

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	広島国際大学 薬学部・教授	氏名	池田 潔
		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
	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 医薬のさらなる発展が期待されている。mRNA の医薬品化には DDS 技術が不可欠であり、COVID-19 ワクチンでは脂質ナノ粒子 (LNP) 技術が用いられている。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技術である。本研究では、これまでに我々が開発した LNP 技術を基盤にし、CD169 陽性の抗原提示細胞 (マクロファージ、樹状細胞) を標的とした mRNA デリバリーシステムを開発する。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。このエクソソームトラフィッキングの機構を利用した mRNA デリバリーシステムの確立を目的とし、CD169 に結合性を示す $\alpha 2, 3$-シアル酸を表面に提示した mRNA/LNP 製剤の開発を試みた。pH 応答性脂質、リン脂質、マレイミド脂質、コレステロールからなる混合脂質を溶解したエタノール溶液と mRNA を含むクエン酸水溶液をマイクロ流路内で急速混合した後、透析でエタノールを除去して LNP を調製した。この LNP 溶液に $\alpha 2, 3$-シアル酸誘導体を添加し、マイケル付加反応によって $\alpha 2, 3$-シアル酸修飾 LNP を調製した。$\alpha 2, 3$-シアル酸誘導体の LNP への結合率について検討するため、LNP に結合しなかった $\alpha 2, 3$-シアル酸誘導体のチオール基を 5, 5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) と反応させ、その生成物を HPLC で定量した。その結果、$\alpha 2, 3$-シアル酸誘導体は高効率に LNP に結合したことが示された。一方、上記と同様の方法でマレイミド脂質を含有しない LNP を調製した後、$\alpha 2, 3$-シアル酸構造をもつ ganglioside GM3 を添加し、GM3 修飾 LNP を作成した。各リガンド修飾 LNP (GM3 修飾 LNP、$\alpha 2, 3$-シアル酸修飾 LNP) が CD169 陽性抗原提示細胞に対してターゲティング能を有するか検討するため、IFN-α で刺激したマウス骨髄由来マクロファージ (BMDM) を用いた実験を行った。IFN-α で刺激した BMDM の CD169 発現についてフローサイトメトリーで解析したところ、刺激によって CD169 の発現が亢進することが明らかになった。各リガンド修飾 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。GM3 修飾 LNP 添加群では Cy5 標識 mRNA の細胞内取り込みが増加したが、$\alpha 2, 3$-シアル酸修飾 LNP では増加しなかった。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、誘導体の $\alpha 2, 3$-シアル酸以外の部分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>