

平成 30 年 6 月 28 日現在

機関番号：82626

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12549

研究課題名(和文) 脳内の標的に特異的かつ高効率な非浸襲送達を可能にする新規高分子タンパク医薬の創出

研究課題名(英文) A novel approach to realize target-specific, noninvasive and highly efficient delivery of macromolecular drugs to the central nervous system

研究代表者

近藤 哲朗 (Kondo, Tetsuro)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員

研究者番号：30344229

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：近年、抗体医薬等の高分子医薬が世界の医薬市場で増加しているが、その多くは脳以外の臓器のがんや血液のがん、関節リウマチ等を対象としている。中枢を標的とした抗体医薬や高分子医薬は、高齢社会で急増しているアルツハイマー病をはじめ種々の神経変性疾患や脳腫瘍等の深刻な中枢疾患に対して、直接的な治療効果が望める次世代型バイオ医薬として早期の開発と実用化が求められているが、投与後の脳への送達効率の問題や血液脳関門が開発の障壁となっている。本研究では、脳内の標的へ非浸襲かつ高効率で投与が可能な高分子医薬の創出を目指し、その基盤技術開発として進化学を応用した新しいin vivoスクリーニング技術を創出した。

研究成果の概要(英文)：Antibody drugs have increasingly occupied a high share of the global pharmaceutical market in the past decade. Brain-targeted antibody drugs and macromolecular drugs are expected to be next generation biodrugs to have direct effects on brain tumors and neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease. However, so far, many of brain-targeted antibody drugs have resulted in clinical trial failures, possibly due to the inefficiency of CNS delivery by systemic injection and the difficulties of crossing the blood-brain barrier. In the present study, to realize noninvasive, highly efficient and target-specific delivery of macromolecular drugs to the CNS, a new in vivo screening method based on directed evolution was established in mice.

研究分野：総合領域

キーワード：脳 高分子タンパク医薬 抗体医薬 進化学

1. 研究開始当初の背景

近年、抗体医薬やタンパク医薬、核酸医薬等を中心とした様々な高分子医薬が種々の疾患の責任分子に対して設計・創出され、PEG化や糖鎖修飾技術の向上と共に、リポソームや高分子ミセル、さらにはエクソソームやカーボンナノチューブなどを用いた DDS キャリア・ナノデバイスの開発も進み、それぞれの高分子特性を活かした薬物送達技術が急速に進歩してきている。なかでも抗体医薬やタンパク医薬は、その特異性や劇的な治療効果から世界の医薬市場で需要が急増しており、今後ますます巨大なシェアを占めていくと予想される。しかし、その多くは、中枢以外の組織のがん(血液のがん、大腸癌、肺癌、乳癌など)や関節リウマチ等の自己免疫疾患を治療対象としたものがほとんどである。

一方、中枢の疾患に対しては気分障害や統合失調症、不眠症などを対象とした小分子薬剤が多く、高齢社会において世界的にも急激な勢いで患者数が増加しているアルツハイマー病や、レビー小体型認知症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、筋ジストロフィー等の種々の神経変性疾患や、神経膠腫をはじめとする悪性脳腫瘍などの中枢疾患に対しては、開発が成功して実用化に進んだ高分子医薬は極めて少ない。現在広く普及している認知症処方薬ドネペジルやメマンチン等は小分子ゆえ血液脳関門を通過可能だが、これらは疾病のない脳領域も含めた全般の神経活動の間接的上昇あるいは抑制による認知機能の改善を期待する薬剤であり、疾患そのものを直接標的にして根本的に治療する薬剤ではない。従ってこのような中枢疾患に対しては、様々な特異抗体や組換え機能タンパク、核酸などを分子内にデザインした高分子医薬が将来の中枢標的医薬として期待されているが、これらを実際に生体に投与する段階になると、脳への送達効率の問題(血中投与後の全身への拡散による脳への送達効

率の著しい低下)や脳以外の他臓器への影響の問題が生じ、また、脳へ到達した後も、その多くが血液脳関門(Blood-brain barrier: BBB)を通過できないという問題が残る。実際これまでアルツハイマー病の関連分子に対する抗体等、いくつかの中枢疾患の関連分子を標的とする抗体医薬が作成され、海外でも大規模な治験が行われてきたが、明確な結果が得られないまま、開発が中止されることが多い。つまり *in vitro* の実験等では高い効果が認められる高分子・タンパクを中枢標的医薬として設計しても、脳実質内への確実な送達は現状ではほとんど困難であり、これらを発現する培養細胞を脳内に移植するにしても穿頭・開頭などの手術が必要で、患者にかかるストレスは心理的なものも含めて少なくない。したがって神経変性疾患や脳腫瘍などの中枢疾患に対する高分子・タンパク医薬の開発・実用化における難しい課題の一つは、いかに効率的に脳へ送達し、しかも BBB の問題もクリアして非侵襲に投与が可能な高分子医薬を設計できるかということである。

高分子医薬を脳内へ非侵襲に送達する経路は、血中から BBB を通過させ脳実質に送達する経路と、BBB を回避して送達する経路がある。BBB を通過させる経路は、(1) BBB のタイトジャンクションの構成分子に対する抗体などによる機能修飾や超音波による結合の一時的な破壊を行って BBB の透過性を増大させる方法や(2)毛細血管内皮細胞表面のポリアニオンを標的としてカチオン性タンパクや塩基性側鎖を有する細胞膜透過ペプチド(CPP)を用いた細胞膜への静電的結合とそれに引き続く細胞内への取り込みを利用する方法、(3)インスリン受容体やトランスフェリン受容体、グルコーストランスポーター等、BBB 内皮細胞上で脳内とのタンパク質や物質輸送に寄与する受容体等に対するリガンドや抗体との融合タンパクを作

成し、受容体を介したトランスサイトosisを利用する方法等があり、先行研究では(3)の経路を中心に研究を行ってきた。BBB を回避した経路は、(1) 嗅神経軸索内輸送を経て篩骨篩板を通過後、嗅球系球体層に至る経路、(2) 三叉神経枝から三叉神経節を経て橋・三叉神経核に至る経路、(3) 神経軸索間隙の輸送、すなわち嗅神経軸索や嗅神経鞘細胞を囲む基底膜で覆われた神経束の間や繊維芽細胞との隙間が輸送経路となり、篩板通過後、クモ膜下腔脳脊髄液へ移行する経路が考えられる。神経軸索内輸送を経て(1)の嗅球や(2)三叉神経核・脳幹へ到達した場合、さらに脳の他の領域へ至るには経シナプス輸送が必要である。(3)の神経軸索束間隙や繊維芽細胞間隙からクモ膜下腔脳脊髄液に移行する経路では、脳実質へ至るには脳実質間質液から脳脊髄液への物質のクリアランスに寄与する“Glymphatic pathway”が関与する可能性が考えられる。本研究では、これらを踏まえ、BBB およびそれを回避した脳への高効率な非侵襲送達を実現する高分子医薬の創出を目指し、その基盤技術開発として進化工学を応用した新しい *in vivo* スクリーニング技術の開発を行った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、アルツハイマー病をはじめとする種々の神経変性疾患や脳腫瘍など高齢社会が抱える深刻な中枢疾患に対して直接的な治療効果が期待できる機能性タンパクや機能性高分子を、非侵襲でしかも高効率で脳内の標的に投与可能な次世代型バイオ医薬として新規創出することを目指した技術開発を行うことである。本研究では血液脳関門の膜タンパクや受容体に対して進化工学的手法を用いて創出した受容体結合親和性および機能制御性を示す機能モチーフの応用をはじめとして、さらに生体での高分子の脳内への送達に進化工学を応用した新し

い *in vivo* スクリーニング技術の開発を行った。これを種々の中枢疾患に対する医薬候補となる高分子・機能タンパクに応用し、脳へ非侵襲かつ高効率で送達可能な新しい高分子医薬の広汎な開発へ貢献することを目指す。

3. 研究の方法

マウス生体の生理作用および培養細胞等に進化工学を応用した高効率な高分子送達のスクリーニング技術開発

4. 研究成果

本研究計画では、高分子タンパク医薬を脳内の標的へ非侵襲的かつ高効率で送達するための技術開発を行った。本研究で得た成果の内容は、現在、所属機関にて進行中の特許出願の実施例に該当するため、具体的な記述の報告は特許出願後に改めて行う。そこで本項では、本研究で得た成果の基盤を記述する。本研究代表者は、自身の先行研究において、血液脳関門(BBB)上の膜蛋白・受容体に結合親和性・機能制御性を示すペプチドアミノ酸配列機能モチーフの探索を行った(平成23年度基盤研究)。独自に作成・構築した *in vitro* 血液脳関門モデル(多孔質膜を挟んだマウス脳毛細血管内皮細胞とアストロサイトの共培養系)をスクリーニングのアッセイ系に用い、一方で独自作成したランダムペプチドファージライブラリーを用い進化工学的手法により目的とするペプチド配列モチーフの探索を行って、マウス脳毛細血管内皮細胞に極めて特徴的な作用を示す機能モチーフを得た。さらにこれらの *in vitro* 実験結果をもとに成熟マウス生体を用いて進化工学を応用し、高分子を脳内の標的へ高効率で非侵襲送達するための新しい *in vivo* スクリーニング技術を創出し、本研究成果を得た。

5. 主な発表論文等

本研究で得た成果の内容は、現在所属機関にて進行中の特許出願における実施例に該当するため、論文発表は特許出願後に予定している。

〔産業財産権〕

出願状況（出願 計2件）

名称：

発明者：近藤哲朗

権利者：同上

種類：特許

番号：

出願年月日：

国内外の別：国内

名称：

発明者：近藤哲朗

権利者：同上

種類：特許

番号：

出願年月日：

国内外の別：国外

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤哲朗（KONDO, Tetsuro）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・バ

イオメディカル研究部門・主任研究員

研究者番号：30344229