

次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業
(RNA 標的創薬技術開発)
研究開発中間進捗／成果概要報告書 (公開版)

令和5年 9月 13日

1. 公募研究開発課題名：核酸医薬品実用化のための製造及び分析基盤技術開発
2. 研究開発課題名：核酸医薬品の製造・精製・分析基盤技術の開発
3. 代表機関名：国立大学法人大阪大学
4. 研究開発代表者名：小比賀 聡
5. 所属・役職：大学院薬学研究科 教授
6. 全研究開発期間：令和3年9月15日 ～ 令和8年3月31日 (予定)

【研究開発概要】

本研究開発では、我が国における高機能性核酸医薬品開発の加速、及びその国際競争力の強化を目的・目標とし、産官学からなる計3グループ(計33機関)の複合型の実施体制のもと、核酸医薬品の製造・精製・分析から規制まで一貫した研究開発を実施する。さらに、「核酸医薬分析技術拠点」を整備し、核酸医薬品の原料や中間体、原薬等の分析法の開発や品質データの収集を進め、製造プロセス開発や品質管理に有益な情報として共有を図る。

【研究開発中間進捗／研究成果概要】

- 原料・原薬の製造基盤技術の開発 (グループ (I))

核酸医薬の高純度製造を可能にする結晶性アミダイトの取得に向けて新規アミダイト化試薬 10 種類を合成し、うち1種類を固体として得ることに成功した。特筆すべきことに、アミド架橋型核酸 (AmNA) アミダイト 4 種類の結晶化にも成功した。また、オリゴ核酸合成におけるマイクロ波の効果を検証した結果、マイクロ波照射により主にアミダイトのカップリング効率が改善する可能性が示唆された。人工核酸アミダイトの溶液安定性試験を行った結果、糖部修飾の立体的、電子的効果によりアミダイトが安定化される可能性が示唆された。さらに、本研究開発を進める中で、脱プリン反応を起点に生じるオリゴ核酸ダイマー、グアニン塩基を含むオリゴ核酸のトリエチルアミン処理により生じる不純物など核酸医薬の品質低下を招く新規不純物を発見した。国産の合成装置開発を目標に合成装置 2 台を試作、オリゴ核酸の合成検討を行い、固相担体に残存する試薬を洗浄する能力が不十分であるなどの課題を抽出した。核酸医薬の精製技術開発に向けては、アニオン交換クロマトグラフィー法を利用した PEG 修飾オリゴ核酸の至適分離条件の確立、連続クロマトグラフィーを利用した 10 グラムスケールの未精製原薬の高純度精製を達成した。その他、高脂溶性アミダイトをキャップ化試薬として利用する核酸医薬の簡便精製法を開発した。臨床・非臨床試験用核酸医薬の中量製造に向けて、臨床開発 3 案件の推進体制を整え、うち 2 案件については製造する核酸医薬の配列を決定した。
- 原薬の分析基盤技術の確立 (グループ (II))

核酸医薬品の不純物管理について産官学が議論するための研究施設「核酸医薬分析技術拠点」を大阪大学吹田キャンパス内に設置した。LC/MS などの分析機器導入、秘密保持契約、試料・データの保管・管理・分配システムの構築など環境を整備した。従来法・新規法様々な手法で合成されたオリゴ核酸の不純物の定量分析を LC/MS で実施し、カラム分離することが望ましいという点や、解析方法によって回収率が異なり注意が必要であるといった点が明らかになり、品質管理において重要な知見を得た。得られた知見からより最適化された分析条件を開発した。また、新規分析技術の開発では、2D-LC/MS での分離・分析の最適化、円二色性 (CD) スペクトル測定法、熱量測定 (DSC, ITC) による核酸の構造不純物の検出など、新技術を開発した。不純物の定量性や検出下限の向上に成功し、これらの手法の有用性を示すことができた。また MALDI-TOF/MS などこれまで定量性が低いとされてきた分析技術の改良や、残留溶媒測定の分析方法検討など、新規かつ重要な検討を実施し、いずれにおいても成果を上げている。
- 不純物の毒性評価 (グループ (III))

目的物質由来不純物 (ヌクレオチド欠失/付加体等) によるハイブリダイゼーション依存的オフターゲット毒性を体系的に理解するため、モデルアンチセンスを用いてオフターゲット評価を実施した。その結果、原薬 (目的物質) のオフターゲット評価時の網羅的遺伝子発現変動解析の結果を再解析することより、目的物質由来不純物によるオフターゲット毒性も同時に予測・評価可能であることを示した。