

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
FS ステージ シーズ顕在化タイプ 事後評価報告書

研究開発課題名	: 非コード性 RNA に由来する核酸医薬シーズと生分解性ナノ粒子 DDS の一 体開発による革新的抗インフルエンザ予防・治療薬の創出
プロジェクトリーダー	: ホソカワミクロン(株)
所属機関	: 木村富紀 (立命館大学)
研究責任者	: 木村富紀 (立命館大学)

1. 研究開発の目的

インターフェロン (IFN)- α 1 mRNA を安定・増大するアンチセンス RNA (AS)と、この安定化機能に関わる塩基配列を持つアンチセンスオリゴリボヌクレオチド (asORN)は全長の ASと同程度に mRNA 発現を増加することを発見した。本申請では、現在臨床治験段階にある生体分解性 PLGA ナノ粒子を用い、インフルエンザウイルス感染局所にこの asORN 投与を可能にする吸入型 DDS (Drug Delivery System)を開発し、POC (Proof of Concept)を確立する。H7N9 型トリインフルエンザ A ウイルスによる世界流行が危惧される中、本申請によりノイラミニダーゼ阻害薬耐性株にも有効な、革新的インフルエンザ予防・治療薬を開発し、RNA を標的とする新規核酸薬市場の創出を目指す。

2. 研究開発の概要

①成果

上述の POC 実験を行う目的で、IFN- α タンパク質による自然免疫応答が検討可能な動物系として、ヒト A 型インフルエンザウイルス感染モルモットモデル系を樹立した。さらに、合成 RNA 断片である asORN を感染局所に送達させるための DDS として生体分解性ナノ粒子を用い、asORN の封入効率ならびにその遺伝子発現制御機能を至適化するための条件検討を行った。両者を用いて、asORN を感染局所に投与したところ、投与量に比例して、IFN- α 1 mRNA の早期発現とこれに伴うウイルスカ価の早期低下が観察された。この結果は、asORN が生体レベルで抗ウイルス性自然免疫の制御を可能にする事を示すものと考えられる。目的とする POC が完了したため、今後は実験規模を拡大し、抗ウイルス性核酸医薬開発を進める予定である。

研究開発目標	達成度
①培養細胞における生体分解性ナノ粒子による asORN 導入効果の検討	①asORN 封入条件の至適化:当初計画ではヒト用 asORN で実施を予定したが、②で予定したモルモット asORN 塩基配列を前倒しで決定したため、これに代えて至適化条件を求めた(達成度 100%)。
②モルモット asORN による IFN- α 1 mRNA 安定化ドメインの過剰発現実験	②全長 asORN と同等の mRNA 増大効果を示す塩基配列の決定
②-1: Sense (se) ODN の導入実験	②-1: モルモット IFN- α 1 AS RNA の発現を抑制する seODN 効果を確認した(達成度 100%)。
②-2: モルモット Antisense (as) ORN の過剰発現実験	②-2: asORN によるモルモット IFN- α 1 mRNA 発現増大効果を確認した(達成度 100%)。
②-3: モルモット asORN 封入 PLGA ナノ粒子の導	②-3: DDS として使用する生体分解性ナノ粒子の

<p>入実験</p> <p>③asORN 封入生体分解性ナノ粒子投与による抗ウイルス効果の判定</p> <p>④競合薬との比較・検討</p>	<p>核酸導入効果の培養細胞における検証実験を実施した(達成度 100%)。</p> <p>③培養細胞を用いて確認した IFN-α1 AS RNA による同 mRNA 発現制御効果を、ヒトインフルエンザ PR8 ウイルス感染モルモット気道において検証する POC 実験を完了した(達成度 100%)。</p> <p>④副作用発現に対するヒト IFN-α タンパク質製剤との比較優位性を検証した。asORN 投与により、IFN-α タンパク質の直接投与により報告される発熱や自己免疫の誘導等の副作用は認めなかった(達成度 85%)。</p>
--	---

②今後の展開

asORN を早期に実用化すべく、下記に示す asORN の最適化と前臨床試験を進める予定である。

1. 最適化実験: 塩基配列長の短縮化、RNA 分解酵素に対する抵抗性を改良するため塩基の化学修飾の追加を検討する。
2. ヒト IFN- α 1 mRNA 安定化ドメイン由来の asORN の最適化実験。
3. 前臨床試験:
 - 3-1 薬効薬理試験: asORN の分子作用メカニズムの解析。
 - 3-2 毒性試験: ナノ粒子の物理的刺激によるモルモット気道粘膜組織における炎症応答の有無の検討。
 - 3-3 薬物動態試験: 血中移行のエンドポイントの決定。

3. 総合所見

asORN-PLGA ナノ粒子のウイルス感染モルモット気道内 2 回投与によって、局所での IFN- α 1 mRNA の投与量依存的な発現と、鼻腔洗液中の PR8 ウイルス力価の低下が認められたことより、一定の成果が得られたといえる。

一方、核酸投与による非特異的な IFN- α 誘導 (siRNA における off-target effects) が核酸医薬開発における最も危惧される副作用として課題となっており、本実験の効果が選択的 IFN- α の発現であることの証明と、非特異的な発現の場合との作用・副作用における区別が可能なかの検証が必要である。さらに、この発現量で治療に意味のある力価低下を認められるのか、医薬開発を進めるには危惧されるかどうかである。