

## 審査の結果の要旨

氏名 釘宮 啓

アンチセンス核酸や siRNA など核酸医薬品は、従来からの低分子医薬品や抗体医薬品などがアクセスすることが困難な遺伝子転写産物（RNA）を創薬ターゲットにできる特徴を有しており、次世代の創薬モダリティとして期待されている。それらの核酸医薬品の中でも Gapmer 型アンチセンス（以下、Gapmer と呼ぶ）は、現在までに 3 品目上市されており注目を集めている。一方、Gapmer は臨床および非臨床において肝毒性懸念があることが知られている。この肝毒性発現メカニズムについては、従来から研究がおこなわれているものの未だ詳細に解明されていない。今後、Gapmer を安全な核酸医薬品として継続的に活用していくためには毒性発現の要因を明らかにすることが不可避となっている。そこで「Gapmer 型アンチセンスの肝毒性発現に関する研究」と題する本論文において釘宮は、その要因について主にメカニズム解明に焦点をあてた研究をおこなった。具体的には、薬理活性および肝毒性の双方が強力な LNA 修飾 Gapmer をモデルとして用いて、核酸化合物自体が持つ毒性や RNA 切断機構と肝毒性の関連性、標的 RNA に対する配列特異性解析などについて検討した。

第 1 章では、肝毒性を示す Gapmer の中央部、標的 mRNA の切断に重要な部分を化学修飾した Non-Gapmer を設計・合成しマウスに投与することで、その薬理活性と肝毒性発現について Gapmer と比較検討した。その結果、Non-Gapmer 投与群でのみノックダウン活性と肝毒性が同時に消失したことから、核酸化合物自体による毒性惹起ではないことを明らかとした。第 2 章では、Gapmer の薬理活性に必須な肝臓中 RNase H1 の発現を si RNA により抑制したところ、Gapmer 投与によるノックダウン活性と肝毒性が減弱もしくは消失することを見出した。これらのことから、Gapmer による肝毒性は RNase H1 の活性に依存することを示した。第 3 章では、肝毒性を示す Gapmer と同一の mRNA 領域を標的とする si RNA を設計・合成し、マウスに投与した。その結果、si RNA を用いて肝臓中の標的遺伝子を Gapmer と同程度にノックダウンしても肝毒性が惹起されなかったことから、Gapmer による肝毒性はオンターゲット作用ではないことを明らかにした。第 4 章では、Gapmer は pre-mRNA を切断することから作用部位は核内であることを示した。第 5 章では、ゲノムデータベースやマイクロアレイデータを用いて、Gapmer によるオフターゲット作用を検討した。その結果、肝毒性を示す Gapmer はオフターゲット作用により核内で標的 RNA 以外の標的類似配列の非特異切断を引き起こし、肝毒性を示さない Gapmer は標的類似配列の非特異切断を引き起こさないことを見出した。以上の結果から釘宮は、Gapmer による肝毒性発現の主要因は RNase H1 を介した RNA の非特異的な切断であることを明らかにした。また、毒性を示さない Gapmer を創製するためには、ゲノムレベルで配列特異性の担保や標的特異性の確保が重要となる可能性を示すことができた。

これらの研究成果は核酸医薬品の研究開発に貢献するものであり、よって本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。