



2024年3月5日

国立大学法人東京医科歯科大学

公益財団法人川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター（iCONM）

「脾臓にmRNAを送り届け、ワクチンへ応用」  
— 核酸工学を応用したmRNA送達システムの開発 —



【ポイント】

- メッセンジャーRNA (mRNA)<sup>\*1</sup>を脾臓に送達することで、がんワクチン<sup>\*2</sup>として優れた機能を示すことが知られています。
- 研究グループは、mRNAにポリエチレングリコール(PEG)<sup>\*3</sup>を修飾するmRNA工学<sup>\*4</sup>の手法を用いて、新たなmRNA送達ナノ粒子<sup>\*5</sup>を開発しました。
- このナノ粒子を用いることで、マウス脾臓の抗原提示細胞<sup>\*6</sup>に安全かつ効率的にmRNAを送達することに成功しました。
- 本システムは、マウスにおいて、優れたワクチン効果を示したことから、今後、がん免疫治療などへの医療応用が期待されます。

東京医科歯科大学難治疾患研究所先端ナノ医工学分野の内田教授の研究グループは、川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター(iCONM)、京都府立医科大学、杏林大学、東京大学との共同研究で、脾臓にmRNAを送り届けるナノ粒子を開発し、mRNAワクチンとしての有用性を実証しました。この研究は文部科学省科学研究費補助金ならびに国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、Wileyが発刊する国際科学誌 *Small Science* 誌に、2024年2月22日にオンライン版で発表されました。

【研究の背景】

メッセンジャーRNA (mRNA)<sup>\*1</sup>を静脈内に投与して脾臓に送達することで、全身性の免疫を効率的に誘導できることが知られていました。がん免疫治療の分野で近年注目されているがんワクチン<sup>\*2</sup>としての応用が期待されています。mRNAを送達する方法として、新型コロナウイルスのmRNAワクチンでも用いられたような脂質からなるナノ粒子が主に用いられています。しかし、脂質性のナノ粒子は肝臓へ移行しやすい性質を持つほか、炎症反応を惹起することで副反応を起こしやすいといった課題がありました。

高分子からなるナノ粒子は、これらの課題を克服する手法として期待されています。正電荷を持つ高分子と負電荷を持つ mRNA を混合して得られるナノ粒子が長年開発されてきました(図 1a)。しかし、このナノ粒子は、そのままでは血液中のタンパク質、血小板などと結合し、大きな凝集塊を形成し、肺の血管を閉塞させてしまいます(図 1b 左)。すると、脾臓などの標的組織に mRNA を送達できないだけでなく、このような肺塞栓は重篤な副作用の原因となります。一方で、ナノ粒子の表面を PEG<sup>\*3</sup> で覆うと、周囲の分子、細胞のナノ粒子への吸着を防ぐことができ、この課題を解決することができます(図 1b 右)。しかし、ナノ粒子を過剰に PEG で覆うと、標的の細胞とナノ粒子の結合も阻害され、mRNA は標的細胞に送達されなくなってしまいます。従って、ナノ粒子を適切な量の PEG で覆う方法が必要となります。しかし、高分子ナノ粒子表面の精密な PEG 密度の制御は難しく、これまで高分子ナノ粒子を用いた脾臓への mRNA 送達は、ほとんど検討されてきませんでした。

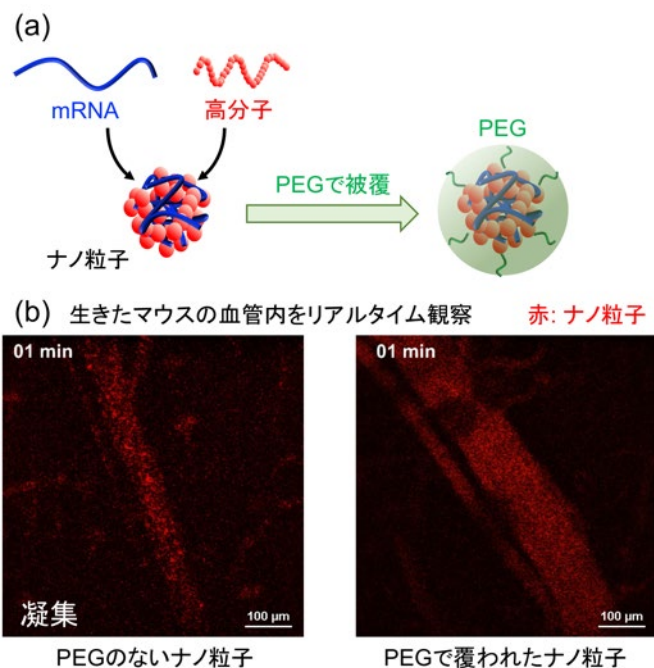


図 1. 高分子型 mRNA 送達ナノ粒子の調製(a)と、血液中での動態(b)。

### 【研究成果の概要】

今回、研究グループで開発を進めてきた mRNA 工学<sup>\*4</sup>の手法を応用しました。実際には、まず PEG と結合した RNA (PEG-RNA)をハイブリダイゼーション<sup>\*7</sup>により mRNA に結合させ、mRNA に PEG を結合させます(図 2a)。この方法では、PEG-RNA はその RNA 配列に対応して、mRNA 鎖上の 1 箇所にもみ結合します。PEG-RNA の配列の種類に応じて、決まった数だけ PEG-RNA が結合した mRNA を調製することができます。その後、高分子と混合することでナノ粒子を調製します。この方法では、mRNA に結合させる PEG の数や長さを変えることで、簡便かつ精密にナノ粒子表面の PEG 密度を制御することができます。

そこで、表面の PEG の密度や長さの異なる様々なナノ粒子を調製し(図 2b)、マウスへ投与することでその機能を調べました。生きたマウスの血管を直接顕微鏡観察したところ、PEG のないナノ粒子や、十分に PEG で覆われていないナノ粒子は、血液中に投与してから 1 分以内に大きな凝集塊を形成していました(図 2c)。結果的に、肺の血管を閉塞させ、肺に mRNA を送達していました(図 2d)。一方で、PEG 化することで、血液中での凝集や、肺血管の閉塞を防ぐことができました(図 2c)。しかし、長い PEG や高密度の PEG で被覆したナノ粒子は、細胞との接着が抑制されるため、全身のどの臓器の細胞に対しても、mRNA を効果的に送達することができませんでした(図 2d)。一方で、適切な密度の PEG で被覆したナノ粒子は、脾臓の細胞に効率的に mRNA を送達していました(図 2d)。

より詳細に調べたところ、脾臓の中でもワクチンで重要な役割を果たす抗原提示細胞<sup>\*8</sup>に mRNA が効率的

に取り込まれていることが分かりました。そこで、ワクチンとしての機能を評価したところ、細胞性免疫が強く誘導されていることが分かりました。この細胞性免疫は、がん免疫治療においてがん細胞を殺傷する上で重要とされているため、がんワクチン<sup>※2</sup>としての応用が期待されます。

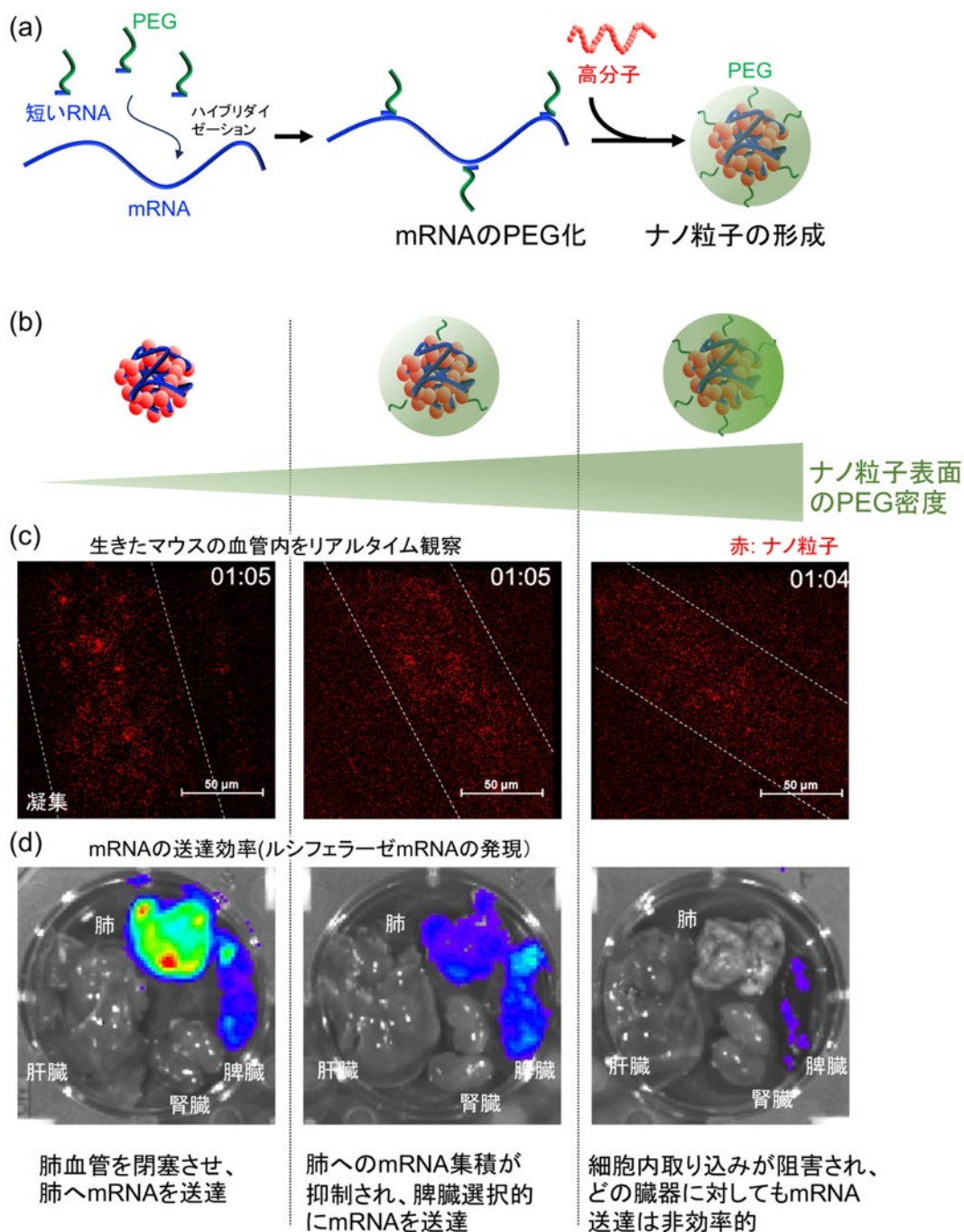


図 2. mRNA 工学を用いたナノ粒子表面の PEG 密度の制御。(a)ナノ粒子の調製法。(b)PEG 密度の異なるナノ粒子。(c)マウス血液中での動態。(d)ルシフェラーゼ mRNA を送達。

### 【研究成果の意義】

mRNA を生体に投与し、医療応用を目指す際には、ナノ粒子に搭載し mRNA を分解から保護し、標的の臓

器に送り届ける必要があります。これまで、脂質を用いた mRNA 送達ナノ粒子が主に用いられてきましたが、脂質は、生体内での動態や安全性に課題を残しています。mRNA の医療応用を拡大させる上で、目的に応じて送達手法に関する他の選択肢も必要です。今回、高分子を用いた mRNA 送達システムのワクチンへの有用性を実証することで、今後、より安全かつ効果的なワクチン開発を目指す上での礎を築くことができました。今後、システムの更なる機能向上や、がんなど疾患モデルへの展開により、実用化を目指します。

また、mRNA 送達の研究では、脂質や高分子などの開発が主に行われてきましたが、mRNA の設計に着目した研究はほとんどありません。本研究は、研究グループが開発を進めてきた mRNA 工学を用いた mRNA 送達システムの開発という点でも、独自性と重要性を有します。

### 【用語解説】

※<sup>1</sup> メッセンジャーRNA (mRNA)……………細胞の中で、翻訳されタンパク質を産生します。例えば、新型コロナウイルスワクチンでは、細胞の中でウイルスのタンパク質を産生し、それに対して免疫が誘導されます。ワクチンや治療に役立つタンパク質を産生する mRNA を生体に投与することで、様々な病気の予防、治療に用いることができます。

※<sup>2</sup> がんワクチン……………がんでのみ発現するタンパク質、がん細胞で多量発現するタンパク質に対応した mRNA を投与すると、がん細胞を殺傷する免疫が誘導されます。

※<sup>3</sup> ポリエチレングリコール(PEG)……………生体材料として医薬品にも幅広く用いられてきており、ナノ粒子の表面に搭載することで、周囲の分子のナノ粒子への吸着を抑制する、ナノ粒子の異物認識を軽減するといった作用が得られます。

※<sup>4</sup> mRNA 工学……………DNA や RNA といった核酸の設計を工夫することで、医薬品等への応用において機能を高めることを、核酸工学と呼びます。その中で、mRNA 工学は mRNA を対象とします。

※<sup>5</sup> mRNA 送達ナノ粒子……………mRNA を生体へ投与する際、体の中での分解を防ぎ、さらに標的の細胞に送達するために、mRNA をナノ粒子に搭載します。100 ナノメートル (1 ミリメートルの 1 万分の 1)程度の大きさのナノ粒子がよく用いられます。

※<sup>6</sup> 抗原提示細胞……………樹状細胞やマクロファージなど、ワクチンでの免疫応答の引き金を引く細胞のことです。mRNA ワクチンでは、抗原提示細胞に mRNA を送達することが重要です。

※<sup>7</sup> ハイブリダイゼーション……………RNA や DNA といった核酸が、対になる配列を持つ核酸と特異的に結合する過程のことです。

### 【論文情報】

掲載誌: Small Science

論文タイトル: Poly(ethylene Glycol) (PEG)-OligoRNA Hybridization to mRNA Enables Fine-Tuned Polyplex PEGylation for Spleen-Targeted mRNA Delivery

DOI: <https://doi.org/10.1002/smsc.202300258>

### 【研究者プロフィール】

鈴木 美紀（スズキ ミキ） Suzuki Miki

京都府立医科大学 大学院医学研究科

医系化学 研究員

・研究領域

医薬品化学、生物学

持田 祐希（モチダ ユウキ） Mochida Yuki

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

先端ナノ医工学分野 講師

・研究領域

バイオマテリアル、薬物送達システム

内田 智士（ウチダ サトシ） Uchida Satoshi

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

先端ナノ医工学分野 教授

・研究領域

mRNA 医薬、薬物送達システム、核酸工学



内田 智士