

細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術
の創出

2017年度採択研究代表者

2020年度 実績報告書

秋田 英万

千葉大学大学院 薬学研究院
教授

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

§ 1. 研究成果の概要

本研究は、『1. ナノ粒子のリンパ内動態制御』、『2. リンパ内皮/微粒子コミュニケーションの解明と制御』、『3. 免疫担当細胞における細胞内動態とシグナル応答制御』を柱とし、微粒子のリンパシステム内動態を制御し、医療につながる基盤技術へと展開することを目指している。

『1. ナノ粒子のリンパ内動態制御』に関しては、リンパ流改変モデルマウスを開発し、物理化学的物性を系統的に変化させたリポソームの中から、1次リンパ節(所属リンパ節)に集まりやすい粒子を同定した。また、細胞外マトリクスを分解するヒアルロン酸分解酵素を共同導入することで、センチネルリンパ節のイメージング剤として応用できる可能性を示した。

『2. リンパ内皮/微粒子コミュニケーションの解明と制御』に関しては、ナノ粒子とリンパ管内皮細胞の相互作用を解析ための解析ツールとしてリンパ管内皮細胞を独自に樹立した。本細胞を用いて、本細胞を標的化するための素子あるいは、ナノ粒子自身の取り込みを評価している。また、生体膜を突破し、自己崩壊することで細胞質まで効率的に核酸を届けるための新規脂質(ssPalmO-Phe:SS-OP)の開発にも成功した。本粒子の表面に対してリガンドを修飾するための技術の確立もすすんでおり、ssPalmO-Pheを基盤としたリンパ内皮標的化核酸送達システムの開発へと繋げる。『3. 免疫担当細胞における細胞内動態とシグナル応答制御』に関しては、ビタミンEを足場とするssPalmEのRNAワクチンとしての有用性を実証すると共に、各種遺伝子改変マウスを用いながら、本免疫活性化機構を解明している。

上記1～3の研究を進める上では、マイクロ流体デバイスを基盤としたナノ粒子の調製技術を確立しており、随時利用している。これに平行して、本製造技術自身の改良やベンチトップ型装置の開発も進んでいる。

§ 2. 研究実施体制

(1)「ナノ粒子開発・機能解析グループ」グループ

① 研究代表者:秋田 英万 (千葉大学大学院薬学研究院、教授)

② 研究項目

- ・リンパ流改変モデルマウスを用いたリンパシステム内におけるナノ粒子動態の解析
- ・リンパ節高転移性メラノーマの樹立
- ・細胞内環境応答性脂質様材料を用いたナノ粒子の細胞内動態解析
- ・RNAワクチン製剤の開発と機能/動態評価
- ・核酸搭載ナノ粒子のアジュバント活性評価

(2)「コミュニケーション素子開発」グループ

① 主たる共同研究者:市川 聡 (北海道大学大学院薬学研究院、教授)

② 研究項目

- ・免疫担当細胞の標的化素子の改良による溶解性の改善

- ・免疫担当細胞の活性化素子の合成の検討

(3)「ナノ粒子製造技術開発」グループ

- ① 主たる共同研究者: 渡慶次 学 (北海道大学大学院工学研究院、教授)
- ② 研究項目
 - ・新規マイクロ流路内ミキサー構造の開発
 - ・非カチオン性ナノ粒子の作製の開発と粒子構造の測定

(4)「細胞コミュニケーション解析」グループ

- ① 主たる共同研究者: 大槻 純男 (熊本大学大学院生命科学研究部、教授)
- ② 研究項目
 - ・表面ビオチン化法によるリンパ管内皮細胞の表面・内在化タンパク質のプロテオーム解析
 - ・RNA ワクチン製剤投与時における樹状細胞内リン酸化タンパク質の発現変動解析

(5)「生体内イメージング解析」グループ

- ① 主たる共同研究者: 岡田 峰陽 (理化学研究所・統合生命医科学研究センター、チームリーダー)
- ② 研究項目
 - ・微粒 RNA ワクチンによる抗原特異的細胞傷害性 T 細胞の分化誘導評価
 - ・微粒 RNA ワクチンのリンパ節内動態イメージング解析

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Self-Degradable Lipid-Like Materials Based on “Hydrolysis accelerated by the intra-Particle Enrichment of Reactant (HyPER)” for Messenger RNA Delivery”, *Adv Funct Mater*, 30, pp.1910575, 2020
- 2) “Development of Sentinel LN Imaging with a Combination of HAase Based on a Comprehensive Analysis of the Intra-lymphatic Kinetics of LPs”, *Mol Ther*, 29, pp225-235.11, 2021
- 3) “Three-Dimensional, Symmetrically Assembled Microfluidic Device for Lipid Nanoparticle Production”, *RSC Advances*, 11, pp.1430-1439, 2021
- 4) “One-Step Production Using a Microfluidic Device of Highly Biocompatible Size-Controlled Noncationic Exosome-like Nanoparticles for RNA Delivery”, *ACS Applied Bio Materials*, 4, pp.1783-1793, 2021
- 5) “Vitamin E Scaffolds of pH-Responsive Lipid Nanoparticles as DNA Vaccines in Cancer and Protozoan Infection” *Mol Pharm.* 17(4), pp.1237-1247. 2020