P-13

物質・材料

自己集合現象を利用したリポソームの表面改質

TECHNOLOGY SHOWCASE

■ はじめに

リポソームは細胞膜と同じ構造を持つリン脂質小胞体であり、細胞膜モデルとして用いられている。また、mRNAや薬剤をカプセル化できるためキャリアに使用されている。しかし、リポソームは免疫系により認識されるため、体内から速やかに除去されてしまう。そこでポリエチレングリコール(PEG)結合脂質により、リポソームの表面を修飾することで、免疫系からの回避が検討されている。新型コロナウイルスに対するmRNAワクチンにもこの技術は使用されているが、PEG修飾リポソームの投与により補体系が活性化され、抗PEG抗体が産生される。そのため、2回目以降に投与されたPEG修飾リポソームは血中滞在性が低下し、アナフィラキシー反応や肝障害を引き起こすことが懸念されている。本研究では、PEGの代替材料として、細胞膜と同じ構造を持つポリ(2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC))(PMPC)を用いたリポソーム表面修飾剤の合成と自己集合現象によるリポソーム表面への導入を目指した(Fig. 1)。

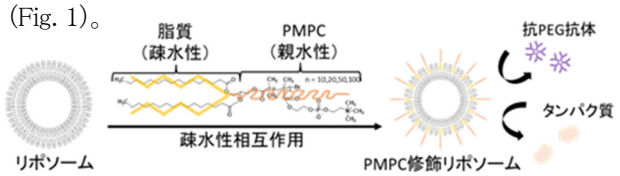

Fig. 1 Chemical structure of PMPC-lipid and surface modification of liposome

■ 実験

1. PMPC脂質の合成及び評価

2本のパルミトイル基を有する脂質から原子移動ラジカル重合(ATRP)開始剤を合成し、末端にMPCを重合させ、MPCの重合度が10, 20, 50, 100のPMPC脂質の合成を行った。合成したPMPC脂質をゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)、^{1}H-NMRを用いて分子量、分子量分布の測定を行った。また、臨界ミセル濃度(CMC)、ミセルの粒径及び表面電位の測定を行った。

2. PMPC修飾リポソームの作製及び評価

1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine(DPPC)とコレステロール(モル比1/1)のリポソームを作製し、PMPC脂質を外部添加することで、リポソームの表面修飾を行った。PMPC脂質の重合度が導入量に与える影響と修飾の安定性をリン定量により解析した。また、粒径、PDI及び表面電位の測定、PMPC修飾リポソームとタンパク質、抗PEG抗体との相互作用を解析した。

■ 結果・考察

1. PMPC脂質の合成及び評価

GPCと^{1}H-NMR測定より、理論値に近い重合度10、20、50、100のPMPC脂質の合成が確認できた。また、PMPC脂質はCMCを有し、両親媒性であることが示された。DLSによるミセルの粒径及び表面電位測定では、PMPCの重合度の増加に伴いミセル径が増大し、表面電位は0mVに近づくことから、PMPC鎖による遮蔽効果が示された(Table 1)。

Table 1 Characterization of PMPC-lipid

PMPC-lipid	Mw (Theoretical value)	Mw (Measured value)	Degree of polymerization	Mw/Mn	CMC [mg/mL]	Micelle diameter[a] [nm]	PDI [-]	Zeta potential [mV]
MPC10	3.7×10^3	4.3×10^3	12	1.2	3.5×10^{-3}	5.2 ± 0.8	0.99 ± 0.02	-12.0 ± 1.2
MPC20	6.6×10^3	7.8×10^3	24	1.2	3.5×10^{-2}	7.9 ± 1.4	0.83 ± 0.08	-6.8 ± 1.6
MPC50	1.5×10^4	1.6×10^4	52	1.3	2.5×10^{-1}	8.9 ± 0.9	0.75 ± 0.04	-5.4 ± 1.6
MPC100	3.0×10^4	2.9×10^4	94	1.3	4.5×10^{-1}	13.0 ± 1.7	0.50 ± 0.08	-3.8 ± 0.4

2. PMPC修飾リポソームの作製及び評価

PMPC脂質をリポソームに外部添加することで、リポソームの表面修飾を試みた。PMPC脂質は重合度が小さいほどリポソーム表面に導入されやすいことが分かった(Fig. 2)。PMPC修飾リポソームの粒径、PDI及び表面電位測定から、PMPC脂質で修飾することにより、重合度の増加に伴う粒径の増大、分散の安定化、表面電位は0mVに近づくことを示した。これより、リポソーム表面にPMPC脂質の修飾が示された。14日間による安定性評価では、PMPC脂質はリポソームから徐々に脱離し、14日後には20%の脱離が確認されたが、高い分散安定性を示し、PMPCの重合度によらず、長期にわたる遮蔽効果を示した。また、PMPC修飾リポソームはタンパク質の吸着を抑制し、抗PEG抗体には認識されないことが分かった。よって、PMPC脂質はPEG脂質の代替材料として有用であることが示された。

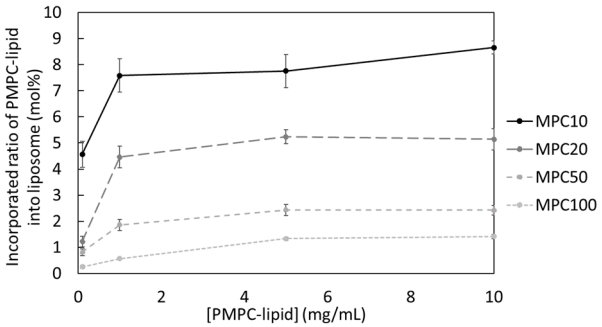

Fig. 2 Relationship between incorporated PMPC-lipid ratio into liposomes and adding concentration

代表発表者 **鈴木 遥奈(すずき はるな)**
所 属 **芝浦工業大学大学院**
理工学研究科 システム理工学専攻
国立研究開発法人 産業技術総合研究所
生命工学領域 細胞分子工学研究部門
分子機能応用研究グループ
問合せ先 **〒305-8565 茨城県つくば市東1-1-1**
TEL:029-861-6373 FAX:029-861-6278
E-mail:y.teramura@aist.go.jp

■キーワード: (1)表面修飾
(2)リポソーム
(3)DDS

■共同研究者:
(1)寺村 裕治 産業技術総合研究所
(2)石原 一彦 大阪大学
(3)中村 奈緒子 芝浦工業大学