

ネオ・エクソソームの創製

研究代表者

川上 茂 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

共同研究者

麓 伸太郎 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 准教授



1. 研究の背景と達成目標

我々が開発を進めている高機能・高品質脂質 (High Functionality and Quality: HFQ 脂質) による微粒子製剤の開発実績を基盤に、高機能・高品質なエクソソーム (ネオ・エクソソーム) 製剤の製造体系を創製し、その生体内挙動を制御する戦略を構築する。研究の目標は以下の通りである。

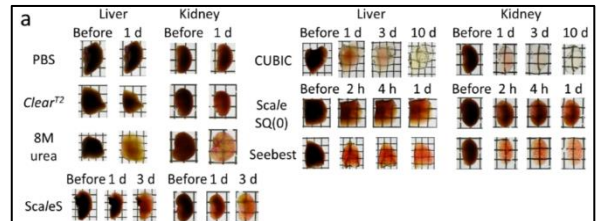
①マイクロ流体法と HFQ 脂質を利用することで、エクソソームの表面に対して機能性ペプチドにより機能化させる新たな方法を開発し、腫瘍に結合する新規ペプチド修飾 HFQ 脂質を用いて、腫瘍細胞選択的にエクソソームを取り込ませる。②マルチスケール相関イメージングにより、エクソソームおよび第 1 世代ネオ・エクソソームの生体内挙動を解析し明らかにする。③ヒトすい臓癌においては、腫瘍組織内にコラーゲンなどの間質が豊富に存在し、通常、100~200nm の粒子径をもつエクソソームが腫瘍細胞まで到達することが難しく、腫瘍深部に到達させるためにはエクソソームの粒子径を縮小化させる必要がある。そこで、腫瘍内動態を制御し得る脂質・タンパク質・核酸を再構成させることで調製した人工の第 2 世代ネオ・エクソソーム開発を行う。

2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

- ・マイクロ流体法を用いて、オリジナルエクソソームの物理化学的性質を大きく変化させずに品質を保持させ、エクソソーム表面を機能化することができるペプチド修飾 HFQ 脂質の開発と種々のがん細胞内に取り込ませることができる新規ペプチド修飾脂質、KK-HFQ 脂質の開発に成功した。
- エクソソームの品質を保持した状態でのペプチド機能修飾化法の理論構築に成功した。この方法はマイクロ流体法を利用しているため、ナノ粒子医薬品開発で障壁となっているスケールアップも可能である。本成果は、エクソソームに留まらず、同じように脂質二重膜を有するが、品質確保が隘路となり標的指向化製剤の実用化が進んでいない、ナノ粒子であるリポソームや核酸封入脂質ナノ粒子 (Lipid nanoparticle: LNP) への体内・細胞内動態制御化にも適用も可能であり、新たな産業基盤の創生に繋がるものと期待している。
- ・独自の組織透明化試薬である Seebest、SeebestPP の開発に成功し、組織透明化によるエクソソームの組織内空間分布の観察を行った。
- 近年、難治性疾患治療の期待ができる中分子 (タンパク質・核酸) や遺伝子医薬品の医薬品開発においては、その標的部位が臓器中の組織内の特定の細胞であったり、その細胞内であったりするため、組織内空間分布を明らかにできる新たな評価方法が強く望まれている。本研究で新たに開発した迅速、pH 調整可能、脂質膜保持可能な Seebest、SeebestPP の開発に成功した。本成果は、現在、グローバル展開している大手製薬企業との共同研究に繋がり、新薬の創成研究にも貢献している。
- ・実験計画法による処方設計法を駆使することで、第 2 世代ネオ・エクソソームの処方設計法の開発に成功した。
- 複雑な処方である第 2 世代ネオ・エクソソームの開発に際し、実験計画法を導入した。第 2 世代ネオ・エクソソームは、従来のエクソソームより品質管理が容易であり、創薬における新たな種としての発展が期待される。

3. 研究成果

- ・脂質二重膜を有するリポソームをモデルエクソソームとした細胞結合評価系を用い、細胞取り込みに必須となる最小単位のペプチド配列で修飾した脂質、KK-HFQ 脂質を見出すことに成功した。
- ・本研究では、フナコシ社から購入したミルクエクソソームならびに超遠心法を用いて単離した M1 マクロファージ由来エクソソームの 2 種類を用いた。KK-HFQ 脂質を緩衝液に分散させ、マイクロ流体法を応用した新たなエクソソームのペプチド修飾法の開発に成功した。物理化学的性質およびすい臓癌由来細胞への細胞結合特性を FACS を用いて評価したところ、KK ペプチド修飾エクソソームは、オリジナルエクソソームに比べて、同等の物理化学的性質や品質特性を有しているが、ヒトすい臓癌細胞への高い細胞結合特性を示すことを見出した。
- ・迅速、pH 調整可能、脂質膜保持可能な Seebest の開発に成功した(右図: DOI: 10.3390/pharmaceutics12111070)。
- ・実験計画法による処方設計法により、第 2 世代ネオ・エクソソームの処方設計法の開発に成功した。



4. 今後の展開

- ・本成果の延長線にある第 1 世代、第 2 世代ネオ・エクソソームの医薬品化研究をさらに進めていきたい。
- ・最近、マイクロ流体法による脂質二重膜ナノ粒子への HFQ 脂質のポストインサート法の理論を応用した新たな HFQ 脂質の設計・合成を行い、簡便な調製が可能となるモノクローナル抗体修飾 LNP 製剤の創製に成功した。
- ・現在、モノクローナル抗体修飾 mRNA/LNP を応用した新規 mRNA ワクチン開発戦略を考案し、長崎大学の薬学・医学の共同研究を推進している。今後、長崎大学に建設されている BSL4 施設を利用していくことで、現在治療法のない難治性感染症あるいは超高齢化社会の到来により国内で顕著な増加が見込まれる難治性がんに対する、新規 mRNA ワクチンの創製へと展開していきたい。
- ・Seebest、SeebestPP による組織透明化技術については、長崎大学知財部と連携して現在の大手製薬企業との共同研究を加速あるいは拡大させていくことで、新薬の創製にも貢献していきたい。

5. 発表実績

1. Fumoto S, Kawakami S, et al.: A pH-Adjustable Tissue Clearing Solution That Preserves Lipid Ultrastructures: Suitable Tissue Clearing Method for DDS Evaluation, **Pharmaceutics**, 12(11), 1070, 2020
2. 川上 茂, 向井英史, 杉本友里, 海野水綺: **特願 2021-190933**, 脂質性化合物、リポソーム、エクソソーム、脂質ナノ粒子及びドラッグデリバリーシステム、2021 年 11 月 25 日
3. 麓伸太郎, 川上 茂, 西田孝洋: **特許第 7033795 号**, 生体由来材料の透明化用試薬、2022 年 3 月 3 日
4. Fumoto S, Kawakami S, Nishida K.: Multicolor deep imaging based on tissue optical clearing for DDS evaluation, **3rd Workshop for Japan-Korea Young Scientists on Pharmaceutics**, 2019 年 7 月 10 日 (シンポジウム講演)
5. 川上 茂, 杉本友里: 体内動態制御化を目的とした機能性エクソソームの製造体系・開発体系の構築、**日本薬学会第 140 年会**, 2020 年 3 月 28 日 (シンポジウム講演)
5. 川上 茂: ペプチド修飾を用いた機能化エクソソームの開発、**日本薬学会第 141 年会**, 2021 年 3 月 27 日 (シンポジウム講演)
7. 麓伸太郎, 川上 茂, 西田孝洋: 組織透明化を基盤とした体内動態・組織中空間分布の評価、**日本薬学会第 36 年会**, 2021 年 5 月 15 日 (シンポジウム講演)
8. 川上 茂: 標的指向 DDS 開発と組織透明化評価、**創剤研究コンソーシアム 2021 年度 第 2 回研究会** 2022 年 2 月 18 日 (招待講演)