

# リガンド結合型ペプチドによる 革新的siRNA-DDS技術

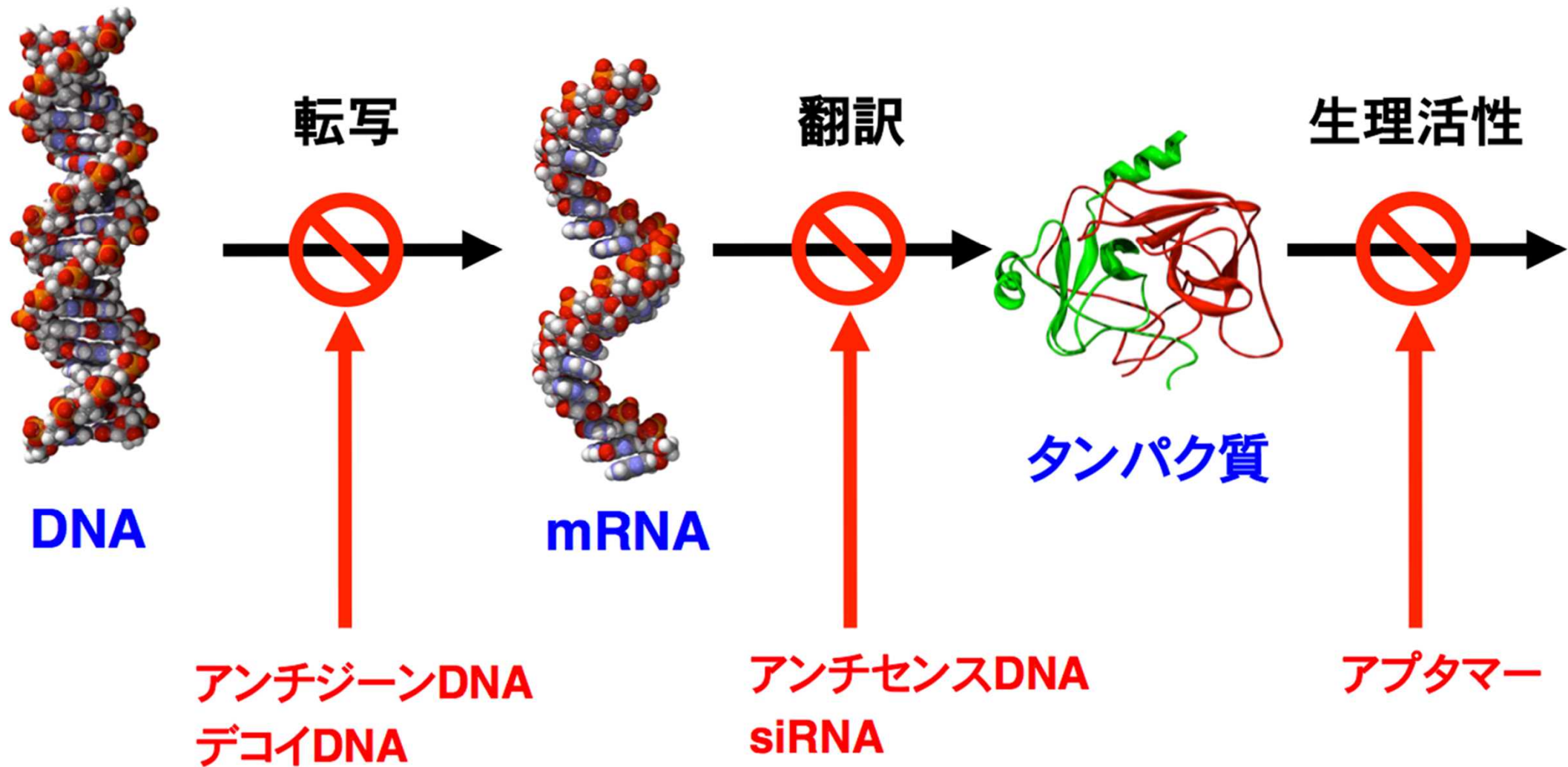
東京理科大学 薬学部 生命創薬科学科  
教授 和田猛

2021年10月7日

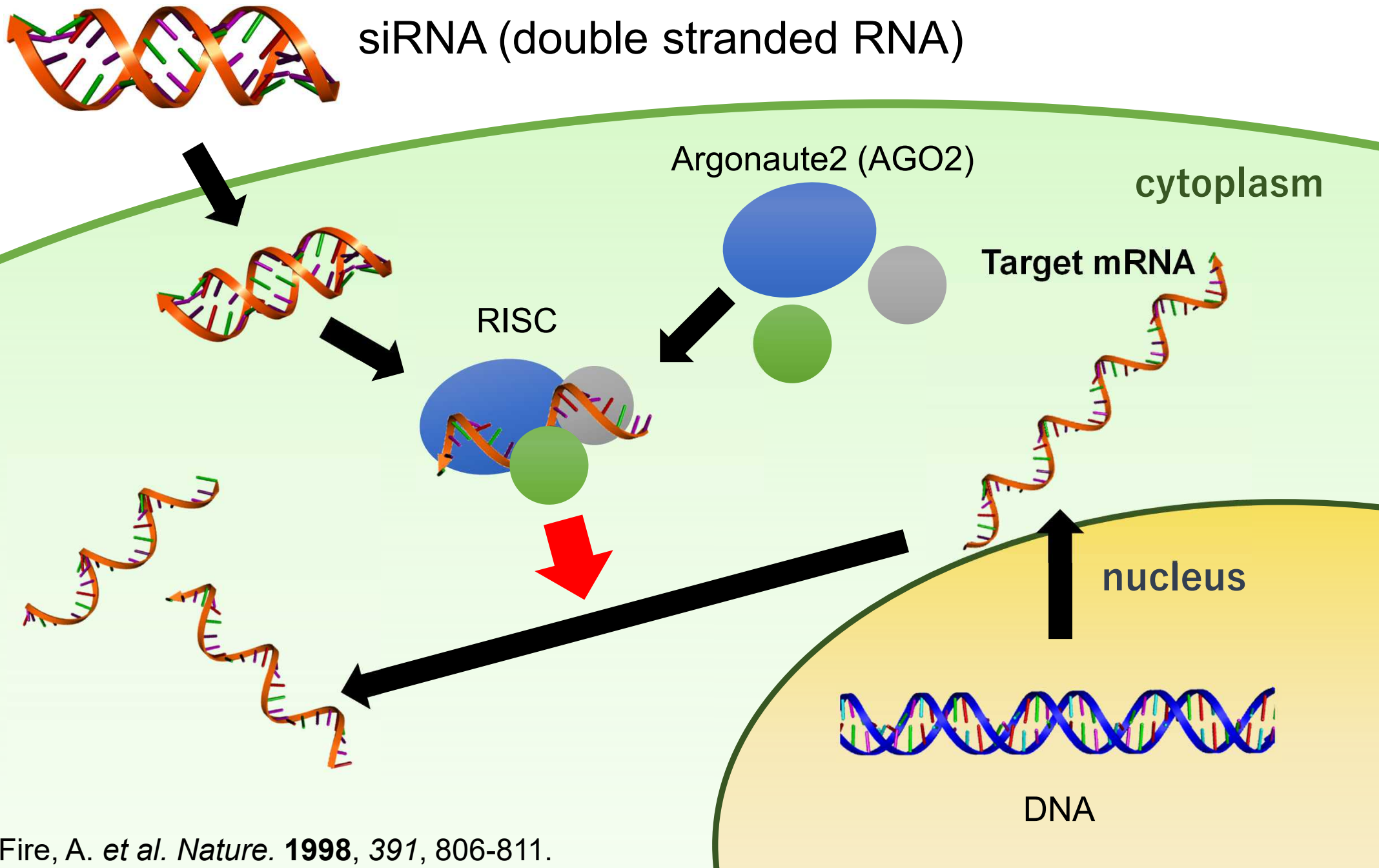
# 従来技術とその問題点

核酸医薬は低分子医薬、抗体医薬に次ぐ次世代の医薬品として期待されているが、細胞膜透過性に乏しく、さらに肝臓、腎臓以外の臓器へのデリバリーが困難であるという課題がある。

# 遺伝情報の流れと核酸医薬



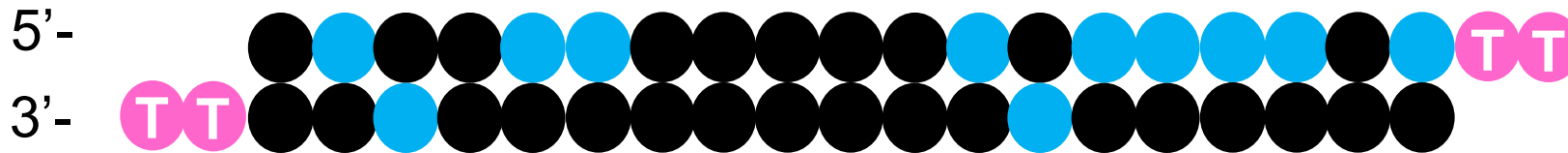
# siRNAによるRNAiのメカニズム



# 承認されたRNAi医薬

## (1) Patisiran: 家族性アミロイドポリニューロパチー治療薬

siRNAの構造:

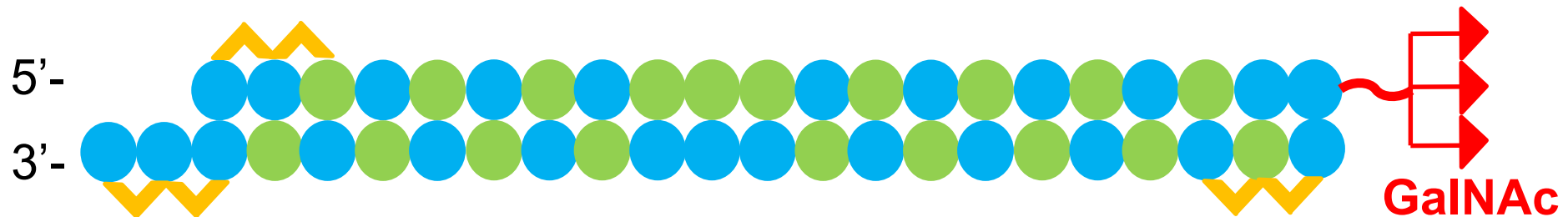


Formulation: 脂質ナノ粒子

Adams, D. et al. *New E. J. Med.* 2018, 379, 11–21.

## (2) Givosiran: 急性肝性ポルフィリン症治療薬

siRNAの構造:



● : 2'-OMe修飾

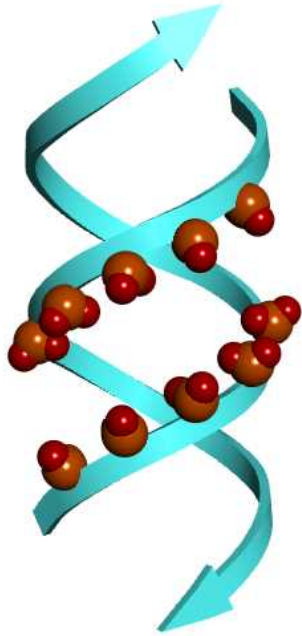
● (T) : チミン

● : 2'-F修飾

∨ : ホスホロチオエート修飾

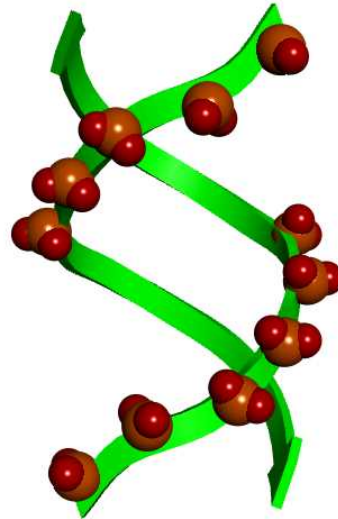
Shen, X.; Corey, D. *Nucleic Acids Res.* 2018, 46, 1584–1600.

# 二本鎖核酸の構造



PDB ID: 2KYD

RNA-RNA  
A-type duplex



PDB ID 171D

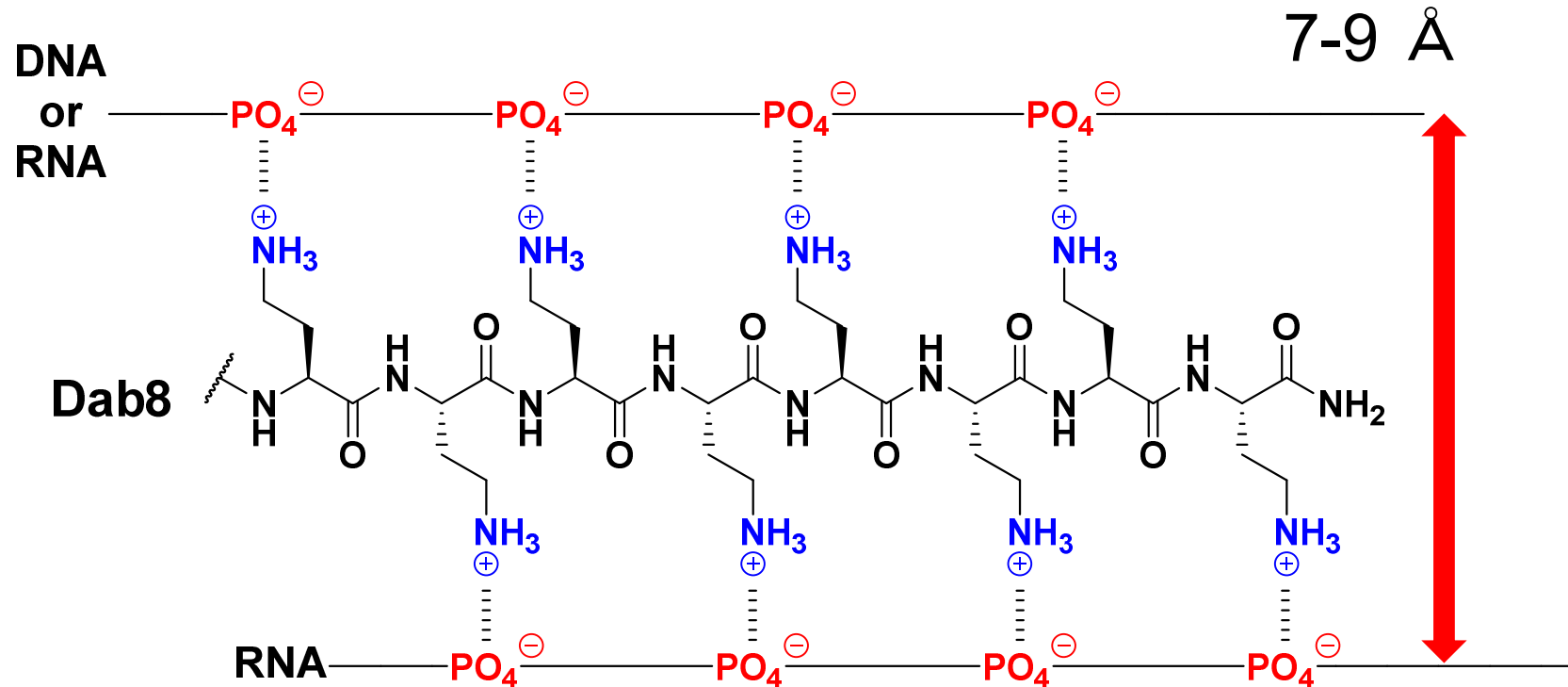
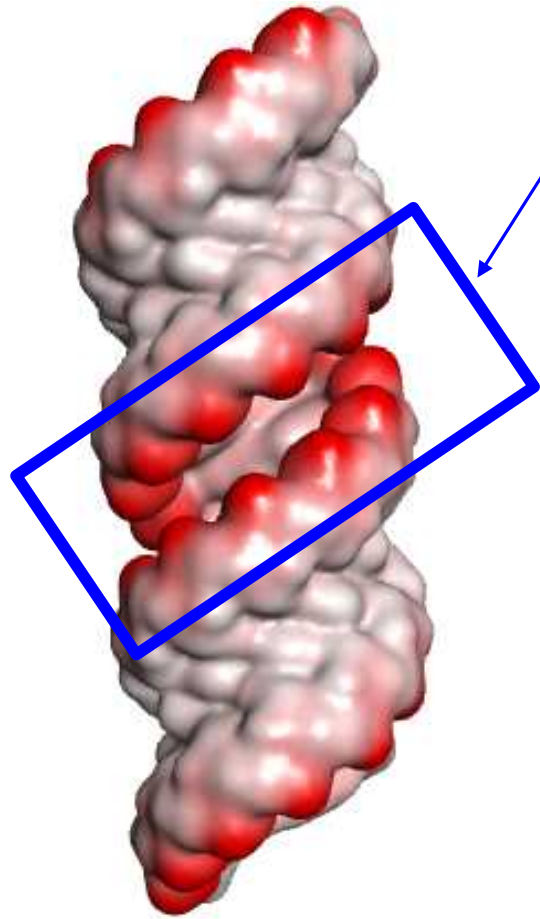
DNA-DNA  
B-type duplex

Duplex	Type	Major groove width (Å)
RNA/RNA	A	7–14
DNA/RNA	A	8–15
DNA/DNA	B	13–18

**RNA/RNA、DNA/RNA2本鎖は幅の広いメジャーグルーブを有する**

# カチオン性ペプチド(Dab 8)

負電荷を有する「メジャーグループ」



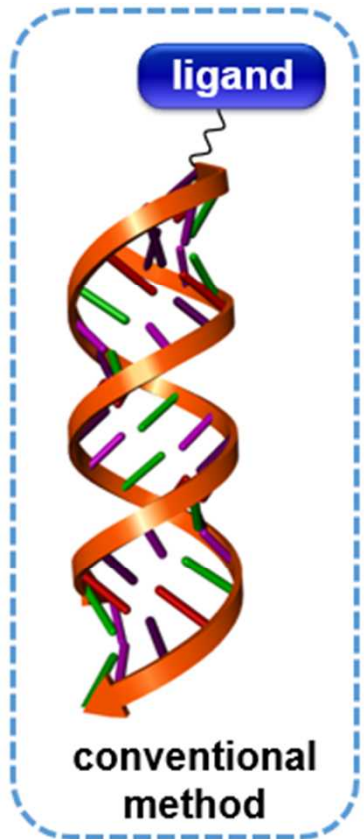
A型2本鎖核酸

Maeda, Y. et al. *Bioorg. Med. Chem.* 2013, 21, 1717-1723.

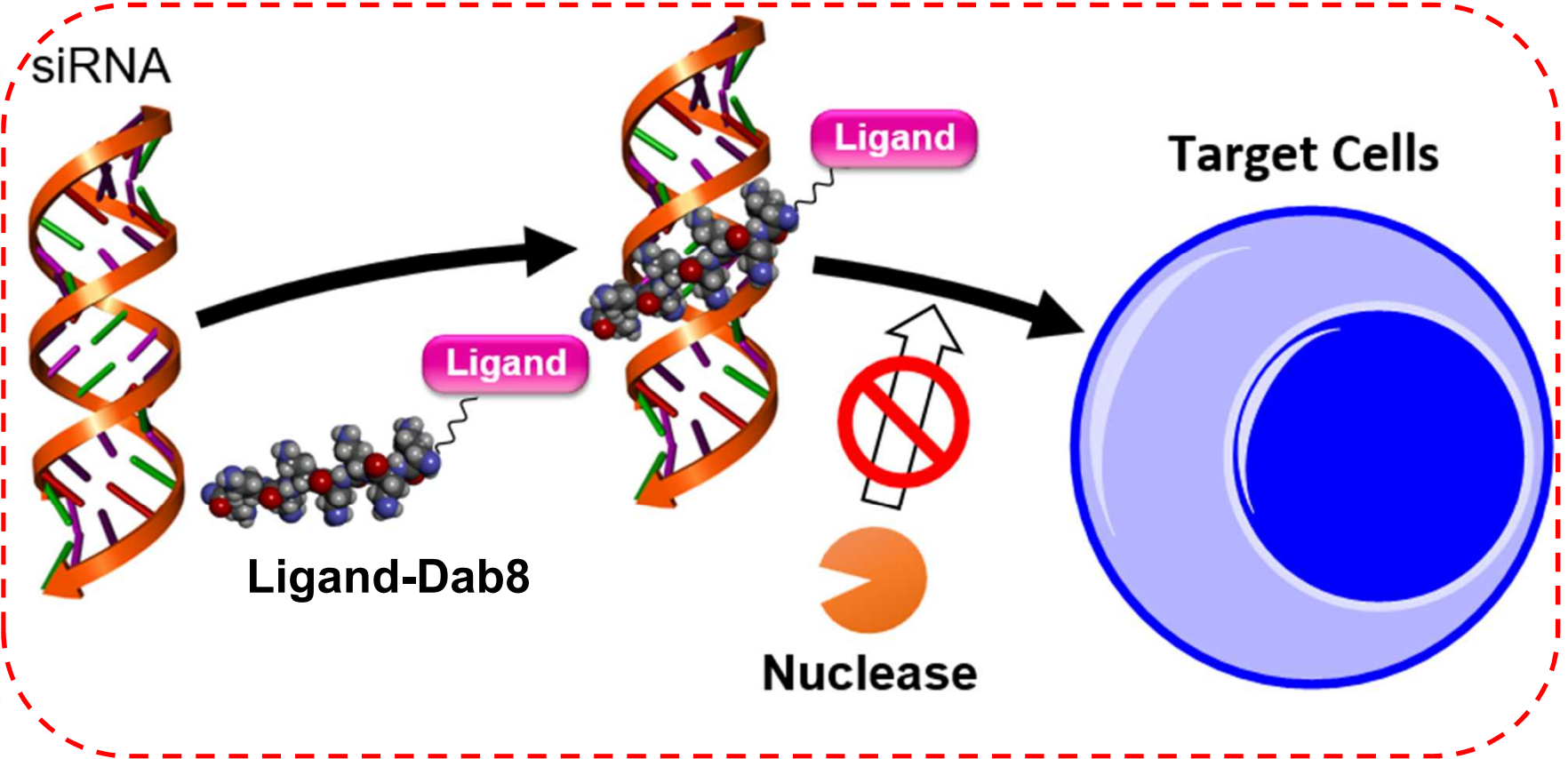
Dab8はA型2本鎖核酸に選択的に結合する

# 本技術の概要

従来技術



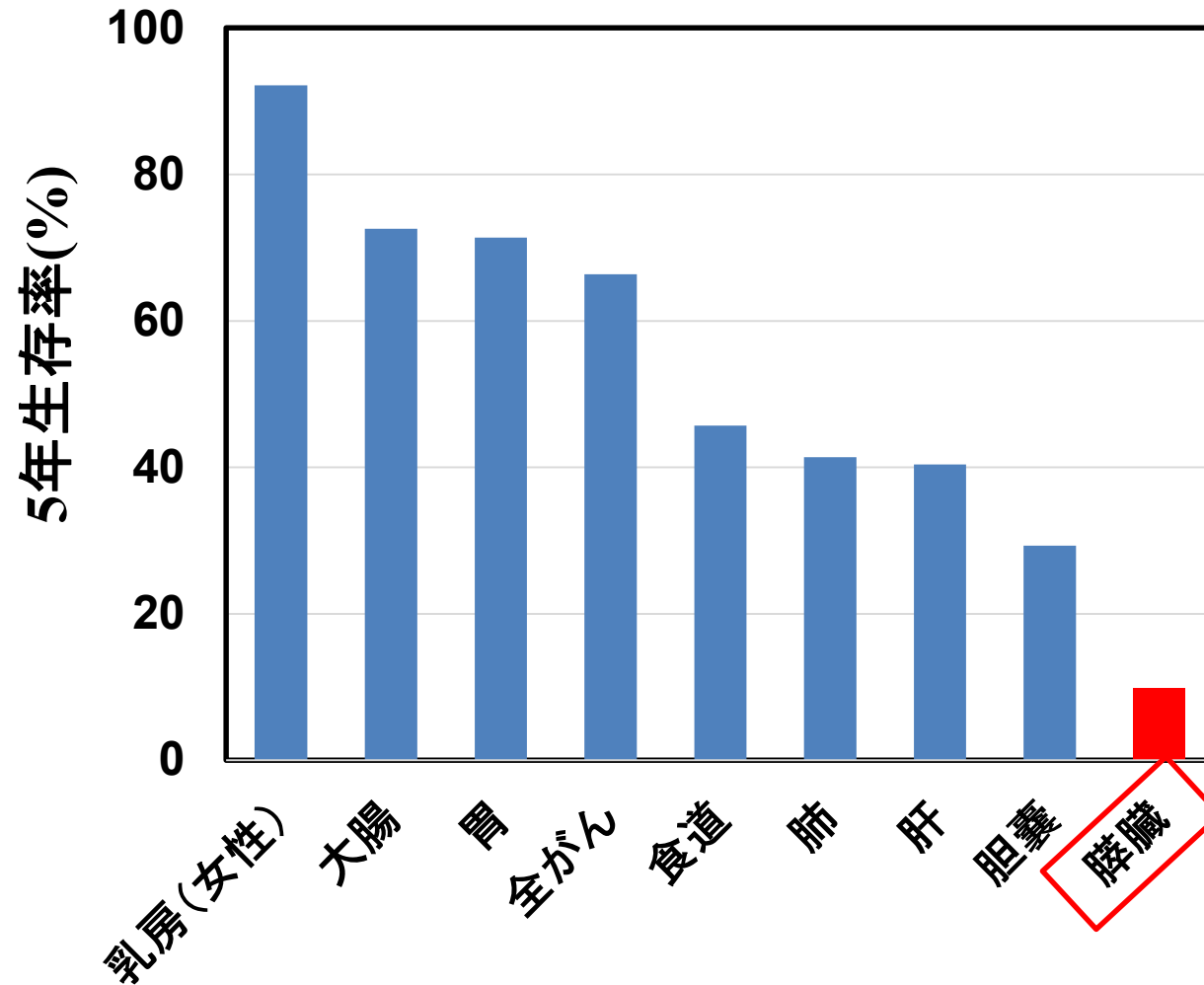
本技術





# 標的疾患の選定

## 癌患者の5年生存率(2011-2012)



### 膵癌の特徴

- (1) 予後が悪い
- (2) 早期診断が困難
- (3) 高い転移性と浸潤性

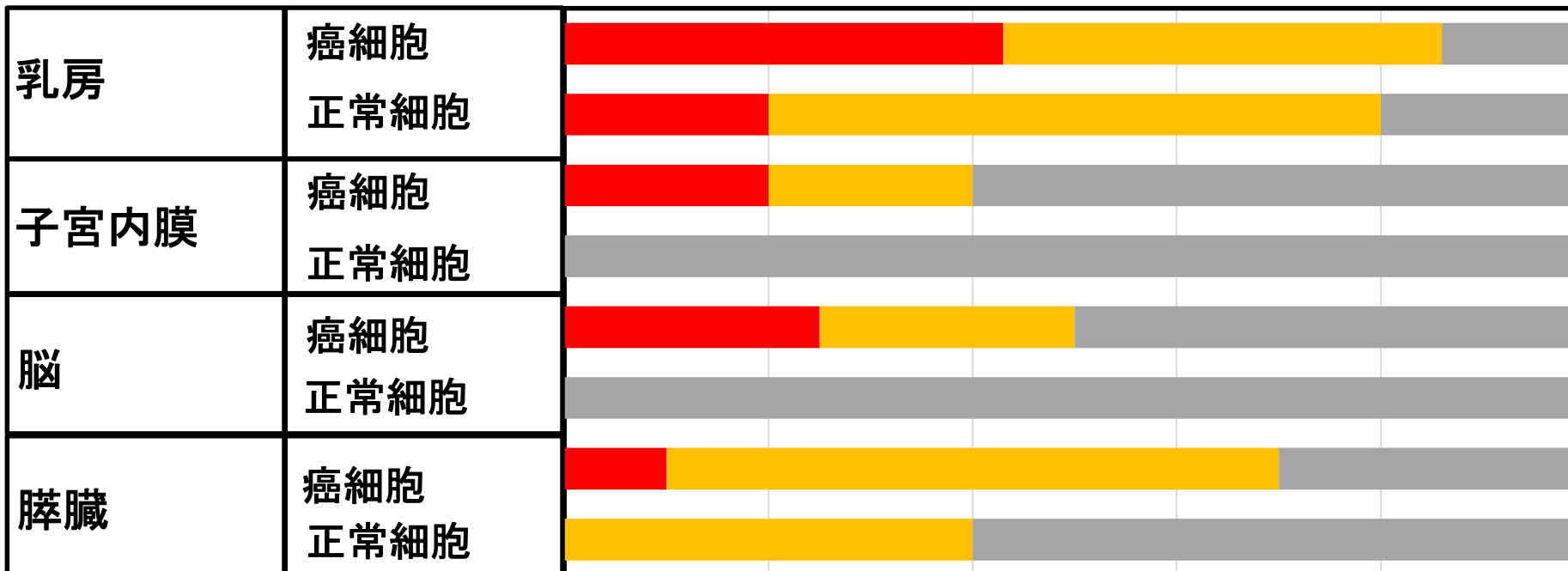
[https://ganjoho.jp/reg\\_stat/statistics/brochure/hosp\\_c\\_reg\\_surv.html](https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/brochure/hosp_c_reg_surv.html)

国立がん研究センター資料より引用

# 葉酸受容体(FR)の発現量

比率 (%)

0 20 40 60 80 100



: FR  $\geq$  6.0 pmol/mg タンパク質

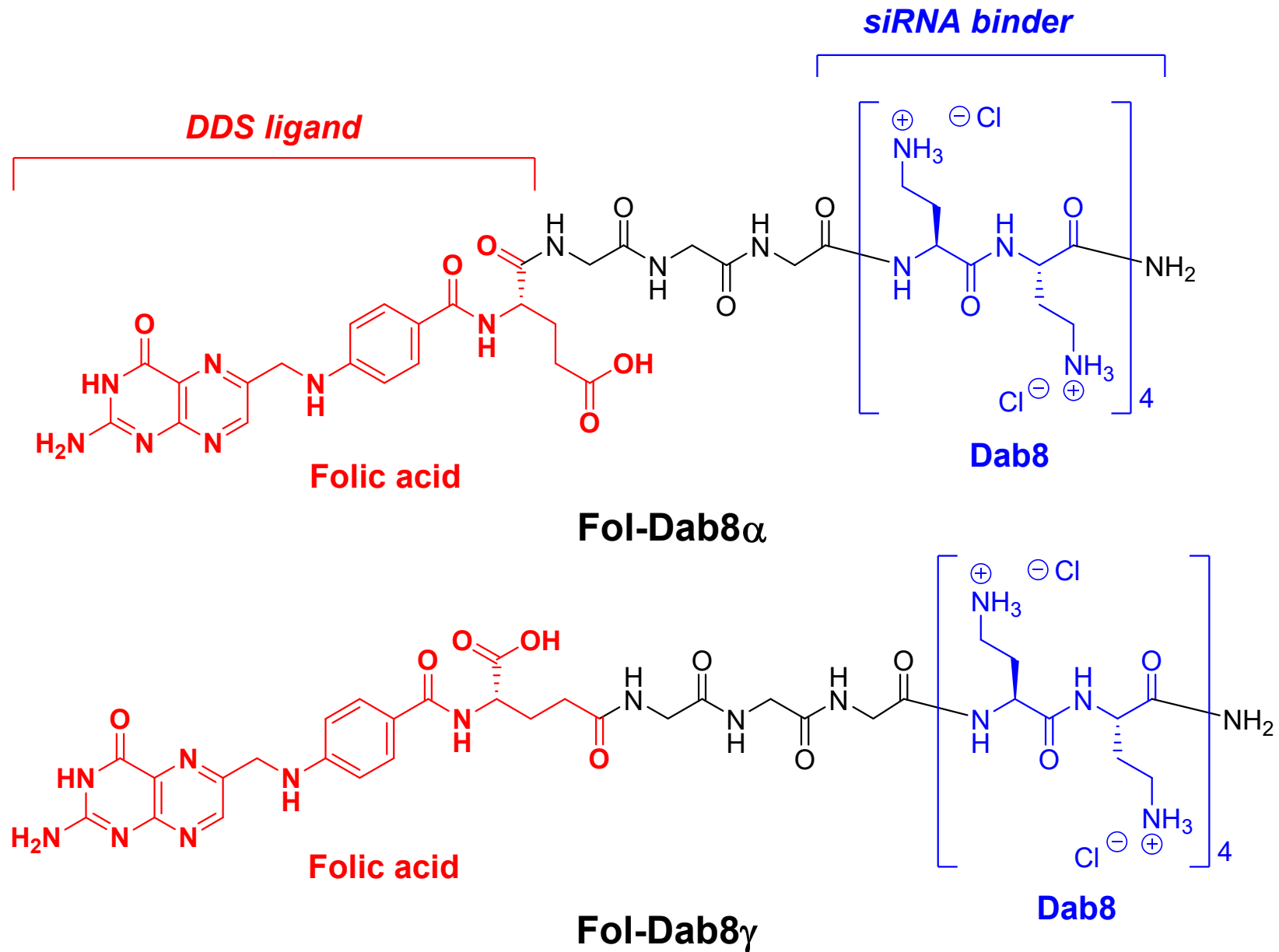
:  $6.0 >$  FR  $\geq$  2.5 pmol/mg タンパク質

: FR  $\leq$  2.5 pmol/mg タンパク質

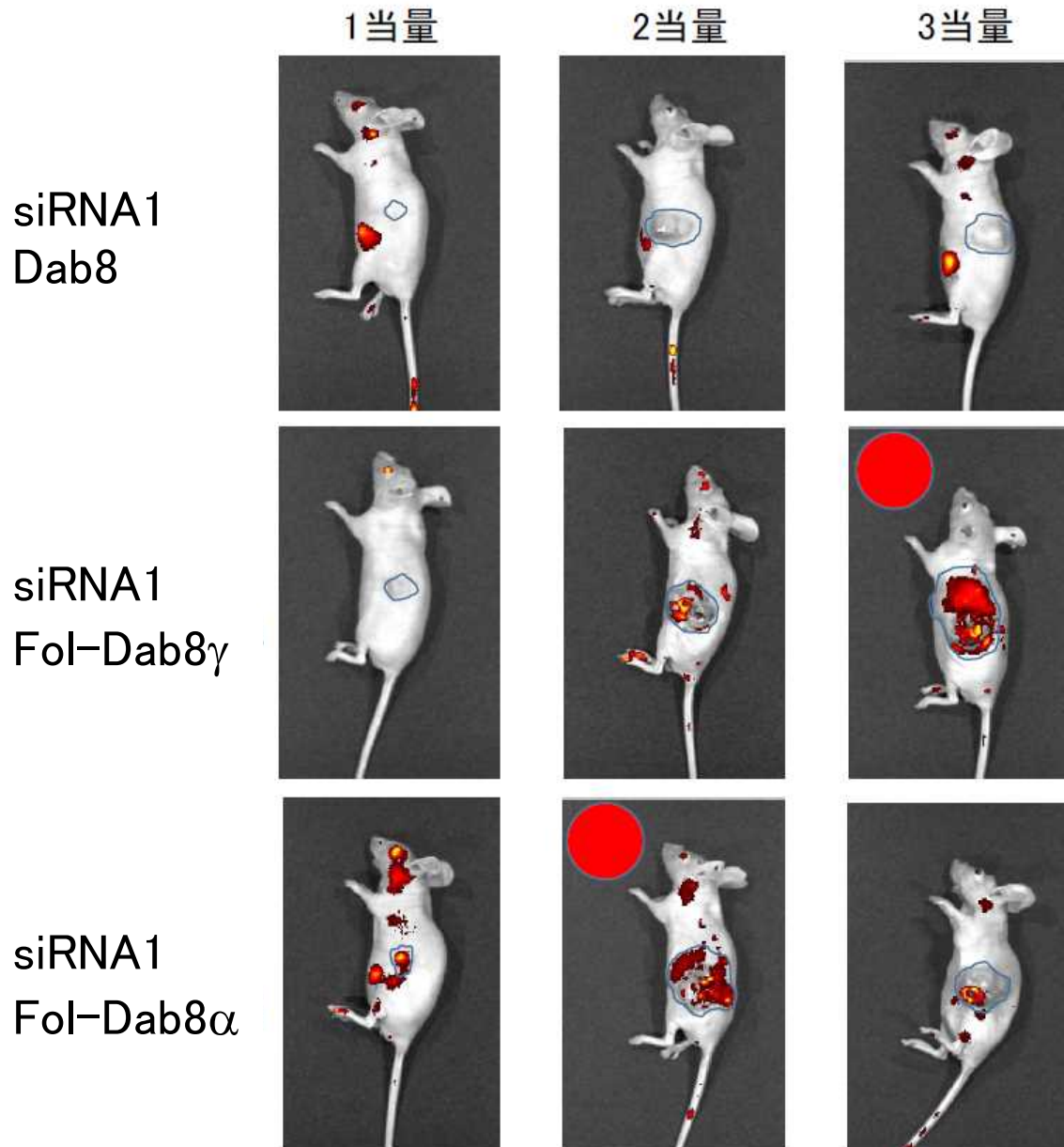
Parker, N. et al. *Anal. Biochem.* 2005, 338, 284–293.

膵癌を含めた一部の癌細胞では、葉酸受容体が過剰発現している

# 分子デザイン



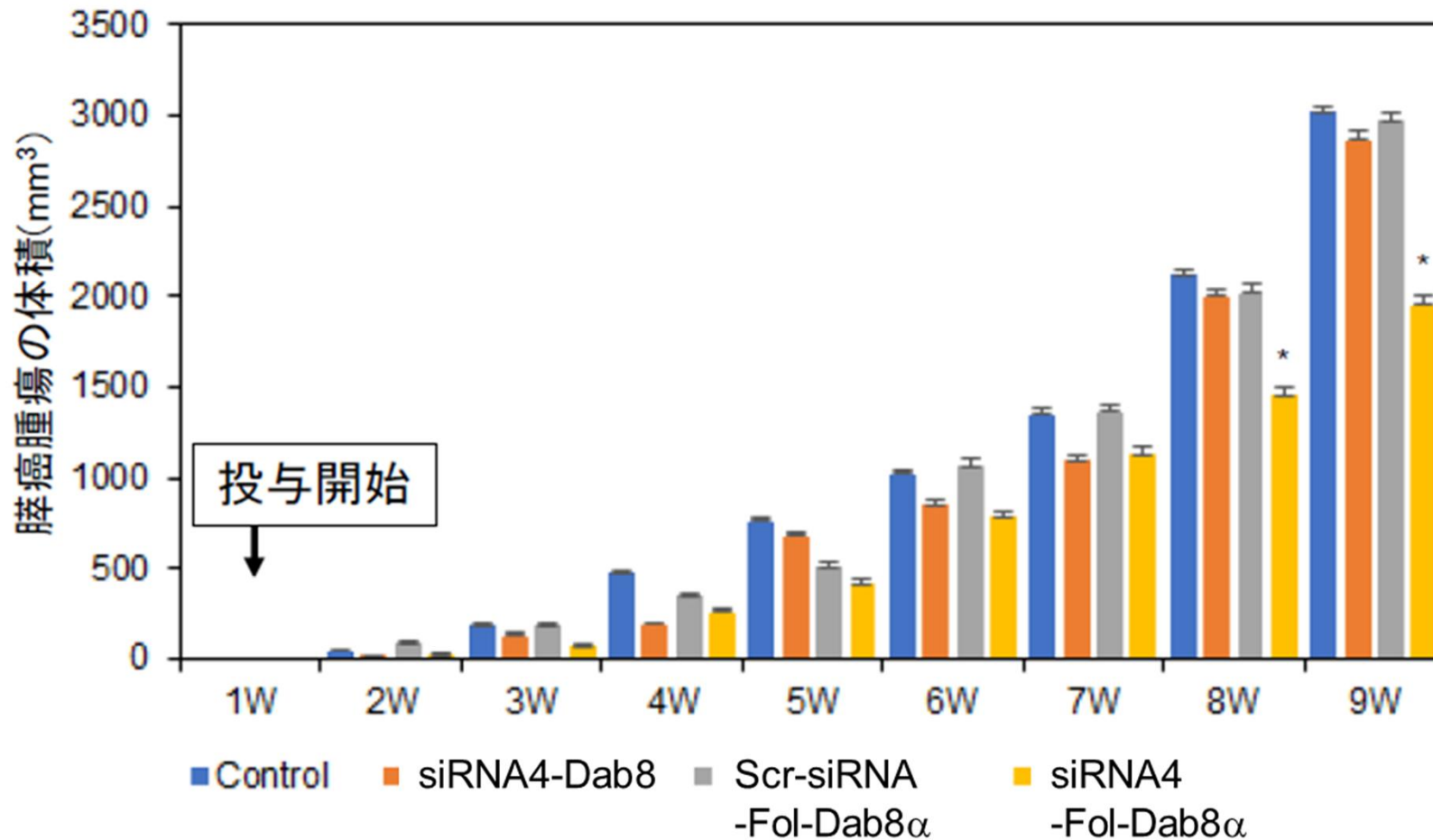
# In vivoでの膵癌へのデリバリー効率



ヒト膵癌オルガノイドをヌードマウス皮下に移植後6週目にAlexa-594で標識したsiRNA1にDab8、Fol-Dab8 $\gamma$ 、またはFol-Dab8 $\alpha$ を付加した核酸化合物を尾静脈注射にて投与した。24時間後、invivoimagerにて撮影した。

当量依存性に差はあるものの、Fol-Dab8 $\alpha$ ,  $\gamma$ いずれも膵癌へのデリバリー促進効果があった

# In vivoでの抗腫瘍効果



ヒト膵癌オルガノイドをマウス皮下に移植してから1週後から1/週の頻度で

①コントロール(投薬なし)、

②siRNA4-Dab8、

③scramble-control-siRNA(Scr)-Fol-Dab8 $\alpha$

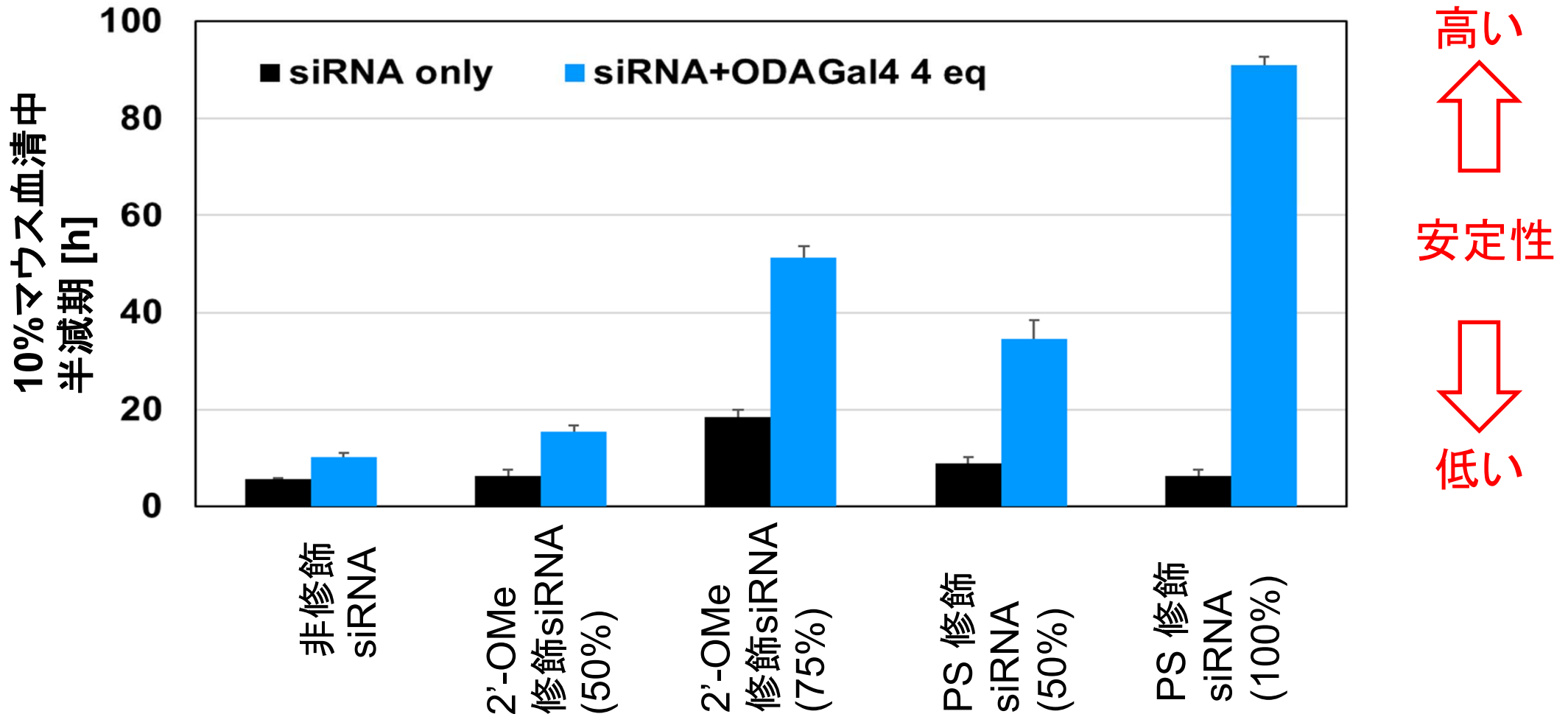
④siRNA4-Fol-DAB8 $\alpha$ を尾静脈注射にて投与した。2当量、各群n=8にて実施。

siRNAとFol-Dab $\alpha$ を組み合わせた水準のみ、  
有意な抗腫瘍効果が見られた



# ODAGaI4によるsiRNAの安定化効果

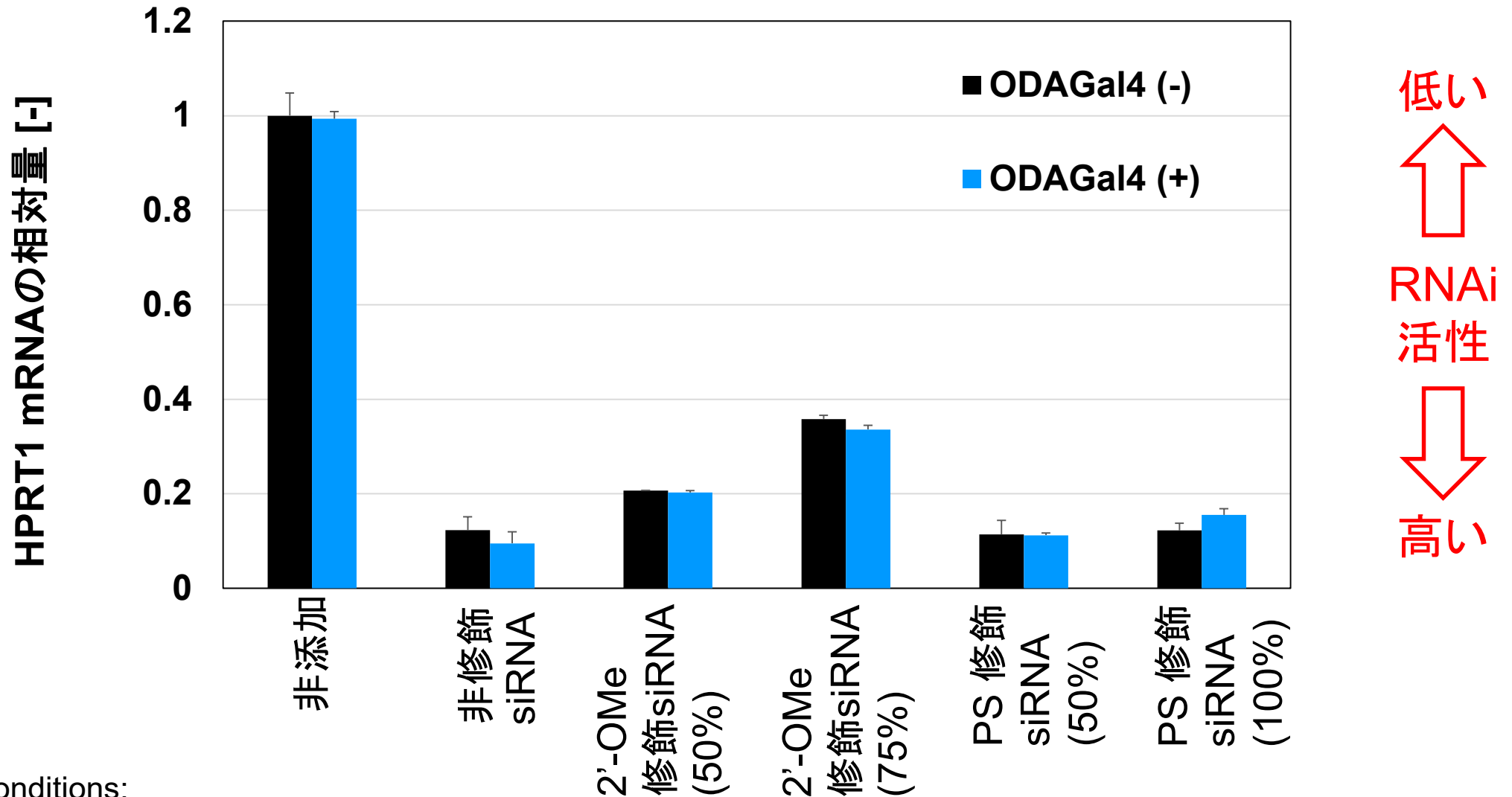
非修飾、及び化学修飾siRNAの血清中での半減期  
(target: Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase1 HPRT1)



Conditions:

siRNAs were treated in 10% mouse serum in the absence or presence of ODAGaI4 (4 equiv)

# ODAGal4存在下でのRNAi活性



低い  
↑  
RNAi 活性  
↓  
高い

Conditions:

siRNA was transfected with RNAi max to Hep3B cell for 4 h and incubated for 2 days at 37 °C in the absence or presence of ODAGal4 (4 equiv to siRNA)

東京都医学総合研究所との共同研究

国際出願済み : PCT/JP2019/034105

Irie, A.; Sato, K.; Hara, R. I.; Wada, T.; Shibasaki, F. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 14845.



# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 標的への選択的なデリバリーが可能となった。
- 癌の中でも特異的なデリバリーが特に困難な膵癌がターゲットとなり得たことから、他の癌への応用が期待される。
- ペプチドに異なるリガンドを付与することで他のターゲット疾患、臓器への展開が可能である。

# 想定される用途

- 葉酸をリガンドした、膵癌に限らない癌細胞選択的な核酸医薬の送達
- 各種リガンドを用いた様々な標的細胞へのDDS技術の応用
- 膵癌に限らない癌細胞選択的な核酸医薬の送達

# 実用化に向けた課題

- 現在、モデルマウスを用いた有効性検証まで実施済み
- 課題は以下の2点である。
  - (1)安全性、毒性試験を含めた前臨床試験の実施
  - (2)GMP準拠の医薬品原薬の製造

# 企業への期待

- 膵癌治療薬の前臨床試験実施
- 膵癌に限定されない、多様な標的に対しての  
フィージビリティースタディーの実施

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 核酸送達促進剤
- 出願番号 : PCT/JP2020/040071
- 出願人 : 東京理科大学、高知大学
- 発明者 : 和田猛、原倫太郎、佐藤一樹、高木一憲、谷内恵介

## 産学連携の経歴

- 2008年 キラルジェン社設立
- 2012年 Wave Life Sciences社設立
- 2013年～ Wave Life Science社取締役着任  
各企業との共同研究開始
- 2017年～ Wave Life Science社科学顧問

# お問い合わせ先

**東京理科大学**

**研究戦略・産学連携センター**

**U R A 石川啓介**

**TEL 03-5228-7431**

**FAX 03-5228-7441**

**e-mail [ishikawa\\_keisuke@admin.tus.ac.jp](mailto:ishikawa_keisuke@admin.tus.ac.jp)**