

平成 29 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 難治性疾患実用化研究事業  
(英語) Practical Research Project for Rare/Intractable disease

研究開発課題名： (日本語) シヌクレイン抑制 AmNA 核酸によるパーキンソン病の治療研究  
(英語) Development of the therapeutic strategies using nucleic acids containing Amido-bridged nucleic acid (AmNA) toward a cure for the Parkinson's disease

研究開発担当者 (日本語) 望月秀樹  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine, Professor, Hideki Mochizuki

実施期間： 平成 28 年 11 月 1 日 ~ 平成 31 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) GMP 準拠核酸医薬合成/供給  
開発課題名： (英語) **GMP-grade AmNA-ASO synthesis and supply**

研究開発分担者 (日本語) 小比賀 聡  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Bioorganic Chemistry, Osaka University Graduate School of Pharmaceutical sciences, Professor, Satoshi Obika

分担研究 (日本語) AmNA 核酸医薬有効性・安全性評価  
開発課題名： (英語) **Evaluation of efficacy and safety of AmNA-ASO**

研究開発分担者 (日本語) 中森 雅之  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine, Assistant Professor, Masayuki Nakamori

## II. 成果の概要（総括研究報告）

望月秀樹教授（大阪大学大学院医学研究科 神経内科学）のグループは、本事業において、パーキンソン病で過剰に発現する $\alpha$ シヌクレインをターゲットとした核酸医薬による治療法の確立を目指している。現在非臨床試験をすすめ、医師主導治験を実施する準備を行っている。

パーキンソン病は動作緩慢や筋強剛（筋固縮）を主な運動症状とし、アルツハイマー病について二番目に多い進行性の神経変性疾患である。対症療法として症状を改善する治療薬は存在するが、現時点で進行を抑制する根本的な治療法は存在しない。そのため、寝たきり状態になる患者も多く大きな社会問題になっており、症状の進行を抑制する治療法開発が待たれている。

一部の遺伝性パーキンソン病では、シヌクレイン遺伝子の重複により過剰なシヌクレインが蓄積することがパーキンソン病の原因である。また、シヌクレイン遺伝子の変異のないパーキンソン病においてもシヌクレイン蛋白質の蓄積が神経変性の原因とされている。それ故、シヌクレインの発現を抑制できれば根本的治療が可能と考えられる。本事業で、望月教授らのグループは、過剰なシヌクレインを核酸医薬で抑制する戦略で治療開発を進めている。シヌクレイン抑制効果を高めるため、AmNA という高い標的結合能、分解酵素耐性を持つ特殊な修飾核酸を用い、すでにその核酸配列と構造の最適化を行った。その上で、パーキンソン病モデルマウスの脳室内へ AmNA 型核酸を投与することにより、脳細胞でシヌクレインの蓄積を抑制することに成功し、さらにパーキンソン病モデルマウスで見られる症状の一部が改善されることを確認した。さらに、より人に近い大型動物モデルを用いて、核酸医薬の安全性と有効性を確認している。臨床の投与方法に近い脳室内投与により、核酸医薬の十分な脳細胞への浸透と、標的抑制効果を確認したことで、今後の臨床応用が期待される。

Our long-term goal is to develop and establish therapies using nucleic acids medicine towards a cure for the Parkinson's disease (PD). PD is a progressive disorder of the nervous system that affects movement. Over a hundred thousand people in the Japan are living with PD. Whereas current therapies alleviate certain symptoms of PD early in the course of the disease, they do not stop its relentless progression. PD symptoms worsen as the condition progresses over time. No single cause has been identified. Recent studies, however, have argued strongly that increased  $\alpha$ -synuclein levels, even in the form of wild-type protein, could cause neurodegeneration. More recently, the  $\alpha$ -synuclein gene locus was found to be one of the only three loci strongly associated with PD risk in large-scale genome-wide association studies across several different populations worldwide. Thus, evidence from a wide range of genetic approaches has clearly implicated  $\alpha$ -synuclein in PD pathogenesis.

To target the  $\alpha$ -synuclein for the therapy of PD patients, we have developed a

cutting-edge application utilizing nucleic acids, known as antisense oligonucleotides (ASO). The ASO can target the  $\alpha$ -synuclein gene and reduce the levels of its expression. Importantly, we have developed Amino-bridged nucleic acids (AmNA). This modification enhances the stability and effectiveness of ASO. In this project, we confirmed that this optimized AmNA could reduce the levels of  $\alpha$ -synuclein and ameliorate some of the defects observed in the PD model mice. Currently, we have also examined if AmNA is also stable and effective in common marmosets, which are closer to humans than rodents, for its future application in PD patients.

We believe that AmNA is a promising therapeutic application toward the cure for the PD.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 3 件）

1. Horiba M, Yamaguchi T, Obika S. Synthesis of scpBNA-<sup>m</sup>C, -A and -G Monomers, and Evaluation of The Binding Affinities of scpBNA-modified Oligonucleotides toward Complementary ssRNA and ssDNA. *J. Org. Chem.*, 2016, 81, 11000-11008.
2. Islam M. A, Waki R, Fujisaka A, Ito K. R, Obika S. In Vitro and In Vivo Biophysical Properties of Oligonucleotides Containing 5'-Thio Nucleosides. *Drug Discov. Ther.*, 2016, 10, 263-270.
3. Kondoh J, Nomura Y, Kitahara Y, Obika S, Torigoe H. Crystal Structure of 2',4'-BNA<sup>NC</sup> [N-Me]-modified Antisense Gapmer in Complex with The Target RNA. *Chem. Commun.*, 2016, 52, 2354-2357.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 核酸医薬による遺伝性パーキンソン病の治療、口頭、望月秀樹ほか、日本核酸医薬学会 第二回年会、2016/11/17、国内
2. シヌクレイン抑制 AmNA 核酸によるパーキンソン病の治療研究、ポスター、望月秀樹ほか、難治性疾患実用化研究事業免疫アレルギー疾患等実用化研究事業合同成果報告会、2017/2/10、国内
3. Synthesis of 2'-O,4'-C-Spirocyclopropylene Bridged Nucleic Acids (scpBNA) Bearing Purine Bases, Poster, Masahiko Horiba, Takao Yamaguchi, Satoshi Obika, 12th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society, 2016/9/25-28, 国外.

4. Recent Progress in the Development of Bridged Nucleic Acids –Design, Synthesis and Properties of GuNA and scpBNA, Oral, Satoshi Obika, 12th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society, 2016/9/25–28, 国外.
5. Synthesis and Properties of Methyl Modified Guanidine Bridged Nucleic Acid, Poster, Naohiro Horie and Satoshi Obika, The 43rd International Symposium, on Nucleic Acids Chemistry, 2016/9/27~29, 国内.
6. Synthesis and Biophysical Properties of 5'-Thio, Derivative of 2'-4'-BNA/LNA, Poster, Md Ariful Islam, Aki Fujisaka, Kosuke Ito, Reiko Waki, Satoshi Obika, The 43rd International Symposium, on Nucleic Acids Chemistry, 2016/9/27~29, 国内.
7. 核酸医薬の実現に向けた人工核酸スクリーニング技術, 口頭, 小比賀聡, 医薬基盤・健康・栄養研究所創薬デザイン研究センターシンポジウム, 2016/11/22, 国内.
8. 核酸化学の進展とその創薬への応用, 口頭, 小比賀聡, 第34回メディシナルケミストリーシンポジウム (MCS2016), 2016/11/30, 国内.
9. プリン塩基を有するスピロシクロプロピレン架橋型人工核酸 scpBNA の合成と物性評価, ポスター, 堀場昌彦、山口卓男、小比賀聡, 日本化学会 第97春季年会, 2017/3/16-19, 国内.
10. メチル修飾グアニジノ架橋を有する人工核酸を導入したオリゴヌクレオチドの簡便な合成法開発とその評価, ポスター, 堀江直宏, 小比賀聡, 日本薬学会 第138年会, 2017/3/25-/27, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願