

公益財団法人 立松財団 御中

様式 2021A1,A2,B

2025 年 3 月 31 日

所属:岐阜薬科大学 製剤学研究室

氏名: 伊藤 貴章



2023 年度 助成

研究 経過 ・ 終了 報告書

※ゴシック文字で記入下さい。

研究テーマ	Naked mRNA 吸入粉末剤開発のための実証実験
研究の結果	前年度は naked mRNA 吸入粉末剤を作成するうえでの組成および製剤化技術を検証した。本年度は naked mRNA 吸入粉末剤の実用化への道筋をつけることを目的に研究を推進した。 ① Naked mRNA 吸入粉末剤の長期安定性評価 (1) Naked mRNA 吸入粉末剤、(2) Naked mRNA 吸入液剤(導入剤フリー対照群)を準備し、室温(15°C-25°C)で3か月保存した。保存後、アガロースゲル電気泳動で mRNA 構造安定性を評価した。 その結果、naked mRNA 吸入粉末剤は対照群である液剤と比較して mRNA を安定に維持していた(図1)。以上の結果より、mRNA を粉末製剤化することによる保存安定性を実証することに成功した。 ② Naked mRNA 吸入粉末剤の in vitro 遺伝子発現評価 2023 年度に引き続き、naked mRNA 吸入粉末剤を作成するうえでの組成最適化を推進した。その結果、賦形剤としてマンニトールを用いて噴霧凍結乾燥することで、高い活性を持つ naked mRNA 粉末製剤を作成することに成功した(図2)。マンニトールは耐吸湿性に優れることから、mRNA を吸湿および加水分解から保護したと考察している。一方、凍結乾燥において、mRNA 活性が低下する傾向が認められた。凍結または乾燥過程において mRNA が失活していると考えられ、今後の検討課題である。 次に、細胞表面が空気と接触した状態の気液界面細胞培養系を用いて、naked mRNA 吸入粉末剤を細胞層に直接分散添加した結果、naked mRNA 液剤よりも高い遺伝子発現効果を示した。これは、naked mRNA 粉末剤が細胞層において局所の高濃度状態を形成し、高浸透圧による mRNA 細胞内導入を向上させたためと考察している。その一方、lipofectamine mRNA 複合体液剤と比較場合、それを上回る遺伝子発現は達成できなかった。これは、naked pDNA 吸入粉末剤とは異なる結果(Ito et al., <i>Mol. Pharmaceutics</i> 2019)であった。pDNA は naked として実用化実績がある一方、mRNA は導入剤を添加した状態で実用化に至っている(コロナワクチンなど)。同じ核酸でも、種類によって細胞内導入効率または遺伝子発現効率が異なる可能性がある。 以上、本研究課題では、naked mRNA 吸入粉末剤の実用化を目指した実証実験を試みた。その結果、研究期間中に naked 状態で mRNA 遺伝子発現を達成することはできなかった。一方、mRNA を粉末製剤化することで優れた保存安定性を実証することに成功した。mRNA 粉末剤の優れた保存安定性は mRNA 医薬開発のボトルネックとなっていたコールドチェーンからの解放を実現すると考えられる。今後は引き続き製剤研究を推進し、naked mRNA の実用化可能性を探る。 現時点で 2024 年度の研究発表実績は無い。2026 年 3 月の日本薬学会において発表を予定している。
研究発表 (実績)	

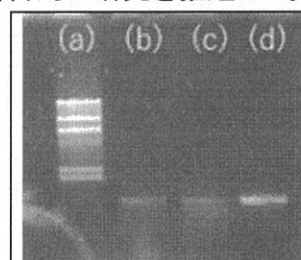


図1. mRNA構造の安定性評価
アガロースゲル電気泳動を行った後、エチジウムブロマイドで染色し観察。
(a) サイズマーカー、(b) Naked mRNA 吸入粉末剤室温保存3ヶ月後、(c) mRNA水溶液室温保存3ヶ月後、(d) mRNA水溶液(intact)

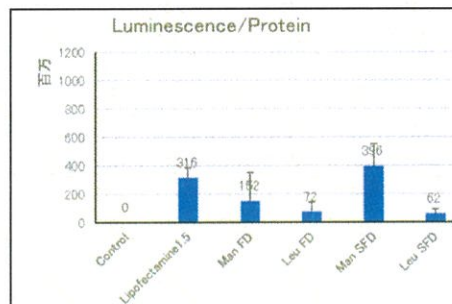


図2. mRNA in vitro遺伝子発現活性評価
Naked mRNA粉末製剤を超純水で再溶解後、Lipofectamineを用いて遺伝子導入。
Lipofectamine1.5: mRNA水溶液(intact)、Man: マンニトール、Leu: ロイシン、FD: 凍結乾燥、SFD: 噴霧凍結乾燥。N=3 ± SD.

提出期限: 研究期間終了後、すみやかに助成金の「必要経費使途明細書」「領収書」と合わせて提出下さい。
年度をまたぐ場合は毎年3月末日までに、途中経過をご記入の上、報告願います。