

バイオデータ科学研究部門 先端ナノ医工学分野

教授：内田智士 講師：持田祐希

研究内容

新型コロナウイルス感染症に対して、メッセンジャーRNA (mRNA) ワクチンが優れた有効性、安全性を示し、既にヒトに対して何十億回の接種が行われた。その実績を背景として、他の感染症の予防ワクチン、がん治療ワクチンやがん免疫治療、遺伝性疾患や再生医療分野におけるタンパク質補充治療、ゲノム編集治療といった様々な医療応用を目指し、世界中で研究開発が加速している。このような応用では、標的組織、細胞に対して、安全かつ効率的に mRNA を送達するためのナノサイズの薬物送達システム (ナノ Drug Delivery System、ナノ DDS) が基盤となる。当研究分野では、ナノ DDS 開発から、その疾患治療応用まで、幅広く研究を進めている。

研究紹介

1. ナノ DDS 開発

表面がポリエチレングリコール (PEG) で覆われた高分子ミセルを基盤として、ナノ DDS 開発を進めてきた。高分子ミセルに mRNA を搭載すると、細胞内での mRNA の自然免疫受容体による認識が回避され(図1)、炎症反応を伴うことなく mRNA を送達できる。一方で、高分子ミセルでは生体内での mRNA の酵素分解が課題となっていた。

ナノ DDS の開発では、主に高分子や脂質の設計が行われてきたが、内田は mRNA の設計に着目したナノ DDS 開発を独自に立ち上げた。mRNA 設計では、従来、シュードウリジン修飾のように mRNA 分子への直接修飾が行われてきたが、この方法では、修飾によりタンパク質翻訳過程が障害される懸念があり、自由な修飾が困難であった。そこで、安定化修飾を行った相補鎖 RNA を mRNA にハイブリダイズすることを着想した(図2)。この mRNA 工学を基盤として、mRNA のコレステロール修飾、mRNA とポリマーの環境応答性架橋、mRNA への立体構造の付与といった戦略で、高分子ミセルの安定化に成功した (*Adv Drug Deliv Rev* 199, 114972, (2023))。

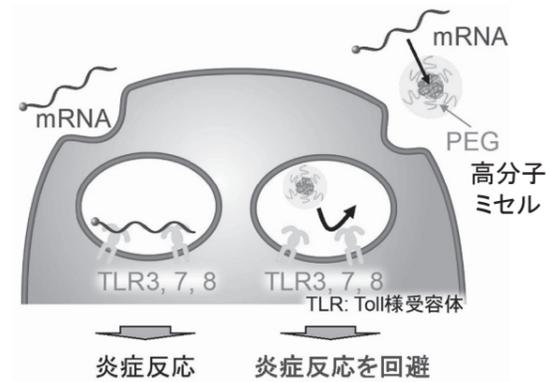


図1 高分子ミセルによる免疫刺激の回避

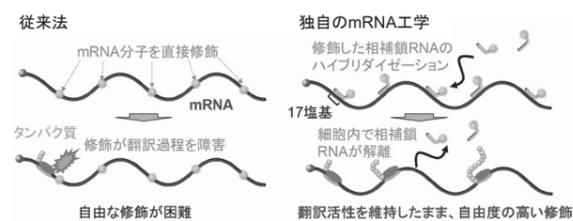


図2 mRNA 工学

2. mRNA ワクチン・医薬品の応用

1) 感染症予防ワクチン

脂質性ナノ粒子からなる承認された mRNA ワクチンでは、比較的強い副反応が課題である。パンデミック時の数回程度の接種は許容されるものの、新型コロナウイルス感染症に対する繰り返しのブースター接種や、他の感染症への適応を考慮すると、より安全なプラットフォームが必要となる。この課題に対して、免疫刺激作用を有する脂質を用いない mRNA 単体によるワクチンを開発した。その際、抗原提示細胞が豊富な皮膚組織を標的としたほか、ジェットインジェクターを用いて mRNA 送達効率を向上させた。すると、マウスにて全身性の副反応を伴うことなく、優れた抗体産生が得られ、新型コロナウイルス感染モデルに対しても有意な予防効果が得られた。さらに、サルにおいても、マウスと同程度の抗体産生が誘導された。現在、企業主導で臨床開発を進めている。

2) がんワクチン

感染症予防ワクチンでは安全性の向上が課題であるのに対して、がんワクチンでは効果の向上が課題となる。がんワクチンは自己由来の抗原を標的とすること、がんは免疫抑制的な微小環境を有することから、強力なワクチン効果が必要となる。そこで、上述の mRNA 工学を応用して、mRNA に免疫賦活化作用を持つ 2 本鎖 RNA を搭載し、ワクチンのアジュバント活性を向上させた。この mRNA を搭載することで、既存の複数の mRNA ワクチンの効果が向上した (ハイライト参照) (*PNAS* 120, e2214320120, (2023))。

3) タンパク質補充治療・ゲノム編集

mRNA は、治療用タンパク質やゲノム編集酵素を生体内で発現させるための方法としても期待されている。

ハイライト

くし型 mRNA を用いたがんワクチン

現在主流である脂質性ナノ粒子を基盤とした mRNA ワクチンでは、脂質が mRNA を分解から保護し標的組織、細胞に送達する役割と、自然免疫応答を活性化するアジュバントとしての役割を併せ持っている。しかし、これら二つの機能の両立は難しく、アジュバント機能は必ずしも最適ではない。そこで、現在のシステムに足りないアジュバント活性を、mRNA に付与して補うことを着想した。ここでは、自然免疫活性化作用を持つ 2 本鎖 RNA を mRNA にハイブリダイズさせたくし型 mRNA を設計した(図3)。2 本鎖 RNA の本数により免疫刺激の強度を制御することで、過度の免疫活性化を防ぐことができる。2 本鎖 RNA 部分は自然免疫受容体 RIG-I を標的として設計、最適化を行った。がんワクチンの臨床試験で用いられている脂質性ナノ粒子にこのくし型 mRNA を搭載し

一方、このような応用では、mRNA 送達により炎症反応が惹起されると、副作用を引き起こすだけでなく、標的組織の治療過程が障害される懸念がある。このような応用において、上述の高分子ミセルは、免疫刺激性の弱い優れたシステムである(図1)。実際に、mRNA 搭載高分子ミセルを用いることで、抗アポトーシス因子の mRNA を用いた劇症肝炎の治療、神経栄養因子の mRNA を用いた脳虚血性疾患や脊髄損傷の治療、アミロイドβに対する単鎖抗体の mRNA を用いたアルツハイマー病治療、軟骨形成因子の mRNA を用いた変形性関節症や椎間板変性の治療、さらには RNA を用いた CRISPR/Cas9 の生体内導入による脳のゲノム編集において、有望な成果が得られている。

たところ、抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞の誘導活性が向上した。結果的に、マウスの悪性黒色腫の腫瘍関連抗原を標的としたワクチンにて、優れた抗腫瘍効果が得られた。さらに、くし型 mRNA は、新型コロナウイルスワクチンで実用化された脂質性ナノ粒子や高分子ミセルとの併用でも有用性を示した。

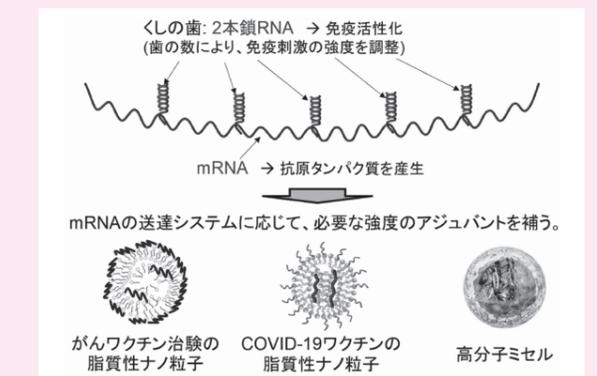


図3 がんワクチンのためのくし型 mRNA

人事異動

転入：内田智士 (教授)、持田祐希 (講師)、白鳥玲子 (研究支援者)、Naiya Ruzzama (修士課程)

研究業績

原著論文

M Inagaki, N Abe, Z Li, Y Nakashima, S Acharyya, K Ogawa, D Kawaguchi, H Hiraoka, A Banno, Z Meng, M Tada, T Ishida, P Lyu, K Kokubo, H Murase, F Hashiya, Y Kimura, S

Uchida, H Abe, Cap analogs with a hydrophobic photocleavable tag enable facile purification of fully capped mRNA with various cap structures, *Nature communications* 14, 2657, (2023)
T A Tockary, S Abbasi, M Matsui-Masai, A Hayashi, N Yoshinaga, E Boonstra, Z Wang, S Fukushima, K Kataoka, S Uchida, Com-structured mRNA vaccine tethered with short double-stranded RNA adjuvants maximizes cellular immunity for cancer treatment, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 120, e2214320120, (2023)
M Oba, M Shibuya, Y Yamaberi, H Yokoo, S Uchida, A Ueda, M Tanaka, An Amphipathic

Structure of a Dipropylglycine-Containing Helical Peptide with Sufficient Length Enables Safe and Effective Intracellular siRNA Delivery, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 71, 250-256, (2023)
W Yang, T Miyazaki, Y Nakagawa, E Boonstra, K Masuda, Y Nakashima, P Chen, L Mixich, K Barthelmes, A Matsumoto, P Mi, S Uchida, H Cabral, Block cationomers with flanking hydrolyzable tyrosinate groups enhance in vivo mRNA delivery via pi-pi stacking-assisted micellar assembly, *Sci Technol Adv Mater* 24, 2170164, (2023)