

審査の結果の要旨

氏名 篠原 史一

核酸医薬品は、従来の医薬品では有効な治療法がない疾患に対し、新たな治療選択肢を与え得る新規な創薬モダリティとして期待され、多数の研究開発が進められている。核酸医薬品の一つに siRNA (small interfering RNA) 医薬品が挙げられ、2019 年に初の siRNA 医薬品が上市されたが、siRNA 医薬品の更なる普及に向けては、安定性や活性を高めるための化学修飾を鍵とした siRNA 医薬基盤の改良が継続されている。siRNA 医薬基盤の活性を増強させることができれば、より少ない分子数で治療効果が期待でき、さらには核酸に起因する免疫刺激性などの毒性軽減も期待できることから、siRNA 医薬基盤の実用性向上に向けた活性増強に対するニーズは大きい。本論文は siRNA ガイド鎖 5' 末端塩基構造が、RNA 干渉のエフェクター複合体 RISC (RNA-induced silencing complex) の中核タンパク質である Argonaute2 (AGO2) と相互作用する点に着目し、siRNA ガイド鎖 5' 末端塩基構造を最適化することで、RISC 形成効率の向上と、siRNA 活性増強につなげたものである。本論文は全部で 6 章から成るが、論文の核となるのは第 1 章から第 4 章である。第 1 章では核酸医薬品および siRNA の機能メカニズム、構造情報を活用した創薬の現状に関する学術背景が、第 2 章では新規にデザインした化学修飾「6-mCEPh-purine」の取得経緯ならびに機能評価結果が、第 3 章では総合討論が、第 4 章では材料と方法が、それぞれまとめられている。

第 2 章では、まず AGO2 の MID ドメイン構造の分析結果に基づいて新規化学修飾「6-mCEPh-purine」がデザインされた経緯を示した上で、その機能を丁寧に検証している。siRNA ガイド鎖 5' 末端結合ポケットに対して構造最適化された人工塩基の探索に際しては、公知なヒト AGO2 MID ドメイン/AMP 複合体の X 線結晶構造情報を分析し、市販化合物を対象とした探索と独自デザインによってアデニン 8 位修飾アナログ 8-Br AMP と、アデニン 6 位修飾アナログ 6-mCEPh-purine を見出し、それぞれの AGO2 MID ドメインに対する結合様式を評価可能なピアコア結合実験、NMR、X 線結晶構造解析によって 8-Br AMP ならびに 6-mCEPh-purine が AGO2 MID ドメインに対して結合親和性を増強していることが示された。さらなる解析から、siRNA ガイド鎖 5' 末端に対する 6-mCEPh-purine アナログの導入により、1) 細胞内での RISC 形成量が向上されること、2) 細胞株ならびにマウス動物モデルにおいて数倍の siRNA 活性増強、発現抑制の持続をもたらすこと、が明らかにされた。

第 3 章では、第 2 章での実験結果に基づき広範囲な討論がなされている。特にアデニン 6 位の誘導体 6-mCEPh-purine に関しては、ピアコア実験、NMR 解析ならびに X 線結晶構造解析結果に基づく構造生物学的な解釈を行いながら、初めて具体的な結合解離定数の変化を示す形で

MID ドメインに対して結合親和性が増強されたアナログを取得したことを論理的に説明した。さらに、得られた 6-mCEPh-purin 修飾を搭載することによる siRNA 活性の向上結果に基づき、5' 末端塩基構造最適化による siRNA 活性増強策の妥当性と、外部報告との比較による現時点の技術到達度、今後の更なる技術改良の戦略に関しても論理的に考察している。

このように本論文は siRNA の機能メカニズムに即したガイド鎖 5' 末端塩基構造の最適化により、AGO2 MID ドメイン結合親和性を向上させた塩基アナログ 6-mCEPh-purin を取得し、その機能メカニズムを構造生物学的解析ならびに機能評価によって明らかにしたものであり、今後さらに進展が想定される siRNA 医薬基盤への貢献も期待されるなど、基礎だけではなく応用面からも意義深い研究である。

なお、本論文は、協和キリン株式会社の齋藤純一博士、小葦泰治博士、佐藤敦子博士、宮城光氏、高橋雄一氏、鈴木道彦氏、高山裕生博士、濱口香織氏、山本潤一郎氏、西川知之氏、澤田貴史博士、中島雄大氏、幸田康生氏、春元俊正博士、牧野麻奈氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって共同研究戦略の立案と指揮、機能評価を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（医科学）の学位を授与できると認める。

以上、1880 字