

# 長期保存可能な mRNA 内包脂質ナノ粒子を開発

～mRNA 創薬への貢献に期待～

## ポイント

- ・ mRNA の医薬品応用に欠かせない脂質ナノ粒子を構成する、新規の環状イオン化脂質を共同開発。
- ・ 環状イオン化脂質を含む mRNA 内包脂質ナノ粒子は溶液状態で長期の活性維持を達成。
- ・ イオン化脂質の環状構造が脂質ナノ粒子の保存安定性を高めるメカニズムを解明。

## 概要

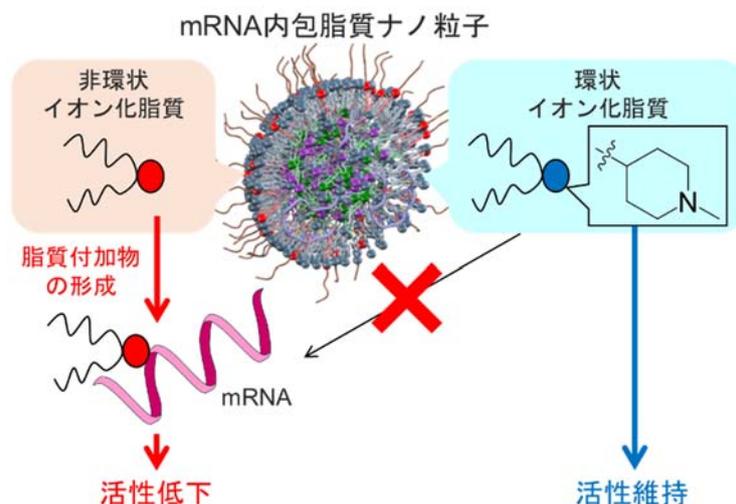
北海道大学大学院薬学研究院の佐藤悠介助教、原島秀吉教授、日東電工株式会社核酸医薬開発本部の橋場一毅研究員らの研究グループは、mRNA 内包脂質ナノ粒子の溶液状態での保存安定性を高める環状イオン化脂質の創製に成功しました。

mRNA 医薬品は理論上どの分子でも創薬標的とすることが可能であり、感染症/がんワクチン・遺伝性疾患治療・再生医療への応用が期待されています。mRNA 医薬品は従来の医薬品に比べて簡単に設計可能であることも魅力的であり、この特徴は COVID-19 に対するワクチンの迅速な開発に貢献しました。

mRNA は有望なモダリティですが、非常に不安定な物質であるため、安定に mRNA を標的細胞へ送達する DDS\*<sup>1</sup> 技術が必要です。また、COVID-19 に対するワクチンは凍結状態での輸送や保管という厳密な温度管理が必要です。今後の mRNA 医薬品の広い普及には凍結を必要とせず、溶液状態で長期に保管できる技術の開発が望まれています。

mRNA の長期保存を実現するために、研究グループは新規の環状イオン化脂質\*<sup>2</sup> を開発しました。本脂質を含む脂質ナノ粒子は効率的な mRNA 送達と高い保存安定性を示しました。また、本脂質の特徴である環状構造が脂質ナノ粒子の保存安定性を高めるメカニズムを解明しました。今回明らかになった知見は今後の脂質ナノ粒子による mRNA 医薬品開発に大きく貢献することが期待されます。

なお本研究成果は、2024 年 5 月 9 日（木）公開の Communications Biology 誌に掲載されました。



本研究の概要図

## 【背景】

生命活動に必要なタンパク質は、遺伝情報が保存されているDNAから直接産生するわけではなく、DNAの必要な部分だけmRNAにコピー（転写）されてからタンパク質へ翻訳されます。mRNAを医薬品として導入することで身体に必要なタンパク質合成を誘導できるため、mRNAの感染症/がんワクチン・遺伝性疾患治療・再生医療への応用が期待されています。加えて、mRNAは従来の医薬品に比べて簡単に設計可能であることも魅力で、この特徴はCOVID-19に対するワクチンの迅速な開発に貢献しました。

しかしながら、mRNAはサイズが大きく、陰イオン性であるため、細胞膜を透過しにくいです。その上、生体内の酵素で分解されやすいため、細胞内へ辿り着くことが困難であり、この課題がmRNAの医薬品への応用を妨げていました。この課題を解決する方法として、薬物の体内動態を制御する技術であるDDSが注目を浴びています。DDSの中でも、mRNA用途のDDSとして最も進んでいる技術は脂質ナノ粒子（Lipid Nanoparticle: LNP<sup>\*3</sup>）であり、上述のCOVID-19ワクチンにも採用されています。LNPは複数種の脂質から構成され、mRNAを内包することで分解から保護し、細胞質へのRNA送達を実現します。一方で、mRNA内包LNP製剤は溶液状態での保存安定性が低く、その輸送や保管には厳密な温度管理が必要であり、これが今後のmRNA医薬品の普及を妨げる要因となる可能性があります。

近年、LNPの主要な構成脂質であるイオン化脂質の分解物が内包したmRNAに結合することでmRNAが不活性化するという報告がなされましたが、その不活性化の抑制が可能なイオン化脂質の構造に関しては知見が得られていません。今回、研究グループは新たに多様なイオン化脂質を合成し、環状構造を持つイオン化脂質が高い保存安定性を示すことを見出すとともに、そのメカニズム解明を試みました。

## 【研究手法】

本研究では、環状構造のうちピペリジン骨格<sup>\*4</sup>に着目しました。ピペリジン骨格を共通構造として有する環状イオン化脂質を新たに23種類合成しました。これらの環状イオン化脂質とCOVID-19に対するmRNAワクチン製剤に採用されているイオン化脂質（承認イオン化脂質）を含めた従来の非環状イオン化脂質を含むmRNA内包LNPの溶液状態における保存安定性を比較しました（図1）。また、脂質の環状構造が高い保存安定性を示すメカニズムの解明を目指しました。

## 【研究成果】

研究グループはまず、各環状イオン化脂質あるいは非環状イオン化脂質を含むmRNA内包LNPを製し、筋肉内投与によるワクチン効果を比較しました。その結果、複数の環状イオン化脂質が承認イオン化脂質と比較して同等の体液性免疫（抗体産生）と優れた細胞性免疫を誘導しました。以上の結果から、環状イオン化脂質はmRNAを効率的に導入することが可能であることが明らかになりました。

次に、mRNA内包LNPを液体状態で保存した後のmRNA導入活性を調べたところ、承認イオン化脂質を含む非環状イオン化脂質は保存1か月後から活性が低下した一方で、環状イオン化脂質は5か月後においても活性を維持することが明らかになりました（図2）。

米モデルナ社はイオン化脂質の分解で生じる疎水性アルデヒド<sup>\*5</sup>とmRNAとの付加体が発生することで不活性化するメカニズムを報告しています。そこで、各イオン化脂質に含まれるアルデヒドを調べたところ、環状イオン化脂質からはほとんどアルデヒドが検出されませんでした。続いて、イオン化脂質とmRNAを混合することで付加体が生じるかを調べたところ、環状イオン化脂質は付加体をほとんど生じませんでした。疎水性アルデヒドは第三級アミノ基を有するイオン化脂質が酸化することで生じるアミノキシドから発生します。そこで、環状イオン化脂質がアミノキシドを生じにくいのか、あるいは、生じたアルデヒドの反応性が低いのかを調べました。その結果、アミノキシドの発生速度は非環

状イオン化脂質と同様であることから、生じたアルデヒドのmRNAとの反応性が低いことが想定されました。環状イオン化脂質のアミノキッドが分解した場合に同一分子内にアルデヒドと第二級アミノ基が生じます。アルデヒドはmRNAではなく同一脂質分子内の第二級アミノ基との分子内反応により安定な環状構造を形成することで消費される、というメカニズムが考えられました (図3)。

### 【今後への期待】

本研究成果である環状イオン化脂質により、液体状態でも長期保存可能なmRNA内包脂質ナノ粒子製剤の実現に大きく貢献することが期待されます。これにより、輸送から医療施設における保管時の極低温での厳密な温度管理の必要性が緩和され、今後のmRNA医薬品普及の後押しが期待されます。生体内の細胞に対してmRNAを効率的に導入し、必要なタンパク質を産生することが可能となります。

また、優れた保存安定性を示すメカニズムの解明も進んだことから、この知見を基にした新たな機能性イオン化脂質の分子設計に繋がり、より高度な mRNA 医薬品の実現へ貢献することが期待されます。

### 論文情報

論文名	Overcoming Thermostability Challenges in mRNA-Lipid Nanoparticle Systems with Piperidine-Based Ionizable Lipids (ピペリジンベースのイオン化脂質を用いた mRNA-脂質ナノ粒子システムにおける熱安定性課題の克服)
著者名	橋場一毅 <sup>1</sup> 、田口将光 <sup>1</sup> 、坂元左知子 <sup>1</sup> 、大津彩夏 <sup>1</sup> 、前田佳己 <sup>1</sup> 、江部宏史 <sup>1</sup> 、岡崎有道 <sup>1</sup> 、原島秀吉 <sup>2</sup> 、佐藤悠介 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 日東電工株式会社核酸医薬開発本部、 <sup>2</sup> 北海道大学大学院薬学研究院薬剤分子設計学研究室)
雑誌名	Communications Biology (生物科学の専門誌)
DOI	10.1038/s42003-024-06235-0
公表日	2024年5月9日(木)(オンライン公開)

### お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 助教 佐藤悠介 (さとうゆうすけ)

T E L 011-706-3734 F A X 011-706-3734 メール y\_sato@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.pharm.hokudai.ac.jp/yakusetu>

北海道大学大学院薬学研究院 教授 原島秀吉 (はらしまひでよし)

T E L 011-706-2197 F A X 011-706-2197 メール harasima@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.pharm.hokudai.ac.jp/mirai/>

### 配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

日東電工株式会社ブランドコミュニケーション部広報グループ (〒530-0011 大阪市北区大深町4番20号)

T E L 06-7632-2101 F A X 06-7632-2568 メール communication\_group@nitto.co.jp

【参考図】

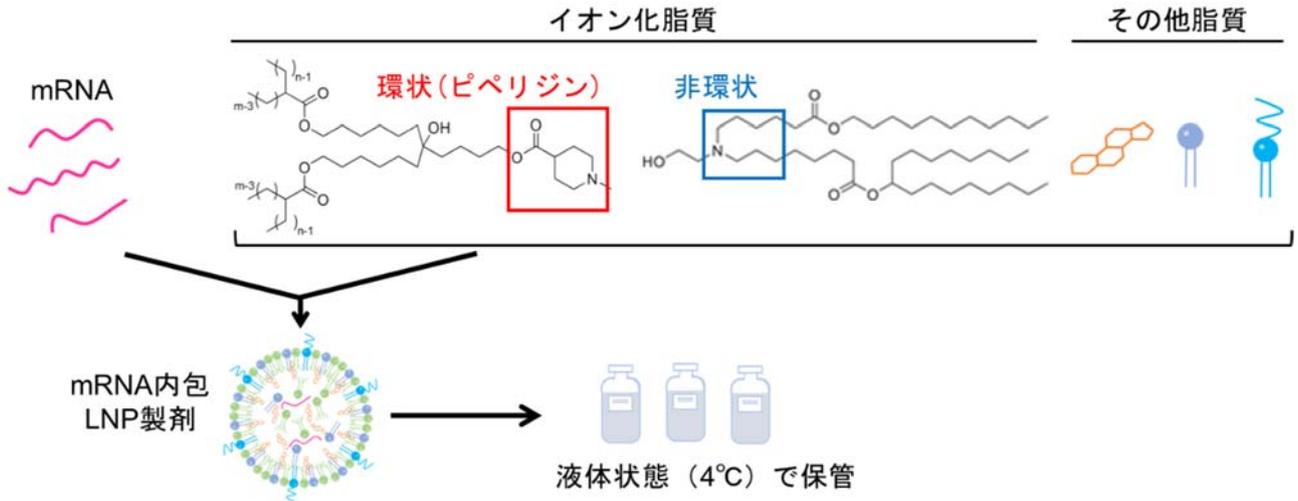


図 1. mRNA 内包 LNP の作製と保存安定性評価

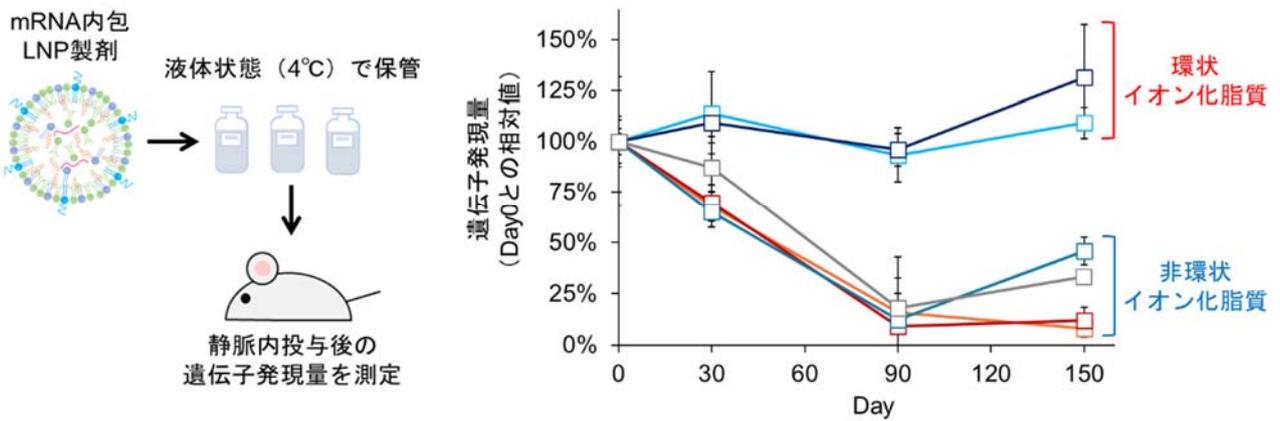


図 2. 脂質の環状構造が mRNA 内包 LNP の保存安定性を左右する

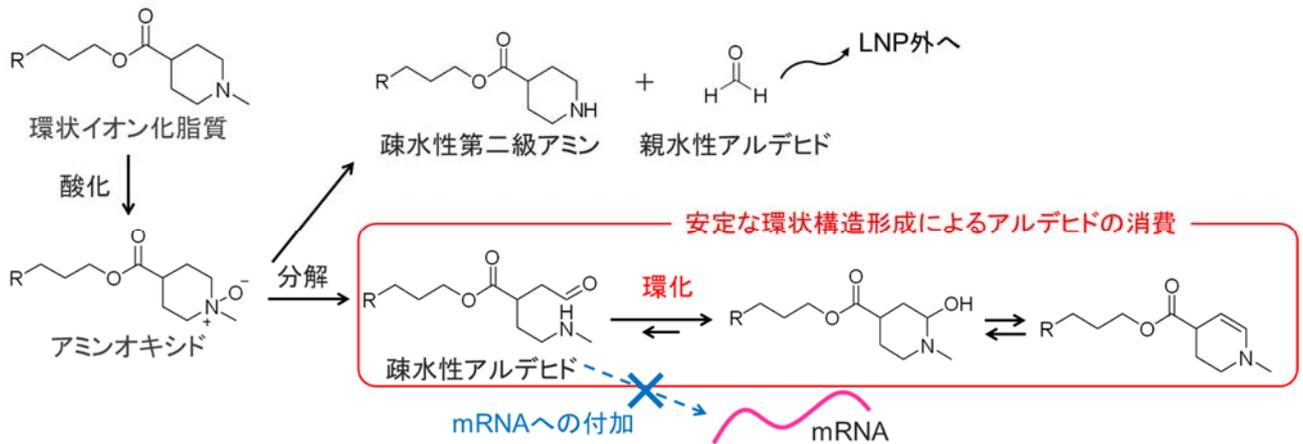


図 3. 環状イオン化脂質から発生する疎水性アルデヒドは安定な環状構造の形成により mRNA へ付加しない

## 【用語解説】

- \* 1 DDS … Drug delivery systemの略語。薬物の体内動態を量的・空間的・時間的に制御する手法のこと。薬効の最大化と副作用の低減が期待される技術。
- \* 2 イオン化脂質 … 第三級アミノ基を有し、mRNAのLNPへの内包や標的細胞への送達に重要なLNP構成脂質のこと。
- \* 3 Lipid Nanoparticle: LNP … 複数種の脂質とmRNAを混合することで作製できる直径数十nmから数百nmのナノ粒子のこと。細胞膜透過性の低いRNAをLNPに内包することで、RNAを細胞へ導入できる技術。
- \* 4 ピペリジン骨格 … 窒素原子を1つ含む6員環構造のことであり、本研究ではこの骨格を頭部構造に持つイオン化脂質の分解物がmRNAに付加しないことでLNPの保存安定性の改善に貢献している。
- \* 5 アルデヒド … 本研究では、イオン化脂質の分解により生じる物質。mRNAに付加することで不活性化し、LNPの保存安定性の低さの原因の一つとして報告されている。