

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	薬学部・客員教授	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
脂質ナノ粒子を用いた CD169 陽性抗原提示細胞への mRNA 送達
研究の目的、成果及び今後の展望
本研究では、CD169 陽性抗原提示細胞への mRNA 送達のための脂質ナノ粒子（LNP）技術の開発を試みた。一部の抗原提示細胞に発現する CD169 は、シアル酸含有糖鎖を特異的に認識するレクチンである。CD169 陽性マクロファージは、がん死細胞を貪食し、がん抗原を CD8 陽性 T 細胞にクロスプレゼンテーションすることで、がん免疫の成立に重要な役割を担うことが知られている。しかし、抗原提示細胞選択的に mRNA を導入する DDS 技術は、未だ確立されていない。ところで生体内においては、エクソソームが核酸・遺伝子を運搬し、離れた細胞間で遺伝子発現制御を行っている。マクロファージがエクソソームを内在化する際には、マクロファージに発現する CD169 がエクソソーム表面のシアル酸を認識するといわれている。そこで我々は、エクソソームによる核酸輸送機構を模倣したシアル酸修飾 LNP を開発し、抗原提示細胞への mRNA 送達を目指した検討を行った。独自のシアル酸誘導体を合成し、LNP 膜への修飾について検討した。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マレイミド基 (Mal) と結合させることで LNP に修飾した。LNP は、pH 応答性脂質、リン脂質 (DPPC)、コレステロール (Chol)、マレイミド脂質 (DPPE-Mal) から構成される脂質溶液と mRNA を含むクエン酸溶液を、マイクロ流体デバイス内で急速混合することで調製した。LNP の脂質組成比を pH 応答性脂質/DPPC/DPPE-Mal/Chol=45/10/5/40 (mol%) としたときに直径約 100 nm の高い mRNA 内封率を持つ粒子が得られた。続いて、シアル酸修飾 LNP が CD169 陽性抗原提示細胞への標的化能を示すかを評価するため、マウス骨髄由来マクロファージ (BMDM) を用いて実験を行った。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検討した。その結果、IFN-α による刺激から 24 時間後の BMDM において、CD169 の発現が亢進することを見出した。標的細胞内への mRNA 導入量を検討するため、Cy5 標識 mRNA を封入したシアル酸修飾 LNP を調製した。BMDM をプレートに播種し、LNP を添加した後に Cy5 の蛍光強度を測定することで mRNA の細胞内導入量を評価した。その結果、シアル酸修飾 LNP に mRNA を封入することにより、IFN-α 刺激群において mRNA 導入量が増加する傾向がみられた。以上より、本研究で開発したシアル酸修飾 LNP を用いることで、CD169 陽性抗原提示細胞への mRNA 送達が可能になる可能性が示唆された。