

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 29 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)	富士フイルム株式会社 医薬品・ヘルスケア研究所 主席研究員 柿沼 千早
研究責任者	国立大学法人大阪大学大学院薬学研究科 細胞生理学分野 教授 辻川 和丈
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 26 年 12 月～平成 29 年 11 月
研究開発課題	ABH8 を分子標的とし架橋型人工核酸を用いた革新的膀胱癌治療薬の 開発

1. 研究開発の目的

膀胱癌は、発生当初は、上皮内がん、表在性がんという形状を示し、その後、深層から漿膜への浸潤、転移、播種が発生する。重要臓器が侵襲されると死に至る危険性が高まる。上皮内がん、表在性がんに対しては、膀胱内 BCG 注入療法が選択されるが、同処置後の再発は高頻度（約 70%）で、膀胱摘出に至る患者が少なくない。一方、癌がさらに進行した浸潤や転移を伴う膀胱癌においては化学療法が施されるが、現状では膀胱内 BCG 注入療法、化学療法ともに医療満足度は極めて低い。我々は、再発の少ない、再発しても膀胱摘出のリスクの少ない、BCG 注入療法に置き換わる膀胱癌治療薬の創生を目指し、大阪大学で見出された架橋型人工核酸（AmNA: Amido-bridged Nucleic Acid）を用い、膀胱癌関連遺伝子 ABH8 を分子標的とした革新的核酸医薬品を開発する。

2. 研究開発の概要

① 成果

膀胱癌は、発生当初は上皮内がん、表在性がんという形状を示し、その後、深層から漿膜への浸潤、転移、播種が発生する。上皮内がん、表在性がんに対しては、膀胱内 BCG 注入療法が選択されるが、同処置後の再発は高頻度（約 70%）で、膀胱摘出に至る患者が少なくない。浸潤や転移を伴う膀胱癌においては化学療法が施されるが、医療満足度は極めて低い。我々は、再発が少なく BCG 注入療法に比し障害の少ない治療薬の創生を目指し、辻川和丈教授（大阪大学大学院薬学研究科細胞生物学分野）らと研究を開始した。

研究成果として、ABH8 (AlkB homologue, ALKBH8) を抑制する LNA 修飾核酸内包リポソーム製剤（リポソーム製剤化プロセスは富士フイルムにて処方検討を実施した）によって *in vivo* 早期膀胱癌モデルに対する膀胱内投与により、膀胱内腫瘍の明らかな抗腫瘍効果（腫瘍増殖抑制効果）を発揮することを認めた。同モデルは移植条件を最適化した再現性の高い同所移植モデルであり、BCG 処置後の再発膀胱癌を模倣したモデルとして使用した。核酸配列は、ABH8 発現膀胱癌株化細胞である UMUC3 細胞株に対する ABH8 発現抑制効果、増殖抑制効果を *in vitro* で評価し、最適核酸配列を決定した。

ABH8 発現抑制による抗腫瘍効果のメカニズムに関しては、大阪大学 辻川教授によって、ABH8 依存的な候補標的分子がいくつか発見された。そのいずれも ABH8 依存的なアポトーシス誘導機構に関与していることが示唆された。今後は同メカニズムを動物モデルにて確認していく予定である。

毒性評価では、AmNA 修飾核酸の膀胱内単回投与局所刺激性試験において、投与部位である膀胱には、特記すべき毒性は認められなかった。さらに、LNA 修飾核酸の反復投与試験においても、投与部位である膀胱には、核酸製剤に特異的な顕著な毒性は認められなかった。今後、核酸動態学的解析手法を検討することで、核酸の薬物動態と毒性の変化を解析し、高い有効性かつ安全域を有する核酸製剤を開発する。加えて、核酸医薬品開発の規制に関して PMDA から情報（評価すべき項目）を入手し、対応する予定である。

研究開発目標	成果および達成度
<p>①ABH8 を分子標的とする AmNA 含有アンチセンスオリゴヌクレオチドの最適化</p> <p>②上記 AmNA 内包リポソーム製剤の薬効の確認 (in vitro)</p> <p>③膀胱癌同所性移植モデルの作成</p> <p>④上記(③)薬効モデル動物の妥当性の検証</p> <p>⑤本研究で創出した薬剤（リポソーム製剤）の有効性の検証</p> <p>⑥薬剤安全性の担保と薬剤適性の検証</p>	<p>①膀胱癌細胞株 UMUC-3 細胞に対し、既存リポソーム製剤にて内包した ABH8 AmNA は顕著な膀胱癌細胞増殖抑制作用を示したことから、核酸配列及び修飾体導入部位の最適化を完了した。</p> <p>②膀胱癌細胞株 UMUC-3 細胞に対し、薬効性を示すリポソーム製剤処方を見出した。</p> <p>③</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ABH8 発現細胞の膀胱内移入で生着する細胞の探索・確定。UMUC-3 細胞株での再現性の高い生着性を確認した。 2. 同所移植巣での病態の検討。生着した膀胱癌は表在性、早期癌の病態を有していることを確認した。また、病態に合わせた投与開始時期の設定を達成した。 <p>④</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 同所移植モデルの薬効評価技術の構築。非発光細胞の投薬後の重量・病理評価によって、膀胱癌サイズの評価を可能にした。 2. 同所移植モデルを用いた既存薬の薬効の評価。非発光細胞の投薬後の重量・病理評価によって、既存薬での有効性が評価できることを確認した。 <p>⑤</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 同所移植モデルを用い薬効を評価した結果、MTD 用量にて薬効が得られるレジメを見出した。 2. 投与量・回数を下げ、コントロール核酸との特異性を認める最少有効用量を検証し、候補となる投与レジメを見出した。
<p>⑥薬剤安全性の担保と薬剤適性の検証</p>	<p>⑥製剤安全性の担保において、毒性試験を実施した。その結果、単回投与並びに連投試験において、核酸製剤に起因する有意な毒性学的変化は認められなかったため、本製剤による懸念すべき重篤な毒性はないと判断した。</p>

②今後の展開

今後、本研究開発期間に得た結果から、下記課題を推進可能な他社に対し導出交渉を進め、ABH8 核酸医薬の開発を支援する。リポソーム製剤においては、AmNA 核酸にも適用可能な安全な新規製剤を開発し、大阪大学に供給することで研究開発への関わりは継続する。

具体的には以下のように進める。

- a) コントロール核酸による非特異的効果を明確化し、原因の解明と対策が必要であるが、他の研究機関の成果も取り込み改良を加える。本研究機関では毒性評価を完了し、安全域の観点のプロファイルを追加する。
- b) 細胞毒性のない非特異的アンチセンス情報の入手と検討項目の策定(実施は継続する研究に委ねる)。
- c) 本研究のパートナーを探索し、上記進め方 a) 及び b) に加え、臨床研究あるいは治験に向けた環境整備を検討する。

3. 総合所見

膀胱がんの高発現遺伝子である ABH8 に対する核酸医薬として核酸配列の最適化を行い、その作用機序を解明したことは評価できる。また、既存の有用な動物モデルがない膀胱がんの新たな動物モデルを構築するという目標は達成されたと判断される。

一方、*in vivo* 評価で、本核酸医薬の特異的有効性を確認するまでには至らなかった。

有効な薬剤のない膀胱がんに対する新しい抗がん剤のニーズは高く、今後、安定で非特異的毒性のないリポソーム製剤の開発も含めて、本核酸医薬の実用化に向けた研究を継続されることを期待する。

※記載の情報は平成 29 年 11 月時点の情報です