

創薬基盤推進研究事業 研究開発課題

中間評価報告書

研究開発課題名	アプタマー情報をベースにした低分子医薬品創製プラットフォームの構築
代表機関名	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所
研究開発代表者名	笠原 勇矢
全研究開発期間	平成30年度～令和4年度(予定)

1. 研究開発成果

本研究では、低分子医薬品への「リバース・パラダイムシフト」を起こすために、標的タンパク質に結合する抗体医薬品から低分子化合物への変換を効率的に行い、新規なアプローチにより低分子化の成功確度を向上させる技術を開発する。構造多様性を高めることが可能な人工核酸アプタマーを低分子化合物への変換に用いることにより、活性に必須の構造修飾や位置の情報から構造活性相関及びファーマコフォアを取得する。それらを低分子設計に組み込むことで、特異性と活性の両方を備えた次世代の低分子医薬品の創出を可能とする技術開発を目指す。

すでに抗体医薬において POC (Proof of concept) が担保されている創薬標的 X に結合しその機能を制御する人工核酸アプタマーの創出を進めた。これまでに塩基部に修飾を施した人工核酸ライブラリを用いて創薬標的 X に対する人工核酸アプタマーのスクリーニングを実施した。選別方法にはキャピラリー電気泳動や磁気ビーズを採用した。スクリーニング後に次世代シーケンサーによる網羅的な解析により 99 配列を選定した。酵素合成により 99 配列それぞれを個別に作製し創薬標的 X との結合活性を評価したところ、強いものではサブナノモラーの結合活性が認められた。さらに、レポーターシステムを用いた培養細胞での検証において、濃度依存的にシグナル抑制効果を示す人工核酸アプタマー (Apt#A) を見出すことに成功した。続いて、鎖長の短鎖化や塩基種の点変異によって Apt#A の最適化を実施した。また、創薬標的 X と Apt#A の複合体情報を取得することでインシリコによる複合体構造の予測精度を向上するために、化学合成による Apt#A の大量合成を行った。まず、化学合成する際に必要となる塩基修飾核酸のアミダイト体を市販の原料から 7 ステップで誘導化した。その後、固相合成により Apt#A を合成し、複合体情報を取得するための必要量を確保した。

人工核酸アプタマーの低分子化に向けたインシリコ解析については、人工核酸アプタマーに関する確立した構造予測法は存在しないため、既存の天然核酸の構造予測法がどれくらい人工核酸アプタマーに適用できるかどうかの検討を行ない、立体構造予測のパイプラインを構築した。その方法を用いて、創薬標的 X に対する人工核酸アプタマー (Apt #A) の立体構造予測を行った。さらに、創薬標的 X と Apt#A との複合体構造の予測法についても検討を行った。また、創薬標的 X とアプタマーの複合体構造が得られた場合に備えて、予備検討としてアプタマーとタンパク質の複合体構造が既知のターゲットについて、ファーマコフォアの作成、インシリコ・スクリーニングを行なった。

加えて、令和1年度から本研究開発課題で得られる人工核酸アプタマー開発技術の実現性、有用性検証として、HA蛋白質のレセプター結合部位を認識する人工核酸アプタマーの創出と機能評価を実施した。その結果、HA蛋白質を認識する5配列を得ることに成功した。特に結合親和性が高かった2種類の人工核酸アプタマーを用いてインフルエンザウイルスの感染阻害活性を評価した。その結果、1種類の人工核酸アプタマーにおいてウイルスの感染を抑制することが明らかとなった。

また、モダリティ創薬デザイン研究会の事務局として、モダリティ創薬デザイン研究会シンポジウム（平成30年11月26日、令和1年11月12日）およびモダリティ創薬デザイン研究会（平成30年11月26日、令和1年11月13日）を開催した。なお、令和2年度目も同シンポジウムおよび研究会の開催準備を進めていたが、コロナ禍における社会情勢を踏まえ、中止するに至った。

2. 総合評価

- ・総合的に計画した進捗と成果が得られているが、研究計画を見直す部分がある。

【評価コメント】

人工核酸アプタマーの創製を積極的に実施し、機能評価、構造予測、標的タンパク質との結合部位予測、複合体予測など、活性に必須な構造修飾や位置の情報から構造活性相関及びファーマコフォアを取得する試みを進めており、低分子医薬品への「リバーズ・パラダイムシフト」につながっていくことが期待できる。

人工核酸アプタマーの低分子化に向けたインシリコ解析において、複合体予測が困難であったことから、クライオ電子顕微鏡による複合体情報を得て、研究の立て直しを行ったことは評価できる。ただし創薬基盤推進研究事業としては、研究開発課題開始時に設定していた人工核酸アプタマーの構造情報と活性発現情報からファーマコフォアモデルを構築し、インシリコ・スクリーニングにより低分子化する本来の提案内容に立ち返り、相互作用部位予測ツールの課題解決に向け、クライオ電子顕微鏡等による複合体情報を相互作用部位予測にどの様に活用し低分子化に結びつけるのかという観点で研究計画を見直すこと。その上で、低分子創薬に向けた研究システムを確実に構築すること。そのため、研究期間内に着実に成果を得られるよう、研究課題の優先順位を決め、ファーマコフォア抽出から低分子化について、現在の研究体制を最大活用して取り組むこと。

以上