

平成30年度

戦略的基盤技術高度化・連携支援事業

戦略的基盤技術高度化支援事業

「核酸医薬送達を高精度化する細胞内バリア突破型ナノ粒子の開発」

研究開発成果等報告書

平成31年3月

担当局 関東経済産業局

補助事業者 公益財団法人千葉県産業振興センター

目 次

第1章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標	1
1-2 研究体制	4
1-3 成果概要	5
1-4 当該研究開発の連絡窓口	6

第2章 本論

序論	7
2-1 細胞内バリアを突破するハイブリッドミセル作成における課題への対応	8
2-2 がん治療に向けた性能と安全性の課題への対応	13
2-3 事業化に向けた大量製造における課題への対応	17

第3章 全体総括

3-1 研究開発の成果	19
3-2 事業期間終了後の課題	19
3-3 事業化に向けた今後の展開	19

第1章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

研究開発の背景

現在使用されている従来型の薬（「低分子医薬」「抗体医薬」）が標的化できているタンパク質は、ほんの一部の酵素あるいは受容体にしか過ぎず、その数はせいぜい数百程度である。疾患治療の標的として有望でありながら、従来型の薬では機能制御が困難であったり、似たような構造で機能が異なるタンパク質に対して薬の結合選択性が低かったりといった理由で、いまだ薬の力が及ばない有望標的タンパク質の数はその数倍にも達する。

それに対し「核酸医薬」は、遺伝子とその働きに直接作用して、タンパク質合成を根本から制御するものであり、本質的に極めて高い選択性と活性が確保されている。したがって、核酸医薬は従来型の薬では対処できなかった多くの疾患、極論すればすべての機能性タンパク質に極めて選択的に作用可能で、これまで考えられなかったような数多くの治療オプションを提供できると期待されている。つまり、核酸医薬が抱える課題を解決し核酸医薬の高度化に貢献することは、まだ確実な治療法が提供されていない「がん」、「免疫疾患」といった難治性疾患に立ち向かう強力な手段となるだけでなく、遺伝性の難病、再生医療への応用といった広範なアンメットメディカルニーズに応える手段を提供することにつながる。

難治性疾患の中でも「がん」は、1981年以降日本人の死因第1位であり、生涯で2人に1人の方が罹患し、3人に1人の方が「がん」によって亡くなっているとされる。がんで恐ろしいのは、原発巣そのものに限らず、むしろ発見の遅れた進行性で悪性度の高いがんである。悪性度を増したがんは各所に転移してさらに増殖し、多発性臓器不全を引き起こすことによって人を死に至らしめる。発見が遅れたがん、あるいは特に転移が起きやすい、膵がん、肺がん、乳がんといった、いわゆる悪性度が高いとされるがんは、様々な治療法が開発された現在においても十分な治療成績に達しているとは言い難い。

近年、大手製薬企業はこれまでの内製化方針を捨て、オープンイノベーションへと舵を切っている。したがって、バイオベンチャーによる革新的課題解決策の提供は、大手製薬企業のニーズとよく合致する。

研究開発の目的

「核酸医薬」は、「低分子医薬」や「抗体医薬」のような創薬上の制限を受けないが、核酸分子単独では細胞膜を透過できず、ウィルスなどの外敵が体内に侵入したときに働く生体の防御機構に捉えられ、生体内では速やかに分解・排泄されてしまうという性質が実用化への障壁となっている。様々な取り組みが試みられているが、それらには一長一短があり、どれも決定的なものではない。本事業では、ナノ粒子製剤（ハイブリッドミセル）技術を用いて「核酸医薬」を‘がん’に効率よく届け、さらに細胞内利用率を飛躍的に高めることにより、従来「核酸医薬」が抱えている課題解決を提供し、実際に‘がん治療モデル’で実証することにより、革新的な治療形態としての「核酸医薬」の可能性の拡大に挑戦する。

研究目標

①細胞内バリアを突破するハイブリッドミセル作成における課題への対応

ハイブリッドミセルは高分子ミセルと低分子脂質を均質に融合する難しさがある。また、がん細胞への送達効率を高めるため、ナノ粒子のサイズを200ナノメートル以下に止め、かつ生体適合性を伴って核酸を安定に内包し、ナノ粒子として血中滞留性を確保するとともに、細胞内バリア突破素子が最大限に機能する粒子形態を模索するなど、総合的な性能向上が求められる。

①ー1 がん組織への集積効率を高めるための粒子物性制御

機能性素子を用い、ポリマー構造や脂質との配合比などを検討してハイブリッドミセルを調製するとともに、粒子物性の制御に取り組む。また、機能性素子の改良にも取り組む。

[事業終了時の目標値] より薬効や安全性を追求して200ナノメートル以下を目標とし、生体適合性の指標であるナノ粒子製剤の表面電位は $\pm 2\text{mV}$ 以内に制御することを目標とする。

①ー2 核酸を安定内包し、生体適合性に優れるナノ粒子製剤化技術の最適化

①ー1で調製検討したハイブリッドミセルの生体環境における安定性を多角的に評価し、ハイブリッドミセル設計にフィードバックする。

[事業終了時の目標値] 生体環境で核酸が分解から保護されることに加え、プロトタイプの消失相血中半減期 6時間を、2倍の12時間程度まで引き上げることを目標とする。

①ー3 細胞内バリア突破効率を最大化するナノ粒子製剤化技術の最適化

①-1で調製したハイブリッドミセルの生化学的な評価を実施し、ハイブリッドミセルの設計改良に反映する。また、機能性素子単独での細胞内バリア突破能力を多角的に評価する。

[事業終了時の目標値] 肝疾患用途に限定されるが、開始当時に世界最高性能とされた脂質系ナノ粒子製剤の核酸利用効率は、投与したうちの2%程度。本事業では、肝臓以外の対象がん（例えば肺がん等）の治療においても、核酸利用率を同レベルあるいはそれ以上に向上させることを目指す。細胞内バリア突破能を含む、ハイブリッドミセルの総合的な性能目標は、無投与対照群に対して細胞増殖が50%に抑えられる有効核酸濃度が、プロトタイプで約10nM必要とするが、これを1/5濃度にまで低減することを目標とする。

②がん治療に向けた性能と安全性の課題への対応

簡易的な生物学的評価によって最適化された製剤が、必ずしも疾患モデル動物での薬効や安全性試験でベストの結果をもたらすとは限らない。実際にモデル疾患動物を用いて抗腫瘍活性試験などの薬理評価を実施し、生体内でのミセル安定性とがん集積性のそれぞれを現行プロトタイプの2倍以上に向上させるとともに、生体内バリア突破能の向上と併せて、投与量を1/10量にまで低減できる総合的な性能向上を目標とする。

③事業化に向けた大量製造における課題への対応

医薬品として開発可能なスケールアップ製造のプロセスを各工程で最適化する。

③-1 大量製造に向けた予備検討

ハイブリッドミセルの均一製造およびセンサー分子結合反応後の精製プロセスを最適化する

[事業終了時の目標値] 研究用では10mg程度の核酸を製剤化するが、パイロットスケール設備を導入して、核酸として100mg程度、溶液量として2L程度のスケールで、均質かつ再現性良くハイブリッドミセルの調製、精製・濃縮、製剤化を可能とする。最終的には医薬品用テクニカルバッチとして、核酸1g程度、溶液量として20L程度のスケールで実製造することを目標とする。

③-2 研究用試薬販売に向けた製造検討

研究用試薬としては、研究者が所望の核酸を製剤化できるよう、ナノ粒子のみを製造する。用途に応じて細胞、動物試験用の2種類を製造し、購入者が容易に使えるよう仕様を策定する。

1-2 研究体制

研究実施機関

- ・ ナノキャリア株式会社（代表取締役社長：中富一郎）
- ・ 国立大学法人北海道大学（総長：名和豊春）

総括研究開発者（PL）

緒方 嘉貴：ナノキャリア(株) 研究部 部長（～H29）

宮嶋 勝春：ナノキャリア(株) 研究部 部長（H29～）

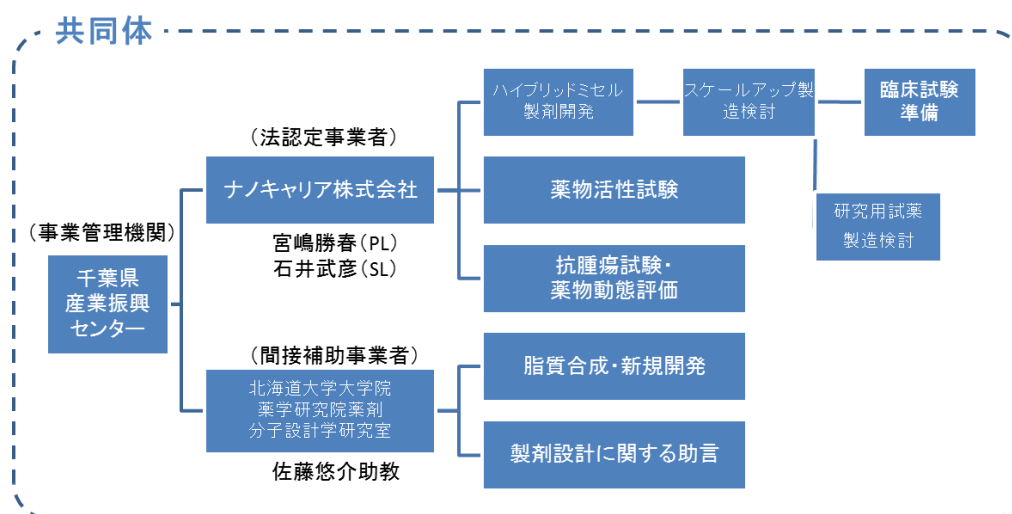
副総括研究開発者（SL）

石井 武彦：ナノキャリア(株) 研究部 部長代理

協力研究者

佐藤 悠介：北海道大学大学院薬学研究院 助教

役割分担



サイエンティフィックアドバイザー

- ・ 片岡 一則（川崎市産業振興財団 副理事長 兼 ナノ医療イノベーションセンター・センター長）
- ・ 西山 伸宏（東京工業大学 科学技術創生研究院・教授）
- ・ 濱口 哲弥（埼玉医科大学国際医療センター消化器腫瘍科・教授）

1-3 成果概要

①細胞内バリアを突破するハイブリッドミセル作成における課題への対応

①-1 がん組織への集積効率を高めるための粒子物性制御

ハイブリッドミセルの特性に合わせ、機能性素子の構造改良を実施。ハイブリッドミセル化による基本性能を評価することにより構造を選定した。種々の検討の結果、粒子径は最小で70nmを達成。表面電位は目標値 ± 2 mV内を達成した。

①-2 核酸を安定内包し、生体適合性に優れるナノ粒子製剤化技術の最適化

ハイブリッドミセルの生体環境における安定性評価として、細胞培養用培地およびマウス血漿中の核酸の保護能力を評価。種々検討の結果、血漿中において、6時間後の核酸残存量が最大で80%維持できる組成を見出した。また、上記ハイブリッドミセルは培養細胞に対して毒性が非常に低いことを確認した。消失相血中半減期は、最大で11時間程度まで改善が見られ、概ね目標を達成した。

①-3 細胞内バリア突破効率を最大化するナノ粒子製剤化技術の最適化

新開発の機能性素子を用いることにより、Plk1遺伝子をノックダウンすることによる50%細胞増殖阻害濃度は飛躍的（約40倍）に向上し、ほぼ目標値を達成した。これは細胞内バリア突破能力が大幅に向上したことに起因することを確認している。

②がん治療に向けた性能と安全性の課題への対応

機能性素子の安全性評価を実施した結果、顕著な急性毒性を示すことはなく、生体内で速やかに代謝を受けるため、生体内における蓄積毒性が極めて低いことを確認した。これにより連続投与などによる生体へのリスクの大幅な低減が見込める。一方、核酸のがん集積性は、従来モデルと遜色ないレベルであった。現状、抗腫瘍効果は、退縮を誘導するレベルまでには至っておらず、投与量・頻度の低減にも至っていない。

③事業化に向けた大量製造における課題への対応

③-1 大量製造に向けた予備検討

機能性素子の合成条件を確定させ、受託合成会社を利用し、スケールアップに適した合成プロセスを確定し、核酸1gを内包するに十分な20gスケールでの合成に成功した。また、ポリマー原料の合成法についても確定させた。再現性に優れる特殊デバイスを導入し、ハイブリッドミセルの

調製プロセスを確定した。また、精製法技術の検討も実施した。

③-2 研究用試薬販売に向けた製造検討

in vitro 実験の使用に耐える性能を有する仕様候補を見出した。*in vivo* 実験用については、研究ベースで更なる性能向上を図るべく、最適化を実施中である。

1-4 当該研究開発の連絡窓口

連絡先：

藤本 浩治：ナノキャリア(株) 総務・人事部

Tel:04-7397-7621, Fax:04-7197-7621, E-mail:fujimoto@nanocarrier.co.jp

第2章 本論

序論) ハイブリッドミセルによる核酸ドラッグデリバリーシステム

ナノキャリア社ではこれまでに、「低分子医薬」を高分子ミセルと呼ばれるナノ粒子に内包して、がん細胞に効率よく薬を送達する技術確立している。脂質系ナノ粒子製剤とは異なり、肝臓でのトラップや生体防御機構の認識から逃れ、血流で体内を長時間循環することが特徴である（図1 参照）。サイズ制御されたナノ粒子製剤特有の性質として、腫瘍部位に集積されやすいという特徴がある。これを利用して、高分子ミセル粒子をがん細胞の周りに集め、がん細胞表面に特徴的なターゲット分子を認識するセンサー（抗体）を使って、がん細胞に取り付き、がん細胞内部に効率よく抗がん剤を送達することができる。ところが「核酸医薬」の場合、単に細胞に取り込ませさえすれば良いのではなく、細胞質まで運んでやらなければ核酸の機能を発揮させることができない。さらにナノ粒子製剤一般の宿命として、細胞内に入った後、細胞膜によって隔離された小胞体に閉じ込められてしまい（図1（7）～（8）参照）、やがては分解酵素で満たされた小胞体が融合して、核酸分子も含めバラバラに分解されてしまう難点がある。「低分子医薬」ならばこの小胞体の膜を透過できようが、「核酸医薬」の場合は透過もできないので、結果的に細胞質へ送達して機能させることが難しくなる。つまり、ナノ粒子製剤においては、この細胞内バリアを突破することこそが、核酸医薬の送達効率を飛躍的に高める最重要課題なのである。

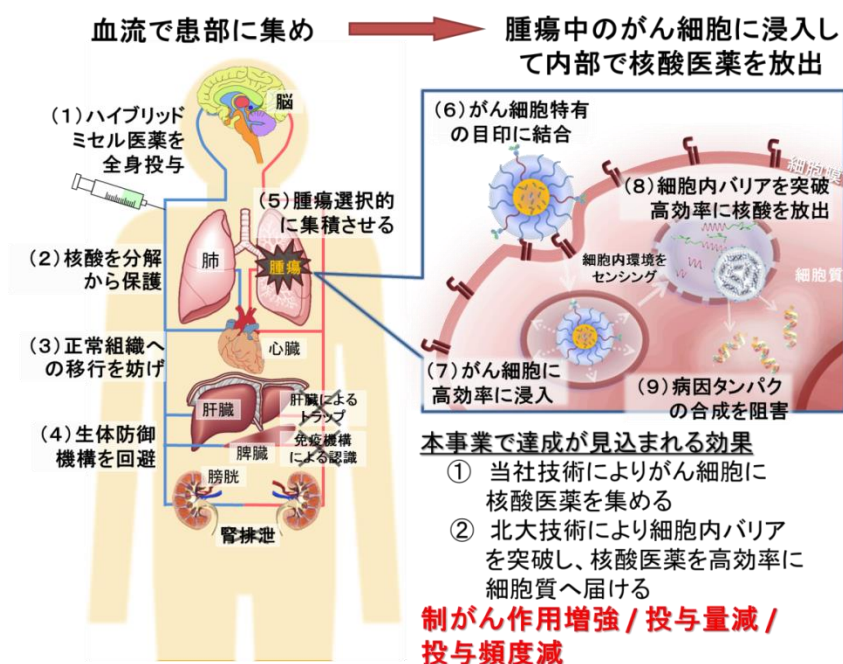


図1. 核酸送達効率を改善したハイブリッドミセル医薬による治療概念

ナノキャリア社で開発したプロトタイプ（特許第 4912510 号および特許第 4653242 号）は、細胞内バリアを突破させるための機能性素子として市販の脂質分子を含有することにより、疾患モデル動物を用いた実験では腫瘍の成長を抑制するなど、一定の成果をあげている。しかし、細胞内バリア突破能力は改良の余地が残されていた。そこで我々は、この細胞内バリア克服のため、北海道大学が有する細胞内バリア突破能力と安全性のバランスにおいて世界トップレベルの性能を有する脂質技術（特開 2013-245190、PCT/JP2015/064196 など）に着目した。これを応用することにより核酸を細胞質へ送達する能力が飛躍的に高まり、核酸医薬による制がん作用を大幅に増強することが可能になると考えられる。北海道大学の技術とナノキャリア社の技術をハイブリッド化（ハイブリッドミセル）し、制がん作用が増強されれば、製剤の投薬量および投与頻度の減少も可能になるため、従来技術で指摘されている、治療による患者さまの身体的負担および医療経済的負担を大きく軽減することができると考えられる。

2-1 細胞内バリアを突破するハイブリッドミセル作成における課題への対応

ハイブリッドミセルは高分子ミセルと低分子脂質から構成される。それぞれは単独でナノ粒子化するため、それらを均質に融合する難しさがある。また、がん細胞への送達効率を高めるため、ナノ粒子のサイズを 200nm 以下に制御する必要があり、かつ生体適合性を伴って核酸を安定に内包し、ナノ粒子として血中滞留性を確保する必要がある。

①がん組織への集積効率を高めるための粒子物性制御

血中投与後のハイブリッドミセルが効率よく腫瘍箇所に集積するためには、適度な粒子サイズと十分な血中半減期とが必要である。腫瘍では血管壁の構築が不完全で、リンパ排泄が滞っているために、正常組織に比べて高分子量の物質が血中から移行し、滞留しやすいことが知られている（EPR 効果）。また、血中を長期循環させるためには、腎臓で濾過・排泄されないように一定のサイズ（> 10nm）も必要である。以上の観点から、ハイブリッドミセルのサイズ目標を 10nm 以上、200nm 以下のナノ粒子と定めた。本事業で調製したハイブリッドミセルの動的光散乱測定結果の例を図 2 に示す。いずれの実験でも、その直径（平均）は 70-120nm の範囲で制御できており、粒子径分布も十分に狭い（粒子径のばらつきが小さい）ものが調製できている。

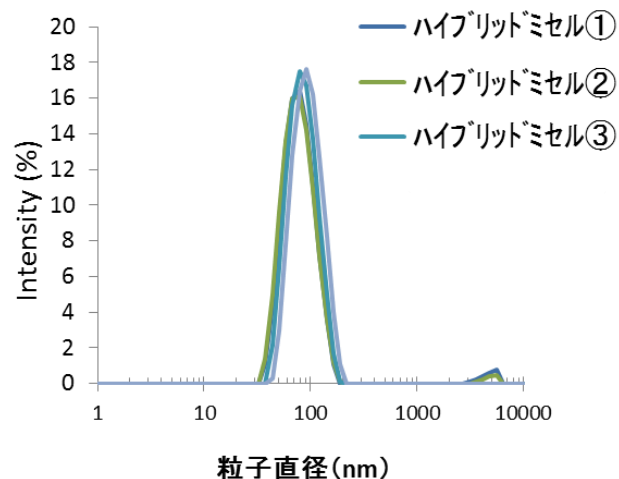


図2. ハイブリッドミセルの動的光散乱測定結果の例

また、血中で異物として認識されにくいよう、生体適合性の中性高分子で表面が覆われているが、表面付近の電位（ゼータ電位）が正・負どちらに強すぎても血中半減期に影響がでる。図3に例を示す通り、ハイブリッドミセルのゼータ電位は、目標値をクリアした中性に近いものであった。

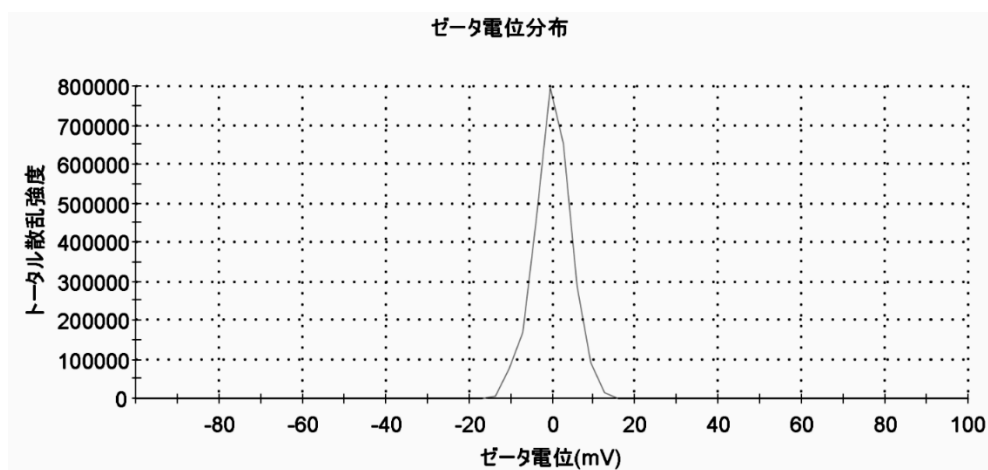


図3. ハイブリッドミセルのゼータ電位測定結果の例

以上の結果より、物理化学的特性の観点からは、調製されたハイブリッドミセルが十分な腫瘍移行性能を有するものと判断された。

②核酸を安定内包し、生体適合性に優れたナノ粒子製剤化技術の最適化

通常、血中には核酸の分解酵素が含まれており、単独で投与した核酸分子は容易に分解される。がん組織に核酸を送達するためには、生体内（血中）でナノ粒子が崩壊、あるいは凝集せずに、内包した核酸を安定に保持できる必要がある。そこで調製したハイブリッドミセルを血清と混ぜ、その核酸保護能力を評価した。実験にはPCR法を用いた。その結果を図4に示す。

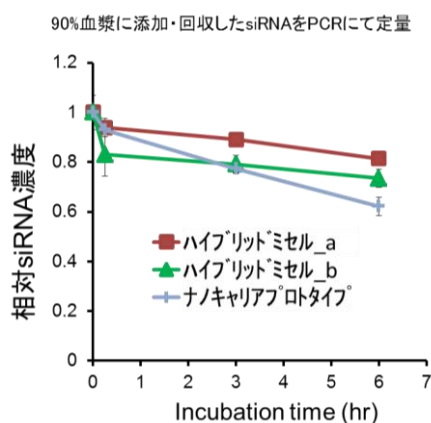


図4. ハイブリッドミセルの核酸分子保護性能

以上の結果より、ハイブリッドミセルに取り込まれた核酸分子が血中で概ね安定に存在できることを確認した。続いて、実際にマウス尾静脈からハイブリッドミセルを投与した後の血液サンプルから、血中における核酸の動態を調べた結果を図5に示す。

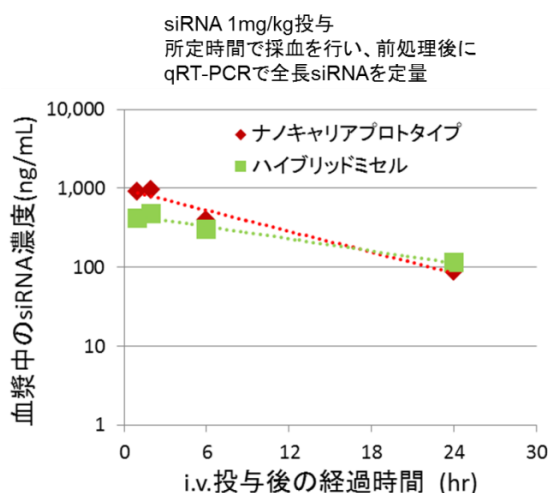


図5. ハイブリッドミセル化した核酸分子の血中動態

消失相半減期の目標値 12 時間には達しなかったものの、従来モデルと同等レベルの滞留性を有していることを確認した。

③細胞内バリア突破効率を最大化するナノ粒子製剤化技術の最適化

事業期間中、機能性素子の改良検討を鋭意行った結果、肝臓に対する核酸の奏効率が事業開始当初に比して30倍にも達する機能性素子を開発した（特許出願済）。肝臓に対する集積性が同等であるとするならば、その性能向上は細胞内バリアの突破能力の向上と言い換えることができる。この新開発機能性素子は、2018年に世界で初めてFDA（アメリカ食品医薬品局）によって承認を受けた核酸医薬の肝臓疾患治療薬‘Patisiran’が使用しているMC3の性能をはるかに超えるものである。図6に肝臓の標的遺伝子ノックダウン効率を比較した結果を示す。

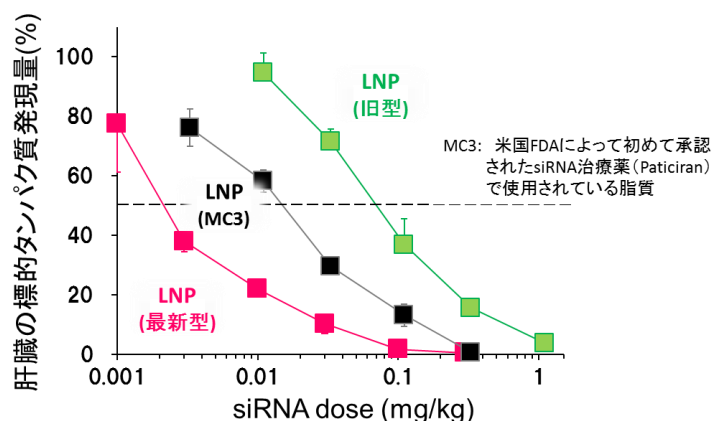


図6. 新開発機能性素子の肝臓での標的遺伝子ノックダウン

この新開発機能性素子を開発したことにより、ハイブリッドミセルの性能が大幅に向上した。図7に培養細胞のPIK-1遺伝子ノックダウンに起因する細胞増殖阻害効果の比較事例を示す。本実験で用いた培養細胞に対する*in vitro*活性として、ナノキャリア社の従来技術に比べ、実に40倍の活性を得ることができた。

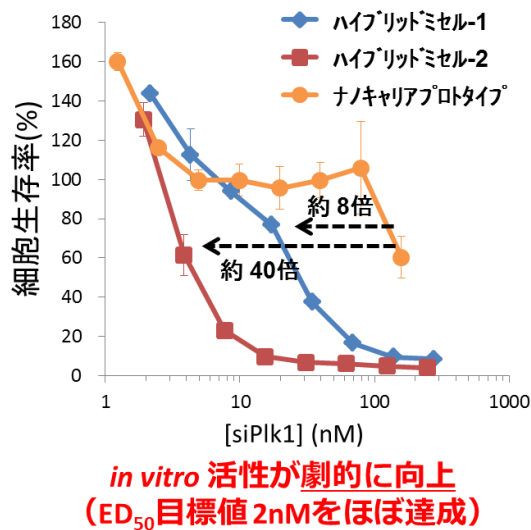
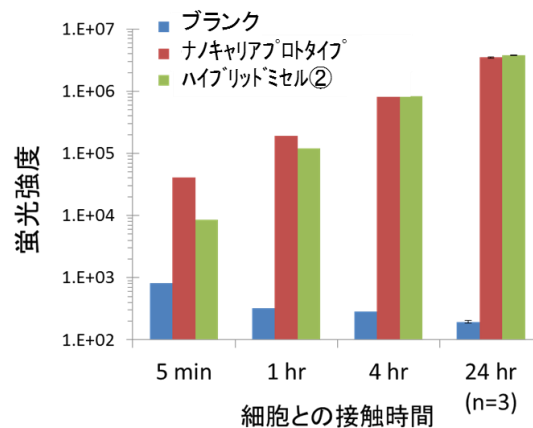


図 7. 新開発機能性素子導入により向上した *in vitro* 活性（細胞増殖阻害）

また、蛍光ラベルされた核酸を用いて、同ハイブリッドミセルの細胞取り込み量を評価したところ、ナノキャリア従来型と比較して細胞内への取り込み量はほぼ同等であった（図 8）。つまり、*in vitro* 活性の向上は、細胞取り込み後の細胞内バリア突破能力が大幅に向上したことにより、利用効率が高まったことに起因することを示すものといえる。



**細胞取り込み量に差はない ⇒
細胞内バリア突破効率が向上が寄与**

図 8. 上記実験（図 7）における細胞内に取り込まれた核酸量比較

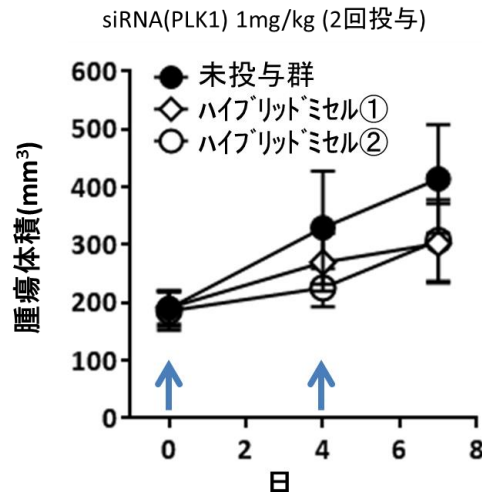
2-2 がん治療に向けた性能と安全性の課題への対応

がん細胞を皮下に移植したモデルを用いて、ハイブリッドミセルの薬理評価を行った。検討を重ねるごとに腫瘍内に送達できる核酸量を増大させることができたが（表 1）、抗腫瘍効果や腫瘍内がん細胞の遺伝子ノックダウン効率の観点では、従来モデルを大きく上回ることができなかった。集積量としては過去実績をむしろ上回っており、腫瘍組織浸透性または細胞への取り込みに何らかの問題が生じている可能性がある。

表 1. 各実験で腫瘍内に集積した核酸の濃度

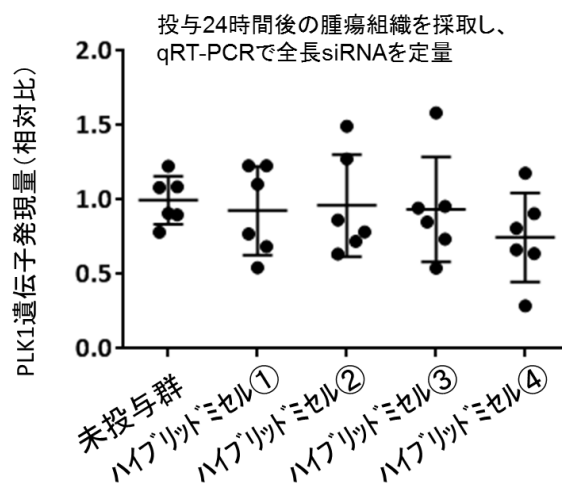
Entry	検討事項	腫瘍内siRNA量 (ng/g, 24h)
1	初期検討	2.3 ± 0.1
2		8.7 ± 2.3
3		4.7 ± 2.6
4		9.5 ± 5.4
5		2.7 ± 0.8
6	組成検討	53.8 ± 15.8
7	調製法再検討	40.9 ± 12.2
8		200.0 ± 41.3
9	組成再検討	23.7 ± 10.8
10		4.7 ± 3.0
11		50.1 ± 16.0
12		112.0 ± 25.0

図 9 には抗腫瘍試験の結果を、図 10 には腫瘍内細胞中のターゲット遺伝子ノックダウン効果の結果を示した。腫瘍の成長は抑制傾向にあるものの、ターゲット遺伝子のノックダウン効率が不十分であるため、現状の効果では不十分である。



個体差はあるが、腫瘍成長を抑えているものもある

図 9. ハイブリッドミセルによる腫瘍成長抑制作用



個体差は大きい、ある程度のKD効果がみられる

図 10. 上記実験（図 9）における腫瘍内細胞中の Plk1 遺伝子ノックダウン効果

ハイブリッドミセルにおいて、血中投与後の安全性に影響を及ぼす可能性が高いのは機能性素子である。新規に開発したものであるため、その安全性について詳細に検証した。本品は目的を達した後、生体内で速やかに分解・代謝を受けるよう設計しており、実際、肝臓や脾臓のホモジネートに添加すると、速やかに分解される（図 11）。また、肝臓をターゲットとした投与であっても、肝機能の主要パラメーターである ALT と AST に大きな変動はなく、生分解性に乏しかった従来

型に比べ、肝機能へのダメージが極めて軽減されている（図 12）。さらに、連続投与を行っても、未投与群と比較して体重の増減に顕著な差異は見られず（図 13）、血中パラメーターや病理組織に顕著な変動、所見は見られていない。以上の結果から、新開発の機能性素子の安全性に問題はないと判断される。

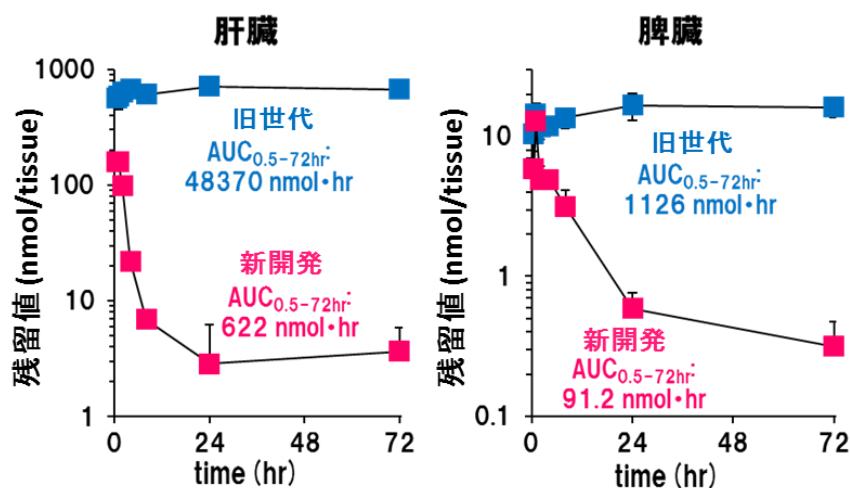


図 11. 新開発機能性素子の肝臓、脾臓での分解プロファイル

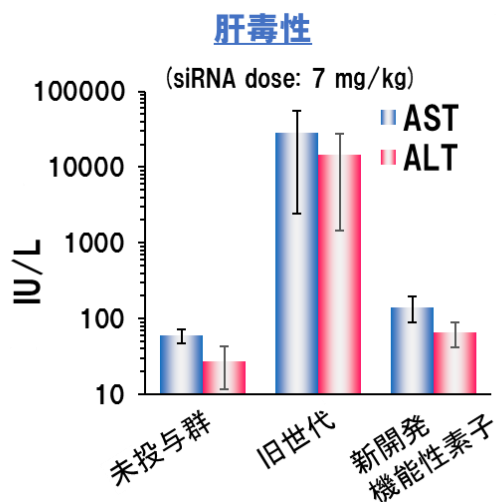


図 12. 新開発機能性素子による肝臓へのダメージ比較

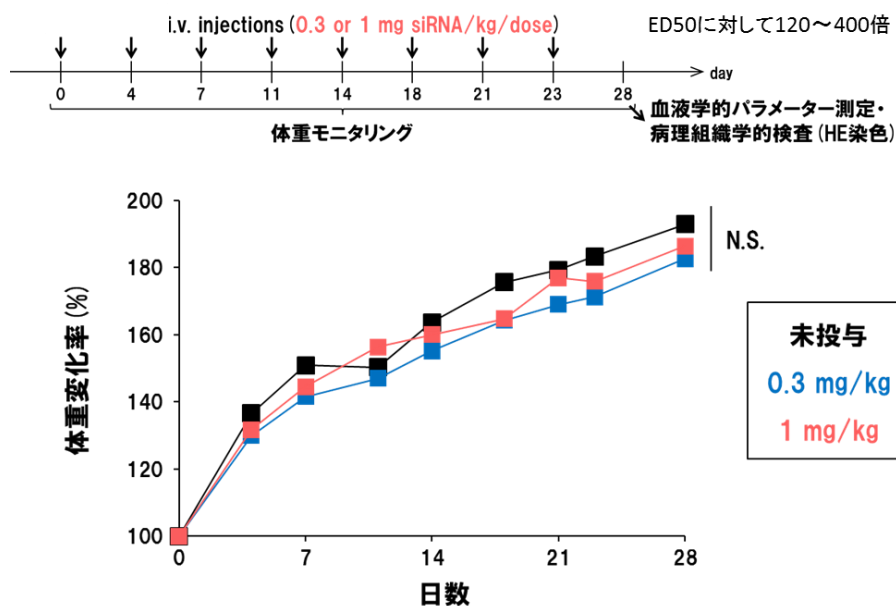


図 13. 連続投与による体重変動

表 2. 連続投与後の血液パラメータ

連続投与開始から28日後の血清を回収し、
各血液学的パラメーターを測定

測定項目	未投与	0.3 mg/kg	1 mg/kg	測定項目	未投与	0.3 mg/kg	1 mg/kg
TP (g/dL)	5.2±0.1	5.3±0.2	5.1±0.1	ALT (IU/L)	34±6	34±14	27±1
ALB (g/dL)	3.4±0.1	3.4±0.1	3.3±0.1	LDH (IU/L)	195±59	250±103	301±20
BUN (mg/dL)	27.8±5.4	30.0±1.2	24.7±2.4	AMY (IU/L)	2850±473	3518±454	3294±1034
CRE (mg/dL)	0.12±0.03	0.15±0.02	0.10±0.03	γ-GT (IU/L)	<3	<3	<3
Na (mEq/L)	151±1	152±1	152±3	T-CHO (mg/dL)	100±7	80±13	103±18
K (mEq/L)	5.5±0.8	5.4±0.7	4.5±0.1	TG (mg/dL)	194±54	219±27	224±45
Cl (mEq/L)	111±1	111±1	113±3	HDL-C (mg/dL)	60±3	49±8	60±7
Ca (mg/dL)	9.8±0.5	10.4±0.4	9.4±0.4	T-BIL (mg/dL)	0.06±0.02	0.09±0.02	0.12±0.06
IP (mg/dL)	7.9±1.1	8.1±1.3	7.0±1.1	GLU (mg/dL)	185±21	199±5	184±14
AST (IU/L)	80±28	73±35	75±15				

TP:総タンパク質, ALB:アルブミン, BUN:尿素窒素, CRE:クレアチニン, Na:ナトリウム, K:カリウム, Cl:塩化物, Ca:カルシウム, IP:無機リン, AST:アスパラギン酸アミノ基転移酵素, ALT:アラニンアミノ基転移酵素, LDH:乳酸脱水素酵素, AMY:アミラーゼ, γ-GT:γ-グルタミル基転移酵素, T-CHO:総コレステロール, TG:中性脂肪, HDL-C:高密度リポタンパク質-コレステロール, T-BIL:総ビリルビン, GLU:グルコース

表 3. 連続投与後の病理所見

投与開始から28日後の肝臓および脾臓を回収し、
病理組織学的検査を実施(HE染色法)

群	未投与			0.3 mg/kg			1 mg/kg		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
脾臓									
随外造血巣の出現※ ¹	2	2	3	2	3	2	5	2	5
リンパ濾胞の萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	0
壊死巣	0	0	0	0	0	0	0	0	0
赤脾髄の出血巣	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肝臓									
び漫性の肝細胞内空隙形成※ ²	5	3	2	5	4	3	3	5	2
炎症性細胞集簇巣	1	0	1	0	0	1	0	0	0
肝細胞の有糸分裂の増加	0	0	0	0	0	0	0	0	0
壊死巣	0	0	0	0	0	0	0	0	0
線維化	0	0	0	0	0	0	0	0	0
出血巣	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0:異常なし, 1:ごく軽度の変化, 2:軽度の変化, 3:中等度の変化, 4:中高度の変化, 5:高度の変化

※¹げっ歯類では未処置でも認められる所見 ※²摂餌に伴うグリコーゲンの貯溜による所見

2-3 事業化に向けた大量製造における課題への対応

医薬品の製造をラボスケールから工業スケールにスケールアップするには、使用機器の制限やプロセスの変更が必要になることが常である。また安全性が担保された原料の調達やそれらのコストをも勘案する必要がある。現在のラボスケールのプロセスをそのまま直接スケールアップするのは難しいと考えており、プロセスの最適化が必要である。

①大量製造に向けた予備検討

上述の新開発機能性素子の合成には多段階の反応プロセスを要する。将来の事業展開に備え、受託製造会社を利用して合成のスケールアップ検討を実施した。その結果、合成・精製のプロセスを最適化することにより、核酸 1g を内包するに十分な 20g スケールでも、十分な品質のものが得られることを確認した。また、ポリマー原料の合成法についてもプロセスを確定させた。

ハイブリッドミセルは複雑な混合組成物であるため、実用化にあたっては再現性の確保が求められる。実際、図14に示すように、手作業で調製を試みた際、作業者によって性能 (*in vitro* 活性) のばらつきが見られることがあったが、特殊デバイス(非公表)の導入によりこの問題を解決した。加えて、精製条件も種々検討を実施し、最終的にコストを勘案したスケールアップの目途を立てることができた(詳細非開示)。

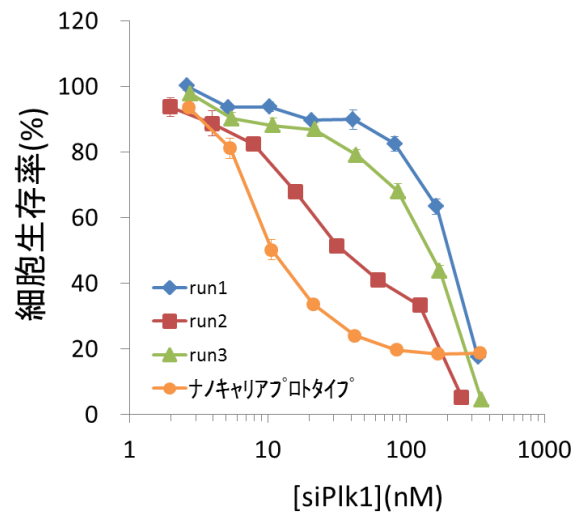


図 14. 改良前のハイブリッドミセル調製の性能バラつき

②研究用試薬販売に向けた製造検討

in vitro 実験の使用に耐える性能を有する仕様候補を見出した(詳細は非開示)。既述の通り、*in vivo* 実験用については、研究ベースで更なる性能向上が求められるため、最適化を実施中である。

第3章 全体総括

3-1 研究開発成果

事業期間中に機能性素子の性能が大幅に向上したことにより、*in vitro* でのハイブリッドミセルとしての性能も大幅に向上させることができた。さらに、特殊デバイスの導入により、ハイブリッドミセルの物性や核酸の保持能など、品質が非常に安定したことで実験精度も高まった。残念ながら事業期間中に *in vivo* 性能が当初目標にまで引き上げることができず、引き続き性能向上への取り組みが必要ではあるが、懸念材料であった機能性素子の安全性が担保され、スケールアップに対しても概ね対応準備は整いつつある。以降も、相互連携を図りながら、次世代の核酸医薬送達技術としてブラッシュアップを進めると共に、商業利用可能な技術として確立し、最終的に新規医薬品として世に送り出す事を目指す。

3-2 事業期間終了後の課題

事業期間終了時点において、ハイブリッドミセルには以下の3点について重点的に取り組む必要があると考えている。1) 血中滞留性、2) 腫瘍組織浸透性向上、3) 腫瘍細胞への取り込み量増大。機能性素子の性能は、世界トップレベルの水準にあり、その性能を最大限引き出すことで *in vivo* 性能の向上が十分可能と考えている。

3-3 事業化に向けた今後の展開

臨床治験を開始できるまでの、決定的な薬効を示す医薬候補品のレベルには現時点で到達できておらず、よりいっそうの研究開発の進展を必要としている。しかし、現在の技術や市場動向を踏まえ、現時点でプロジェクトの方向性に見直しはない。医薬品事業に関しては、臨床開発費に多額の費用が必要となるため、開発資金の潤沢な大手製薬企業との提携が必要になる。大手製薬企業へのライセンス付与が一つのゴールとなる。本書作成の時点において製薬会社等への情報開示は行っていないが、有力な交渉材料となり得る決定的な薬効を示すデータが得られ次第、積極的にアプローチしていく。また、試薬販売に向けても商業生産も見据えた技術開発を推進するとともに、試薬販売会社とのマッチングを開始する。