



令和 5 年度 1 次公募

別添資料

「送達技術/薬物動態評価技術の概要紹介」資料

創薬基盤推進研究事業

令和 4 年 1 1 月

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構

創薬事業部 医薬品研究開発課

送達技術開発に関わる研究開発課題

脂質系キャリアを用いた薬物送達技術

研究開発課題名：電荷反転型 LNP 製剤の精密設計と核酸・ペプチド医薬品開発への応用

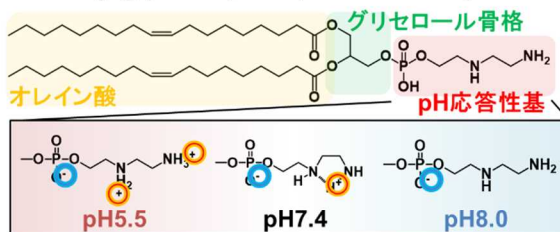
研究開発代表者名：浅井 知浩（静岡県公立大学法人静岡県立大学 薬学部 教授）

送達技術に関する技術概要：

本研究開発課題では、独自の pH 応答性脂質誘導体の設計と合成を行い、新しい創薬モダリティ (ASO、siRNA、mRNA 等) の DDS を目的として、脂質ナノ粒子 (LNP) の研究開発を行っています。一般に LNP の構成脂質には、核酸の保持、細胞内導入、およびエンドソーム脱出に欠かせない pH 応答性のイオン化脂質が含まれています。我々はイオン化脂質とは異なる特性をもつ pH 応答性の電荷反転型脂質誘導体を設計し、当該誘導体を含有する独自の LNP 技術の研究開発を進めています。その電荷反転型脂質誘導体のひとつである dioleoylglycerophosphate-diethylenediamine conjugate (DOP-DEDA) を用いた核酸デリバリーシステムについて技術概要図に示しました。電荷反転型脂質誘導体は、周囲の pH 変化に応答して頭部の実効電荷がマイナスからプラスまで、イオン化脂質よりも幅広く変化する構造をしています。もうひとつイオン化脂質とは異なる点として、中性 pH における頭部の極性が高いことが挙げられます。この違いにより、電荷反転型脂質誘導体を用いた場合では、構成脂質にポリエチレングリコール脂質を用いずとも分散性のある均一な LNP が形成されます。このような電荷反転型 LNP 技術の特徴を活かすことで、従来とは一線を画す LNP 製剤をデザインし、核酸医薬や mRNA ワクチン等の実用化に貢献したいと考えています。

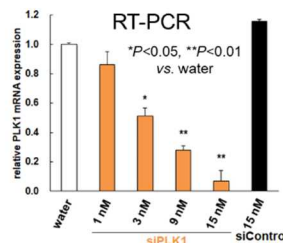
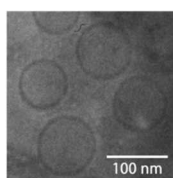
電荷反転型 LNP 製剤

dioleoylglycerophosphate-diethylenediamine (DOP-DEDA)-based LNP

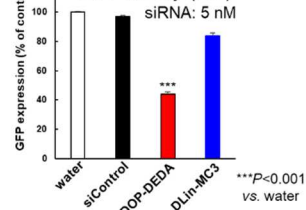


- ✓ 低濃度 siRNA で KD を誘導
- ✓ *in vivo* で mRNA を導入可能
- ✓ LNP 形成に PEG 脂質は不要
- ✓ 頭部の極性に基づく高い分散性
- ✓ 実効電荷の変化に基づく高い pH 応答性
- ✓ 良好な物理化学的性質と核酸封入率

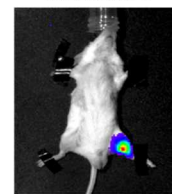
Cryo-TEM image



GFP assay (KD)



mRNA 導入



発明の名称：核酸導入用脂質誘導体、特許第7016084号(日本)、11034708(米国)、3611178(欧州)、CN110506047B(中国)

主要論文：

- 1) Y Hirai, R Saeki, F Song, H Koide, N Fukata, K Tomita, N Maeda, N Oku, T Asai, Charge-reversible lipid derivative: A novel type of pH-responsive lipid for nanoparticle-mediated siRNA delivery, *Int J Pharm*, 585, 119479 (2020)
- 2) T Asai, Nucleic acid delivery system with DOP-DEDA, a charge-reversible lipid derivative, *TCIMAIL*, 187, 2-8 (2021)

代表的な公開特許：

- 1) 発明の名称：核酸導入用脂質誘導体、特許第 7016084 号（日本）、11034708（米国）、3611178（欧州）、CN110506047B（中国）

関連リンク：

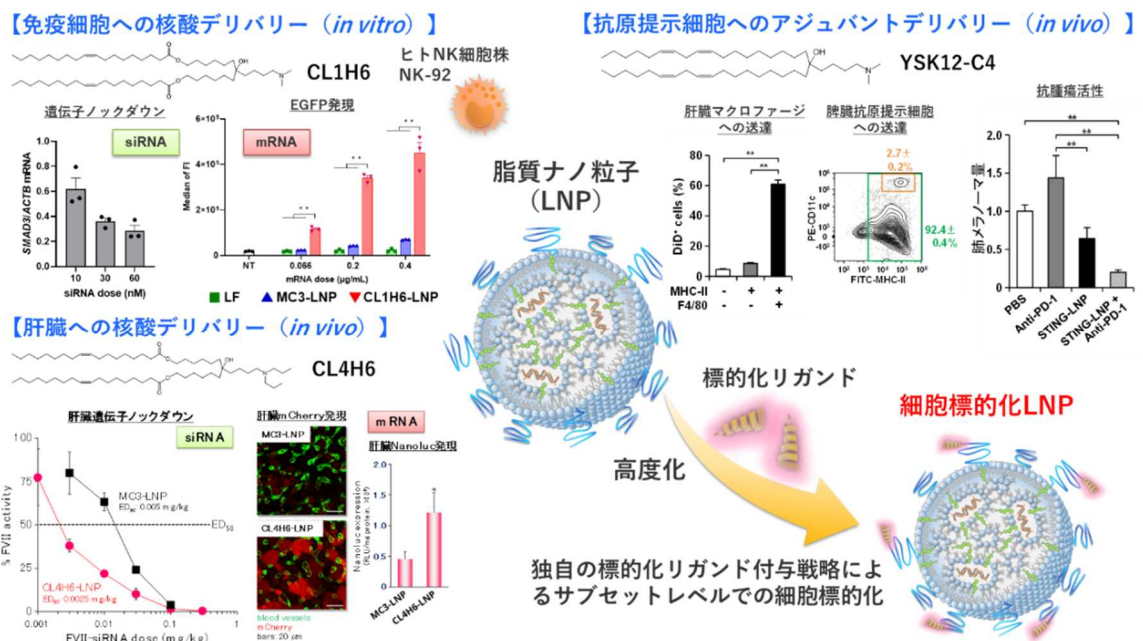
研究室 HP <https://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/radiobio/>

研究開発課題名：サブセットレベルで細胞標的化を可能とする脂質ナノ粒子技術の開発

研究開発代表者名：中村 孝司（国立大学法人北海道大学 大学院薬学研究院 助教）

送達技術に関する技術概要：

本研究開発課題では、効率的に核酸を送達可能な脂質ナノ粒子（lipid nanoparticle: LNP）を基盤技術とし、サブセットレベルで標的細胞を識別可能なアクティブターゲティング能を有する LNP システムへと高度化することを目的としています。モデル標的細胞は免疫細胞とし、がん免疫療法と自己免疫疾患にフォーカスして LNP の機能評価を進めています。保有している LNP には、肝臓へ siRNA や mRNA を送達する LNP（in vivo、静脈内投与）、肝臓や脾臓の抗原提示細胞へアジュバントを送達する LNP（in vivo、静脈内投与）、各種免疫細胞へ siRNA や mRNA を送達する LNP（in vitro、細胞療法）などがあり、その送達効率は既存 LNP を凌駕しています。また、標的細胞が決まっている場合、現在開発中のアクティブターゲティング能を有する LNP の提供も可能です。



主要論文：

- 1) Nakamura T, Nakade T, Yamada K, Sato Y, Harashima H. The hydrophobic tail of a pH-sensitive cationic lipid influences siRNA transfection activity and toxicity in human NK cell lines. *Int J Pharm* 609: 121140 (2021). doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.121140.
- 2) Nakamura T, Sato T, Endo R, Sasaki S, Takahashi N, Sato Y, Hyodo M, Hayakawa Y, Harashima H. STING agonist loaded lipid nanoparticles overcome anti-PD-1 resistance in melanoma lung metastasis via NK cell activation. *J Immunother Cancer* 9: e002852 (2021). doi: 10.1136/jitc-2021-002852.

- 3) Hashiba A, Toyooka M, Sato Y, Maeki M, Tokeshi M, Harashima H. The use of design of experiments with multiple responses to determine optimal formulations for in vivo hepatic mRNA delivery. *J Control Release* 327: 467-476 (2020). doi: 10.1016/j.jconrel.2020.08.031.
- 4) Sato Y, Hashiba K, Sasaki K, Maeki M, Tokeshi M, Harashima H. Understanding structure-activity relationships of pH-sensitive cationic lipids facilitates the rational identification of promising lipid nanoparticles for delivering siRNAs in vivo. *J Control Release* 295: 140-152 (2019). doi: 10.1016/j.jconrel.2019.01.001.
- 5) Nakamura T, Kuroi M, Fujiwara Y, Warashina S, Sato Y, Harashima H. Small-sized, stable lipid nanoparticle for the efficient delivery of siRNA to human immune cell lines. *Sci Rep* 6: 37849 (2016). doi: 10.1038/srep37849.

代表的な公開特許：

- 1) 出願番号：PCT/JP2018/022940 発明の名称：siRNA 細胞内送達のための脂質膜構造体
- 2) 出願番号：PCT/JP2015/064196 発明の名称：siRNA 細胞内送達のための脂質膜構造体

関連リンク：

研究室 HP <https://www.pharm.hokudai.ac.jp/yakusetu/index.html>

北海道大学機能強化促進事業 HP <https://www.pharm.hokudai.ac.jp/nano/>

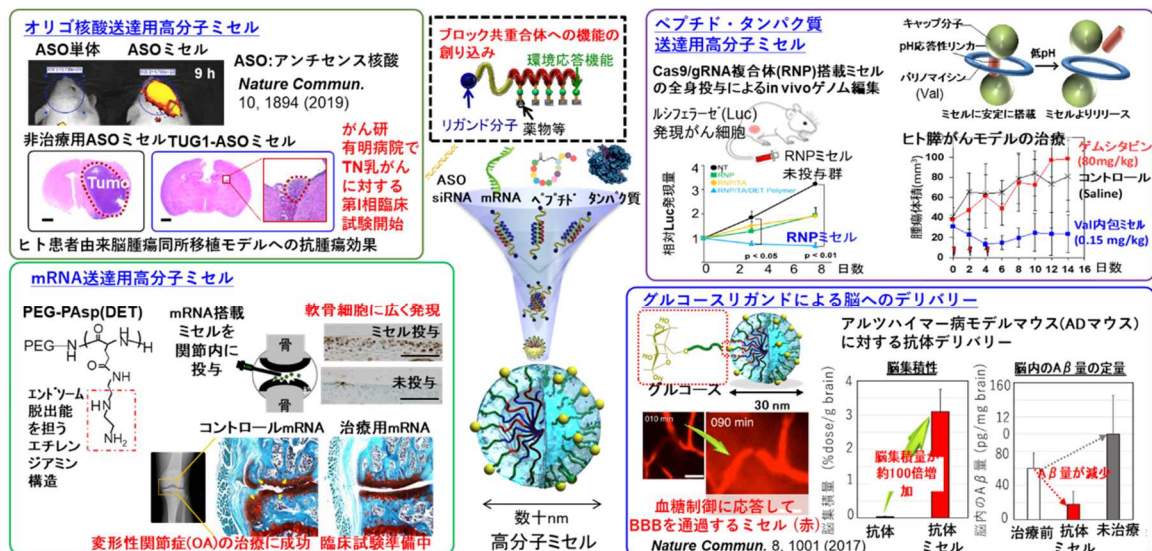
高分子ミセルを用いた薬物送達技術

研究開発課題名：高分子ミセルによる核酸・ペプチド・タンパク質医薬品の送達技術に関する研究

研究開発代表者名：西山 伸宏（国立大学法人東京工業大学 科学技術創成研究院 教授）

送達技術に関する技術概要：

本研究課題では、ブロック共重合体の自己組織化に基づく高分子ミセルの利用による低分子薬剤、核酸、ペプチド、タンパク質、ウイルス等のデリバリーシステムの開発を進めています。高分子ミセルは、上記の薬剤シーズの血中滞留性および標的集積性を飛躍的に向上させ、それらの微小環境に応答した制御放出が可能です。抗がん剤内包高分子ミセルは、有効性向上と副作用低減が確認され、臨床試験が進められています。また、我々は、siRNAやASO等のオリゴ核酸、mRNA、ペプチド、タンパク質のDDSとして高分子ミセルの有用性をさまざまな疾患モデルを用いて実証しており、なかでもsiRNAによるがん治療は第I相臨床試験、mRNAによる変形性関節症(OA)の治療は非臨床試験へと進んでいます。



高分子ミセル型DDSによる核酸、ペプチド、タンパク質デリバリー

す。これらの研究では、高分子ミセルは、脂質ナノ粒子等と比較して組織浸透性に優れ、副作用も少ないことが明らかにされています。さらに、ミセル表面へのリガンド分子の導入によって臓器・組織の標的化が可能であり、我々は、グルコースリガンド導入ミセルが効率的に血液-脳関門(BBB)および血液-脳腫瘍関門(BBTB)を通過することを実証しています。高分子ミセルの最大の特徴は、内包分子に応じてポリマーの化学構造を最適化できる点であり、さまざま創薬シーズに対応することが可能です。

主要論文：

- 1) Watanabe S, Hayashi K, Toh K, Kim HJ, Liu X, Chaya H, Fukushima S, Katsushima K, Kondo Y, Uchida S, Ogura S, Nomoto T, Takemoto H, Cabral H, Kinoh H, Tanaka H, Kano MR, Matsumoto Y, Fukuhara H, Uchida S, Nangaku M, Osada K, Nishiyama N, Miyata K, Kataoka K, In vivo rendezvous of small nucleic acid drugs with charge-matched block cationomers to target cancer, *Nat. Commun.*, 2019, 10, 1894, [doi:10.1038/s41467-019-09856-w](https://doi.org/10.1038/s41467-019-09856-w)
- 2) Fukushima Y, Uchida S, Imai H, Nakatomi H, Kataoka K, Saito N, Itaka K, Treatment of ischemic neuronal death by introducing brain-derived neurotrophic factor mRNA using polyplex nanomicelle. *Biomaterials*, 2021, 270, 120681, [doi:10.1016/j.biomaterials.2021.120681](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.120681).
- 3) Honda Y, Nomoto T, Matsui M, Takemoto H, Y Miura, Nishiyama N, Sequentially self-assembled nanoreactor comprising tannic acid and phenylboronic acid-conjugated polymers inducing tumor-selective enzymatic activity, *ACS Appl. Mater. Inter.*, 2021, 13, 54850, [doi:10.1021/acsami.1c20188](https://doi.org/10.1021/acsami.1c20188).
- 4) Anraku Y, Kuwahara H, Fukusato Y, Mizoguchi A, Ishii T, Nitta K, Matsumoto Y, Toh K, Miyata K, Uchida S, Nishina K, Osada K, Itaka K, Nishiyama N, Mizusawa H, Yamasoba T, Yokota T, Kataoka K, Glycemic control boosts glucosylated nanocarrier transport into brain, *Nat. Commun.* 2017, 8, 1001, [doi: 10.1038/s41467-017-00952-3](https://doi.org/10.1038/s41467-017-00952-3)

代表的な公開特許：

- 1) 出願番号：特許 11020418 号(日本)、US9808480B2(米国)、EP3072506B1(欧州)、発明の名称：核酸デリバリー用ユニット構造体
- 2) 出願番号：特許 6782415B2 号(日本)、US9937263B2(米国)、EP3072506B1(欧州)、発明の名称：薬剤送達用のキャリア、コンジュゲートおよびこれらを含んでなる組成物並びにこれらの投与方法
- 3) 出願番号：特願 2019-100395, PCT/JP2020/21301、発明の名称：タンパク質複合体、医薬、癌治療剤、及びキット

関連リンク：なし

注射以外の投与経路を想定した吸収促進技術

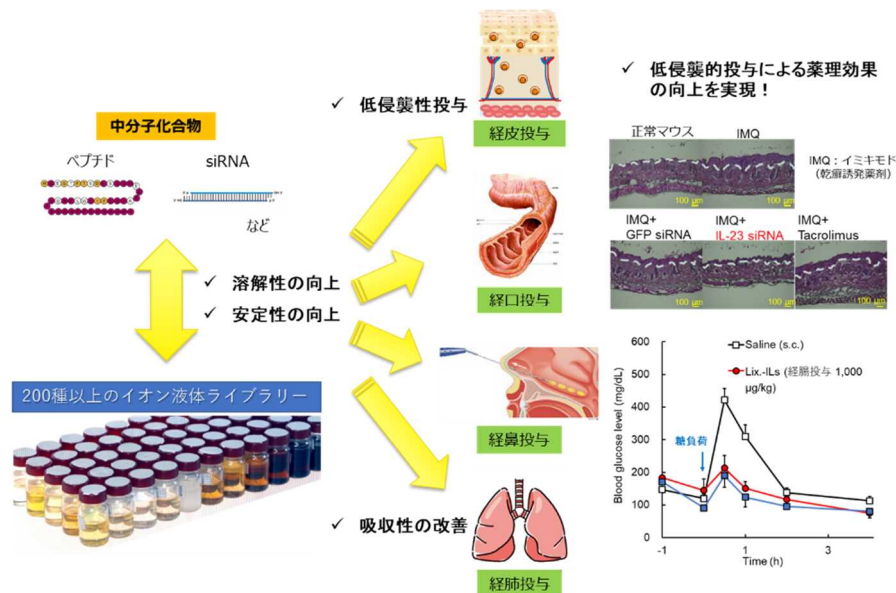
研究開発課題名：イオン液体を用いた中分子医薬品（ペプチド・核酸）の非侵襲的経皮・経腸吸収促進技術の確立に関する研究

研究開発代表者名：石田 竜弘（国立大学法人徳島大学 大学院医歯薬学研究部（薬学域） 教授）

送達技術に関する技術概要：

本研究開発課題は、これまで注射でしか投与できなかった中高分子医薬品（ペプチド、タンパク、核酸）を、イオン液体を用いることによって低侵襲的に経皮・経口・経鼻・経肺投与可能にする技術の開発を目的としています。これまでに、経皮吸収の観点では、がん抗原ペプチド、インスリン、siRNA を透過させ、それぞれがん、糖尿病、乾癬の治療に適用可能であることをマウスモデルで確認しています。腸管吸収の観点では、GLP-1 受容体作動性ペプチド（分子量 5,000 程度）を小腸内直接投与した場合、糖負荷後の血糖上昇抑制作用がマウスで観察されており、ペプチドの経口投与が可能であることを確認しています。さらに、胃酸などで分解されにくい中分子化合物であれば、通常の経口投与によって吸

取されることも確認しています。経鼻投与においても、中分子化合物が血中に移行していることを確認しており、イオン液体が中分子化合物の吸収性を高めることを確認しています。また、経肺投与に関しては、現在検討中です。我々は、200種類以上のイオン液体ライブラリを有しており、他の研究者のモダリティ（ペプチド、核酸）に最適なイオン液体の提供と、投与経路に応じた吸収改善技術の提供が可能です。



主要論文：

- 1) Miwa, Y., Hamamoto, H., Ishida, T., Lidocaine self-sacrificially improves the skin permeation of the acidic and poorly water-soluble drug etodolac via its transformation into an ionic liquid. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*,102, 92-100 (2016)

代表的な公開特許：なし

関連リンク：

研究室 HP <https://www.tokushima-u.ac.jp/ph/faculty/labo/ykz/>

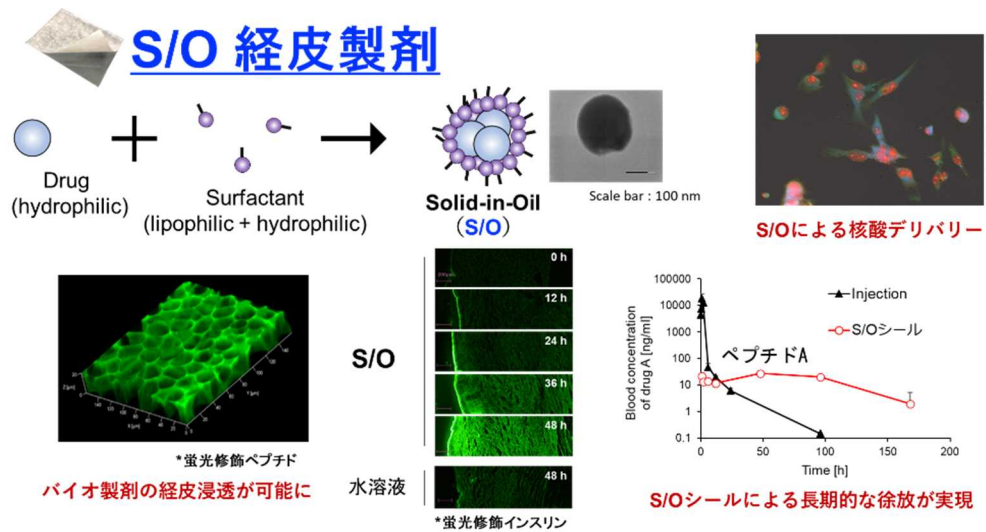
研究開発課題名：注射に代わる非侵襲性次世代経皮吸収送達技術に関する研究

研究開発代表者名：後藤 雅宏（国立大学法人九州大学 大学院工学研究院 教授）

送達技術に関する技術概要：

本研究開発課題では、核酸やペプチドなどのバイオ医薬品に油状ナノ分散化法（Solid-in-Oil (S/O) 技術）を応用し、今まで注射でしか投与できなかった生物製剤を、塗り薬（あるいは貼り薬）として投与できる新たな経皮製剤プラットフォーム技術を提供します。この技術は、核酸やペプチドなどの生体分子を適切な両親媒性化合物によってナノコーティング（疎水カプセル化）し、生物製剤を油中にナノ分散化させる技術です。高分子薬物の皮膚浸透における最大の障壁である角層が疎水性の高い構造（疎水膜）であることに注目し、S/O 技術によって生物製剤を皮膚浸透性の高い油状基剤に可溶化させることで、“水溶性高分子薬物の経皮浸透”を可能にします。本技術は、注射に代わる痛みのない完全非侵襲性の新たな経皮製剤を提供するのみならず、経皮吸収の最大の特徴である、一定の濃度で長期の徐放化が可能となるため、持続性製剤の構築に有効です。さらに、注射の初期バーストに由来する副作用の

低減にも期待が持てます。対象薬物としては、水溶性が高い中高分子（分子量 800～5 万程度）のバイオ医薬品（ペプチド・タンパク・アンチセンス核酸など）を好適としています。



主要論文：

- 1) M. R. Islam, S. Uddin, M. R. Chowdhury, R. Wakabayashi, M. Moniruzzaman and M. Goto, 'Transdermal Insulin Delivery for Diabetes Treatment Using a Biocompatible Ionic Liquid-Based Microemulsion' *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 13, 42461-42472 (2022). doi: 10.1021/acsami.1c11533
- 2) R. Wakabayashi, M. Sakuragi, Y. Tahara, N. Kamiya, M. Goto, Solid-in-oil peptide nanocarriers for transcutaneous cancer vaccine delivery against melanoma, *Mol. Pharm.*, 15, 955-961 (2018). doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00894
- 3) M. Kitaoka, R. Wakabayashi, N. Kamiya, M. Goto, Solid-in-oil nanodispersions for transdermal drug delivery systems, *Biotechnol. J.*, 11, 1375-1385 (2016). doi: 10.1002/biot.201600081

代表的な公開特許：

- 1) 特許番号：特許第 4843494 号、発明の名称：S/O 外用剤
- 2) 特許番号：特許第 5752343 号、発明の名称：S/O 型経皮免疫剤
- 3) 特許番号：特許第 5618307 号、発明の名称：水溶性薬物キャリア及びその製造法

関連リンク：

研究室 HP <http://www.bioeng.cstm.kyushu-u.ac.jp/index.htm>

革新的な薬物送達技術

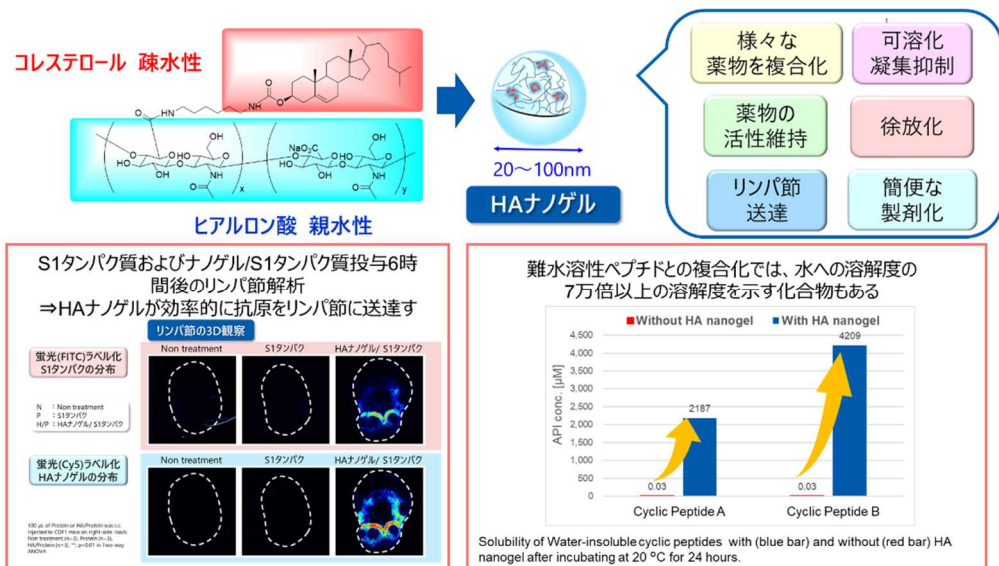
研究開発課題名：ヒアルロン酸ナノゲルによるポリペプチドの可溶化・生体内輸送機能解析とワクチンへの応用

研究開発代表者名：勝又 徹（旭化成株式会社 ライフイノベーション事業本部添加剤事業部新製品開発推進室 グループ長）

送達技術に関する技術概要：

ヒアルロン酸（HA）ナノゲルは、主鎖にヒアルロン酸、側鎖にコレステロール基を有する分子構造であり、水中ではコレステロール基の疎水性相互作用により自発的にナノオーダーのハイドロゲルを形成する。このハイドロゲルは、低分子化合物から、ペプチド、タンパク質、抗体まで、分子量によらず複合化することができる。また、難水溶性薬物の可溶化や、リンパ節への送達、たんぱく質の安定化、

薬物の徐放など、様々な機能を示す。例えば、難水溶性の環状ペプチドでは、HA ナノゲルを添加することで、水への溶解度を 7 万倍以上も高くできるものもあり、そのように高濃度で可溶化させた製剤も、0.22 μ m フィルターでのろ過滅菌、30G シリンジへの充填が可能であることを確認している。ナノ結晶化した原薬粒子と HA ナノゲルを混合した製剤では、初期バーストの低減と長期徐放を両立できる結果が見られている。また、蛍光修飾した HA ナノゲルおよびタンパク質を用いた解析により、リンパ節への効率的な移行と、複合化したタンパク質の送達を可能にする。このように、デリバリーや溶解性などの面で課題となっているテーマでは、HA ナノゲルが課題解決のために役立つものと考えている。



主要論文：

- 1) *Macromol. Biosci.* 2012, 12, 475–483

代表的な公開特許：

- 1) WO2010-053140
- 2) 特願 2021-017279
- 3) 特願 2021-017278

関連リンク：

製品紹介 HP <https://www.ceolus.com/ja/hananogel/>

薬物動態技術開発に関わる研究開発課題

PET イメージング技術を用いた薬物動態評価技術

研究開発課題名：新規医薬品モダリティおよび送達技術開発の迅速化を可能にする PET イメージング/薬物動態解析プラットフォームの構築

研究開発代表者名：佐々木 崇了（国立大学法人岡山大学 学術研究院医歯薬学域 助教）

薬物動態評価に関する技術概要：

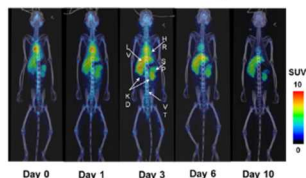
本課題は、細胞・抗体・タンパク質・ペプチド・核酸医薬品などの様々な新規の医薬品モダリティに対応できる薬剤の標識（可視化）技術と、それらの生体内投与後の全身分布を経時的かつ定量的に評価する技術を提供することが可能である。医薬品モダリティやその投与法の多様化による薬物動態の複雑化、さらに DDS キャリアの標的化の検証ために薬物動態の定量的性能評価が求められている。申請者らは独自の放射標識技術であるジルコニウム-89 (Zr-89) を用いた汎用性の高い (*技術概要図参考) 薬剤のプローブ化技術を開発している。この Zr-89 は長半減期核種であり、プローブ化された高分子の生物製剤や DDS 製剤の動態を PET カメラを用いて、数日から数週間の長期にわたり評価することが可能である。さらに我々は汎用性の高い小型実験動物から、ヒトへの外挿性が高い非ヒト霊長類を含めた広範な動物種を用いた PET イメージングが実施可能であり定量的かつ高感度な薬物動態評価の基盤技術を提供することができる。PET イメージングでは非侵襲的に同一個体から薬剤の全身分布データを取得し、投与後の分布臓器を特定し、投与量と曝露量との関係を説明するモデルや薬物動態と薬効との関係に対応づけたモデルを構築している。

岡山大学保有の放射標識技術と DDS 創薬への応用

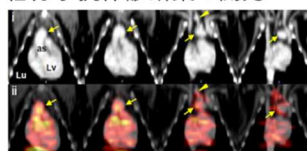
PET プローブ化可能な医薬品モダリティ	岡山大学での実績	標識法	DDS創薬への応用
抗体/タンパク質/ペプチド	○ 技術確立済み	錯体修飾	・低分子抗体やドラッグコンジュゲート抗体の標識 ・DDS粒子に搭載した機能性タンパク質/ペプチドの標識
核酸	○ 技術確立済み	アミン修飾核酸 相補性プローブ	・mRNA, siRNAの標識 ・脂質ナノ粒子の構成脂質の標識
細胞（脂質膜を有する粒子）	○ 技術確立済み	錯体修飾 リモートイメージング（内包）	・リボソーム等脂質膜を有する粒子への内包

【過去の実施例】

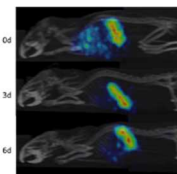
・ **がん治療** をもちいた Zr-IgG の分布試験



・ 動脈硬化マウスモデルをもちいた低分子抗体診断薬の開発



・ マウスを用いた CD8⁺T cell の動態研究



Zr-89 標識技術による汎用性の高い PET プローブ化技術と広範な動物種を用いた PET イメージングが可能

主要論文：

- 1) Yakushiji H, Kobayashi K, Takenaka F, Kishi Y, Shinohara M, Akehi M, Sasaki T, Ohno E, Matsuura E. Novel single-chain variant of antibody against mesothelin established by phage library. *Cancer sci.*, 110 (9): 2722-33, 2019.
- 2) Sasaki T, Kobayashi K, Shoici K, Kazuo K, Hiroyuki H, Shen L, Takenaka F, Hiromi K, Matsuura. In vivo distribution of single chain variable fragment (scFv) against atherothrombotic oxidized LDL/ β 2-glycoprotein

I complexes into atherosclerotic plaques of WHHL rabbits: implication for clinical PET imaging. *Autoimmun Rev.*, 16(2):159-67, 2017.

- 3) Kobayashi K, Sasaki T, Takenaka F, Yakushiji H, Fujii Y, Kishi Y, Kita S, Shen L, Kumon H, and Matsuura E. A Novel PET Imaging Using ⁶⁴Cu-Labeled Monoclonal Antibody against Mesothelin Commonly Expressed on Cancer Cells. *Journal of Immunology Research*, Vol 2015, 2015. DOI: 10.1155/2015/268172

代表的な公開特許：

- 1) 出願番号：特願 2015-181813、発明の名称：放射性同位元素製造装置、出願人：岡山大学、住友重機械工業株式会社、出願日：2015/9/15、登録：特許第 6621010 号（2019/11/29）

関連リンク：

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科産学官連携センター（分子イメージング研究拠点）
「おかやまメディカルイノベーションセンター（OMIC）事業」

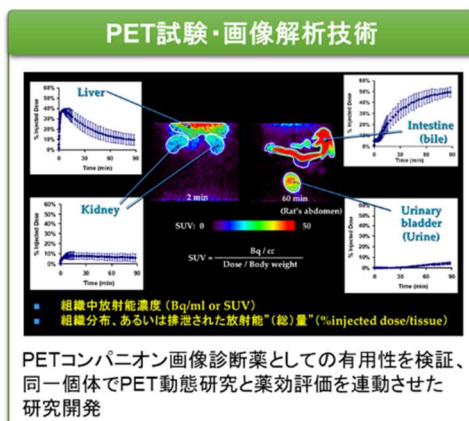
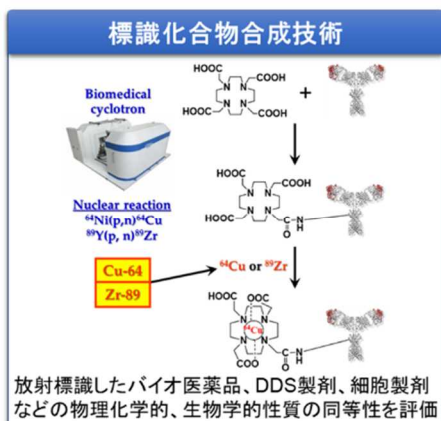
<http://www.crc.okayama-u.ac.jp/index.html>

研究開発課題名：新しい医薬品モダリティ・ワクチンや感染症治療薬の動態評価のための PET イメージング技術の高度化に関する研究

研究開発代表者名：向井 英史（国立大学法人長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科医薬品情報学分野 准教授）

薬物動態評価に関する技術概要：

PET は齧歯類からヒトまでシームレスに活用できるイメージングモダリティであり、特にその定量性や時間分解能の高さから薬物動態研究・創薬への応用が模索されて来ました。これまで不可能であったヒトでの組織中薬物濃度の直接的な評価が可能になったことは大きなブレイクスルーとなっており、薬物動態と薬効の関連を強く結びつけた、より実証的な医薬品開発の実現が期待されています。核酸・ペプチド・抗体医薬や抗体-薬物複合体、COVID-19 ワクチンで脚光を浴びている脂質ナノ粒子を基本とした mRNA 創薬、CAR-T 療法などの細胞製剤、生菌製剤などについて、ポジトロン放出核種標識し、PET 薬物動態研究を実施できます。静脈内投与後の全身分布評価に加え、筋肉内投与といったワクチンや感染症治療薬開発において重要な経路で投与後の全身分布やリンパ移行の評価も可能です。COVID-19 禍や新たな新興感染症の世界的な流行の懸念を踏まえ、BSL3 相当の感染モデル動物を用いた薬物動態研究にも対応できる環境があります。PET 試験により得られた in vivo での経時的な臓器中濃度推移および血中濃度推移のデータを元にして、適切な数理モデル化を図り、体内動態を支配しているパラメータを理解し、その改善に有益な情報を提供することが可能です。



主要論文：

- 1) Mukai H, Watanabe Y, Review: PET imaging with macro- and middle-sized molecular probes, *Nucl Med Biol*, 2021, 92, 156-170, doi: [10.1016/j.nucmedbio.2020.06.007](https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2020.06.007)
- 2) Warashina S, Zouda M, Mohri K, Wada Y, Maeda K, Watanabe Y, Mukai H, ⁶⁴Cu-labeling of small extracellular vesicle surfaces via a cross-bridged macrocyclic chelator for pharmacokinetic study by positron emission tomography imaging, *Int J Pharm*, 2022, 624, 121968, doi: [10.1016/j.ijpharm.2022.121968](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121968)
- 3) Nomura S, Takahashi M, Hashiba Kato A, Wada Y, Watanabe Y, Yamashita F, Mukai H, Biosorption-based ⁶⁴Cu-labeling of bacteria for pharmacokinetic positron-emission tomography, *Int J Pharm*, 2020, 590, 119950, doi: [10.1016/j.ijpharm.2020.119950](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119950)
- 4) Sakai K, Passioura T, Sato H, Ito K, Furuhashi H, Umitsu M, Takagi J, Mukai H, Warashina S, Zouda M, Watanabe Y, Kato Y, Yano S, Shibata M, Suga H, Matsumoto K, Macrocyclic peptide-based inhibition and imaging of hepatocyte growth factor, *Nat Chem Biol*, 2019, 15, 598-606, doi: [10.1038/s41589-019-0285-7](https://doi.org/10.1038/s41589-019-0285-7)
- 5) Mukai H, Hatanaka K, Yagi N, Warashina S, Zouda M, Takahashi M, Narushima K, Yabuuchi H, Iwano J, Kuboyama T, Enokizono J, Wada Y, Watanabe Y, Pharmacokinetic evaluation of liposomal nanoparticle-encapsulated nucleic acid drug: A combined study of dynamic PET imaging and LC/MS/MS analysis, *J Control Release*, 2019, 294, 185-194, doi: [10.1016/j.jconrel.2018.12.006](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.12.006)

代表的な公開特許：なし

関連リンク：なし

マススペクトロメトリー技術を用いた薬物動態評価技術

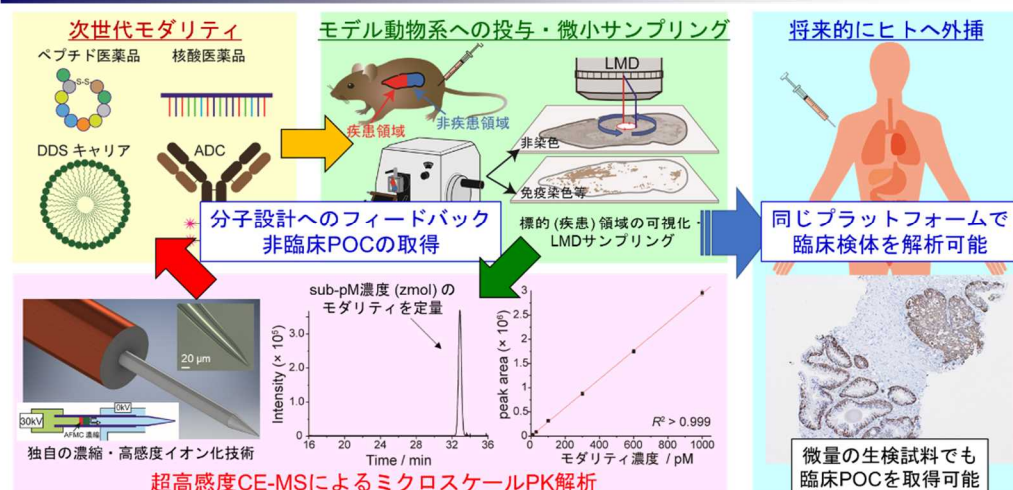
研究開発課題名：超高感度 CE-MS 技術に基づくマイクロスケール薬物動態評価プラットフォーム

研究開発代表者名：川井 隆之（国立大学法人九州大学 大学院理学研究院化学部門 准教授）

薬物動態評価に関する技術概要：

我々は、網羅解析法の一つであるキャピラリー電気泳動-質量分析（CE-MS）において、生体分子や薬剤を 1000 倍程度濃縮可能な独自技術を開発することで、100 fM (zmol/μL) レベルの検出下限を有する超高感度 CE-MS 分析を実現している。本研究開発課題では、この技術とレーザーマイクロダイセクションによるサンプリングを組み合わせることで、ペプチド医薬品、核酸医薬品、抗体薬物複合体などの次世代モダリティの nM レベルの組織内濃度分布を μm 分解能で定量可能な「マイクロスケール薬物動態解析プラットフォーム」を開発している。この新たな分析プラットフォームの完成により、ド

超高感度CE-MS技術を用いたマイクロスケールPK解析



ラッグデリバリーシステム (DDS) による薬剤送達が設計通りに機能しているかを定量的に確認してフィードバックすることが可能となり、効率的に DDS 創薬を支援できる。

主要論文：

- 1) S. Koganemaru, T. Kawai et al., *Br. J. Pharmacol.* in press.
- 2) T. Kawai, et al., *Anal. Chem.* 2019, 91, 10564-10572.

代表的な公開特許：なし

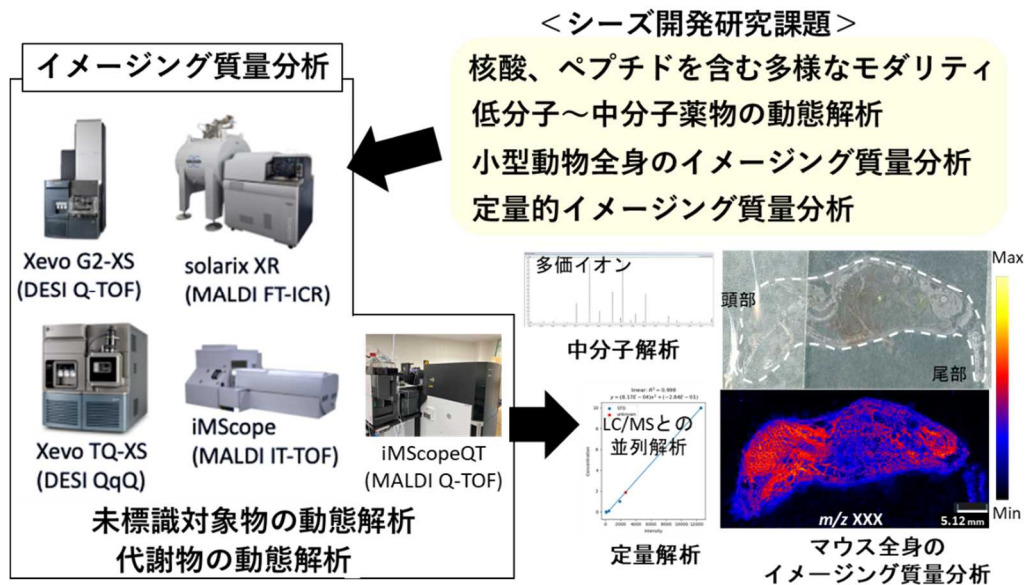
関連リンク：なし

研究開発課題名：イメージング質量分析による動態評価技術の新規モダリティ薬剤への適応展開

研究開発代表者名：瀬藤 光利 (国立大学法人浜松医科大学 国際マスイメージングセンター／医学部細胞分子解剖学講座 センター長／教授)

薬物動態評価に関する技術概要：

測定対象物の標識を必要としないイメージング質量分析を用いて、小型動物全身に対して従来の低分子から核酸医薬や環状ペプチドなどを含む中分子領域に渡る分布データを提供します。低分子医薬のイメージング質量分析は放射性同位元素を用いた方法には感度は及ばないながらも世界的にほぼ確立しつつあり、実績もあります。特に、薬物の代謝産物に別の活性、時には望まない活性があることが知られているため、アイソトープでは追跡しきれない側面をイメージング質量分析が補完する潮流にあります。一方、新しいモダリティとして、例えば COVID19 ウイルスの RNA ワクチンなどを含む核酸医薬や、環状ポリペプチドなど中分子領域が発展しており、それらに対するイメージング質量分析を用いた薬物動態イメージング法を開発しています。加えて、1枚の切片で長径 10 cm を超える広領域をイメージングする技術、ならびにイメージング質量分析データを定量的に解析する技術の開発も進めています。小型動物の全身イメージングや、LC/MS を併用した定量的イメージング解析に関する課題も対応可能です。



主要論文：

- 1) Islam A, Takeyama E, Nabi MM, Zhai Q, Fukushima M, Watanabe N, Al Mamun M, Kikushima K, Kahyo T, Setou M. Stress upregulates 2-arachidonoylglycerol levels in the hypothalamus, midbrain, and hindbrain, and

it is sustained by green nut oil supplementation in SAMP8 mice revealed by DESI-MSI. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022 Jun 18;609:9-14, doi: 10.1016/j.bbrc.2022.04.004.

- 2) Chi DH, Kahyo T, Islam A, Hasan MM, Waliullah ASM, Mamun MA, Nakajima M, Ikoma T, Akita K, Maekawa Y, Sato T, Setou M. NAD⁺ Levels Are Augmented in Aortic Tissue of ApoE^{-/-} Mice by Dietary Omega-3 Fatty Acids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2022 Feb 10:ATVBAHA121317166, doi:10.1161/ATVBAHA.121.317166.
- 3) Matsumoto T, Ikarashi Y, Takiyama M, Watanabe J & Setou M, Brain distribution of geissoschizine methyl ether in rats using mass spectrometry imaging analysis, *Scientific Reports*, 2020, 10(1), 7293, doi: 10.1038/s41598-020-63474-x.
- 4) Sato T, Horikawa M, Takei S, Yamazaki F, Ito TK, Kondo T, Sakurai T, Kahyo T, Ikegami K, Sato S, Sato R, Jinno Y, Kawano H, Naoe S, Arita M, Kashiwagi Y, Setou M, Preferential Incorporation of Administered Eicosapentaenoic Acid Into Thin-Cap Atherosclerotic Plaques, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(9), 1802-1816, doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313093.
- 5) Nakashima Y, Setou M. Distribution of antisense oligonucleotides in rat eyeballs using MALDI imaging mass spectrometry and spatial scale of analysis. *Mass Spectrom (Tokyo)*. 2018;7(1):A0070, doi: 10.5702/massspectrometry.A0070.

代表的な公開特許：

- 1) 特許番号：第 6207036 号、発明の名称：質量分析データ処理方法及び装置
- 2) 特許番号：第 6061302 号、発明の名称：試料分析装置
- 3) 特許番号：第 6025141 号、発明の名称：質量分析データ処理方法及び装置
- 4) 特許番号：第 4998473 号、発明の名称：質量分析装置
- 5) 特許番号：第 4775821 号、発明の名称：質量分析装置

関連リンク：

浜松医科大学国際マスイメージングセンターHP

<https://www.hama-med.ac.jp/about-us/mechanism-fig/intl-mass/>

浜松医科大学細胞分子解剖学講座 HP <https://www.hama-med.ac.jp/mt/setou/ja/>

蛍光イメージング技術を用いた薬物動態評価技術

研究開発課題名：高輝度蛍光標識プローブを用いた二次元から三次元への薬物動態解析による創薬技術支援の基盤構築

研究開発代表者名：濱田 哲暢（国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所分子薬理研究分野 分野長）

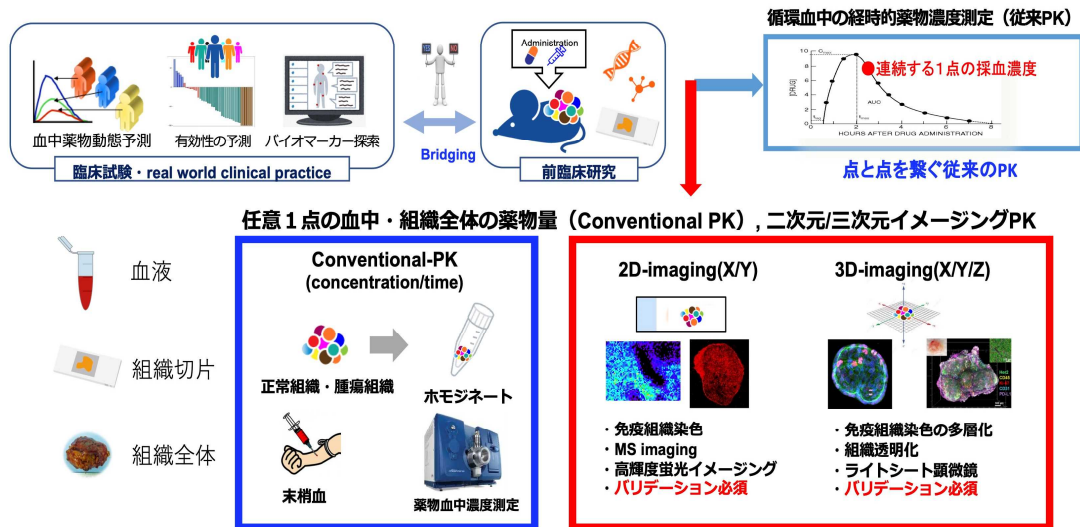
送達技術に関する技術概要：

研究グループでは、がん治療薬の前臨床研究ならびに臨床研究における薬物動態・薬力学解析の研究経験から、標的組織における薬物分布を可視化・定量化を行う「高輝度蛍光標識プローブを用いた二次元から三次元への薬物イメージングによる組織内薬物動態解析方法」の開発を目指している。

組織内濃度は必ずしも血中薬物濃度とは相関せず、構造不均一性に起因する薬物送達度は、DDS 製剤の POC 取得と薬効評価に有用である。組織切片における 2 次元薬物分布は、質量分析イメージング解析により、小分子医薬品、DDS 製剤の組織分布が不均一であること、高輝度蛍光粒子イメージングにより、抗体-薬物複合体が腫瘍組織に不均一に分布し、腫瘍組織から隣接する組織（標的抗原陰性）へ拡散する bystander 効果の可視化を報告してきた。

新規モダリティに対応する薬物動態解析技術として、末梢血と組織を用いた薬物動態解析（マクロPK）に加えて、組織透明化・蛍光イメージング技術を用いた標的組織の二次元から三次元への空間的薬物動態解析（マイクロPK）の実用化研究を進めている。本研究グループが開発中の薬物イメージング技術に合わせて、堅牢性と信頼性を有する従来の分析方法にて解析結果を検証する薬物動態解析支援が可能である。

DDS技術/薬物動態解析による創薬研究支援



- ・全身だけでなく組織局所における薬物濃度、空間分布解析にて薬物動態解析が可能（従来の解析方法と一致することを検証）
- ・薬剤が正しい標的細胞に十分な濃度、適切な作用時間到達していることを検証
- ・OFF targetにおける毒性評価にも応用可能
- ・DDS製剤のGo or No-goの判断に有用（がん分野だけでなく、抗菌薬・中枢作用薬にも応用可能）

主要論文：

- 1) Ohuchi M, Yagishita S, Jo H, Akagi K, Inaba Higashiyama R, Masuda K, Shinno Y, Okuma Y, Yoshida T, Goto Y, Horinouchi H, Makino Y, Yamamoto N, Ohe Y, Hamada A. Early change in the clearance of pembrolizumab reflects the survival and therapeutic response: A population pharmacokinetic analysis in real-world non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer*. 2022 Nov;173:35-42.
- 2) Jo H, Yagishita S, Hayashi Y, Ryu S, Suzuki M, Kohsaka S, Ueno T, Matsumoto Y, Horinouchi H, Ohe Y, Watanabe SI, Motoi N, Yatabe Y, Mano H, Takahashi K, Hamada A. Comparative Study on the Efficacy and Exposure of Molecular Target Agents in Non-small Cell Lung Cancer PDX Models with Driver Genetic Alterations. *Mol Cancer Ther*. 2022 Feb;21(2):359-370.
- 3) Suzuki M, Yagishita S, Sugihara K, Ogitani Y, Nishikawa T, Ohuchi M, Teishikata T, Jikoh T, Yatabe Y, Yonemori K, Tamura K, Hasegawa K, Hamada A. Visualization of Intratumor Pharmacokinetics of [fam-] Trastuzumab Deruxtecan (DS-8201a) in HER2 Heterogeneous Model Using Phosphor-integrated Dots Imaging Analysis. *Clin Cancer Res*. 2021 Jul 15;27(14):3970-3979.
- 4) Hayashi Y, Ohuchi M, Ryu S, Yagishita S, Hamada A. A procedure for method development and protein binding ratio as the indicator of sensitivity with anticancer agents on MALDI mass spectrometry imaging. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2021 Jun;38:100385.
- 5) Ohuchi M, Yagishita S, Taguchi K, Goto Y, Fukahori M, Enoki Y, Shimada T, Yamaguchi M, Matsumoto K, Hamada A. Use of an alternative signature peptide during development of a LC-MS/MS assay of plasma nivolumab levels applicable for multiple species. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2021 Jan 1;1162:122489.

代表的な公開特許：なし

関連リンク：

分子薬理研究分野 HP https://www.ncc.go.jp/jp/ri/division/molecular_pharmacology/index.html

研究開発課題名：モダリティ別蛍光プローブ・イメージング法とがんモデルの選択及び最適化による薬物動態評価法の開発

研究開発代表者名：安永 正浩（国立研究開発法人国立がん研究センター 先端医療開発センター新薬開発分野 分野長）

薬物動態評価に関する技術概要：

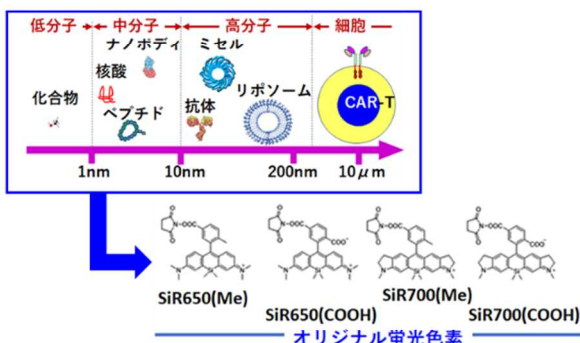
EPR (Enhanced permeability and retention)効果の影響を受ける高分子と EPR 効果の影響を受けない低中分子を区別して、各モダリティ別に蛍光プローブ/イメージング法の開発を行う。(1)低中分子モダリティ；低分子リガンドと中分子ペプチドを用いた蛍光プローブを開発する。(2)高分子モダリティ；蛍光が OFF から ON へと変化する蛍光色素の標識法を用いて、高分子抗体の active targeting 評価法を開発する。(3)評価系モデル；CDX(cell line-derived xenograft)と PDX(patient-derived xenograft)に加えて、がん heterogeneity とがん間質微小環境 (cancer-associated fibroblasts や macrophages) を有する Translational research 用 CDX モデルを新たに構築する。

また、シーズ対応展開研究として、各モダリティ別に最適な蛍光イメージング法の開発に向け、課題抽出を行い、薬物動態解析に有用な蛍光プローブや動物モデルの選択・適正化を行う。各シーズの臨床応用のための出口戦略等に役立てる。

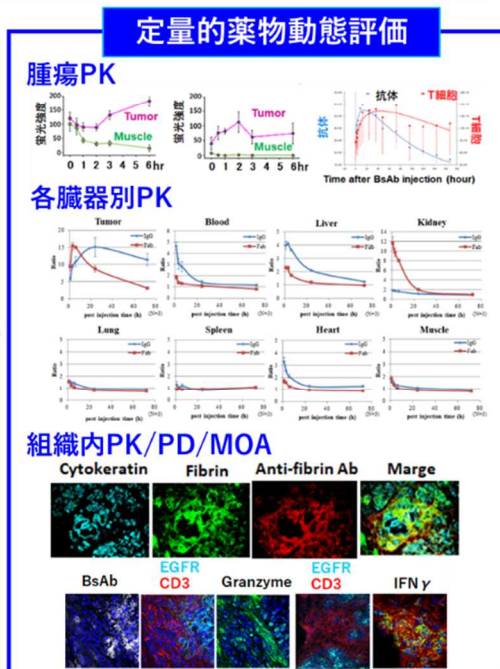
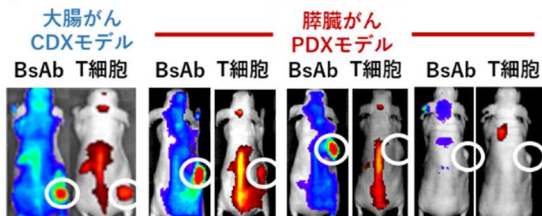
提供可能技術による定量的薬物動態評価

各モダリティ別シーズに適した蛍光プローブの選択や動物モデルの選択・適正化を行い、最適な蛍光イメージング法を開発して、各シーズの臨床応用のための開発戦略等に役立てる。

1. シーズに適した蛍光プローブの選択



2. シーズに適した動物モデルの選択・適正化



主要論文：

- 1) Molecular design of near-infrared (NIR) fluorescent probes targeting exopeptidase and application for detection of dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) activity. Hoshino Y, Hanaoka K, Yasunaga M, et al. *RSC Chem Biol.* 24;3(7):859-867 (2022)
- 2) A Fluorescent Probe for Rapid, High-Contrast Visualization of Folate-Receptor-Expressing Tumors In Vivo. Numasawa K, Hanaoka K, Yasunaga M et al. *Angew Chem Int Ed.* 6;59(15):6015-6020 (2020)

- 3) Antibody therapeutics and immunoregulation in cancer and autoimmune disease. Yasunaga M. *Semin Cancer Biol.* 64, 1-12 (2020)
- 4) Development of Antibody-Drug Conjugates Using DDS and Molecular Imaging. Yasunaga M, Manabe S, Tsuji A, Furuta M, Ogata K, Koga Y, Saga T, Matsumura Y. et al, *Bioengineering (Basel)* 4,78 (2017)
- 5) General design strategy to precisely control the emission of fluorophores via a twisted intramolecular charge transfer (TICT) process. Hanaoka K. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, in press.

代表的な公開特許：

- 1) 松村保広、安永正浩、眞鍋史乃、特許第5593488号： 癌間質の構成因子に対して特異的結合能を有する物質と抗腫瘍性化合物との複合体による新規の癌ターゲティング治療 2009年11月17日出願
- 2) 松村保広、安永正浩、久田洋平、特許第7012360号： 不溶性フィブリンに対する抗体 2014年9月4日出願
- 3) 松村保広、安永正浩、西條信史、花岡慎吾、PCT/JP2015/075425: がん細胞特異的な抗体、抗がん剤、及びがんの検査方法 2015年9月8日出願
- 4) 長野哲雄、花岡健二郎、江川亮寛、串田優、沼澤宏治、明珍琢也、朴文、特許第6351511号： 非対称Siローダミン及びロドールの合成 2014年1月7日出願
- 5) 花岡健二郎、明珍琢也、長野哲雄、浦野泰照 特許第6462587号： 近赤外線消光団 2014年12月4日出願

関連リンク：

安永研究室 HP (国立がん研究センター 先端医療開発センター 新薬開発分野)

https://www.ncc.go.jp/jp/epoc/division/developmental_therapeutics/kashiwa/index.html

安永研究室動画 (東京大学 大学院新領域創成科学研究科 連携大学院)

<https://www.youtube.com/watch?v=tAK-efuBbbo>

花岡研究室 HP (慶應義塾大学 薬学部 創薬分析化学講座) <http://keio-analchem.jp/index.html>

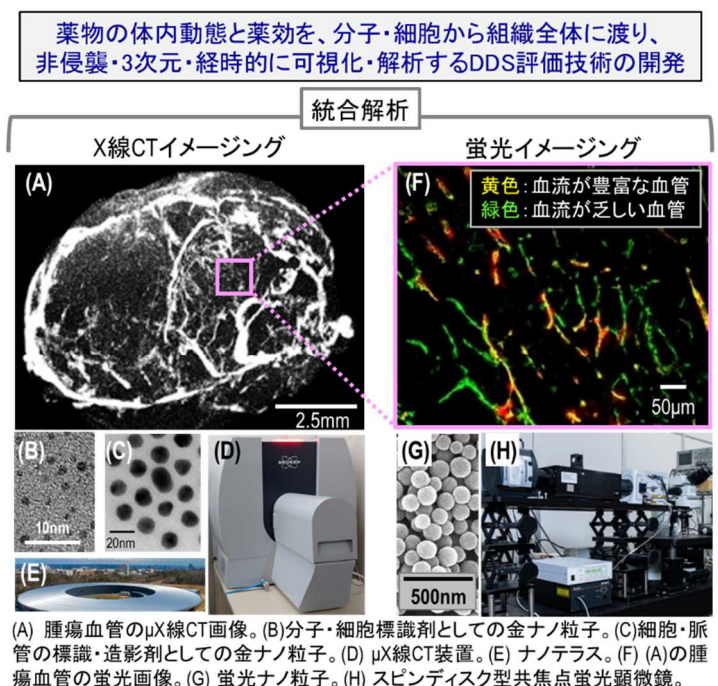
革新的な薬物動態評価技術

研究開発課題名：高分解能 X 線計測と高感度蛍光計測を併用した薬物動態と薬効の評価技術開発

研究開発代表者名：権田 幸祐 (国立大学法人東北大学 大学院医学系研究科保健学専攻 教授)

薬物動態評価技術に関する技術概要：

本研究開発課題では X 線と蛍光を併用した光計測により、がん組織内の薬物動態と薬効を、分子・細胞から組織全体に渡り、非侵襲・3次元・経時的に可視化・解析する技術開発を目指しています。具体的には、X 線吸収性の高い金原子に注目し、独自の「分子・細胞標識剤としての数 nm の小粒子径金ナノ粒子 (論文 1、知財 1)」と「細胞・脈管の標識・造影剤としての 10-20nm 径金ナノ粒子 (論文 2,5、知財 2)」を併用し、マイクロ X 線 CT イメージングを行います (最大分解能 in vivo : 4.5 μ m/voxel, ex vivo : 2.8 μ m/voxel)。また東北大学内に建設中の次世代放射光施設ナ



ノテラス(2024年度運用開始予定)にて、高い強度・輝度・コヒーレンスを有すX線を利活用した計測を試みます。蛍光に関しては、分子や細胞の高感度標識を目的とした蛍光ナノ粒子の活用(論文 4)や、X線と蛍光(論文 3)のマルチモーダルイメージング(論文 2)により分子から個体レベルの統合解析を行います。マルチモダリティを有す DDS 評価技術は、不均一ながん組織環境下での「薬物動態」と「薬効」の統合理解に繋がると期待されます。

主要論文：

- 1) Inose T, Kitamura N, Takano-Kasuya M, Tokunaga M, Une N, Kato C, Tayama M, Kobayashi Y, Yamauchi N, Nagao D, Aimiya T, Furusawa N, Nakano Y, Kobayashi Y, Gonda K. Development of X-ray contrast agents using single nanometer-sized gold nanoparticles and lactoferrin complex and their application in vascular imaging. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 203: 111732 (2021).
- 2) Une N, Takano-Kasuya M, Kitamura N, Ohta M, Inose T, Kato C, Nishimura R, Tada H, Miyagi S, Ishida T, Unno M, Kamei T, Gonda K. The anti-angiogenic agent lenvatinib induces tumor vessel normalization and enhances radiosensitivity in hepatocellular tumors *Medical Oncology* 38: 60 (2021).
- 3) Gonda K, Negishi H, Takano-Kasuya M, Kitamura N, Furusawa N, Nakano Y, Hamada Y, Tokunaga M, Higuchi H, Tada H, Ishida T. Heterogeneous drug efficacy of an antibody-drug conjugate visualized using simultaneous imaging of its delivery and intracellular damage in living tumor tissues. *Translational Oncology* 13: 100764 (2020).
- 4) Gonda K, Watanabe M, Tada H, Miyashita M, Takahashi-Aoyama Y, Kamei T, Ishida T, Usami S, Hirakawa H, Kakugawa Y, Hamanaka Y, Yoshida R, Okada H, Goda H, Negishi H, Takanashi K, Takahashi M, Ozaki Y, Yoshihara Y, Nakano Y, Ohuchi N. Quantitative diagnostic imaging of cancer tissues by using phosphor-integrated dots with ultra-high brightness. *Scientific Reports* 7: 7509 (2017).
- 5) Nakagawa T, Gonda K, Kamei T, Cong L, Hamada Y, Kitamura N, Tada H, Ishida T, Aimiya T, Furusawa N, Nakano Y, Ohuchi N. X-ray computed tomography imaging of a tumor with high sensitivity using gold nanoparticles conjugated to a cancer-specific antibody via polyethylene glycol chains on their surface. *Science and Technology of Advanced Materials*. 17: 387-397 (2016).

代表的な公開特許：

- 1) 猪瀬智也、高瀬拓夢、北村成史、権田幸祐 「複合体、脈管造影剤、X線造影剤、複合体の製造方法、および、脈管の構造変化をとらえる撮影方法」 PCT/JP2022/1033 (2022年1月14日)
- 2) 古澤直子、相宮拓司、中野寧、権田幸祐、大内憲明、中川智彦、「X線吸収蛍光ナノ粒子」、PCT/JP2012/062062 (2012年5月10日)

関連リンク：

研究室 HP <https://www.medphys.med.tohoku.ac.jp/>

未来型医療・創薬スマートラボ HP

https://www.sris.tohoku.ac.jp/researchers/innovation_and_technology_transfer_division/future_medical_drug_discovery_smart_lab/

ライフサイエンス/計測・解析グループ HP

<https://softmaterial.tagen.tohoku.ac.jp/member/life-measurement-gr/>