

令和 5 年度 創薬基盤推進研究事業 研究開発課題
中間報告書

研究開発課題名	電荷反転型 LNP 製剤の精密設計と核酸・ペプチド医薬品開発への応用	
代表機関名	静岡県公立大学法人静岡県立大学	
研究開発代表者	所属 役職	薬学部 教授
	氏名	浅井 知浩
全研究開発期間	令和 3 年 11 月 20 日 ～ 令和 8 年 3 月 31 日 (予定)	

研究開発成果概要：

近年、脂質ナノ粒子 (lipid nanoparticle: LNP) 技術や RNA 技術の進展により、世界初の RNA 干渉薬や mRNA ワクチンが実用化された。一般に LNP は、核酸の保持、細胞内移行、エンドソーム脱出に欠かせない pH 応答性の脂質誘導体をその構成脂質に含まれる。実用化に至った脂質誘導体の構造の共通点は、その頭部に第 3 級アミンをもつことであり、酸性条件下でのみ頭部がイオン化しカチオン性を示す。そのため、これらの脂質誘導体はイオン化脂質と呼ばれる。一方、我々はイオン化脂質を用いた LNP 技術とは特色が異なる電荷反転型脂質誘導体を用いた LNP 技術を開発し、small interfering RNA (siRNA) や mRNA の送達に関する研究に取り組んでいる。この技術の特長のひとつは、ポリエチレングリコール (PEG) 脂質を使用せずとも分散性の高い LNP を作製可能である点である。本事業では、保有する LNP 技術の高性能化、LNP に封入可能なモダリティの追加、投与経路の比較検討を進め、技術の応用範囲の拡大を図り、我が国発の LNP 技術の実用化を目指した研究を展開している。これまでに PEG フリーの核酸 LNP 製剤の開発を目的として、pH 変化に応じて実効電荷が反転する新規電荷反転型脂質 DOP-TMDEDA を設計、合成した。DOP-TMDEDA を含む混合脂質 (PEG 脂質不含) を溶解したエタノール溶液と mRNA を含む酸性水溶液をマイクロ流体デバイス内で急速混合した後、エタノールを除去して LNP を調製したところ、PEG 脂質を用いずとも直径約 70 nm の均一な LNP が得られた。DOP-TMDEDA を用いて作成した LNP は、中性 pH においてアニオン性を示し、リン酸緩衝生理食塩水中で高い安定性を示した。PEG フリー LNP のインビボにおける有用性を明らかにするため、ホタルルシフェラーゼ (Fluc) をコードする mRNA を封入した LNP をマウスに筋肉内投与し、ルシフェラーゼの発現を評価した。その結果、DOP-TMDEDA を用いて作成した LNP は、PEG の有無にかかわらず、インビボにおいて高い mRNA 導入効率を示した。モデル抗原タンパク質オブアルブミンをコードする mRNA を封入した LNP をマウスに筋肉内投与したところ、オブアルブミンに対する抗体が誘導された。また共同研究の推進および LNP 製剤の利便性の向上を目的とし、mRNA を封入した LNP の凍結製剤および凍結乾燥製剤の開発に取り組んだ。その結果、凍結融解前後および凍結乾燥前後で LNP の物性や mRNA の導入効率がほぼ変わらない凍結 LNP 製剤および凍結乾燥 LNP 製剤の調製が可能になった。また分担者と共同で、適切な pKa をもつ電荷反転型脂質誘導体とヘルパー脂質を組み合わせ、非共有結合性の弱い相互作用の協同性作用をドライビングフォースにしてペプチドを LNP 内に封入する検討を実施し、これまでにヒトインスリンを封入した LNP 製剤を調製した。創薬シーズを保有する研究者 A や B との連携により、肝炎に対する mRNA ワクチンの開発やがんに対する核酸 LNP 製剤の開発に取り組んだ。さらにシーズ開発を進める研究者 C、D、および E と研究連携を行い、新たなモダリティ X、Y、あるいは Z を封入した LNP 製剤の開発を進めた。以上より、本事業の研究開発計画に沿って研究に取り組んだ結果、全体としてはおおむね順調に研究成果が得られた。以上