



Title	肺標的脂質ナノ粒子「GALA-LNP」の新規核酸分子への応用展開 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	萩野, 裕太
Citation	北海道大学. 博士(薬科学) 甲第15318号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/89755
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Yuta_Hagino_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（薬科学） 氏名 萩野裕太

主査	教授	原島秀吉
審査担当者	副査	教授 菅原満
	副査	准教授 山田勇磨
	副査	講師 柏木仁

学位論文題名

肺標的脂質ナノ粒子「GALA-LNP」の新規核酸分子への応用展開

博士学位論文審査等の結果について（報告）

本研究では肺血管内皮と親和性が高いGALA-LNPをsiRNA以外の核酸分子であるプラスミドDNA (pDNA)、そしてメッセンジャーRNA (mRNA) に応用することを試みた。

新規pDNA封入GALA-LNPとしてDODAP-GALA-LNPの作製を行った。DODAPを含む脂質溶液とpDNA溶液をマイクロ流体デバイスで混合してDODAP-LNPを調製した後、DODAP-LNPにGALAペプチド後修飾することでDODAP-GALA-LNPを作製した。しかし、GALAペプチドの修飾時にGALAの高い疎水性により粒子が凝集してpDNAが漏出したため、調製したDODAP-GALA-LNPはpDNA封入率が53%と低くなってしまった。そこで、当研究室の水村らの先行研究を応用し、GALA修飾時にPEG monooleyl etherを加えることで粒子の凝集を防止し、pDNA封入率が改善できないかを検討した。その結果、pDNAの封入率を89%まで改善することに成功した。次に、調製したDODAP-GALA-LNPの生体内分布と各臓器における遺伝子発現を検討した。その結果、DODAP-GALA-LNPは肝臓や脾臓と比較して肺に高い集積を示し、LNP投与後6時間後において肺で有意に高い遺伝子発現活性を示した。しかしながら、LNP投与後24時間後においてはDODAP-GALA-LNP投与マウスに死亡例が見られ、DODAP-GALA-LNPにおいて粒子に由来すると考えられる毒性が認められた。

DODAP-GALA-LNPをmRNA送達に応用した。mRNAはpDNAよりも少ない投与量で高い遺伝子発現が可能であるので投与量を毒性が出ない範囲に抑えることができる。また、mRNAワクチンを始めとしてヒトへの投与実績が豊富であり実用化の面からも有利である。まずはじめに、pDNA封入DODAP-GALA-LNPと同様の脂質組成でmRNA封入DODAP-GALA-LNPの作製を行った。その結果、pDNAの場合と同様に遺伝子発現は肺において有意に高く、また、pDNAと比較して10分の1以下の核酸投与量でpDNA封入LNPと同程度の遺伝子発現を示した。実験計画法を用いて脂質組成の最適化を行った結果、最適化前の「総脂質量 800 nmol、DODAP:DOPE:Cholesterol=5:3:2」という組成から、最適化によって見出した「総脂質量 400 nmol、DODAP:DOPC:Cholesterol=6:2:2」という組成に変更することで、脾臓に対する肺選択性を最適化前の4倍から45倍へと10倍以上向上させることに成功した。さらに、DODAP-GALA-LNPの活性や肺選択性を既存の肺選択的mRNA送達キャリアである肺標的SORT-LNPと比較した。その結果、肝臓に対する肺選択性がSORT-LNPが約20倍である一方DODAP-GALA-LNPは約200倍、脾臓に対する肺選択性はSORT-LNPが約5倍である一方DODAP-GALA-LNPは約20倍とDODAP-GALA-LNPは肺標的SORT-LNPと比較して顕著に高い肺選択性を有していた。

最適化したmRNA封入DODAP-GALA-LNPを用いた肺がん治療の検討を行った。本研究では、mRNAが発現系であることを活かし、リンパ組織から腫瘍内にCTLsを誘導する作用を持つケモカイン(CXCL10)を肺組織中に発現させて肺がん部に存在するCTLsの数を増加させる戦略を考えた。CXCL10をコードしたmRNA (mCXCL10)を作製し、これをDODAP-GALA-LNPに封入して肺転移モデ

ルマウスに投与して抗腫瘍効果を検討した。なお本研究では同時に mCXCL10 の送達と抗 PD-1 抗体との併用による相乗効果についても検討した。その結果、mCXCL10 封入 DODAP-GALA-LNP 投与群において、Free mCXCL10 投与群や mCXCL10 封入 DODAP-LNP 投与群と比較して有意な抗腫瘍効果が認められた。

以上、萩野氏は GALA-LNP の脂質組成を最適化することによって、肺選択的な mRNA 送達を実現した。さらに、最適化した GALA-LNP を用いて、「ケモカイン CXCL10 をコードした mRNA の肺送達による肺がん治療」という独自の戦略で治療効果を得ることに成功した。

よって萩野氏は、北海道大学博士（薬科学）の学位を授与される資格あるものと認める。