

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	好中球と細胞外小胞を利用した cell-based LNP DDS の開発				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬・医薬生命化学・助教	氏名	疋田 智也
	研究分担者	所属・職名	薬・医薬生命化学・教授	氏名	浅井 知浩
		所属・職名	薬・医薬生命化学・准教授	氏名	小出 裕之
		所属・職名	薬・医薬生命化学・講師	氏名	米澤 正
	発 表 者	所属・職名	薬・医薬生命化学・助教	氏名	疋田 智也

講演題目
好中球と細胞外小胞を利用した cell-based LNP DDS の開発
研究の目的、成果及び今後の展望
脂質ナノ粒子（LNP: lipid nanoparticle）を用いた mRNA 医薬の研究開発が盛んに行われているが、その標的指向性や送達能は未だ大きな課題である。我々は炎症性疾患治療における mRNA 送達能を改善するため、高い炎症性遊走能を示す好中球を利用した LNP 送達システムに関する研究を行った。好中球を LNP の担体とする送達技術の開発には、好中球の LNP 保持効率が高く、加えて標的細胞において高いタンパク質発現を示す LNP の創出が重要となる。そこで本研究では、異なる脂質組成、粒子径、表面電荷を有する LNP を作製し、好中球を利用した mRNA 送達に最適な LNP の探索を実施した。LNP の細胞内取り込みや機能発現は、脂質組成、粒子径、および表面電荷に大きく依存する。そこで、独自に開発した pH 応答性脂質 DPL-ER-C22 を含有する LNP (DPL-LNP) を基盤とし、PEG (Polyethylene glycol) の有無、表面電荷、粒子径が好中球への導入及び標的細胞でのタンパク質発現効率に与える影響を評価した。一般的に PEG 脂質は、ナノ粒子の血中滞留性を亢進させる一方、細胞への取り込みには抑制的に作用することが知られている。そこで我々はまず、PEG 脂質が LNP の好中球への取り込み及び標的細胞でのタンパク質発現に与える影響を検討した。その結果、PEG 脂質は、好中球への導入及び標的細胞でのタンパク質発現を有意に亢進することが明らかとなった。次に、表面電荷の影響を検討するため、アニオン性 pH 応答性脂質およびカチオン性脂質 DOTAP を用いて、異なる表面電荷を有する LNP を作製した。負電荷を示す LNP は、極めて低い好中球導入効率を示す一方、正電荷を示す LNP は高い導入効率を示した。しかしながら、正電荷 LNP は細胞障害活性が強く、効率的なタンパク質発現には至らなかった。一方で、中性電荷を示す DPL-LNP は、細胞毒性を示すことなく好中球へ導入され、標的細胞で極めて高いタンパク質発現を示した。最後に、異なる粒子径を示す DPL-LNP を調整し、粒子サイズの影響について検討を行った。粒子径約 100 nm の LNP と比較して約 300 nm の LNP は、有意に高い好中球への導入効率、標的細胞でのタンパク質発現を示した。以上の LNP 設計に関する検討結果から、中性電荷を示す約 300 nm 径の PEG 修飾 LNP (NH-LNP: Neutrophil-hitchhiking LLNP) が、好中球を用いた mRNA 送達に有用である可能性が示唆された。今後は、LNP を導入した好中球の体内動態解析を行い、炎症部位への mRNA 送達効率について検討を行う予定である。