

【目的】本研究では、内因性リガンドを用いた組織選択的薬物送達システムという、新しい戦略に基づいて、従来の選択性・機能性を遥かに凌駕する薬物送達システムを創製することを最終目的としている。ウイルスは自然界で最適化された天然型遺伝子送達システムであり、進化の過程を経て超高機能を獲得し、種々の組織移行性と細胞内動態制御能を獲得した。我々は、生体内交通を支配している未知の内因性リガンドを、ナノ構造体の網羅的解析により探索し、従来の人工的な標的化リガンドから天然型のリガンドへと進化させる。そのためには、膨大な数の表面特性・内部構造を有する脂質ナノ粒子 (LNP) の生成が必要となる。我々はすでに、工学研究院の佐藤教授等と連携して、種々の物理化学的多様性を有するポリエステルポリマーを作製し、LNP の表面特性を網羅的に解析することが可能となっている。本研究では、ポリエステルポリマーライブラリーを構築し、種々の表面特性を有する LNP 群の中から肺選択性の高い LNP を、マウス個体を用いて網羅的に探索した。

【方法】1. ポリエステルポリマーライブラリーの生成：N 基を含むアルコール性開始剤 (AA01~AA11) と ϵ -caprolactone あるいは ϵ -decalactone を開環重合反応によってポリエステルポリマーライブラリーを合成した。2. LNP の構築：各ポリエステルポリマーと DMG-PEG を用いて、mRNA 搭載 LNP を調製した。3. mRNA 発現による *in vivo* スクリーニング：EGFP の mRNA を LNP に搭載し、肺、肝臓、心臓、腎臓、脾臓の遺伝子発現活性を測定した。

【結果】1. ポリエステルポリマーの合成：有機触媒開環重合反応により、アミノアルコールが AA01~AA11 の 11 個、ポリエステルポリマーの重合度が 3、5、10 kDa の 3 種類、合計 33 個 (AA01-DL-3/5/10、AA02-DL-3/5/10、AA03-DL-3/5/10、AA04-DL-3/5/10、AA05-DL-3/5/10、AA06-DL-3/5/10、AA07-DL-3/5/10、AA08-DL-3/5/10、AA09-DL-3/5/10、AA10-DL-3/5/10、AA11-DL-3/5/10) のポリエステルポリマーライブラリーを合成した。2. ポリエステルポリマーライブラリーによる脂質ナノ粒子の調製：ポリエステルポリマーと DMG-PEG および mRNA を用いて LNP を調製した。ポリエステルポリマーと DMG-PEG の比率はモル比で 9 : 1 を用いた。LNP の平均粒子径、PDI (多分散度指数)、ゼータ電位を測定したところ、平均粒子径は 200~300 nm、PDI は 0.19~0.35、ゼータ電位は -29.0~-10.5 mV であった。3. ポリエステルポリマーライブラリーに基づく LNP 群の遺伝子発現解析：*in vivo* のスクリーニングは、mRNA のマウスへの投与量を 0.25 mg/kg とし、LNP 溶液を尾静脈より静脈内投与し、8 時間後の EGFP の蛍光共同を測定した。 ϵ -DL を用いた LNP の中でも、AA03-DL-10、AA05-DL-10、AA07-DL-10 そして AA09-DL-5 の LNP は、その遺伝子発現活性において極めて高い肺特異性を示した (図 A、B)。これらの高い肺特異性は、内因性因子が介在している可能性を強く示唆した。そこで、肺における遺伝子発現活性とリポポリマーの構造との関係をさらに詳細に解析するために、第二世代のライブラリー構築を行い、解析を進め肺選択性の高いポリマー群を見出すことに成功した。

高い肺移行性を示した LNP の遺伝子発現

