

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06811

研究課題名(和文)核酸医薬品の細胞内取り込み/細胞内動態に関する分子基盤の解明

研究課題名(英文) A genome-wide RNAi screen to identify genes involved in the incorporation of antisense oligonucleotides into the cells

研究代表者

井上 貴雄 (Inoue, Takao)

国立医薬品食品衛生研究所・遺伝子医薬部・部長

研究者番号：50361605

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：近年、アンチセンスやsiRNAに代表される核酸医薬品の開発が進展しており、治療法のない遺伝性疾患や難治性疾患に対する次世代医薬品として注目を集めている。しかし、核酸医薬品が細胞外から取り込まれ、細胞内の作用部位に到達する経路/分子機構については明らかになっていない。本研究では、RNA分解型アンチセンス及びスプライシング制御型アンチセンスを用いた、これらの経路に關与する候補分子を網羅的に探索するスクリーニング系を構築し、候補遺伝子群の特定に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アンチセンスの細胞内取り込みに關与する分子群の特定は、アンチセンスの細胞内送達を向上される技術の抄出に繋がるもので、医療分野の進展に資するものである。また、原料供給・製造/分析・品質担保に關する課題解決案の提示についても、対応するプロジェクト等が発動すれば、核酸医薬開発を進展に大きく寄与する。核酸医薬品はアンメットメディカルニーズに対応する新規モダリティとして期待が高まっていることから、本研究で得られた成果は社会的ニーズに直結すると判断される。

研究成果の概要(英文)：In recent years, development of nucleic acid drugs such as antisense and siRNA has been progressing, attracting attention as next-generation drugs for hereditary and intractable diseases for which there is no cure. However, the pathways and molecular mechanisms by which nucleic acid drugs are taken up from outside the cell and reach their sites of action inside the cell have not been clarified. In this study, we constructed a screening system to comprehensively search for candidate molecules involved in these pathways using Gapmer-type antisense and splice-switching oligonucleotides, and succeeded in identifying a group of candidate genes.

研究分野：核酸・遺伝子医薬

キーワード：核酸医薬品

### 1. 研究開始当初の背景

現在、製薬業界では創薬標的の枯渇が問題となっているが、核酸医薬品は新たな標的分子である「RNA」に作用できる点が大きな特色である。従来の医薬品では困難であった標的分子を減少あるいは増加させるアプローチが可能であることから、アンメットメディカルニーズに対する治療薬開発が可能である。以上のような優位性に加えて、修飾核酸技術や DDS 技術の進展により、実際に有効性の高い核酸医薬品を創出することが可能になったことから、核酸医薬品の開発が国内外で活発化している。核酸医薬品の中で最も開発が進んでいるものの1つとして、mRNA を分解する RNA 分解型アンチセンスが知られている。研究開発開始時、RNA 分解型アンチセンスは既に1品目が上市されており、臨床試験段階にある有望な候補品が多く存在することから、今後、広く普及する核酸医薬品になると考えられている。RNA 分解型アンチセンスは修飾型核酸で構成されているため生体内で安定であり、また、リポソーム等のキャリアなしで皮下注、静注等の全身投与が可能である。投与された RNA 分解型アンチセンスは細胞内に取り込まれた後、核内に到達し、核内に存在するエンドヌクレアーゼ (RNaseH) をリクルートして、標的 mRNA を切断する。以上のように、RNA 分解型アンチセンスの作用部位および作用機序は明らかになっているが、RNA 分解型アンチセンスがどのような機構で細胞内に取り込まれ、作用点に到達するかは不明である。

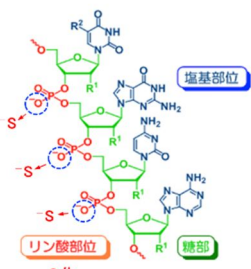
### 2. 研究の目的

近年、アンチセンスや siRNA に代表される核酸医薬品の開発が著しく進展しており、難治性疾患や遺伝性疾患に対する次世代医薬品として注目を集めている。核酸医薬品開発の潜在的な課題として、細胞内への導入効率が低い点が挙げられる。すなわち、RNA を標的とするため細胞内に到達する必要がある一方で、分子量の大きいポリアニオンという構造的な特性から膜との親和性が低く、細胞内への移行が限定的であるという問題がある (図表1)。この点を解決する糸口として、核酸医薬品 (オリゴ核酸) の細胞内取り込みの分子機構を理解することが有用と考えられるが、オリゴ核酸がどのような分子機構で細胞膜を透過し、作用部位に到達するかはこれまで明らかになっていない (図表2)。

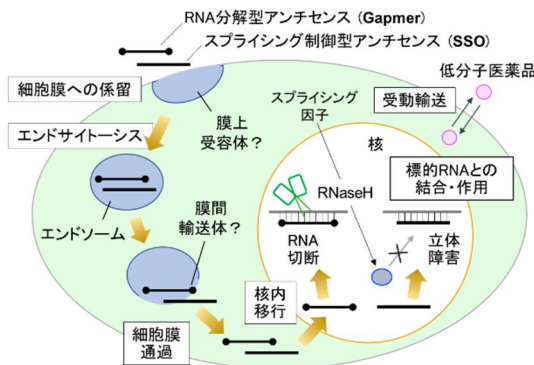
本研究では、この問題を解決するため、核酸医薬品の細胞内取り込み/細胞内動態に関する候補分子を網羅的に探索し、当該候補分子の遺伝子破壊株を作製、解析することにより、上記の過程に必要な分子基盤を明らかにする。これにより、核酸医薬品の作用部位への送達を促進する Key molecule を特定することができ、分子機構に基づく低用量化の新たな戦略が設定可能となる。

【図表1】アンチセンス医薬品の構造 (リン酸部位に負電荷を有する)

構造	1本鎖DNA
塩基長	14~22程度
化学修飾	S化、糖部修飾
分子量	5,000~7,500
投与	単独 (送達キャリアなし)
作用機序	RNA分解 スプライシング制御
製造	化学合成



【図表2】アンチセンス医薬品の細胞内取り込み経路と想定される介在分子



### 3. 研究の方法

本研究では、上記の問題を解決するため、核酸医薬品の中でも最も開発が進んでいるアンチセンス医薬品をモデルとし、アンチセンスの細胞内取り込み機構に関する分子群を解明することを目的とした。

これまで GFP mRNA を効率よく分解する RNA 分解型アンチセンスを核酸医薬品のモデルとして、その細胞内取り込み/細胞内動態に関する遺伝子をバイオアッセイにより探索してきた。この系を用いて、引き続き、全ヒト遺伝子を対象とした RNAi スクリーニングならびに候補遺伝子の絞り込みを行った。さらに、スプライシング制御型アンチセンスを用いたアッセイ系を構築し、RNA 分解型アンチセンスとスプライシング制御型アンチセンスの両方の経路で共通して関与する遺伝子の特定を試みた。CRISPER/Cas9 システムを用いて、候補遺伝子の遺伝子破壊細胞株

の作製及びその性状解析を行い、当該遺伝子の作用点、基質特異性の特定を試みた。

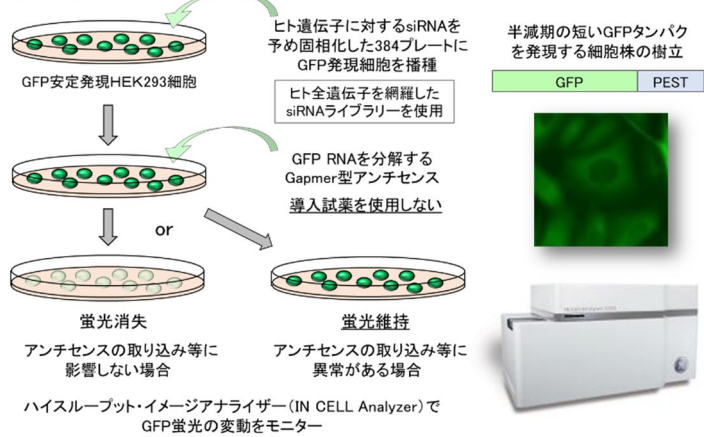
#### 4. 研究成果

アンチセンスの細胞内取り込みに関与する遺伝子を探索するために、「GFP 発現細胞に対して GFP RNA を分解する RNA 分解型アンチセンスを添加し、GFP 蛍光をモニターするアッセイ系」(図表 3)を用いて、RNA 分解型アンチセンスの細胞内取り込み/細胞内動態に関与する遺伝子の網羅的スクリーニングを実施した。具体的には、全ヒト遺伝子(約 20,000 遺伝子)を対象とした 1 次スクリーニング、再現性を確認する 2 次スクリーニング、オフターゲット効果の影響の回避のための 3 次スクリーニングを経て、156 の候補遺伝子を抽出した。

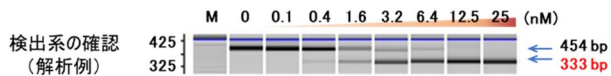
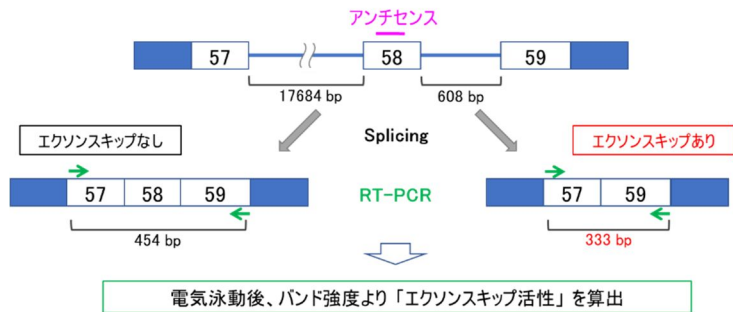
更に、この 156 の候補遺伝子に対し、異なる配列のアンチセンスを用いた 4 次スクリーニングを行い、候補遺伝子を 78 遺伝子に絞り込んだ。この 78 遺伝子は、RNA 分解型アンチセンスが細胞内に取り込まれ、細胞質から核内に移行し、標的 RNA を分解するまでの過程(図表 2 参照)において、いずれかのステップに必要な分子をコードしていると推測される。例えば、核内において標的 RNA を切断する際に、RNaseH と協調的に機能するような分子が存在する可能性があるが、そのような分子も上記の 78 遺伝子に含まれていると考えられる。そこで、「オリゴ核酸の細胞内取り込みに共通して機能する分子」を特定するために、RNA 分解型アンチセンスとは異なる機構で作用するスプライシング制御型アンチセンス(SSO: Splice-switching oligonucleotide)を用いたスクリーニング系を新たに構築し、遺伝子のさらなる絞り込み(5 次スクリーニング)を実施することとした。

スプライシング制御型アンチセンスをスクリーニング系としては、内在性のジストロフィン遺伝子を標的としたエクソンスkipモデルを採用した(図表 4)。具体的には、ジストロフィン遺伝子のエクソン 58 と相補的に結合するアンチセンスを 140 本設計・合成し、ジストロフィン遺伝子が発現するヒト筋由来細胞を用いて、エクソン 58 をスプライスアウト(すなわち、エクソンスkip)させる 18 塩基長のアンチセンス SS018-1 を特定した。SS018-1 はジストロフィン遺伝子の pre-mRNA のエクソン 58 に結合し、スプライシング因子と pre-mRNA の結合を阻害することで、エクソン 58 が含まれない短いジストロフィン mRNA が産生されると考えられる。SS018-1 を用いた評価系においては、エクソン 58 を挟む領域を PCR で増幅・泳動することで、エクソンスkipの有無を判定することができる(すなわち、アンチセンスが正常に核内まで到達し機能すれば、短い PCR 産物が得られるが、核内に到達するまで過程が障害を受けると長い PCR 産物が得られる。この 2 種の PCR 産物のバンド強度を比較することで、アンチセンスの有効性の程度を数値化できる)。以上の評価系を用いて、4 次スクリーニングで抽出された 78 遺伝子を対象に RNAi スクリーニングを実施し、最終的に 22 の候補遺伝子を特定することに成功した(図表 5)。絞り込んだ

【図表 3】「アンチセンスの細胞内取り込みに関与する分子」を同定するための RNAi スクリーニング



【図表 4】スクリーニングに使用したエクソンスkipモデル(SS018-1使用)



【図表 5】RNAiスクリーニングによる分子の絞り込みとゲノム編集による遺伝子破壊株の作製



【図表 6】5 次スクリーニングを経て特定された候補遺伝子の機能的分類

分類	遺伝子数
輸送関連	5
転写因子	4
細胞骨格関連	2
カルシウムイオン関連	2
ATP関連	2
その他	7
合計	22

22 の候補遺伝子を特定することに成功した(図表 5)。絞り込んだ



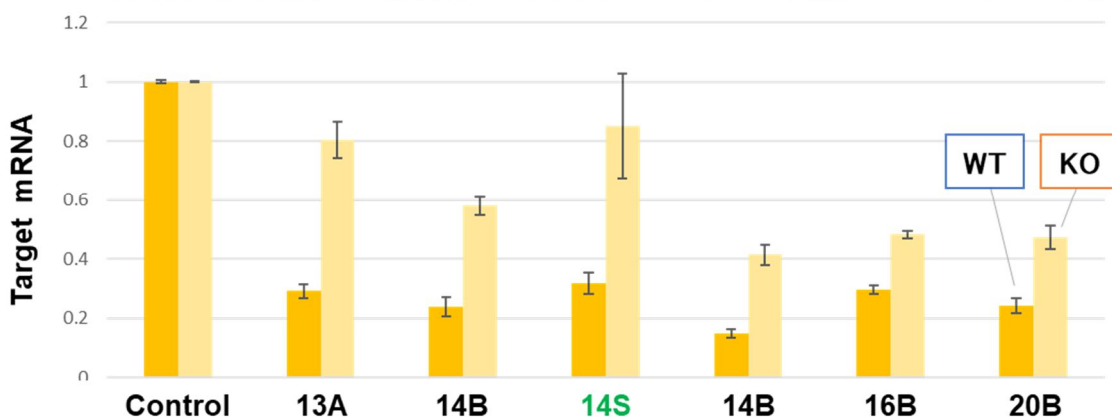
候補遺伝子の中には、膜間輸送に関連する分子などが含まれており、アンチセンスの細胞内取り込みや輸送への関与が期待される（図表6）。

RNAi スクリーニングにより絞り込んだ候補分子について、遺伝子破壊株の作製を行った。親細胞としては、スクリーニングに用いた GFP 安定発現細胞と同じ HEK293 系列であり、かつ、ゲノム編集の成功確率の高いと考えられる 293T/17 細胞を選択した。ゲノム編集効率やゲノム編集細胞の遺伝子型確認を念頭に、染色体の倍数体化の状況を予め把握すべく、Q-band による核型解析を実施した。ATTC より入手した 293T/17 細胞は概ね 3 倍体であり、多くの候補遺伝子について、完全欠損株の作製は可能と予測された。それぞれの候補遺伝子について複数のスプライシングバリエーションが存在することを考慮しながら、CRISPERdirect を用いてガイド RNA を設計し、CRISPR-Cas9 システムを用いてゲノム編集を行った。ゲノム編集ツールを導入した 293T/17 細胞のプールからシングルセルをクローン化し、ダイレクトシーケンスにより変異部位の有無を確認した後、波形解析ソフト Tide を用いて、標的遺伝子が完全に破壊されていると予想されるクローンを選別した。さらに、当該細胞株の変異部位を増幅し、TA クローニングすることにより、変異部位の遺伝子型を正確に確定した。

作成した遺伝子破壊株のうち、遺伝子 G の破壊株について、スクリーニングで使用したアンチセンス (AS0-14S: 14 塩基長) の効果を解析した結果、有効性の顕著な低下が確認され、スクリーニング結果が遺伝子破壊株で再現性された。次に、配列の異なる複数のアンチセンスを使用して、アンチセンスの効果の変化を解析したところ、用いたアンチセンスにより程度の差はあるものの、いずれのアンチセンスについても、遺伝子 G 破壊株において活性が減弱していた（図表7）。

以上のように、これらの経路に関与する候補分子を網羅的に探索するスクリーニング系を構築し、候補遺伝子の特定に成功した。

【図表7】 遺伝子G破壊株におけるアンチセンスの効果 (Free uptake法)



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計31件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Umemura Keisuke, Ohtsuki Shozo, Nagaoka Makoto, Kusamori Kosuke, Inoue Takao, Takahashi Yuki, Takakura Yoshinobu, Nishikawa Makiya	4. 巻 34
2. 論文標題 Critical contribution of macrophage scavenger receptor 1 to the uptake of nanostructured DNA by immune cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine	6. 最初と最後の頁 102386 ~ 102386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nano.2021.102386	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sun Yuchen, Nitta Shin-ichiro, Saito Kosuke, Hosogai Ryuta, Nakai Keiko, Goda Ryoya, Kakehi Masaaki, Murata Kazuyuki, Yamaguchi Takeru, Okuzono Takeshi, Yamane Shinichi, Enoki Yoshimasa, Kawabata Mitsuhiro, Takahara Kentaro, Sato Shimpei, Yoshida Tokuyuki, Inoue Takao, Saito Yoshiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Development of a bioanalytical method for an antisense therapeutic using high-resolution mass spectrometry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioanalysis	6. 最初と最後の頁 1739 ~ 1756
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4155/bio-2020-0225	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 岩崎紀彦, 小平浩史, 後藤昭彦, 山中陽介, 佐藤正延, 宮澤憲浩, 庭山裕孝, 設楽悦久, 関口裕太郎, 田直美, 高草英生, 角辻賢太, 今井峻司, 深野泰史, 福原慶, 蓼原吉輝, 吉田徳幸, 小比賀聡, 西川元也, 井上貴雄	4. 巻 52
2. 論文標題 アンチセンス核酸医薬品の薬物動態評価の現状	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 150 ~ 163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 高草英生, 岩崎紀彦, 西川元也, 吉田徳幸, 小比賀聡, 井上貴雄	4. 巻 52
2. 論文標題 核酸医薬品の薬物動態特性とその評価	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 76 ~ 84
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉田徳幸, 井上貴雄	4. 巻 36
2. 論文標題 RNAを標的とする核酸医薬品のオフターゲット効果の予測・評価法	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PHARM TECH JAPAN	6. 最初と最後の頁 75 ~ 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山口卓男, 井上貴雄, 小比賀聡	4. 巻 36
2. 論文標題 核酸医薬品の製造・分析の現状とアウトソーシング	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PHARM TECH JAPAN	6. 最初と最後の頁 47 ~ 56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 井上貴雄, 柴田識人	4. 巻 18
2. 論文標題 がんに対する核酸医薬品の開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 がん分子標的治療	6. 最初と最後の頁 78 ~ 86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山口卓男, 井上貴雄, 小比賀聡	4. 巻 36
2. 論文標題 核酸医薬の原料供給・製造・品質担保に関する課題の抽出とその解決に向けた提言	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PHARM TECH JAPAN	6. 最初と最後の頁 109 ~ 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 井上貴雄	4. 巻 38
2. 論文標題 核酸医薬 -低分子、抗体に続く第3のモダリティ-	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 SAR News	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Komura Fusae, Takahashi Yuki, Inoue Takao, Takakura Yoshinobu, Nishikawa Makiya	4. 巻 29
2. 論文標題 Development of a Nanostructured RNA/DNA Assembly as an Adjuvant Targeting Toll-Like Receptor 7/8	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleic Acid Therapeutics	6. 最初と最後の頁 335 ~ 342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/nat.2019.0787	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Tokuyuki, Naito Yuki, Yasuhara Hidenori, Sasaki Kiyomi, Kawaji Hideya, Kawai Jun, Naito Mikihiro, Okuda Haruhiro, Obika Satoshi, Inoue Takao	4. 巻 24
2. 論文標題 Evaluation of off target effects of gapmer antisense oligonucleotides using human cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 827 ~ 835
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12730	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 木下潔, 中澤隆弘, 真木一茂, 三井田宏明, 荒戸照世, 平林容子, 吉田徳幸, 井上貴雄	4. 巻 51
2. 論文標題 既承認核酸医薬品の審査報告書を読み解く	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 70-82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 滝口直美, 伊藤浩介, 小林夏季, 溝口潤一, 製薬協核酸医薬品質評価タスクフォース, 南海浩一, 廣瀬賢治, 笹木 修, 佐藤秀昭, 吉田徳幸, 小比賀 聡, 井上貴雄	4. 巻 51
2. 論文標題 核酸医薬品の品質評価に関する考え方 - 仮想核酸医薬品をモデルとして -	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 145-153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 関口光明, 齊藤隼, 滝口直美, 製薬協核酸医薬品質評価タスクフォース, 伊藤浩介, 吉田徳幸, 小比賀聡, 井上貴雄	4. 巻 51
2. 論文標題 核酸医薬品に含まれる不純物の考え方	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 11-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉田徳幸, 井上貴雄	4. 巻 19
2. 論文標題 核酸医薬開発の現状と安全性評価の考え方	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PharmStage	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 井上貴雄	4. 巻 35
2. 論文標題 核酸医薬品の開発動向と規制整備の現状	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PHARM TECH JAPAN	6. 最初と最後の頁 7-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 内田恵理子, 山下拓真, 小野竜一, 内藤雄樹, 井上貴雄	4. 巻 50
2. 論文標題 ゲノム編集治療安全性タスクフォース-ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療の規制と安全性評価	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 513-522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 内田恵理子, 平松直人, 犬飼直人, 岩井謙一, 渡辺武志, 川崎秀吉, 田村幸太郎, 土屋貴穂, 吉見英治, 高橋則彦, 伊原辰哉, 藤本和則, 山下晃人, 小野貴士, 高木観, 小野竜一, 内藤雄樹, 井上貴雄	4. 巻 50
2. 論文標題 ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療の開発動向	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 443-453
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 荒戸照世, 位高啓史, 秋永士朗, 佐藤秀昭, 山口照英, 真木一茂, 内田恵理子, 吉田徳幸, 井上貴雄	4. 巻 50
2. 論文標題 mRNA医薬品の品質・安全性評価の考え方	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 300-306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 位高啓史, 秋永士朗, 井上貴雄	4. 巻 50
2. 論文標題 mRNA医薬品開発の世界的動向	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 242-249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Tokuyuki, Naito Yuki, Sasaki Kiyomi, Uchida Eriko, Sato Yoji, Naito Mikihiro, Kawanishi Toru, Obika Satoshi, Inoue Takao	4. 巻 23
2. 論文標題 Estimated number of off-target candidate sites for antisense oligonucleotides in human mRNA sequences	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 448 ~ 455
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12587	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 井上貴雄, 佐々木澄美, 吉田徳幸	4. 巻 34
2. 論文標題 核酸医薬開発の現状と今後の展望	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Drug Delivery System	6. 最初と最後の頁 10-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉田徳幸, 井上貴雄	4. 巻 Vol. 2, No.55, No.2
2. 論文標題 核酸医薬の規制整備の現状と品質・安全性評価の考え方	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学ジャーナル	6. 最初と最後の頁 119-124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 井上貴雄	4. 巻 150
2. 論文標題 核酸医薬 -オリゴ核酸による多彩な生体制御- (なぜ、いま核酸医薬なのか -次なる創薬モダリティの本命- 企画: 井上貴雄)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 井上貴雄	4. 巻 50
2. 論文標題 アンチセンス医薬開発の潮流（連載企画 アンチセンス医薬開発の最前線，企画：井上貴雄）	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 12-22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 井上貴雄	4. 巻 267
2. 論文標題 RNAを標的とする核酸医薬品の開発動向	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 591-597
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 石原比呂之，井上貴雄	4. 巻 78
2. 論文標題 核酸医薬の実用化を加速するデリバリー戦略とレギュラトリーサイエンスについて考える	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 薬剤学，	6. 最初と最後の頁 289-290
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 井上貴雄	4. 巻 開発編，第4章
2. 論文標題 核酸医薬品の開発動向	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 バイオ医薬品の開発と市場2019	6. 最初と最後の頁 33-46
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 井上貴雄	4. 巻 54
2. 論文標題 核酸医薬品の開発動向	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ファルマシア	6. 最初と最後の頁 943-947
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉田徳幸, 井上貴雄	4. 巻 73
2. 論文標題 核酸医薬品の規制整備の現状	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 最新医学	6. 最初と最後の頁 823-830
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 木下潔, 真木一茂, 荒戸照世, 太田哲也, 小野寺博志, 佐藤秀昭, 中澤隆弘, 平林容子, 笛木修, 三井田宏明, 吉田徳幸, 渡部一人, 小比賀聡, 井上貴雄	4. 巻 49
2. 論文標題 核酸医薬品の安全性評価に関する考え方 - 仮想核酸医薬品をモデルにして - 第3回: 既存情報の有効活用	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	6. 最初と最後の頁 207-214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計48件 (うち招待講演 22件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬品の安全性確保のためのオフターゲット作用の評価技術開発
3. 学会等名 創薬基盤推進研究事業研究成果発表会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田徳幸, 佐々木澄美, 小比賀聡, 井上貴雄
2. 発表標題 アンチセンス医薬のオフターゲット効果の評価法に関する研究
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 孫雨晨, 新田真一郎, 細貝龍太, 中井恵子, 合田竜弥, 掛樋真彰, 村田和之, 山口建, 奥園剛, 山根真一, 榎木啓真, 川端光彦, 高原健太郎, 佐藤心平, 吉田徳幸, 齊藤公亮, 井上貴雄, 斎藤嘉朗
2. 発表標題 LC/MSを用いたアンチセンス医薬品のバイオアナリシス手法に関する多施設分析法バリデーション
3. 学会等名 日本薬物動態学会第35年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬品開発の現状と課題
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬開発の現状と今後の展望
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 梅村圭祐, 大槻昇三, 井上貴雄, 高橋有己, 高倉喜信, 西川元也
2. 発表標題 ナノ構造化核酸の細胞取り込みにおけるマクロファージスカベンジャーレセプター1の関与
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬開発の現状と今後の展望
3. 学会等名 第39回日本認知症学会学術集会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療による遺伝毒性リスクと安全性評価
3. 学会等名 日本環境変異原学会第49回大会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬品の開発動向とDDS
3. 学会等名 日本薬剤学会第35年会(招待講演)
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬の安全性をどのように担保するか- 毒性の評価と回避 -
3. 学会等名 LINK-Jセミナー 核酸創薬：アンチセンス核酸の設計と毒性回避について（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内海彩花, 佐々木澄美, 楠本嵩志, 吉田徳幸, 石田竜弘, 井上貴雄, 奥平桂一郎
2. 発表標題 アンチセンスのキャリア非依存性取り込み機構に寄与する膜タンパク質の検討
3. 学会等名 第58回日本薬学会・日本薬剤師学会・日本病院薬剤師会中国史国支部学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療のオフターゲット変異評価に関する考察
3. 学会等名 第4回日本遺伝子細胞治療学会 若手研究会セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬品の開発動向と規制整備に向けた取り組み
3. 学会等名 核酸医薬開発ベンチャーのパイプライン動向と今後の開発戦略（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 5)Yuchen Sun, Shin-ichiro Nitta, Ryota Iiji, Tokuyuki Yoshida, Takao Inoue, Ryuta Hosogai, Keiko Nakai, Kosuke Saito, Yoshiro Saito
2. 発表標題 Development of a sensitive LC-HRMS-based bioanalytical method for antisense therapeutics
3. 学会等名 15th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬品の安全性確保のためのオフターゲット作用の評価技術開発
3. 学会等名 2019年度 日本医療研究開発機構研究費 創薬基盤推進研究事業 研究成果発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬開発の現状と課題
3. 学会等名 核酸医薬分析セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬およびゲノム編集医療の現状と安全性評価
3. 学会等名 ーゴーの日シンポジウム2019 ~ バイオデータベース：つないで使う~ (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田徳幸, 佐々木澄美, 内藤幹彦, 小比賀聡, 井上貴雄
2. 発表標題 アンチセンス医薬のオフターゲット効果の評価法に関する研究
3. 学会等名 第9回レギュラトリーサイエンス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田徳幸, 佐々木澄美, 内藤幹彦, 小比賀聡, 井上貴雄
2. 発表標題 アンチセンス医薬のオフターゲット効果の評価法に関する研究
3. 学会等名 第11回日本RNAi研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田徳幸
2. 発表標題 核酸医薬品の開発および国内外における規制動向の整理と品質管理・安全性評価の考え方
3. 学会等名 情報機構セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬品の品質・安全性評価の考え方
3. 学会等名 第44回製剤・創剤セミナー（テーマ：医療ニーズの変貌に挑戦する製剤・創剤）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田徳幸
2. 発表標題 核酸医薬品の開発・規制動向の整理と品質/安全性評価におけるポイント
3. 学会等名 R&D支援センター主催セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 滝口直美, 井上貴雄, 伊藤浩介, 小比賀聡, 佐藤秀昭, 関口光明, 南海浩一, 廣瀬 賢治, 笛木修, 吉田徳幸
2. 発表標題 核酸医薬品の品質評価に関する考え方 -仮想核酸医薬品をモデルとして-
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第5回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 斎藤恵美, 南海浩一, 廣瀬賢治, 吉田徳幸, 井上貴雄, 小比賀聡
2. 発表標題 2種類のHPLC分析法を用いるオリゴ核酸の分析法開発
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第5回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 孫雨晨, 新田真一郎, 飯地亮太, 吉田徳幸, 井上貴雄, 細貝龍太, 中井恵子, 齊藤公亮, 斎藤嘉朗
2. 発表標題 高分解能型質量分析計を用いたアンチセンス医薬品の測定法の開発
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第5回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田徳幸, 佐々木澄美, 内藤幹彦, 小比賀聡, 井上貴雄
2. 発表標題 アンチセンス医薬の不純物が遺伝子発現に与える影響
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第5回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本誠司, 堀内祥行, 吉田徳幸, 内藤幹彦, 小比賀聡, 井上貴雄
2. 発表標題 1本鎖オリゴ核酸による自然免疫活性化に対するの種差に関するの検討
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第5回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田徳幸
2. 発表標題 アンチセンス医薬のオフターゲット効果の評価法
3. 学会等名 日本核酸医薬学会若手シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬品開発の現状と将来展望
3. 学会等名 第21回インターフェックスジャパン セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木澄美, 吉田徳幸, 内藤幹彦, 小比賀聡, 井上貴雄
2. 発表標題 アンチセンス核酸の細胞内取り込み機構の分子基盤解明
3. 学会等名 第35回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬開発の現状と今後の展望
3. 学会等名 第35回日本DDS学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀内祥行, 山本誠司, 吉田徳幸, 内藤幹彦, 小比賀聡, 井上貴雄
2. 発表標題 アンチセンス医薬による自然免疫活性化の種差に関する研究
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 オフターゲット効果の評価に関する考察
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬開発における留意点-毒性の予測と回避-
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会 ランチョンセミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口卓男, 堀場昌彦, 羽淵貴紀, 笠原勇矢, 吉田徳幸, 井上貴雄, 小比賀 聡
2. 発表標題 シクロプロピレン架橋またはチオアミド架橋を有する人工核酸の開発
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第14回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬（オリゴ核酸）に由来する毒性を予測する手法と回避する手法
3. 学会等名 第5回中分子創薬に関わる次世代産業研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木澄美, 吉田徳幸, 内藤幹彦, 小比賀聡, 井上貴雄
2. 発表標題 アンチセンス医薬品の細胞内取り込みに関与する分子の探索
3. 学会等名 日本薬剤学会第34 年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬品の開発動向と安全性評価の考え方
3. 学会等名 サイエンス&テクノロジーセミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田徳幸
2. 発表標題 核酸医薬品の開発・規制動向の整理と品質管理・安全性評価の考え方
3. 学会等名 情報機構セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田徳幸, 佐々木澄美, 内藤幹彦, 小比賀聡, 井上貴雄
2. 発表標題 ハイブリダイゼーション依存的オフターゲット効果の予測/評価法に関する研究
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoshi Obika, Takaki Habuchi, Takao Yamaguchi, Yuuya Kasahara, Tokuyuki Yoshida, Takao Inou
2. 発表標題 Synthesis and Properties of a Novel Bridged Nucleic Acid, thioAmNA
3. 学会等名 14th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tokuyuki Yoshida, Yuki Naito, Kiyomi Sasaki, Eriko Uchida, Mikihiro Naito, Satoshi Obika, Takao Inoue
2. 発表標題 Estimated number of off-target candidate sites for antisense oligonucleotides in human mRNA sequences
3. 学会等名 14th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 Consideration for safety assesment of hybridization-dependent off-target effects of oligonucleotide therapeutics
3. 学会等名 第10回日本RNAi研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田徳幸, 内藤雄樹, 佐々木澄美, 内田恵理子, 内藤幹彦, 小比賀 聡, 井上貴雄
2. 発表標題 アンチセンス医薬品のオフターゲット候補遺伝子数の解析
3. 学会等名 第10回日本RNAi研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田徳幸, 佐々木澄美, 内藤幹彦, 小比賀聡, 井上貴雄
2. 発表標題 ハイブリダイゼーション依存的オフターゲット効果の予測/評価法に関する研究
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第4回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 羽瀧貴紀, 山口卓男, 笠原勇矢, 吉田徳幸, 井上貴雄, 小比賀聡
2. 発表標題 チオアミド架橋型人工核酸thioAmNA の合成と物性評価
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第4回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬品の開発動向と課題(Development trends of Oligonucleotide therapeutics)
3. 学会等名 日本薬剤学会第33年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上貴雄
2. 発表標題 核酸医薬品の規制整備の現状(Regulatory trends for Oligonucleotide therapeutics)
3. 学会等名 日本薬剤学会第33年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------