

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

2021年度 年次報告書

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』の3つを柱とした研究であり、内因性あるいは外因性微粒子のリンパシステム内動態を制御・制御する新たな技術を開発するものである。

『1. ナノ粒子のリンパ内動態制御』に関しては、内因性微粒子(エクソソーム)を構成する脂質成分を含むリポソームを調製することにより、1次リンパ節(センチネルリンパ節)を効率的に可視化することに成功した。また、本解析結果に基づき、腫瘍に投与されたエクソソームのリンパ内動態を解析したところ、リンパ節に効率的に取り込まれること、さらには、リンパ節内におけるマクロファージがその主要な取り込み細胞となることを見いだした。

『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、リンパ管内皮細胞の生物学的な機能やナノ粒子の取り込みを解析するためのツールとしてのマウスリンパ管内皮細胞を樹立した。表面修飾法を工夫することにより、リンパ内皮細胞に対して効率的に取り込まれるナノ粒子を開発することに成功した。また、本細胞からエクソソームを単離し、これらに含まれる核酸を解析している。

『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を足場とする脂質様材料を基盤としたRNAワクチン技術を開発し、そのメカニズムを解明した。特に、特定の免疫担当細胞がRNAワクチン投与時の抗原提示に主要な役割を果たすことを見いだした。

上記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開発している。これらを調製するためのデバイスを発展させ、脂質ナノ粒子の大量調製可能なプラットフォームへと展開している。また、任意のmRNA溶液を加えるだけでRNA搭載ナノ粒子が調製可能な製剤技術の開発に成功し、その物理化学的特性を解析している。

§ 2. 研究実施体制

(1)「ナノ粒子開発・機能解析」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
 - ・微粒子 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
 - ・微粒子 RNA ワクチンのリンパ節内動態イメージング解析

(6)「1粒子計測・解析」グループ

① 主たる共同研究者： 龍崎 奏（九州大学先導物質化学研究所、助教）

② 研究項目

- ・脂質ナノ粒子の表面分子評価技術の開発
- ・脂質ナノ粒子における脂質組成と粒子活性の相関性に関する研究

(7)「リンパ内動態解析」グループ

① 主たる共同研究者： 櫻井 遊（東北大学大学院薬学研究科、講師）

② 研究項目

- ・リンパシステム内におけるナノ粒子動態の解析

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Optimization of Sentinel Lymph Node Imaging Methodology Using Anionic Liposome and Hyaluronidase”, *Pharmaceutics*, vol. 13, No. 9, pp. 1462, 2021
- 2) “Quantitative and targeted proteomics-based identification and validation of drug efficacy biomarkers, *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*”, vol. 36, 100361, 2021
- 3) “Advances in sample preparation for membrane proteome quantification” *Drug Discovery Today: Technologies*, vol39, 23–29, 2021
- 4) “Improvement of mRNA Delivery Efficiency to a T Cell Line by Modulating PEG–Lipid Content and Phospholipid Components of Lipid Nanoparticles”, *Pharmaceutics*, vol. 13, No. 12, pp. 2097, 2021
- 5) “Delivery of Oligonucleotides Using a Self-Degradable Lipid-Like Material”, *Pharmaceutics*, vol. 13, No. 4, pp. 544, 2021