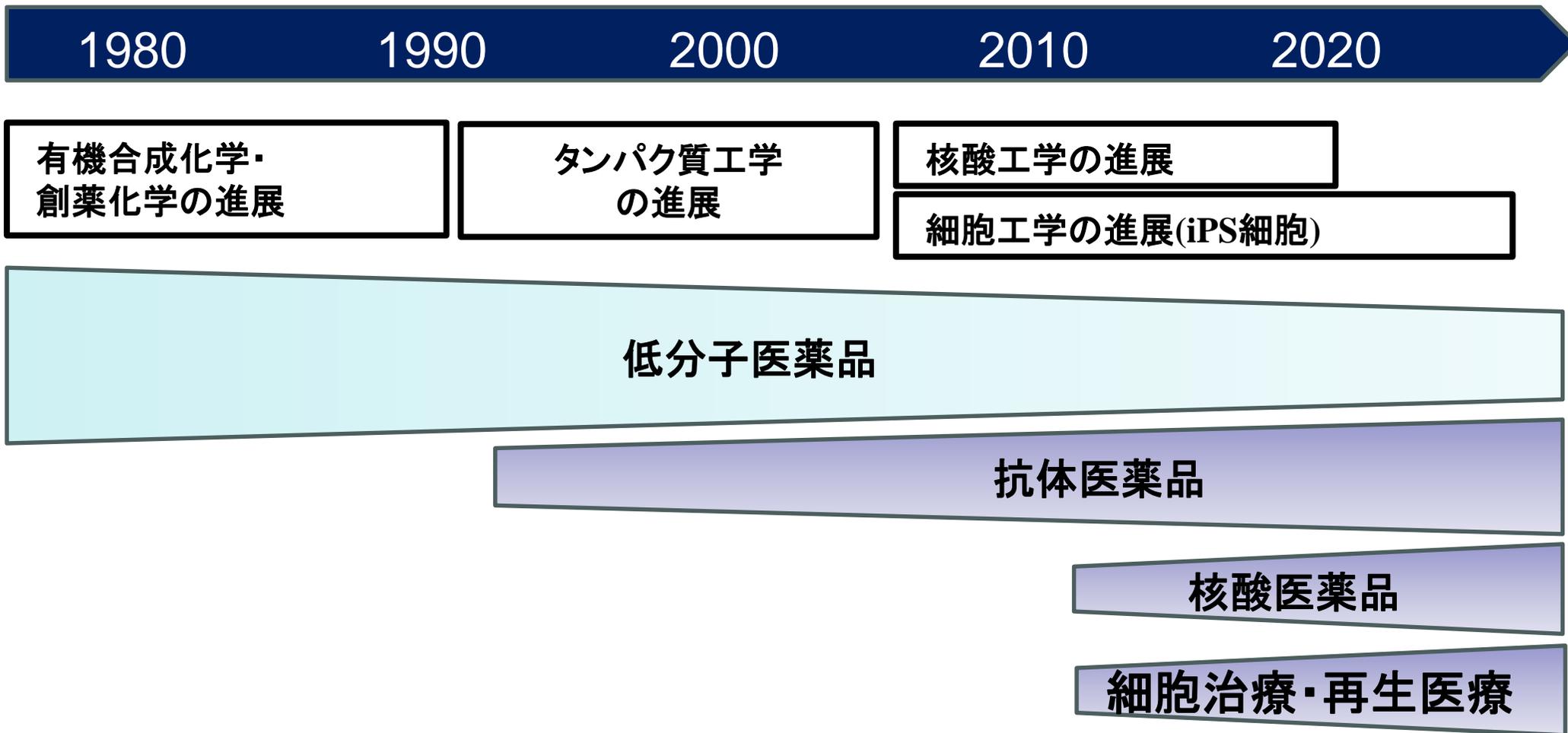


# デザインブルな人工スプライシング 制御RNAの開発

摂南大学 農学部 応用生物科学科  
講師 芳本 玲

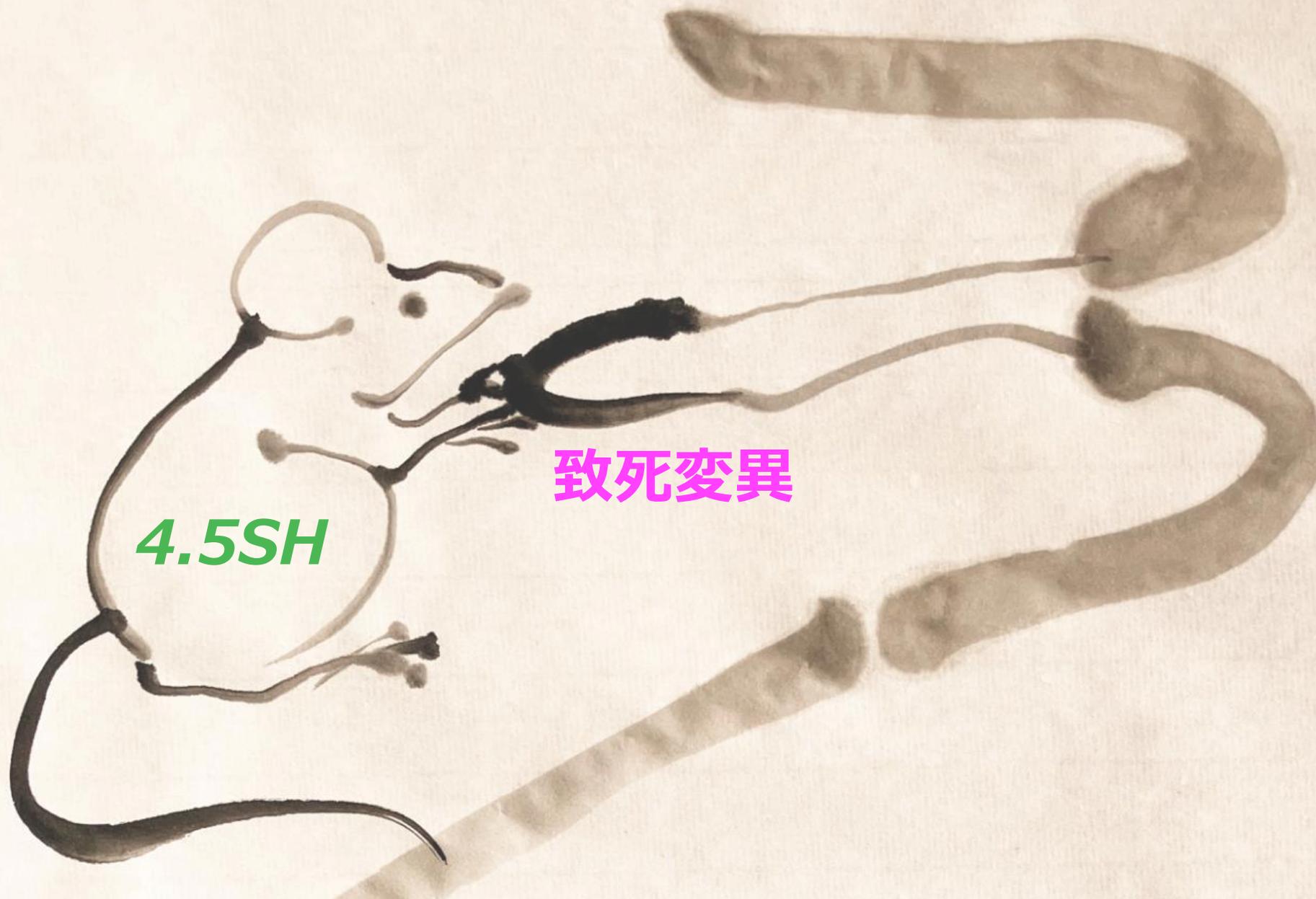
2024年2月29日

# 核酸医薬:新しい創薬モダリティ



医薬産業政策研究所リサーチペーパー・シリーズNo.72、2018年5月を元に作成

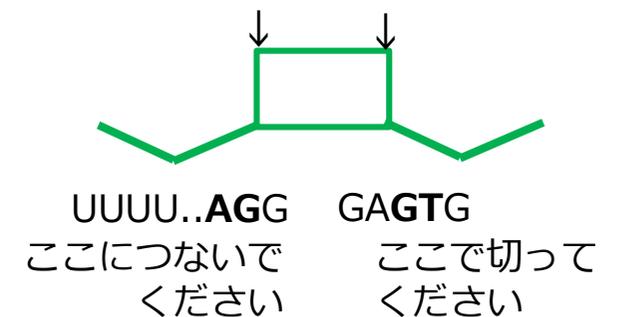
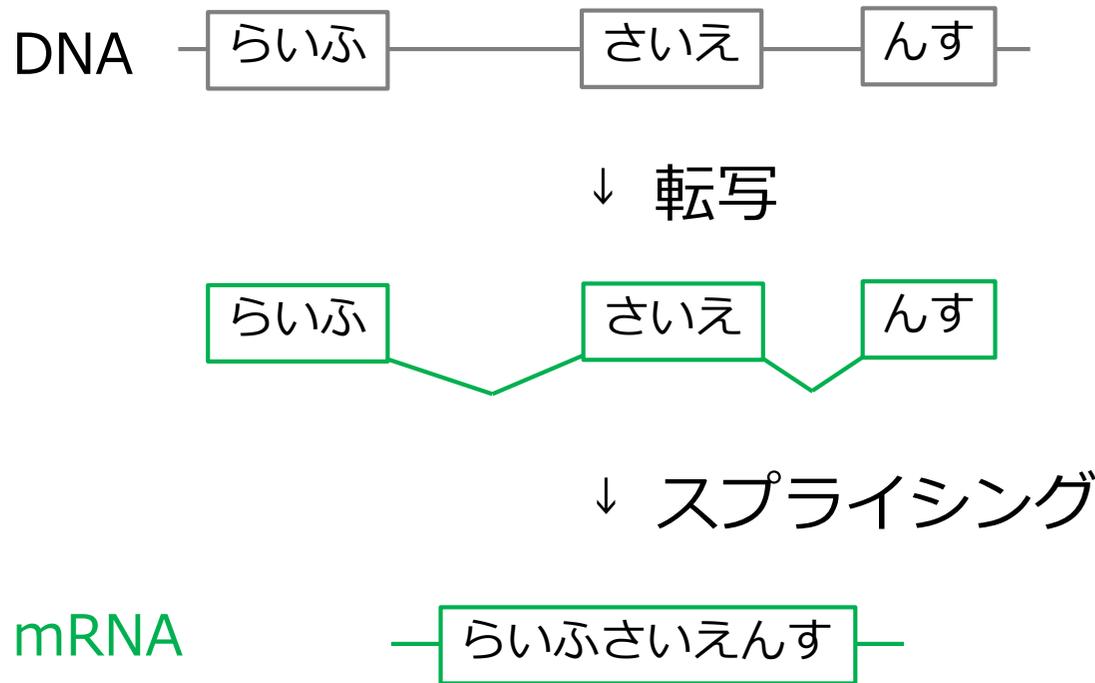
# 4.5SH = マウスが獲得した天然の遺伝子治療薬



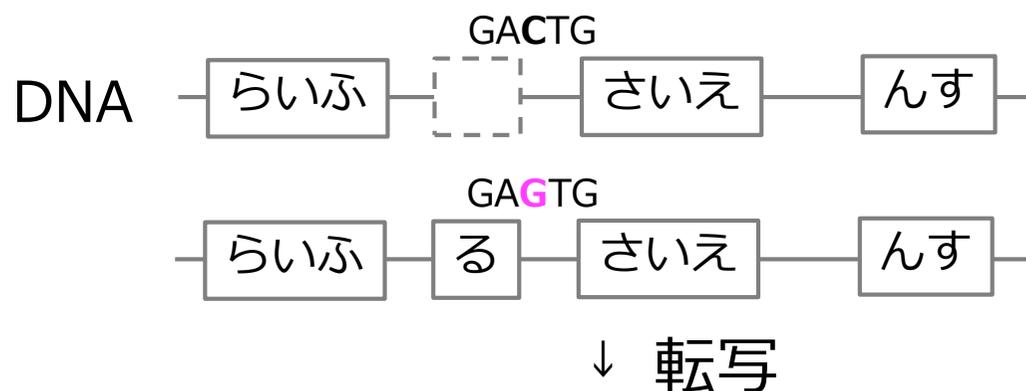
# 研究の背景: セントラルドグマ



# 研究の背景: 遺伝子は分断されている



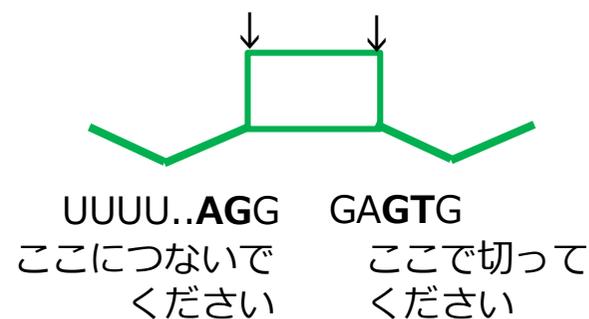
# 研究の背景：変異→つなぎ間違いと...



mRNA

↓ スプライシング

らいふるさいえんす ????????



## 研究の背景:

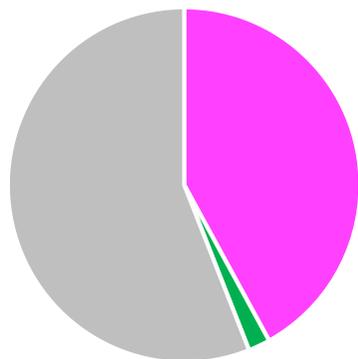
mRNAスプライシングを乱す  
可能性のある危険な配列



「コピペ」で増える配列：レトロトランスポゾン

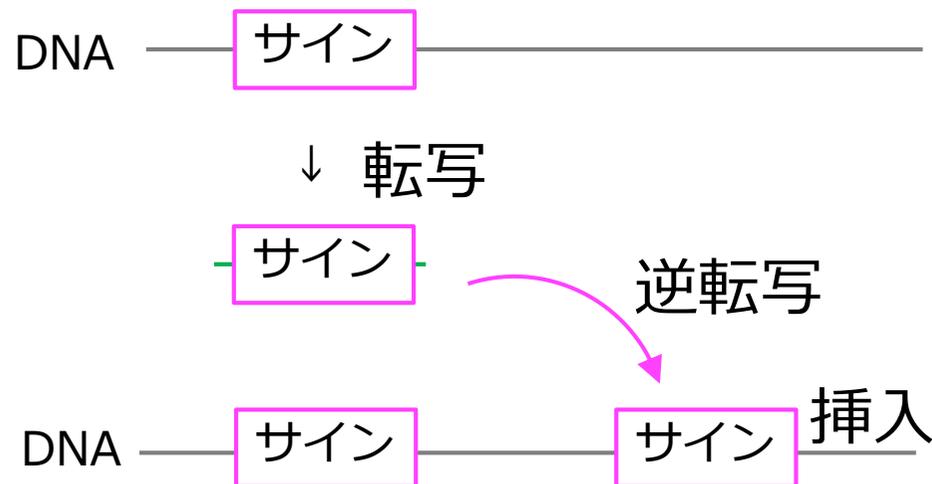
# 研究の背景:「コピペ」で増える配列

## ・レトロトランスポゾン

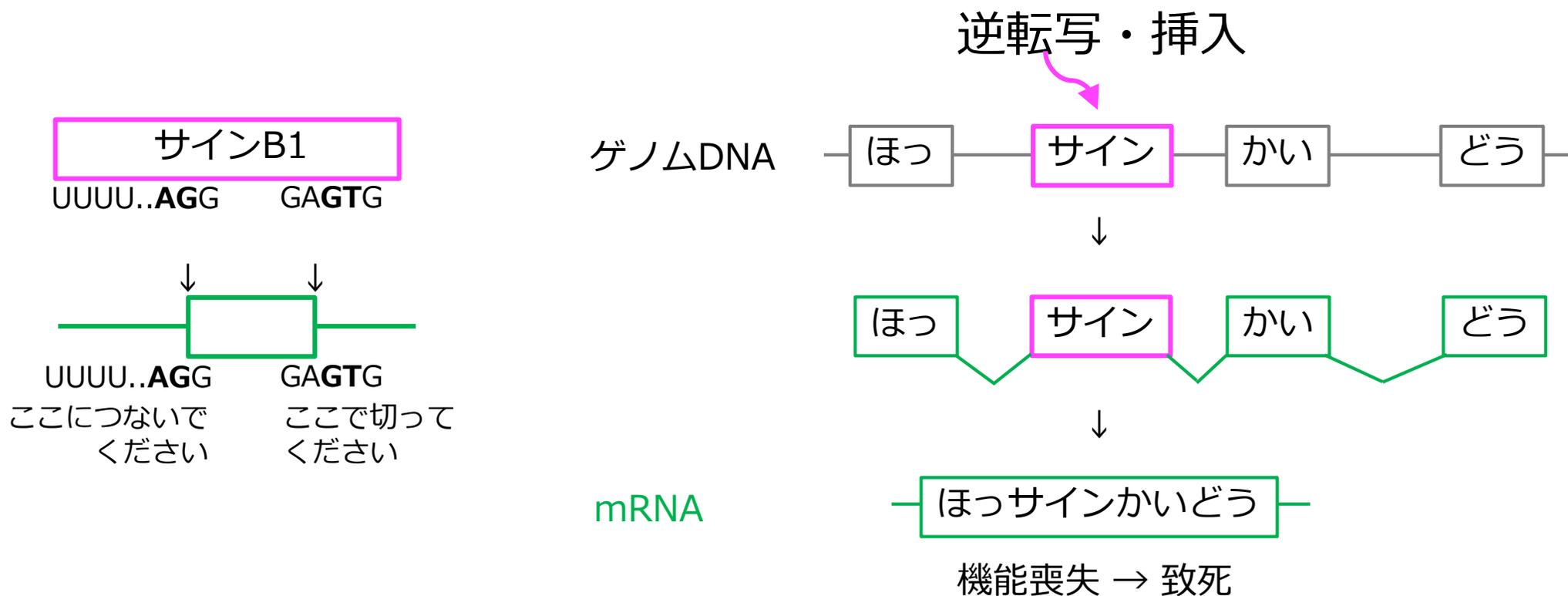


サイン  
ライン  
レトロウイルス

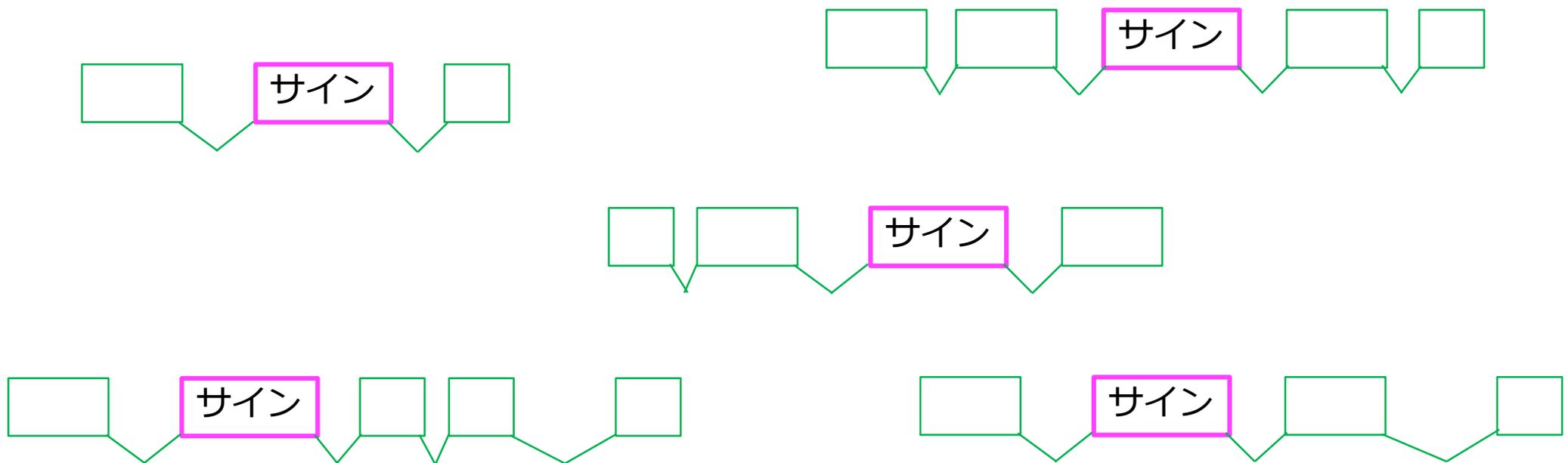
ヒトゲノムの42%は  
レトロトランスポゾン配列！



# 研究の背景: コピペ配列が致死性の変異の原因となる

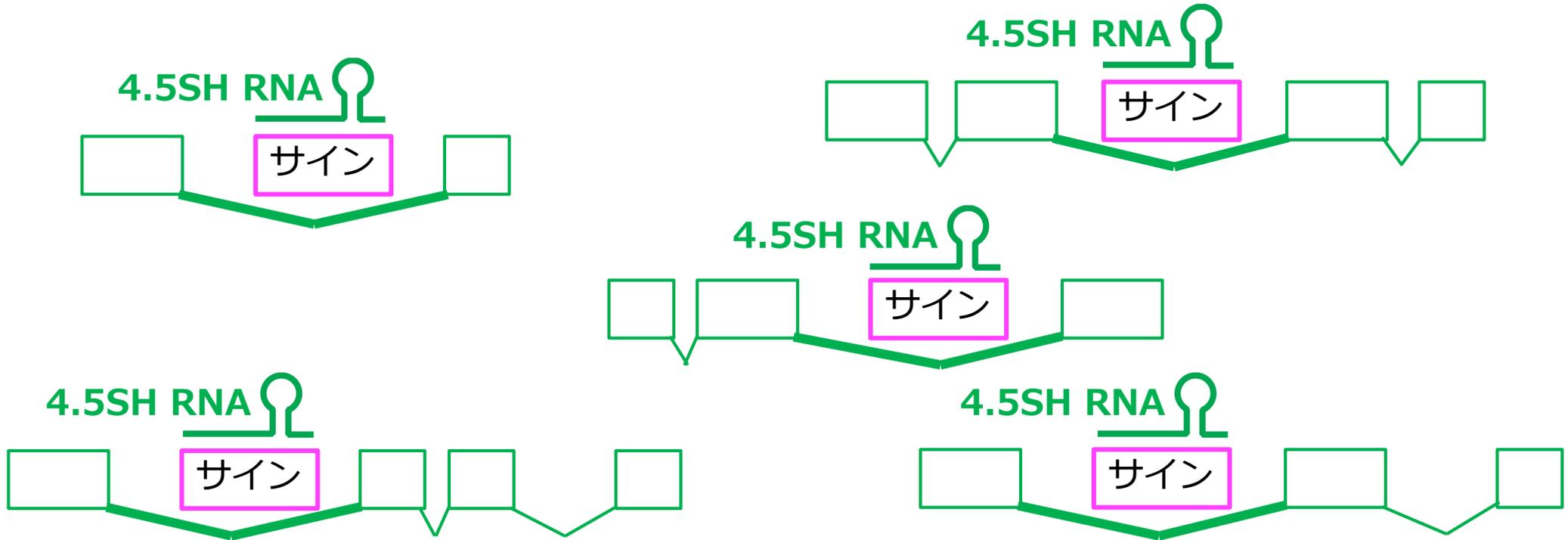


# 今回の発見①



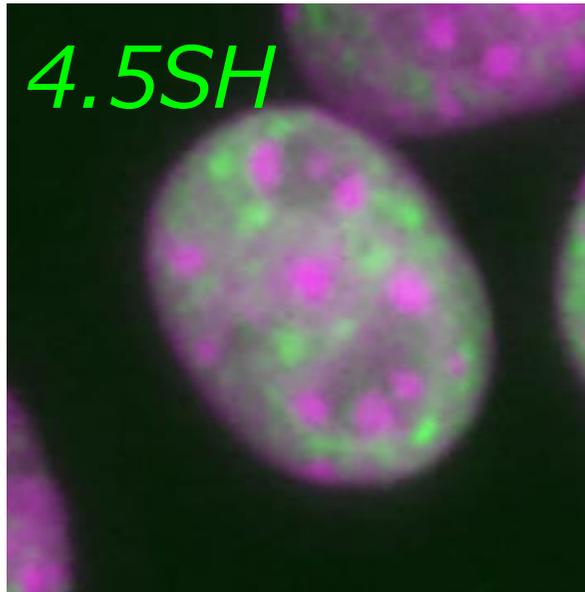
マウスでは多数の遺伝子に  
致死性の「コピペ」配列が挿入されている

# 今回の発見①



**4.5SH RNA**が「天然の遺伝子治療薬」としてはたらき  
致死性のコピペ配列を一括してスキップさせている

# 4.5SHとは?



- 1970代に配列が決定された古典的RNA  
Harada et al. *NAR* (1979) 原田文夫博士(当時がん研)
- マウス亜目 (マウス・ラット・ハムスター) のみが持つノンコーディングRNA
- サインB1と配列が似ている

```
B1      GCCGGGCATGGTGGCGCACGCCTTTAATCCCAGCACTTGGGAGGCAGAGGCAGGCAGGCGGATTTCTGAGTTCGAGGCC
4.5SH  GCCGGTTGTGGTGGCGCACGCCGGTAGGATTTGC-TGAAGGAGGCAGAGGCAGGAGGATCAC-GAGTTCGAGGCC
*****  ***** **                **                ***** **** * *****
```

```
B1      AGCCTGGTCTACACAGTGAGTTCCAGGACAGCCAGGGCTATACAGAGAAACCCTGTCTCAAAAAACAAAA
4.5SH  AGCCTGGGCTACACATTTTTTT-----
*****  *****
```

# 今回の発見①

## 4.5SHはサイン配列を無毒化している

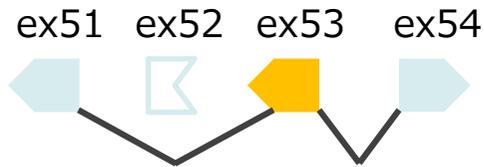




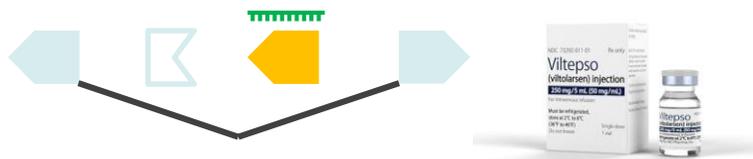
# 今回の発見② ヒトの遺伝病の治療薬として使える可能性

デュシェンヌ型筋ジストロフィー

疾患型DMD遺伝子

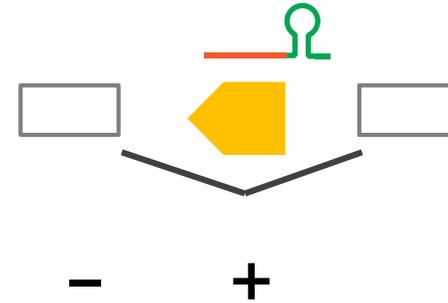


核酸医薬（ビルトラルセン）治療

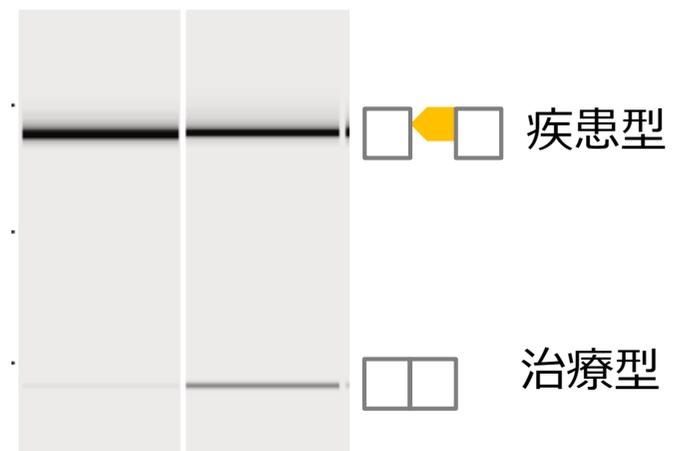


体重20 kgの場合：約60万円/週

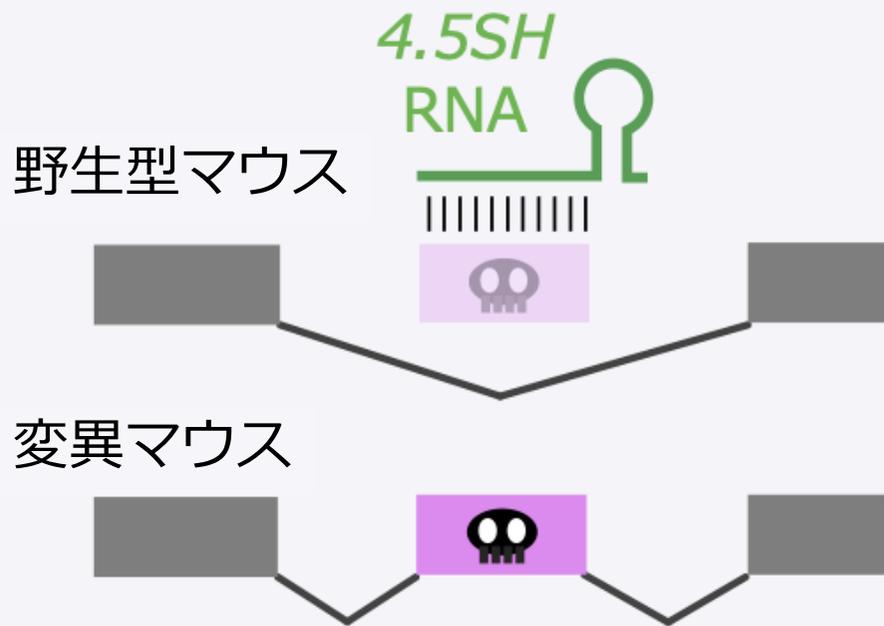
人工キメラRNA



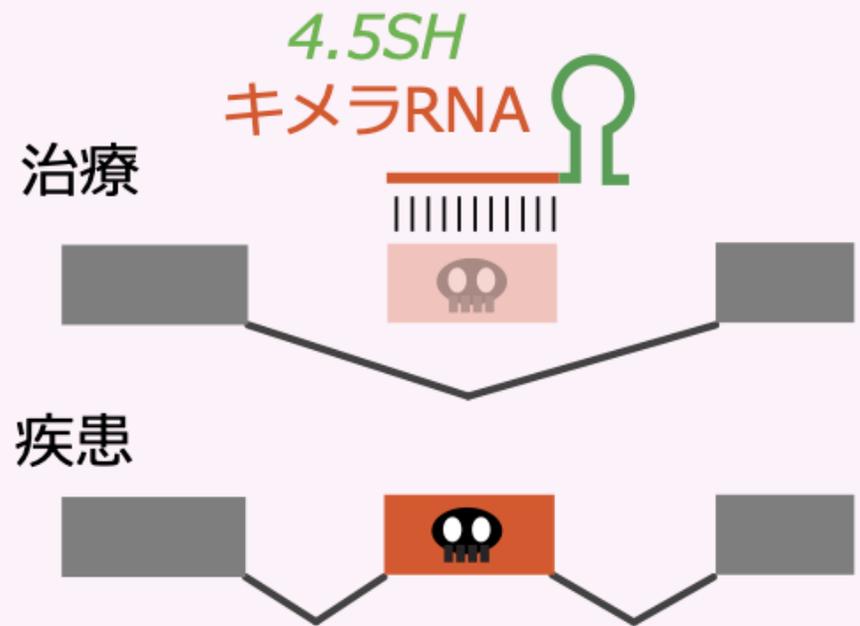
培養細胞と  
モデル遺伝子  
を用いた実験



## 本研究で得られた知見



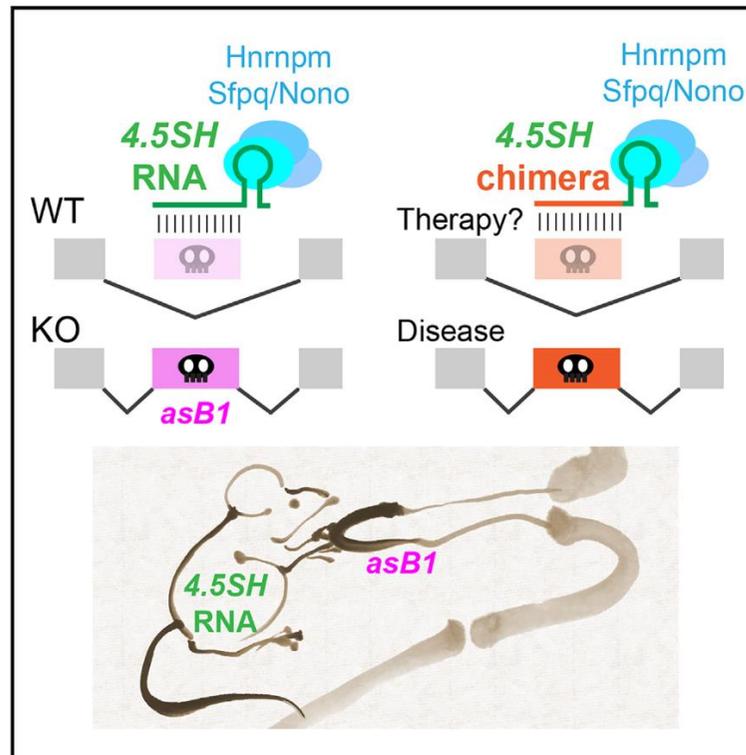
## デザイン可能な スプライシング制御人工RNA



# Molecular Cell

## 4.5SH RNA counteracts deleterious exonization of *SINE B1* in mice

### Graphical abstract



### Authors

Rei Yoshimoto, Yuta Nakayama, Ikuko Nomura, ..., Tetsuro Hirose, Kimi Araki, Shinichi Nakagawa

### Correspondence

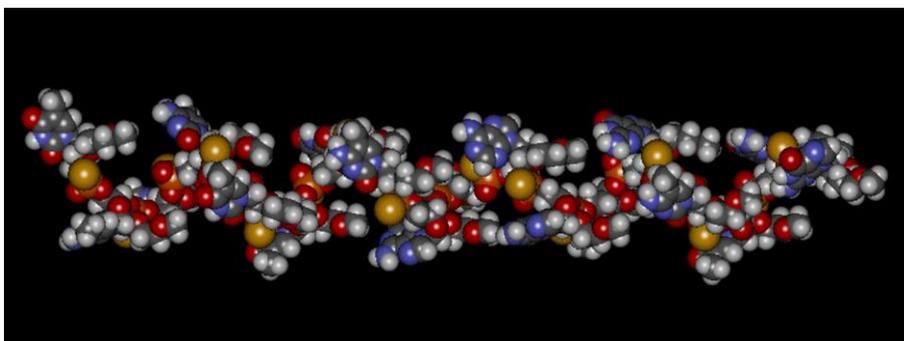
rei.yoshimoto@setsunan.ac.jp (R.Y.), nakagawas@pharm.hokudai.ac.jp (S.N.)

### In brief

Yoshimoto et al. have elucidated the function of 4.5SH RNA, the role of which had remained elusive for over 40 years. The 4.5SH RNA acts as a molecular “antidote,” protecting the transcriptome from retrotransposon invasion by inducing exon skipping. Chimeric 4.5SH RNA can be engineered to serve as a programmable splicing regulator.

# 従来技術とその問題点

## 'Spinraza': 世界初の核酸医薬



- ◆最初に承認された、脊髄性筋萎縮症 (SMA)に対する治療法
- ◆標的遺伝子の中から効果的な箇所を探索するスクリーニングが必要であり、開発に時間と費用がかかる
- ◆また、半減期が短いために数週間から数か月おきに繰り返し投与しなければ薬効が保たれず、医療経済的に大きな負担となる
- ◆アンチセンス核酸やゲノム編集とは異なる遺伝子発現を制御可能な新たな技術が必要とされている

# 新技術の特徴・従来技術との比較

使用分子/項目	従来技術 (アンチセンス核酸)	4.5SH キメラRNA
作用機序	物理的阻害	生物学的阻害
スキッピング 効率	低い	高い
発現ベクター への搭載	不可能	可能
投与量	大量	少量
細胞毒性	少ない	未知
持続性	短期	長期

## 想定される用途

対象となるスプライシング異常疾患

- 全身性エリテマトーデス (SLE)
- 前頭側頭葉型認知症 (FTDP-17)
- 福山型筋ジストロフィー
- 筋萎縮性側索硬化症 (ALS)
- 家族性自律神経失調症 (FD)
- 各種がん等

## 実用化に向けた課題

- 現在、培養細胞とモデル遺伝子を用いた実験系において任意のエキソンのスキップが可能のところまで開発済み。しかし、動物個体でのスキップが未解決である。
- 今後、各種疾患もでるマウス実験データを取得し、個体に適用していく場合の条件設定を行っていく。
- 実用化に向けて、研究費と研究時間と研究場所を確保する必要がある。

## 企業への期待

- 未解決のマウス実験については、アデノ随伴ウィルス(AAV)により克服できると考えている。
- AAVの創薬のノウハウを持つ、企業との共同研究を希望。
- また、新たな遺伝子治療のモダリティを検討中の企業、核酸医薬分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

## 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 人工RNA分子
- 出願番号 : PCT/JP2023/015828
- 出願人 : 常翔学園 摂南大学、北海道大学
- 発明者 : 芳本 玲、中川真一

# お問い合わせ先

摂南大学  
研究支援・社会連携センター

T E L 072-800 - 1160

F A X 072-800 - 1161

e-mail [SETSUNAN.Kenkyu.Shakai@josho.ac.jp](mailto:SETSUNAN.Kenkyu.Shakai@josho.ac.jp)