

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

研究テーマ	mRNA ワクチン開発に向けた新規 LNP 技術に関する基盤研究				
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	金沢大学附属病院・特任教授	氏名	島上 哲朗
		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
	発表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	浅井 知浩

講演題目	新規電荷反転型 LNP 技術を用いた PEG フリー mRNA 製剤の研究開発
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>近年、mRNA は、新たな創薬モダリティとして大きな注目を集めている。mRNA の送達キャリアとしては、これまでに脂質ナノ粒子 (lipid nanoparticle : LNP) が唯一実用化されている。一般に、核酸を封入した LNP 製剤の処方には、ポリエチレングリコール (PEG) 脂質が含まれる。PEG 脂質は、核酸封入 LNP の粒子形成に寄与し、粒子径制御や凝集抑制にも有効であるなど、LNP 製剤において重要な役割を担っている。しかし、PEG 脂質を含有する LNP は、PEG に対するアレルギー反応 (アナフィラキシーなど) を起こすことがあると報告されており、より安全性が高い PEG フリー LNP 製剤の開発が期待されている。そこで本研究では、PEG フリーの核酸 LNP 製剤の開発を目的として、pH 変化に応じて実効電荷が反転する新規電荷反転型脂質 DOP-TMDEDA を設計、合成した。極性頭部にリン酸基と 2 つの第三級アミン基を持つ DOP-TMDEDA は、酸性条件下では正電荷を帯びて mRNA と静電的に相互作用するため、この性質を利用することで LNP に mRNA を封入することが可能になる。また DOP-TMDEDA を用いて作成した LNP (DOP-TMDEDA LNP) は、中性条件下においてアニオン性を示すため、カチオン性のナノ粒子と比較すると、細胞障害性が低いことが見込まれる。本研究では、まずマイクロ流体デバイスを用いて DOP-TMDEDA LNP の調製を試みた。DOP-TMDEDA を含む混合脂質 (PEG 脂質不含) を溶解したエタノール溶液と mRNA を含む酸性水溶液をマイクロ流体デバイス内で急速混合した後、透析によってエタノールを除去して LNP を調製した。その結果、PEG 脂質を用いずとも直径約 70 nm の均一な LNP が得られることが明らかになった。DOP-TMDEDA は、中性 pH において適度に負電荷を帯びるため、粒子間に静電的な斥力が働き、PEG 脂質を用いずとも分散性の高い LNP が形成されたと考えられる。PBS 中における PEG フリー DOP-TMDEDA LNP の安定性を検討したところ、対照の LNP では粒子の凝集が観察されたが、PEG フリー DOP-TMDEDA LNP では粒子の凝集が見られず、粒子の安定性が高いことが明らかになった。PEG フリー DOP-TMDEDA LNP のインビボにおける有用性を明らかにするため、ホタルルシフェラーゼ (Fluc) をコードする mRNA を封入した LNP をマウスに筋肉内投与し、ルシフェラーゼの発現を評価した。PEG フリー DOP-TMDEDA LNP 投与群においてルシフェラーゼの発現が観察され、その発現レベルは PEG 脂質含有 DOP-TMDEDA LNP 投与群と同等であった。一方、対照の LNP では PEG 脂質を含有する群でのみルシフェラーゼ発現が観察された。以上より、本研究で開発した PEG フリー LNP 技術は、mRNA の送達技術として有用であることが示唆された。</p>