薬 剤 学, **79** (3), 134–137 (2019)

≪若手研究者紹介≫

シクロデキストリン/デンドリマー結合体の難治性アミロイドーシス治療への応用

林　　祐　也*　Yuya Hayashi
熊本大学医学部附属病院 薬剤部 特別研究員

1. は じ め に

本稿を執筆する機会をいただけたことに心より感謝を述べたい．改めて振り返ると，2009 年に大学の研究室に配属され，研究というものに携わるようになり約 10 年が経過した．年数だけを見ると長い期間のように思えるが，体感としては刹那のように感じる．また，研究者として結果を残せているのか，成長できているのかと思う．今回は，私がこれまでの研究人生で経験したこと，感じたことのなかで，特に印象深く，糧となった出来事について紹介させていただきたい．

2. 研究のはじまり

当時，薬学部が 4 年制と 6 年制に分かれた初年度が大学受験の年だったが，研究がしたいから 4 年制を選んだのではなく，薬学部に進んでみたいという漠然とした考えから，熊本大学薬学部創薬・生命薬科学科に入学した．大学生活においても，日々の授業や実習を受けるのみで，明確に何がしたいという情熱を持って過ごしているわけではなかったので，3 年次の研究室配属を控えた 2 年次の年度末になって，どうしようかと焦りだしたのを今でも覚えている．成績順に配属先を選ぶというシステムの中で私が滑り込めたのが，有馬英俊教授の主宰する製剤設計学分野であった．

製剤設計学分野は，前身の製剤学研究室を主宰されていた上釜兼人名誉教授がライフワークとされた『シクロデキストリン（CyD）の医薬への応用に関する研究』を発展させた，『CyD を基盤分子とする個の医療を指向した統合型 DDS の構築』を目指した研究を展開していた．正直，学部学生の私にとっては難しすぎる研究理念であった．CyD は，グルコースが α-1,4 グリコシド結合で連なった環状マルトオリゴ糖であり，その内部に形成された疎水性空洞に種々の分子を取り込んで包接複合体を形成する単分子ホスト分子である．天然に存在する α-CyD, β-CyD および γ-CyD は，環を構成するグルコースの数が 6, 7 および 8 個から成り，その空洞径に応じて様々な分子を包接する．特に薬学領域においては，CyD の包接特性を利用して，薬物の可溶化，安定化，バイオアベイラビリティの向上などに応用されている．この CyD を基盤分子とした研究が展開されているなかで，私の研究テーマは『肝臓特異的な遺伝子・核酸医薬デリバリーを企図したキャリアの構築と有用性評価』であり，初めて行った実験はキャリアの合成とトランスフェクションであった．製剤設計学分野ではこれまでに，カチオン性ポリマーであるデンドリマーに細胞膜成分のリン脂質と相互作用が強い α-CyD を結合させた α-CyD/デンドリマー結合体（α-CDE）が，α-CyD のエンドソーム膜破壊促進効

*2016 年，熊本大学大学院薬学教育部博士後期課程修了，博士号（薬科学）取得．同年，テルモ株式会社に入社．2017 年，熊本大学医学部附属病院薬剤部特別研究員に着任し，現在に至る．2013～2015 年度，日本学術振興会特別研究員（DC1）．2015 年，8th Asian Cyclodextrin Conference にて The Nagai Poster Prize, 2018 年，日本薬剤学会第 43 回製剤・創剤セミナーにて Postdoctoral Presentation Award を受賞．研究テーマ：製剤学，DDS．趣味：お酒を嗜む．連絡先：〒860–8556 熊本県熊本市中央区本荘 1–1–1
E-mail: hayashi.yuya@kuh.kumamoto-u.ac.jp

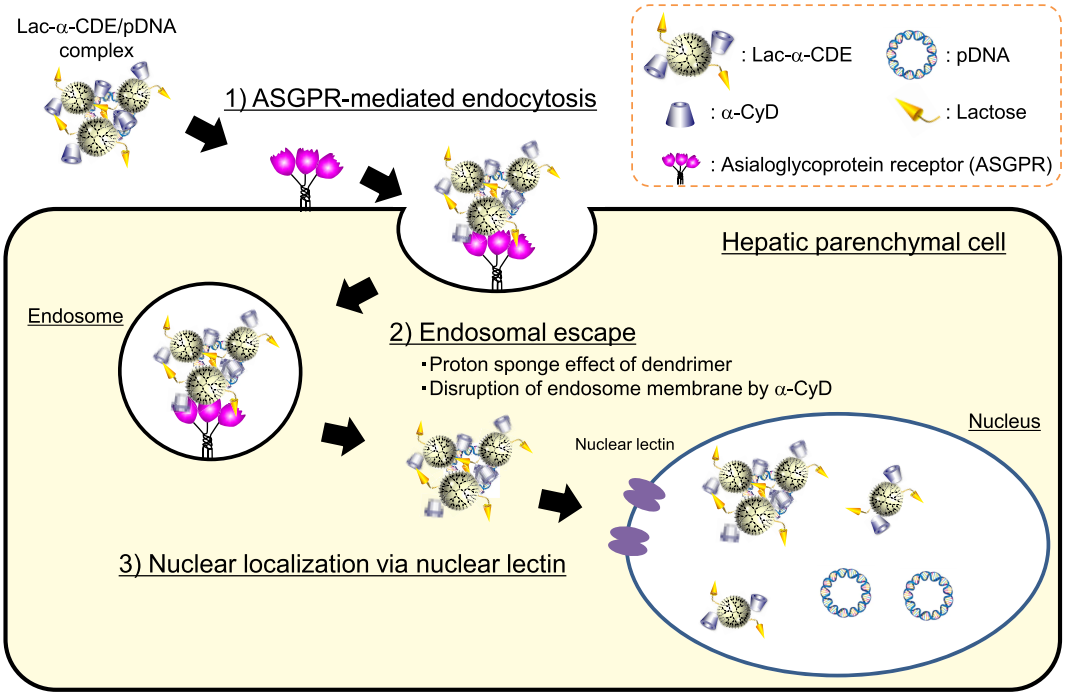

図 1　Lac-α-CDE による肝臓特異的な遺伝子デリバリー戦略

果により，デンドリマー単独と比較して約 100 倍高い遺伝子導入効率を示すことを見出していた．このα-CDE に対して，肝臓を構成する肝実質細胞に高発現するアシアロ糖タンパク質受容体（ASGPR）に認識されるラクトースを導入した，ラクトシル化α-CDE（Lac-α-CDE）を構築することで肝臓特異的な遺伝子デリバリーを達成することが目的である（図 1）[1]．私は当時，修士 2 年に在籍されていた 2 代目 Lac-α-CDE 担当研究者の Y. M 先輩の指導の下，実験を開始した．遺伝子・核酸医薬に関してはもちろんのこと，ターゲティングについてさえ知識が無いなかで，Y. M 先輩からは実験手技，資料の作成，プレゼンのコツに加え，多くを指導していただいた．特に，自分のことだけではなく，研究室の事務的作業，雑用などにも率先して取り組む，見て見ぬふりをしない，ということを当然のように実践している先輩の姿勢には感銘を受け，今でも私が心がけていることの一つである．こうして分からないことだらけの研究人生がスタートした．

3. 研究を治療に繋げるという意識を抱いた学部での研究生活

先輩が修了した 4 年次には，3 代目 Lac-α-CDE 担当研究者として研究を行うとともに，医学部との共同研究を行う機会を得た．おそらく，私が研究を続けるきっかけ，また，研究に対する意識が変わることになった出来事の一つだと思う．当時の熊本大学大学院医学薬学研究部病態情報解析学 安東由喜雄教授（現脳神経内科学分野教授）のご指導の下，トランスサイレチン型家族性アミロイドポリニューロパチー（ATTR-FAP）（現在では遺伝性 ATTR アミロイドーシスと呼称される場合が多い）の新規治療法開発を目指した研究がスタートした．ATTR-FAP は，肝臓から産生されるトランスサイレチン（TTR）の遺伝子変異によりアミロイド線維形成が促進され，末梢神経症状，種々の臓器障害を呈する極めて予後不良の全身性アミロイドーシスである[2]．日本，スウェーデンおよびポルトガルに世界的な患者の集積地があり，本邦では熊本，長野および石川に患者の大きな集積が存在する．有効な治療法として肝移植が行われていたものの，ドナー不足や高額な医療費などの問題点から，新規治療法の開発が求められていた．患者の集積地の一つである熊本において，安東教授らのグループは世界を牽引する ATTR-FAP 研究を展開していた．

学部 3 年次においては，「肝臓特異的なキャリアを構築し，その有用性を評価する」という目的で実験するイメージが強かったが，毎年開催される

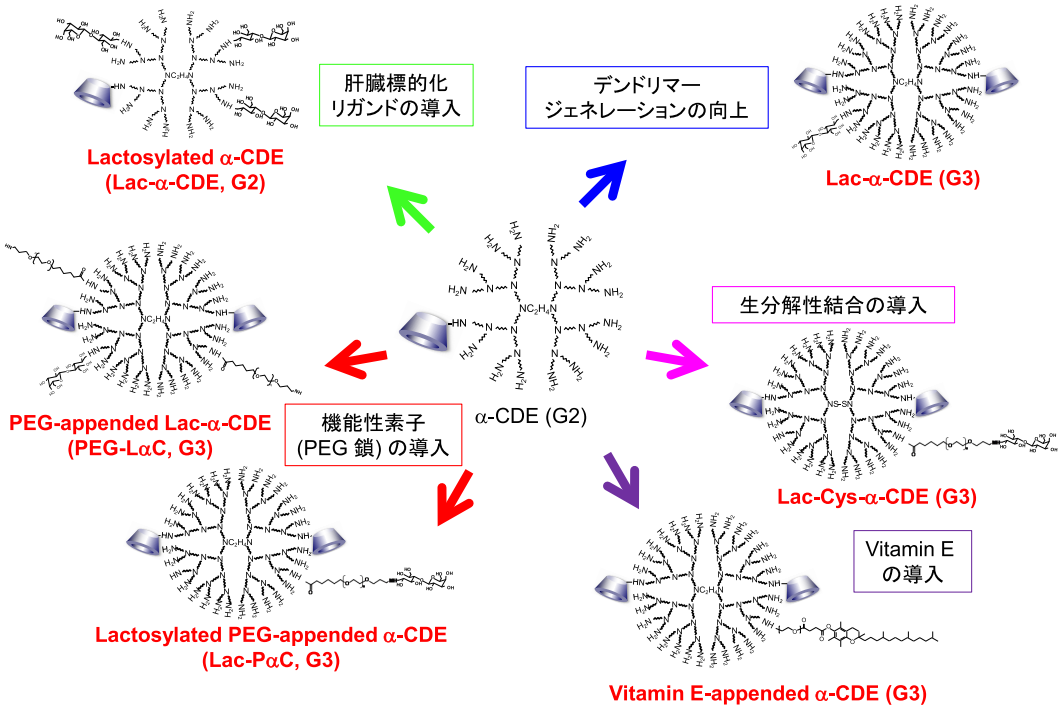

図 2　α-CDE を基盤とした遺伝子・核酸医薬キャリアの構築

ATTR-FAP の患者会への参加や，大学病院で患者さんに接する機会を通じて，「なんとかして目の前にいる患者さん達に治療法を届ける研究をしたい」というパッションを持つこととなり，治療を目指した研究を意識するきっかけとなった．ここから，疾患の原因である TTR の発現を抑制可能な核酸医薬である small interfering RNA（siRNA）を Lac-α-CDE を用いて肝臓特異的にデリバリーすることで ATTR-FAP 治療を目指すという思いを抱き，研究に打ち込むようになった．

4. さまざまな研究者に触れた大学院での研究生活

大学院博士前期課程へ進学後は，先代から引き継いだ Lac-α-CDE に加えて，肝臓への遺伝子・核酸医薬導入効率および安全性の向上を目指し，α-CDE を基盤とした様々な誘導体を合成し，治療へ応用できるキャリアを模索した（図 2）[3~5]．洗練された研究デザインを組み，スマートに実践するというよりは，様々な論文を読み漁り，可能性が見出せるものを取り込んで，キャリアを合成し，ひたすらデータをとるという期間であった．この期間で研究体力が養われたのではないかと感じる．

そんな修士 1 年の折，医学部でのリサーチミーティングでプレゼンした時に，安東教授から「今度の国際シンポジウムで発表してみるか？」と問われ，即答で「はい」と答えた．その結果，安東教授が大会長を務める熊本開催の VIIIth International Symposium of Familial Amyloidotic Polyneuropathy において，恐れ多くも“Development of essential therapy for FAP”のセッションでシンポジストとして発表させていただく機会を得た．同じセッションには，当時から世界をリードして核酸医薬開発を進めていた製薬企業である Alnylam 社と IONIS 社が名を連ねていた．Alnylam 社は siRNA，IONIS 社はアンチセンス核酸（ASO）を用いた ATTR-FAP 治療の前臨床および第 I 相臨床試験の結果を報告するなか，私は Lac-α-CDE を用いた siRNA デリバリーによる ATTR-FAP 治療戦略の有用性を発表した．今改めて振り返るとなかなかのチャレンジャーだなと我ながら思うが，新たな治療戦略の一つになるとパッションを持って発表した．この国際学会から約 7 年が経過した現在，Alnylam 社が研究開発を進めていた薬剤は，2018 年 8 月 10 日に ATTR-FAP 治療に対する siRNA 製剤「ONPATTRO™」として FDA より承認を受けた．これは，siRNA 製剤としても世界初の承認であり，今後の siRNA 製剤開発を益々発展させる大きな出来事であった．また，IONIS 社においても，2018 年 10 月 5 日に「TEGSEDI™」

として開発を進めていたASOが承認を受けた．

私がATTR-FAPの研究に初めて触れた時には，原因タンパク質である異型TTRの産生を抑制させる目的で行う肝移植以外の治療法は無かった．しかしながら，この10年の間に，TTRの四量体を安定化させることによりアミロイド線維形成を抑制する薬剤，肝臓からの異型TTRの産生を抑制するsiRNA，ASOなど新たな治療法が開発され，患者さんに治療に対する希望の光が生まれている．ATTR-FAP治療に対する治療法の登場を喜ぶ反面，実際に同じ学会の同じセッションで発表していた治療研究が承認まで辿り着いたことを思うと，自身の研究が進んでいないことを実感し，悔しく思う．

また，博士課程で自身を成長させた経験として，日本薬剤学会において学生主催シンポジウム“SNPEE（Student Network for Pharmaceutics Education and Evolution）”がある．博士前期課程では発表者として，後期課程では組織委員として携わることができた．通常の口頭発表とは異なり，発表会場には学生がメインで集まり，質疑でもマイクの前に学生が列をなして積極的な議論が行われた．まさに学生主体のシンポジウムであり，若手研究者のエネルギーを感じた．企画・運営に携わった博士後期課程では，シンポジウムとしてどのようなタイトルが良いか，構成・時間はどうすればよいか，学生としての特色を出すにはどうすればよいか，などを同年代の学生と議論し，作り上げていく作業は貴重な経験であった．今後，“若手研究者”として企画を立ち上げる上でも貴重な経験であったと思う．このような大学院での研究生活では，世界の研究者の研究推進力やスピード，同年代の研究者のエネルギーや多様性を実感し，自身を見つめ直す期間となった．

5. おわりに

学部学生，大学院生での研究を通じて，何が自身を成長させたかと考えると，やはり，様々な人との出会いが大きな要素を占めていると実感する．薬学領域の先生方，同年代の研究者からは研究領域の深さと広さを学んだ．加えて，附属病院の医師，看護師，検査技師の方々と打ち合わせやセミナーを共有できたことで，臨床現場での研究の考え方を学ばせていただいた．さらに，工学部の先生や学生との交流は，薬学のみの考え方にとらわれず，広い視点，柔軟な視点で物事に取り組むことを学ばせていただいた（とある共同研究において，実験を行うのに適したデバイスが無かった際に，「無いなら自分で作ったら？」と，ものの1カ月もしないうちにデバイスを作って評価に繋げられたことには驚いた）．その他にも，数学や経済学の研究者と学外で交流する機会もあったが，“研究者”としての考え方や打ち込む姿などからは学び取ることも多かった．私が出会った研究者達に共通して言えるのは，皆，研究のことを嬉々として語る点にあると思う．研究への好奇心，探究心とチャレンジ精神，そして，社会・医療に貢献したいというパッションを忘れずに今後も研鑽を積みたい．

最後に，これまでの研究生活において，終始御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました先生方，支え励ましていただいた先輩，同期，後輩の皆様に，この場を借りて深く感謝申し上げます．

引用文献

1) H. Arima, S. Yamashita, Y. Mori, Y. Hayashi, K. Motoyama, K. Hattori, T. Takeuchi, H. Jono, Y. Ando, F. Hirayama, K. Uekama, *In vitro* and *in vivo* gene delivery mediated by lactosylated dendrimer/α-cyclodextrin conjugates (G2) into hepatocytes, *J. Controlled Release*, **146** (1), 106–117 (2010).
2) Y. Hayashi, H. Jono, Recent advances in oligonucleotide-based therapy for transthyretin amyloidosis: clinical impact and future prospects, *Biol. Pharm. Bull*., **41** (12), 1737–1744 (2018).
3) Y. Hayashi, Y. Mori, S. Yamashita, K. Motoyama, T. Higashi, H. Jono, Y. Ando, H. Arima, Potential use of lactosylated dendrimer (G3)/α-cyclodextrin conjugates as hepatocyte-specific siRNA carriers for the treatment of familial amyloidotic polyneuropathy, *Mol. Pharm*., **9**, 1645–1653 (2012).
4) Y. Hayashi, T. Higashi, K. Motoyama, Y. Mori, H. Jono, Y. Ando, H. Arima, Design and evaluation of polyamidoamine dendrimer conjugate with PEG, α-cyclodextrin and lactose as a novel hepatocyte-selective gene carrier, *J. Drug Target*., **21** (5), 487–496 (2013).
5) Y. Hayashi, T. Higashi, K. Motoyama, H. Jono, Y. Ando, H. Arima, *In vitro* and *in vivo* siRNA delivery to hepatocyte utilizing ternary complexation of lactosylated dendrimer/cyclodextrin conjugates, siRNA and low-molecular-weight sacran, *Int. J. Biol. Macromol*., **107** (Pt A), 1113–1121 (2018).