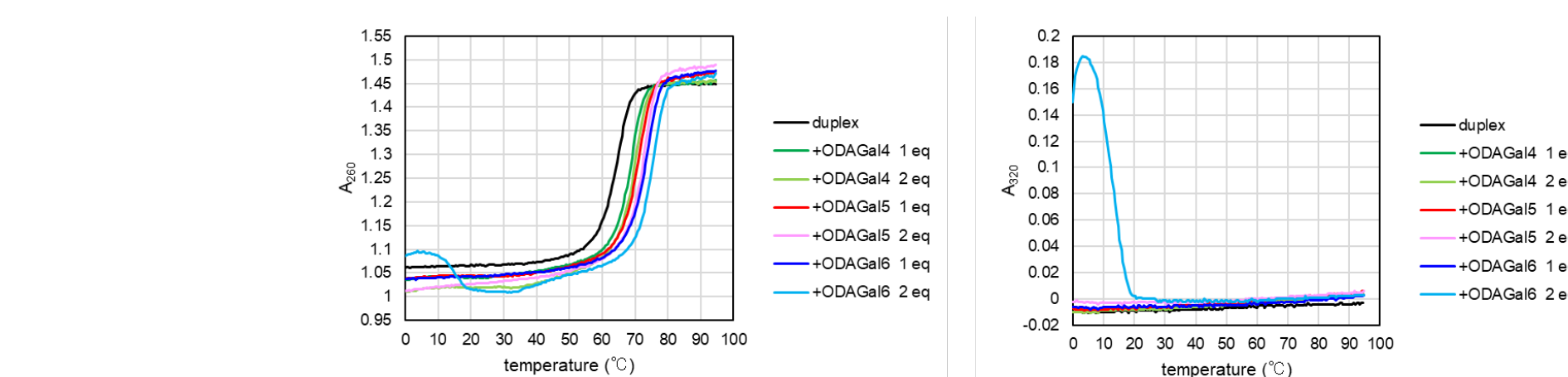
	ODAGal3	ODAGal4	ODAGal5	OGAGal6
従来法	18	2	-	-
本研究	44	26	6	0.5

RNA/RNA、DNA/RNA 2本鎖に対する熱的安定性向上効果

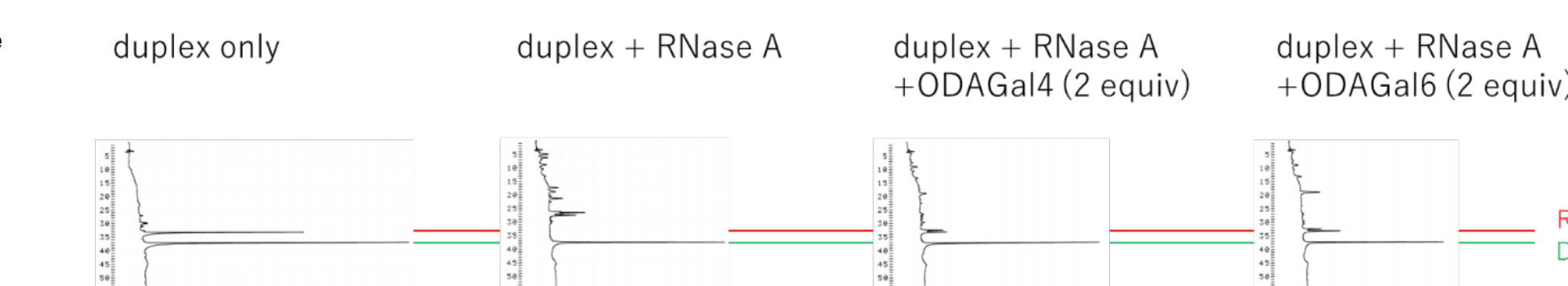
	T_m (°C)	ΔT_m (°C)					
		ODAGal4		ODAGal5		ODAGal6	
		1 equiv	2 equiv	1 equiv	2 equiv	1 equiv	2 equiv
RNA/RNA 2本鎖	64.9	4.9	5.1	6.7	8.2	9.4	11.0 ^{a,b}
DNA/RNA 2本鎖	54.4	2.5	3.8	5.8	6.9	6.7	9.9

^a absorbance at 320 nm was detected. ^b deformations of melting curve was observed.

RNA/RNA 2本鎖 : RNA 5'-rCAGCAUUGGUAUUCAG-3' cRNA 5'-rCUGAAUACCAUUGCUG-3'
 DNA/RNA 2本鎖 : DNA 5'-dCAGCATTGGTATTCAG-3' cRNA 5'-rCUGAAUACCAUUGCUG-3'



DNA/RNA 2本鎖のRNase A耐性向上効果



より長鎖のODAGalにより、A型2本鎖核酸の熱的、生物学的安定性向上効果が増強した

Shiraishi, T.; Sato, K.; Hara, R. I.; Wada, T. *Org. Biomol. Chem.* 2022, in press.

今後の展開

- ・具体的な標的 (乳がん、皮膚創傷、COVID-19など) を定めたメンバー間での共同研究
- ・AMED大型プロジェクト(RNA標的創薬技術)と関連した、学内外問わない連携推進

お問合せ先: 東京理科大学薬学部生命創薬科学科 教授 助教

和田猛: twada@rs.tus.ac.jp
 佐藤一樹: kazuki_sato@rs.tus.ac.jp

核酸創薬研究部門HP: <https://www.rs.tus.ac.jp/nadd/>