



配布先: 文部科学記者会、科学記者会、名古屋教育記者会

2025 年 7 月 15 日

報道機関 各位

細胞内への mRNA 送達を促進する新規脂質を開発 ～遺伝子発現の効率を向上、mRNA 医薬開発に貢献～

【本研究のポイント】

- ・新規環状ジスルフィド脂質(CDL)によって脂質ナノ粒子(LNP)の mRNA 送達効率を向上。
- ・CDL-LNP が細胞内におけるエンドソーム^{注1)}からの mRNA 放出を効率化することを in vitro(細胞実験)で確認。
- ・マウスを用いた in vivo 実験において、CDL-LNP が mRNA の送達効率を向上させることを実証。
- ・抗腫瘍免疫応答の誘導を確認。

【研究概要】

名古屋大学大学院理学研究科の阿部 洋 教授、名古屋大学学際統合物質科学研究機構の木村 誠悟 特任助教らの研究グループは、従来の脂質ナノ粒子(LNP)が抱える mRNA 送達効率の課題を解決するため、新規の環状ジスルフィド含有脂質(CDL)を設計し、これを組み込んだ LNP(CDL-LNP)を開発しました。CDL-LNP は、エンドソームからの mRNA 放出を促進し、遺伝子発現効率を向上させることを in vitro(細胞実験)で確認し、in vivo(マウス実験)でも送達効率を改善できることを実証しました。本研究は、mRNA 医薬の送達技術の発展に大きく貢献するものであり、将来的にはより効果的で安全な mRNA 医薬の開発につながるものと期待されます。

本研究成果は、2025 年 6 月 27 日に Royal Society of Chemistry 誌が発行する雑誌『RSC Medicinal Chemistry』に掲載されました。

【研究背景と内容】

mRNA 医薬は、従来の低分子医薬や抗体医薬に比べて開発期間が短く、多様な疾患への応用が期待される次世代のモダリティです。しかし、mRNA は生体内では極めて不安定であり、細胞膜を透過できないため、効率的な細胞内送達法の開発が重要です。脂質ナノ粒子(LNP)は、mRNA を細胞内へ運ぶ主要なデリバリーツールであり、COVID19 mRNA ワクチンの開発において中心的な役割を果たしました。しかし、細胞に取り込まれた LNP の多くはエンドソームから脱出することができず、ライソソーム^{注2)}へと輸送され分解されてしまいます。この「エンドソーム脱出」の効率は数パーセントと見積もられており、mRNA の送達効率を制限する大きな課題とされています。

当研究室では、これまでにジスルフィドユニットを応用したオリゴ核酸の細胞内送達法(MPON)を開発してきました。本手法は、ジスルフィドユニットと細胞膜タンパク質のチオールとのジスルフィド交換反応を足掛かりに、オリゴ核酸の内在化を促進します(図1)。しかし、mRNA などの長鎖の核酸を送達する場合、ジスルフィドユニットの修飾量を増やす必要があり、mRNA 自体の翻訳活性の低下や製造工程の煩雑化が生じることから、その適用は困難でした。

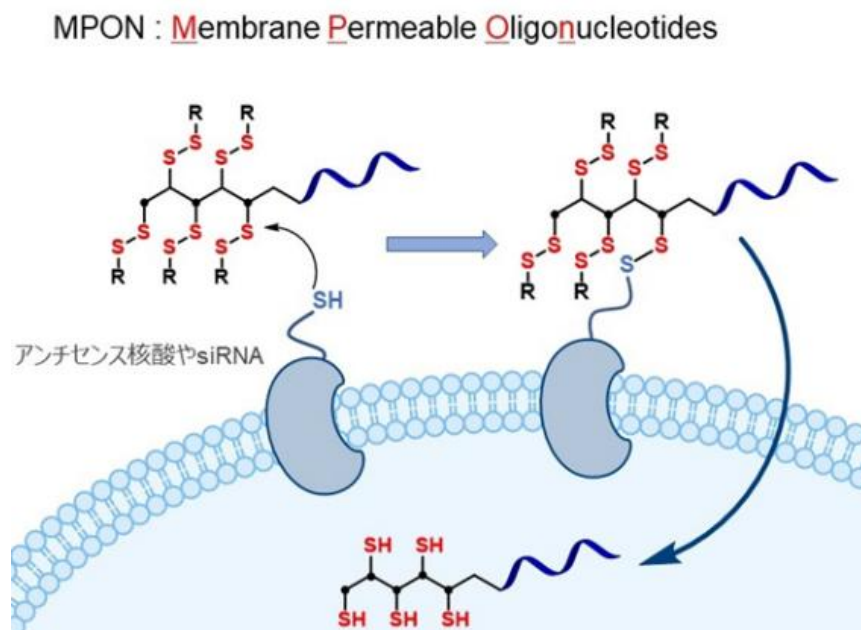


図1. MPON の細胞内移行

本研究では、ジスルフィド構造を導入した脂質(CDL)を設計・合成し、それをLNP組成に組み込むことで、ジスルフィドによる細胞内送達法をLNP-mRNA送達に応用し、送達効率の向上を目指しました。具体的には、天然に存在する α リポ酸由来の環状ジスルフィド構造を採用し、これをイオン化脂質の頭部三級アミンに結合させました。CDLの脂肪酸鎖の構造を最適化することで、CDL含有LNP(CDL-LNP)は、*in vitro*(細胞実験)および*in vivo*(マウス実験)の両方において、CDLを含まない従来のLNPと比較して高いmRNA送達効率を示しました(図2)。

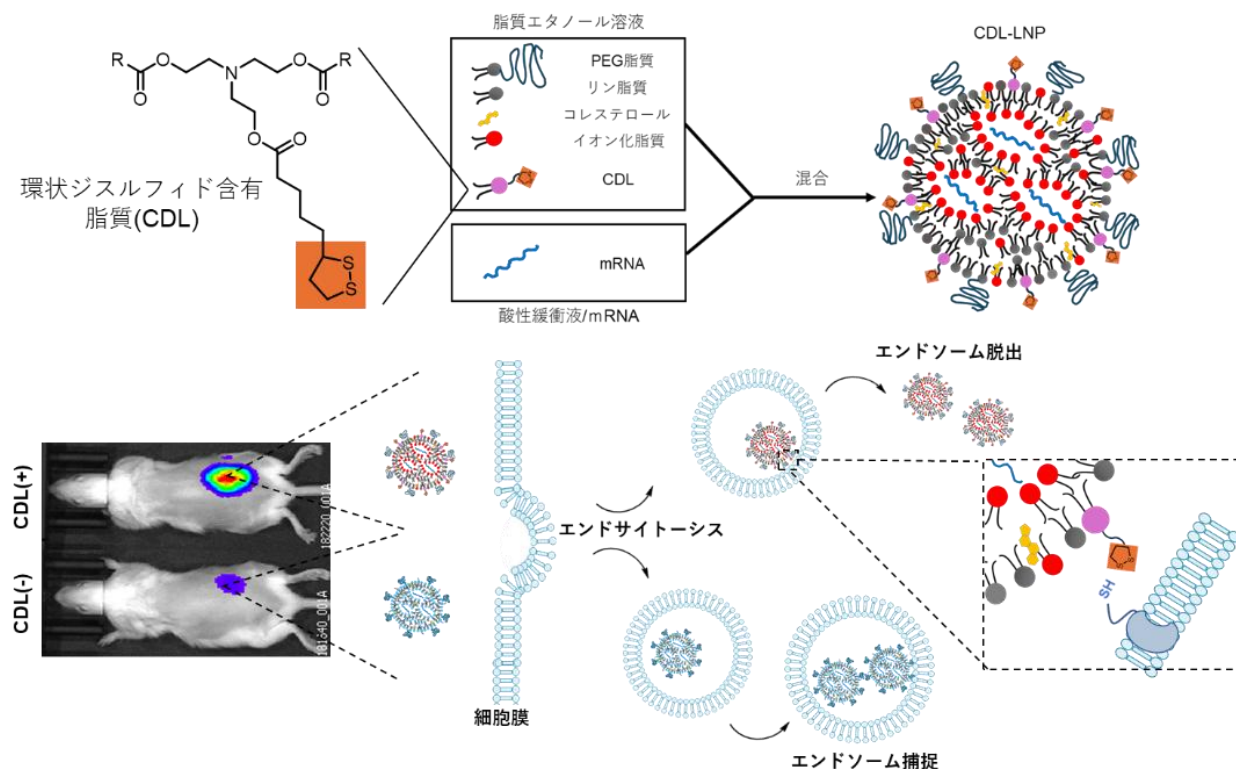


図2. 環状ジスルフィド含有脂質による LNP-mRNA の送達効率の向上

分岐および非分岐アルキル鎖(C16-C20)と第三級アミン基を環状ジスルフィドで修飾した 10 種類の新規脂質(CDL ライブラリ)を設計・合成しました(図3)。これらの CDL を既存の LNP 組成に組み込み、mRNA を搭載した LNP(CDL-LNP)を調製し、細胞実験を行い mRNA の送達活性を評価しました。調製した LNP をそれぞれ HeLa 細胞にトランスフェクションし^{注 3)}、24 時間後のレポーター遺伝子(NanoLuc ルシフェラーゼ)の発現量(発光量)を測定しました。CDL-LNP は、CDL を含まない LNP(LNP CDL(-))と比較して、高いトランスフェクション活性を示し、特に、最も高い値を示した CDL9 は送達効率を 6 倍向上させました(図3)。

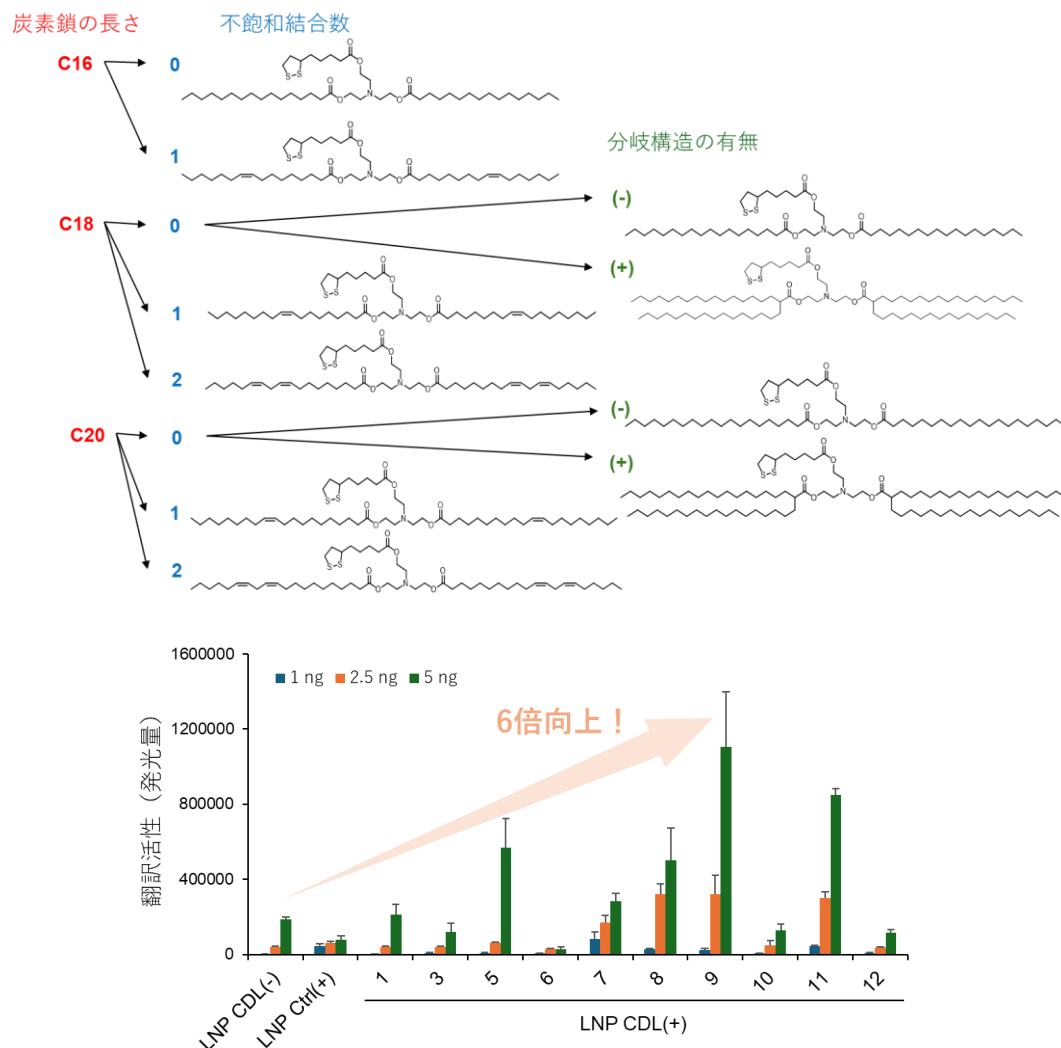


図3. CDL ライブラリと各 CDL-LNP のトランスフェクション効率

次に、トランスフェクション効率向上のメカニズムを調べるために、LNP の細胞内動態を解析しました。蛍光標識した LNP を細胞に添加後、フローサイトメーターにより1細胞ごとの蛍光強度を測定することで LNP の細胞内取り込み量を評価しました。予想に反し、CDL-LNP の細胞内取り込み量は、CDL を含まない LNP と同程度でした。蛍光イメージングで LNP の細胞内局在を観察すると、CDL-LNP はライソソームとの共局在が減少しており、エンドソームからの脱出が促進されていることが示唆されました(図4)。

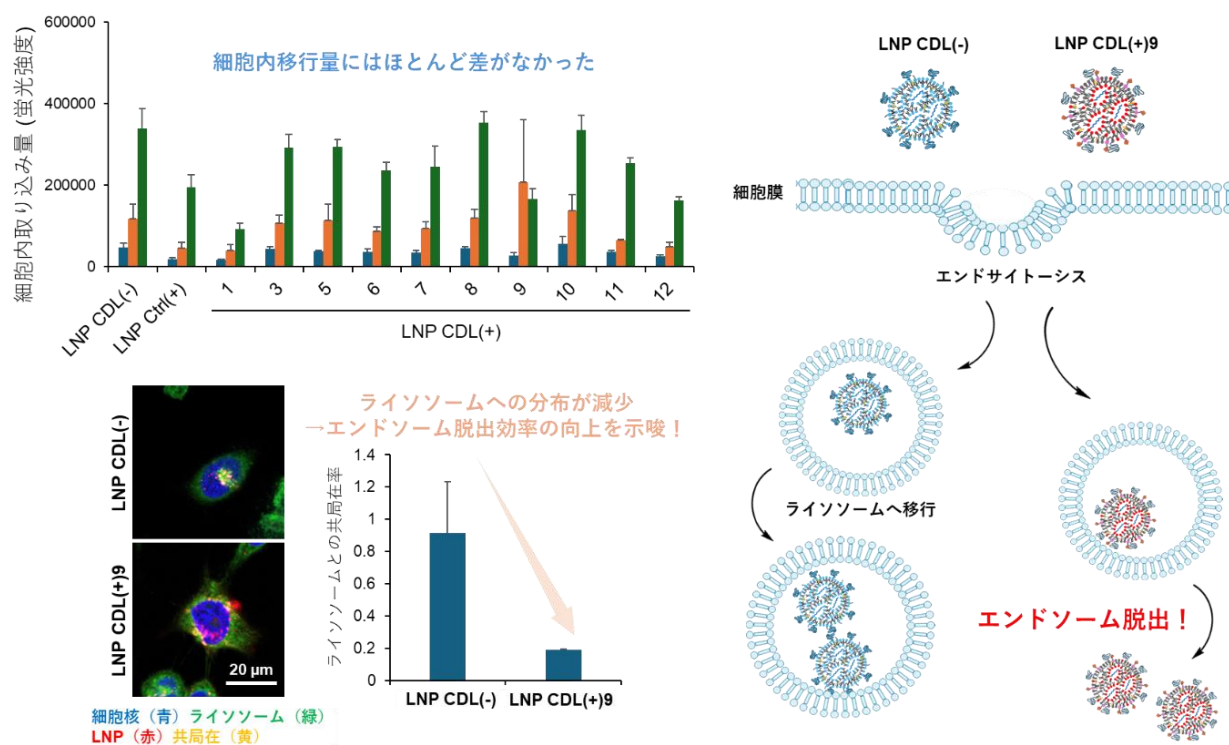


図4. LNP の細胞内動態解析。CDL は細胞内取り込みではなく、エンドソーム脱出を促進。

最後に、in vivo で CDL が機能するかどうかをマウス実験により検証しました。マウスの皮下にLNPを投与し、レポーター遺伝子(ルシフェラーゼ)の発現を in vivo イメージングで観察・定量しました。CDL-LNP はin vivo においても CDL を含まない LNP と比較して、5 倍高い mRNA 導入効率を示しました。さらに、モデル抗原(卵白アルブミン(OVA))をコードする mRNA を封入した LNP でマウスを免疫し、EG7-OVA リンパ腫の皮下移植モデルに対する抗腫瘍活性を評価しました。CDL-LNP は、腫瘍の増殖を完全に抑制するという強力な抗腫瘍免疫を誘導しました(図5)。

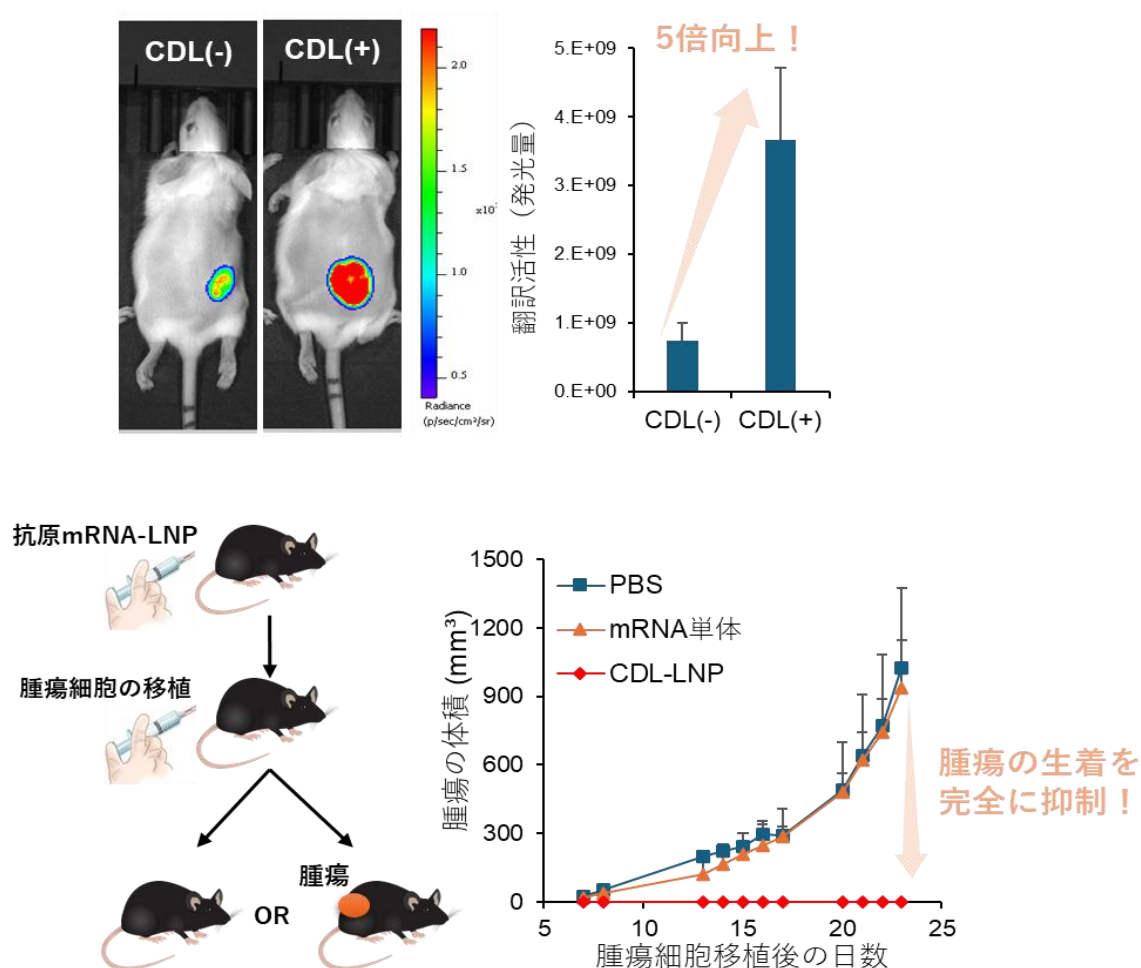


図5. In vivo mRNA 送達の実証とがんワクチンへの応用。CDL-LNP は in vivo でも高い送達効率を示し、強力な抗腫瘍免疫を誘導。

【成果の意義】

本研究は、環状ジスルフィド修飾により、in vitro および in vivo の両方で LNP による mRNA 送達を機能的に向上させることに成功しました。ジスルフィドを用いた細胞内送達法はこれまで多数報告されてきましたが、in vivo 送達への応用は困難でした。本研究は、新規脂質ライブラリの構築と構造最適化によって、ジスルフィドによる送達法が in vivo でも機能しうることを世界で初めて実証しました。さらに、その送達効率の向上には、従来の定説とされる細胞内取り込みの促進ではなく、エンドソームからの脱出促進が関与している可能性を示しました。CDL を導入する新しい LNP の設計戦略は、次世代の mRNA 治療薬の機能向上に大きく貢献することが期待されます。これにより、必要な mRNA の投与量を削減できる可能性があり、結果として患者の負担軽減や医療費の抑制にもつながる可能性があります。また、強力な抗腫瘍効果が発揮されたことは、がん治療における新たなアプローチの開発につながるものであり、将来的にはワクチン、遺伝子治療、再生医療など、より広範な疾患への mRNA 治療薬の応用拡大を加速させることが期待されます。

本研究は、JST、CREST、AMED LEAP の支援のもとで行われたものです。

【用語説明】

注 1) エンドソーム:

細胞が外部から物質を取り込む際に形成される小さな膜状の構造体で、細胞内へ取り込まれた物質の選別、分解、再利用などを制御する細胞内小器官(オルガネラ)の総称。エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれた物質は、まず初期エンドソームに集められ、その後、後期エンドソーム、ライソソームへと運ばれる。この過程で、物質のリサイクル、分解、細胞外への排出などが制御される。

注 2) ライソソーム:

細胞内に存在する「分解工場」のような小器官で、不要になった物質や細胞外から取り込んだ物質などを分解する働きをもつ。加水分解酵素を含み、タンパク質、核酸、脂質などを分解し、細胞の代謝や老廃物の処理に重要な役割を果たす。

注 3) トランスフェクション:

核酸(DNA や RNA)を細胞内に導入すること。遺伝子発現の解析や、目的のタンパク質を産生させるために用いる。

【論文情報】

雑誌名: RSC medicinal chemistry

論文タイトル: In Vivo Demonstration of Enhanced mRNA Delivery by Cyclic Disulfide-Containing Lipid Nanoparticles for Facilitating Endosomal Escape

著者: 木村誠悟*, 岡田佳奈, 松原徳明, Lyu Fangjie, 堤進, 木村康明, 橋谷文貴, 稲垣雅仁, 阿部奈保子, 阿部洋* (*は責任著者、下線は本学関係者)

DOI: 10.1039/D5MD00084J

【研究者連絡先】

名古屋大学大学院理学研究科

教授 阿部 洋(あべ ひろし)

TEL: 052-789-2490 FAX: 052-789-2497

E-mail: h-abe@chem.nagoya-u.ac.jp

【報道連絡先】

名古屋大学総務部広報課

TEL: 052-558-9735 FAX: 052-788-6272

E-mail: nu_research@t.mail.nagoya-u.ac.jp



東海国立大学機構は、岐阜大学と名古屋大学を運営する国立大学法人です。
国際的な競争力向上と地域創生への貢献を両輪とした発展を目指します。

東海国立大学機構 HP <https://www.thers.ac.jp/>

