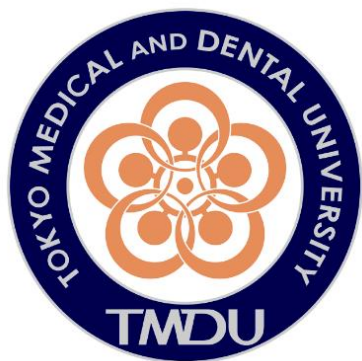


# mRNAワクチン・mRNA医薬の 今後の展開

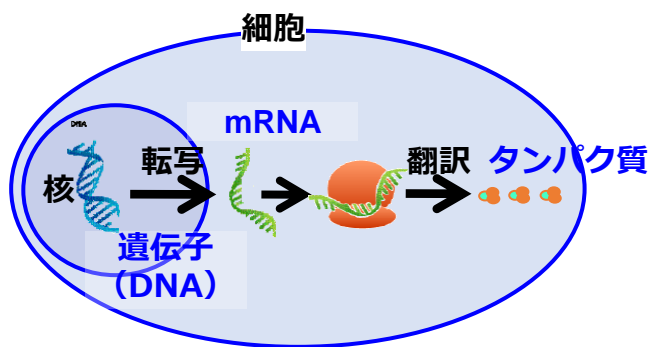
位高 啓史

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所  
大阪大学 感染症総合教育研究拠点 (CiDER)

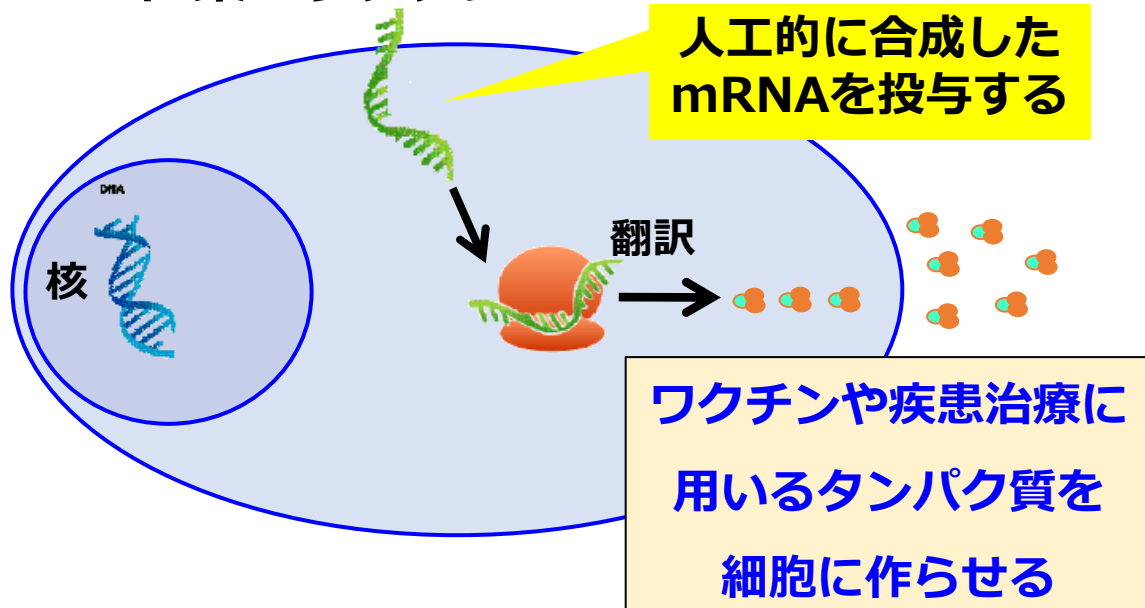


# mRNA医薬・mRNAワクチン

## 通常の遺伝子発現



## mRNA医薬・ワクチン



mRNAは「情報伝達分子」であり、タンパク質の「設計図」を投与して、クスリ（タンパク質）を体内で産生させるという新しいタイプの医薬品

4種の核酸の並べ方は自在に設計できる → どのようなタンパク質でも産生可能である（ワクチンでも治療薬でも！）

mRNAからのタンパク質翻訳はあらゆる細胞に共通の仕組みを用いられる → どのような細胞でも標的にすることができる

mRNAは一定時間（通常数時間～数日）タンパク質翻訳したあと自然に分解され、ゲノムへの挿入リスクも無い → 安全性が高い

# 本日のトピック

## 1. mRNA創薬に用いられる技術

mRNA設計・製造、DDS

## 2. mRNA創薬の現状

ワクチン（感染症、がん）

治療用mRNA医薬

## 3. まとめ（今後の展望）

# 動物の体内に遺伝子を投与してタンパク質を産生させた初めての論文

Wolff, J. A. Science 247: 1465-8, 1990

## Direct Gene Transfer into Mouse Muscle in Vivo

JON A. WOLFF,\* ROBERT W. MALONE, PHILLIP WILLIAMS,  
WANG CHONG, GYULA ACSADI, AGNES JANI, PHILIP L. FELGNER

**RNA and DNA** expression vectors containing genes for chloramphenicol acetyltransferase, luciferase, and  $\beta$ -galactosidase were separately injected into mouse skeletal muscle in vivo. Protein expression was readily detected in all cases, and no special delivery system was required for these effects. The extent of expression from both the RNA and DNA constructs was comparable to that obtained from fibroblasts transfected in vitro under optimal conditions. In situ cytochemical staining for  $\beta$ -galactosidase activity was localized to muscle cells following injection of the  $\beta$ -galactosidase DNA vector. After injection of the DNA luciferase expression vector, luciferase activity was present in the muscle for at least 2 months.

**M**OST EFFORTS TOWARD POSTNATAL gene therapy have relied on indirect means of introducing new genetic information into tissues: target cells are removed from the body, infected with viral vectors carrying the new genetic information, and then reimplanted into the body (1). For some applications, direct introduction of genes into tissues in vivo,

(5). With the use of cationic lipid vesicles (6), mRNA sequences containing elements that enhance stability can be efficiently translated in tissue culture cells (7) and in *Xenopus laevis* embryos (8). We now show that injection of pure RNA or DNA directly into mouse skeletal muscle results in significant expression of reporter genes within the muscle cells.

9 and 10 and 21 to 24, respectively). The average total amount of CAT activity expressed in muscle was 960 pg for the RNA injections and 116 pg for the DNA injections. The variability in CAT activity recovered from different muscle sites probably represents variability inherent in the injection and extraction technique, because significant variability was observed when pure CAT protein or pRSVCAT-transfected fibroblasts were injected into the muscle sites and immediately excised for measurement of CAT activity. CAT activity was also recovered from abdominal muscle injected with the RNA or DNA CAT vectors (13), indicating that other muscles can take up and express polynucleotides.

The site of gene expression was determined for the pRSVlac-Z DNA vector (14) expressing the *Escherichia coli*  $\beta$ -galactosidase gene (Fig. 2). Seven days after a single injection of 100  $\mu$ g of pRSVlac-Z DNA into individual quadriceps muscles, the entire muscles were removed, and every fifth 15- $\mu$ m cross section was histochemically

# 何故これまでmRNAは使われなかったか？

## mRNAの体内への投与を困難にした2つの問題点

### ①生体内環境下でmRNAは極めて不安定である

- 生体内は核酸分解酵素の豊富な環境であり，特に細胞外のmRNAは急速に分解される

### ②mRNAは強い免疫反応を引き起こす

- 細胞外からのmRNAは，細胞に接触すると強い免疫反応を惹起する：自然免疫機構の関与（Toll様受容体）
- 自己のRNAと外部からのRNAを区別するメカニズムはまだ明らかにされていない

**mRNA医薬・mRNAワクチンの実用化に求められる技術**

◆ mRNA分子設計・製造技術の進歩

◆ mRNAを生体内の標的部位に運ぶ技術（DDS）の開発

# mRNA分子設計

真核細胞mRNAの基本的構造

Cap

5'UTR

ORF (タンパク質をコードする部分)

3'UTR

Poly(A) tail

## mRNAの調製

まず目的のタンパク質をコードする設計はDNAで行う

鋳型DNA

Promoter (T7 etc)

5'UTR

ORF

3'UTR

In vitro 転写 (試験管内での転写)

RNA

Cap

5'UTR

ORF

3'UTR

Processing

タンパク質翻訳可能なmRNA

Cap

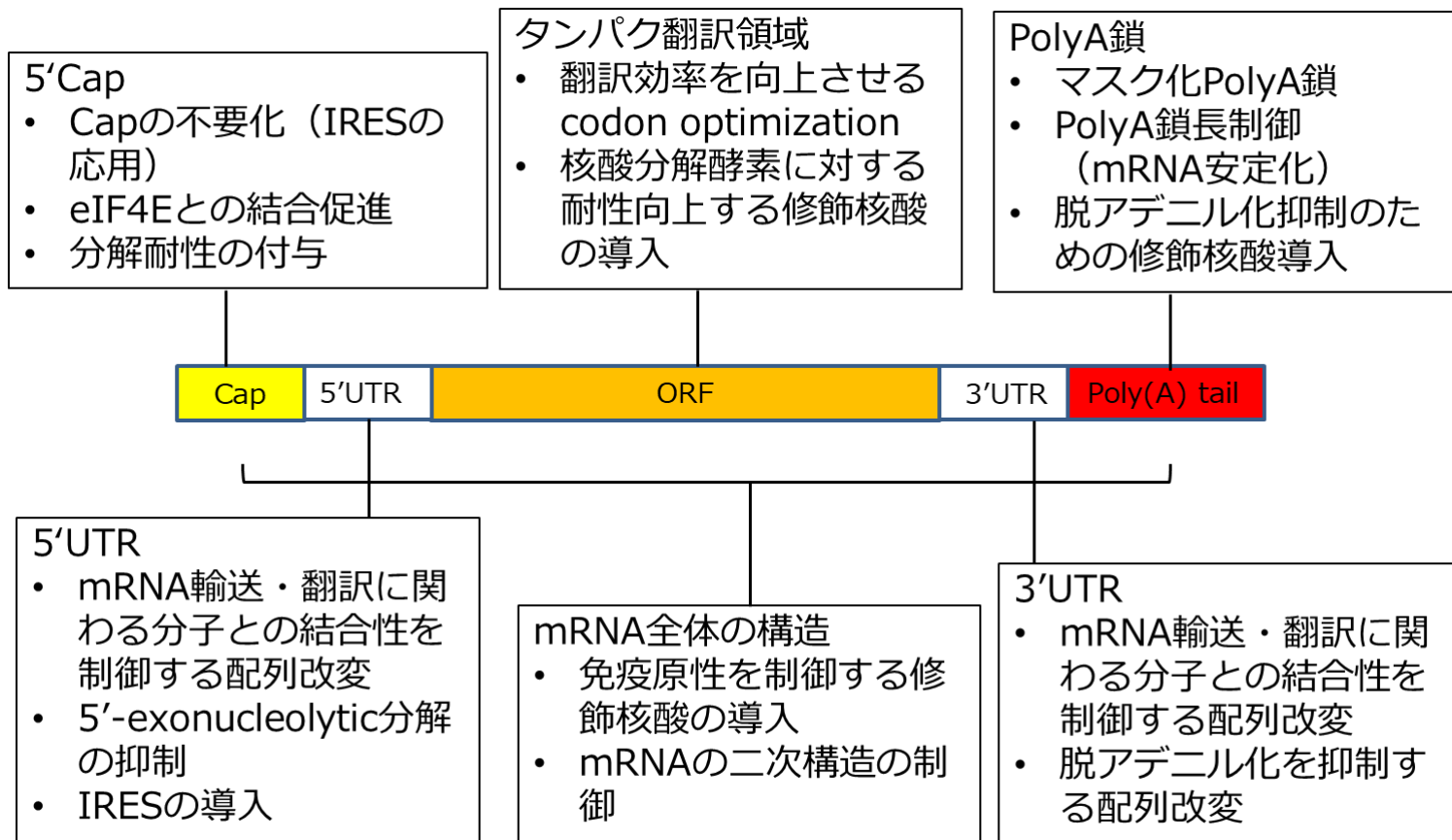
5'UTR

ORF

3'UTR

Poly(A) tail

# mRNA分子の改良・最適化



Nat Rev Drug Discov 13: 759, 2014  
より引用改変

- mRNA分子構造改変の主目的は (従来は)  
**翻訳効率の向上、持続性の向上、免疫原性制御** の3点

# mRNA分子設計

天然のmRNAをそのまま体内に投与すると、投与部位に炎症を起こしてしまう  
(自然免疫の働き)



修飾核酸 (modified nucleotide) を用いたmRNAは炎症を  
起こしにくいことが発見された (Kariko et al. Immunity  
23(2):165-75, 2005)

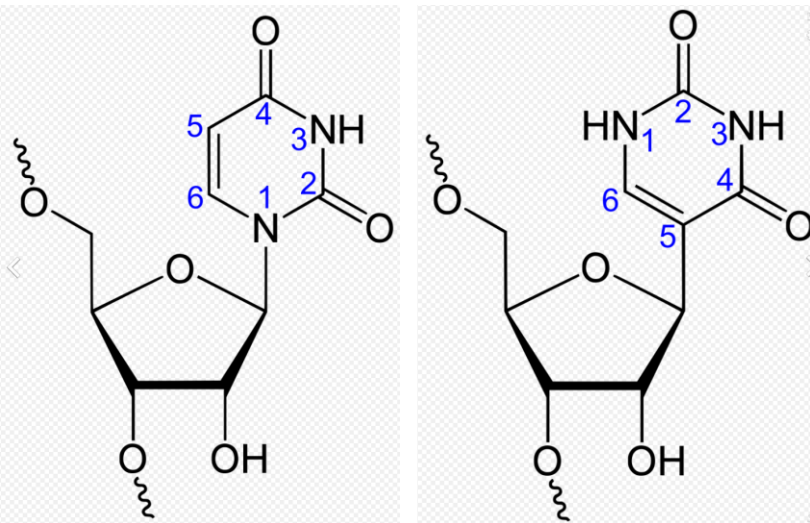
→ 免疫反応を回避する修飾mRNA作成法が考案された



Katalin Kariko先生

ウリジン

シュードウリジン



BIONTECH   
設立2008年

moderna  
設立2010年

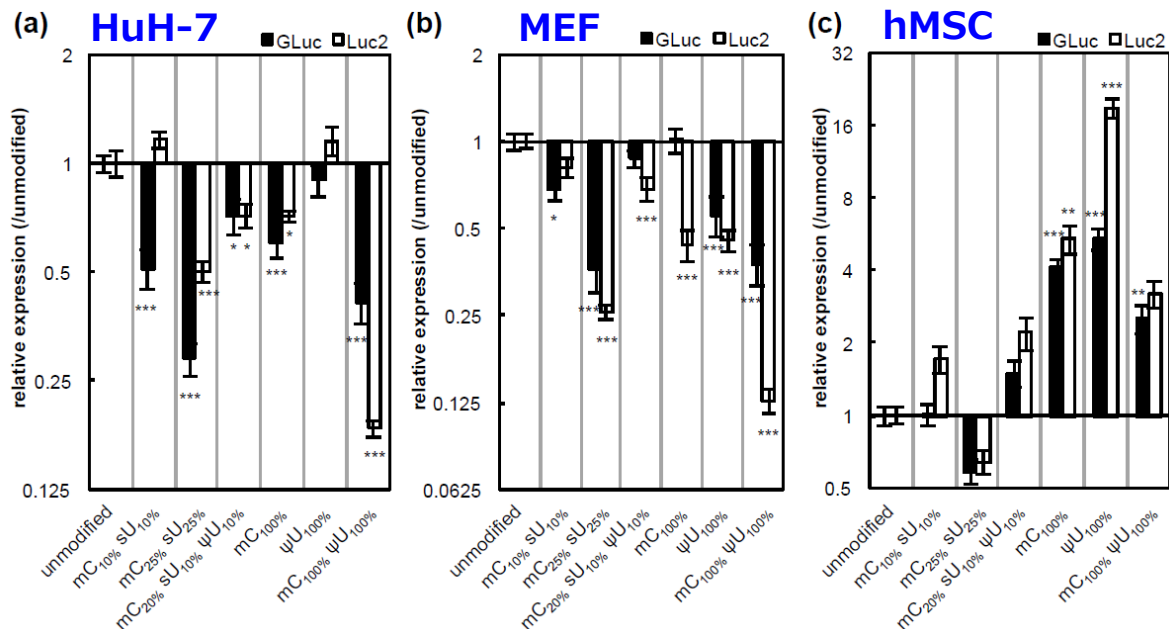
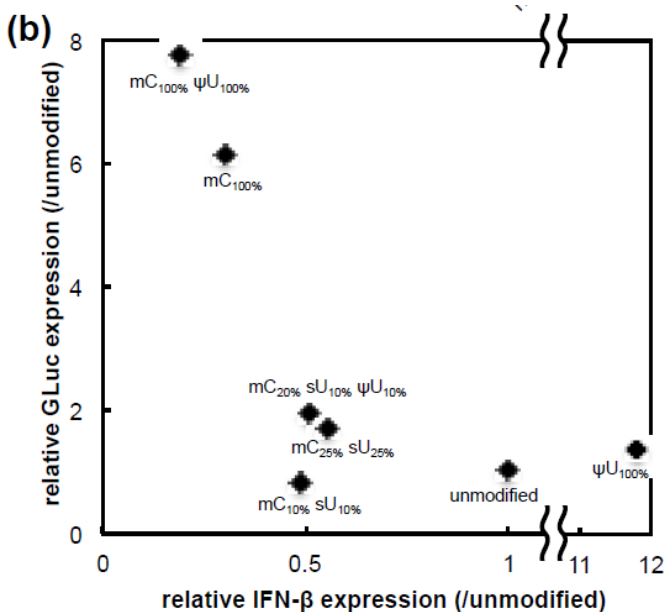
Kariko et al. Mol Ther 2008



# Screening of mRNA Chemical Modification to Maximize Protein Expression with Reduced Immunogenicity

Pharmaceutics 7: 137-151, 2015

Satoshi Uchida<sup>1</sup>, Kazunori Kataoka<sup>1,2,3,\*</sup> and Keiji Itaka<sup>1,\*</sup>



**Raw264.7 cell (マクロファージ系)**  
 サイトカイン産生とタンパク質翻訳は  
 逆相関の関係

細胞種、発現タンパク質の種類によって、最も高いタン  
 パク質翻訳が得られる修飾条件はそれぞれ異なる

標的の細胞  
 発現タンパク質  
 投与方法  
 (formulation)

それぞれによって、最も適した核酸修飾条件は異なる  
 → 個別に最適化を行う必要がある

# mRNA分子設計

天然のmRNAをそのまま体内に投与すると、投与部位に炎症を起こしてしまう  
(自然免疫の働き)



修飾核酸 (modified nucleotide) を用いたmRNAは炎症を  
起こしにくいことが発見された (Kariko et al. Immunity  
23(2):165-75, 2005)

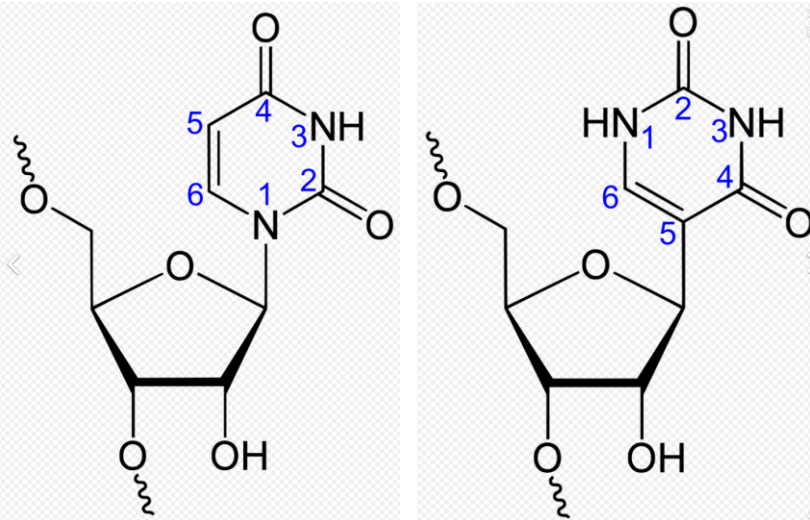
→ 免疫反応を回避する修飾mRNA作成法が考案された



Katalin Kariko先生

ウリジン

シュードウリジン



Kariko et al. Mol Ther 2008

BIONTECH  
設立2008年

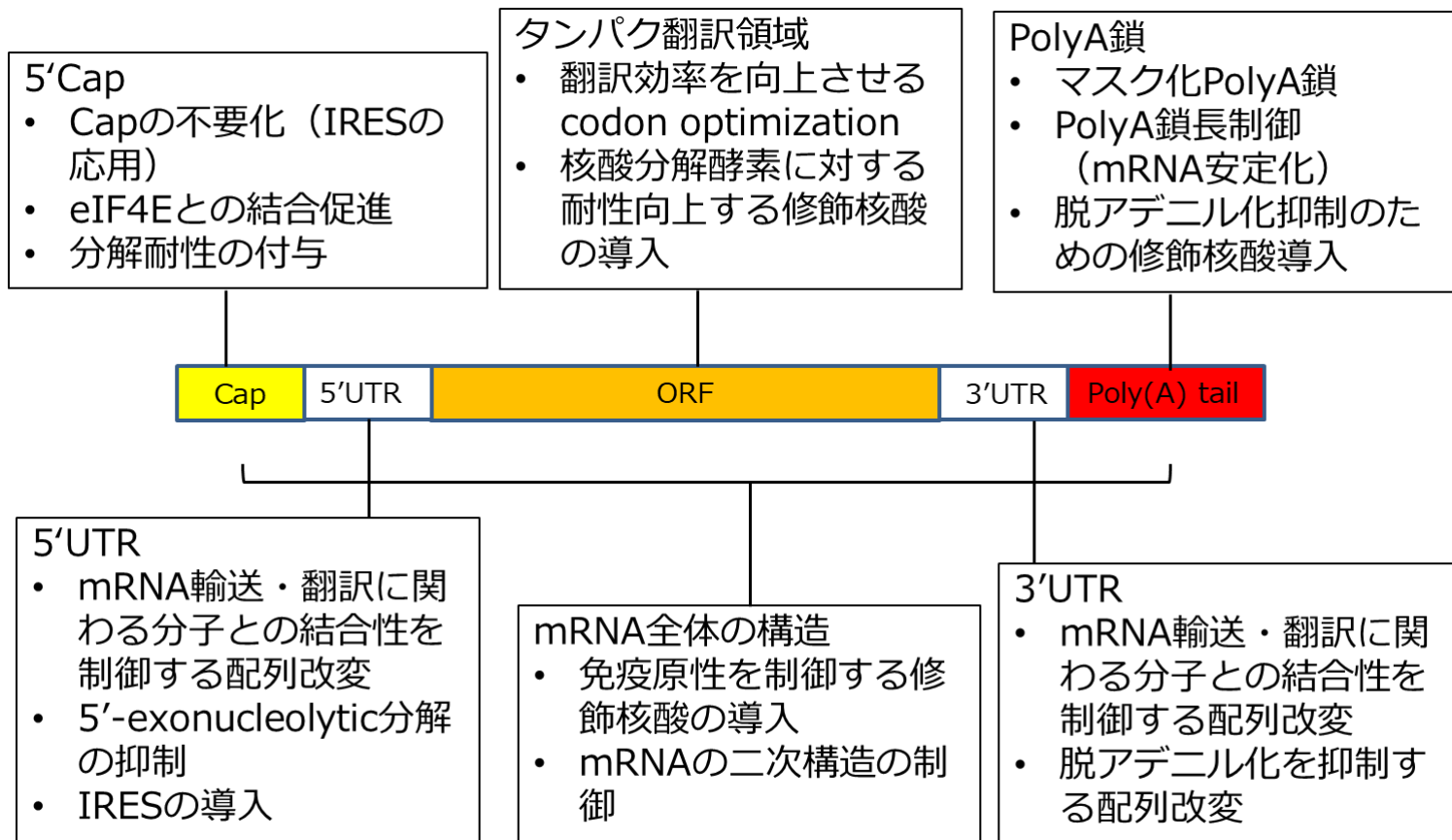
moderna  
設立2010年

- Pfizer/BioNTech、Modernaの  
COVID-19ワクチンは、いずれもメチル  
化シュードウリジンが使われている
- 他にも多くの核酸修飾法があり、天然型  
mRNAを用いる企業もある



投与目的・標的組織・投与経路など  
によって、個別に最適化が進められる

# mRNA分子の改良・最適化



Nat Rev Drug Discov 13: 759, 2014  
より引用改変

- mRNA分子構造改変の主目的は (従来は)  
**翻訳効率の向上、持続性の向上、免疫原性制御** の3点

## mRNA 1copyからのタンパク翻訳の持続時間はどの程度か？

### Global quantification of mammalian gene expression control

Björn Schwanhäusser<sup>1</sup>, Dorothea Busse<sup>1</sup>, Na Li<sup>1</sup>, Gunnar Dittmar<sup>1</sup>, Johannes Schuchhardt<sup>2</sup>, Jana Wolf<sup>1</sup>, Wei Chen<sup>1</sup> & Matthias Selbach<sup>1</sup>

mRNAの細胞質内での寿命は数時間  
nature 473:337, 2011

LETTER

doi:10.1038/nature11013

### Systematic discovery of structural elements governing stability of mammalian messenger RNAs

Hani Goodarzi<sup>1,2†</sup>, Hamed S. Najafabadi<sup>3,4†</sup>, Panos Oikonomou<sup>1,2†</sup>, Todd M. Greco<sup>2</sup>, Lisa Fish<sup>5</sup>, Reza Salavati<sup>3,4,6</sup>, Ileana M. Cristea<sup>2</sup> & Saeed Tavazoie<sup>1,2†</sup>

LETTER

doi:10.1038/nature14212

### hiCLIP reveals the *in vivo* atlas of mRNA secondary structures recognized by Staufen 1

Yoichiro Sugimoto<sup>1</sup>, Alessandra Vigilante<sup>3,4\*</sup>, Elodie Darbo<sup>3\*</sup>, Alexandra Zirra<sup>2</sup>, Cristina Militti<sup>2</sup>, Andrea D'Ambrogio<sup>1,2</sup>, Nicholas M. Luscombe<sup>3,4,5</sup> & Jernej Ule<sup>1,2</sup>

mRNA挙動に対する局所的な二次構造の重要性  
nature 473:337, 2011

mRNA 1copyからのタンパク質  
翻訳持続は高々数時間

DNA RESEARCH 16, 45–58, (2009)

doi:10.1093/dnar

### Database for mRNA Half-Life of 19 977 Genes Obtained by DNA Microarray Analysis of Pluripotent and Differentiating Mouse Embryonic Stem Cells

Lioudmila V. SHAROVA<sup>†</sup>, Alexei A. SHAROV<sup>†</sup>, Timur NEDOREZOV, Yulan PIAO, Nabeebi SHAIK, and Minoru S.H. Ko<sup>\*</sup>

内在性mRNAの半減期：中央値は7.1h, 転写因子など短く、細胞骨格タンパクなどは長い傾向  
DNA Res 16: 45, 2009

### Genome-wide technology for determining RNA stability in mammalian cells

Historical perspective and recent advantages based on modified nucleotide labeling

Hidenori Tani<sup>†</sup> and Nobuyoshi Akimitsu<sup>2\*</sup>

RNAの細胞内寿命は3.4~10h  
RNA Biology 9: 1233, 2012

短すぎる！

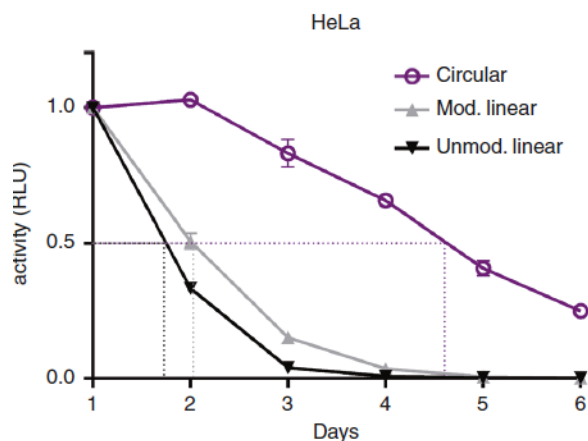
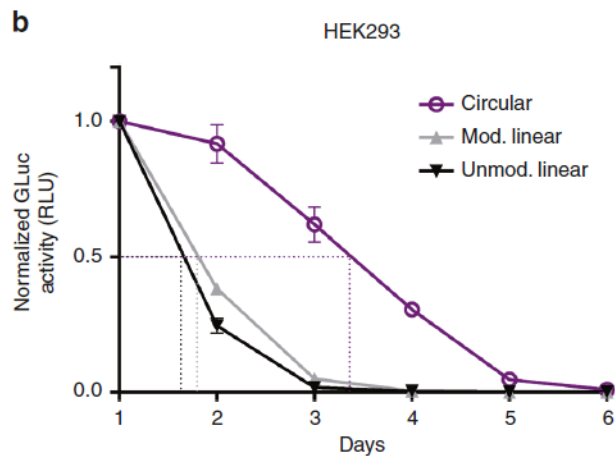
ARTICLE

DOI: 10.1038/s41467-018-05096-6

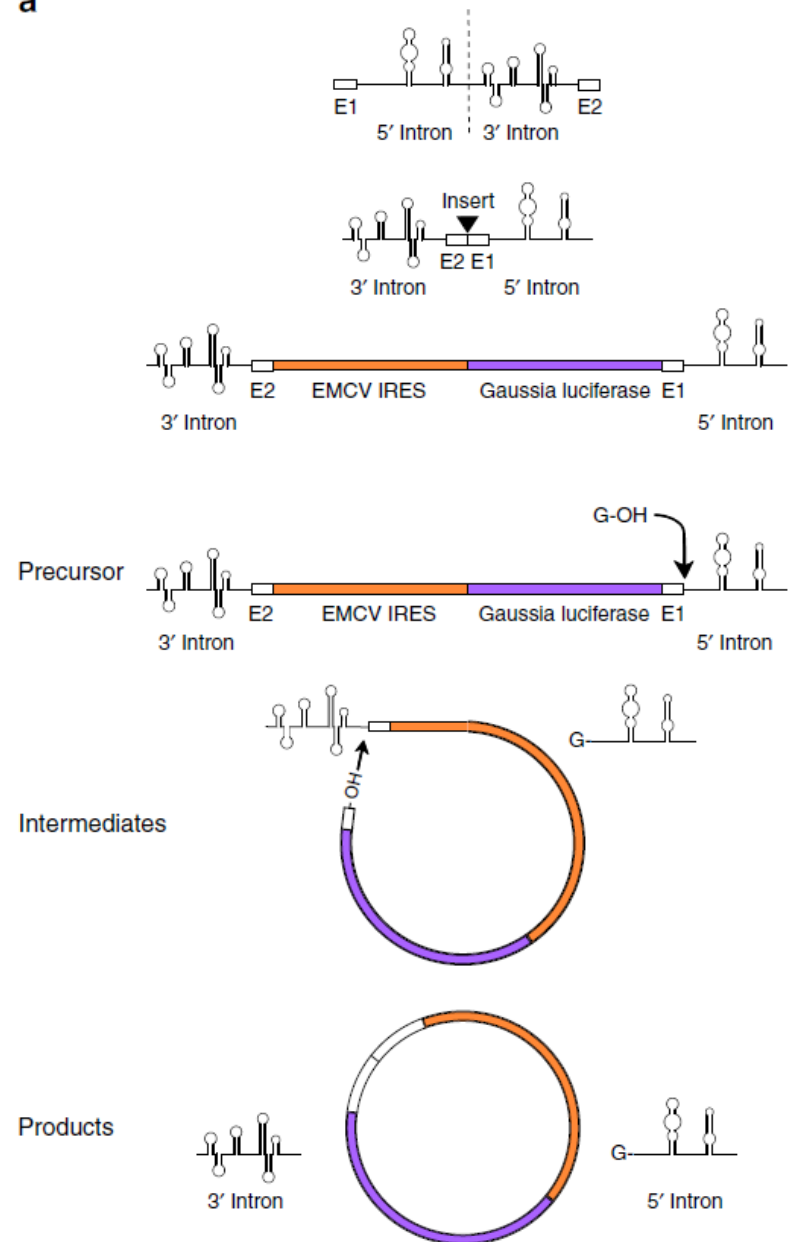
OPEN

# Engineering circular RNA for potent and stable translation in eukaryotic cells

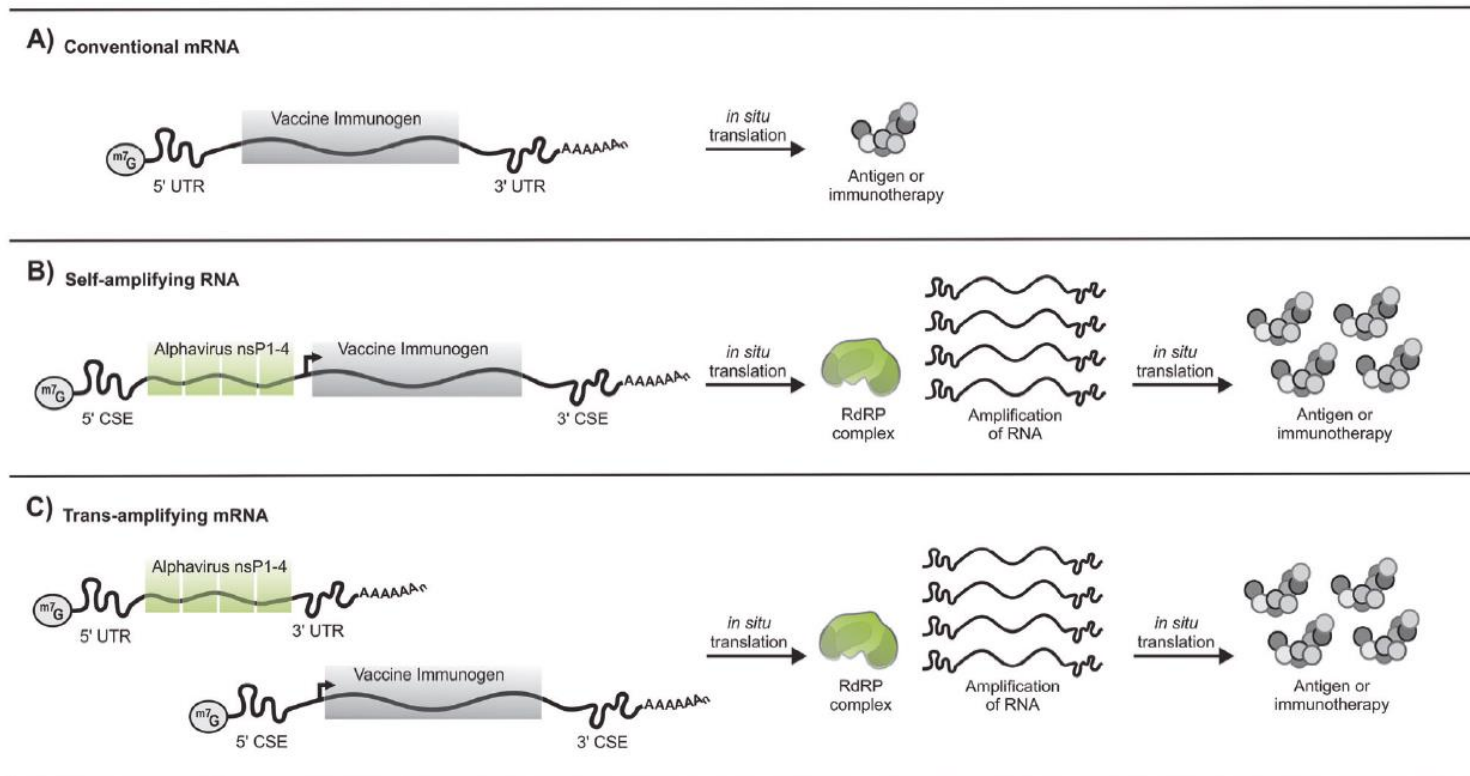
R. Alexander Wesselhoeft<sup>1,2</sup>, Piotr S. Kowalski<sup>3</sup> & Daniel G. Anderson<sup>1,3,4,5</sup>



**a**



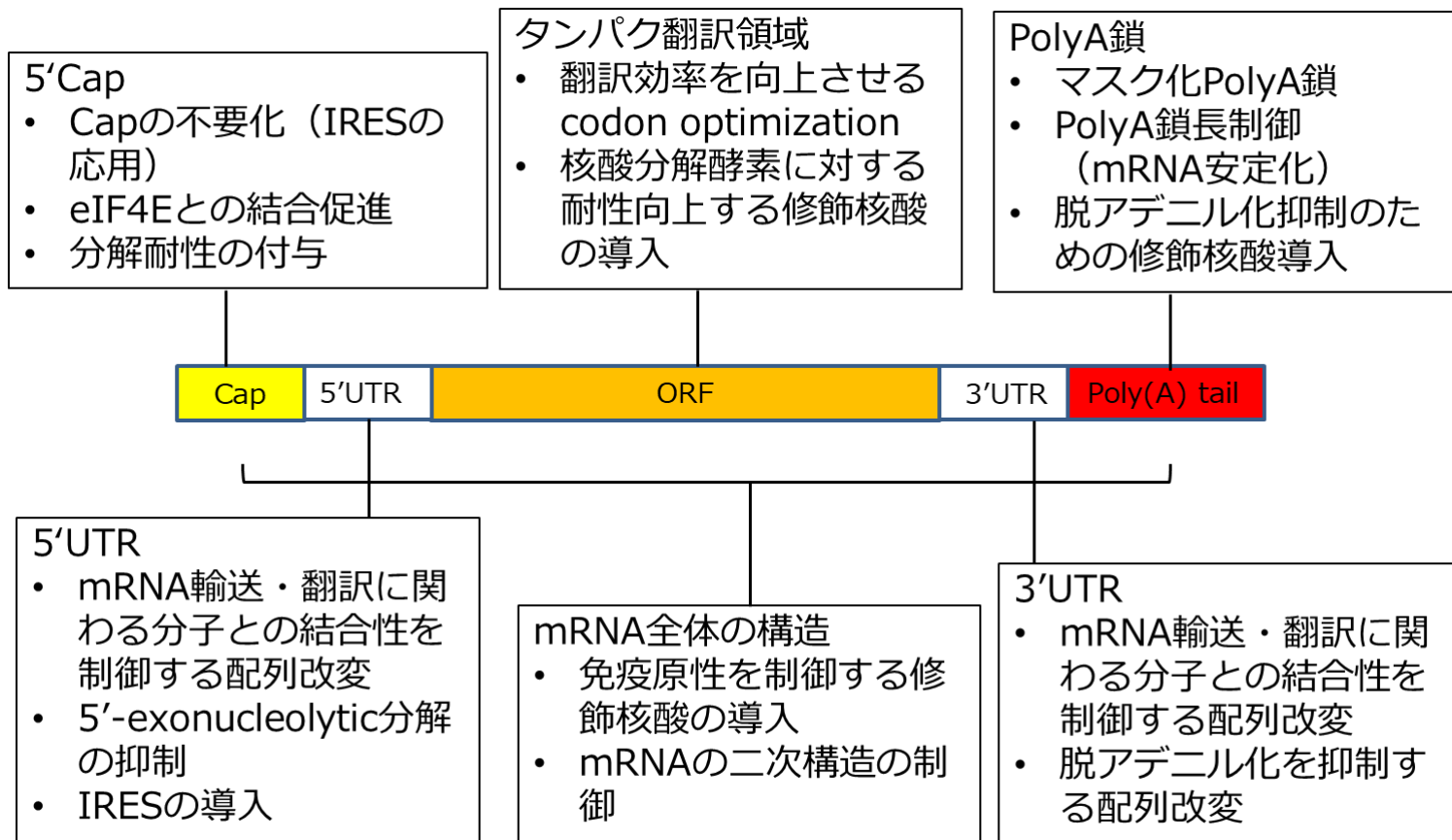
# 自己複製型mRNA



**Fig. 1 Conventional, self-amplifying, and trans-amplifying RNA vaccine designs.** A 5' cap (m7G) and poly A tail are common to all RNA transcripts. **A** Conventional mRNAs encode the vaccine immunogen and flanking 5' and 3' UTRs. An antigen or immunotherapy is translated from the nonreplicating transcript. **B** Self-amplifying RNA encodes 5' and 3' CSE sequences, the nsP1-4 genes, a subgenomic promoter, and the vaccine immunogen. Following in situ translation, the nsP1-4 proteins form an RdRP complex which recognizes flanking CSE sequences and amplifies vaccine-encoding transcripts. This results in an accumulation of the antigen or immunotherapy within the cell. **C** Trans-amplifying mRNAs use two

different transcripts to achieve a similar effect to self-amplifying RNAs. A conventional mRNA encoding the nsP1-4 genes flanked by 5' and 3' UTRs is co-delivered with a separate transcript that encodes the viral CSE sequences, the subgenomic promoter, and the vaccine immunogen. In situ translation of the conventional mRNA results in the formation of the RdRP complex, which subsequently amplifies the vaccine-encoding transcript to result in the accumulation of the antigen or immunotherapy. UTR untranslated region, CSE conserved sequence elements, nsP1-4 nonstructural proteins 1-4, RdRP RNA-dependent RNA polymerase.

# mRNA分子の改良・最適化



Nat Rev Drug Discov 13: 759, 2014  
より引用改変

➤ mRNA分子構造改変の主目的は (従来は)  
**翻訳効率の向上、持続性の向上、免疫原性制御** の3点

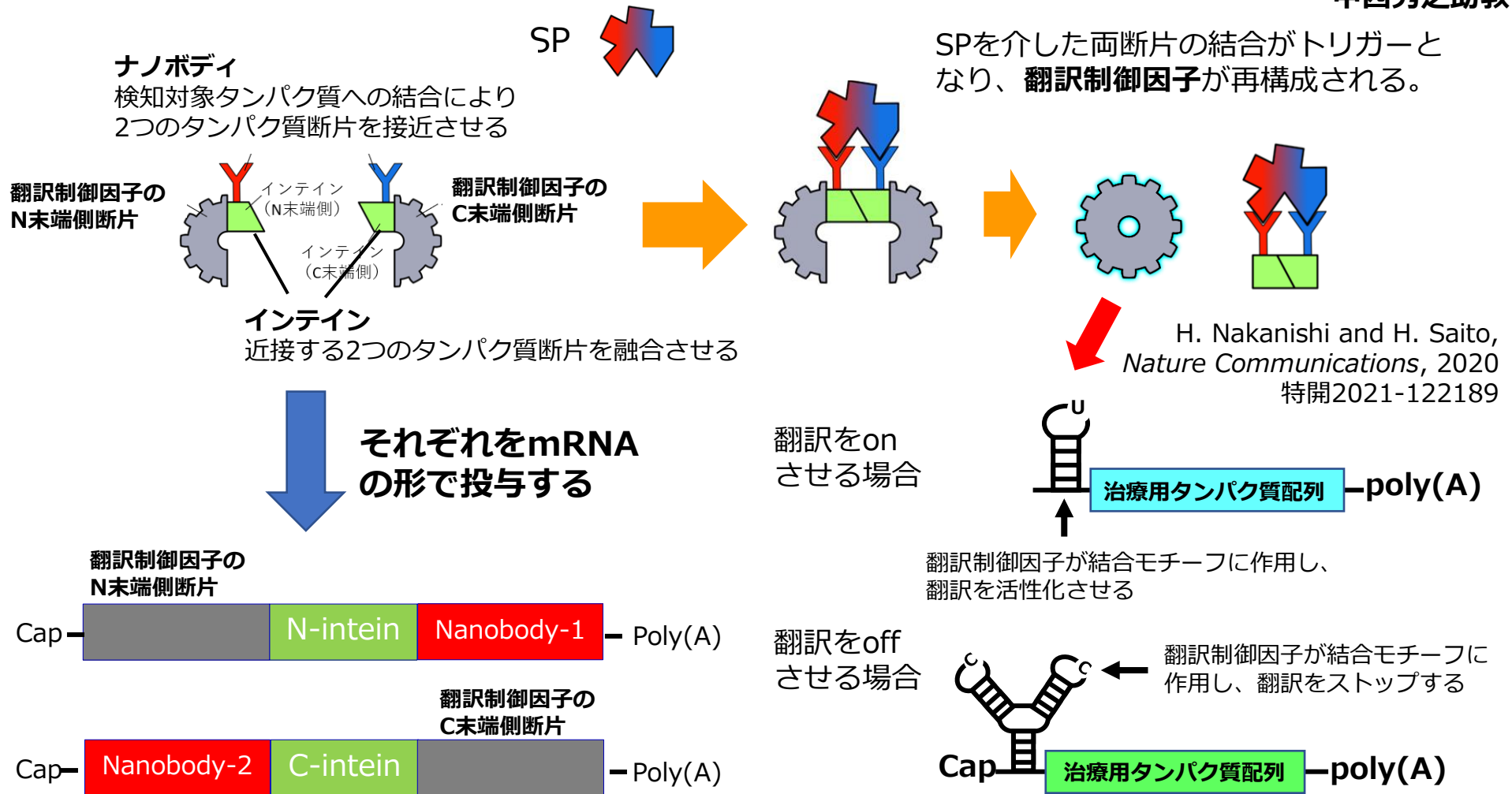
➤ **mRNAの機能化**

# 細胞選択的mRNA翻訳制御



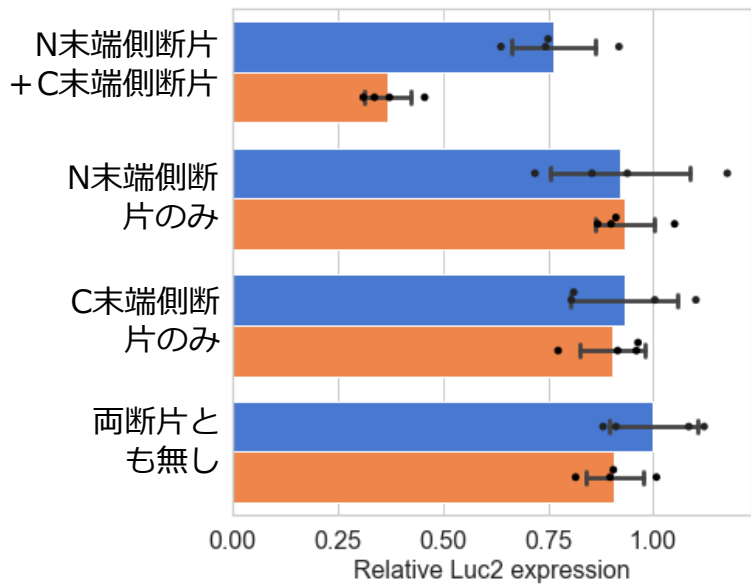
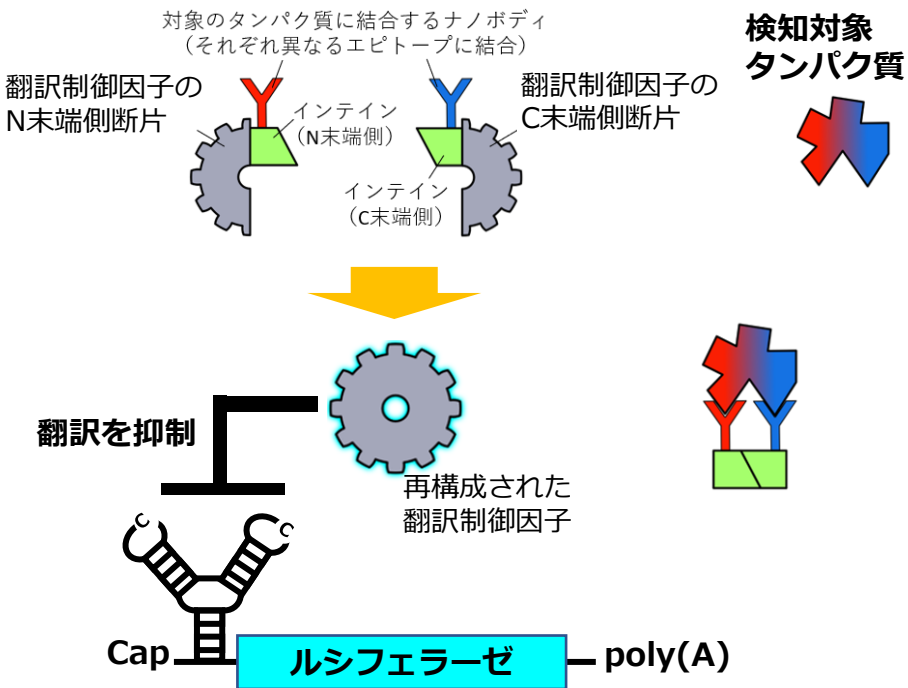
中西秀之助教

標的細胞内の特定のタンパク質 (SP) の有無によって、  
投与したmRNAからの翻訳のon/offを制御する





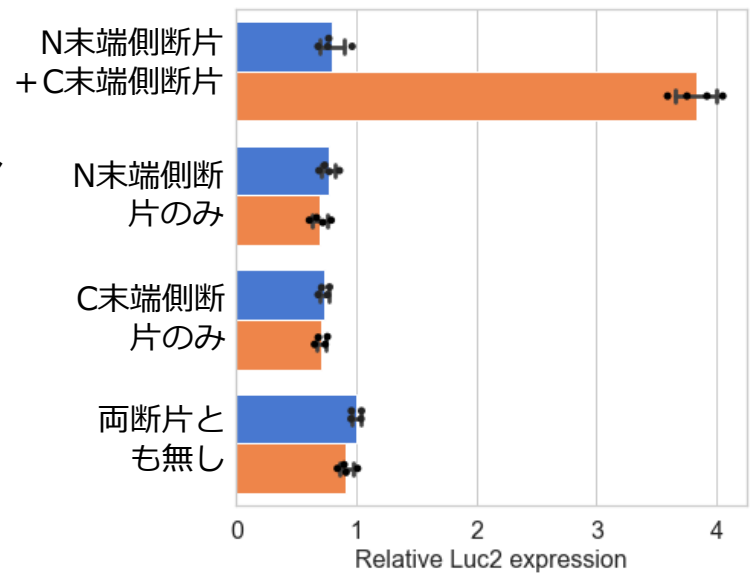
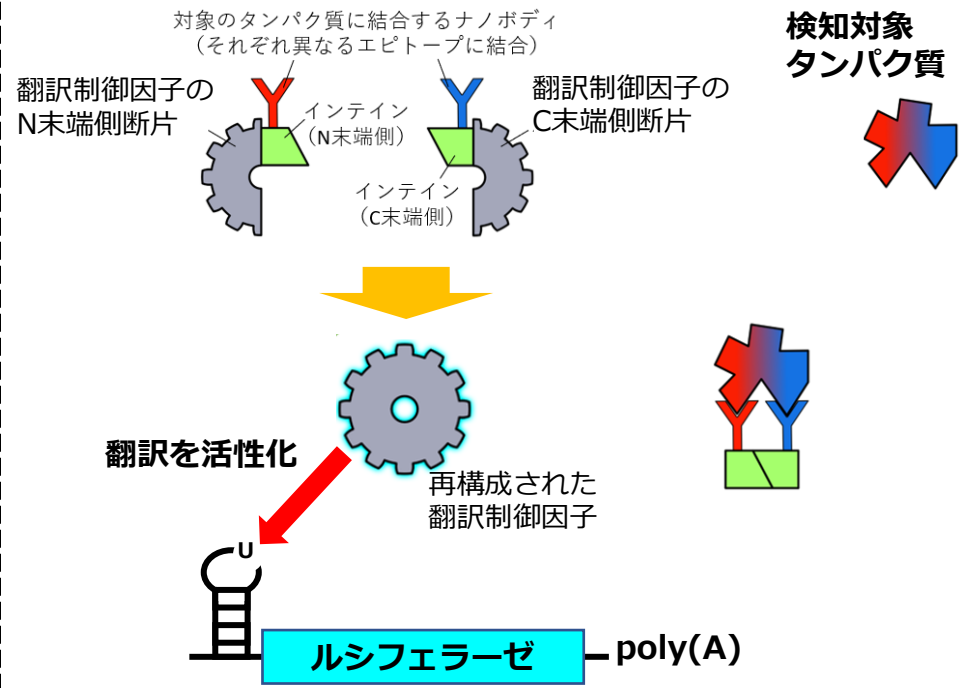
# 細胞内タンパク質を検知して、投与mRNAからの翻訳を制御



検知対象タンパク質 (eDHFR)

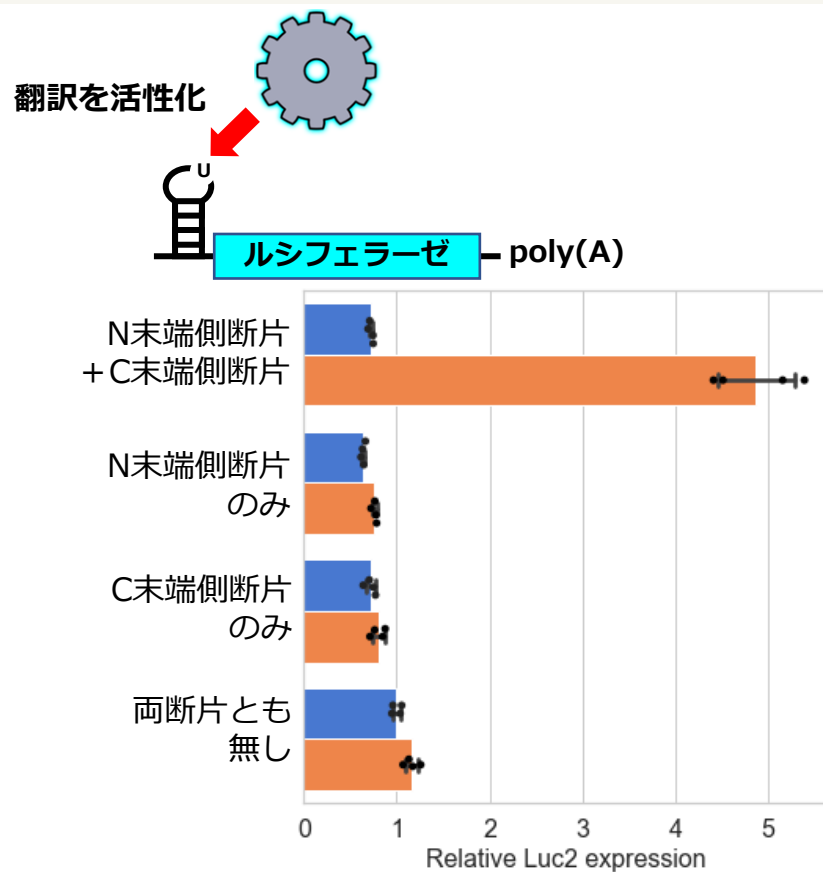
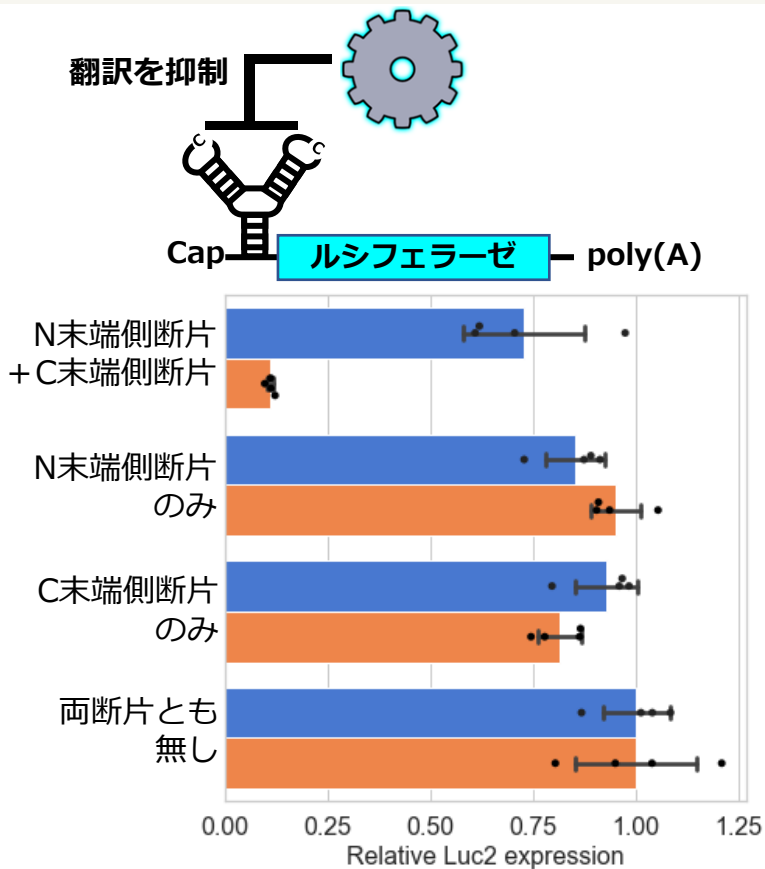
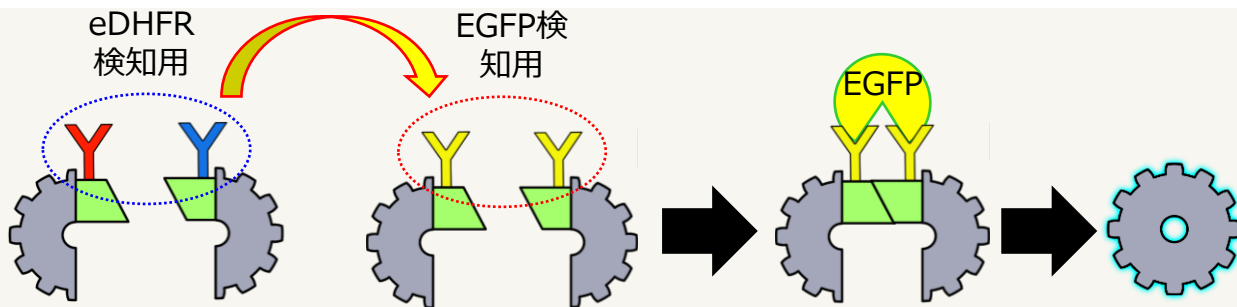
無し

有り



# 検知対象のタンパク質は容易に変更可能

タンパク質を検知するためのナノボディ部分を交換すれば別のタンパク質を検知できるようになるか？

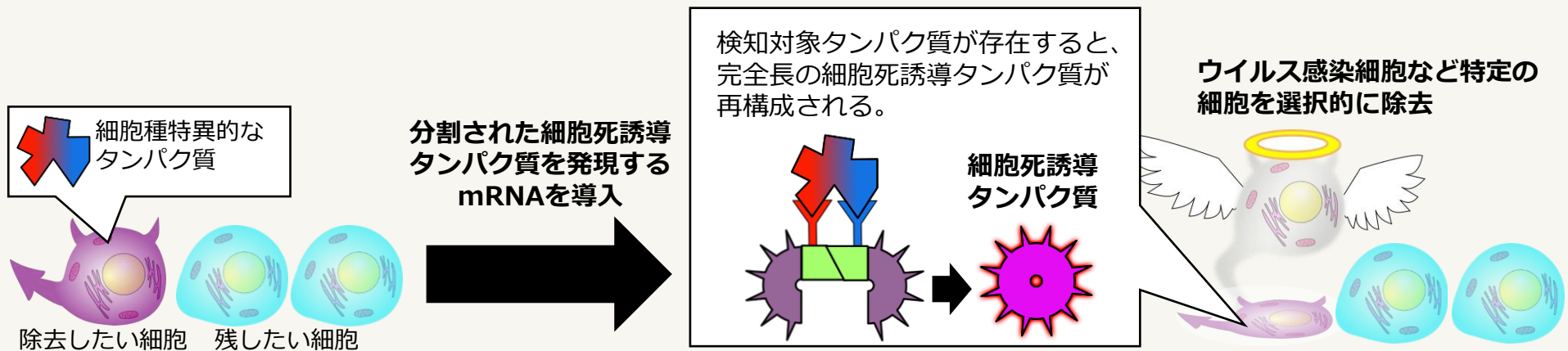


検知対象タンパク質 (EGFP)

無し  
有り

ナノボディ部分の交換により検知対象のタンパク質を変更可能  
特願2021-139141、ACS Synthetic Biology 2022, 11: 1077-85

# 分割・再構成による特定タンパク質の検知は翻訳制御因子以外にも有効

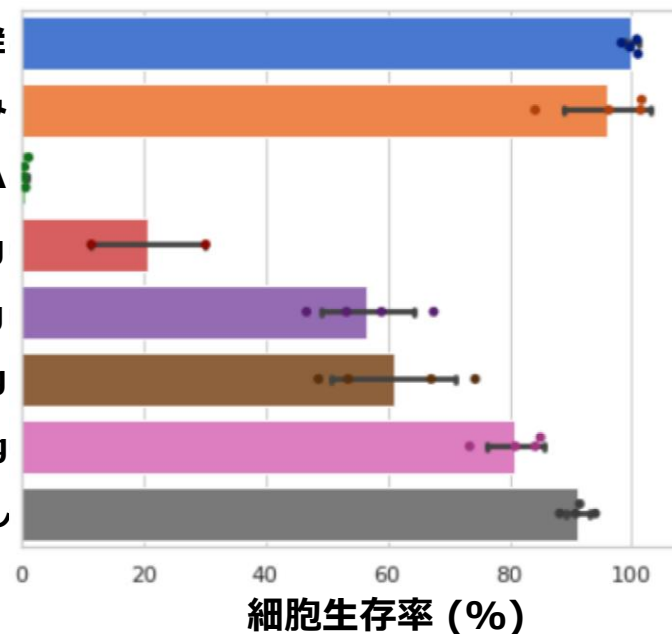


K. Free (D1)

分割型細胞死誘導タンパク質mRNA

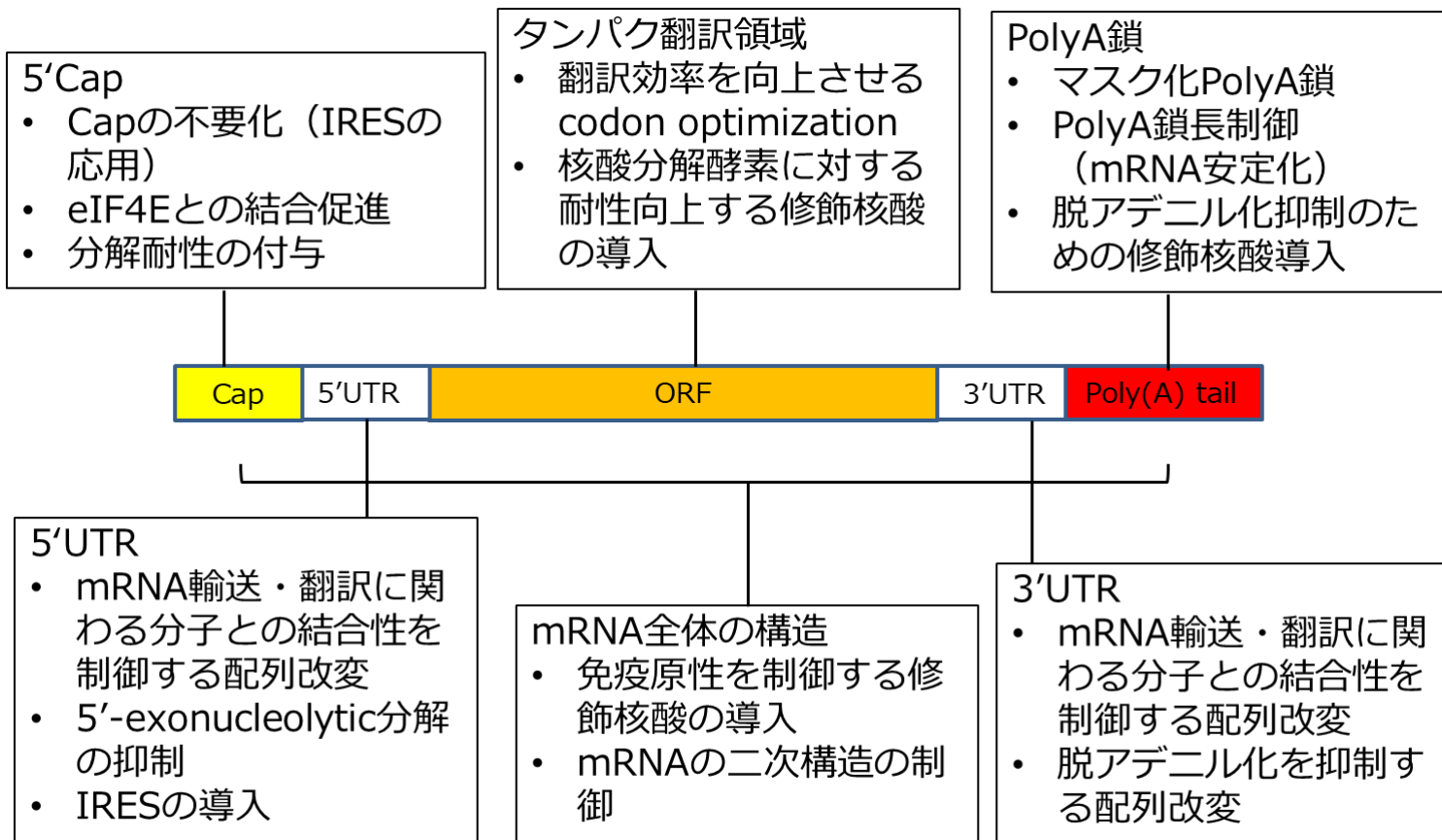
未処理群  
トランスフェクション試薬のみ  
完全長細胞死誘導タンパク質mRNA

eDHFR 3.0 ng  
eDHFR 2.0 ng  
eDHFR 1.0 ng  
eDHFR 0.5 ng  
eDHFR無し



特定のタンパク質を発現している細胞を、発現量に応じて選択的に除去することが可能  
(K. Free, H. Nakanishi, and K. Itaka, *Pharmaceutics*, 2023, 15, 213)

# mRNA分子の改良・最適化



Nat Rev Drug Discov 13: 759, 2014  
より引用改変

- mRNA分子構造改変の主目的は (従来は)  
**翻訳効率の向上、持続性の向上、免疫原性制御** の3点
- mRNAの機能化
- mRNAの完全人工合成 → 名大阿部教授

# Complete Chemical Synthesis of Minimal Messenger RNA by Efficient Chemical Capping Reaction

Naoko Abe, Akihiro Imaeda, Masahito Inagaki, Zhenmin Li, Daisuke Kawaguchi, Kaoru Onda, Yuko Nakashima, Satoshi Uchida, Fumitaka Hashiya, Yasuaki Kimura, and Hiroshi Abe\*



Cite This: <https://doi.org/10.1021/acscchembio.1c00996>



Read Online

ACCESS |



Metrics & More

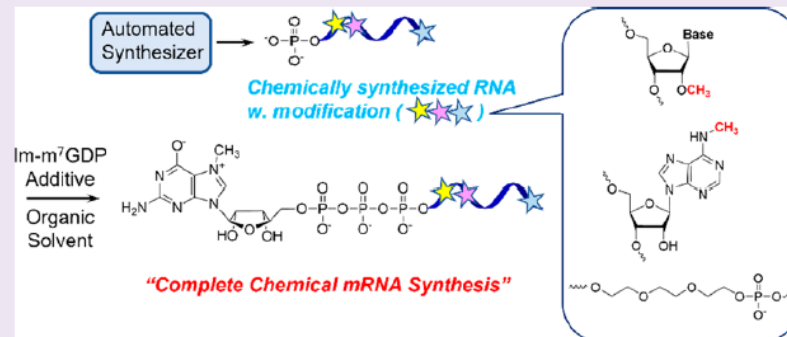


Article Recommendations

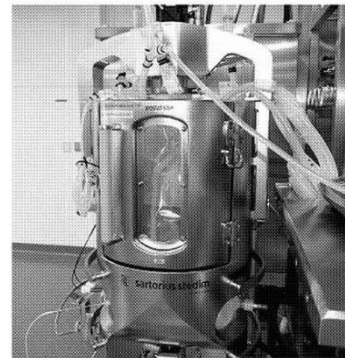


Supporting Information

**ABSTRACT:** Site-specific chemical modification of mRNA can improve its translational efficiency and stability. For this purpose, it is desirable to develop a complete chemical synthesis method for chemically modified mRNA. The key is a chemical reaction that introduces a cap structure into the chemically synthesized RNA. In this study, we developed a fast and quantitative chemical capping reaction between 5'-phosphorylated RNA and N<sup>7</sup>-methylated GDP imidazolide in the presence of 1-methylimidazole in the organic solvent dimethyl sulfoxide. It enabled quantitative preparation of capping RNA within 3 h. We prepared chemically modified 107-nucleotide mRNAs, including N<sup>6</sup>-methyladenosine, insertion of non-nucleotide linkers, and 2'-O-methylated nucleotides at the 5' end and evaluated their effects on translational activity in cultured HeLa cells. The results showed that mRNAs with non-nucleotide linkers in the untranslated regions were sufficiently tolerant to translation and that mRNAs with the Cap<sub>2</sub> structure had higher translational activity than those with the Cap<sub>0</sub> structure.



# mRNAは作れているが...



体内を模したリアクター内で  
反応させmRNAを生産する

## 培養槽 接種年10億回担う

新型コロナウイルスワクチンの大量生産を世界各国が急いでいる。独ビオンテックの新工場に入り、生産現場で1層ほどの大きさの「バイオリアクター（培養槽）」という装置が数億回分のワクチン生産の最前線を担っている状況を目の当たりにした。このような最先端技術によって、ワクチンが世界の人々に届けられる。

## 遺伝子情報活用 変異型に迅速対応

米製薬大手ファイザーと新型コロナウイルスを共同開発したビオンテックは、生産能力の拡大を目指している。ドイツ西部マールブルクに新設した工場からは4月後半に出荷を始める予定で、本格操業の前に日本経済新聞など世界の主要メディアに内部を公開した。「メッセンジャーRNA（mRNA）」という遺伝子情報を駆使した新しいタイプのワクチン。従来のワクチンと比べて短期間で開発、生産できる特徴がある。続々と出てくる変異ウイルスにも迅速に対応できる利点もある。

センジャーRNA（mRNA）」という遺伝子情報を駆使した新しいタイプのワクチン。従来のワクチンと比べて短期間で開発、生産できる特徴がある。続々と出てくる変異ウイルスにも迅速に対応できる利点もある。

厳重に警備されている工場では異物の混入を防ぐために設けられたたくさんのドアの先に、mRNAの製造工程が設置されている。宇宙服のようないでたちの従業員が作業している奥にあるのが、銀色のこぢんまりとしたバイオリアクターだ。

このリアクターだけで約2日間で接種800万回分のmRNAを作れるという。中では少し白濁した液体が常にかき混ぜられており、温度はセ氏約37度に保たれている。この温度は人体とほぼ同じで、ヒトの細胞内でmRNAを作る反応を模している。

リアクターの中では、ゲノム解析に基づいて新型コロナウイルスに効くように作った「DNA鋳型」を酵素とともに反応させる。1つの鋳型から500以上のmRNAコピ

独コロナワクチン工場公開

ピーを作る。

mRNAワクチンの生産には約5万の工程があるが、大きくは①mRNA製造②精製③脂質で包む④充填の4つに分けられる。工場では①③④までを一貫して手掛けている。工場間の輸送や品質管理にかかる時間を大幅に短縮できる利点もある。

2021年4月6日 日本経済新聞朝刊9面

**mRNAの大量生産は  
まだまだ未解決の課題である  
(最終的にはmRNAの完全人工合成?)**

我々の研究室でのmRNA作成風景

# DDSとは

- 目標とする患部（臓器や組織、細胞、病原体など）に、薬物を効果的かつ集中的に送り込む技術
- 薬剤を膜などで包むことにより、途中で吸収・分解されることなく患部に到達させ、患部で薬剤を放出して治療効果を高める手法

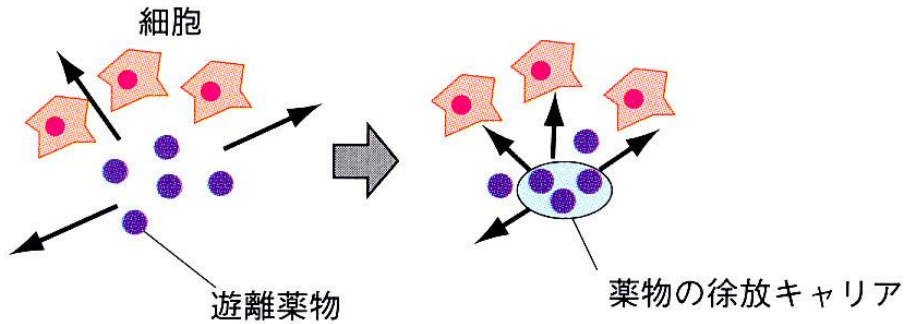
今日のDDS・薬物送達システム Drug  
delivery system

高橋俊雄・橋田充編

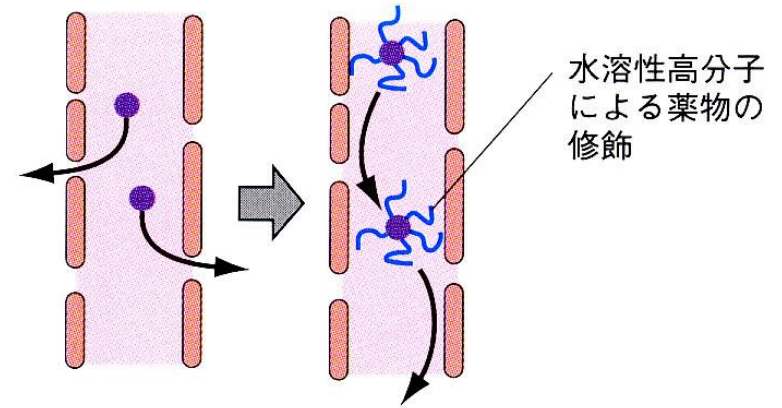
1999年12月 より

# DDSの基本概念と目的

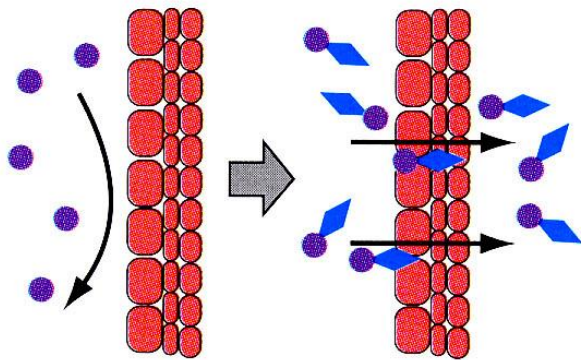
A 薬物の制御された放出（徐放）化



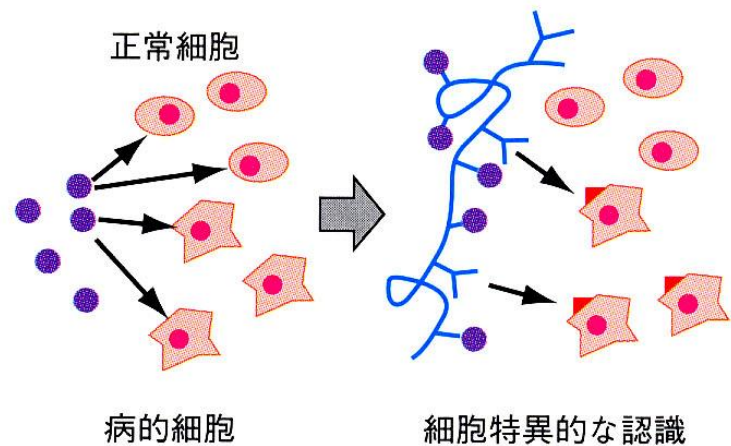
B 薬物の安定化、長寿命化



C 薬物の生体内バリアの通過促進



D 標的部位への薬物のターゲティング





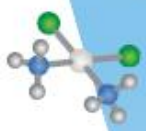


**1946年** ..... **がん薬物療法の夜明け**  
初の化学療法薬（ナイトロジェンマスタード）の臨床応用

- Controlled Release Society 1973～
- 日本DDS学会 1984～



**1960年代** ..... **DDSの提唱**  
放出制御型DDSの研究が始まる  
マイクロカプセル技術の開発



**1970年代** ..... **化学療法薬・DDSの開発**  
初のがんホルモン療法薬（タモキシフェン）の発売  
初の放出制御型 DDS 製剤の発売  
モノクローナル抗体作製技術の確立  
固形がんに対する初の化学療法薬（シスプラチン）の発売

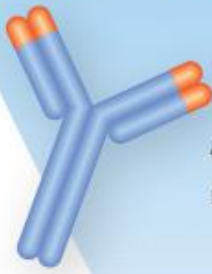
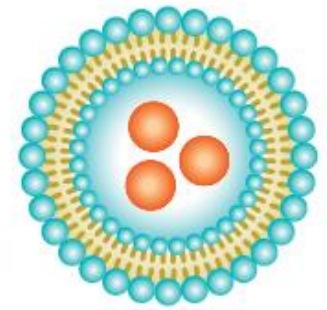
**1980年代** ..... **放出制御型DDS製剤の臨床応用**  
複数疾患で放出制御型DDS製剤が発売

**EPR効果の提唱(1986年) ターゲティング型DDSの研究の進展へ**



初の放出制御型DDS抗がん薬（リュープリン®）の発売  
初の抗がん薬内包ミセル作製実験

**1990年代** ..... **ターゲティング型DDS製剤と抗体医薬の登場**  
初のリポソーム製剤（アムビゾーム®）の発売  
抗がん薬で初のリポソーム製剤（ドキシル®）の発売  
抗がん薬で初の抗体医薬（リツキシマブ）の発売  
固形がんに対する初の抗体医薬（トラスツズマブ）の発売



**2000年代** ..... **国内での分子標的薬・抗体医薬の普及**  
世界初のADC（抗体薬物複合体）の発売  
トラスツズマブ・リツキシマブをはじめ抗体医薬が続々と国内承認  
低分子の分子標的薬イマチニブ発売  
抗がん薬内包ミセル製剤の臨床試験開始



**2010年代** ..... **ターゲティング型DDS製剤への期待**  
**CAST療法の提唱(2011年)**

既存薬のターゲティング型DDS製剤化の研究開発が進む  
抗がん薬を搭載したリポソーム製剤・ミセル製剤、ADCの相次ぐ開発

## DDSに求められる役割

- 単なる製剤技術のひとつでなく、新薬の設計段階から不可欠の技術となっている  
→逆にDDS単独の研究は減っている？
- これまでクスリとして使えなかった物質をクスリとして使えるようにする

**DNAやRNAなどの核酸分子はその代表例！**

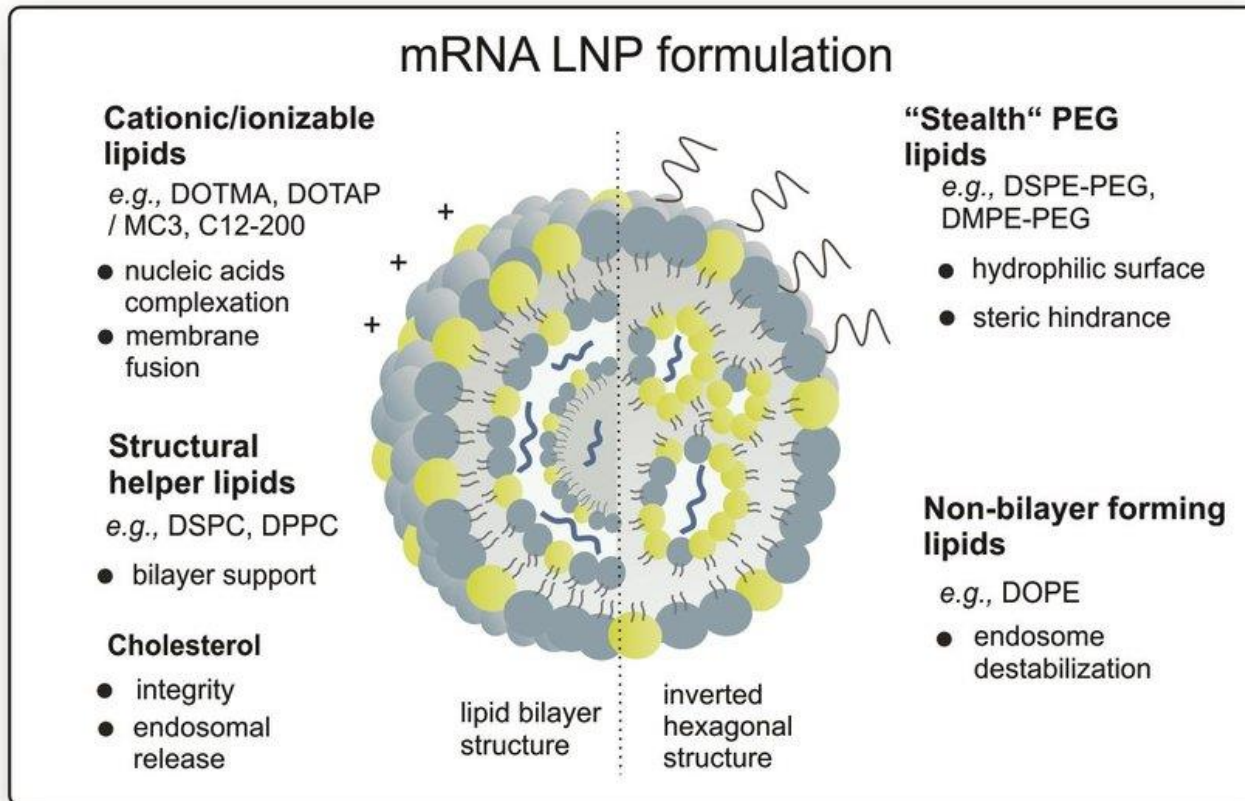
# LNP (脂質ナノ粒子)

細胞膜の成分と同じ脂質を主材料として、  
mRNAの細胞取り込みを促進する。  
コロナウィルスワクチンでは、ほぼすべてLNPが用いられている

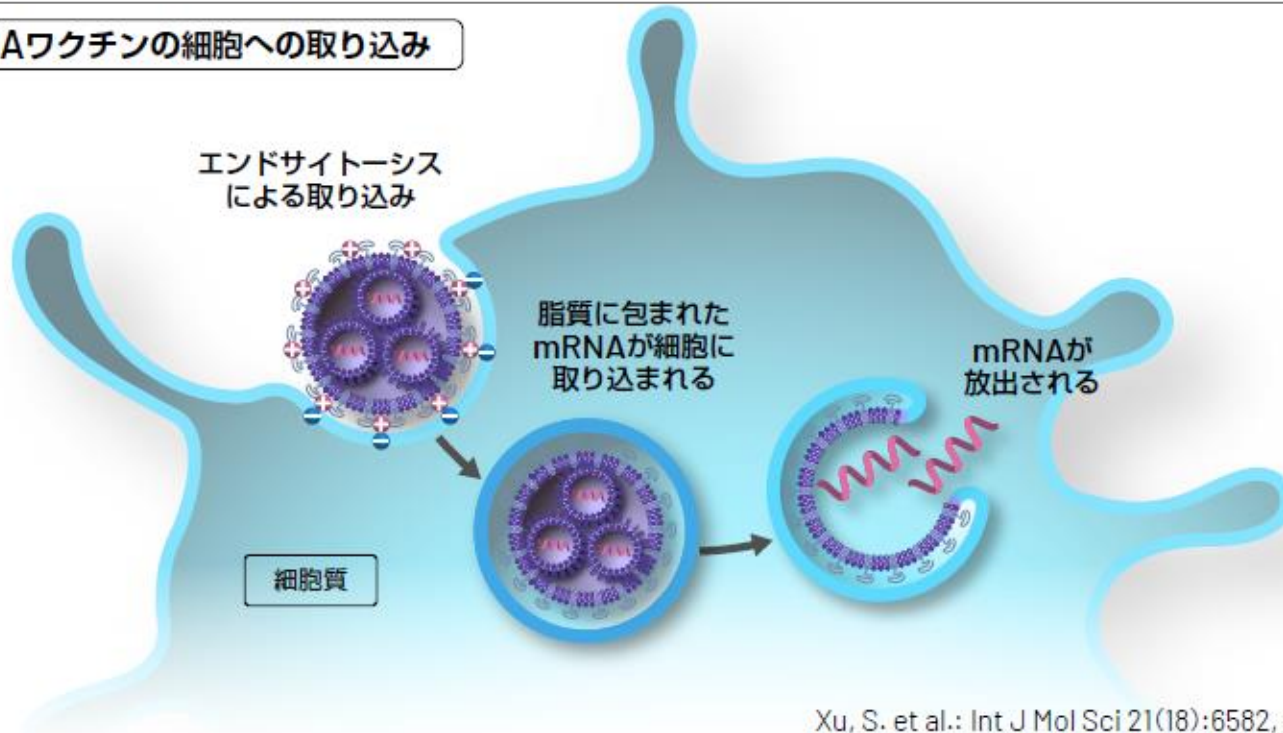
- ・ 高いタンパク質発現効率
- ・ アジュバント能

脂質二重膜を持つ閉鎖小胞 1965

遺伝子デリバリーへの応用 1987~



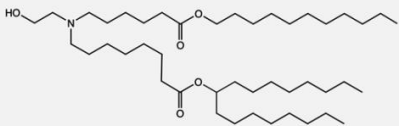
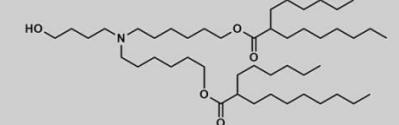
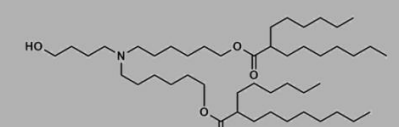
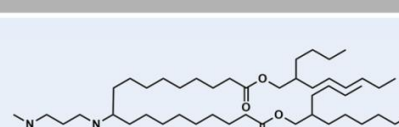
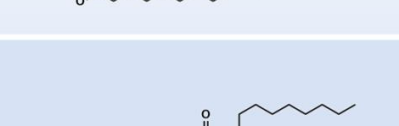
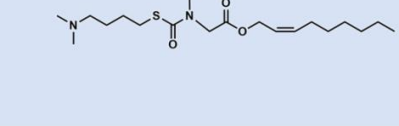
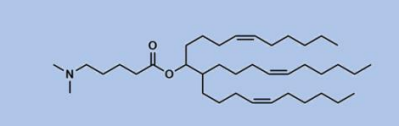
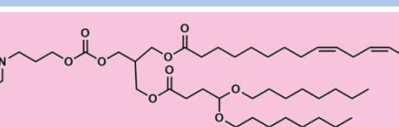
## mRNAワクチンの細胞への取り込み



Xu, S. et al.: Int J Mol Sci 21(18):6582, 2020より一部改変

LNPがこのような構造を有している理由は、RNAが分解されるのを抑制し、mRNAが細胞内に取り込まれるのを促進するためとされています<sup>7)</sup>。加えて、LNPには「免疫を刺激する(誘導する)」働きも備わっていることから<sup>10)</sup>、mRNAワクチンが効果を発揮する(免疫を誘導する)ための重要な役割も果たしていると考えられます。

mRNAワクチンは、細胞のタンパク質合成プロセスによりウイルスの一部(抗原)であるスパイクタンパク質を産生し、液性免疫(抗体産生)及び細胞性免疫(T細胞)の両方の免疫応答を誘導することで、COVID-19の原因ウイルスによる感染症の予防に寄与すると考えられています<sup>7)</sup>。

Ionizable lipid	Structure	RNA Payload	Application	Clinical trial (Phase)	Product	Company
SM-102		Nucleoside modified spike mRNA	COVID-19 vaccine (i.m.)	Emergency use authorized in 2020	mRNA-1273	Moderna
Acuitas ALC-0315		Nucleoside modified spike mRNA	COVID-19 vaccine (i.m.)	Approved in 2021	BNT162b2	BioNTech/Pfizer
Acuitas ionizable lipid (potentially ALC-0315)		Unmodified spike mRNA	COVID-19 vaccine (i.m.)	NCT04860 258 (III)	CVnCoV	CureVac
Acuitas ionizable lipid (potentially A9)		Self-amplifying spike mRNA	COVID-19 vaccine (i.m.)	EudraCT 2020-00164 6-20 (I)	LNP-nCoVsaRNA	Imperial College
Arcturus ionizable lipid (potentially Lipid 2,2 (8,8) 4C CH3)		Self-amplifying spike mRNA	COVID-19 vaccine (i.m.)	NCT0472 834 (II)	LUNAR-COV19 (ARCT-021)	Arcturus
Genevant ionizable lipid (potentially CL1)		Nucleoside modified spike mRNA	COVID-19 vaccine (i.m.)	NCT04566 276(I)	ChulaCov19	Chulalongkorn University
LP000001 (potentially LP01)		Cas9 mRNA & TTR sgRNA	TTR knockout (i.v.)	NCT04601 051 (I)	NTLA-2001	Intellia
MC3		TTR siRNA	TTR knockdown (i.v.)	Approved in 2018	Onpattro	Alnylam

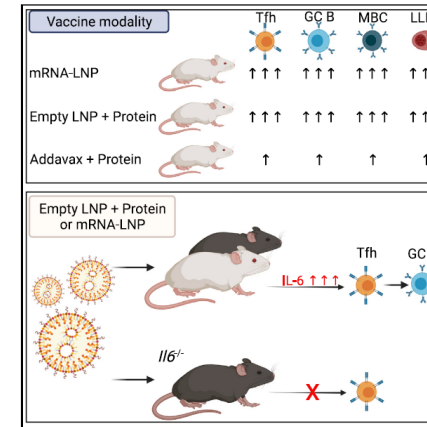
- ◆ アジュバント能と強すぎる副反応はトレードオフ
- ◆ mRNA自体の免疫原性の影響？
- ◆ (2本鎖mRNAなどの影響？)
- ◆ 肝臓への集積性 (→肝毒性)

➤ 投与部位での起炎性をゼロにすることは難しい → ワクチンにはよいが、治療用mRNA医薬の投与に使えるか？

## Immunity

Lipid nanoparticles enhance the efficacy of mRNA and protein subunit vaccines by inducing robust T follicular helper cell and humoral responses

### Graphical abstract



### Authors

Mohamad-Gabriel Alameh, István Tombácz, Emily Bettini, ..., Botond Z. Igyártó, Michela Locci, Norbert Pardi

### Correspondence

michela.locci@pennmedicine.upenn.edu (M.L.), pnorbart@pennmedicine.upenn.edu (N.P.)

### In brief

The mechanism of action of nucleoside-modified mRNA-LNP vaccines is unknown. Alameh et al. demonstrate that LNPs can possess adjuvant activity and promote robust induction of Tfh cell, B cell, and humoral responses when utilized in mRNA and protein subunit vaccines in mice. IL-6 induction and the ionizable lipid component are critical for the adjuvant activity of LNPs.

Immunity 54, 2877–2892, 2021

nature immunology

ARTICLES

<https://doi.org/10.1038/s41590-022-01163-9>



## Mechanisms of innate and adaptive immunity to the Pfizer-BioNTech BNT162b2 vaccine

Chunfeng Li<sup>1</sup>, Audrey Lee<sup>1</sup>, Lilit Grigoryan<sup>1</sup>, Prabhu S. Arunachalam<sup>1</sup>, Madeleine K. D. Scott<sup>1,2</sup>, Meera Trisal<sup>1</sup>, Florian Wimmers<sup>1</sup>, Mrinmoy Sanyal<sup>1</sup>, Payton A. Weidenbacher<sup>3</sup>, Yupeng Feng<sup>1</sup>, Julia Z. Adamska<sup>1</sup>, Erika Valore<sup>1</sup>, Yanli Wang<sup>1</sup>, Rohit Verma<sup>1</sup>, Noah Reis<sup>1,10</sup>, Diane Dunham<sup>4</sup>, Ruth O'Hara<sup>5</sup>, Helen Park<sup>6</sup>, Wei Luo<sup>7</sup>, Alexander D. Gitlin<sup>8,9</sup>, Peter Kim<sup>3,10</sup>, Purvesh Khatri<sup>1,12</sup>, Kari C. Nadeau<sup>4,11,12</sup> and Bali Pulendran<sup>1,9,13</sup> ✉

Despite the success of the BNT162b2 mRNA vaccine, the immunological mechanisms that underlie its efficacy are poorly understood. Here we analyzed the innate and adaptive responses to BNT162b2 in mice, and show that immunization stimulated potent antibody and antigen-specific T cell responses, as well as strikingly enhanced innate responses after secondary immunization, which was concurrent with enhanced serum interferon (IFN)- $\gamma$  levels 1d following secondary immunization. Notably, we found that natural killer cells and CD8<sup>+</sup> T cells in the draining lymph nodes are the major producers of this circulating IFN- $\gamma$ . Analysis of knockout mice revealed that induction of antibody and T cell responses to BNT162b2 was not dependent on signaling via Toll-like receptors 2, 3, 4, 5 and 7 nor inflammasome activation, nor the necroptosis or pyroptosis cell death pathways. Rather, the CD8<sup>+</sup> T cell response induced by BNT162b2 was dependent on type I interferon-dependent MDA5 signaling. These results provide insights into the molecular mechanisms by which the BNT162b2 vaccine stimulates immune responses.

Nat. Immunol 23:543-555, 2022

ARTICLES

<https://doi.org/10.1038/s41590-022-01160-y>

nature immunology



## IL-1 and IL-1ra are key regulators of the inflammatory response to RNA vaccines

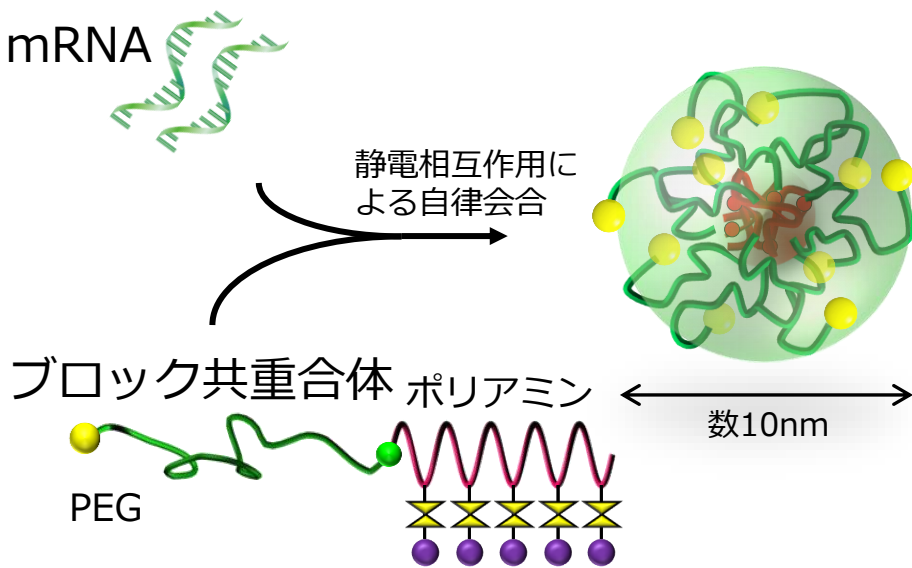
Siri Tahtinen<sup>1</sup>, Ann-Jay Tong<sup>1</sup>, Patricia Himmels<sup>1</sup>, Jaehak Oh<sup>1</sup>, Andres Paler-Martinez<sup>1</sup>, Leesun Kim<sup>1</sup>, Sara Wichner<sup>1</sup>, Yoko Oei<sup>1</sup>, Mark J. McCarron<sup>1</sup>, Emily C. Freund<sup>1</sup>, Zhanib Adel Amir<sup>1</sup>, Cecile C. de la Cruz<sup>1</sup>, Benjamin Haley<sup>1</sup>, Craig Blanchette<sup>1</sup>, Jill M. Schartner<sup>1</sup>, Weilan Ye<sup>1</sup>, Mahesh Yadav<sup>1</sup>, Ugur Sahin<sup>2</sup>, Lélia Delamarre<sup>1</sup> and Ira Mellman<sup>1</sup> ✉

The use of lipid-formulated RNA vaccines for cancer or COVID-19 is associated with dose-limiting systemic inflammatory responses in humans that were not predicted from preclinical studies. Here, we show that the 'interleukin 1 (IL-1)-interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra)' axis regulates vaccine-mediated systemic inflammation in a host-specific manner. In human immune cells, RNA vaccines induce production of IL-1 cytokines, predominantly IL-1 $\beta$ , which is dependent on both the RNA and lipid formulation. IL-1 in turn triggers the induction of the broad spectrum of pro-inflammatory cytokines (including IL-6). Unlike humans, murine leukocytes respond to RNA vaccines by upregulating anti-inflammatory cytokines (including IL-1ra), protecting mice from cytokine-mediated toxicities at >1,000-fold higher vaccine doses. Thus, the IL-1 pathway plays a key role in triggering RNA vaccine-associated innate signaling, an effect that was unexpectedly amplified by certain lipids used in vaccine formulations incorporating N1-methyl-pseudouridine-modified RNA to reduce activation of Toll-like receptor signaling.

Nat. Immunol 23:532-542, 2022

# 合成高分子をベースとするキャリア

## ナノミセル型キャリア



- PEG外殻・mRNA/カチオン性ポリアミンからなる内核の明確な二層構造  
→ mRNAの安定な保持・異物認識の抑制 (ステルス性)  
→ 投与部位に炎症を起こさない
- 数10nmの均一な粒径 → 高い組織浸透性
- 生体・細胞内環境応答能  
→ 迅速なタンパク質発現
- 生分解性高分子による高い安全性  
→ 反復投与可能

Masago et al. Biomaterials 2007, Itaka et al. Mol Ther 2007, Miyata et al. JACS 2008, Itaka, Ishii et al. Biomaterials 2010, Itaka et al. Current Gene Therapy 2011, Uchida et al. JACS 2011, 2014, 他

# 本日のトピック

## 1. mRNA創薬に用いられる技術

mRNA設計・製造、DDS

## 2. mRNAワクチンの開発経緯、現状

ワクチン（感染症、がん）

治療用mRNA医薬

## 3. まとめ（今後の展望）



# Regulatory situation of mRNA-based therapy

## **Definition of “gene therapy” by FDA**

*“Modification of genetic material of living cells. Cells may be modified ex vivo for subsequent administration to humans, or may be altered in vivo by gene therapy given directly to the subject. ... Recombinant DNA materials used to transfer genetic material for such therapy are considered components of gene therapy.”*

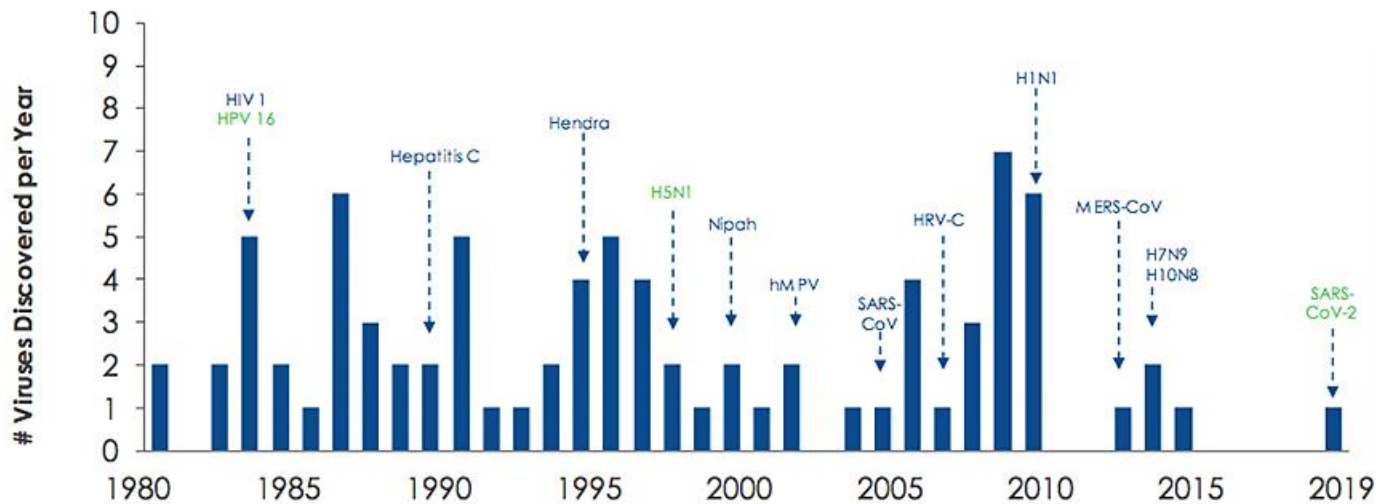
## **EU Gene Therapy (GTMP) definition** (Directive 2001-83 p164)

*“Gene therapy medicinal product means a biological medicinal product which has the following characteristics*

- (a) It contains an active substance which contains or consists of a recombinant nucleic acid used in or administered to human beings with a view to regulating, repairing, adding or deleting a genetic sequence”*
- (b) Its therapeutic, prophylactic or diagnostic effect relates directly to the recombinant nucleic acid sequence it contains, or to the product of genetic expression of this sequence.*
  - Gene therapy medicinal products shall not include vaccines against infectious diseases.*

# 80+ new viruses discovered since 1980... but vaccines on the market against only 3 of these viruses

## Novel Viruses Discovered, (1980 - 2019)



Commercial market (2021 estimates) or annual direct medical costs exceeds **>\$100B** for these viruses

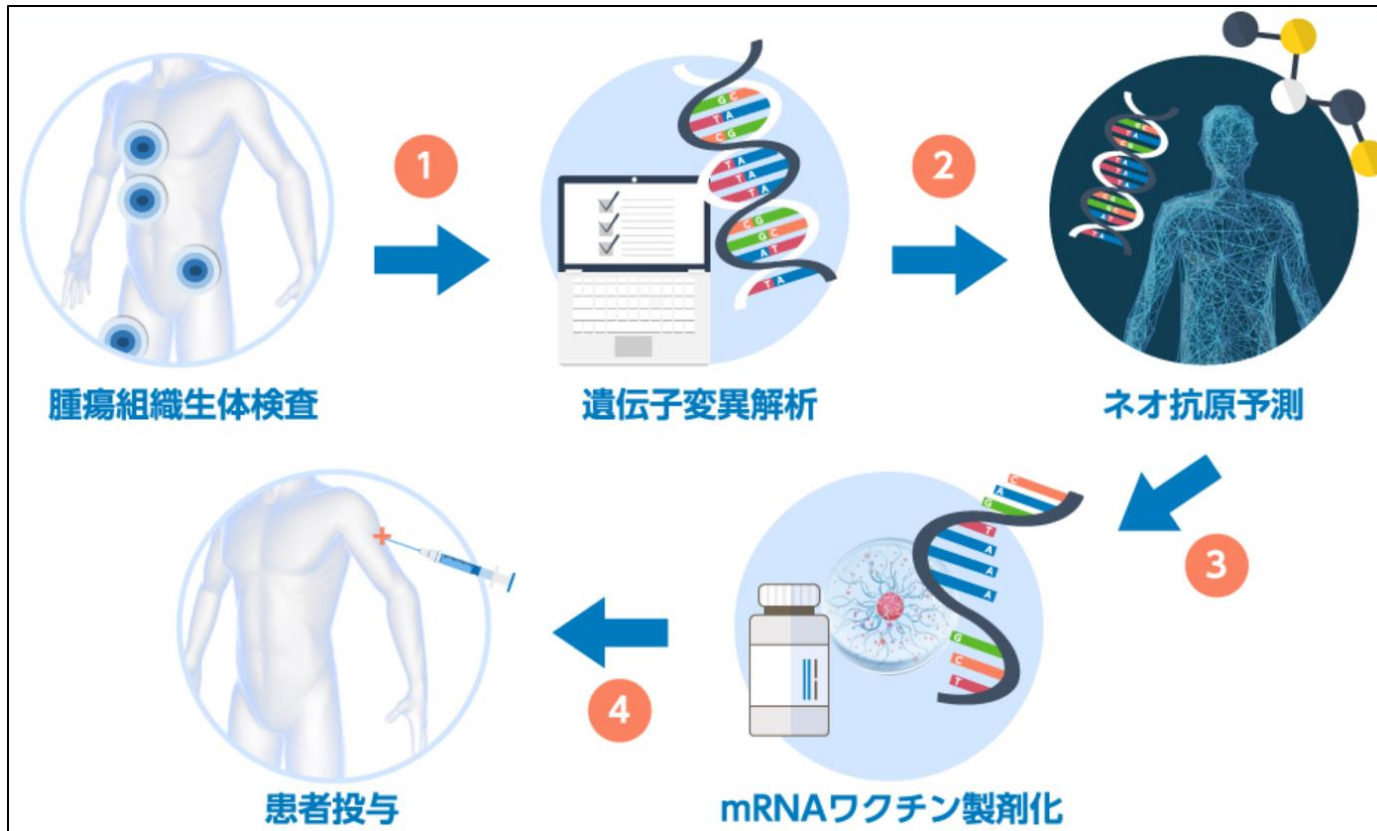
### DISCOVERED BEFORE 1980

Select viruses:	Yellow fever (1901)	PIV3 (1950s)	VZV (1954)	EBV (1964)	Lassa (1969)
	Rubella (1941)	Chikungunya (1952)	RSV (1956)	Hepatitis B (1965)	Ebola (1976)
	Dengue (1943)	Zika (1952)	CMV (1956-1957)	Marburg (1967)	

Sources: Institute of Medicine (US) Forum on Microbial Threats (2009); *Medicine Medical News* (2008); Ledeburg, J. *Emerging Infectious Diseases from the Global to the Local Perspective: A Summary of a Workshop of the Forum on Emerging Infections* (2011); National Institutes of Health (US) Biological Sciences Curriculum Study (2007); Hokue, M. et al. *NEJM* (2020); Bush, L. *Emerging and Re-emerging Infectious Diseases* (2015); Gibbs, A.J. *Virology* (2009); CDC Zika Overview; CDC Ebola Overview; Pielkin, S.A. *Clinical Infectious Diseases* (2004); Woodhouse, M. et al. *Phil Trans R Soc* (2012); WHO H7N9 China Update (2013); Tsopan, C. et al. *Virology* (2013); Hepatitis B Foundation. *History Page*; Ho, M. *Med Microbial Immunol* (2008); *Nature* Dengue Viruses Page; Raouf, K. et al. *Viruses* (2012); FDA approved vaccine for CDC RSV Overview; Herdison, K.J. *Clinical Microbiology Reviews* (2003); Andersson, L. *Herpes* (2000); WHO Chikungunya Overview; CDC Varicella Overview; CDC Lassa Fever Overview; Xu, Y. et al. *Infect Genet Evol.* (2015)



# mRNAがんワクチン



ネオ抗原：がん細胞独自の遺伝子変異に伴って新たに生まれた変異抗原

出典：ナノキャリア社ウェブサイトより

- ① 患者さんからがん組織を採取し、遺伝子の変異を調べる
- ② ネオ抗原候補遺伝子を探索し、がん免疫誘導するペプチド配列を予測
- ③ そのペプチドをコードするmRNAを設計
- ④ ワクチンとして投与



免疫チェックポイント阻害剤（オプジーボなど）との併用による**がん個別化医療**

# News Details

[VIEW ALL NEWS](#) →

## MODERNA AND MERCK ANNOUNCE MRNA-4157/V940, AN INVESTIGATIONAL **PERSONALIZED MRNA CANCER VACCINE**, IN COMBINATION WITH **KEYTRUDA(R)** (PEMBROLIZUMAB), MET PRIMARY EFFICACY ENDPOINT IN PHASE 2B KEYNOTE-942 TRIAL

DECEMBER, 13, 2022

 [DOWNLOAD](#)

*mRNA-4157/V940, in combination with KEYTRUDA, demonstrated a statistically significant and clinically meaningful reduction in the risk of disease recurrence or death compared to KEYTRUDA monotherapy in stage III/IV melanoma patients with high risk of recurrence following complete resection*

*Results are the first demonstration of efficacy for an investigational mRNA cancer treatment in a randomized clinical trial*

*Companies plan to discuss results with regulatory authorities and initiate a Phase 3 study in melanoma in 2023 and rapidly expand to additional tumor types*

CAMBRIDGE, MA and RAHWAY, NJ / ACCESSWIRE / December 13, 2022 / Moderna, Inc. (NASDAQ:MRNA), a biotechnology company pioneering messenger RNA (mRNA) therapeutics and vaccines, and Merck (NYSE:MRK), known as MSD outside of the United States and Canada, today announced that the Phase 2b KEYNOTE-942/mRNA-4157-P201 trial of mRNA-4157/V940, an investigational personalized mRNA cancer vaccine, in combination with KEYTRUDA®, Merck's anti-PD-1 therapy, demonstrated a statistically significant and clinically meaningful improvement in the primary endpoint of recurrence-free survival (RFS) versus KEYTRUDA alone for the adjuvant treatment of patients with stage III/IV melanoma following complete resection. Adjuvant treatment with mRNA-4157/V940 in combination with KEYTRUDA reduced the risk of recurrence or death by 44% (HR=0.56 [95% CI, 0.31-1.08]; one-sided p-value=0.0266) compared with KEYTRUDA alone.

"Today's results are highly encouraging for the field of cancer treatment. mRNA has been transformative for COVID-19, and now, for the first time ever, we have demonstrated the potential for mRNA to have an impact on outcomes in a randomized clinical trial in melanoma," said Stéphane Bancel, Moderna's Chief Executive Officer. "We will begin additional studies in melanoma and other forms of cancer with the goal of bringing truly individualized cancer treatments to patients. We look forward to publishing the full data set and sharing the results at an upcoming oncology medical conference, as well as with health authorities."

"These positive findings represent an important milestone in our collaboration with Moderna," said Dr. Dean Y. Li, president, Merck Research Laboratories. "Over the last six years, our teams have worked closely together combining our respective expertise in mRNA and immuno-oncology with a focus on improving outcomes for patients with cancer. We look forward to advancing this program into the next phase of development."

"The results of this randomized Phase 2b trial are exciting for the field. These data provide the first evidence that we can improve on the rates of recurrence-free survival achieved by PD-1 blockade in resected high-risk melanoma. These findings also provide the first randomized evidence that a personalized neoantigen approach may be beneficial in melanoma," said Jeffrey S. Weber, MD, PhD,

## Article

# Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer


<https://doi.org/10.1038/s41586-023-06063-y>

Received: 10 January 2023

Accepted: 6 April 2023

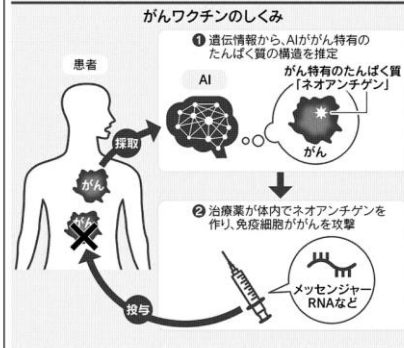
Published online: 10 May 2023

Open access

 Check for updates

Luis A. Rojas<sup>1,2,18</sup>, Zachary Sethna<sup>1,2,18</sup>, Kevin C. Soares<sup>2,3</sup>, Cristina Olcese<sup>2</sup>, Nan Pang<sup>2</sup>, Erin Patterson<sup>2</sup>, Jayon Lihm<sup>4</sup>, Nicholas Ceglia<sup>4</sup>, Pablo Guasp<sup>1,2</sup>, Alexander Chu<sup>4</sup>, Rebecca Yu<sup>1,2</sup>, Adrienne Kaya Chandra<sup>1,2</sup>, Theresa Waters<sup>1,2</sup>, Jennifer Ruan<sup>1,2</sup>, Masataka Amisaki<sup>1,2</sup>, Abderezak Zebboudj<sup>1,2</sup>, Zagaa Odgerel<sup>1,2</sup>, George Payne<sup>1,2</sup>, Evelyn Derhovanessian<sup>5</sup>, Felicitas Müller<sup>5</sup>, Ina Rhee<sup>6</sup>, Mahesh Yadav<sup>6</sup>, Anton Dobrin<sup>7,8</sup>, Michel Sadelain<sup>7,8</sup>, Marta Łuksza<sup>9</sup>, Noah Cohen<sup>10</sup>, Laura Tang<sup>11</sup>, Olca Basturk<sup>11</sup>, Mithat Gönen<sup>12</sup>, Seth Katz<sup>13</sup>, Richard Kinh Do<sup>13</sup>, Andrew S. Epstein<sup>14</sup>, Parisa Momtaz<sup>14</sup>, Wungki Park<sup>3,14</sup>, Ryan Sugarman<sup>14</sup>, Anna M. Varghese<sup>14</sup>, Elizabeth Won<sup>14</sup>, Avni Desai<sup>14</sup>, Alice C. Wei<sup>2,3</sup>, Michael I. D'Angelica<sup>2,3</sup>, T. Peter Kingham<sup>2,3</sup>, Ira Mellman<sup>6</sup>, Taha Merghoub<sup>15</sup>, Jedd D. Wolchok<sup>15</sup>, Ugur Sahin<sup>5</sup>, Özlem Türeci<sup>5,16</sup>, Benjamin D. Greenbaum<sup>4,17</sup>✉, William R. Jarnagin<sup>2,3</sup>, Jeffrey Drebin<sup>2,3</sup>, Eileen M. O'Reilly<sup>3,14</sup> & Vinod P. Balachandran<sup>1,2,3</sup>✉

# 進行がん患者ごとに創薬



主要企業によるがんワクチン開発の取り組み

企業	がんの種類	臨床試験(治験)	効果
クリットストーン・ハイオ(米)	大腸	第2~3段階	第1~2段階の治験で生存期間が3倍の22カ月以上に
NEC(日)、トランスジーン(フランス)	卵巣、頭頸部	2023年後半にも第2段階開始	頭頸部がんで再発を抑制
ナイコー・セラピューティクス(ノルウェー)	肺や腎臓	第2段階の結果公表	がんを攻撃する免疫細胞が増加
ピオンテック(ドイツ)、エネンテック(米)	膵臓	23年に第2段階開始	第1段階の治験でがんの再発抑制
モデルナ、メルク(米)	皮膚	23年に第3段階開始	再発や死亡のリスクを4割低減

## がん治療の歴史

年代	できごと
19世紀末	米国で加熱した細菌を患者に投与する試み。免疫薬の先駆け
20世紀半ば	現代的な抗がん剤が出現
2000年ころ	がん細胞を狙い撃ちにする分子標的薬が登場
00年代	ペブチド(たんぱく質の断片)を投与するがんワクチンの研究が進む
10年代	体の免疫力を高める免疫薬が普及
19年	遺伝子を改変した免疫細胞を投与するCAR-T細胞療法が日本で保険適用
20年代 中盤	一人ひとりの患者で効果を最大化するがんワクチンが実用化の可能性

がんワクチンの開発は、免疫細胞を活性化させることが鍵とされている。従来の免疫療法は、がん細胞を攻撃する能力を高めることが目的だったが、近年はがん細胞の遺伝子情報を解析し、がん特有のたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的として、免疫細胞を活性化させることが可能になった。これにより、がん細胞をより効果的に攻撃することが期待されている。

がんの免疫力を高める治療薬「がんワクチン」を患者ごとに作り、治療効果を高める技術の実用化が迫る。米スタートアップのクリットストーン・ハイオは抗がん剤が効きにくい大腸がんの患者の半数が生存期間が3倍に延びたことを臨床試験(治験)で確認した。NECも初期治験で良い結果を得た。2020年代半ばには実用する可能性がある。

## AIで遺伝情報分析 欧米勢、初期治験で成果

がんワクチンはがん細胞の目印となるたんぱく質を患者の体内で作って、がんに対する免疫を誘発する。ワイルスなどの目印を授与する感染型がんワクチンに比べ、がん細胞の遺伝子情報「ゲノム」を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする「ペブチド」や「mRNA」などを用いた「がんワクチン」と呼ばれる。治療薬の一種だが、クリットストーンは10年前に実用化した第1世代の治験で、大腸がんが進行して3種類以上の抗がん剤が効かない患者13人にがんワクチンを投与した結果、生存期間が3倍に延びた。NECは2020年に第2段階の治験を開始し、膵臓がん患者13人にがんワクチンを投与した結果、再発や死亡のリスクを4割低減させた。

「がんワクチン」は、がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。欧米勢のスタートアップ企業が、初期治験で良い結果を得ている。これは、がん細胞の遺伝子情報を解析する技術が進歩したためと見られる。

「個別化医療の第一人者 中村祐輔氏に聞く」  
がんワクチンの治療が世界で進行中だ。「米国内でも多数の治験が進んでいる。ペブチドやmRNAを使ったがんワクチンが、がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。」

「再発防止に効果 ■治療費の低減がカギ」  
がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。治療費の低減が、がん患者にとって重要な課題となっている。

「がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。」  
がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。

「がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。」  
がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。

「がんの免疫力を高める治療薬「がんワクチン」を患者ごとに作り、治療効果を高める技術の実用化が迫る。米スタートアップのクリットストーン・ハイオは抗がん剤が効きにくい大腸がんの患者の半数が生存期間が3倍に延びたことを臨床試験(治験)で確認した。NECも初期治験で良い結果を得た。2020年代半ばには実用する可能性がある。」

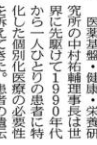
「個別化医療の第一人者 中村祐輔氏に聞く」  
がんワクチンの治療が世界で進行中だ。「米国内でも多数の治験が進んでいる。ペブチドやmRNAを使ったがんワクチンが、がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。」

「再発防止に効果 ■治療費の低減がカギ」  
がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。治療費の低減が、がん患者にとって重要な課題となっている。

「がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。」  
がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。

「がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。」  
がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。

「がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。」  
がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。



個別化医療の第一人者 中村祐輔氏に聞く

「がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。」  
がん細胞の遺伝子情報を解析して、がん細胞に特有なたんぱく質(ネオアンチゲン)を標的とする。これにより、免疫細胞を活性化させることが可能になる。

Table 1 | Selected mRNA therapeutics in development

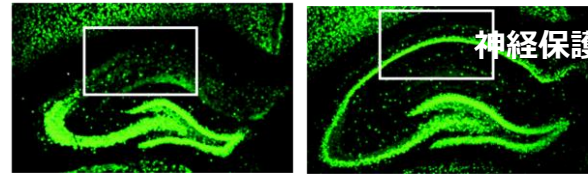
Drug	Company	Encoded protein(s)	Delivery method	Lead indication	Status
AZD8601	Moderna	VEGFA	Epicardial injection, no carrier	Myocardial ischaemia	Phase IIa complete
LUNAR-OTC	Arcturus	Ornithine transcarbamylase	LNP IV	Ornithine transcarbamylase deficiency	Phase II
mRNA-3927	Moderna	Propionyl-CoA carboxylase	LNP IV	Propionic acidemia	Phase I
mRNA-3705	Moderna	Methylmalonyl-CoA mutase	LNP IV	Methylmalonic acidemia	Phase I
mRNA-3745	Moderna	Glucose-6 phosphatase	LNP IV	Glycogen storage disease type 1a	Phase I
mRNA-2752	Moderna	OX40 ligand, IL-23, IL-36	LNP intratumoral	Solid tumours, lymphoma	Phase I
MRT5005	Sanofi (Translate Bio)	CFTR	LNP inhalation	Cystic fibrosis	Phase I/II
UX053	Ultragenyx, Arcturus	Glycogen debranching enzyme	LNP IV	Glycogen storage disease type III	Phase I
SAR441000 (BNT131)	Sanofi, BioNTech	IL-12, IFN $\alpha$ , GM-CSF, IL-15	LNP intratumoral	Solid tumours	Phase I
BNT141	BioNTech	Claudin18.2 antibody	LNP IV	Solid tumours	Phase I/II
BNT151	BioNTech	Modified IL-2	LNP IV	Solid tumours	Phase I/II
BNT152	BioNTech	IL-7	LNP IV	Solid tumours	Phase I
BNT153	BioNTech	IL-2	LNP IV	Solid tumours	Phase I
BNT311/GEN1046	Genmab, BioNTech	Bispecific antibody, PD-L1 $\times$ 4-1BB	IV	Solid tumours	Phase I
BNT312/GEN1042	Genmab, BioNTech	Bispecific antibody, CD-40 $\times$ 4-1BB	IV	Solid tumours	Phase I/II
NA	Sanofi (Translate Bio)	DNAI1	LNP inhalation	Primary ciliary dyskinesia	Preclinical
Eth42	Ethris	CCDC40	LNP inhalation	Primary ciliary dyskinesia	Preclinical

CCDC40, coiled-coil domain containing 40; CFTR, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; CoA, coenzyme A; DNAI1, dynein axonemal intermediate chain 1; GM-CSF, granulocyte macrophage colony-stimulating factor; IFN $\alpha$ , interferon alpha; IL, interleukin; IV, intravenous; LNP, lipid (or lipidoid) nanoparticle; NA, not available; VEGFA, vascular endothelial growth factor A.

# 本グループのこれまでの治療用mRNA医薬研究

mRNAのin vivo投与で疾患外傷モデル動物に対する治療効果のPOCを得た事例

## 脳虚血性疾患

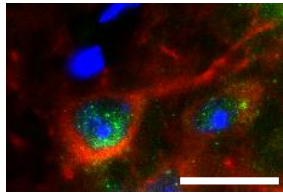


コントロール **BDNF mRNA**  
*Biomaterials* 270, 120681 (2021)

神経細胞核: NeuN

神経保護

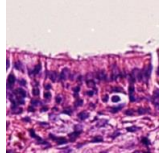
## 精神・神経疾患 (自閉症)



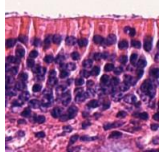
*Prog Neurobiol* 2022, 216: 102288

Dp140 mRNAによる自閉症様行動の改善

## 嗅覚神経障害



コントロール



嗅神経細胞の再生促進

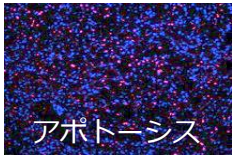
**BDNF mRNA**

*J Control Release* 201:41-8, 2015

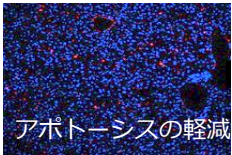
粘膜上皮組織

## 劇症肝炎

青: 細胞核 赤: TUNEL陽性アポトーシス細胞



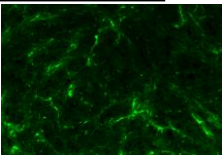
アポトーシス  
コントロール



アポトーシスの軽減  
**Bcl-2 mRNA**

*Sci. Rep.* 5, 15810 (2015)

## 膵臓がん



コントロール

緑: 血管内皮細胞

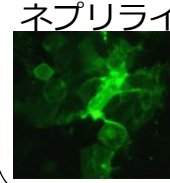


抗血管新生

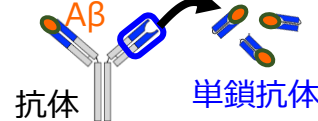
**sFlt-1 mRNA**

*Biomaterials* 82, 221-228 (2016)

## アルツハイマー病



ネプリライシン mRNA単鎖抗体 mRNA

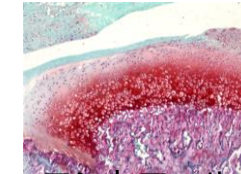


抗体

単鎖抗体

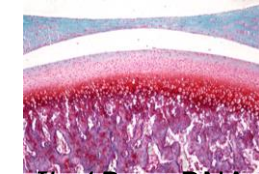
*Curr. Alzheimer Res.* 14, 295-302 (2017)  
*J. Control. Release* 235, 268-275 (2016)

## 顎関節症



コントロール

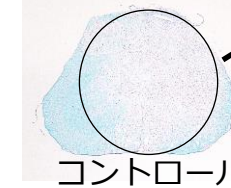
## 抗炎症治療



**IL-1Ra mRNA**

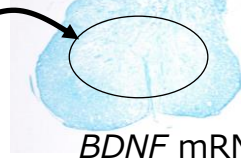
*Pharmaceutics* 14: 1785 (2022)

## 脊髄損傷



コントロール

損傷部位の縮小



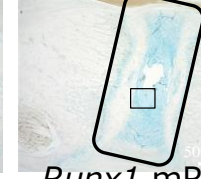
**BDNF mRNA**

*Mol. Ther. Nucleic Acids* 17 465-476 (2019)

## 椎間板疾患



コントロール



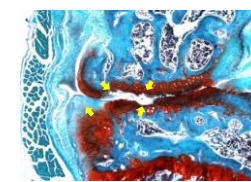
**Runx1 mRNA**

髄核の変性抑制

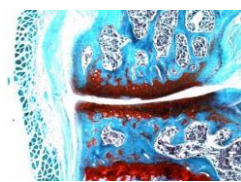
Blue: glycosaminoglycan

*Mol. Ther. Nucleic Acids* 16 162-171 (2019)

## 変形性関節症



コントロール

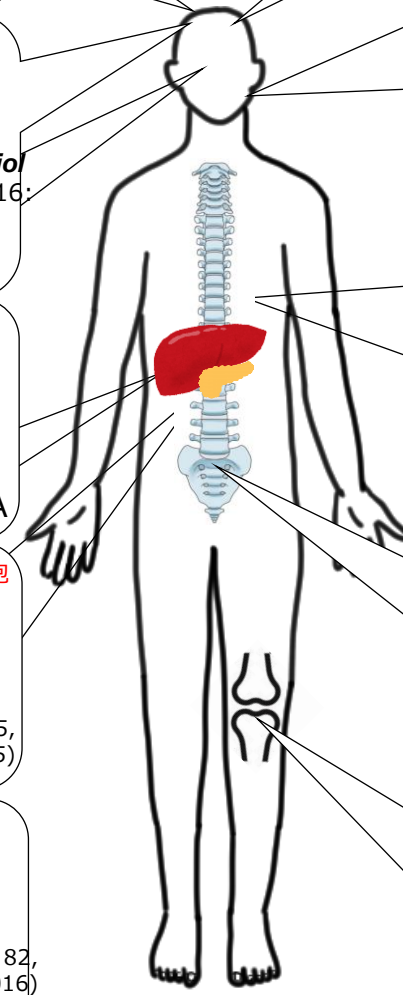


**Runx1 mRNA**

前臨床試験実施中

軟骨再生

*Sci. Rep.*, 6, 18743 (2016)

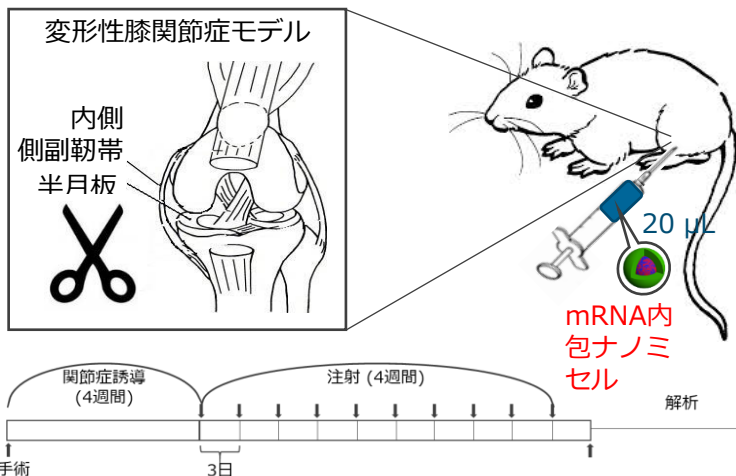




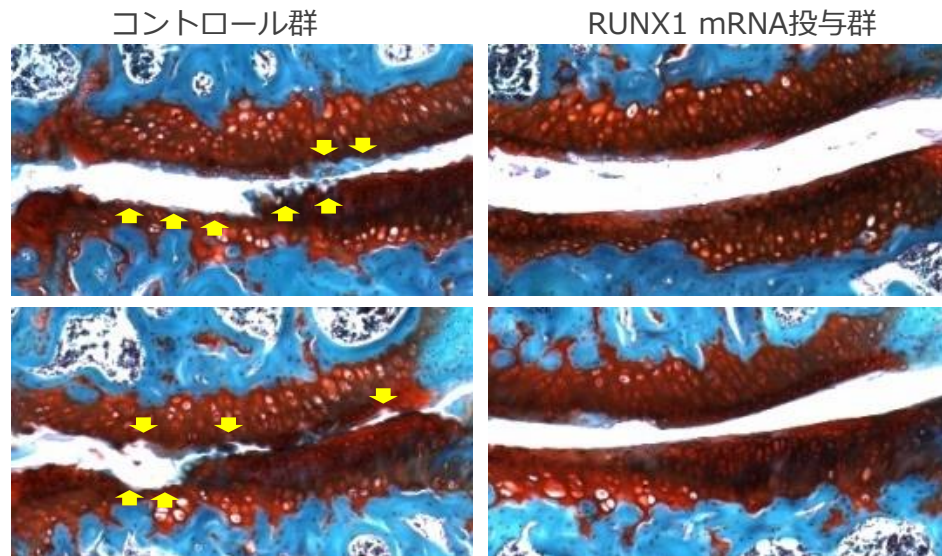
# 軟骨誘導性転写因子RUNX1 mRNAによる変形性関節症治療

Aini, Itaka, et al., *Sci Rep* 6:18743, 2016

マウス変形性膝関節症モデル(*Osteoarthritis Cartilage*, 2005)  
 膝関節の靭帯(内側側副靭帯)と半月板を切離することで、関節の不安定性を誘導し、変形性関節症を発症させる  
 mRNA内包ナノミセルを関節内に投与

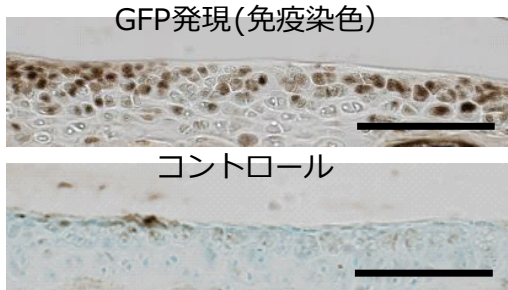


## RUNX1 mRNA治療後の膝軟骨組織像



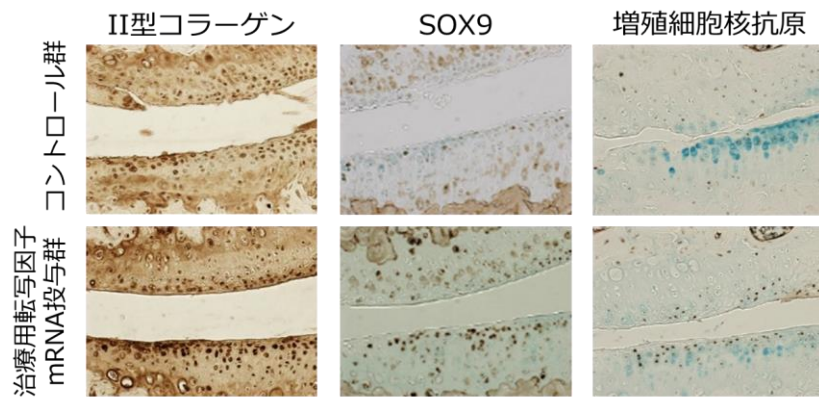
コントロール群で認められる関節軟骨表面のめくれ・変性・摩耗(黄矢印)が、RUNX1 mRNA投与群で抑制される

軟骨細胞でのタンパク質発現  
 (GFP mRNA関節内投与、2日目)



軟骨基質内の軟骨細胞に広くタンパク質発現させる

軟骨細胞の機能制御



主要な軟骨基質蛋白質であるII型コラーゲン、軟骨形成に必須の転写因子SOX9、細胞増殖マーカーである増殖細胞核抗原の発現が亢進  
 →送達したmRNAに由来するRUNX1が、軟骨細胞としての形質の維持や増殖に関わる遺伝子群の発現を調節し、OA進行を抑制

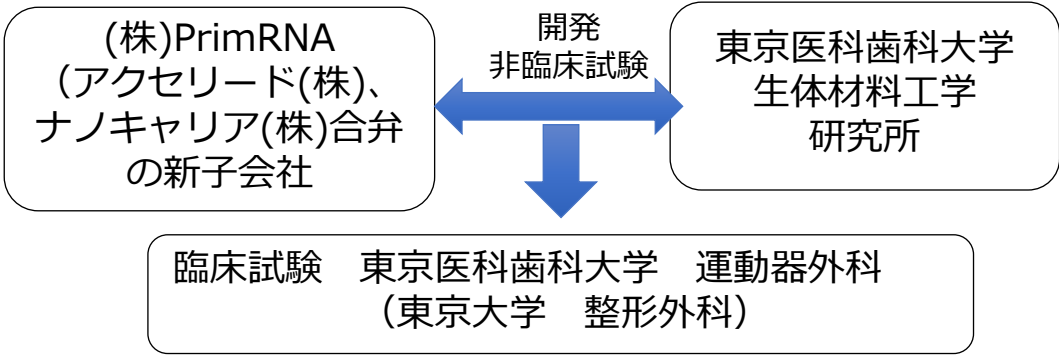
### ナノキャリア、軟骨再生へ新会社

バイオ創薬のナノキャリアは創薬支援を手掛けるアクセリード（神奈川県藤沢市）と4月に共同出資会社を立ち上げた。遺伝情報物質のメッセンジャーRNA（mRNA）を使い、膝の軟骨を再生させる薬を開発する。早くして2023年の臨床試験（治験）の開始を目指しており、共同出資会社の設立で開発を加速させる。

設立した会社は「PrimRNA（プライムルナ）」（東京・中央）。出資比率は非開示。アクセリードは動物などを使った非臨床試験を受託しており、そのノウハウを活用する。一方のナノキャリアはmRNAを安定に細胞内へ届け、発現させるナノ粒子を作る技術を持っている。

2021年4月開始  
AMED 医療研究開発革新基盤創成事業（CiCLE）

## 「mRNA医薬を用いた変形性関節症（OA）に対する革新的な機能維持治療法の開発」



## 軟骨再生mRNA薬

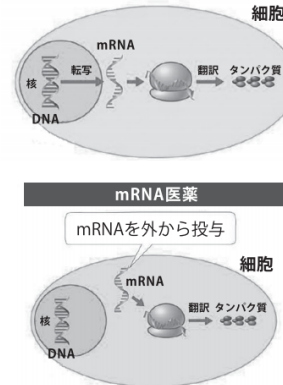
# 臨床試験 23年に開始へ

## 膝関節症に新治療

### ナノキャリア

ナノキャリアは、膝関節症向けメッセンジャーRNA（mRNA）医薬の臨床試験を2023年にも始める。昨年9月に収容したアメリカにも研究を引き継ぎ、軟骨形成にかかわるたんぱく質「RUNX1」のmRNAを膝に注射する。コロナワクチンで注目されるmRNAの医療応用が、免疫を介さず、直接的に治療に役立ったたんぱく質をつくる試みは国内初となりそうだ。

### ヒト体内での遺伝子発現



ナノキャリアは、高分子ミセルを使う。リド（神奈川県藤沢市）とアクセリードとの合弁会社で前臨床をすすめる。東京医科歯科大学で医師主導治験を行う。症状が重い患者へ注射する。注射は膝関節腔や、東京医科歯科大学の位置器士田取裕也や、東京医科歯科大学の位置器士田取裕也ら、mRNAの運び手は、片岡一則東大特任教授の治験法の

### 希少血液がん治療薬

伊企業から選 日本新薬は、イタリアの製薬大手ヌナリニ・新薬は、グループから球形形質の細胞線状細胞腫瘍（B-PCV）治療剤「スクラソ」のラジソナブを導入するライセンス契約を締結したと発表した。日本は、遺伝的に特異的に開発・販売す

2021年3月23日 化学工業日報

## mRNAで関節軟骨再生

創薬スタートアップのPrimRNA（東京都中央区、プライムルナ）は、メッセンジャーRNA（mRNA）を用いた組織再生医薬を開発する。加齢などで、変形性関節症の治療に用いる。来年初からGMPでの生産を開始し、2024年にも医師主導治験を始める。商業化は製薬会社に委ねる考えで、アラブサイエンス活動にも乗り出した。

mRNAは新型コロナウイルスで初めて活用された新たな医薬品技術で、たんぱく質を作る遺伝情報が組み込まれている。遺伝情報に人工的に合成される。新型コロナウイルスの場合、はスパイクたんぱく質抗原

## 来年初GMP製造 24年に医師治験へ

2022年10月14日 化学工業日報

### プライムルナ

を体内で作らせて免疫を獲得している。プライムルナはDNAにくっつく転写因子のたんぱく質「RUNX1」をmRNAに作る。RUNX1は軟骨の分化や増殖に深く関わり、2000年代から論文報告されてきた。変形性関節症の患者は日本だけで100万人以上とされる。痛みを緩和する治療薬は存在するが、根治薬はなく、新薬ニーズが高い分野だ。

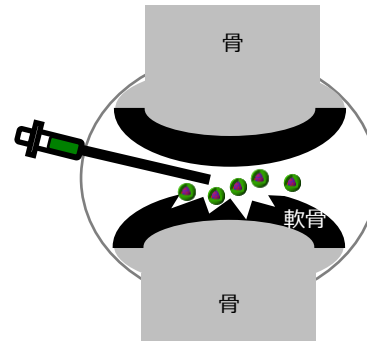
プライムルナは関節の局所にmRNAを注射し、軟骨を再生する治療を目指す。mRNAとは異なる標的分子をターゲットに、スライム・ナルティスや米スタートアップのバイオス、高橋史敏の特許がベース

## 治療用mRNA医薬品臨床試験の国内第1号へ

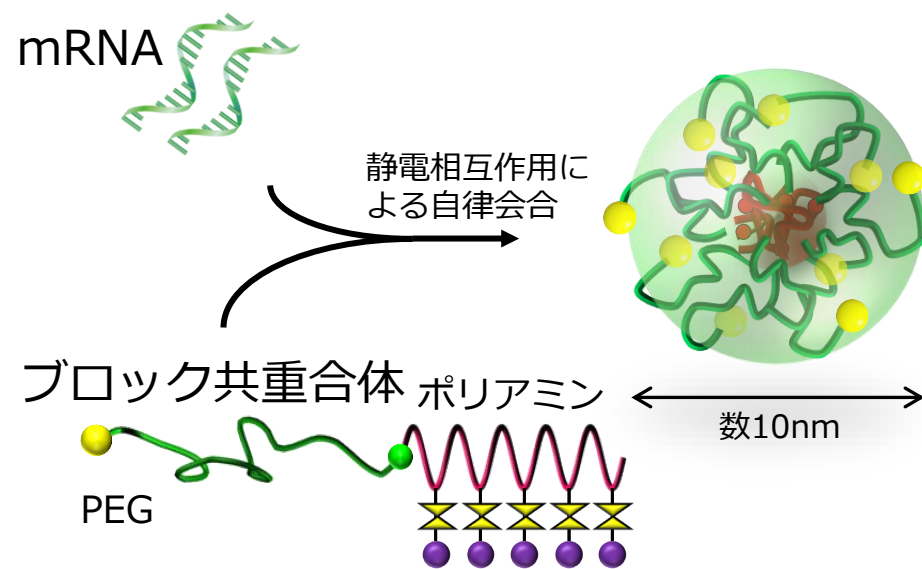
# 合成高分子をベースとするキャリア

## mRNA医薬の関節内投与

軟骨誘導性転写因子をコードするmRNAを、ナノミセル型キャリアで関節内投与する



## ナノミセル型キャリア



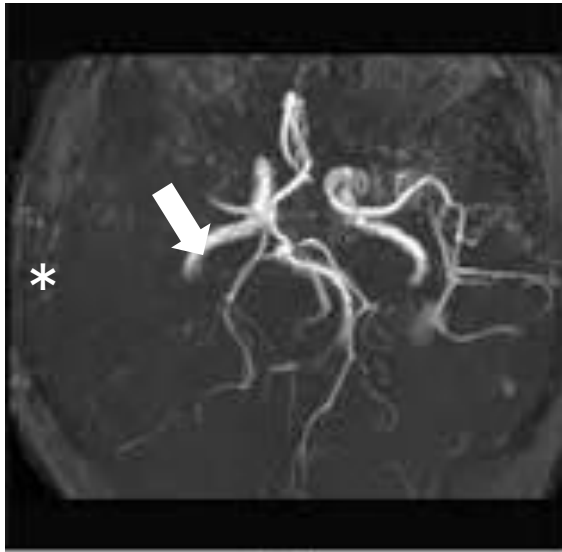
- PEG外殻・mRNA/カチオン性ポリアミンからなる内核の明確な二層構造  
→ mRNAの安定な保持・異物認識の抑制（ステルス性）  
→ **投与部位に炎症を起こさない**
- 数10nmの均一な粒径 → **高い組織浸透性**
- 生体・細胞内環境応答能  
→ 迅速なタンパク質発現
- 生分解性高分子による高い安全性  
→ **反復投与可能**

Masago et al. Biomaterials 2007, Itaka et al. Mol Ther 2007, Miyata et al. JACS 2008, Itaka, Ishii et al. Biomaterials 2010, Itaka et al. Current Gene Therapy 2011, Uchida et al. JACS 2011, 2014, 他

## 脳卒中 Cerebral ischemic stroke

脳卒中（脳梗塞、脳出血）患者数約150万人（日本）1500万人以上（世界）  
死因の第3位、寝たきりの原因の30%

出典：厚生労働省「患者調査の概況」



急性壊死部分

MRI



2日後



壊死部分の拡大  
(遅発性壊死)

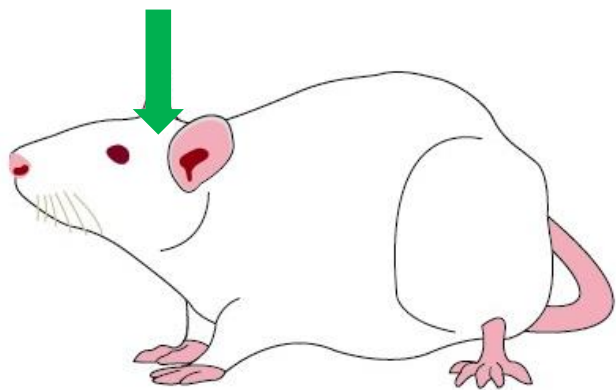
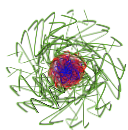
虚血耐性が低い神経細胞の存在  
(選択的脆弱性)

⇒ 速やかな閉塞血管再開通・神経保護療法  
の必要性

実用化された薬  
剤は存在しない

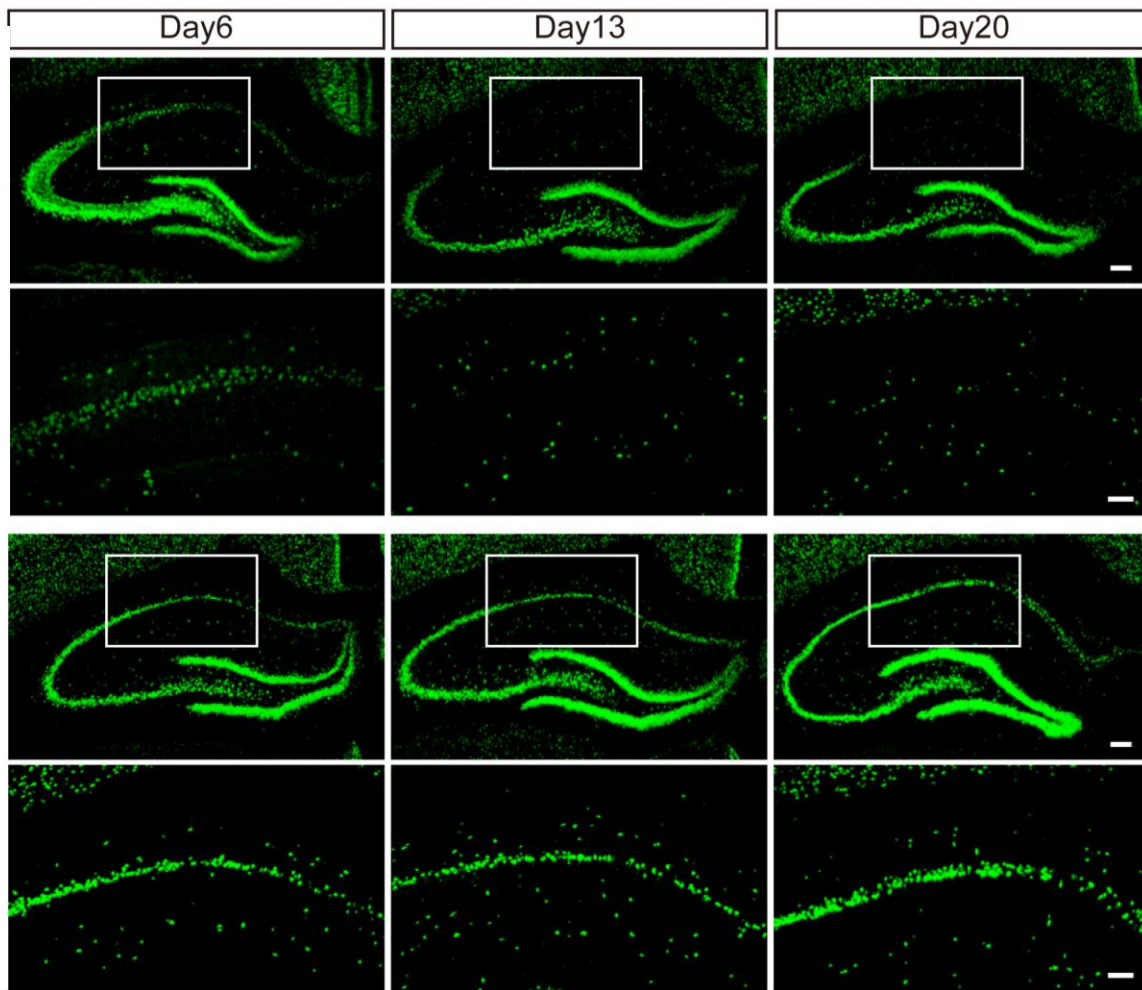
# 神経栄養因子mRNA投与による虚血性脳疾患治療

脳由来神経栄養因子 (BDNF) をコードするmRNAを脳室内へ投与



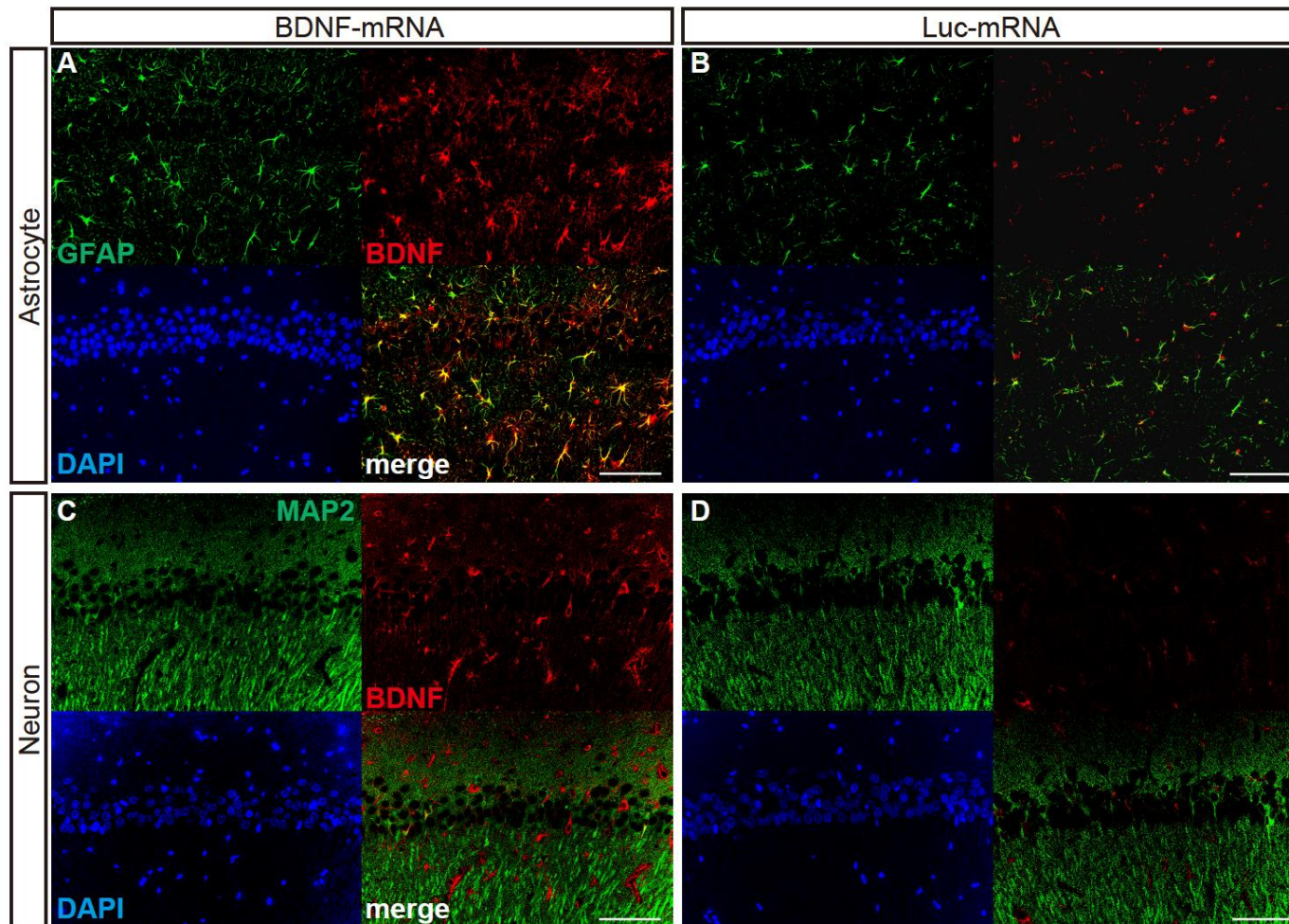
虚血により、記憶を司る海馬神経細胞に障害を生ずるモデル動物 (ラット全脳虚血モデル)

コントロールmRNA  
神経栄養因子mRNA



## BDNF mRNAによる神経保護治療

# アストロサイトがmRNAの主要な標的となっている



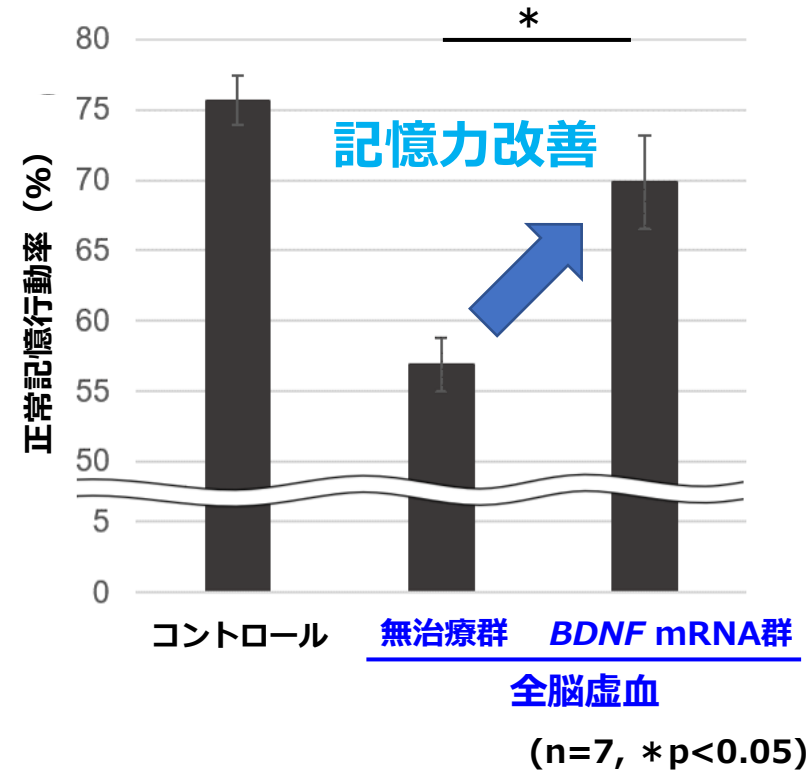
- mRNA搭載ナノミセルが神経細胞を取り囲むアストロサイトに広範囲に取り込まれ、BDNFが多量に発現・分泌された  
→ 神経細胞保護に適した微小環境が一過性に形成された

# BDNF mRNA投与による記憶力の改善

## Y mazeによるラット記憶力解析



全脳虚血後20日目



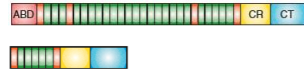
Fukushima Y, et al. Biomaterials 270: 120681, 2021

- 脳由来神経栄養因子BDNFをコードするmRNAを用いて、脳虚血性疾患モデルラットの神経細胞死抑制、記憶力改善の治療の成功
- mRNA医薬を用いた、従来と異なった新しいMOAに基づく治療法実現の可能性

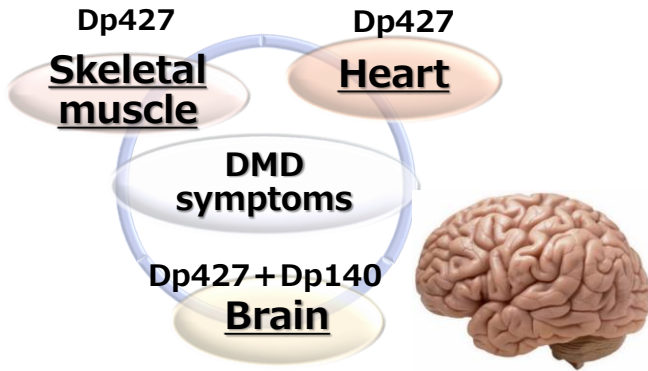
# mRNA医薬を用いた精神・神経疾患治療：自閉症スペクトラムの治療

## デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の原因となる遺伝子変異

- full-length dystrophin : Dp427
- An isoform: Dp140

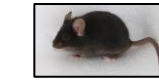


→ 脳・中枢神経系に高発現

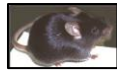
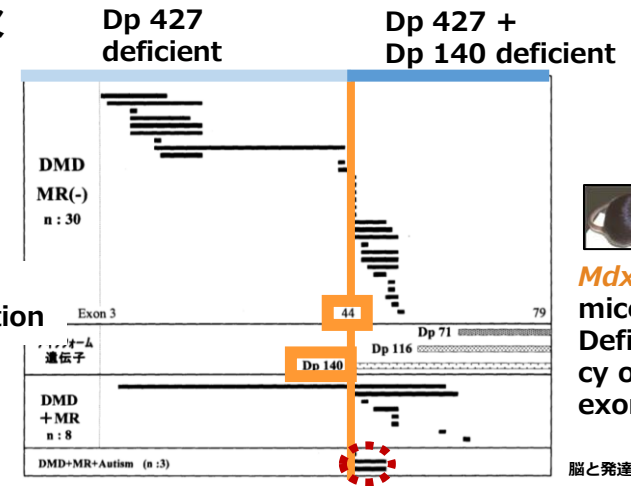


DMD患者の30%は精神神経症状を呈する  
**Autism spectrum disorder (ASD)**  
 attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD)  
 Cognitive dysfunction (IQ<70)

## Dp427+Dp140欠損マウスを樹立 (Mdx52マウス)



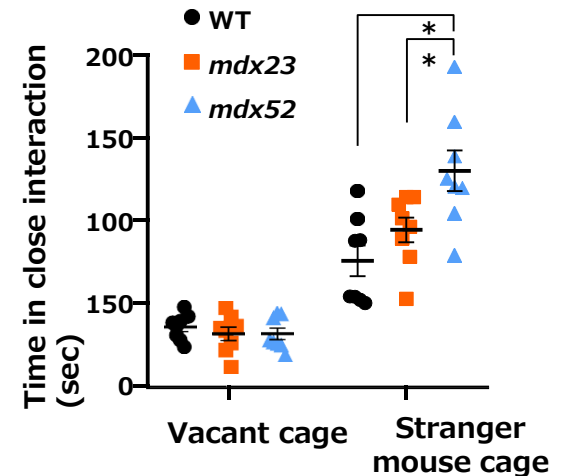
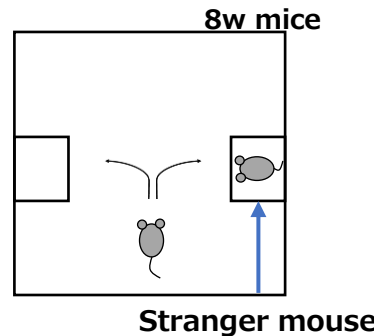
Mdx23 Point mutation



Mdx52 mice Deficiency of exon52

脳と発達 2001

## Mdx52マウスは自閉症様行動を示す



国立精神・神経医療研究センター (NCNP) 青木吉嗣部長との共同研究

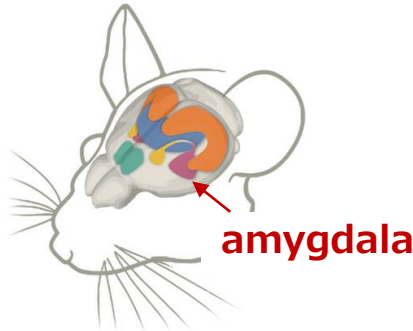
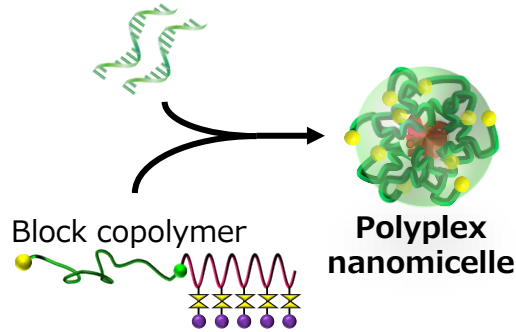
Hashimoto, Itaka, Aoki, et al. Prog Neurobiol 216: 102288, 2022



# mRNA医薬を用いた精神・神経疾患治療：自閉症スペクトラムの治療

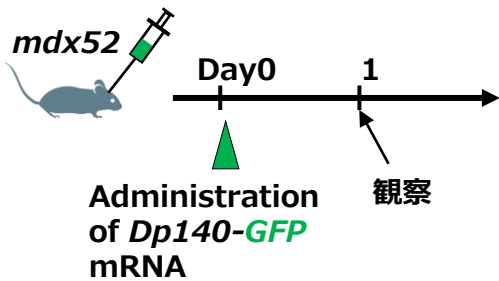
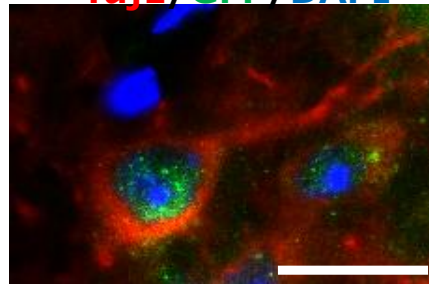
## Mdx52マウスに対してDp140を mRNAを用いて脳室内投与

Dp140-GRP mRNA

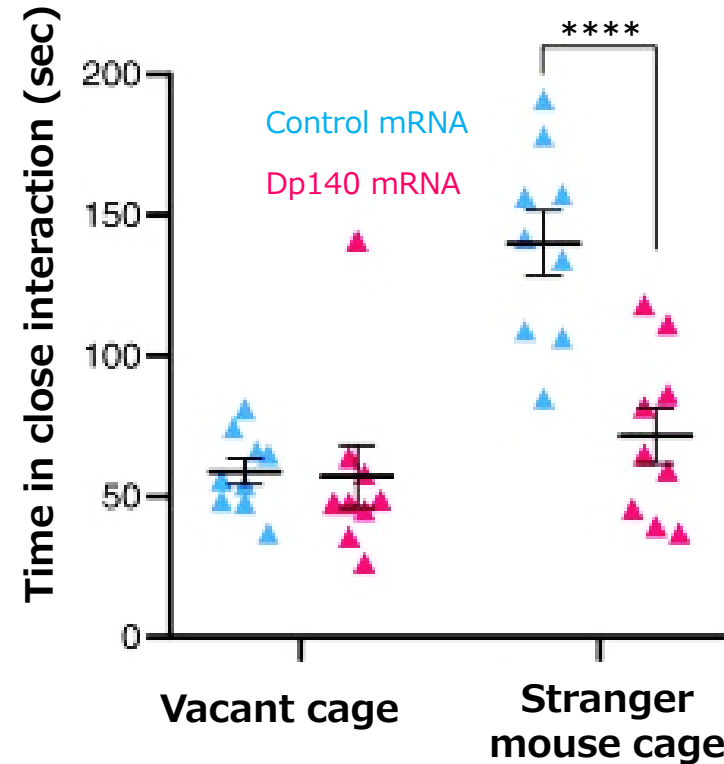


扁桃体ニューロンにおけるDp140 (GFP) 発現 (免疫組織学的評価)

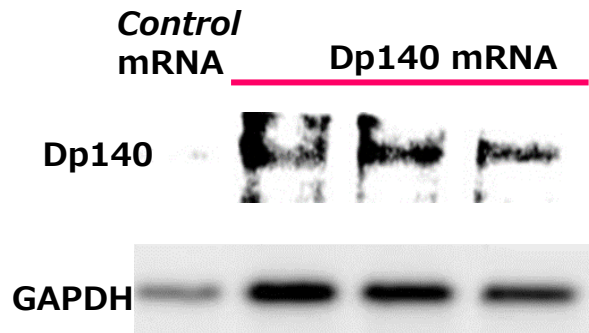
Tuj1/GFP/DAPI



## Dp140 mRNA投与群で、自閉症様行動の改善が観察された



## 脳組織内でのDp140タンパク質発現を確認 (WB)



2023年度AMED難治性疾患実用化研究事業に採択 (代表：青木吉嗣先生)

国内大手製薬企業と共同で、DMD原因遺伝子の異常によって生ずる脳・骨格筋障害に対するmRNA医薬開発へ

# 本日のトピック

## 1. mRNA創薬に用いられる技術

mRNA設計・製造、DDS

## 2. mRNAワクチンの開発経緯、現状

ワクチン（感染症、がん）

治療用mRNA医薬

## 3. まとめ（今後の展望）

