

令和 4 年 4 月 30 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H03529

研究課題名(和文) アジュバント機能一体型mRNAと標的指向性送達キャリアを用いたがんワクチン治療

研究課題名(英文) Development of immunostimulatory mRNA and lymphoid tissue-targeting carriers for cancer vaccine

研究代表者

内田 智士 (Uchida, Satoshi)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：20710726

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,000,000円

研究成果の概要(和文)：がん免疫治療の分野で、がん抗原を発現するメッセンジャーRNA (mRNA)を用いたがんワクチンに期待が集まっている。がんワクチンでは、免疫賦活化アジュバントが重要となる。今回、RNA工学の手法を用いて、mRNA自体にアジュバントの活性を組み込んだ。開発したmRNAを、治療で用いられている脂質性mRNAキャリアや高分子ミセルに搭載してマウスに投与したところ、高いワクチン効果が得られた。さらに、本システムは、様々ながんのモデルにおいて、治療効果を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発したアジュバント機能一体型mRNAは、体内に蓄積しない生体分子であるRNAを基盤としており、極めて安全性が高い。さらに、脂質キャリアと高分子キャリアのいずれを用いた場合でも効果が得られ、汎用性も高い。適宜、免疫チェックポイント阻害剤と併用することで、臨床応用が期待される。また、学術的には、RNA工学をmRNAワクチンに応用することで、その効果を高めた世界に先駆けた報告である。

研究成果の概要(英文)：Messenger RNA cancer vaccines encoding tumor antigens garner much attention in cancer immunotherapy. Immunostimulatory adjuvants play a critical role in cancer vaccines. In the present study, we integrate adjuvant functionalities into mRNA by employing mRNA engineering. The developed mRNA formulation improves vaccination effects in mice after encapsulation into lipid-based mRNA carriers used in clinical trials and polyplex micelles. Ultimately, this system provides therapeutic outcomes in several cancer models.

研究分野：核酸医薬

キーワード：mRNAワクチン がんワクチン アジュバント リポプレックス 高分子ミセル 遺伝子送達

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害剤の有効性が臨床で明らかになり、がん免疫治療に対する期待が高まっている。一方で、免疫チェックポイント阻害剤不応例も多く、新たな方法論が必要である。その中で、抗原特異的な T 細胞を誘導するがんワクチンが注目されている。がんワクチンにより、腫瘍組織に T 細胞を供給し、さらに免疫チェックポイント阻害剤を併用することで、その T 細胞の機能を最大化することが出来る。がんワクチンにおいて、腫瘍の変異に由来するネオ抗原を標的とすることで、非常に効果的な腫瘍抑制効果が得られる。一方、この戦略では、患者のがん組織の変異を同定し、エピトープを予測したのち、それに対応するワクチンを速やかに製造する必要がある。

このような課題に取り組む上で、メッセンジャーRNA (mRNA) ワクチンは、いくつか利点を持つ。まず、配列設計が容易であるため、標的エピトープを決定したのち、速やかにそれに対応した mRNA を製造することが出来る。また、標的エピトープの種類によらず、mRNA の物理化学的性質は変わらないため、あらゆるエピトープに対して、それを発現する mRNA を同じ方法で生体内に送達できる。一方、ペプチドやタンパク質を用いると、エピトープ毎に物性が異なるため、物性に応じた生体への送達法の検討が必要となる。最後に、mRNA ワクチンでは細胞質内で抗原が産生されるため、効果的に主要組織適合遺伝子複合体分子(MHC)クラス I を介した抗原提示と、それによる CD8 陽性細胞傷害性 T 細胞の誘導が可能である。このような利点から、本研究開発当初においても、mRNA ワクチンの応用は盛んに検討されており、多くの臨床試験が行われていた(*Nat. Rev. Drug Discov.* 17, 261-279, (2018))。

ここで、mRNA ががんワクチンの効果を高めるためには、mRNA からの抗原タンパク質発現量を向上させるだけでなく、適切な免疫賦活化アジュバントの使用が必須である。mRNA の生体内送達では、脂質や高分子からなる送達キャリアがしばしば用いられるが、mRNA 搭載キャリアと、アジュバントを混ぜる方法に加え、送達キャリアを構成する脂質や高分子などのデリバリー基剤にアジュバント活性を持たせる戦略が多く行われてきた。特に、脂質性ナノ粒子を構成する pH 応答脂質がアジュバント活性を持つことが多い。このようにデリバリー基剤にアジュバント活性を組み込むことで、ワクチン設計が単純になり、さらに抗原タンパク質発現 mRNA が送達された細胞に免疫賦活化作用が得られるため、高いワクチン活性が期待できる。

一方で、この方法にはいくつか欠点がある。まず、脂質や高分子などのデリバリー基剤が、mRNA を送達する機能と免疫を活性化する機能の両方を担うため、それぞれの機能を独立して制御することが困難である。従って、送達効率とアジュバント活性の両方を同時に最適化できない。また、生体内投与後、mRNA から解離したデリバリー基剤が、全身に分布して炎症を惹起する懸念がある。安全かつ効果的な mRNA ががんワクチン設計には、新たな方法論が望まれていた。

## 2. 研究の目的

本研究では、mRNA 自体に免疫賦活化アジュバントの活性を組み込むことを着想した。この方法では、デリバリー基剤にアジュバント活性を組み込む必要がなくなり、mRNA 送達機能をアジュバント活性と独立して最適化することができる。また、免疫賦活化作用の低いデリバリー基剤と併用することで、mRNA が導入された細胞にのみ、アジュバント活性が得られる。mRNA はデリバリー基剤より分子量が圧倒的に大きく、体内分布の制御がより容易であるため、この方法では、免疫賦活化物質の意図せぬ臓器への分布を回避することができる。

mRNA にアジュバント活性を組み込むために RNA 工学の手法を用いた。免疫賦活化活性を持つ 2 本鎖 RNA (dsRNA) 構造を、相補鎖を介して mRNA に結合させた(図 1)。mRNA 主鎖に、2 本鎖 RNA が側鎖として結合する形態のため、2 本側鎖 mRNA と呼ぶ。2 本側鎖 mRNA では、細胞外で mRNA とアジュバントが解離する可能性は非常に低いほか、RNA がアジュバント活性を担っており、投与後 1 日程度でほとんど分解されるため、安全である。また、2 本鎖 RNA 側鎖数を制御することで、免疫賦活化の程度を最適化することも可能である。ここでは、抗がん免疫に重要とされている自然免疫受容体 retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I) を標的とするよう 2 本鎖 RNA 側鎖を設計した。

本研究では、この 2 本側鎖 mRNA 構造を最適化し、それを免疫賦活化作用の低い送達キャリアに搭載することで安全かつ効率的な mRNA ワクチンシステムを構築すること、さらには、そのシステムの有用性をがんワクチンにて実証することを目的とした。

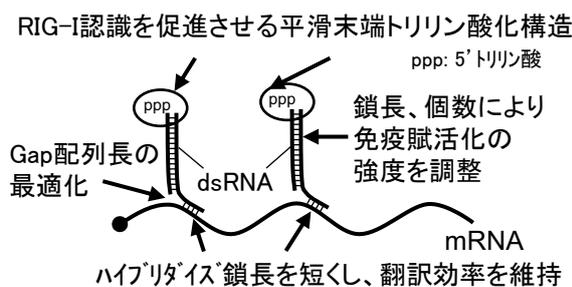


図 1. 2 本側鎖 mRNA

### 3. 研究の方法

(1) **2本側鎖 mRNA 構造の最適化** 培養樹状細胞 DC2.4 細胞に、2本側鎖 mRNA を添加したのち、インターフェロン $\beta$  やインターロイキン 6 の発現を、定量 PCR 法で評価することで、免疫賦活化作用を調べた。なお、mRNA 導入には市販の脂質性 mRNA 導入試薬 lipofectamine を用いたが、導入試薬自体の免疫賦活化作用は、mRNA のそれと比べ無視できる程度であった。

(2) **自然免疫受容体の関与** 2本側鎖 mRNA による免疫賦活化に対する自然免疫受容体の関与を調べるため、Toll 様受容体 (TLR) の恒常発現細胞や、細胞質内 2本鎖 RNA 受容体、RIG-I 及び MDA5 のノックアウト細胞を用いた。これらの細胞は、免疫応答が起こるとレポータータンパク質を発現するよう遺伝子改変されているため、レポータータンパク質発現を指標に免疫応答を評価した。

(3) **樹状細胞の活性化** 2本側鎖 mRNA による抗原提示細胞の活性化作用をマウス初代培養、骨髄由来樹状細胞 (BMDC) 及びヒト樹状細胞 (DC) を用いて調べた。あわせて、2本側鎖の搭載による mRNA 翻訳活性に対する影響を、ルシフェラーゼ mRNA を用いて調べた。

(4) **サイトカインパネル** 2本側鎖 mRNA をマウス BMDC に添加した際の、25 種類のサイトカイン、インターフェロン、ケモカインのタンパク質レベルでの発現を Luminex システムや ELISA を用いて調べた。

(5) **リポプレックスを用いたがんワクチン** 2本側鎖 mRNA を DOTMA, DOPE からなるリポソームと混合することで、負に帯電したリポプレックスを調製し (図 2A)、それをマウスに静脈内投与した。このシステムは、BioNTech 社ががんワクチンの臨床試験に用いているリポプレックスと同様のものである。まず、モデル抗原として卵白アルブミン (OVA) を用い、OVA に対する細胞性免疫を、in vivo CTL assay にて調べた。この方法では、OVA mRNA を投与したマウスに対して、OVA タンパク質で処理した脾細胞を移植し、その脾細胞に対する細胞性免疫を評価した。さらに OVA 発現腫瘍の皮下移植モデルを用いて、がんワクチンとしての有効性を調べた。また、悪性黒色腫 (B16F10) の腫瘍関連抗原 (gp100) を標的としたワクチン実験も行った。ここでは、B16F10 の肺転移モデルマウスを用いて生存促進効果を評価した。

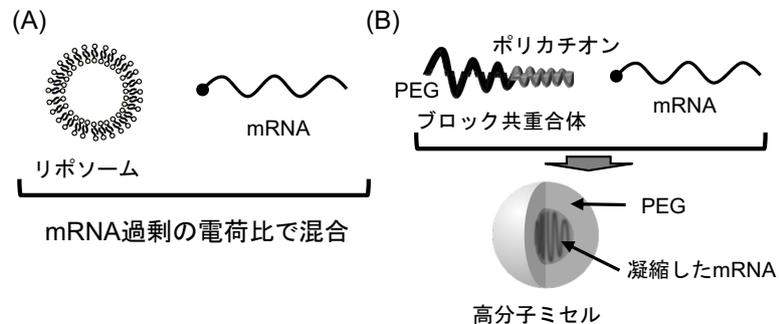


図 2. 本研究の mRNA 送達法。(A) アニオン性リポプレックスの静脈内投与。(B) 高分子ミセルの筋肉内、皮内投与。

(6) **高分子ミセルを用いたワクチン** 2本側鎖 mRNA を、ポリエチレングリコール (PEG)-ポリカチオンブロック共重合体と混合することで、高分子ミセルを調製した (図 2B)。高分子ミセルは、粒径 100 nm 以下で、PEG で覆われ凝縮した mRNA を内包する構造をとる。この高分子ミセルを、マウスの筋肉内、皮内に投与し、ワクチン効果を in vivo CTL assay にて評価した。

### 4. 研究成果

(1) **2本側鎖 mRNA 構造の最適化** 2本鎖 RNA 側鎖の構造は、RIG-I の基質である平滑末端 5' トリリン酸化構造を含むよう設計した (図 1)。さらに、図 1 に示すように、2本鎖 RNA 側鎖の配列、鎖長、数、2本鎖 RNA 側鎖と mRNA の間の gap 配列の鎖長の最適化を行った。2本鎖部分の配列、鎖長に関して、グアニンとウラシルのリピード配列で 24 塩基対のもので高い免疫賦活化作用を示した。このことから、自己相補配列を持たないことが、2本鎖形成において重要であることが示唆された。また、2本鎖 RNA 部分と mRNA の間の gap 配列も免疫賦活化に重要であることが明らかになり、2本鎖 RNA 側鎖の局所環境が自然免疫受容体認識に重要であることが示唆された。特筆すべきことに、2本鎖 RNA と mRNA を別々に投与しても、十分な免疫賦活化作用は得られなかった。さらに、2本鎖 RNA 側鎖の本数を増やすに従って、免疫賦活化作用が増強したことから、2本鎖 RNA 側鎖数の制御により免疫賦活化作用を制御できることが明らかとなった。

(2) **自然免疫受容体の関与** 2本鎖 RNA 受容体である TLR3 や 1本鎖 RNA 受容体である TLR7 の恒常発現の有無によらず、2本側鎖 mRNA による免疫賦活化作用は同程度であった。また、細胞質内 2本鎖受容体の関与について、2本側鎖 mRNA の免疫賦活化作用は、MDA5 をノックアウトしても影響されなかった一方で、RIG-I のノックアウトにより大きく低下した。さらに、RIG-I 認識に重要な 5' トリリン酸化構造のない 2本鎖 RNA 側鎖を用いると、免疫賦活化作用が大きく低下した。以上より、2本側鎖 mRNA は、主に RIG-I に認識されることで免疫賦活化作用を示していることが示された。

(3) **樹状細胞の活性化** 2本側鎖 mRNA をマウス BMDC やヒト DC に添加したところ、CD86, CD40, MHC クラス I といった活性化マーカーの発現が、2本鎖 RNA 側鎖のない mRNA (naïve mRNA) と比べ、向上した。従って、2本側鎖 mRNA は、強い樹状細胞活性化作用を持つと言える。一方で、

ルシフェラーゼを発現する2本側鎖 mRNA を添加した際のルシフェラーゼ発現効率は、naïve mRNA の 50%程度であり、2本側鎖 mRNA は十分なタンパク質翻訳活性を維持していることが明らかとなった。なお、5' トリリン酸構造のない2本鎖 RNA 側鎖を搭載した mRNA では、ルシフェラーゼ発現効率が、naïve mRNA とほぼ同程度であった。すなわち、2本側鎖搭載による発現効率の減少は、ハイブリダイゼーションのプロセスではなく、免疫応答によるものであることが示唆された。

(4) **サイトカインパネル** 2本側鎖 mRNA をマウス BMDC に添加したところ多種多様な炎症性のサイトカイン、インターフェロン、ケモカインのタンパク質レベルでの発現が向上した一方で、免疫抑制性タンパク質の発現にはほとんど影響がなかった。

(5) **リポプレックスを用いたがんワクチン** 2本側鎖 mRNA を、BioNTech 社ががんワクチンの臨床試験に用いているリポプレックスと同様の送達キャリアに搭載し(図 2A)、マウスへ全身投与することで、ワクチン効果を検証した。このリポプレックスを構成する脂質は、免疫賦活化作用が弱く、実際、このリポプレックスに免疫賦活化作用を軽減させた塩基修飾 mRNA を搭載すると、免疫寛容が誘導されることも報告されている(*Science* 371, 145-153, (2021))。まず、ルシフェラーゼ mRNA を導入したところ、2本側鎖の搭載の有無によらず、脾臓におけるルシフェラーゼ発現量は同程度であった。また、脾臓における免疫活性化を、脾臓の CD11c 陽性細胞における活性化マーカー CD86 の発現量を指標に評価したところ、2本側鎖 mRNA 投与群で、naïve mRNA 群と比べ、より効果的な樹状細胞の活性化が観られた。ワクチン実験では、まず、モデル抗原として卵白アルブミン(OVA)を用い、OVA に対する細胞性免疫を、in vivo CTL assay にて調べた。すると、naïve mRNA を投与した時と比べ、2本側鎖 mRNA の投与により、抗原特異的な細胞性免疫が有意に向上していた。次に、OVA 発現腫瘍の皮下移植モデルを用いて、がんワクチンとしての有効性を調べた。mRNA を投与してから、腫瘍を移植する予防モデルと、腫瘍の生着を確認後、mRNA を投与する治療モデルのいずれにおいても、naïve mRNA と比べ、2本側鎖 mRNA で高い抗腫瘍活性を認めた。さらに、より臨床に即したモデルとして、悪性黒色腫(B16F10)の腫瘍関連抗原(gp100)を標的としたワクチン実験も行った。このモデルでは、gp100 に対する免疫寛容に打ち勝つワクチン効果が求められる。B16F10 の肺転移モデルマウスを用いて生存促進効果を評価したところ、naïve mRNA では未治療群と比べ生存率向上効果が得られなかった一方で、2本側鎖 mRNA を用いることで、生存率が naïve mRNA と比べ有意に向上した。なお、安全性に関して、投与後の血中サイトカインを評価したところ、2本鎖 RNA 側鎖の搭載によるサイトカイン濃度の上昇は軽微であった。さらに、サイトカイン量は投与後 24 時間以内に正常化しており、炎症反応は一過的であった。

(6) **高分子ミセルを用いたワクチン** 2本側鎖 mRNA の汎用性を検証するために、高分子ミセルを用いた投与を行った(図 2B)。これまでの報告で、高分子ミセルは、生体局所への投与にて優れた mRNA 導入効率を示していたことから(*Journal of Biomedical Materials Research Part A* 107, 978-990 (2019))、ワクチンにおいても筋肉内投与や皮内投与といった局所投与を行った。OVA mRNA を用いた評価において、いずれの投与方法においても、2本側鎖 mRNA を用いた方が、naïve mRNA を用いた場合と比べ高い mRNA 導入効率を示した。なお、安全性に関して、2本鎖 RNA 側鎖の有無によらず、高分子ミセルの局所投与では、ほとんど血中サイトカイン濃度の上昇はみられなかった。

### (7) 考察

以前、我々は、mRNA のポリ A 鎖にその相補鎖であるポリ U 鎖をハイブリダイズさせることで、mRNA に免疫賦活化作用を付与したシステムを報告していた(*Biomaterials* 150, 162-170 (2018))、図 3。今回のシステムは、以前のシステムに比べ、いくつかの重要な利点を有する。まず、図 3 のシステムでは、in vitro 転写法にてポリ U 鎖を調製していたが、この製法では、副生成物が生じ、それが免疫賦活化効果に強く影響する。今回、一部の相補鎖を化学合成に置き換え、さらに配列設計を工夫することで、副生成物の産生を最小限に留めた。さらに、化学合成を併用することで、RIG-I の基質である平滑 2本鎖 RNA 末端 5' トリリン酸構造を正確に調製することができ、短鎖でも強い免疫賦活化作用が得られた。また、以前のシステムでは、免疫賦活化作用の強度を調整することが困難であったのに対して、今回のシステムでは、2本側鎖数によりその強度を制御できる。この2本側鎖 mRNA は、がんワクチンの効果を飛躍的に向上させることができ、様々なモデルでその有用性が示された。

現在開発中の mRNA ワクチンの多くは、免疫賦活化作用を有する脂質を基盤とするものである。この場合、免疫賦活化作用と mRNA 送達機能を独立して制御できず、設計に制限がある。一方で、今回のシステムでは、mRNA に免疫賦活化作用を搭載することで、免疫賦活化作用と独立して、より柔軟に mRNA 送達キャリアを設計できる。実際に、これまでワクチンであまり用いられてこなかった高分子を用いたキャリアでも優れたワクチン効果が得られている。今後、抗原提示細胞選択的な送達や、デリバリー基剤の安全性といった他の観点に着目した設計も可能となる。このように、2本側鎖 mRNA は、mRNA ワクチン設計の幅を大きく広げることが出来る。

本研究は、RNA ナノテクノロジーを、mRNA ワクチンに応用した点でも特筆すべきである。RNA ナノテクノロジーは、RNA 機能化の優れた手法として、アプタマー、アジュバント、siRNA 等の

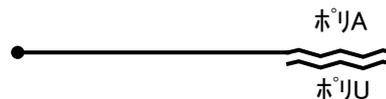


図 3. ポリ U をハイブリダイズさせた免疫賦活化 mRNA。

送達に用いられてきたが、mRNA 送達に応用した報告はほとんどなかった。これは、mRNA への修飾により mRNA からのタンパク質翻訳活性が阻害される懸念があったためである。これに対して、我々は、相補鎖長を 17 塩基に制御することで、mRNA の翻訳活性に影響することなく、mRNA の機能修飾が可能であることを見出した (*Biomaterials* 197, 255-267, (2019), 図 3)。修飾した相補鎖が細胞質内で、5' キャップ依存的翻訳により、mRNA から解離するため、翻訳活性が維持されるものと推測される (*Angew. Chem. Int. Ed.* 58, 11360-11363 (2019))。今回の 2 本側鎖 mRNA も、この技術基盤に基づいている。

今回、2 本側鎖 mRNA を用いることで、臨床に近い腫瘍関連抗原を標的としたモデルでも優れた効果が得られた。今後、免疫チェックポイント阻害剤の併用も検討することで、より実用的なシステムを構築し、臨床応用に繋げたい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 23件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 S. Abbasi, S. Uchida, K. Toh, T.A. Tockary, A. Dirisala, K. Hayashi, S. Fukushima, K. Kataoka	4. 巻 332
2. 論文標題 Co-encapsulation of Cas9 mRNA and guide RNA in polyplex micelles enables genome editing in mouse brain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Control. Release	6. 最初と最後の頁 260-268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2021.02.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Y. Fukushima, S. Uchida, H. Imai, H. Nakatomi, K. Kataoka, N. Saito, K. Itaka	4. 巻 270
2. 論文標題 Treatment of ischemic neuronal death by introducing brain-derived neurotrophic factor mRNA using polyplex nanomicelle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 120681
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2021.120681	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 N. Yoshinaga, S. Uchida, A. Dirisala, M. Naito, K. Osada, H. Cabral, K. Kataoka	4. 巻 330
2. 論文標題 mRNA loading into ATP-responsive polyplex micelles with optimal density of phenylboronate ester crosslinking to balance robustness in the biological milieu and intracellular translational efficiency	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Control. Release	6. 最初と最後の頁 317-328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2020.12.033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 A. Dirisala, S. Uchida, K. Toh, J. Li, S. Osawa, T. A. Tockary, X. Liu, S. Abbasi, K. Hayashi, Y. Mochida, S. Fukushima, H. Kinoh, K. Osada, K. Kataoka	4. 巻 6
2. 論文標題 Transient stealth coating of liver sinusoidal wall by anchoring two-armed PEG for retargeting nanomedicines	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances_	6. 最初と最後の頁 eabb8133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abb8133	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 K. Koji, N. Yoshinaga, Y. Mochida, T. Hong, T. Miyazaki, K. Kataoka, K. Osada, H. Cabral, S. Uchida	4. 巻 261
2. 論文標題 Bundling of mRNA strands inside polyion complexes improves mRNA delivery efficiency in vitro and in vivo	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 120332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2020.120332	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. Miyazaki, S. Uchida, H. Hatano, Y. Miyahara, A. Matsumoto, H. Cabral	4. 巻 140
2. 論文標題 Guanidine-phosphate interactions stabilize polyion complex micelles based on flexible cationers to improve mRNA delivery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Eur. Polym. J.	6. 最初と最後の頁 110028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.eurpolymj.2020.110028	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. Miyazaki, S. Uchida, S. Nagatoishi, K. Koji, T. Hong, S. Fukushima, K. Tsumoto, K. Ishihara, K. Kataoka, H. Cabral	4. 巻 9
2. 論文標題 Polymeric Nanocarriers with Controlled Chain Flexibility Boost mRNA Delivery In Vivo through Enhanced Structural Fastening	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Adv Healthc Mater	6. 最初と最後の頁 e2000538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adhm.202000538	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 S. Uchida, F. Perche, C. Pichon, H. Cabral	4. 巻 17
2. 論文標題 Nanomedicine-Based Approaches for mRNA Delivery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol. Pharm._	6. 最初と最後の頁 3654-3684
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00618	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 S. Uchida, K. Yanagihara, A. Matsui, K. Kataoka, K. Itaka	4. 巻 11
2. 論文標題 mRNA as a Tool for Gene Transfection in 3D Cell Culture for Future Regenerative Therapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 426
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi11040426	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 R. Ueki, S. Uchida, N. Kanda, N. Yamada, A. Ueki, M. Akiyama, K. Toh, H. Cabral, S. Sando	4. 巻 6
2. 論文標題 A chemically unmodified agonistic DNA with growth factor functionality for in vivo therapeutic application	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaay2801
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aay2801	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 B. S. Kim, S. Osawa, M. Naito, S. Ogura, R. Kamegawa, H. Ishida, H. J. Kim, S. Uchida, K. Miyata	4. 巻 3
2. 論文標題 A 50-nm-Sized Micellar Assembly of Thermoresponsive Polymer-Antisense Oligonucleotide Conjugates for Enhanced Gene Knockdown in Lung Cancer by Intratracheal Administration.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Advanced Therapeutics	6. 最初と最後の頁 1900123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adtp.201900123	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. A. Tockary, W. Foo, A. Dirisala, Q. Chen, S. Uchida, S. Osawa, Y. Mochida, X. Liu, H. Kinoh, H. Cabral, K. Osada, K. Kataoka	4. 巻 13
2. 論文標題 Single-stranded DNA-packaged polyplex micelle as adeno-associated-virus-inspired compact vector to systemically target stroma-rich pancreatic cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 12732-12742
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.9b04676	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 S. T. Crowley, Y. Fukushima, S. Uchida, K. Kataoka, K. Itaka	4. 巻 17
2. 論文標題 Enhancement of motor function 1 recovery after spinal cord injury in mice by delivery of brain derived neurotrophic factor mRNA.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol. Ther. Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 465-476
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtn.2019.06.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 N. Yoshinaga, E. Cho, K. Koji, Y. Mochida, M. Naito, K. Osada, K. Kataoka, H. Cabral, S. Uchida	4. 巻 58
2. 論文標題 Bundling mRNA strands to prepare nano-assemblies with enhanced stability towards RNase for in vivo delivery.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed.	6. 最初と最後の頁 11360-11363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201905203	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 S. Watanabe, K. Hayashi, K. Toh, H. J. Kim, X. Liu, H. Chaya, S. Fukushima, K. Katsushima, Y. Kondo, S. Uchida, S. Ogura, T. Nomoto, H. Takemoto, H. Cabral, H. Kinoh, H. Tanaka, M. R. Kano, Y. Matsumoto, H. Fukuhara, S. Uchida, M. Nangaku, K. Osada, N. Nishiyama, K. Miyata, K. Kataoka	4. 巻 10
2. 論文標題 In vivo rendezvous of small nucleic acid drugs with charge-matched block cationomers to target cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nat. Commun.	6. 最初と最後の頁 1894
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-09856-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 S. Kurimoto, N. Yoshinaga, K. Igarashi, Y. Matsumoto, H. Cabral, S. Uchida	4. 巻 24
2. 論文標題 PEG-oligoRNA hybridization of mRNA for developing sterically stable lipid nanoparticles toward in vivo administration.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules24071303	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 C. -Y. Lin, S. T. Crowley, S. Uchida, Y. Komaki, K. Kataoka, K. Itaka	4. 巻 16
2. 論文標題 Treatment of intervertebral disk disease by administration of messenger RNA encoding a cartilage-anabolic transcription factor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol. Ther. Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 162-171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtn.2019.02.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 C. -Y. Lin, S. T. Crowley, S. Uchida, Y. Komaki, K. Kataoka, K. Itaka	4. 巻 16
2. 論文標題 Treatment of intervertebral disk disease by administration of messenger RNA encoding a cartilage-anabolic transcription factor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol. Ther. Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 162-171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtn.2019.02.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 S. Uchida, K. Kataoka	4. 巻 107
2. 論文標題 Design concepts of polyplex micelles for in vivo therapeutic delivery of plasmid DNA and messenger RNA.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Biomed. Mater. Res. A	6. 最初と最後の頁 978-990
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.a.36614	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 A. Dirisala, S. Uchida, T. A. Tockary, N. Yoshinaga, J. Li, S. Osawa, L. Gorantla, S. Fukushima, K. Osada, K. Kataoka	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Precise tuning of disulfide crosslinking in mRNA polyplex micelles for optimizing extracellular and intracellular nuclease tolerability.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Drug Target.	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/1061186X.2018.1550646	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 M. Naito, Y. Otsu, R. Kamegawa, K. Hayashi, S. Uchida, H. -J. Kim, K. Miyata	4. 巻 20
2. 論文標題 Tunable non-enzymatic degradability of N-substituted polyaspartamide main chain by amine protonation and alkyl spacer length in side chains for enhanced messenger RNA transfection efficiency.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci. Technol. Adv. Mater.	6. 最初と最後の頁 105-115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14686996.2019.1569818	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 N. Yoshinaga, S. Uchida, M. Naito, K. Osada, H. Cabral, K. Kataoka	4. 巻 197
2. 論文標題 Induced packaging of mRNA into polyplex micelles by regulated hybridization with a small number of cholesteryl RNA oligonucleotides directed enhanced in vivo transfection.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 255-267
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2019.01.023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 A. Matsui, S. Uchida, A. Hayashi, K. Kataoka, K. Itaka	4. 巻 285
2. 論文標題 Prolonged engraftment of transplanted hepatocytes in the liver by transient pro-survival factor supplementation using ex vivo mRNA transfection.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Control. Release	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2018.06.033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 内田 智士
2. 発表標題 メッセンジャーRNAのCOVID-19ワクチンへの応用とその後の展望
3. 学会等名 2020年度 医療産業イノベーションフォーラム, (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内田 智士
2. 発表標題 新型コロナウイルスや未来のパンデミックに対するmRNAナノワクチンの開発
3. 学会等名 第7回COINSシンポジウム ~小さく寄り添い大きく守る、未来の医療はすぐそこに~ (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内田 智士
2. 発表標題 RNAオリゴマーを用いたmRNA修飾法の開発とmRNA送達、ワクチンへの展開
3. 学会等名 核酸医薬シンポジウム2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 S. Uchida, K. Koji, N. Yoshinaga, Y. Mochida, T. Hong, H. Cabral
2. 発表標題 mRNA bundling inside polyion complexes for their physical and biological stabilization
3. 学会等名 8th International mRNA Health Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 S. Uchida
2. 発表標題 mRNA nanomachine for treating rare genetic disorders
3. 学会等名 India-Japan Webinar on "Rare Genetic Disorders" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内田 智士
2. 発表標題 RNA構造に着目したメッセンジャーRNA 医薬の機能化
3. 学会等名 第69回 高分子討論会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内田 智士
2. 発表標題 DNA、mRNAのex vivo導入による細胞治療の効果向上
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 S. Uchida, N. Yoshinaga, E. Cho, K. Koji, K. Kataoka, H. Cabral
2. 発表標題 Preparation of nanoassemblies from several mRNA strands for enhancing nuclease stability.
3. 学会等名 International Symposium on Biomedical Materials for Drug/Gene Delivery (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 S. Uchida
2. 発表標題 Development of mRNA polyplex micelles through engineering polymers and mRNA for in vivo therapeutic applications
3. 学会等名 IBS CNM Seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 S. Uchida, N. Yoshinaga, H. Cabral, K. Kataoka
2. 発表標題 Stabilization of mRNA polyplex micelles for in vivo delivery by engineering mRNA
3. 学会等名 2nd G' L'owing Polymer Symposium in KANTO
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内田 智士、吉永 直人、趙 オル、小路 恭子、長田 健介、片岡 一則、Horacio Cabral
2. 発表標題 複数のmRNA鎖を束ねることで生体内酵素分解を抑制させたmRNAナノ集合体の開発
3. 学会等名 第41回バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Uchida
2. 発表標題 Nanoengineering mRNA through short RNA hybridization for biomedical application
3. 学会等名 1st Thailand-Australia-Japan Joint Research Meeting on Nanomedicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内田 智士、吉永 直人、趙 オル、小路 恭子、長田 健介、片岡 一則、Horacio Cabral
2. 発表標題 複数のmRNA鎖を束ねたナノ集合体の開発と生体内投与
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第5回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内田 智士、吉永 直人、趙 オル、小路 恭子、長田 健介、片岡 一則、Horacio Cabral
2. 発表標題 複数のmRNA鎖からなるナノ集合体を用いたmRNA安定化とその生体内投与
3. 学会等名 第35回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Uchida, N. Yoshinaga, H. Cabral, K. Kataoka
2. 発表標題 Hybridization of mRNA with a small number of short cholesteryl RNA oligonucleotides for tight mRNA packaging to polyplex micelles.
3. 学会等名 19th Smposium for gene design and delivery (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内田 智士、吉永 直人、長田 健介、位高 啓史、Horacio Cabral、片岡 一則
2. 発表標題 コレステロール修飾相補鎖RNAを用いたmRNA搭載高分子ミセル安定化
3. 学会等名 第40回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内田 智士、位高 啓史、片岡 一則
2. 発表標題 免疫賦活化アジュバント機能一体型 2本鎖mRNAワクチン
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第4回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内田 智士
2. 発表標題 高分子ミセルを用いた メッセンジャー(m)RNA医薬の送達と 疾患治療への展開
3. 学会等名 第34回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Satoshi Uchida, Keiji Itaka, Kazunori Kataoka
2. 発表標題 Therapeutic application of mRNA delivery using polyplex micelles
3. 学会等名 Finland-Japan Workshop: The next generation medical engineering in biomaterials (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Satoshi Uchida, Keiji Itaka, Kazunori Kataoka
2. 発表標題 Incorporation of Immunostimulatory Property to Messenger RNA Molecule by Hybridizing RNA to Poly A Sequence for Effective Vaccination
3. 学会等名 21st annual meeting ASGCT (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 ゲノム編集用ミセル	発明者 1. 片岡 一則, 内田 智士, アッバシ サエ ド	権利者 川崎市産業振興 財団
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-113434	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 mRNA送達用キャリアおよびこれを含む組成物	発明者 片岡 一則, 内田 智 士, アンジャネユル ディリサラ	権利者 川崎市産業振興 財団
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/032943	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

ホームページ  
<https://kpu-m.medchem.jp/uchida.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	弓場 英司  (Yuba Eiji)  (80582296)	大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授    (24403)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------