

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	新規 LNP 技術を用いた脾臓への mRNA 送達に関する基盤研究				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	浅井 知浩
	研究分担者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	小出 裕之
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	米澤 正
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	浅井 知浩

講演題目	LNP を用いた脾臓への mRNA 送達技術の開発
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>脂質ナノ粒子 (lipid nanoparticle: LNP) 技術や修飾核酸技術の進展により、世界初の RNA 干渉薬や mRNA ワクチンが実用化に至った。一般に LNP の構成脂質には、核酸の保持、細胞内への移行、エンドソームからの脱出に欠かせない pH 応答性脂質が含まれる。実用化に至った pH 応答性脂質の構造の共通点は、その頭部に第 3 級アミンをもつことであり、酸性条件下でのみ頭部がイオン化しカチオン性を示す。そのため、これらの脂質はイオン化脂質と呼ばれる。一方、我々はイオン化脂質とは異なる特長を有する pH 応答性の電荷反転型脂質を設計し、独自の LNP 技術の開発で成果を挙げてきた。実用化に至った核酸 LNP 製剤の標的組織は、LNP が集積しやすい肝臓あるいは局所の筋肉であり、その他の臓器への核酸送達については今後の課題である。従来イオン化脂質を用いた LNP を静脈内投与すると、そのほとんどが肝臓に集積し、肝臓以外の組織に核酸を送達するのは容易ではない。一方、我々が開発した LNP は従来の LNP よりも安定性が高く、肝臓以外の標的組織への核酸送達に適すことがわかっている。本研究では、全身投与で脾臓に mRNA を送達する技術の開発を行った。</p> <p>脂質頭部にジペプチド構造を持つ新規 pH 応答性脂質を複数設計・合成し、mRNA 封入 LNP 製剤を調製した。効率的に mRNA を送達可能な LNP を作製するために、ジペプチド脂質 (dipeptide lipid: DPL) のアミノ酸の組み合わせや炭化水素鎖の構造について検討した。各 DPL を含む混合脂質溶液と mRNA 溶液を、マイクロ流体デバイス内で急速混和することで DPL を主成分とする LNP (DPL-LNP) を作製した。DPL-LNP の粒子径、多分散指数、ゼータ電位、内封率を測定し、物理化学的性質を明らかにしたうえで生物活性の試験に用いた。DPL-LNP の mRNA 導入効率を評価するため、ルシフェラーゼ mRNA を封入した LNP を HEK293T ヒト胎児腎細胞に添加した。ルシフェラーゼの発現活性を評価したところ、Glu-Arg ペプチドを頭部に持つ DPL を組み込んだ LNP で最も高い活性を示した。この結果を受けて、脂質頭部を Glu-Arg ペプチドの構造に固定し、炭化水素鎖の構造が異なる DPL を合成し、各 DPL-LNP の有用性を <i>in vivo</i> で評価した。ルシフェラーゼ mRNA を封入した DPL-LNP を BALB/c マウスに静脈内投与した後、その発現量を <i>in vivo</i> imaging system で可視化し、各臓器における発現活性を比較した。その結果、脾臓において高い発現活性を示す DPL-LNP を見出した。本研究で開発した DPL-LNP は、脾臓への mRNA 送達技術として有望であることが示された。全身投与で脾臓の目的細胞に mRNA を導入することが可能になれば、mRNA/LNP 技術を用いた <i>in vivo</i> CAR-T 療法の開発などへの貢献が期待できる。</p>