

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 7 月 13 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25871235

研究課題名(和文) アンチセンス核酸医薬における脂質分子のコンジュゲート・ルールの確立

研究課題名(英文) Development of a guideline for designing lipid-conjugated antisense oligonucleotide

## 研究代表者

和田 俊輔 (Wada, Shunsuke)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・流動研究員

研究者番号：40631297

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：コレステロールコンジュゲートをモデルとして、アンチセンス核酸(ASO)とコレステロールを繋ぐリンカーの化学構造に着目し、AONの肝臓移行性や肝細胞指向性を向上させ薬効を増大させることを試みてきた。その結果、コレステロールコンジュゲート型ASO (Chol-ASO)の肝臓移行量や細胞指向性はリンカーの化学構造に大きく依存していることが明らかとなった。また、Chol-ASOからコレステロールコンジュゲート部分を細胞内で切り離すことでASOの薬効が顕著に増大することが示され、コレステロールコンジュゲート部位がアンチセンス効果を阻害している可能性が強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：Cholesterol conjugation is an way to deliver the antisense oligonucleotides (ASOs) specifically to the liver. However most of the cholesterol-conjugated ASO could not improve the inhibition of target RNA compared to that of unconjugated ASO because cholesterol-conjugated ASOs mainly accumulated in non-parenchymal cells like kupffer cells. We tried to optimize the lipid-conjugation by focusing the attention on linker chemistry. We prepared a variety of linkers to conjugate the cholesterol to anti-Pcsk9 ASOs and examined their effects on the pharmacological parameters. Hepatic accumulation and cell tropism of the cholesterol-conjugated ASO were largely depended on their linker chemistry. Our designed cleavable linker which has phosphodiester bond between linker and cholesterol improved the inhibitory effect of ASO, indicating the importance of removing the conjugation. Our findings will provide a guideline for designing molecular conjugation of AONs.

研究分野：核酸創薬

キーワード：アンチセンス核酸 コレステロールコンジュゲート リンカー 2',4'-BNA/LNA

### 1. 研究開始当初の背景

近年、分子生物学の飛躍的な発展により、様々な難治性疾患の原因及び病態に関わる分子が明らかにされてきた。そして、これら原因分子の機能発現を抑制し、病態改善を期待して様々な阻害剤の開発が行われている。しかしながら、低分子を用いた阻害剤の開発は標的分子の立体構造に依存するため極めて困難であることが多い。このような現状の中で近年、注目を集めているのが核酸医薬である。核酸医薬は標的の核酸配列さえ分かれば、あらゆる標的に対応できる柔軟性を持っている。特にアンチセンス核酸を用いた医薬品開発は精力的に進められている。標的 RNA に相補的なアンチセンス核酸を細胞に導入すると、RNase H 介在的に標的 RNA の分解もしくは二重鎖形成により機能を抑制することが可能である。このアンチセンス法は一度、設計における普遍的ルールが確立されれば、即座に病因関連遺伝子に対する阻害剤を設計することが可能となるため、日進月歩で基礎研究が進められている。アンチセンス核酸を薬剤として実用化するためには、以下の問題を解決しなくてはならない。

- 核酸のヌクレアーゼ耐性の獲得
- 組織得的なアンチセンス核酸の送達
- 配列特異的な毒性などの副作用の低減

問題 において、化学修飾を施した人工核酸のアンチセンス核酸における薬効及び薬物動態への寄与は大きく、ヌクレアーゼ耐性や RNA との結合親和性の上昇、肝臓移行性の向上など多大な恩恵をもたらしている。申請者らの研究グループにおいても、核酸の糖部を化学的に架橋した、第三世代の Bridged Nucleic Acids (BNAs) 類の開発を種々行っている(図 1)。第一世代や第二世代の人工核酸は、それぞれがヌクレアーゼ耐性や RNA との結合親和性の向上を獲得していたのに対し、BNAs はそれ単独で、ヌクレアーゼ耐性と他には類を見ない程の RNA との結合親和性を獲得することに成功してきた(*Heterocycles*, 2010, 81, 1347)。

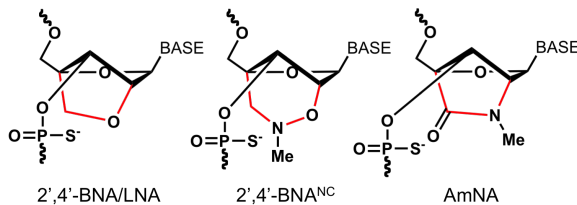


図1 BNA類縁体の構造

アンチセンス核酸医薬を薬剤として成熟させるためには、問題 のアンチセンス核酸の薬物動態の改善が最重要課題である。現在の人工核酸で修飾したアンチセンス核酸は図 2 のような生体内分布を示す(*Eur J Pharm Sci*, 2000, 10, 179)。ほとんどが腎臓に蓄積し代謝されてしまい、他の臓器への蓄積量はわずかである。この生体内分布を「肝臓特異的」や「肺特異的」な分布に変えることによりアンチセンス核酸は実用化に向けて大きく前

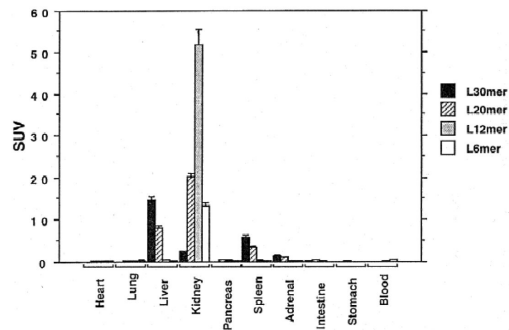


図2 アンチセンス核酸の生体内分布

進することが示唆される。また、アンチセンス核酸の標的組織移行性の向上は「容量の低減」に繋がり、問題 に挙げられる副作用の低減にも結びつく。そのため、アンチセンス核酸の体内動態や生体分布を改善することが、アンチセンス核酸医薬の実現において大きなブレイクスルーとなると期待される。

アンチセンス核酸の体内動態を大きく変化させるものとして末端脂質分子の付加(末端脂質コンジュゲート)が挙げられる(*Bioconjug Chem*, 2012, 23, 196)。脂質分子としてコレステロールを付加したアンチセンス核酸の検討が種々検討されており、コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸は肝臓特異的に蓄積することが示されている。しかし、肝実質細胞以外の非実質細胞への蓄積が極めて多く、*in vivo* で薬効の改善に至った報告例はない。そこで、本研究では、様々なアンチセンス核酸における末端脂質分子コンジュゲート体を設計し、種々の最適化項目において、末端コンジュゲートの最適化を行うとともに、アンチセンス核酸医薬の実用に向けた普遍的なコンジュゲート・ルールの確立を目指した。

### 2. 研究の目的

現在、アンチセンス核酸医薬の実用化において、標的組織特異的な送達の実現が大きな鍵を握っている。siRNA において末端脂質分子の付加(末端脂質コンジュゲート)は、その肝臓への集積性を高め、アンチセンス核酸における末端脂質コンジュゲートも同様の効果を生むと期待されている。アンチセンス核酸の末端脂質コンジュゲート体は細胞レベルでの研究のみ行われており、*in vivo* での組織移行性の評価等は行われていない。本研究ではアンチセンス核酸の肝臓特異的送達と低用量・高薬効を実現すべく、末端コンジュゲート分子の最適化及び設計における普遍的ルールの確立を行い、アンチセンス核酸医薬の難治性遺伝疾患に対する実用化を目指した。

### 3. 研究の方法

初めに、コレステロールコンジュゲートをモデルとして、リンカーの化学構造に着目し、リンカーの体内動態や薬効への寄与を調べた。アルキル鎖を有し、疎水性度を上げた C6

hemisuccinate (HMS)、アルキル鎖とは異なり親水性を持たせた Triethylenglycol (TEG)及び細胞内の還元的条件下、ジスルフィド結合でリンカー部位オリゴ核酸が分離されるように設計した dipropyl disulfide-TEG (C6SS\_TEG)リンカーは 3'及び 5'末端に結合させたコレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸を用意した。また、3'末端側のみで、さらに、酸性条件下でリンと窒素の間で開裂が生じるよう設計した 5'-amino-2',4'-BNA (Thymine)と C6SS\_TEGを短くした propanethiol (C3SS)リンカーを用意した。また、アンチセンス核酸の標的としては proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9)を選択した。PCSK9 は肝臓の実質細胞で主に発現しており、LDL 受容体を分解機構に誘導する機能を有している。これらのリンカーでコレステロールを結合させたアンチセンス核酸を単回、マウスに投与し、その肝臓蓄積量、細胞指向性、薬効及び毒性を評価した。コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の二重鎖形成能は二本鎖融解温度測定を行い評価した。また、コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の構造体形成について、電子顕微鏡による観察を行った。

#### 4. 研究成果

まず、コレステロールコンジュゲートがオリゴ核酸に結合することにより、標的 RNA との高い親和性が失われていないかを二本鎖融解温度 ( $T_m$ ) 測定により検討した。2',4'-BNA/LNA で修飾した 14 mer の PCSK9 アンチセンス核酸 (PCSK9-LNA) に相補的な RNA を用いて、それぞれの  $T_m$  値を測定すると、5'-コレステロールコンジュゲート体では PCSK9-LNA よりも  $T_m$  値がわずかに高くなった。一方で 3'-コレステロールコンジュゲート体では PCSK9-LNA よりも大きく  $T_m$  値が低くなることが明らかとなった。このことから、3'側コンジュゲートは二本鎖形成に負の影響を与えるが、5'側では二本鎖を安定化する作用があると考えられた。

次に、それぞれのコンジュゲート体が *in vivo* で薬効や毒性に及ぼす影響を調べた。野生型の C57BL/6J マウスに対し、2  $\mu$ mol/kg で単回、各コレステロールコンジュゲート型 PCSK9-LNA アンチセンス核酸と非コンジュゲート体を、尾静脈より投与した。投与 4 日後に屠殺し、各臓器を摘出した。その後、肝臓のサンプルを使用し、*Pcsk9* mRNA の発現量を qPCR 法にて、肝臓組織に含まれるアンチセンス核酸の定量を Hybridization ELISA (hELISA) にて行った。まず、薬効である *Pcsk9* mRNA の抑制率を評価した結果、非コンジュゲート体である PCSK9-LNA 投与群では生理食塩水投与群と比較して *Pcsk9* mRNA の有意な抑制は認められなかった (図 3)。一方、3'-コンジュゲート体では 3'-Chol-TEG 体投与群と 3'-Chol-HMS 体投与群でそれぞれ約 60% 及

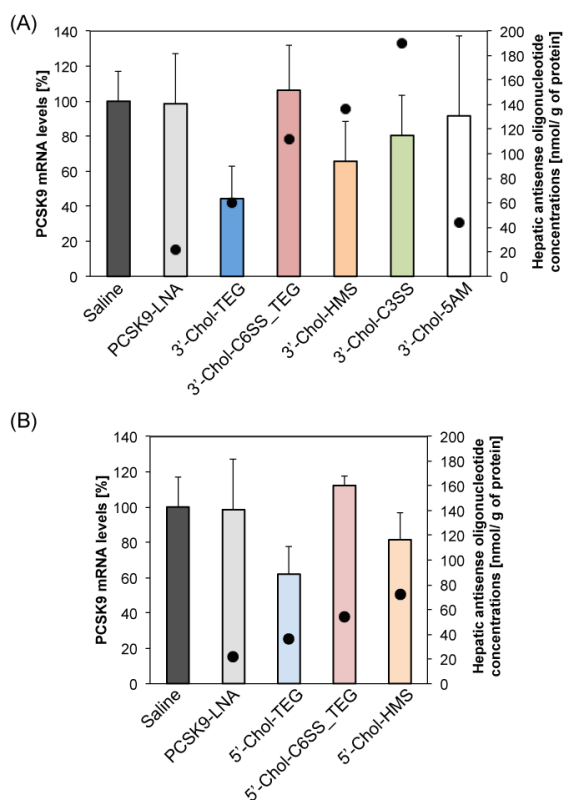


図 3 コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の薬効及び肝臓蓄積量

び約 40% の *Pcsk9* mRNA が有意に減少した (図 3A)。また、5'-コンジュゲート体でも 3'-コンジュゲート体と同様に 5'-Chol-TEG 体投与群と 5'-Chol-HMS 体投与群で *Pcsk9* mRNA の減少が認められた (図 3B)。しかし、その抑制率は 3'-コンジュゲート体のときに比べ、減弱しており、5'-Chol-HMS 体投与群では生理食塩水投与群と有意な発現の差は認められなかった。また、細胞内でコレステロールコンジュゲート部とオリゴ核酸が分離するように設計した C6SS\_TEG や C3SS、5AM リンカーでコレステロールを結合させた PCSK9-LNA 投与群では全く薬効の改善が認められなかった。このことから、リンカーの化学構造及びその結合末端の違いにより、薬効が大きく影響されることが示された。また、このときの肝臓に蓄積したアンチセンス核酸の量を Hybridization ELISA により定量すると、薬効の改善が認められた 3'-Chol-TEG 体では PCSK9-LNA の蓄積量の 2 倍程度が肝臓に蓄積していた (図 3A, 黒点)。しかし、興味深いことに全く薬効が認められなかった 3'-Chol-C6SS\_TEG 体の肝臓蓄積量は 3'-Chol-HMS 体に次いで多い結果となった (図 3A, 黒点)。5'-コンジュゲート体においても 3'-コンジュゲート体と同じ順序で肝臓移行量の違いが認められたが、全て 5'-コンジュゲート体において、その 3'-コンジュゲート体よりも肝臓移行量が減少していることが明らかとなった (図 3B, 黒点)。これらの結果より、リンカーの化学構造の違いが肝臓移行量に大きく影響していることが明らかとなった。次に Fluorescence in situ hybridization

(FISH)法を用いて各アンチセンス核酸の肝臓における細胞局在を評価した(図4)。赤がアンチセンス核酸、青が細胞核を表している。PCSK9-LNA(図4A)に比べて、全てのコレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸で肝実質細胞への移行量は増大していた。薬効が認められなかった3'-Chol-C6SS\_TEG体では、クッパー細胞と考えられる細胞への移行が非常に多くなっていることが明らかとなった(図4C)。しかし、同様に薬効が認められなかった3'-Chol-HMS体では、肝実質細胞への蓄積量が3'-Chol-TEG体よりも顕著に増大していることが示された(図4B, D)。これらのことから、リンカーの化学構造を含めたコレステロールコンジュゲート部位が細胞内で、アンチセンス核酸の薬効に影響している可能性が示唆された。また、これまでの結果より、リンカーの化学構造がコレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の肝臓移行性や細胞指向性に大きく寄与していることが示された。この結果はこれまでに報告されておらず、コンジュゲート型アンチセンス核酸を設計する際に非常に重要な知見であると言える。

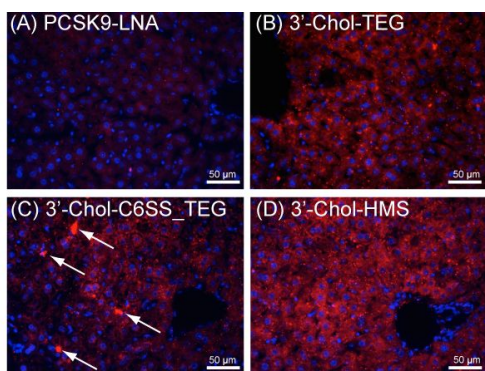


図4 コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の細胞局在評価

次にアンチセンス核酸の標的を *Pcsk9* から *ApoB* へと変更し、配列及び  $ED_{50}$  が異なるアンチセンス核酸における、各コレステロールコンジュゲート体の肝臓移行性や薬効などの序列がどのように変化するかを評価した。野生型の C57BL/6J マウスに対し、0.173  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  で単回、各コレステロールコンジュゲート型 ApoB-LNA アンチセンス核酸と非コンジュゲート体(ApoB-LNA)を尾静脈より投与した。投与3日後に屠殺し各臓器を摘出した。その後、肝臓のサンプルを使用し、*ApoB* mRNA の発現量を qPCR 法にて、肝臓組織に含まれるアンチセンス核酸の定量を hELISA にて行った。*ApoB* mRNA を相対的に定量すると、ApoB-LNA と3'-Chol-HMS体で60-70%ほど、生理食塩水投与群に比べ有意に減少した。各アンチセンス核酸の肝臓移行量を定量すると、3'-Chol-HMS体の蓄積量が一番多く、次いで3'-Chol-C6SS\_TEG体、3'-Chol-TEG体、ApoB-LNAの順であった。蓄積量は投与量が異なるため *Pcsk9* のアンチセンス核酸の実験時よりも少ないが、リンカーの種類に肝蓄積

量の序列は同様であった。この結果は、アンチセンス核酸の配列が変化しても、肝臓移行性はリンカーにより強く規定されていることを示しており、肝臓移行性及び細胞指向性において普遍的であることが示された。また驚くことに、*Pcsk9* を標的としたアンチセンス核酸では TEG リンカーが薬効を大きく改善したのに対し、*ApoB* を標的としたアンチセンス核酸において TEG リンカーは薬効を発揮しなかった。一方、HMS リンカーは *ApoB* を標的とした場合、薬効を発揮し、その薬効は ApoB-LNA と同程度であった。しかし、全てのコレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸において、肝臓移行量は ApoB-LNA より増加を認めるにも関わらず、ApoB-LNA の薬効を上回る改善を示さなかった。実際、*Pcsk9* 標的型アンチセンス核酸においても3'-Chol-C6SS\_TEG体など、肝実質細胞に取り込まれている量が非コンジュゲート体よりも多いにも関わらず、薬効が認められなかった。このことからコレステロールコンジュゲート部位が細胞内において、アンチセンス核酸の細胞内動態や薬効メカニズムに関与する部分に強く影響していることが示唆された。

これまで、コンジュゲート分子を切り離す戦略としてジスルフィド結合を導入してきた。しかし、ジスルフィド結合を導入した Chol-TEG\_C6SS体や Chol-C3SS体は非実質細胞への移行性が増大し、薬効の改善は認められなかった。それゆえ、肝実質細胞内におけるコンジュゲート分子の離脱がアンチセンス効果を増大させるために必要であるか明らかでなかった。そこで、新たなアンチセンス核酸とリンカー部位を切り離す戦略として、アンチセンス核酸とリンカーをつなぐホスホロチオエート結合をホスホジエステル結合に置き換え、細胞内のエキソヌクレアーゼによりアンチセンス核酸とコンジュゲート部位を切り離すことを着想した(図5A)。そこで、肝実質細胞への蓄積量が多かった HMS リンカーをモデルとし、*Pcsk9* mRNA を標的としたアンチセンス核酸にコレステロールコンジュゲートを施した。これら2つのコレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸と PCSK9-LNA を2  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  で単回、マウス尾静脈より投与を行った。投与4日後に屠殺し、各臓器を摘出した。その後、肝臓のサンプルを使用し、*Pcsk9* mRNA の発現量を qPCR 法にて評価した。その結果、従来型の3'-Chol-HMS(S)体及び PCSK9-LNA 投与群では生理食塩水投与群と比較して *Pcsk9* mRNA の抑制は認められなかった(図5B, 棒グラフ)。一方、3'-Chol-HMS(O)体投与群では、生理食塩水投与群と比較して *Pcsk9* mRNA が約45%低減した(図5B, 棒グラフ)。また、それぞれの肝臓蓄積量を hELISA により評価すると、3'-Chol-HMS(S)体及び3'-Chol-HMS(O)体の肝臓蓄積量は同程度であることが示された。このことから、ホスホロチオエート結合から

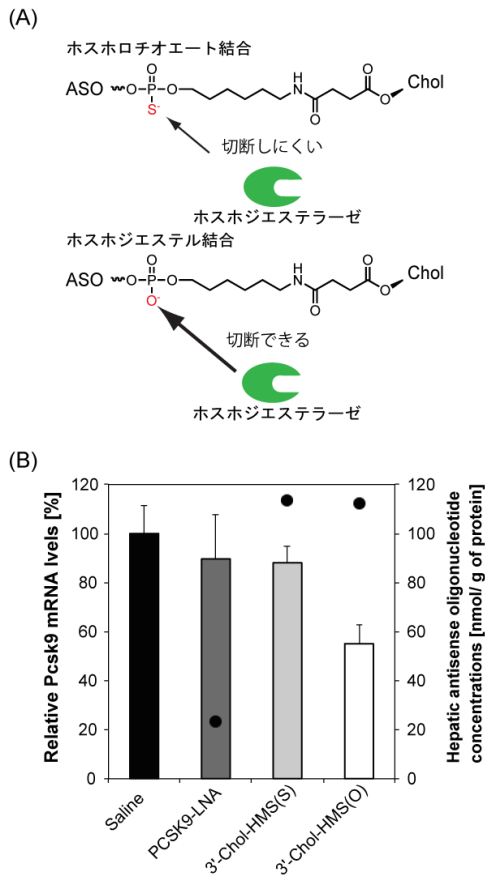


図5 リンカーの離脱によるコレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の薬効変化

ホスホジエステル結合へ変更したことによる肝臓移行性への影響はないと考えられる。そして、これらの結果から、コンジュゲート分子を切り離すことの有効性が証明された。これらの知見は、コンジュゲート型アンチセンス核酸の設計のガイドラインとなると考えられ、非常に重要性の高い結果と言える。

次に高用量投与による毒性の評価を行った。6  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  で PCSK9-LNA、3'-Chol-TEG 体、3'-Chol-HMS 体、3'-Chol-C6SS\_TEG 体を単回、尾静脈より投与した。3'-Chol-TEG 体及び 3'-Chol-HMS 体投与群では、投与直後より脱力し、投与 15 分程度で死亡した。死亡したマウスをそれぞれ解剖すると、各所で出血症状が認められた。また、早期に全身性の出血が認められることから播種性血管内凝固症候群様 (DIC; disseminated intravascular coagulation) の症状を呈していると考えられた。一方、PCSK9-LNA と 3'-Chol-C6SS\_TEG 体投与群では、このような毒性が認められなかった。しかし、肝毒性の指標である AST 及び ALT の値を、血清を用いて評価すると、3'-Chol-C6SS\_TEG 体投与群では AST と ALT のどちらも 700 (U/L) 程度まで達しており、急性肝毒性が生じていると考えられた。同用量の PCSK9-LNA の投与ではこれらの毒性が認められないことから、コレステロールを付加したことによる毒性と考えられた。また、リンカーの化学構造の違いにより毒性の強度に差が生じていると考えられた。投与する体積は 10  $\mu\text{L}/\text{g}$  (マウス体重) で設定しており、用

量により、投与時のアンチセンス核酸の濃度は異なる。2  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  の投与時に毒性が全く発現していないことから、投与する溶液のアンチセンス核酸の濃度が高まったことが毒性発現に起因していると考えた。コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸は核酸部位が親水性であり、コレステロールコンジュゲートの部位は疎水性が高くなっている。これらの特性から、コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の濃度が高まると、ミセル様の粒子が形成される可能性がある。そして、作業仮説として、このミセル様粒子が血中の凝固因子などの血液凝固系に関与する分子と相互作用することで DIC 様の症状がでると考えた。6  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  の用量を投与する際の溶液の濃度を 600  $\mu\text{M}$  とし、その状態における各アンチセンス核酸の状態を透過型電子顕微鏡 (transmission electron microscope: TEM) により撮影した。各アンチセンス核酸の溶液をリンタンゲスチン酸によりネガティブ染色を行い、80kV の加速電圧で観察を行った。その結果、PCSK9-LNA ではおよそ均一な粒子が全体に広がっているのに対し、コレステロールコンジュゲート体においては、PCSK9-LNA よりも大きな粒子を形成していることが明らかとなった (図 6)。特に 3'-Chol-TEG 体は大きく歪な粒子を形成しており、およそ 90-100 nm 程度の粒子系を有していることがわかった (図 6B)。しかし、2  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  投与時の溶液の濃度 (約 200  $\mu\text{M}$ ) で 3'-Chol-TEG 体を撮影すると、粒子を形成しているものは非常に少なく、ほとんどが歪な粒子を形成していない (図 6E)。一方、3'-Chol-HMS 体は 3'-Chol-C6SS\_TEG 体と同程度の大きさの粒子を形成していることが示された (図 6C, D)。3'-Chol-HMS 体では DIC 様の症状が引き起こされるが、

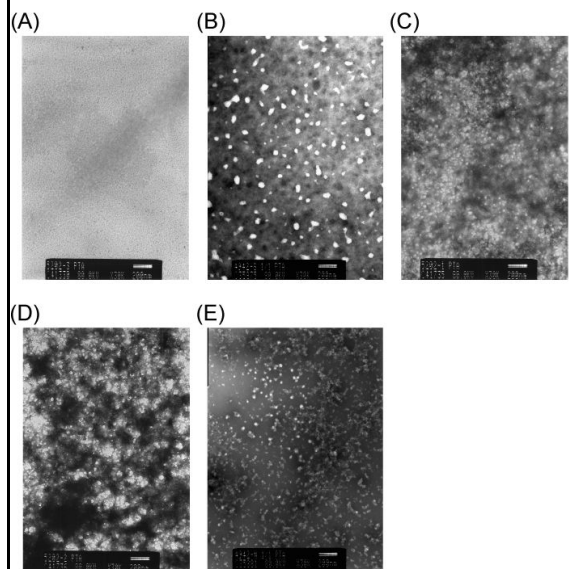


図6 各コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の高濃度条件下における形態 (A) PCSK9-LNA (600  $\mu\text{M}$ )、(B) 3'-Chol-TEG 体 (600  $\mu\text{M}$ )、(C) 3'-Chol-TEG\_C6SS 体 (600  $\mu\text{M}$ )、(D) 3'-Chol-HMS 体 (600  $\mu\text{M}$ ) (E) 3'-Chol-TEG 体 (200  $\mu\text{M}$ )

3'-Chol-C6SS\_TEG 体では急性肝毒性を呈するのみで致死性の毒性は発現しない。これらの結果から、ミセル様の粒子形成が毒性の引き金となっているが、その形態などは毒性強度に関与していないと考えられた。

次に高濃度のコレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸をマウスに投与し、投与初期にどのような症状が生じるかを確かめた。野生型の C57BL/6J マウスに対し 6  $\mu\text{mol/kg}$  で各アンチセンス核酸を尾静脈より投与した。投与直後より 10 分間の外的変化を観察した。生理食塩水や PCSK9-LNA、3'-Chol-C6SS\_TEG 体投与個体では著明な変化は認められなかったが、3'-Chol-TEG 体や 3'-Chol-HMS 体投与個体では 5 分程度で動くことができなくなり、呼吸が弱くなった。その後、麻酔下で解剖を行い、採血と各臓器の摘出を行った。採血で得た血清を用いて AST と ALT を測定すると、3'-Chol-TEG 体と 3'-Chol-HMS 体投与マウスで AST 値が他の投与群よりも高い傾向にあった。しかし、ALT 値においては、全投与群で同程度であった。また、採血により得た血液に対して、ギムザ染色とメイ・グリュンワルド染色を行い、赤血球と白血球の状態を観察した。その結果、どの投与個体においても赤血球の形態に大きな変化はなかった。次に同血液サンプルを用いて血球数を測定した。その結果、3'-Chol-TEG 体と 3'-Chol-HMS 体投与マウスの血小板数(PLT)が他の投与群に比べて、著しく減少しており、およそ通常の 10 分の 1 程度の数であった。これらの結果から、非常に早期に血小板数が減少し、播種性血管内凝固症候群を呈したと考えられた。DIC は劇症性肝炎によっても引き起こされる場合がある。しかし、本実験で観察された DIC は投与 10 分後には生じており、AST 及び ALT に大きな変化がないことから、劇症性肝炎由来の DIC でないことが示された。また、これらの結果と過去に報告されている結果を踏まえると、高濃度のコレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸が血小板に相互作用し、その凝固能を活性化したと考えられる。その結果、血中の血小板が凝集し、肺などに詰まることで出血が誘導され、さらに DIC 様の症状が引き起こされると考えられる。また、コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸を高用量で投与する際には、血中のアンチセンス核酸が高濃度にならない投与経路を使用するなどの対策が必要であることが示された。

本研究で得られた知見は、今後、コレステロールコンジュゲートだけでなく、様々なコンジュゲート型アンチセンス核酸を設計する上で非常に重要な設計指針を示すものである。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

1. Wada, S., Yasuhara, H, Wada, F, Sawamura, M, Waki, R, Yamamoto, T, Harada-Shiba, M and Obika, S: Evaluation of the effects of chemically different linkers on hepatic accumulations, cell tropism and gene silencing ability of cholesterol-conjugated antisense oligonucleotides. *Journal of Controlled Release*, 28, 226, 2016

[学会発表](計 3 件)

1. 和田俊輔, 安原秀典, 和田郁人, 山本剛史, 小比賀聡, 斯波真理子, 「Conjugation approach toward anti-PCSK9 antisense oligonucleotide reagent for getting further inhibitory effects.」, 第 46 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 東京, 2014 年 7 月 (ポスター、査読有り)
2. 和田俊輔, 安原秀典, 小比賀聡, 斯波真理子, 「コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の薬理薬効評価」, 第 23 回アンチセンスシンポジウム, セッション , 徳島, 2013 年 11 月 (口頭発表、査読無し)
3. 和田俊輔, 安原秀典, 和田郁人, 山本剛史, 小比賀聡, 斯波真理子, 「コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の薬理薬効評価」, 遺伝子・デリバリー研究会 第 13 回夏期セミナー, Honolulu, Hawaii, U.S.A, 2013 年 7 月 (口頭発表、査読有り)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

和田 俊輔 (WADA, Shunsuke)

国立循環器病研究センター・研究所・流動  
研究員

研究者番号 : 40631297