

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 1 日

1. 公募研究開発課題名：RNA 標的創薬技術開発／新規 RNA 標的医薬品の研究開発
2. 研究開発課題名：RNA 結合 PPR 蛋白を用いた難治性神経筋疾患における異常 RNA 標的治療)
3. 代表機関名：国立大学法人山口大学
4. 研究開発代表者名：中森 雅之
5. 所属・役職：大学院医学系研究科臨床神経学・教授
6. 全研究開発期間：令和 3 年 7 月 15 日 ～ 令和 8 年 3 月 31 日 (予定)

【研究開発概要】

植物で発見されたペンタトリコペプチドリピート (PPR) 蛋白は、RNA 塩基配列特異的に結合する核酸結合蛋白である。A, C, U, G 各塩基に結合する PPR モチーフを組み合わせることで、あらゆる RNA 標的配列に特異的に結合する分子を自在に創生できるだけでなく、機能分子と融合させることで、RNA 分解、翻訳抑制など様々な RNA 制御が可能となる。

一方、現時点において根本的治療法のない神経筋難病の中には異常 RNA を介した疾患が数多くあり、これら疾患では異常 RNA を標的とする治療開発がすすめられている。これまでこうした治療開発は核酸医薬を中心になされてきたが、薬剤送達性やオフターゲット効果の課題が残る。また CRISPR/Cas や ZFN によるゲノム編集技術も標的配列に制約がある。PPR はこれらの課題をすべて克服することができる RNA 結合蛋白であり、PPR を用いた治療法の基盤が確立すれば、神経筋難病の画期的治療開発に道が拓けるだけでなく、本邦発の汎用性の高い革新的技術として RNA 標的治療のパラダイムシフトを起こす新規モダリティの創生につながる。

本研究では、異常 RNA が原因となる難治性筋疾患、神経変性疾患を対象に、新たな創薬モダリティとして PPR を用いた治療薬開発研究を行う。

【研究開発中間進捗／研究成果概要】

本研究では、まず筋強直性ジストロフィー (DM1) を治療対象とした PPR の非臨床 POC を確立することを第一の目標としている。すでに、DM1 の原因となる異常伸長 CUG リpeat RNA に結合する PPR (CUG-PPR) の標的 RNA 結合モチーフの最適化を完了し、DM 細胞モデルおよび DM マウスモデルで異常 RNA 毒性低減効果を確認した。AAV を用いた CUG-PPR の *in vivo* デリバリーにより有効性・安全性試験を進めるため、マウス全身臓器で PPR の発現誘導が良好な AAV セロタイプとして AAV9 を選定した。AAV9 搭載型 CUG-PPR (AAV9-CUG-PPR) を合成し、マウスへ投与し全身での発現と免疫反応性を検証した。マウスへの静脈内単回投与により、DM1 の治療対象臓器である骨格筋、脳、心筋で CUG-PPR の良好な発現がみられ、PPR が誘導する免疫反応も極めて低いことを確認した。また、AAV9-CUG-PPR を DM1 モデルマウスへ投与し、投与用量反応性 (dosing study) および治療効果持続性 (time-course study) の検証を行った。AAV9-CUG-PPR は投与用量依存性に発現増加し、RNA 毒性低減効果も高まった。治療効果も投与 4 週後、8 週後と増強し、少なくとも 16 週後でも持続していることを確認した。さらに、プロモーターを改良した AAV9-CUG-PPR を合成し、モデルマウスでの発現上昇、RNA 毒性作用の向上を達成した。

また、標的となる異常 RNA を分解、あるいは異常蛋白の翻訳を抑制する特性をもつ、機能分子融合型 CUG-PPR の開発も進める。これまでに異常 RNA を直接分解する作用をもつ RNase 融合 CUG-PPR の開発をおこない、DM1 モデル細胞で異常 RNA 毒性低減効果を実証している。