HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	核酸を用いた迅速な標的探索手法の確立と新規抗菌剤に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	前川, 和彦
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	乙第6997号
Issue Date	2016-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62467
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Kazuhiko_Maekawa_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（生命科学）　氏　名　　前川　和彦

学 位 論 文 題 名

核酸を用いた迅速な標的探索手法の確立と新規抗菌剤に関する研究

医療技術の発達、特に治療のための薬剤は多くの病気から命を救ってきた。しかしながら現代においても、まだ根治に至らない病は多く残っており、新たな薬が待たれている状況に変わりはない。アスピリンに心筋梗塞の予防という思わぬ薬効が発見されたように、既存薬が新たな治療薬となる例も最近は増えているが、最も期待されているのは、First in class（FIC）と呼ばれる新しい作用機序による新薬である。FIC 新薬の創製には、近年、標的を意識しない細胞株をつかった表現型スクリーニングのような手法も再び使われるようになってきているが、やはり多くの場合は、新しい創薬標的の発見から始まる。

しかしながら、新規標的を合理的に探索する手法は確立されていない。最近の例では癌免疫治療薬の標的として見つかった PD-1 のように、地道な基礎研究の過程で偶然に見つかることが多く効率が高いとは言えない。加えて、研究によく利用される細胞株などを使った実験で創薬標的候補が見つかっても動物では薬効不足であったり、深刻な副作用懸念が見つかったりすることで候補から落ちてしまい、実際の創薬に結びつく確率は極めて低くなっている。このような極めて低い成功確率と、研究を開始してから上市されるまでに長い時間を要することが FIC 新薬に挑むことを難しくさせている。

一方で、近年の科学の進歩による朗報もある。ヒトゲノムの解明や RNAi の発見により DNAChip や RNAi ライブラリーを用いた網羅スクリーニングが可能となった。また、創薬標的として従来は不適であった蛋白質と蛋白質の相互作用の阻害も、細胞外のものに対しては抗体医薬の登場で可能となった。核酸医薬など新たな創薬手法も登場してきて、狙える標的の幅は増加しつつある。

本研究は、これらの技術の進歩を取り入れながら、新規創薬標的の迅速かつ合理的探索手法の確立を目指すことを目的とした。

第一章では、アレルギーにおける FcεRI のような鍵分子を起点とした、現代では古典的となった標的探索手法についてまとめた。好塩基球を用いて、ヒト FcεRI を構成するαβγ鎖のうち、唯一未解明であったβ鎖のクローニングを行った。その後 FcεRI のシグナル伝達系への関与が報告されたチロシンリン酸化に着目し、好塩基球に発現するチロシンフォスファターゼの探索を実施した。この手法は、たとえば、まだよい細胞株がない神経系の標的探索では現代でも現役であるが、シグナル伝達系をたどっていくという事自体が難しく、結果的に新しい創薬手法の必要性に気付くための序章となった。

第二章では、近年利用可能となった siRNA ライブラリーや DNAChip を利用した創薬手法の構築と探索結果について述べた。新規癌治療標的の発見を目指して、21121 遺伝子に対して設計された siRNA を癌細胞株 RERF-LC-AI に導入し、各遺伝子の機能を阻害した状態を作り出し、増殖抑制を指標に探索を行うことで、421 遺伝子の候補を得た。オフターゲット効果によるものを排除するため、異なる設計の siRNA を用いて絞り込みを行い、結果として 421 遺伝子の中から 42 遺伝子の候補が残った。この中から幅広く効果のある標的を選ぶため、違う癌細胞株 A549 を用いた同様のスクリーニングを行い、更に 38 遺伝子に絞り

込んだ。これらの中から正常細胞への毒性の少なさや、癌細胞での発現状態を指標に 7 つの候補を得た。既知であった 3 つを除き最終的に 4 つの新規創薬標的候補 NUP205、NHP2L1、RBM8A、AQR を得た。この探索手法は iPS 細胞などの利用によって、従来では難しかった種々の細胞株が大量に手に入るようになり、非常に有用で様々な新規創薬標的候補を見つけることができる。しかしながら、細胞株での表現型を起点としているため、動物での時間のかかる検証が必要となり、迅速性が十分でないこと、また、このスクリーニングで見つかる標的候補の大半は従来の低分子創薬や、抗体医薬といった手法では狙うことができず、そのポテンシャルを最大限に生かせないことの 2 点から新たな創薬手法の導入が必要であるとの結論に達した。

第三章では、そのための手法として標的の選択の自由度が高く、かつ薬効検証が迅速である核酸医薬を選択し、その第一歩として細菌での創薬手法の検討について述べた。細菌としては、多剤耐性菌の出現により治療現場で新しい治療法が待ち望まれている緑膿菌を選び、菌体内へのデリバリーに適したペプチド$(RXR)_4$と核酸(PNA)の組み合わせを明らかにし、LptD などの効果的なターゲットと抑制配列を得た。その過程で同じグラム陰性菌の中でも緑膿菌と大腸菌では効果的なペプチドが異なることが判明した。

人体内の臓器への核酸のデリバリーという課題は残っているが、本研究によって、ゲノム情報や RNAi スクリーニングによる合理的かつ網羅的な標的探索法と、核酸医薬による迅速かつ標的自由度の高い手法を組み合わせることで、FIC 創薬の可能性を高めるための迅速な新規創薬標的探索システムの基本的な構築ができたと結論できる。

核酸医薬は当初、低分子医薬では狙いづらい蛋白標的に対する医薬として取り上げたが、近年の次世代シーケンサーや大量の情報を処理するインフォマティックス技術の進歩により non-coding RNA などの機能解明が進み、その対象とする範囲は大きく広がっている。核酸医薬は低分子医薬に対する破壊的技術となる可能性を秘めているが、その鍵となるのは先に述べた各種臓器に対するデリバリー技術の進展である。この点については引き続き研究を継続していきたい。