

細胞の中で自発的に内封物を放出するナノカプセルを開発 ～mRNA を用いた遺伝子治療の実現を加速～

千葉大学大学院薬学研究院 田中浩揮 特任助教と秋田英万 教授を中心とする共同研究チームは、日油株式会社と共同で、細胞の中に取り込まれたあと自らを分解する反応(自己分解反応)を起こす新素材(ssPalmO-Phe)を開発しました。本素材は脂質ナノカプセルを形成し、細胞内の環境に応じて内封した薬物を効率的に送達することが可能になります。様々な薬物を疾患の標的細胞まで届ける Drug Delivery System (DDS) での応用が期待され、特に、核酸を基盤とする遺伝子治療^{注1)}や個別化医療^{注2)}の実現を大幅に加速すると期待されます。この成果は「Advanced Functional Materials」にて2020年6月23日に公開されました。

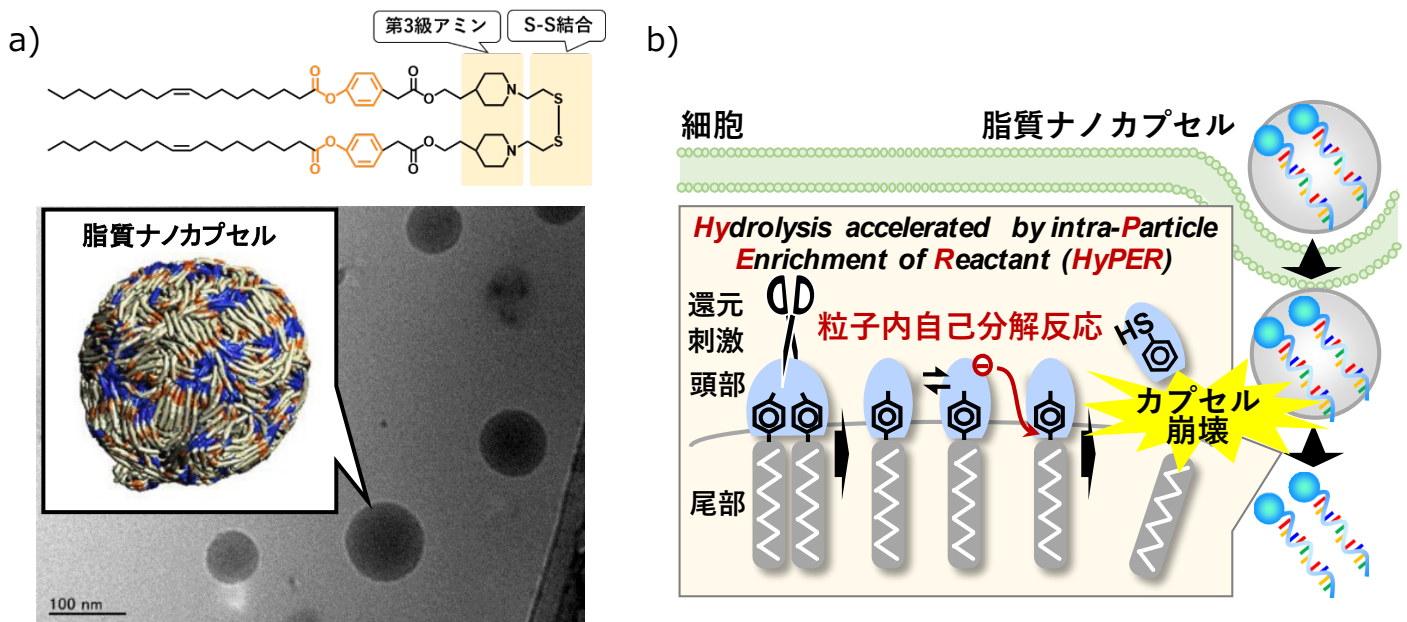


図1 a) 本研究で開発した素材(ssPalmO-Phe)の化学式(上)、電子顕微鏡像及び分子シミュレーションにより計算された粒子モデル(下)。ssPalmO-Pheは脂質ナノカプセルを形成し、mRNAや薬剤を内封することができる。
b) 本素材からなる脂質ナノカプセルは、細胞内の環境においてのみ自己分解して内封分子を放出する。

■ 研究の背景

核酸(DNAやmessenger RNA(以下「mRNA」^{注3)})は遺伝情報の運び手であり、これらを適切な臓器や細胞に人工的に導入することで遺伝性疾患などを治療する『遺伝子治療』の実現が期待されています。核酸は細胞の外側では極めて壊れやすい分子であるため、細胞の中へ確実に届けるためには、脂質やポリマーなどの素材から形成されるナノカプセルの中に閉じ込めて保護する必要があります。しかし、ナノカプセルが過剰に安定になってしまうと、内封された核酸が外に出てこないため機能が発揮できません。このことから、遺伝子治療の実現には、細胞外における安定性と細胞内における崩壊性を兼ね備えた素材の開発が必要とされてきました。

■ 研究成果

研究チームではこれまでに、ナノカプセル用の人工素材であるSS-cleavable and pH-activated lipid-like material(ssPalm)の開発を進めてきました。ssPalmは、細胞内の還元環境で分解されやすいジスルフィド結合(以下「SS結合」)に加えて、環境に応じてカプセル膜の不安定化を引き起こし崩壊へと導く第三級アミンという構造を有することで、細胞に取り込まれた後、速やかに崩壊し効率的に細胞の内部へ到達することができます。本研究では、このssPalm分子にフェニルエステル結合(図1 a 橙色部分)を加えることで、ssPalmO-Pheという分子を開発しました。ssPalmO-Pheは、研究グループが独自に見出したHyPER^{注4)}という粒子内有機反応を引き起こすことで、細胞内で自発的に崩壊します。

ssPalmO-Phe を用いて細胞の中に緑色蛍光タンパク質の mRNA を導入すると、市販の試薬と比較して、均一かつ高効率なタンパク質導入が緑色の蛍光として観察されました (図 2a)。また、mRNA をマウスに対して静脈内から送達すると、肝臓で高いタンパク質の発現が認められました (図 2b)。

続いて本研究では CRISPR/Cas9 システム^{注5)}を用いたマウス肝臓の遺伝子編集を行いました。本システムを用いて、家族性アミロイドポリニューロパチー^{注6)}の原因とされるトランスサイレチンの遺伝子を編集 (破壊) すると、血液中のトランスサイレチンが 95%以上減少することが明らかとなりました (図 2c)。

これらの結果から、ssPalmO-Phe は細胞内の環境にตอบสนองして特殊な粒子内反応によって自己分解することで mRNA を標的細胞内へ効率的に送達可能な分子であり、生体に機能的なタンパク質を導入できることが示され、さらに、遺伝子治療の新たな用途としての遺伝子編集にも有用であることがわかりました。

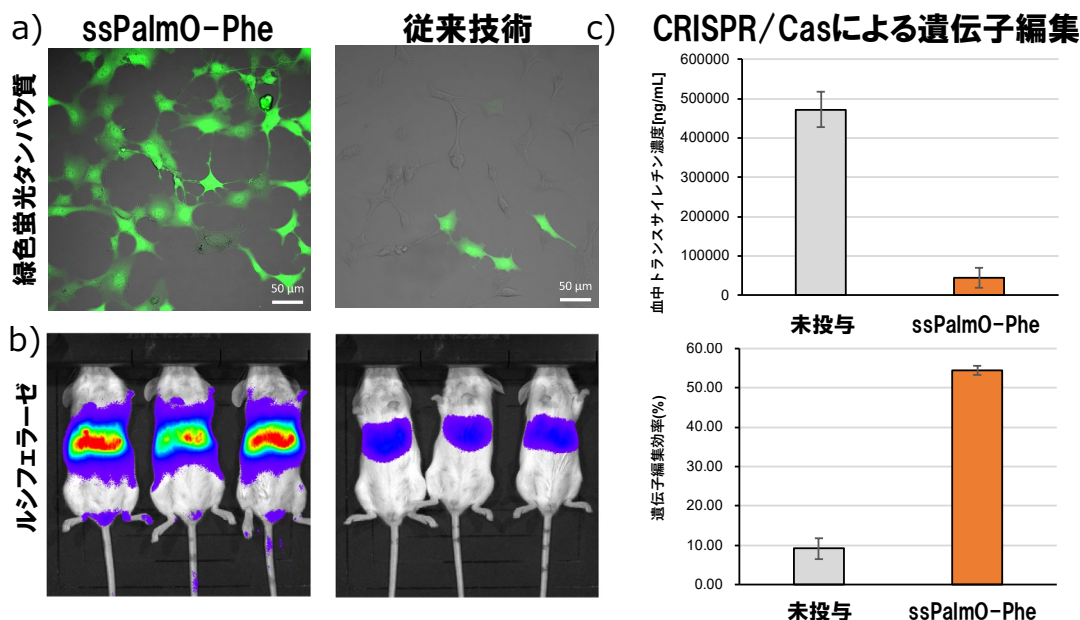


図 2 a) タンパク質蛍光を従来技術と比較した結果
b) 遺伝子発現量をルシフェラーゼの発光量で比較した結果。赤いほうが発光量が多いことを示す。
c) CRISPR/Cas による遺伝子編集の結果。ssPalmO-Phe 投与群では血中トランスサイレチン量が減少し、遺伝子編集効率が高いことが示された。

■今後の展望

本研究成果 (ssPalmO-Phe) を用いることで、色々な細胞に対して様々なタンパク質を mRNA の形で導入することが可能となります。また、ssPalmO-Phe は分解性が高いことから体への蓄積性が低いと考えられ、安全性も優れています。今後、体の中のナノカプセルの動きを制御する技術などと組み合わせることで、遺伝子治療や個別化医療、DNA/RNA ワクチン技術へと展開できると期待されます。

■研究プロジェクト

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

- JST 戦略的創造研究推進事業 (CREST)
「リンパシステム内ナノ粒子動態・コミュニケーションの包括的制御と創薬基盤開発」
- 千葉大学グローバルプロミネント研究基幹「千葉大発ナノ DDS による RNA 創薬プラットフォームの実装」
- 科学研究費補助金 (17H06558、18K18377、20H00657)
- その他の研究助成 (猪之鼻奨学会、旭硝子財団、武田科学振興財団)

■用語解説

- 注 1) **遺伝子治療** : 治療用タンパク質の遺伝子を DNA や mRNA などにコードし、標的細胞に導入することで生体内でタンパク質を作らせることにより行われる治療の総称。
- 注 2) **個別化医療** : 患者個人が有する遺伝情報などに合わせて最適な治療法を選択することで行われるオーダーメイド型の医療。
- 注 3) **mRNA** : リボヌクレオ核酸からなるポリマー上の分子で、通常は核内において DNA から転写されることで生成し、細胞質でタンパク質へ翻訳される。本研究では細胞の外側で人工的に合成した mRNA を細胞の中へ導入し、生体にタンパク質を発現させた。
- 注 4) **HyPER (Hydrolysis accelerated by intra-Particle Enrichment of Reactant)** : HyPER では SS 結合の分解で生み出されたチオール分子がナノカプセル内の極めて小さな空間に濃縮されることにより、ssPalmO-Phe 内の別の結合 (フェニルエステル結合) を更に分解する (図 3a、b)。この反応は、通常の溶液状態では観察されず、形成されたナノカプセルの中でしか起きないため、化学的にもユニークな反応といえる。

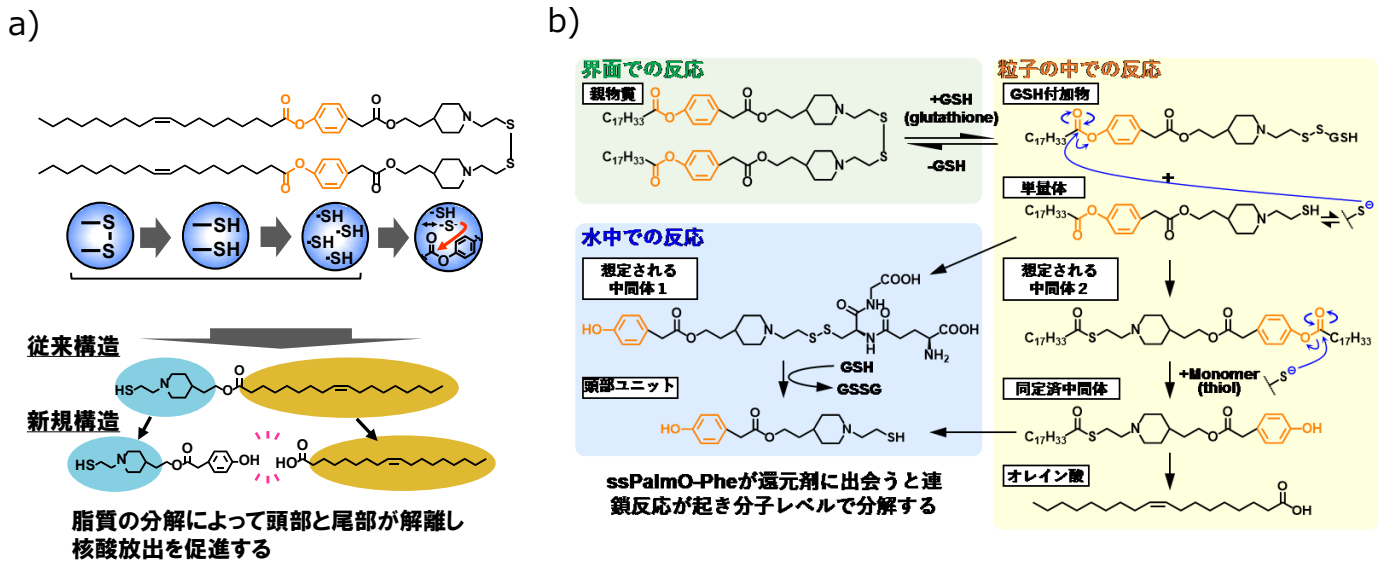


図3 a) 本研究で開発した ssPalmO-Phe の構造と分解反応 (HyPER) の概略。
b) ssPalmO-Phe の自己分解反応の反応機構。

注5) **CRISPR/Cas9 システム** : 微生物由来の DNA 切断酵素である Cas9 を用いた細胞の遺伝子を改変する技術。sgRNA と呼ばれる核酸を Cas9 と同時に細胞へ導入することで、sgRNA が認識するゲノム配列を切断することができる。

注6) **家族性アミロイドポリニューロパチー** : アミロイドと呼ばれる繊維状の物質が全身に沈着する (溜まる) 病気。

なお、ssPalmO-Phe は日油株式会社より COATSOME[®]SS-OP の製品名で販売されています。
(お問い合わせ先 : ddsinfo@nof.co.jp)

本件に関するお問い合わせ・取材のお問い合わせ
千葉大学薬学部 分子治療学講座 薬物学研究室 秋田英万
TEL: 043-226-2893
メール : akitahide@chiba-u.jp

