

# 肝臓外への mRNA 送達を実現する脂質ナノ粒子を開発

～mRNA 創薬への貢献に期待～

## ポイント

- ・脂質ナノ粒子に含まれるイオン化脂質の足場構造が、mRNA 送達の臓器選択性に関わることを発見。
- ・イオン化脂質に短い足場構造を導入することで、脾臓選択的な mRNA 送達を達成。
- ・得られた脾臓標的化脂質を使用した mRNA ワクチンによって抗原特異的免疫を誘導。

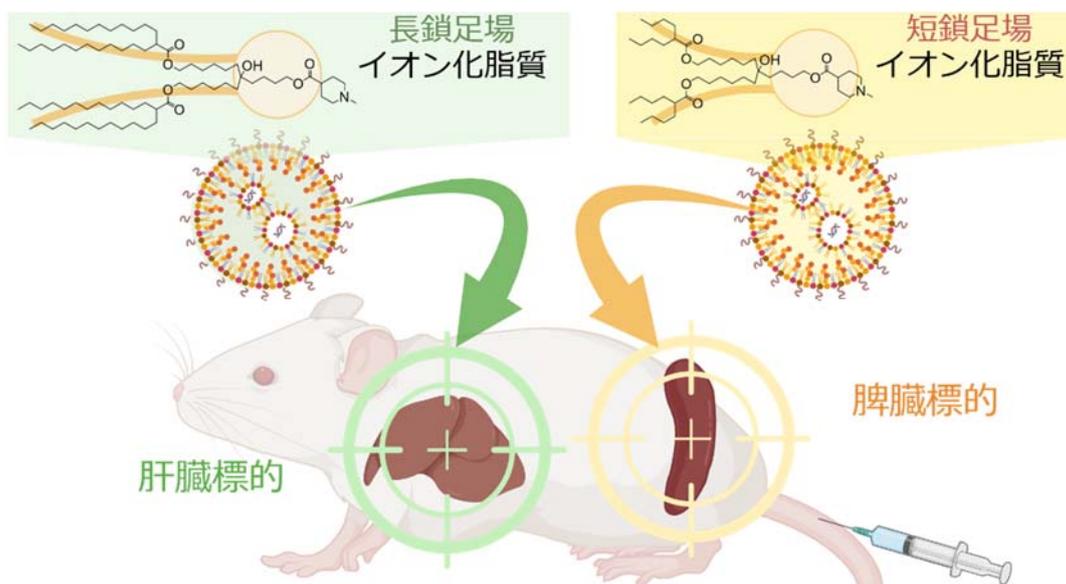
## 概要

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統括部の橋場一毅研究員らの研究グループは、脾臓選択的な mRNA 送達を実現する脂質ナノ粒子 (Lipid Nanoparticle: LNP<sup>\*1</sup>) の開発に成功しました。

COVID-19 のパンデミックに対して mRNA ワクチンが迅速に開発・承認された背景には、LNP 技術の貢献が必要不可欠でした。LNP は非常に不安定な物質である mRNA を分解から保護し、mRNA が体内で機能することを助けます。LNP は肝臓に移行しやすい特徴を有しており、研究グループはこれまでに、肝臓への効率的な mRNA 送達を可能とする LNP 開発に成功しています。

今回、研究グループは、LNP の主要な構成成分であるイオン化脂質<sup>\*2</sup>に着目し、その分子構造の中でも疎水性分岐足場部分の総炭素数を減らすという単純な誘導体化戦略によって、肝臓外組織、特に脾臓へ mRNA を送達できることを見出しました。それに加え、本戦略を異なるイオン化脂質に適用した場合においても、mRNA の送達先が肝臓から脾臓へ移行することを確認できました。また、得られた脾臓標的化脂質を使用した mRNA ワクチンは動物モデルで抗原特異的な免疫誘導できることも示されました。本研究成果はイオン化脂質の合理的設計に基づく組織選択的な mRNA 導入の実現に貢献します。

なお、本研究成果は、2024 年 10 月 7 日 (月) 公開の Nano Letters 誌に掲載されました。



本研究の概要図

## 【背景】

COVID-19のパンデミックに対してmRNAワクチンが迅速に開発・承認された背景には、脂質ナノ粒子 (Lipid Nanoparticles: LNP) 技術の貢献が必要不可欠でした。LNPは薬物の体内動態を制御する技術 (Drug delivery system: DDS<sup>\*3</sup>) の一つであり、RNA送達用のDDSとして最も進んでいる技術です。LNPは複数種の脂質から構成されるナノ粒子製剤であり、mRNAを内封することで分解から保護し、mRNAが体内で機能することを助けます。LNPは肝臓に移行しやすい性質を有しているため、肝臓を標的としたsiRNA<sup>\*4</sup>医薬品や臨床試験中のmRNA製剤にも採用されています。研究グループもこれまでに、肝臓への効率的なmRNA送達を可能とするLNP開発に成功しています。近年では、mRNAの医薬品への応用可能性を拡大するために、肝臓以外の組織へmRNAを送達できるLNP開発への関心が高まっています。肝臓外へのmRNA送達を実現するために、電荷付加やりガンド修飾を施した高機能化LNPの開発が進んでいますが、製剤の複雑化に伴うコストの増大や大量製造における再現性の低下が課題として見込まれています。

## 【研究手法】

今回、研究グループは、LNPの主要な構成成分であるイオン化脂質に着目しました。イオン化脂質は、mRNAの封入・体内動態制御・細胞内動態制御を担う重要な脂質であり、現在も構造探索が進められていますが、脂質構造からLNPの臓器移行性を予測することは依然として困難です。イオン化脂質の分子構造の中でも疎水性分岐足場部分を誘導体化し、動物モデルでmRNA発現の臓器選択性を評価しました。

## 【研究成果】

研究グループはまず、疎水性分岐足場部分の総炭素数が異なる9種類のイオン化脂質を合成し(図1)、各イオン化脂質を構成要素とするmRNA内封LNP製剤を作製しました。得られた製剤を動物へ投与し、mRNA発現の臓器選択性を比較しました。その結果、疎水性分岐足場部分の総炭素数を減らすほど、mRNA発現が肝臓から脾臓へ移行することを見出しました(図2)。このようなイオン化脂質の足場を短くするという単純な誘導体化戦略の一般性を確かめるために、複数の異なる構造のイオン化脂質を用いて足場の総炭素数の影響を検証しました。その結果、いずれの構造のイオン化脂質においても足場の長いイオン化脂質を含むLNPは肝臓へ移行しやすい一方で、足場の短いイオン化脂質を含むLNPは脾臓へ移行しやすいことが確認されました。

このメカニズムとして、LNPの表面特性が臓器指向性を決める上で重要であると考えました。LNPを構成する4種類の脂質はLNP内で不均一に分布し、その中でもリン脂質のDSPC<sup>\*5</sup>は比較的大きな親水基を有するため、LNP表面に優先的に配置されることが報告されています。そこで、理論的な計算を行うと、イオン化脂質の足場の長さに依存して、LNP表面のDSPC密度は変化すると推定されました。推定したDSPC密度を含む様々な粒子特性と脾臓選択性の相関分析を実施した結果、LNPの臓器指向性を決定する上でLNP表面のDSPC密度の重要性が強く示唆されました(図3)。

足場が短く脾臓選択性の高いイオン化脂質CL15F6-4を含むLNPの応用性を調べるため、Ai14トランスジェニックマウス<sup>\*6</sup>を使用して細胞レベルでのmRNA送達先を評価しました。足場の長いCL15F14-12含有LNPと比較して、CL15F6-4含有LNPは脾臓の樹状細胞やマクロファージへ優先的にmRNAを送達することが明らかとなりました(図4)。抗原提示細胞は抗原特異的な免疫誘導に対して重要な役割を担っているため、脾臓選択的LNPのmRNAワクチンへの応用可能性を検討しました。SARS-CoV-2スパイクタンパク質の受容体結合部位 (RBD<sup>\*7</sup>) を生成するように設計されたmRNAを脾臓選択的LNPへ封入したmRNAワクチンは、動物モデルにおいて抗原特異的な免疫を誘導できることが示されました。

## 【今後への期待】

本研究成果はイオン化脂質の設計によりmRNA内封LNPの臓器選択性を制御可能であることを示し、その設計指針の一端を明らかにしました。本研究により得られたイオン化脂質の設計指針を基に、より優れた脂質分子の設計や、肝臓外組織を標的としたmRNA創薬の実現に繋がることが期待されます。

## 論文情報

論文名 Impact of Lipid Tail Length on the Organ Selectivity of mRNA-Lipid Nanoparticles (イオン化脂質の足場構造が mRNA-脂質ナノ粒子の臓器選択性に与える影響)  
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>、鈴木裕一<sup>2</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統括部、<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 Nano Letters (ナノ材料に関する専門誌)  
DOI 10.1021/acs.nanolett.4c02566  
公表日 2024年10月7日(月)(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. 疎水性分岐足場部分の総炭素数が異なるイオン化脂質の例（左: 足場の短い CL15F6-4、右: 足場の長い CL15F14-12）

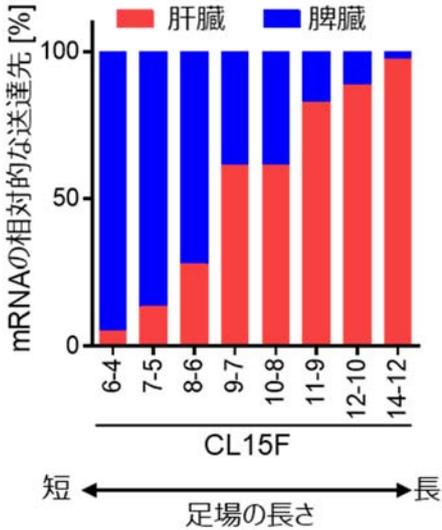


図 2. イオン化脂質の疎水性分岐足場部分の総炭素数が mRNA 内封 LNP の臓器指向性を大きく変化させる。

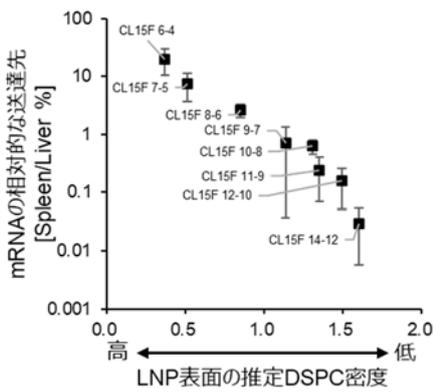


図 3. mRNA 内封 LNP の臓器指向性と LNP 表面の DSPC 密度の関係性

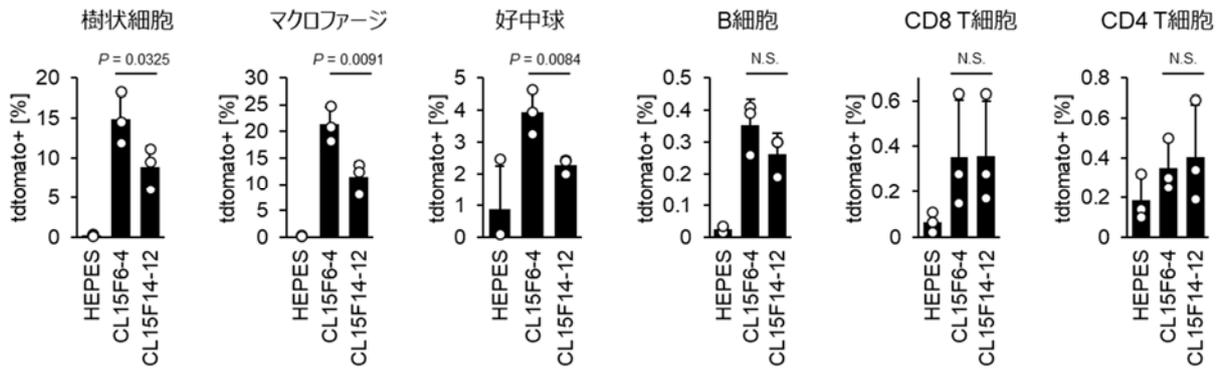


図 4. CL15F6-4 を含む脾臓標的化 LNP の細胞レベルでの mRNA 送達先

### 【用語解説】

- \*1 LNP … 複数種の脂質を主成分とする直径数十nmから数百nmのナノ粒子のこと。
- \*2 イオン化脂質 … LNPの主要な構成脂質であり、pHの低下に応答して電気的中性から正電荷へ変化する特性を示す。mRNAの搭載や細胞質への送達を担う成分。
- \*3 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。
- \*4 siRNA … small interfering RNAの略語。RNA干渉と呼ばれる現象を誘導し、配列特異的にmRNAを切断することで標的遺伝子の発現を抑制できる。世界初のsiRNA医薬品にはLNP製剤が適用された。
- \*5 DSPC … 1,2-Distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholineの略語。典型的なLNPは、イオン化脂質・コレステロール・リン脂質・PEG脂質の4種類からなるが、リン脂質としてDSPCが適用される例が多い。
- \*6 Ai14トランスジェニックマウス … Creタンパク質を発現させると蛍光タンパク質 (tdTomato) の持続的発現が誘導されるマウス。細胞レベルでのmRNA送達効率を高感度に評価できる。
- \*7 RBD … Receptor Binding Domainの略語。SARS-CoV-2スパイクタンパク質がヒトの細胞の受容体であるアンギオテンシン変換酵素2 (ACE2) と結合する領域。