

日本医療研究開発機構 創薬基盤推進研究事業 事後評価報告書

I 基本情報

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

Study of polymeric micelles for delivery of nucleic acid, peptide, protein therapeutics

研究開発実施期間：令和3年11月30日～令和8年3月31日

研究開発代表者 氏名：西山 伸宏

Nobuhiro Nishiyama

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

国立大学法人東京科学大学 総合研究院 教授

Professor, Institute of Integrative Research, Institute of Science Tokyo

II 研究開発の概要

ブロック共重合体の自己組織化に基づく高分子ミセルは、さまざまな薬剤を送達可能なオンデマンド型 DDS として有用である。本研究グループは、これまでに難病に対する核酸、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実証してきており、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)の治療は豪州での臨床試験へと進んでいる。さらに、ミセル表面へのリガンド分子の導入によってさまざまな臓器・組織の標的化が可能であり、本研究グループは、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)を通過することを実証し、脳神経系疾患の治療へと展開している。

本研究では、高分子ミセル型 DDS に関して、核酸、ペプチド、タンパク質等の新規モダリティに焦点を当て、多様な医薬シーズの内包技術の確立ならびに特定の臓器・組織標的化のためのミセル設計の最適化(サイズ最適化やリガンド分子の導入)を行った。標的に関しては、脳に加えて、炎症部位や線維化組織について検討した。さらに本研究では、DDS の最適化・高度化に加えて、シーズ開発研究者との連携によって、医薬シーズと DDS の融合による日本発の革新的医薬品の実現を目指して研究開発を行った。以下に本研究で得られた研究成果を項目(1)-(5)に分けて記載する。

項目(1)オリゴ核酸送達用ミセル技術の最適化と高度化に関しては、1 分子のオリゴ核酸を内包した世界最小径のユニットポリイオンコンプレックス(uPIC)の最適化を実施した。uPIC は、2024 年より脳腫瘍患者を対象にした臨床第 1a 相試験が開始され、特に脳腫瘍に対しては約半数の患者で腫瘍の成長抑制が認められている。そこで本項目では、uPIC に搭載するオリゴ核酸の種類や化学構造の影響について検討を行ったところ、第 3 の核酸医薬として期待されるヘテロ二本鎖核酸(HDO)を搭載した uPIC が非常に優れた血中滞留性を示すことが明らかになった[ACS Omega 10 34363 (2025)]。そこで、本システムを筋ジストロフィーモデル(mdx)マウスに応用したところ、オリゴ核酸単体や脂質ナノ粒子(LNP)と比べ、uPIC は炎症性筋組織に優れた集積挙動を有することを見出し、強力な遺伝子ノックダウンを誘導することに成功した[ACS Omega 10 34363 (2025)]。また、がん免疫療法への展開を志向し、uPIC による腫瘍排出(センチネル)リンパ節への ASO デリバリーを検討した。その結果、uPIC のリンパ節移行性は PEG の分子量により制御できることが明らかとなり、最適化した uPIC によりリンパ節における優れた遺伝子ノックダウンおよび抗腫瘍効果を誘導することに成功した[J. Am. Chem. Soc. 147 26286

(2025)]。一方、ミセル技術の機能高度化に関しては、環状 RGD ペプチド(cRGD)あるいは標的化抗体(IgG)を搭載した uPIC の構築に成功し、脳腫瘍同所移植モデルにおいて siRNA デリバリーによる標的遺伝子の効率的なノックダウンを確認することができた。以上のように、本項目では、uPIC の最適化と機能高度化によって標的疾患を拡大することに成功した。シーズ開発研究者との連携に関しては、スプライシング制御型 ASO(国立がん研究センター・吉見昭秀分野長)、非環状人工核酸(名古屋大学・浅沼浩之教授)および短鎖ヘアピン核酸対(東京大学・岡本晃充教授)を uPIC をはじめとするミセル型送達技術で固形がん治療へと応用する共同研究を実施した。

項目(2)mRNA 送達用ミセル技術の最適化と高度化に関しては、肝臓以外の標的臓器へと mRNA を安全かつ効率よくデリバリーする高分子ミセルの開発を行った。mRNA デリバリーにおいては、mRNA の安定化、標的細胞内への侵入機能、エンドソームから細胞質への移行性(エンドソーム脱出機能)、および細胞内で放出機能が求められる。そこで本項目では、エンドソーム脱出機能を担う 2 段階の酸解離定数を有するジエチレントリアミン(DET)構造と mRNA の安定化を担う疎水性(R)構造を具備したポリアスパルタミド誘導体 PAsp(DET/R)の合成を行った。R に関しては、さまざまな化学構造に関してスクリーニングを行った結果、R 基に関わらず PAsp(DET/R)シリーズは全身投与後に肺に対して高い mRNA デリバリーを示すこと、および R = シクロヘキシルエチル(CHE)基が最も優れた mRNA デリバリー効率を示すことを明らかにした[J. Control. Release 342 148 (2022)]。この CHE 基は mRNA の全身投与だけでなく皮下投与においても優れており、免疫治療における有用性を確認している[Biomaterials 324 123515 (2025)]。さらに、全身投与に向けて、ブロック共重合体の PEG 鎖長、カチオン構造、カチオン鎖長といった因子を最適化した。最適化ミセルが血中で優れた構造安定性を示すことを、生体内共焦点顕微鏡観察で確認した[J. Control. Release 384 113935 (2025)]。また、ミセル技術の最適化に加えて、mRNA 自体の機能高度化も mRNA のデリバリー効率を改善するために有効である。そこで、mRNA 工学に基づき、ナノ粒子表面の PEG 密度を最適化することで、脾臓特異的な mRNA 送達に成功し、ワクチン効果を得ることに成功した[Small Science 4 202300258(2024)]。以上のように、ミセルのポリマー構造最適化と mRNA 工学を組み合わせることで mRNA デリバリーにおける課題を解決できることが明らかとなった。一方、疾患治療への展開に関しては、重篤骨格筋疾患であるデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)の治療へ応用した。治療因子としてミトコンドリア機能制御に働き、組織の損傷耐性を高めることが知られる PGC-1 α を選択し、これをコードする mRNA を内包する高分子ミセルを mdx マウスに投与したところ、筋損傷が有意に軽減され、筋力低下も抑えられる治療効果を確認することができた。このような結果は、炎症反応を惹起する LNP では確認されず、mRNA 内包ミセルの疾患治療における有用性が明らかとなった[Adv. Sci. 12 e2409065 (2025)]。シーズ開発研究者との連携に関しては、Pure Cap mRNA(名古屋大・阿部洋教授)および中枢性希少疾患シアリドーシスに対する mRNA(徳島大学・南川典昭教授)とミセル型送達技術の融合や mRNA 内包ミセルの脳内でのデリバリー効率を向上させる薬剤(東京医科歯科大学・横田隆徳教授)に関する共同研究を実施した。

項目(3)環状ペプチド送達用ミセル技術の最適および高度化に関しては、ミセル内核構成鎖に共有結合あるいは非共有結合性の物理的相互作用を介して、大環状薬物/ペプチドの内包化を促進する分子エンゲージャーを開発した[Nano Select 3 1242 (2022)]。分子エンゲージャーの利用によって、ラパマイシン、17-AAG、パクリチニブ、およびオキシトシンをホスト-ゲスト複合体形成により内包した pH 応答性高分子ミセルの構築に成功している。17-AAG およびパクリチニブ内包ミセルは優れたがん集積性を示し、担がんマウスにおいて副作用を示すことなく顕著な抗腫瘍効果を示すことを確認した。一方、ミセル技術の機能高度化に関しては、新規標的化リガンドとして、がん細胞上のチオール基に対する反応性を有するペプチド分子ナビゲーター(MONA)を開発した。本システムは、腫瘍に集積した後に、腫瘍内環境に高濃度に存在するグルタチオン(GSH)によって活性化され、がん細胞表面のチオール基との多価相互作用が可能となるシステムである。本項目では、MONA を光感受性分子のデリバリーへと応用し、がんの光温熱治療において顕著な抗腫瘍効果を示すことを確認した。

項目(4)タンパク質送達用ミセル技術の最適化および高度化に関しては、タンパク質と相互作用を示す天然のポリフェノールであるタンニン酸(TA)を利用したタンパク質および AAV のデリバリーシステムの開発を進めた。

第一世代としては、TA のガロイル基と pH 応答性結合(ボロン酸エステル)を形成するボロン酸基を側鎖に導入した PEG-ポリアミノ酸を設計し、タンパク質/TA 複合体との混合に基づく三元系ミセルの開発を行った。本システムは、タンパク質のみならず CRISPR Cas9/sgRNA 複合体(RNP)やアデノ随伴ウイルス(AAV)にも応用することができ、RNP に関しては固形がんへの集積とがん遺伝子の in vivo ゲノム編集による抗腫瘍効果を確認し、AAV に関してはマウス体内で中和抗体による AAV の失活を回避し、脳内での遺伝子発現効率を高めることができることを確認した[ACS Nano 19 7690 (2025)]。また、第二世代として PEG 化 TA を合成し、タンパク質と混合した後に金属イオンと TA の Metal-Phenolic Network (MPN)により安定化した MPN ミセルを開発した。MPN ミセルは、第一世代と比較して、安定性に優れ、エンドソーム内での MPN の解離がエンドソーム脱出を誘起するために細胞質内にタンパク質を送達できることが特徴であり、がん細胞の細胞質内に存在し、抑制によってがん細胞のアポトーシスを誘導する S100A4 に対する抗体のデリバリーによる抗腫瘍効果を確認した[J. Control. Release 385 13929 (2025)]。一方、ミセル技術の機能高度化に関しては、cRGD ペプチドを導入した AAV 内包三元系ミセルを構築し、ヒト膠芽腫由来 U87MG 細胞の同所移植モデルにおけるがん集積性の向上と TNF- β の遺伝子発現による治療効果を確認することができた[J. Control. Release 389 114477 (2025)]。シーズ開発研究者との連携に関しては、自治医大・大森司教授と連携し、GalNAc 導入 AAV 搭載ミセルによる肝実質細胞特異的な遺伝子発現と中和抗体による失活の回避を確認した。大森教授とは、現在、AAV を利用した in vivo ゲノム編集に基づく血友病治療を指向した共同研究を実施中である。

項目(5)脳内へのデリバリー技術の最適化および高度化に関しては、血液脳関門(BBB)を通過することができるグルコースリガンド導入高分子ミセルを基盤技術として、BBB を通過して脳内の神経細胞内に抗体医薬を送達する高分子ミセルを開発した。本システムをアルツハイマー病モデルマウスに尾静脈投与して脳集積性を評価したところ、抗体単体(IgG)および高分子ミセルと比較して、著しく高い脳集積性を確認した。投与 24 時間後の脳切片を作成し、蛍光免疫染色観察を行った結果、IgG 内包ミセルが神経細胞中に局在していることを確認し、脳組織の形態学的変化の観察によってアルツハイマー病の病態を改善できることが明らかになった。この脳内への薬物送達用ミセルは、アルツハイマー以外にもさまざまな神経変性疾患の治療への応用が見込まれる。

以上のように本研究では上記の項目(1)–(5)の研究を通じて、さまざまな疾患治療に対するミセル送達技術の最適化と高度化を進めることができた。これらの結果は、今後の臨床応用が期待できるだけでなく、従来技術では対処困難であった難治性疾患に対する革新的治療法をもたらすことが期待される。

In this study, we developed polymer micelle-based drug delivery systems (DDS) for delivery of various therapeutic modalities such as nucleic acids, peptides, and proteins. We optimized micelle design (including size optimization and the introduction of ligand molecules) to target specific organs and tissues for the treatment of intractable diseases. The achievements obtained in this study are described below, divided into (1) through (5):

(1) siRNA and antisense oligonucleotide (ASO) delivery: we optimized the unit polyionic complex (uPIC) encapsulating a single oligonucleotide. Upon investigating the effects of the type and chemical structure of the oligonucleotides loaded into the uPIC, we found that uPICs loaded with heteroduplex oligonucleotides (HDO) exhibited excellent blood retention, showing efficacy in the treatment of muscular dystrophy (mdx) model mice. In addition, we successfully constructed uPICs loaded with cyclic RGD peptides (cRGD) or antibodies (IgG), and confirmed the efficient knockdown of target genes via siRNA delivery in an orthotopic transplantation model of glioblastoma cells.

(2) mRNA Delivery: we developed polymeric micelles capable of efficiently delivering mRNA to target organs other than the liver. For mRNA delivery, mRNA stabilization, efficient cellular uptake, endosomal escape function, and the controlled release within the cytoplasm of mRNA are required. Therefore, we synthesized a series of polyaspartamide derivatives, PAsp(DET/R), having a diethylenetriamine (DET) structure and a hydrophobic (R) structure in the side chains, and demonstrated that PAsp(DET/R) with the cyclohexylethyl (CHE) group as R exhibited the highest mRNA delivery efficiency. Meanwhile, to enhance mRNA functionality, we cross-linked the mRNA strands using RNA linkers, confirming the improved resistance of the loaded mRNA to enzymatic degradation and enhanced persistence of protein expression. Regarding therapeutic applications, mRNA-loaded micelles were applied to the treatment of Duchenne muscular dystrophy (DMD) and demonstrated higher safety and superior therapeutic efficacy compared to lipid nanoparticles (LNPs).

(3) peptide delivery: we developed molecular engagers that promote the encapsulation of macrocyclic drugs/peptides within the micelle core via host-guest interactions. Using these molecular engagers, we successfully constructed pH-responsive polymeric micelles encapsulating rapamycin, 17-AAG, paclitaxel, and oxytocin. In particular, 17-AAG and paclitaxel-loaded micelles demonstrated excellent tumor accumulation and significant antitumor effects in tumor-bearing mice.

(4) protein delivery: we developed pH-responsive ternary micelles loading proteins and AAVs via the formation of the protein or AAV/tannic acid (TA) complex covered with PEG-poly(amino acids) carrying a boronic acid group. Using ternary micelles, we confirmed in vivo genome editing via delivery of the CRISPR Cas9/sgRNA complex (RNP) and the avoidance of AAV inactivation by neutralizing antibodies, as well as improved gene expression efficiency in the brain. Furthermore, we constructed AAV-encapsulated ternary micelles incorporating cRGD peptides and confirmed the therapeutic effect of TNF- β gene delivery in an orthotopic transplantation model of human glioblastoma-derived U87MG cells.

(5) brain targeted delivery: we developed glucose ligand-installed polymeric micelles capable of delivering antibodies to neurons in the brain by overcoming the blood-brain barrier (BBB). This system demonstrated significantly higher brain accumulation compared to IgG, showing morphological changes in brain tissue suggesting improved pathology of Alzheimer's disease.

As described above, through the research outlined in (1) through (5), we performed the optimization and sophistication of micelle delivery technology for the treatment of various diseases. These results not only hold promise for future clinical applications but are also expected to lead to innovative treatments for intractable diseases that have been difficult to manage with conventional technologies.