

医療分野研究成果展開事業/研究成果最適展開支援プログラム (AMED・A-STEP)

平成 28 年度終了課題 事後評価報告書

プロジェクトリーダー (企業責任者)	タカラバイオ株式会社 常務取締役 バイオ産業支援事業部門本部長 CDM センター長 峰野 純一
研究責任者	学校法人日本医科大学 大学院医学研究科分子遺伝医学分野 教授 岡田 尚己
支援タイプ	ハイリスク挑戦タイプ
研究開発実施期間	平成 25 年 12 月-平成 28 年 11 月
研究開発課題	AAV 中空粒子を用いる臓器特異的 DDS の臨床応用に向けた開発

### 1. 研究開発の目的

本研究ではシーズ技術である AAV (アデノ随伴ウイルス) 由来中空粒子への薬剤導入方法を活用して、種々の臓器に感染指向性を示す GMP 準拠 AAV 中空粒子を用いたドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発を行う。本課題では、実用化を進める上での開発リスクである AAV 中空粒子の大量製造・精製方法、薬剤導入効率評価系、心筋・中枢神経系等へ指向性があるカプシドの取得、臨床応用への重要なマイルストーンとなるマイクロドーズ臨床試験に向けた POC の取得について研究を実施する。本 DDS により、これまで送達が困難だった組織への有効な薬物投与が可能となることから、新たな medical revolution が達成される。

### 2. 研究開発の概要

#### ① 成果

昆虫細胞を用いたバキュロウイルスによる生産系およびヒト細胞 (293、293T) を用いたヘルパーフリー法での中空粒子の大量製造方法の開発研究を実施し、浮遊化 293T による無血清生産系を構築した。また、老齡マーモセットの神経由来サンプルより新規の AAV カプシド変異異体を探索し、高い遺伝子発現効率を達成する変異体を取得した。さらに、中空粒子への核酸の封入技術として、二本鎖 DNA の封入に必要なパッケージング配列に関する研究開発を実施し、効果的な DNA の封入配列を見出した。

研究開発目標	成果および達成度
① $1 \times 10^{15}$ capsid スケールの AAV 中空粒子の大量製造法の確立	① バキュロウイルスの生産系に取り組んでいたが、293T 浮遊化細胞を用いたヘルパーフリー法に方針変更した (達成率 60%)。
② GMP grade AAV 中空粒子製造方法の確立	② 293T 細胞を用いたヘルパーフリー法で超遠心工程を含まない製造法の基盤技術を確立した (達成率 95%)。
③ 薬剤導入効率試験系の構築	③ 核酸の封入に有望な塩基配列を特定し、プラスミド DNA 等の封入技術を開発し特許出願した (達成率 60%)。

④ 心筋、中枢神経系等への感染指向性が強いカプシドの取得	④ マーモセットの神経由来サンプルより、高い遺伝子発現効率を達成する新規変異体を取得し特許出願した（達成率 70%）。
⑤ 動物 PET を用いた Proof of Concept の取得	⑤ 生体イメージング解析に用いる AAV-Luciferase を作製した。上記新規 AAV 変異体について、筋肉内投与を行うことにより <i>in vivo</i> での発現が可能であることを確認した（達成率 50%）。

## ②今後の展開

本研究の成果をさらに応用して研究開発を継続していく計画である。カプシド変異体に関しては組織・臓器に対する指向性等の研究開発をすすめ、封入する核酸の選定も含めて、医療応用に用いる出口の選定を行う計画である。中空粒子の生産系については、現状は小スケールで確立できている状況であり、今後、スケールアップでの生産方法の開発を進め、本研究において得られた成果を応用して、選定した疾患に対しての中空粒子治療剤の生産技術の基盤整備を行う計画である。

## 3. 総合所見

本研究開発課題の目標である AAV 中空粒子の製造技術の開発は達成された。また、薬物候補の封入技術や臓器指向性の確認は一部未達成ではあったが、実用化に向けて一定の成果は得られた。

将来的には、導入薬剤の選択、その導入技術、および DDS 機能等をセットにした特許確保も含めた総合的な技術にし、本シーズを試薬に留まらず、AAV の性質を活かした医薬品としての事業性を高められることを期待する。

※記載の情報は平成 29 年 2 月時点の情報です。