

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 27 年度成果報告書(公開)

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
参加機関	富士フイルム株式会社、国立大学法人大阪大学
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(下記左側)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(下記右側)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(緑枠内)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

まずは、核酸を内包するリポソームを創出する。技術開発と、in vitro で活性があるリポソームを創出する。平行して in vivo モデルの構築を進める。モデルは膀胱内同所移植モデルとし、臨床で使用される薬剤による validation を完了する。以上、平成 27 年度末までに完了した。

平成 28 年度は、創出したリポソーム製剤(合成に高価な AmNA ではなく比較的安価な核酸で確認)で、薬効が得られることを確認し、同時に局所における毒性の程度を病理組織学的に確認する。

最終年度は、核酸医薬品の申請に必要な毒性試験・薬効試験を勘案し実施し、臨床研究に移行できる薬剤の創出とする。

### 3. 研究開発の成果(平成 27 年度)

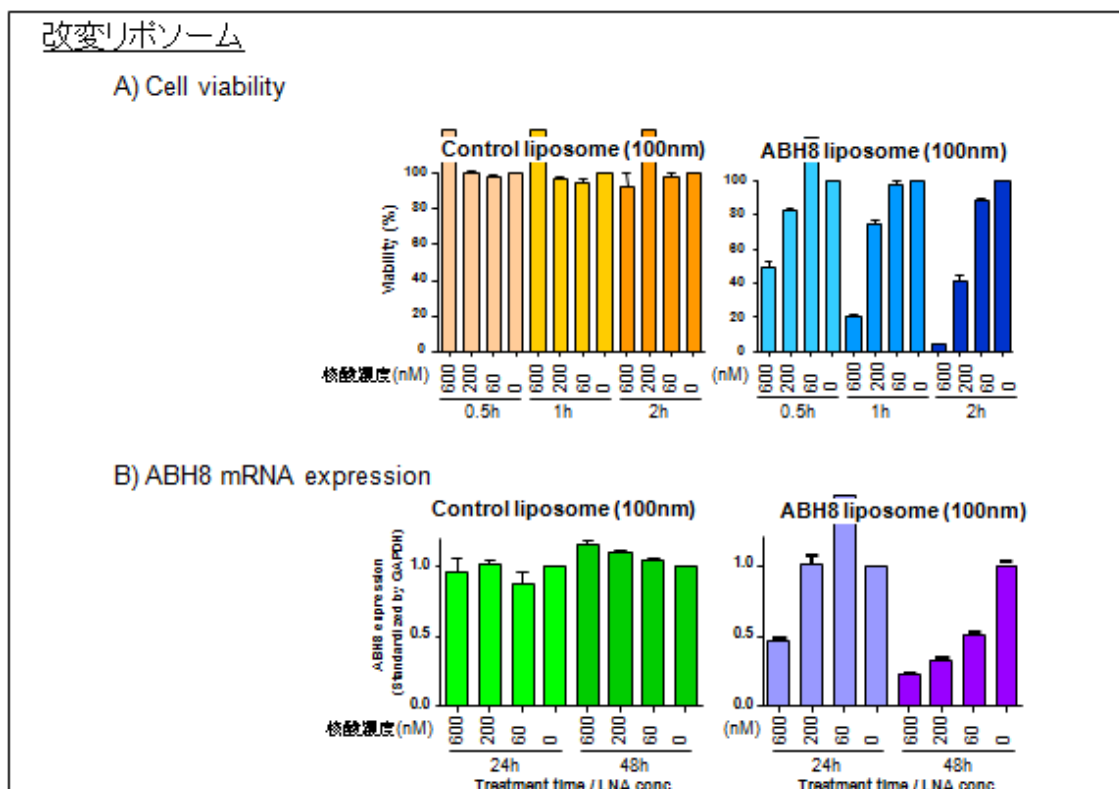
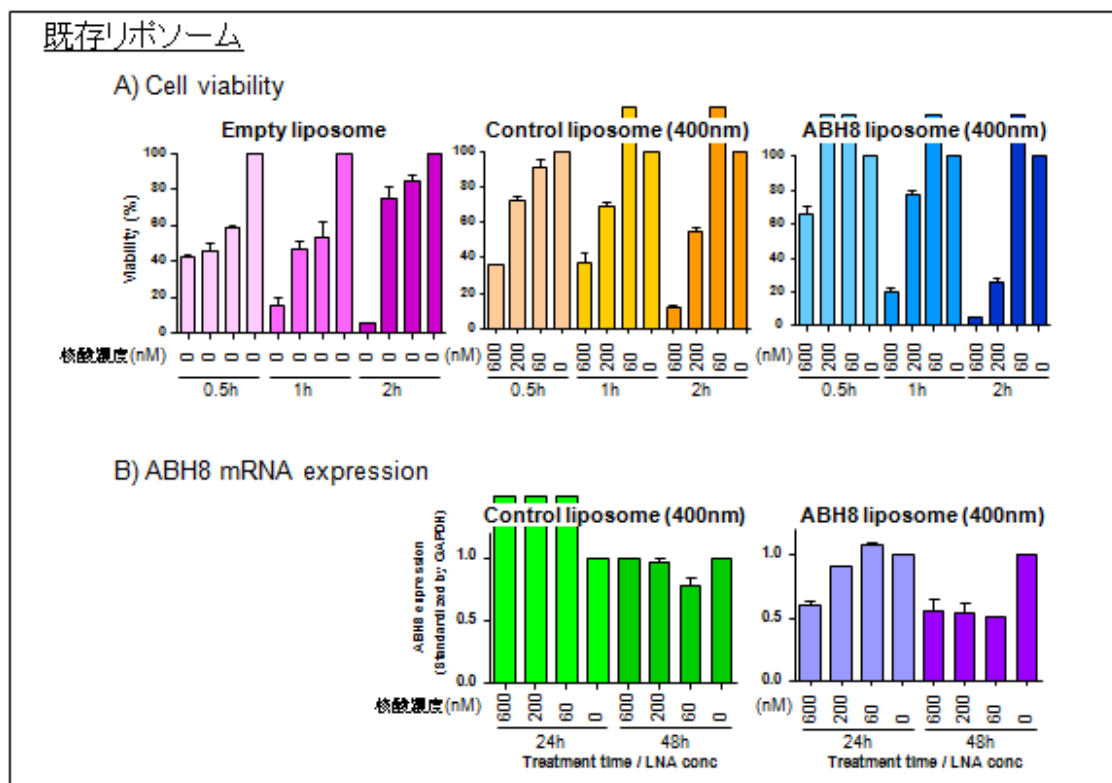
(1)核酸の準備・提供と、in vitro 活性の測定、ならびに、核酸内包リポソームの活性測定

【大阪大学・富士フイルム】

平成 26 年度に in vitro である程度活性の得られるリポソームの創出は完了した。コントロール(ターゲットを認識しない)配列核酸の内包リポソームとの安全域は狭いながらも確認でき、薬効試験に進んだが薬効が得られなかった。そこで、本年度、組成・サイズを改良し、さらに安全域が広がるリポソームを設計し、薬効試験を実施した。

同作業に即し、各種リポソームの活性測定を継続した。なお、薬効が得られない場合のリポソームの改良は、当初より予測の範囲内であった。

以下に、改良前、改良後のリポソームの *in vitro* 活性(細胞障害性・ABH8 mRNA 発現抑制効果)を提示する。希釈は内包核酸濃度にて調整した。空リポソームは ABH8 liposome における脂質量に合わせた。



## (2) 創出したリポソームの薬効評価

### 【富士フィルム】

既存のモデルでは、ヒト臨床上の BCG 処置後の再発膀胱癌(上皮内・浮遊癌)をトランスレーショナルできていないことが病理組織学的に明確にでき(本年度)、より臨床に近いモデルを創出した。薬物投与時期を早期癌時期に開始することで、以下の薬効が確認できた。

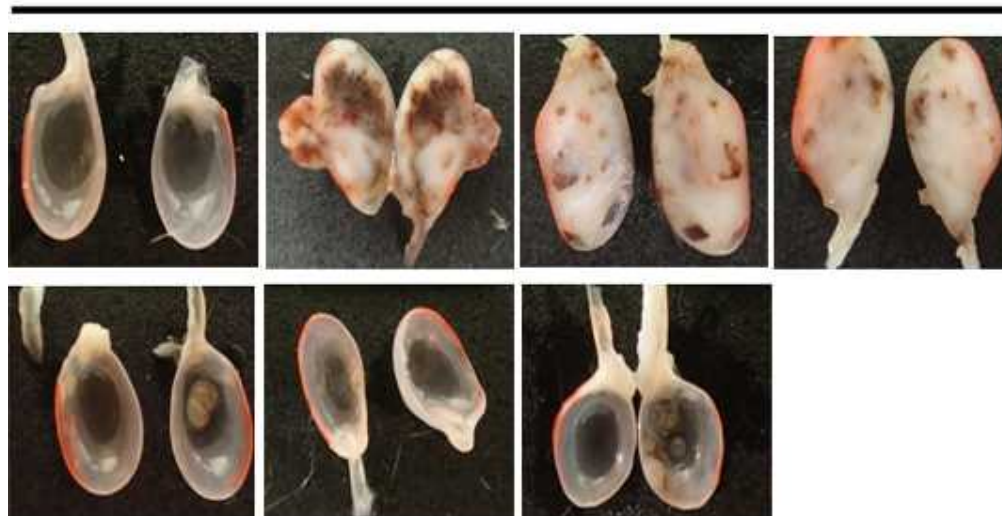
膀胱同所移植翌日・翌々日に、改良後のリポソーム(抗ABH核酸 $1\mu\text{M}$ )を膀胱内に投与し、薬液を4時間貯留し、移植21日目の解剖・病理所見を示す。

### 解剖時膀胱内写真

#### 培地群



#### 溶媒群



## ABH8群



AB8-U46		
Group	Gross Finding	Histological Finding
培地群 (Medium)	膀胱内結節(1cm)、血尿、両側腎臓退色、腫大	+++
	膀胱背側、白色結節(2~3mm, 3~4個)、両側腎臓退色、腫大	++
	-	-
	膀胱内結節(1cm<)、両側腎臓退色、腫大	+++
	白色斑結節(2mm, 2~3個)	+
	膀胱内結節(1cm<)、右側腎臓白色結節(2mm, 3個)	+++
	血尿、膀胱背側、白色結節、右側腎臓腫大、左腎臓退色	++
溶媒群 (Histidine)	白色斑結節(2mm, 1個)、右側尿路白色結節(5mm, 2個)、脾臓腫大、右腎臓白色腫大	++
	膀胱背側白色結節、右腎臓腫大	+
	血尿、膀胱内結節(1cm<)、両側腎臓退色、腫大	+++
	膀胱内結節(1cm<)	+++
	血尿、膀胱内結節(1cm<)、右側腎臓退色、腫大(1cm<)、左側腎臓腫大(1cm)	+++
	膀胱背側、白色結節(3mm)	++
	膀胱背側、白色結節(2mm)	+
膀胱背側、白色結節(2~4mm)	++	
ABH8群	膀胱背側、白色域※膀胱壁から液漏れあり	++
	-	-
	-	-
	-、血尿、両側腎臓腫大(1cm)	-
	-、膀胱壁白濁(炎症?)	-
	-、血清腹水(5mL)、腹膜播種	-
	-	-
膀胱内結節(1cm<)、尿路結節、右側腎盂白色結節	+++	

1/8 tumor free

0/7 tumor free

6/8 tumor free

※ 粒子径100nm ABH8 LNA 1μM

※ ±, 単一切片に極微小な結節を認める, +, 複数切片に小結節を認める, ++, 粘膜下層浸潤した結節を複数切片で認める, +++, 筋層浸潤した結節を認める

肉眼的にも、ABH8 核酸処理のものでは、腫瘍が確認される個体は1例で、培地及び溶媒群(それぞれ7及び全例)に比し抑制が明らかで、さらに病理組織学的にも腫瘍の生着性が符合することが確認できた。

今後、コントロール配列核酸の実験を行い、さらに最終核酸である AmNA で配列をトレースして実施し、薬効確認と併せて毒性評価を行う。