

効率的な mRNA 送達を可能とする分岐脂質の創製

～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分岐型脂質を共同開発。
- ・ 分岐脂質は効率的な mRNA 送達を可能とし、単回投与でのタンパク質発現やゲノム編集を達成。
- ・ 脂質の分岐構造が脂質ナノ粒子の性能と安定性を高めるメカニズムを解明。

概要

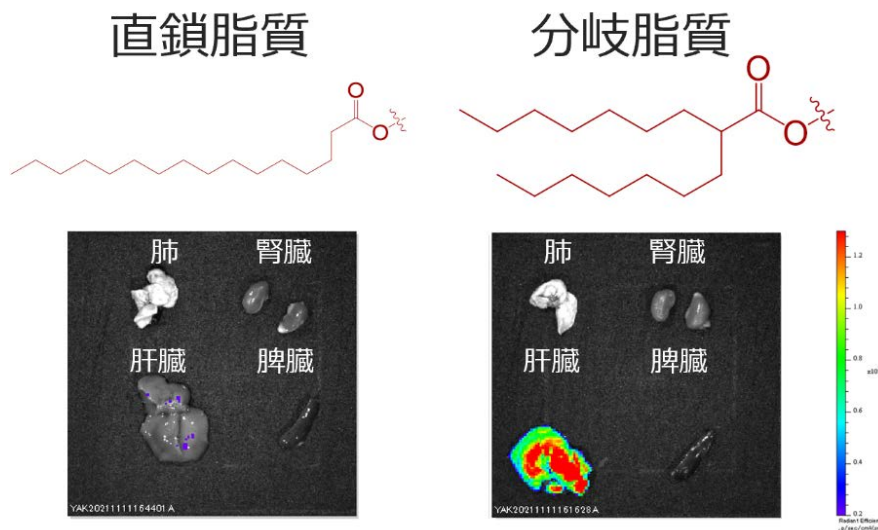
北海道大学大学院薬学研究院の佐藤悠介助教、原島秀吉教授、日東電工株式会社核酸医薬開発本部の橋場一毅研究員らの研究グループは、効率的な mRNA 送達を可能とする分岐脂質の創製に成功しました。

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、生体内で分解されやすいため、医薬品応用のためにはドラッグデリバリーシステム (Drug delivery system: DDS^{*1}) が必須です。mRNA 用 DDS として最も進んでいる技術は脂質ナノ粒子であり、上述の COVID-19 ワクチンにも採用されています。

効率的な mRNA 送達を実現するために、研究グループは新規の分岐脂質^{*2}を開発しました。本脂質から作製される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。それにより、単回投与での効率的なタンパク質発現やゲノム編集^{*3}を達成しました。また、本脂質の特徴である分岐構造が脂質ナノ粒子の性能と保存安定性を高めるメカニズムを解明しました。今回開発された分岐脂質から構成される脂質ナノ粒子の mRNA 医薬品への利用が期待されます。

なお、本研究成果は、2022 年 11 月 10 日 (木) 公開の Small Science 誌に掲載されました。



【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。より詳細には、細胞内でリボソームが mRNA の塩基配列を解読してアミノ酸を連結することでタンパク質が産生します。この生体の仕組みを利用することで、タンパク質のアミノ酸配列から遡って mRNA の塩基配列を人工的に設計することができます。したがって、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。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脂質ナノ粒子（Lipid Nanoparticles: LNP^{*4}s）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。

近年、LNP の構成脂質として分岐脂質が mRNA 送達に有効であるという報告がなされておりますが、市販で入手可能な分岐化合物は限られているため比較数が限られており、体系的な知見が得られていないのが現状です。そこで研究グループは市販の原料から分岐化合物を自ら合成し、多種多様な分岐脂質を獲得することで、高性能な脂質の網羅的探索とそのメカニズム解明を試みました。

【研究手法】

本研究では、分岐脂質のうち α 分岐脂質に着目しました。 α 分岐脂質は主鎖と分岐鎖からなりますが、市販で入手可能な原料を用いて各鎖の長さをそれぞれ自由に制御しながら合成可能です。この特徴を利用して、各鎖の長さがそれぞれ異なる α 分岐脂質を新たに 32 種類合成しました。即ち、分岐構造の「分岐度」や「各鎖の長さの合計」が少しずつ異なる脂質のラインナップを獲得することができました。これらの分岐脂質から作製される脂質ナノ粒子の性能を比較することで、脂質の分岐構造の理解と高性能な脂質の獲得を目指しました（図 1）。

【研究成果】

研究グループはまず、32 種類の各脂質と mRNA をそれぞれ装置内で急速に混合することで、32 種類の LNP を作成しました。その結果、分岐度の高い脂質から作成された LNP は高効率での mRNA 送達を実現することが明らかとなりました。また、脂質の各鎖の長さの合計に応じて、送達されやすい臓器が変化しました（図 2）。

このように分岐脂質が優れた機能を有するメカニズムを理解するため、研究グループは LNP の細胞内輸送経路に着目しました。一般的に、LNP はエンドソームという小胞に包まれる形で細胞へ侵入します。エンドソーム内の酸性環境で、正に帯電した LNP が負電荷のエンドソーム膜と静電的に相互作用することで、LNP はエンドソームを突き破り、内包していた mRNA をタンパク質合成の場である細胞質へ送達できます。そこで、各 LNP が酸性環境で帯電する度合いを比較しました。その結果、分岐度の高い脂質から作成された LNP は正に帯電しやすいことが確認されました。

次に、実用化を目指す上では LNP の薬効だけではなく長期的な保存安定性も重要であるため、本研

究で作製した 32 種類の LNP の保存安定性を評価しました。その結果、分岐度の高い脂質から作製された LNP は保存安定性が高いという事実を見出しました。

研究グループは、分岐脂質が優れた保存安定性を有するメカニズムの理解を目指しました。脂質は LNP 内部でゆるやかに拘束されつつも、水平方向の移動や回転運動をしています。一方、リン脂質研究において、脂質に分岐構造が存在すると脂質の運動が抑制されることが知られています。私たちは脂質の運動性が LNP の保存安定性に関わっている = (脂質の運動性が低いほど) LNP が初期の性状を維持しやすいと仮説を立てました。LNP 内部の脂質の運動性を粘性*5として測定した結果、分岐脂質の「分岐度」と「各鎖の長さの合計」の両方が粘性の増加に有意に寄与することを見出しました。以上より、分岐鎖が脂質の運動を抑制し、保存安定性向上に貢献することを実証できました (図 3)。

また、2020年にノーベル化学賞を受賞したエマニュエル・シャルパンティエとジェニファー・ダウドナが開発した、ゲノム編集技術も医薬品としての応用が期待されていますが、ゲノム編集を担う Cas9 タンパク質をタンパク質のまま生体内へ送り届けることは困難です。そのため、Cas9 を mRNA として送達し、生体内で Cas9 タンパク質を産生する試みが近年なされています。

本研究で合成された脂質のうち、効率的な mRNA 送達と高い保存安定性を実現する、分岐度の高い脂質の一つとして CL4F 8-6 を見出しました。CL4F 8-6 に Cas9 mRNA と sgRNA を内包し、生体内でのゲノム編集への応用可能性を検証しました。その結果、LNP を 1 回投与するだけで標的タンパク質の量を 77%抑制することができました。

【今後への期待】

本研究成果である分岐脂質を用いることで、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。本脂質のゲノム編集用途や mRNA ワクチン用途への展開が期待されます。

また、分岐脂質が高い mRNA 送達効率や保存安定性を示すメカニズムの解明も進んだことから、この知見を基にして更に高性能な脂質の合理的な分子設計に繋がることが期待されます。

論文情報

論文名 Branching ionizable lipids can enhance the stability, fusogenicity, and functional delivery of mRNA (イオン性脂質の分岐足場は脂質ナノ粒子の安定性と in vivo mRNA 送達効率を高める)

著者名 橋場一毅¹、佐藤悠介²、田口将光¹、坂元左知子¹、大津彩夏¹、前田佳己¹、穴戸卓矢¹、村川正男¹、岡崎有道¹、原島秀吉² (¹日東電気株式会社 核酸医薬開発本部、²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 Small Science (ナノテクノロジーの専門誌)

DOI 10.1002/smsc.202200071

公表日 2022年11月10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/index.html>

<https://www.pharm.hokudai.ac.jp/nano/>

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 011-706-3919 F A X 011-706-3734 メール harasima@pharm.hokudai.ac.jp

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

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

<https://www.pharm.hokudai.ac.jp/nano/>

日東電気株式会社 ブランドコミュニケーション部 広報グループ

T E L 06-7632-7323 F A X 06-7632-2101 メール communication_group@nitto.co.jp

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】

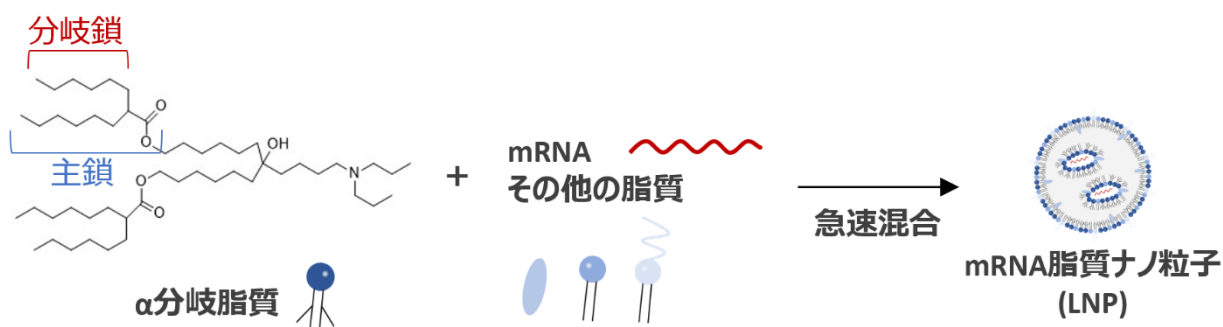


図 1. α 分岐脂質の一例と mRNA 脂質ナノ粒子の作製方法

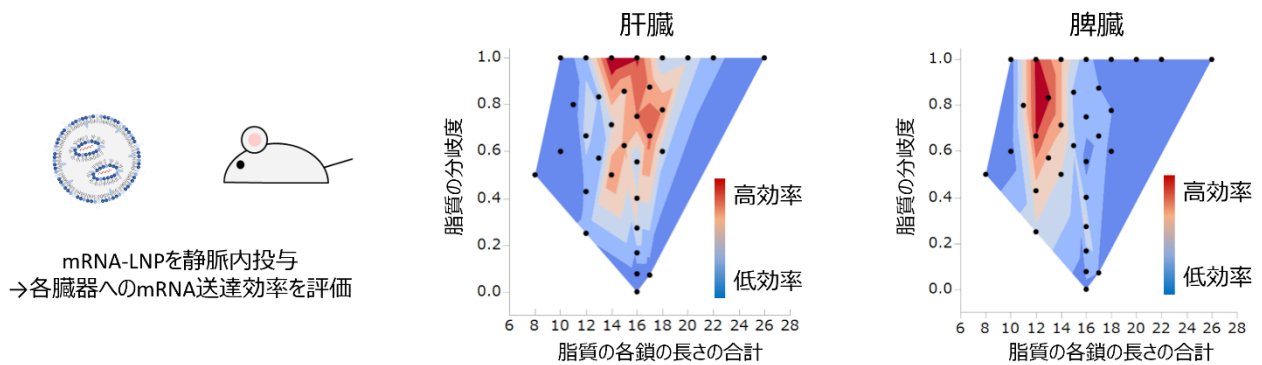


図 2. 脂質の分岐構造が mRNA 送達効率を左右する

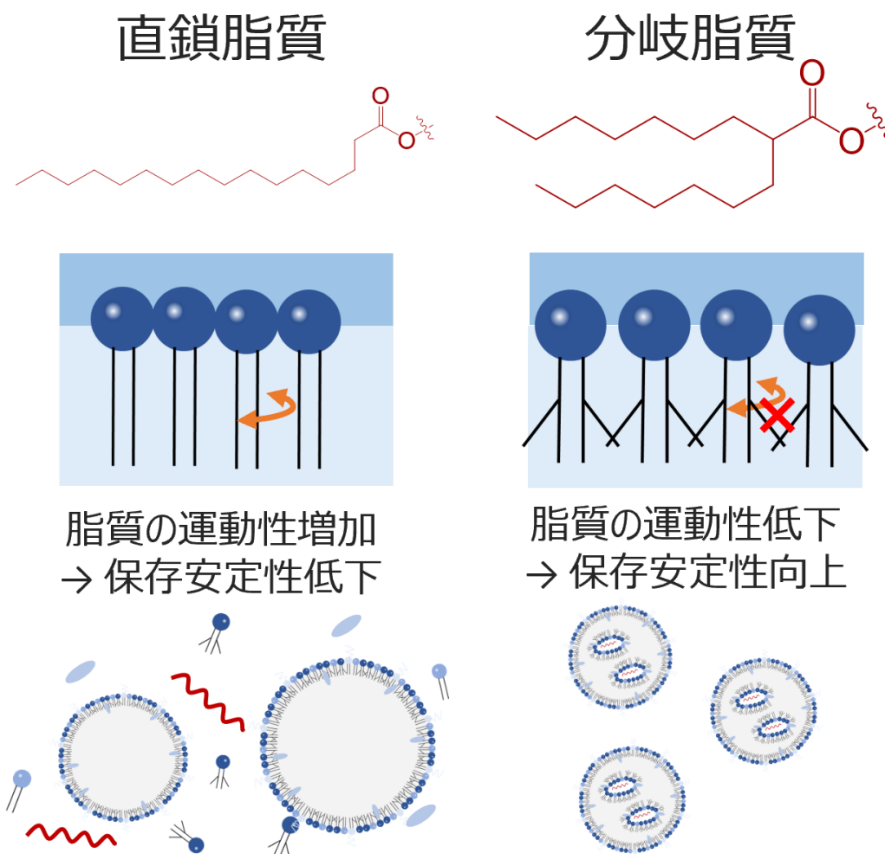


図 3. 脂質の分岐構造が LNP の保存安定性を高める

【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 分岐脂質 … 本研究では、枝分かれした炭化水素鎖を有する水に不溶な物質のこと。
- * 3 ゲノム編集 … 遺伝情報が保存されているゲノムDNA上の特定の塩基配列を狙って操作する技術のこと。sgRNAが特異性、Cas9タンパク質が遺伝子の切断を担う。家族性トランスサイレチンアミロイドーシスの治療を目指して本技術を活用した臨床試験が実施されている。
- * 4 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。
- * 5 粘性 … 分子同士の摩擦に伴う抵抗力のこと。物質の粘りの度合い。