

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 遺伝子治療実用化のための超分子ナノデバイス製造技術の創成

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

片岡 一則 (東京大学大学院工学系研究科・医学系研究科 教授)

主たる共同研究者

原島 秀吉 (北海道大学大学院薬学研究院 教授)

小暮健太郎 (京都薬科大学薬学部 教授)

長崎 幸夫 (筑波大学大学院数理物質科学研究科 教授)

佐々木 茂貴 (九州大学大学院薬学研究院 教授)

永次 史 (東北大学多元物質科学研究所 教授)

松村 保広 (国立がん研究センター東病院臨床開発センターがん治療開発部 部長)

斯波 真理子 (国立循環器病研究センター研究所病態代謝部 部長)

岡本 浩一 (名城大学大学院薬学研究科 教授)

3. 研究実施概要

本プロジェクトでは、遺伝子・核酸医薬治療の実用化を目指し、高度なデリバリー機能を創り込んだ超分子ナノデバイスを構築した。即ち、(i)生体内の異物認識機構を巧みに回避するステルス機能、(ii)体内を移動して組織に浸透する組織浸透機能、(iii)標的細胞を認識してその表面に結合する標的認識機能、さらには(iv)細胞内においてエンドソームから細胞質に移行するエンドソーム脱出機能、(v)細胞質中を移動して核などのオルガネラに到達するオルガネラターゲティング機能、(vi)細胞内で位置・時間特異的に効率的な遺伝子発現や薬理効果を発現させるエフェクター機能を搭載したナノデバイスを創製し、核酸化合物の全身さらには細胞レベルでの空間的ターゲティングの実現を目指した。結果として、検出(センサー機能)→診断(プロセッサー機能)→治療(エフェクター機能)を一体として成し遂げるナノデバイスの創製とその高信頼性・高効率製造技術を確立する事に成功し、安全かつ効果に優れた遺伝子・核酸医薬治療の実用化への道筋をつける事ができた。

遺伝子・核酸医薬を搭載した超分子ナノデバイスとしては、マルチ機能を創り込んだブロック共重合体/ホモ重合体の自己組織化により形成される「高分子ミセル型」と脂質二分子膜を主体とする「エンベロープ型」の二つのナノデバイスを構築した。研究体制としては、基盤技術構築グループ(片岡・原島・小暮・長崎・佐々木・永次)と実用的製造技術開発グループ(岡本・日油(株)・ナノキャリア(株)・塩野義製薬(株))が連携し、ナノデバイスの創製とその高効率・高信頼性製造技術の構築を行う一方で、臨床展開研究グループ(松村・斯波・鄭)との連携により医療分野での本格的実用化を目指した効率的なトランスレーショナル研究を推進した。より具体的には、基盤技術構築グループでは、生体内(*in vivo*)で治療効果を発現するためのアプローチとして、1) 生体内でのナノデバイス安定化に向けた化学構造の創出、2) ナノデバイスの標的組織特異性を高めるリガンド分子の創出、3) ナノデバイスのエンドソーム脱出や核移行性を促進する機能性素子の創出、4) 核酸医薬の効果を飛躍的に高める人工核酸分子の創出、を中心に検討を重ねた。一方、臨床展開研究グループでは、ナノデバイスの *in vivo* における性能を評価する疾患動物モデル系を確立し、基盤技術構築グループによって開発されたナノデバイスの治療効果を確認した。そこで得られた知見を基盤技術構築グループへとフィードバックさせる事によって、実用化に適したナノデバイス構造の絞り込みを行った。その結果、実用化への目処がたった技術、例えば高分子ミセル型ナノデバイスの基盤となるポリエチレングリコール(PEG)-ポリカチオンブロック共重合体(PEG-PAsp(DET)及びその誘導体)、及びエンベロープ型ナノデバイスを構成する脂質製造に関しては、それぞれ企業への技術移転を行った。特筆すべき事項として、PEG-PAsp(DET)及びそのホモ重合体に関しては、大型哺乳類動物を用いた安全性試験を実施し、顕著な毒性が見られない事を確認した。

本研究を通じて得られた顕著な成果として、以下に示す内容が挙げられる。a) 血管新生を阻害する遺伝子

及び核酸医薬を搭載したナノデバイスの全身投与により、難治性で知られる膵臓がんモデルに対して、抗血管新生療法に基づく優れた治療効果を得る事に成功した(片岡・鄭)。b) アドレノメデュリン遺伝子を搭載したナノデバイスの気管内投与により、肺動脈性肺高血圧症治療に向けた有効性が示されると共に、より簡便な投与方法に向けたナノデバイスのドライパウダー化にも成功した(片岡・ス波・岡本)。c) エンドソーム膜及び核膜融合性の高い脂質膜で多重コーティングしたナノデバイスを構築する事で、遺伝子導入が困難な非分裂性の樹状細胞に対して、劇的に高い遺伝子導入に成功した(原島・小暮)。d) PEG-オリゴ核酸コンジュゲートの固相合成法の開発に成功し、得られた核酸については酵素分解に対する安定性が著しく向上する事を確認した(長崎)。e) RNA のシトシンあるいはグアニンを配列特異的に認識し、様々な分子で化学修飾できる新規機能性人工核酸を創出した(佐々木・永次)。f) 新たなリガンド分子である肺血管内皮細胞及びカベオラ標的化ペプチド並びに腫瘍血管標的化ペプチドのナノデバイスへの搭載と効果の確認、腫瘍細胞特異的組織因子に対する抗体の産生・生成・小分子化に成功した(原島・片岡・松村)。g) ナノデバイスによる安全かつ持続的な遺伝子導入により、効率の良い細胞分化誘導・骨再生に成功した(片岡・鄭)。

さらに、本プロジェクトの遂行を通じて得られた新たな研究展開として、ワクチンデリバリーシステム(原島)並びにタンパク質デリバリーシステム(片岡)の創出などが挙げられる。また、新たに導入された装置である高速レゾナントスキャナ搭載共焦点顕微鏡システムを駆使する事で、低侵襲的なリアルタイム *in vivo* イメージング法に代表されるナノデバイスの新規評価技術を確立し(片岡)、ドラッグデリバリーシステム(DDS)開発研究全体に大きなインパクトを与える事ができた。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

研究代表者らは、遺伝子や核酸医薬を送達するシステムとして「高分子ミセル型」と「エンベロープ型」超分子ナノデバイスを創製し、がんや循環器疾患、運動器疾患に有効である事を安全性と共に実証し、実用化に向けて臨床治験が視野に入る段階まで研究を進展させた事は極めて高く評価できる。これらの超分子ナノデバイスの創製は、優れた有機合成技術、ナノデバイス内への遺伝子封入技術、標的細胞選択的遺伝子導入・エンドソーム脱出能を有する機能性素子の開発など、数々の基礎研究が統合される事で初めて成功に導かれたものであり、その成果が国内外の研究者をインスパイアし続けた事は賞賛に値する。また、高速レゾナントスキャナ搭載共焦点顕微鏡を用いて、ナノデバイスが血管を通過して腫瘍部位へ集積する様子などの薬物動態をリアルタイムで観測する事により、ナノデバイスの有効性に加え、生体への応用展開が促進された事も同時に高く評価したい。とりわけ、本プロジェクトが成功した要因は、研究代表者の卓越したリーダーシップの下で、多くの異なる分野の研究者・研究グループが密接に連携・分担し、非常にオープンな議論を展開する研究体制が構築され、DDS という一つの方向に立ち向かった事にあった。その上、相澤 CREST を含めると約 10 年間で、研究の飛躍的な発展は云うに及ばず、当初は学生として本研究に携わった多くの若い研究者達が、この自由闊達な研究環境の中で目を見張る成長を遂げ、新しいキャリアやプロモーションを獲得し、本分野の優れた人材として育成された事も特筆されて然るべきである。

発表件数、研究内容のレベル共に非常に高く、国内外の注目度も極めて高い。特許取得(国内、海外共に)、企業によるナノデバイスの製造、前臨床治験の実施、がんワクチンの企業による実用化プロジェクトの実施など、高いレベルでの知財に関する取り組みを実際に行っている。

- ① 原著論文(国内3件、海外364件)、その他の著作物・総説、書籍360件
- ② 学会招待講演(国内会議311件、国際会議229件)
- ③ 学会口頭発表(国内会議543件、国際会議115件)、ポスター発表(国内会議588件、国際会議394件)
- ④ 国内特許出願(54件)、海外特許出願(33件)
- ⑤ 受賞 83件、新聞報道等 120件

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

本研究の戦略目標は、がん、循環器疾患、運動器疾患という具体的な三大疾患に対する遺伝子治療法の道

筋を確立する事であり、臨床治験まで視野に入れた明確な方針が打ち出されている。本研究で開発された遺伝子治療法は多くの優れた成果を達成し、その実用化の暁には社会的インパクトは極めて大きい。研究チームは、工学、薬学、医学に加え製薬企業も集結した、世界を先導する極めて高い研究レベルのコミュニティであり、「ナノ製造」CREST 領域の中でも特筆すべきプロジェクト成果である。

科学技術の代表的成果を以下に挙げる。

1. ナノデバイス創製と効果: ①PEG-PAsp(DET)を基盤とする高分子ミセル型ナノデバイスによる低毒性かつ高効率エンドソーム脱出機能の実現、②疎水基(コレステロール基)並びにジスルフィド(SS)架橋導入高分子による全身投与のためのミセル型ナノデバイスの構築、③高分子ミセル型ナノデバイス内へのプラスミドDNAパッケージング(折り畳み)機構の解明、④腫瘍組織の標的化と細胞内動態制御のためのペプチドリガント(環状RDG)導入高分子ミセル型ナノデバイスの構築、⑤多機能エンベロープ型ナノデバイス(MEND)作製法の確立、⑥腫瘍組織選択的にPEGを脱着する全身投与型MENDの構築とPEGジレンマの克服、⑦樹状細胞を標的としたアルギニン 8 量体修飾 MEND(R8-MEND)による遺伝子導入とワクチンへの応用、⑧機能性核酸デリバリーのための GALA ペプチド修飾 MEND の開発とメラノーマの肺転移抑制効果、⑨高分子ミセル型、及び MEND 型ナノデバイスの凍結乾燥製剤化と経肺投与法の確立。⑩PEG-PAsp(DET)及びそのホモ重合体からなる高分子ミセル型ナノデバイスに対し大型哺乳類動物を用いた安全性試験を実施し、顕著な毒性が見られない事を確認した。
2. 機能性核酸: ①細胞内 RNA の機能異常に由来する疾患治療のため、RNA の特定部位の特定塩基を検出する機能性人工核酸の開発、②特定配列の 2 本鎖 DNA(例えばがん遺伝子)に結合し、3 本鎖を形成する事でアポトーシスを誘導する機能性人工核酸の開発。
3. がんや疾患の治療応用: ①PEG-PAsp(DET)とアドレノメデュリン遺伝子から成る高分子ミセル型ナノデバイスによる肺動脈性肺高血圧症モデルの治療、②PEG-PAsp(DET)と骨再生誘導遺伝子(caALK6/Runx2)から成る高分子ミセル型ナノデバイスを担持した足場材料の生体内留置による骨再生、③環状 RGD ペプチド搭載高分子ミセル型ナノデバイスによる血管新生阻害に基づく膵臓がん及び子宮頸がん治療、④ワクチン搭載 R8-MEND を用いた膀胱がん治療。
4. 実用化に向けた取り組み: ①素材製造企業による高分子ミセル型ナノデバイス(PEG-PAsp(DET))の GMP 準拠製造開始、②環状 RGD ペプチド搭載高分子ミセル型ナノデバイス開発の製薬企業への技術移転、③製薬企業によるワクチン搭載 R8-MEND 実用化プロジェクトが進行中である。

4-3. 総合的評価

研究代表者らが開発してきた高分子ミセル型及びエンベロープ型ナノデバイスは、コンセプトが独創性に富んでおり、遺伝子デリバリーを用いた診断・治療に有効である事が多くの疾患モデルで実証され、がんや種々の疾患治療に「質的なイノベーション」を起こすインパクトの高い研究である。本プロジェクトは、当初の目標以上に研究領域を拡大し、いずれも高いレベルの成果を挙げ、我が国が誇るバイオサイエンス分野の代表的成果の一つである。また、共焦点顕微鏡を用いた生体内観察法は、ナノデバイスの体内動態を直接観察する強力なイメージングツールであり、「観る」事の重要性を再認識させた。DDS 分野において本評価方法は今後広く普及していくものと期待される。

本プロジェクトが成功した要因は、研究代表者の卓越したリーダーシップの発揮にある。結果として、ナノデバイス創製、そのデリバリー機能の評価、医療への展開に対して、多くの異なる分野の研究者・研究グループが密接に連携・分担し、オープンな議論が展開されるに至った。更に、研究の飛躍的な発展のみならず、多くの若い研究者達が目を見張る成長を遂げ、本分野の優れた人材として育成された。

現在、本研究は製剤の大量生産を視野に入れて、PEG-PAsp(DET)系の GMP 準拠製造や BCG-CWS ワクチン搭載 R8-MEND の実用化プロジェクトが進行中である。約 10 年に渡る CREST の DDS 研究は、「ナノ製造」の約 5 年間の研究で大きく発展を遂げ、本研究チームは世界的にも卓越した研究コミュニティとして成長した。終了を迎えた現在、遺伝子治療の基礎的検討はほぼ完成の域に達し、企業での薬剤素材の GMP 製造が始まり、今後の臨床への展開が期待される。しかしながら、今後の臨床実用化に対しては相当な危惧もある。

即ち、今後は遺伝子治療に対する大型動物試験や臨床試験をどの様に実施して行くかが大きな課題である。特に、遺伝子治療に対する臨床試験の壁は極めて高く、本研究の成果を元に、リスクへの対応、経費、体制など十分に準備してかかる必要がある。遺伝子治療実用化に向けた更なる研究継続のための CREST 等の組織的國家プロジェクトは予定されておらず、今後の研究開発促進のためのファンド提供は今のところ民間に頼らざるを得ない。ファンド提供が十分でない場合には、本研究は必然的にスローダウンして行く事になるが、現在、臨床 I 相へ持ち込むことを視野に入れて、製薬企業の参画が検討されている。この動きに今後期待し、この素晴らしい成果が霧散してしまうことのないよう切に願う次第である。