

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

事業名：(日本語)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(A-STEP)  
(英語)Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer  
Adaptable and Seamless Technology Transfer Program Through Targetdriven R&D(A-STEP)

研究開発課題名：(日本語)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  
(英語)Development of innovative drug for bladder cancer using ABH8-targeting synthetic nucleic acid.

研究開発担当者 (日本語)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  
所属 役職 氏名：(英語)Pharmaceutical & Healthcare Research Laboratories, FUJIFILM Corporation  
Senior Research Scientist, CHIHAYA KAKINUMA

実施期間：平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

## II. 成果の概要(総括研究報告)

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。

本年度、ABH8(AlkB homologue, ALKBH8)を抑制する核酸内包リポソーム製剤が、早期膀胱癌モデルの膀胱内投与により抗腫瘍効果を発揮することを示した。核酸は、小比賀聡教授(共同研究者;大阪大学大学院薬学研究科生物有機化学分野)の発明である修飾型核酸 AmNA(Amido-bridged nucleic acid)を利用した、アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いた。

まずは、ABH8 発現膀胱癌株化細胞である UMUC3 に対する ABH8 の抑制効果、増殖抑制効果を in vitro で評価し、最適核酸配列を決定した。その後、膀胱内同所移植モデルマウスによる in vivo 評価を実施した。

同モデルは柿沼(富士フイルム株式会社医薬品ヘルスケア研究所)が構築したモデルで、移植翌日・翌々日にヒト早期癌(表在性・上皮内)に類似の形態を示す(それ以降では速やかに浸潤癌に移行)。そこで、移植翌日・翌々日の数時間の膀胱内投与により薬効を評価した。現在、病理組織学的に、薬剤投与群での抗腫瘍効果が明瞭である。一方、本研究の課題として、バイオマーカーの探索と提案が含まれるが、研究は継続中である。

ABH8 抑制による抗腫瘍効果のメカニズムに関しては、ABH8 のノックダウンで発現が抑制されアポトーシス誘発に関わる候補標的分子がいくつか発見された。今後は同メカニズムをモデルで確認していく予定である。

毒性評価の側面では、局所刺激性に関しては特記すべき毒性は得られていない(薬効動物を有効利用した研究)。次年度、全身毒性を評価し、薬効との比較で安全域を確定する。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。

Urinary bladder carcinoma is known to arise in the epithelium or epithelial surface. In progress stage, invasion into the muscular layer, metastasis and dissemination to other organs are involved. BCG treatment is first-line therapy for non-invasive carcinoma, however, many patients (70%) show recurrence after BCG treatment, and are forced to bladder extraction. Although cytotoxic drugs are treated in the progressed stages, contribution of the chemotherapies is very low. Therefore, we lunched to develop a novel ABH8-targeted nucleic acid drug which utilizes AmNA (Amido-bridged Nucleic Acid). Our purpose is to establish a therapeutic drug for bladder cancer which shows no recurrence and safeness compared with BCG treatment.

In this fiscal year, we demonstrated that intravesical injection of the liposomal drugs, including antisense nucleic acids which suppresses AlkB homologue 8 (ABH8) expression, showed anti-tumor effect in an early stage-bladder cancer model. A key point is that the ABH8-targeted antisense oligonucleotide is modified with AmNA (Amido-bridged nucleic acid), which is developed by prof. Satoshi Obika (collaborator; Osaka University).

First of all, expression of ABH8 mRNA and proliferation were evaluated in UMUC-3 cells, a bladder cancer cell line with high expression of ABH8, for optimization of the sequence. Next, anti-tumor efficacy of liposomal compounds provided was evaluated in an orthotropic bladder cancer mouse model. The model was developed by Kakinuma et. al. (Fujifilm Corporation). At 1 or 2 days after inoculation, morphologies of the models resembled with those of human bladder cancer in early stages (3 days or more after inoculation, muscular invasion was noted). Thus, drug exposures were planned at 1 and 2 days after inoculation. As the results of histopathological examination, it was clear that tumor growth was suppressed by intravesical injection of our drug. On the other hand, available biomarkers for efficacy study were still not observed. The research of biomarkers is still working in this fiscal year.

In regard to the antitumor mechanism induced by ABH8 suppression, several molecular targets which induce apoptosis were discovered. We will identify the target molecules *in vitro* tests, and assess its activity in our mouse models in future studies.

Furthermore, we found that there were no toxic changes in the urinary bladders from mice of efficacy studies. In next fiscal year, preliminary consultation to PMDA about the regulation of nucleic acid drug development will be planned, and we schedule to have general toxicity studies, and clarify safety margins of our drugs.

### III. 成果の外部への発表

#### (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧(国内誌0件、国際誌1件)

1. Ohshio I, Kawakami R, Tsukada Y, Nakajima K, Kitae K, Shimanoe T, Saigo Y, Hase H, Ueda Y, Jingushi K, Tsujikawa K. ALKBH8 promotes bladder cancer growth and progression through regulating the expression of survivin. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016, 477, 413-8.

#### (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

なし

#### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

#### (4) 特許出願

なし