

**令和 5 年度 創薬基盤推進研究事業 研究開発課題
中間報告書**

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	
代表機関名	国立研究開発法人国立がん研究センター	
研究開発代表者	所属 役職	研究所分子薬理研究分野 分野長
	氏名	濱田 哲暢
全研究開発期間	令和 3 年 11 月 30 日 ～ 令和 8 年 3 月 31 日 (予定)	

研究開発成果概要：

本研究開発では、新規モダリティの DDS 開発ならびに医薬品全般に応用できる空間的薬物動態評価技術(2D/3D イメージング解析)を確立し、新規医薬品の実用化に向けた創薬研究開発における支援体制の構築を目指し、薬物動態評価プラットフォームとして、(1) 蛍光イメージング技術の最適化、(2) 組織透明化技術の検討による三次元イメージングへの応用、(3) QSP 解析への展開と薬物動態比較解析への応用を行い、新規モダリティ解析を対象とする薬物動態解析を行うための基盤技術を構築する。シーズ開発研究者との連携では、構築した薬物動態解析基盤技術を用いて研究支援を実施した。以下に、これまでの研究成果を纏める。

1) 蛍光イメージング技術の最適化

二次元蛍光イメージングでは、抗体医薬を対象に解析系の構築を検討した。動物モデルとして HER2 発現 PDX モデルを用いた。薬剤投与方法、得られた検体の解析方法は、投与された抗体を二次抗体で検出する方法、直接蛍光標識法にて検討した。血中濃度は標識の有無で有意な差を示すことはなかった。トラスツズマブ投与後の腫瘍組織における HER2 発現量とトラスツズマブ分布は、必ずしも均一でないことが確認され、トラスツズマブは血管周辺に限局することが確認された。抗体医薬の腫瘍内送達は、抗原量ならび結合性だけでなく、組織構造が影響する可能性が示唆された。

文献調査及び業界団体や規制当局との意見交換を行い、核酸医薬品や中分子ペプチド医薬品を含む医薬品に関するイメージング技術に基づく分析法の開発とバリデーションについて検討を行った。項目としては、背景、適用範囲、イメージング技術の創薬における活用方法、分析法の評価項目（全般的な留意点、標準物質・内部標準物質・重要試薬、検量線、選択性、特異性、マトリックス効果、真度・精度、試料の安定性）、及びイメージング技術の創薬研究から承認申請に至るまでの段階的な信頼性評価、である。

2) 組織透明化技術の検討と三次元イメージングへの応用

CUBIC 法にて解析実績がある蛍光標識トラスツズマブを担がんモデルマウスに投与後、腫瘍塊を透明化してライトシート観察する検討を行った。腫瘍塊組織が十分に透明化できる条件を決定後、蛍光標識トラスツズマブでラベルされた CDX 腫瘍塊を透明化してライトシート顕微鏡による Z 軸方向への連続撮影と画像再構成を実施した。その結果、腫瘍塊内部での蛍光標識トラスツズマブの分布と、腫瘍内血管の同時 3 次元画像取得に成功した。さらに、薬物の空間分布解析を行うため、薬物分布領域から近傍血管までの距離を自動で計測するアルゴリズムを開発し、取得した画像に適用した。腫瘍塊内で薬物分布は相当の多様性を示しており、有効に分布する領域と全く分布しない領域が混在することが定性

的・定量的にも明らかになった。

3) QSP 解析への展開と薬物動態比較解析への応用

抗体医薬品は生体内に投与された後、血液を介して腫瘍へ分布するため、血液中濃度の時間推移、血管壁を透過した後の動態の2つの観点でモデルを構築する必要がある。腫瘍血管を透過した後、腫瘍内の動態は、①腫瘍内部への拡散、②細胞表面における標的たんぱくとの複合体形成と乖離、③内在化による細胞内取り込みと続く。拡散を記述するための距離と時間からなる偏微分方程式を構築した。続いて、アンチセンス核酸(ASO)の体内動態を記述できる生理学的モデルの文献情報を収集した。

薬物動態基盤技術を用いたシーズ対応として、核酸医薬品の薬物動態解析、Morpholino 型アンチセンスオリゴヌクレオチドの血中濃度測定法の開発を進めており、高分解能質量分析装置を用いた解析を進めている。更に、高輝度蛍光標識(PID) プローブを用いたバイオマーカーの定量分布評価の検討を始めた。

以上