学位論文題名 mRNA 医薬の安定性および安全性を改善する脂質ナノ粒子の製剤学的検討

氏　　　名 白根 大貴

【論文要約】

<Background> 現在臨床で用いられている mRNA-LNP(Lipid-nanoparticle)型の RNA ワクチンは、保存時の活性低下を抑制するために、-80～-60℃の超低温冷凍庫に保管される。しかし、超低温冷凍庫は設置および維持にコストがかかるうえ、製造されてから投与されるまでの複数回の輸送による品質悪化のリスクもある。このため、mRNA 医薬は安定性の問題点を抱えていると言える。また、mRNA-LNP は LNP 自身が自然免疫を誘導するアジュバント能を有していると考えられている。このため、mRNA-LNP は安全性の問題を抱えており、生体に投与しても免疫系を活性化しない mRNA-LNP の開発が必須となる。

<Purpose> mRNA の二つの課題である「安定性」および「安全性」を克服することを目的とする。

<Method & Result>

・<u>安定性改善</u>: 凍結保護剤および PEG 脂質の組成検討の結果、スクロースと DMG-PEG5000 の組み合わせが最も効果的な LNP の凍結保護活性を有していた。製法を最適化することで調製後 6 か月間に安定な siRNA-LNP 凍結乾燥製剤を作成可能とした。これにより RNA-LNP 新規調製法「ワンポット凍結乾燥法」を確立した。さらに、mRNA -LNP 調製においても、スクロースが最も適した凍結保護剤であることが明らかとなり、脂質と mRNA の混合割合を変更することで、80%を超える封入効率を達成した。さらに、不活性化ガスであるアルゴンガスを凍結乾燥直後に充填する検討をおこない、調製後 4 か月に渡り mRNA 活性が保たれる製剤を調製可能とした。

・<u>安全性改善</u>: モデル抗原タンパク質(Ovalbumin; OVA)と empty-LNP の投与により、LNP 投与量依存的にモデル抗原 OVA に対する細胞性免疫が誘導された。この LNP 自身が持つアジュバント作用を抑制する免疫抑制剤の探索検討を行った結果、免疫抑制剤 X の併用により LNP の免疫誘導作用が抑制される傾向にあることが示された。続いて、脂溶性誘導体化した免疫抑制剤 X(Lipid-X)を合成し、LNP 内に搭載した。Lipid-X 搭載 empty-LNP は、元の薬物との併用群よりも薬物の投与量が小さいにもかかわらず、より大きな細胞性免疫の抑制効果を示すことが明らかとなった。この Lipid-X 搭載による細胞性免疫抑制効果は、OVA をコードした mRNA を含む mRNA-LNP においても、有意に発揮されることが明らかとなった。

・<u>2 つの戦略(凍結乾燥/Lipid-X)の組み合わせ</u>: 最後に、上記の安定性改善および安全性改善の戦略が両立可能であるか検討をおこなった。ワンポット凍結乾燥法を用いて調製した Lipid-X 搭載 mRNA-LNP は、細胞性免疫誘導が有意に抑制された。

<Conclusion> 本研究では、製剤学的アプローチと免疫学的アプローチにより mRNA-LNP の「安定性」および「安全性」の改善を同時に達成した。

<Reference>

D. Shirane et al., *Biol. Pharm. Bull.* 41: 1291. (**2018**),

D. Shirane et al., *Pharmaceutics*, 15: 1819. (**2022**)