

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
本格研究開発ステージ ハイリスク挑戦タイプ 事後評価報告書

研究開発課題名	「抗原提示細胞特異的キャリアーと包摂した免疫抑制 siRNA 医薬」の単剤・全身性少量投与による移植臓器の画期的な生着延長
プロジェクトリーダー	
所属機関	Napa Jenomics 株式会社
研究責任者	梨井 康（国立成育医療研究センター）

1. 研究開発の目的

免疫を抑制する二重鎖 RNA 核酸と多糖(シゾフィラン、SPG、 α β -1,3-glucan)の複合体を用いて、免疫抑制剤を開発する。当該核酸と SPG の複合体は、 β グルカンの受容体 Dectin-1 と結合し、核酸を細胞内に導入する。Dectin-1 は、特に樹状細胞やマクロファージに強く発現している。即ち、核酸と多糖の複合体は、これらの細胞に対し全身性アクティブターゲティング能を有する DDS 技術である。

樹状細胞は、免疫応答のコントロールセンターとして知られている。本研究開発では、樹状細胞を標的として当該核酸を送達して免疫を抑制的に調節することで、抗原特異的な免疫寛容を誘導する治療法の確立を目指す。

2. 研究開発の概要

①成果

目標： SPG と複合体化した二重鎖 RNA 核酸の薬理試験をいくつかの移植モデルにて実施し、臨床応用への可能性と方向性を探索する。具体的には、抗原特異的な免疫寛容の誘導による、アロ移植臓器の生着の有意な延長を目標とする。

実施内容： ラット・ヒトの配列を設計し、SPG 複合体の最適化を進め、これを移植モデル試験において尾静脈投与して薬効を確認した。薬効が認められているモデルでは、その効果の再検証を実施した。その他の移植モデルにおいては、リンパ球混合培養(MLR)や、臓器移植で薬効を確認した。

達成度： 長期正着を達成したマウス心移植モデルの再現性を明らかにした。拒絶応答の激しいマウス心移植モデルでは、mTOR 阻害剤サブドーズとの併用で移植臓器の生着が延長した。マウス GvHD モデルではレシピエントの生存延長が認められた。ヒト PBMC を用いた MLR では、アロ応答の抑制を確認した。ラット腎移植モデルでは慢性モデルにおいて生着延長の傾向が観察された。

研究開発目標	達成度
①ラット dsRNA/SPG 複合体の最適化 ラット用の dsRNA を設計し SPG 複合体を最適化する。クライテリアは複合体化率・血清での安定性・RNAi 活性をベースとする。	①ラット dsRNA/SPG 複合体の最適化 ラット株化細胞を用いて標的 mRNA の抑制を確認した。尚、マウス株化細胞を用いても抑制した。即ち、配列は マウス・ラットにホモロジーを有するものであった。
②ヒト dsRNA/SPG 複合体の最適化	②ヒト dsRNA/SPG 複合体の最適化

<p>ヒト用の dsRNA を設計し SPG 複合体を最適化する。クライテリアは複合体化率・血清での安定性・RNAi 活性をベースとする。</p> <p>③ラット Dectin-1 発現細胞の確立 ラット株化細胞 c-WRT-7-LR に、Dectin-1 を恒常的に発現するラット株化細胞を作製する。</p> <p>④ヒト Dectin-1 発現細胞の確立 ヒト株化細胞 THP-1 に、Dectin-1 を恒常的に発現するヒト株化細胞を作製する。</p> <p>⑤ドナー特異的免疫寛容の誘導・維持の確認 長期生着が確認されている心移植モデルのマウス組合せを継続し、ドナー抗原特異的な免疫寛容の誘導を明確に再現する。</p> <p>⑥マウス腎移植モデルの確立 極めて精緻な手技を要するマウス腎移植モデルを確立し、既に確立されている dsRNA/SPG 複合体を用いて有効性を確認する。</p> <p>⑦マウス GvHD モデルでの有効性の確認 Semi-allogeneic な組み合わせの GvHD モデルで、レシピエントマウスの生存延長を目指す。</p> <p>⑧ヒト MLR における効果有効性の確認 MHC class II 分子の異なるリンパ球を混合するとアロ応答で細胞が増殖する。その抑制を目指す。</p> <p>⑨激しい拒絶応答のモデルでの用法の確立 拒絶応答の激しいマウス組み合わせで心移植モデルを実施する。dsRNA/SPG 単剤・mTOR 阻害剤サブドーズ併用の二通りで、移植片の生着延長を目指す。</p> <p>⑩ラット腎移植モデルにおける有効性の確認 急性拒絶、慢性拒絶それぞれのモデルを通じて、その抑制が得られることを目指す。急性モデルでは生存延長を観察する。慢性拒絶応答モデルで</p>	<p>ヒト株化細胞を用いて標的 mRNA の抑制を確認した。</p> <p>③ラット Dectin-1 発現細胞の確立 ラット Dectin-1 を細胞膜表面に多く発現する細胞を樹立した。</p> <p>④ヒト Dectin-1 発現細胞の確立 ヒト Dectin-1 を細胞膜表面に多く発現する細胞を樹立した。</p> <p>⑤ドナー特異的免疫寛容の誘導・維持の確認 移植 30 日後のレシピエント脾臓を摘出したところ、免疫制御細胞が誘導されており、別途作成した移植モデルに投与したところ、移植片の生着延長が観察された。</p> <p>⑥マウス腎移植モデルの確立 自家片腎を残すマウス腎移植モデルを多数実施した。移植オペは高い確率で成功したが、腎機能の回復を確認することなく数日で死亡した。</p> <p>⑦マウス GvHD モデルでの有効性の確認 マウス HTx モデルと相同の投与スケジュールで、レシピエントの生存延長の傾向を認めた。</p> <p>⑧ヒト MLR における効果有効性の確認 dsRNA/SPG を添加群でアロ応答による細胞増殖の抑制を確認した。</p> <p>⑨激しい拒絶応答のモデルでの用法の確立 単剤では、明確な移植片の生着延長が確認されなかった。アロ応答抑制以外の要素による拒絶と考えられた。併用法では mTOR 阻害剤サブドーズ単剤と比較して生着が延長する結果が認められた。</p> <p>⑩ラット腎移植モデルにおける有効性の確認 急性拒絶モデルでは、移植後の明確な生存延長は観察されなかった。他方、慢性拒絶モデルでは、生存延長を示唆する傾向および血清中クレアチニ</p>
--	--

は、生存延長・尿タンパクレベル・クレアチニン濃度などを測定する。	ン濃度の減少傾向が示唆された。
----------------------------------	-----------------

②今後の展開

臓器移植の臨床現場では標準治療で用いられる医薬品への信頼度が高い。そこで、以下のスペックを充足しつつ、現在の免疫抑制剤市場規模を減ずることなく、その治療領域を拡大する免疫抑制剤の開発を継続する。①全身性投与によって樹状細胞を調節し、ドナー抗原に対して免疫寛容を誘導する治療方法
②標的細胞にのみ作用させることで副作用の懸念を大いに低減でき、慢性期を通じて医薬からの離脱を以て患者 QOL 向上を果たす医薬品。

3. 総合所見

当初の目標に対して、一定の成果は得られており、イノベーション創出の可能性は残されていると思われる。

移植臓器の生着延長を目指す免疫抑制剤の開発が目的であり、天然で三重らせん構造を有する多糖シゾフィラン (SPG) の 1 本鎖を核酸と置き換えて形成した「核酸/多糖複合体」の DDS 技術を用い、標的分子の mRNA 抑制を目的とした dsRNA を結合させた薬剤であり、製剤設計のコンセプトは興味深いものである。しかし、結果として残念ながら動物モデルでは臓器の生着延長に関して有意な効果が認められず、目標は達成できなかった。アイデアは優れており、それに沿ったデータが得られているが、企業化の観点からは、目的とする免疫抑制力価が弱いため臨床応用に進めるには十分とは考えにくく、今後さらなる力価の改善等が必要であると思われる。また、樹状細胞上の共刺激分子をターゲットにした免疫抑制剤の臨床的意義や臨床ニーズについて更に精査し、既存の薬剤との差別化や併用方法について纏めておく必要があると思われる。