

脂質ナノ粒子による mRNA 送達を促進する 膜融合性リン脂質の開発に成功

～mRNA 創薬への貢献に期待～

ポイント

- ・生体膜との融合性を促進する双性イオン性リン脂質の開発により mRNA 送達効率を向上。
- ・mRNA 送達効率を向上させる双性イオン性リン脂質の分子設計の指針を解明。
- ・双性イオン性リン脂質の分子設計による脂質ナノ粒子の高機能化戦略を新たに提案。

概要

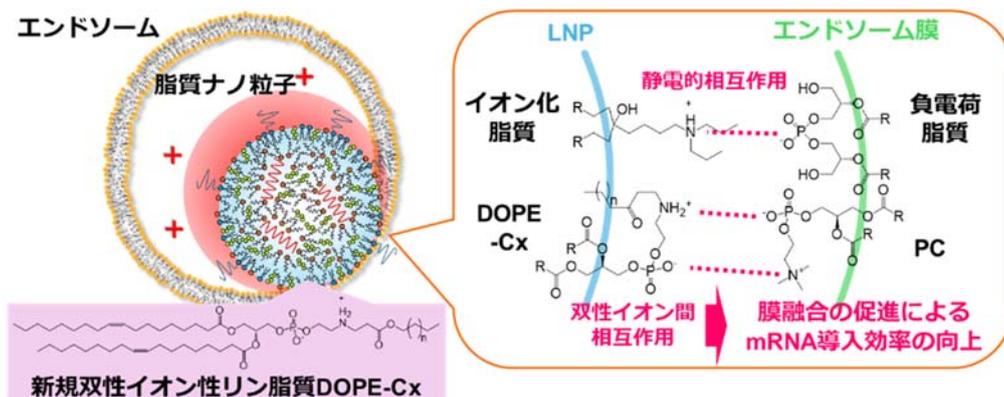
北海道大学大学院薬学研究院の佐藤悠介准教授、同大学大学院生命科学院修士課程の岩川和樹氏（研究当時）の研究グループは、脂質ナノ粒子（Lipid Nanoparticle: LNP*¹）の mRNA 送達能を向上させる双性イオン性リン脂質*²の開発に成功しました。

mRNA 医薬品は理論上あらゆるタンパク質を発現可能であることから、非常に有望な治療モダリティです。しかし、生体内で分解されやすいため、医薬品応用のためには薬物送達技術（drug delivery system: DDS*³）が必須です。mRNA 用 DDS として最も進んでいる技術は LNP であり、COVID-19 ワクチンにも採用されています。

現在、LNP の高機能化は主要な構成成分であるイオン化脂質*⁴の大規模探索が主流です。これにより、これまでに mRNA 導入性能の飛躍的な向上が達成されています。一方で、mRNA 導入効率は未だ改善の余地が大きく残されています。また、イオン化脂質以外のリン脂質などの LNP 構成脂質の分子設計による LNP の高機能化に関する試みはほとんどなされていませんでした。

研究グループは、LNP の生体膜との融合性改善による mRNA 送達効率の更なる向上を目指し、天然リン脂質を原材料として単純なプロセスにより製造可能な双性イオン性リン脂質 (DOPE-Cx) を合成しました。LNP 構成脂質として汎用されるリン脂質を DOPE-Cx に置換することで mRNA 導入効率の改善に成功しました。また、DOPE-Cx の構造が生体膜と相互作用した時に誘導する脂質多型*⁵への影響や、その脂質多型と mRNA 導入効率の改善効果に関連性が見出されました。今回開発された双性イオン性リン脂質 DOPE-Cx は、広範な mRNA 搭載 LNP 医薬品への利用が期待されます。

なお、本研究成果は、2025 年 2 月 17 日（月）公開の Advanced Science 誌に掲載されました。



本研究の概要図

【背景】

mRNA は、医薬品として生体内へ導入することで目的とするタンパク質合成を誘導できるため、感染症/がんワクチン・遺伝性疾患治療・再生医療等への応用が期待されています。それに加えて、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。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、細胞内のリボソームへ mRNA が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す。

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 LNP です。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。最も主要な LNP 構成脂質であるイオン化脂質は弱酸性環境下で正に帯電する性質を持つ脂質であり、負電荷である mRNA の効率的な内包を担うことに加え、エンドソーム膜に存在する負電荷脂質と相互作用することで膜融合を誘導し、内包 mRNA の細胞質への送達を促進する役割を果たします。近年、LNP の高機能化を目的として、最も主要な構成脂質であるイオン化脂質の大規模探索が精力的に行われていますが、mRNA の細胞質送達効率は未だに大きな改善の余地があります。

一方で、リン脂質を含む他の LNP 構成脂質の戦略的な分子設計に関する試みはほとんどなされていません。研究グループは、エンドソーム膜の主要な構成脂質であり平面二重膜構造を安定化している中性リン脂質であるホスファチジルコリン (PC) *⁶ と相互作用することでエンドソーム膜を不安定化させることができれば、mRNA の細胞質への導入効率を改善可能であると着想しました。そこで、天然に存在する膜融合性リン脂質である DOPE を出発材料として系統的に構造の異なる双性イオン性リン脂質 (DOPE-Cx) を独自に分子設計し、LNP の生体膜との融合性改善による mRNA 送達効率の向上を目指しました (図 1)。

【研究手法】

本研究では、系統的に構造が異なる双性イオン性リン脂質 DOPE-Cx を合成し、DOPE-Cx 含有 LNP の mRNA 導入性能を既存のリン脂質含有 LNP と比較しました。続いて DOPE-Cx が PC とどのように相互作用するかを核磁気共鳴法やクライオ電子顕微鏡*⁷ 観察等により分析することで、機能的な双性イオン性リン脂質の分子設計指針を得ることを目指しました。

【研究成果】

研究グループはまず、天然に存在する膜融合性リン脂質である DOPE の親水性頭部末端に長さの異なる疎水性炭化水素鎖を付加した、7 種の新規双性イオン性リン脂質 DOPE-Cx を合成しました (図 2)。各 DOPE-Cx を含む LNP の肝臓への mRNA 導入効率を比較したところ、DOPE-C8 を最適脂質として見出しました。DOPE-C8 含有 LNP は、LNP の構成リン脂質として汎用される DSPC や DOPE を含有する LNP と比較して、有意に優れた mRNA 導入効率を示しました (図 3)。3 種の LNP は同様の体内分布及び肝臓内局在を示したことから、DOPE-C8 含有 LNP の優れた mRNA 導入効率は細胞取り込み後の送達プロセスの改善に由来することが示唆されました。モデル生体膜として赤血球を用いてエンドソーム内を模倣した弱酸性 pH 環境における LNP の膜破壊能を測定したところ、DOPE-C8 含有 LNP は DSPC 含有 LNP よりも優れた活性を示しました。このことから、DOPE-C8 による生体膜との相互作用の促進効果が示唆されました。

DOPE-Cx の生体膜との相互作用をより詳細に解析するため、各 DOPE-Cx と生体膜の主要な PC で

ある POPC を混合した脂質懸濁液における脂質多型を核磁気共鳴法*⁸により解析したところ、生体膜の平面二重膜であるラメラ相は確認されなかったことから、全ての DOPE-Cx が PC と相互作用して膜構造を破壊することが分かりました。また、DOPE-C8 を含めた炭化水素鎖長が短い DOPE-Cx では等方性の鋭いピークを示し、膜融合を誘導する上でエネルギー的に有利な立方相*⁹の存在が示唆されました。DOPE-C8 と POPC から脂質懸濁液をクライオ電子顕微鏡により観察したところ、立方相の存在が認められました (図 4)。

DOPE-Cx 構造、脂質多型、及び mRNA 導入効率の関係を検証するために、新たに種々の分岐炭化水素鎖構造を持つ DOPE-Cx を 7 種合成しました。先に得られた結果と同様に、比較的短い炭化水素鎖を持つ DOPE-Cx が核磁気共鳴測定により等方性のピークが得られ、また、DOPE-C8 と同等あるいはそれ以上の mRNA 導入効率の向上効果を示しました。以上のことから、比較的小さな炭化水素鎖を持つ DOPE-Cx が立方相を誘導することで mRNA 導入効率を改善するメカニズムが示唆され、生体膜との相互作用を促進する膜融合性双性イオン性リン脂質の設計指針が明らかになりました。

最後に DOPE-C8 の生体内分解性を検証しました。その結果、DOPE-C8 の肝臓における半減期は 2 時間以下であり、臓器到達後に速やかに分解されることが分かりました (図 5)。膜構造を破壊する特性を有する機能性脂質の体内における長期蓄積は細胞機能を損なうリスクがあります。DOPE-C8 の優れた分解性はそのリスクを低減し、安全性の高い mRNA 導入に寄与すると考えられました。

【今後への期待】

本研究成果は生体膜脂質である PC と相互作用し LNP とエンドソームとの膜融合を促進する双性イオン性リン脂質 DOPE-Cx の開発に成功しました。また、脂質多型及び mRNA 導入効率と DOPE-Cx 構造との関連が明らかになり、双性イオン性リン脂質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双性イオン性リン脂質の設計指針を基に、より優れた脂質分子の開発が期待されます。また、様々な特性を有するイオン化脂質との組み合わせにより、肝臓以外の様々な臓器・組織への効率的な mRNA 導入の実現と mRNA 医薬への貢献が期待されます。

論文情報

論文名	Cubic Phase-Inducible Zwitterionic Phospholipids Improve the Functional Delivery of mRNA (立方相誘導性双性イオン性リン脂質は機能的な mRNA 送達を改善する)
著者名	岩川和樹 ¹ (研究当時)、佐藤理佳子 ² 、小中真理子 ² 、山田勇磨 ² 、原島秀吉 ² 、佐藤悠介 ² (¹ 北海道大学大学院生命科学院、 ² 北海道大学大学院薬学研究院)
雑誌名	Advanced Science (材料科学・生命科学・工学を含む学際的な科学誌)
DOI	10.1002/adv.202413016
公表日	2025 年 2 月 17 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 准教授 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/index.html>

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

【参考図】

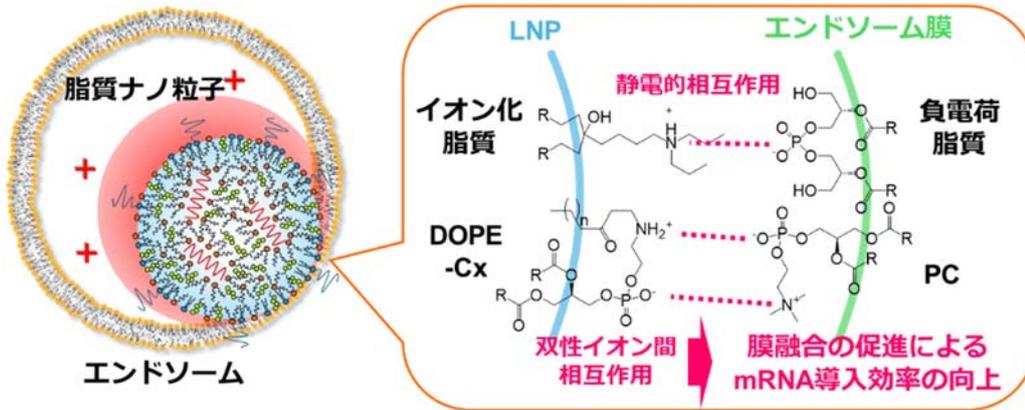


図 1. 双性イオン性リン脂質 DOPE-Cx による mRNA 導入効率向上戦略。

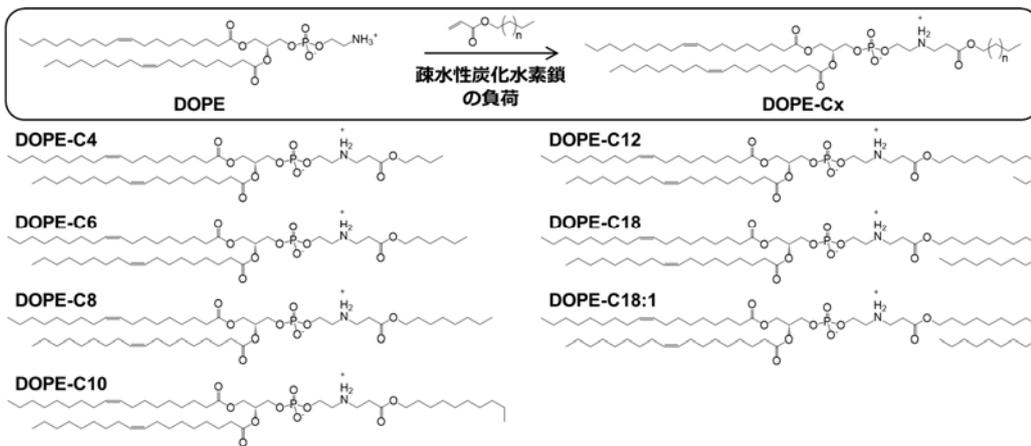


図 2. DOPE-Cx の化学構造。

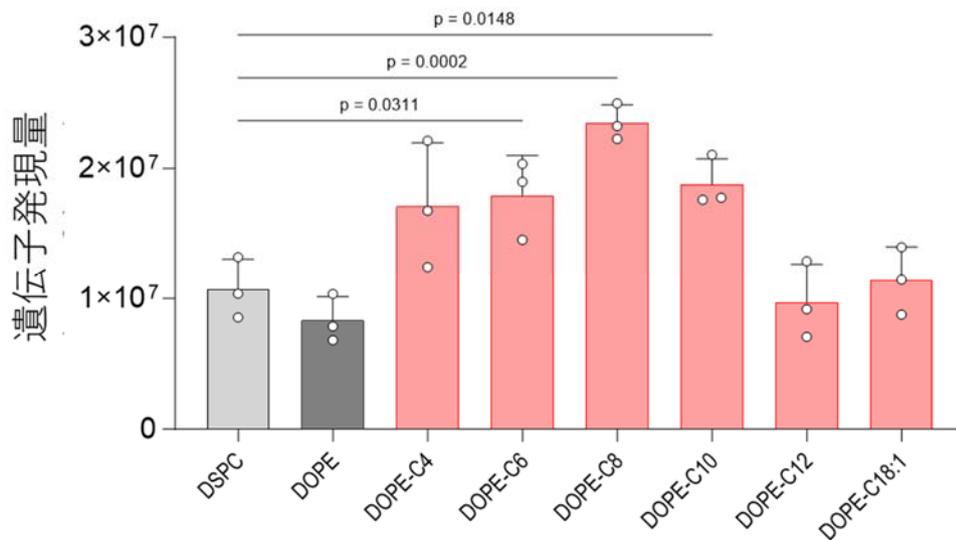


図 3. 各 DOPE-Cx 含有 LNP による mRNA 導入効率。

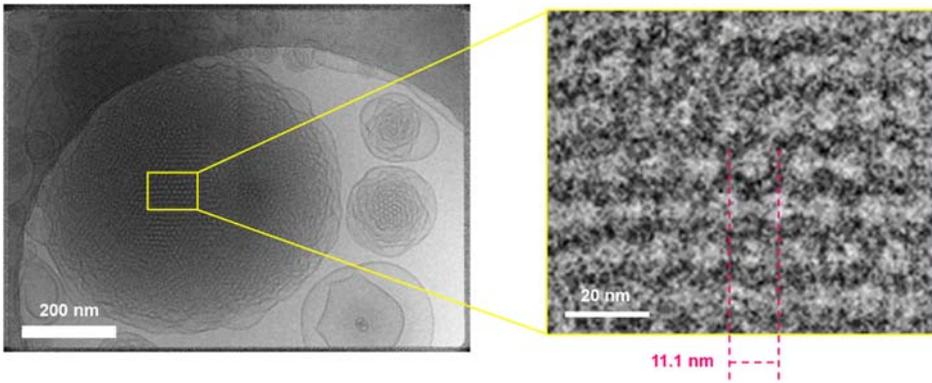


図 4. DOPE-C8 と POPC からなる脂質懸濁液のクライオ電子顕微鏡観察像。

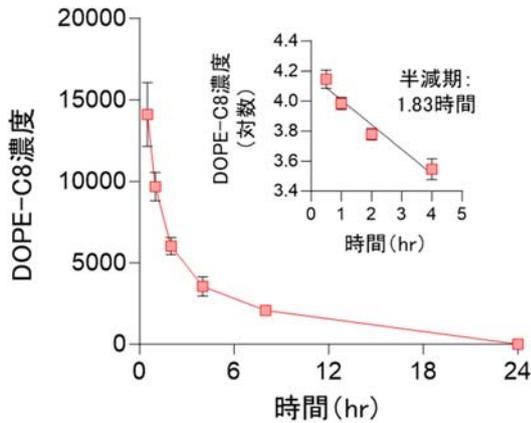


図 5. DOPE-C8 の肝臓中濃度の時間推移。

【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 双性イオン性リン脂質 … 親水基にリン酸基（負電荷）と正電荷の両方を持つ脂質のこと。生体膜に多く存在する。LNP の構成成分の一つとしても利用される。
- * 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 イオン化脂質 … LNP の最も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。RNP の搭載や細胞質への送達に非常に重要な成分。
- * 5 脂質多型 … 脂質分子は疎水性基と親水性基の両方を有する両親媒性分子であり、両者の相対的な大きさに応じて異なる構造の集合体となり、それを脂質多型という。生体膜で多く見られる平面二重膜であるラメラ相や本研究で見られた立方相などがある。
- * 6 PC … 親水基としてホスホコリン基を持つ電気的に中性な双性イオン性リン脂質のこと。生体膜に最も多く存在するリン脂質であり、平面二重膜を安定化させるため膜融合を抑制する。
- * 7 クライオ電子顕微鏡 … 極低温条件下で試料に電子線を照射することで凍結試料の微細な構造観察を行うための装置のこと。
- * 8 核磁気共鳴法 … 外部静磁場に置かれた原子核が固有の周波数の電磁波と相互作用する現象を利用して分子構造や分子集合体の構造を解析する方法のこと。
- * 9 立方相 … 3 次元的に規則的に配列した 1 枚の膜構造のこと。その膜面は極小曲面を形成するため、核磁気共鳴法において等方性のピークを示す。