

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	ナノ粒子受容体分子を標的とした脂質ナノ粒子製剤に関する基盤研究				
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	広島国際大学 薬学部・教授	氏名	池田 潔
	発表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	浅井 知浩

講演題目	CD169 陽性抗原提示細胞を標的とした脂質ナノ粒子の開発
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>COVID-19 に対する mRNA ワクチンの緊急承認を契機に、mRNA は創薬モダリティとして大きな注目を集めるようになった。今後はウイルス感染症に対するワクチン開発のみならず、様々な非感染性疾患に対する治療薬開発において mRNA 製剤の研究が加速すると考えられる。脂質ナノ粒子 (lipid nanoparticle: LNP) 技術は、mRNA の安定性、体内動態、導入効率、および効果を決定付ける重要な製剤技術であり、今後の mRNA 医薬の発展の鍵を握っている。</p> <p>これまでに我々は、アミノ酸と脂質からなる pH 応答性脂質誘導体を設計し、生体分子を組み合わせることで核酸を送達する独自の LNP 技術を開発した。本研究では、この LNP 技術を発展させ、CD169 陽性の抗原提示細胞を標的とした mRNA デリバリーシステムの開発を目指した。CD169 は、エクソソーム上の $\alpha 2,3$-シアル酸を認識する分子であり、CD169 陽性マクロファージがエクソソームを内在化する際にはナノ粒子受容体分子として機能することが知られている。また CD169 陽性マクロファージは、病原体やエクソソーム抗原などを認識して細胞内に取り込み、炎症や免疫応答を惹起することが報告されている。この免疫応答は、がんや炎症性腸疾患など、様々な疾病の病態に関与することが示唆されている。そこで本研究では、このエクソソームトラフィッキングの機構を利用した独自の mRNA デリバリーシステムの確立を目指し、CD169 を標的とした新規 LNP 技術の開発を試みた。</p> <p>本年度は新たに合成した $\alpha 2,3$-シアル酸誘導体を用い、CD169 標的化 LNP の調製について検討した。$\alpha 2,3$-シアル酸誘導体は 1 つのチオール基を有しており、マイケル付加反応によって LNP 膜界面のマレイミド基と結合させた。その結果、直径約 100 nm の高い mRNA 内封率を持つ $\alpha 2,3$-シアル酸修飾 LNP を得た。HPLC を用いて $\alpha 2,3$-シアル酸の修飾量を定量したところ、修飾効率は約 90% であることが明らかになった。$\alpha 2,3$-シアル酸修飾 LNP のターゲティング能を評価するため、CD169 陽性抗原提示細胞を作成した。マウスから単離した骨髄細胞を M-CSF 存在下で培養することで分化させ、マウス骨髄由来マクロファージ (BMDM) を作成した。この BMDM に CD169 が過剰に発現する培養条件を、フローサイトメトリーを用いて評価し決定した。$\alpha 2,3$-シアル酸修飾 LNP の mRNA 送達効率について検討するため、Cy5 標識 mRNA を封入した LNP を作成し、IFN-α 刺激 BMDM に添加した。その結果、LNP 表面上の $\alpha 2,3$-シアル酸構造が CD169 陽性抗原提示細胞に認識されるためには、脂質誘導体の $\alpha 2,3$-シアル酸以外の構造も重要であることが示唆された。今後は $\alpha 2,3$-シアル酸誘導体の構造最適化検討を行い、CD169 陽性抗原提示細胞選択的な mRNA/LNP 製剤の開発を進める。</p>