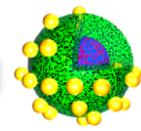




平成27年度革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業
「ナノテクノロジーを基盤とした革新的医薬品に関する評価方法」
研究の進捗状況および成果について



北海道大学

<ガイドライン等の策定に必要な試験・研究>

BCG成分搭載脂質ナノ粒子: 蛍光ラベル化ナノ粒子を用いることで尿中でのナノ粒子の凝集のみを検出することに成功し、尿中で凝集しないBCG成分搭載脂質ナノ粒子を構築した。またマウス膀胱がん同所移植モデルにおいて、BCG成分搭載脂質ナノ粒子を取り込ませたがん細胞を移植した群で有意な抗腫瘍活性が認められた。

リガンド搭載脂質ナノ粒子: 大量製造法の確立に向けて、水溶性タンパク質医薬品の封入率向上とスケールアップを両立可能なリポソーム調製法を確立した。また、内封タンパク質の封入率を測定する簡便な手法を確立した。

核酸搭載脂質ナノ粒子: 体内動態評価の際に留意すべき事項の導出を行った。ナノ粒子の相転移温度等を評価する方法論、酸性環境に応じた膜融合過程、ナノ粒子の安定性やそれに関連する物性に関する評価系を確立した。また、核酸/脂質比が粒子の性能に及ぼす影響を評価した。

DNAワクチン技術: ヒト樹状細胞を用いた遺伝子導入効率の評価を進め、マウス樹状細胞と同様に、KALA修飾粒子が高い遺伝子導入効率を示すことを明らかとした。

刊行物:

①本プロジェクトに関する成果を取り纏めた総説

秋田英万、佐藤悠介、中村孝司、原島秀吉. “多機能性エンベロープ型ナノ構造体(MEND)を基盤としたDDS” 細胞工学 vol. 34 p956-961 (2015)

②肝臓標的型脂質ナノ粒子製剤の薬効評価や物性に関する情報を含む論文

Yamamoto N, Sato Y, Munakata T, Kakuni M, Tateno C, Sanada T, Hirata Y, Murakami S, Tanaka Y, Chayama K, Hatakeyama H, Hyodo M, Harashima H, Kohara M. “Novel pH-sensitive multifunctional envelope-type nanodevice for siRNA-based treatments for chronic HBV infection.” *J Hepatol.* (2015) in press.

③能動的ターゲティングに基づく脂質ナノ粒子製剤の最新の研究成果を取り纏めた総説論文

Sakurai Y, Kajimoto K, Harashima H. “Anti-angiogenic nanotherapy via active targeting systems to tumors and adipose tissue vasculature” *Biomater Sci.* (2015) 3: 1253-1265.

④脂質ナノ粒子製剤のこれまでの開発動向を取り纏めた総説論文

Hayashi Y, Hatakeyama H, Kajimoto K, Hyodo M, Akita H, Harashima H. “Multifunctional Envelope-Type Nano Device: Evolution from Nonselective to Active Targeting System.” *Bioconjug Chem.* (2015) 26(7): 1266-1276.

⑤DNAワクチンに関する種々の物性評価や薬理作用に関する情報を含む原著論文

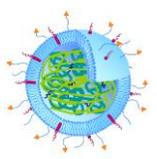
Miura N, Shaheen SM, Akita H, Nakamura T, Harashima H. “A KALA-modified lipid nanoparticle containing CpG-free plasmid DNA as a potential DNA vaccine carrier for antigen presentation and as an immune-stimulative adjuvant” *Nucleic Acids Res.* (2015) 43(3): 1317-1331

⑥脂質ナノ粒子のスケールアップ製造を可能とするマイクロ流路の設計に関する原著論文

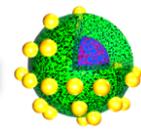
Maeki M, Saito T, Sato Y, Yasui T, Kaji N, Ishida A, Tani H, Baba Y, Harashima H, Tokeshi M. “A strategy for synthesis of lipid nanoparticles using microfluidic devices with a mixer structure.” *RCS Adv.* (2015) 5:46181-46185

⑦BCG菌体成分搭載ナノ粒子の薬効評価・メカニズム解析に関する研究を含む成果によって平成27年度日本薬学会北海道支部奨励賞を受賞

中村孝司 “がん免疫療法を促進するDrug Delivery Systemの開発”



「ナノテクノロジーを基盤とした革新的医薬品に関する評価方法」 研究の進捗状況および成果について



北海道大学

⑧蛍光分子を用いたナノ粒子物性の評価技術について、本事業からえられた成果を紹介した。

田中浩揮、秋田英万 細胞内環境応答性材料(ssPalm)が拓くマルチ創剤基盤: 遺伝子/核酸デリバリーを中心として (2016) 日本DDS学会誌「DDS」掲載決定済み

⑨能動的ターゲティングに基づく脂質ナノ粒子製剤の開発の経緯や薬効評価の成果について取りまとめた総説論文が日本認知症学会誌 Dementia Japan に掲載が決定した。

櫻井遊、梶本和昭、原島秀吉. “血管を標的とする薬物送達システムに基づいた新しい治療法” *Dementia Japan*. (2015) 掲載決定済み

<ガイドライン等の策定>

リポソームの文書化: 加藤くみ子 (NIHS・室長)らと連携し、作成した「リポソーム製剤のCMCに関して考慮すべき事項」の文書素案を厚生労働省のナノ医薬品に関する勉強会に提出した。また、その文書案を中間報告書としてPMDAにも提出し、Webサイトにて公開した。本事業の成果を踏まえて、厚生労働省のナノ医薬品に関する勉強会において議論がなされ、CMC・非臨床・初期臨床も含めたリポソーム製剤のガイドライン案が作成され、平成27年12月1日付でパブリックコメントの募集が終了した。

評価方法の文書化: 本事業で作成したリポソーム製剤のCMCについて考慮すべき事項の素案を踏まえ、ナノ医薬品の評価法の参考となる論文の作成を行う予定である。

情報発信: 本事業の成果を広く情報発信するため、日本薬物動態学会第30年会シンポジウム8「大学発ナノ医薬品の早期実用化を目指して」(オーガナイザー: 原島秀吉教授(北大薬))においてナノ医薬品の評価法に関する講演を行った。

秋田英万. “細胞内動態解析情報に基づくナノDDS基盤の開発.” *日本薬物動態学会第30年会*, 2015年11月12日(東京)

東京大学

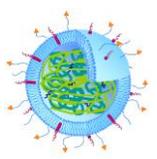
<ガイドライン等の策定に必要な試験・研究>

高分子ミセル医薬品: 規格化に向けて、重要品質特性、体内動態、及びそれらの評価法について、最新の国内外の動向調査結果を踏まえた研究を実施している。

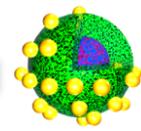
抗がん剤内包ミセル: がん幹細胞表面に高発現する分子に対するリガンドを導入したミセルを開発したところ、がん幹細胞を多く含む腫瘍モデルに対して高い抗腫瘍活性を示した。環状RGD (cRGD)リガンドを導入したミセルは、血液脳腫瘍関門を突破することに成功した。さらに、粒径を30 nmと小さく制御することでミセルのリンパ節への移行性が向上、cRGDリガンドを搭載することで、腫瘍細胞の遊走能を低下させ、リンパ節転移を抑制した。

siRNA内包ミセル: ブロック共重合体のカチオン部分の鎖長を制御することで、1分子のsiRNAからなる粒径15 nmのユニットpolyion complex (PIC)型キャリアの構築に成功し、優れた血中滞留性を示した。マウスの血流中を循環するsiRNAをリアルタイムで観察し、ユニットPIC型キャリアはsiRNAの分解を顕著に抑制することを見いだした。更に、既存のsiRNAキャリアより粒径が小さく、腫瘍内組織深部まで浸透することができ、優れた制がん活性が得られた。

安全性: 様々な血液中マーカーの解析を行ったが、ユニットPIC投与後の有意な変動は見られなかった。



平成27年度革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業
「ナノテクノロジーを基盤とした革新的医薬品に関する評価方法」
研究の進捗状況および成果について



東京大学

刊行物:

- ①MRI造影剤によるがんイメージングと中性子捕捉療法によるがん治療を一体化させたシステムの開発とその機能評価に関する原著論文
P. Mi, N. Dewi, H. Yanagie, D. Kokuryo, M. Suzuki, Y. Sakurai, Y. Li, I. Aoki, K. Ono, H. Takahashi, H. Cabral, N. Nishiyama, K. Kataoka. "Hybrid calcium phosphate-polymeric micelles incorporating gadolinium chelates for imaging-guided gadolinium neutron capture tumor therapy." *ACS Nano* (2015) 9(6): 5913-5921
- ②がんリンパ節転移巣への高分子ミセルの集積性に対する粒径の影響を詳細に評価し、粒径50 nm以下のミセルがリンパ節転移に対して高い治療効果を持つことを示した原著論文
H. Cabral, J. Makino, Y. Matsumoto, P. Mi, H. Wu, T. Nomoto, K. Toh, N. Yamada, Y. Higuchi, S. Konishi, M. R. Kano, H. Nishihara, Y. Miura, N. Nishiyama, K. Kataoka. "Systemic targeting of lymph node metastasis through the blood vascular system by using size-controlled nanocarriers." *ACS Nano* (2015) 9(5):4957-4967
- ③環状RGDリガンド搭載ミセルのがんリンパ節転移への治療効果について評価した原著論文
J. Makino, H. Cabral, Y. Miura, Y. Matsumoto, M. Wang, H. Kinoh, Y. Mochida, N. Nishiyama, K. Kataoka, "cRGD-installed polymeric micelles loading platinum anticancer drugs enable cooperative treatment against lymph node metastasis." *J. Control. Release* (2015) 220 PartB: 783-791

<ガイドライン等の策定>

核酸(siRNA)搭載ナノ製剤の文書化: 加藤くみ子(NIHS・室長)らと連携し、厚生労働省、ナノ医薬品に関する勉強会において核酸(siRNA)搭載ナノ製剤に関するリフレクションペーパーの素案を作成した。

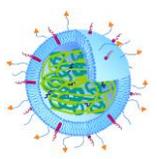
がんセンター

<ガイドライン等の策定に必要な試験・研究>

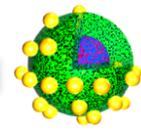
抗TF抗体ミセル: GMP製剤作製めざして、ベストの抗体クローンを選択した。平成28年度にはマスターセルバンクが樹立される見込みである。ミセルへ付加する抗体のクローン、数、サイズの最適化、コンパニオン診断用の抗体PETプローブの開発を開始した。

刊行物:

- ①抗がん剤内包抗体付加ミセルの薬効評価に関する原著論文
Yamamoto Y, Hyodo I, Koga Y, Tsumura R, Sato R, Obonai T, Fuchigami H, Furuya F, Yasunaga M, Harada M, Kato Y, Ohtsu A, Matsumura Y. "Enhanced antitumor effect of anti-tissue factor (TF) antibody-conjugated epirubicin-incorporating micelles in xenograft models." *Cancer Sci* (2015) 106 627-634
- ②抗TF抗体の機能評価に関する原著論文
Koga Y, Manabe S, Aihara Y, Sato R, Tsumura R, Iwafuji H, Furuya F, Fuchigami H, Fujiwara Y, Hisada Y, Yamamoto Y, Yasunaga M, Matsumura Y. "Antitumor effect of antitissue factor antibody-MMAE conjugate in human pancreatic tumor xenografts." *Int J Cancer* (2015) 137 1457-1466



平成27年度革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業
「ナノテクノロジーを基盤とした革新的医薬品に関する評価方法」
研究の進捗状況および成果について



がんセンター

<ガイドライン等の策定>

ナノ医薬品の文書化: ミセル製剤のリフレクションペーパーの後に続き、リポソーム製剤、核酸デリバリーに関する勉強会に非臨床・臨床的立場で参加した。

NIHS

<ガイドライン等の策定に必要な試験・研究>

安全性評価: ナノ医薬品投与による安全性に関わる生体反応の可能性を予測するためのin vitro試験法として、ヒト細胞を用いた自然免疫活性化に関わる評価手法の構築を進めた。

刊行物:

①高分子ミセル製剤の特性とその評価について取りまとめた総説論文

Sakai-Kato, K. Nishiyama, N., Kozaki, M., Nakanishi, T., Matsuda, Y., Hirano, M., Hanada, H., Hisada, S., Onodera, H., Harashima, H., Matsumura, Y., Kataoka, K., Goda, Y., Okuda, H., and Kawanishi T. "General considerations regarding the in vitro and in vivo properties of block copolymer micelle products and their evaluation" *J. Control. Release*, 210: 76-83 (2015)

<ガイドライン等の策定>

リポソーム製剤の文書化: 本研究事業の研究成果も踏まえ、厚生労働省ナノ医薬品に関する勉強会にてリポソーム製剤のガイドライン案を作成・取りまとめ、厚生労働省に提出した。

核酸(siRNA)搭載ナノ製剤の文書化: 本研究事業の研究成果も踏まえ、厚生労働省ナノ医薬品に関する勉強会にて核酸(siRNA)搭載ナノ製剤に関するリフレクションペーパー案を作成・取りまとめ、厚生労働省に提出した。

情報発信: 本事業の成果を広く情報発信するため、日本薬物動態学会第30年会シンポジウム8「大学発ナノ医薬品の早期実用化を目指して」(オーガナイザー: 原島秀吉教授(北大薬))においてナノ医薬品のガイドライン案に関する講演を行った。

加藤くみ子. "ナノ医薬品のガイドライン案等の策定へ." *日本薬物動態学会第30年会*, 2015年11月12日(東京)