

mRNA 創薬の現状と今後の展望

位高 啓史*1, *2

Current Status and Future Prospects of mRNA Therapeutics

Keiji ITAKA *1, *2

1. はじめに

本誌で mRNA 医薬・ワクチンについての連載が組まれてから約5年が経過した。その間、mRNA 創薬を取り巻く環境は激変した。5年前の原稿でも既に感染症ワクチン、がんワクチンなど10を超えるパイプラインが記載され、Moderna, BioNTechなどがそのトップランナーであった¹⁾。しかし、当時日本で Moderna というベンチャー企業の名前を知っている人はどの程度いたのだろうか？ 核酸医薬などに関連する製薬企業、遺伝子デリバリーを中心とする DDS 研究者には多少なりとも知られ、また細胞生物学研究者には、Moore 先生の名前などを通して馴染みだったかもしれない。Moderna は2018年12月にナスダックに上場しているのだから、それ以降は比較的知られるようになっていたかもしれない。しかし、いわゆる一般の方で Moderna の名前を知る人など、ほとんど皆無であったことは断言できる。

それが、今では小学生でも知っている割合は多いであろう。コロナウイルスワクチン接種後の副反応の記憶と結びついた名前になっているくらいがあるのは少々残念なことであるが、mRNA という新しい創薬モダリティが広く知られるようになった象徴

的な会社名であることは、誰も否定しないであろう。また、Modernaに限らず、mRNAに関係する企業、研究者は急増しており、このわずか5年弱の間の社会全体の mRNA を取り巻く状況の変化には驚くばかりである。

2. mRNA 創薬における技術開発の現状と今後の展望

創薬モダリティとしての mRNA の特徴は、mRNA という物質自体が薬理効果を持つわけではなく、そこから翻訳されるタンパク質がワクチンとして働いたり、種々の治療効果を発揮するという点にある。したがって、最終的にその薬効を決める因子は、mRNA によってコードされるタンパク質であり、投与の目的に対して、如何に最適なタンパク質配列を決定するかという点が最も重要となる。

しかし、語弊を恐れずに言えば、現状はその前の段階、すなわち mRNA 自体の設計や製造技術の開発、またそれを安全で効率的に送達するための DDS が研究テーマの中心である。製薬企業や化学企業のビジネスも、これらの技術における差別化が目的となっているものが多い。

*1 東京医科歯科大学生体材料工学研究所 東京都千代田区神田駿河台2-3-10 (〒101-0062)
Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University, 2-3-10 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan

*2 大阪大学感染症総合教育研究拠点 (CiDER) 大阪府吹田市山田丘2-8 (〒565-0871)
Center for Infectious Disease Education and Research (CiDER), Osaka University, 2-8 Yamadaoka, Suita City, Osaka 565-0871, Japan

2.1 mRNA分子設計・製造

研究室レベルで *in vitro* 転写 (IVT) により mRNA を作成する方法は、ほぼ確立している。ただ、依然コスト面では課題が残り、同量の DNA を作成するのとは比べて、ざっくり約10倍のコストがかかるイメージである。創薬インダストリーとしては、製薬企業がすべて内製するのではなく、現在のオリゴ核酸合成などと同様に、CDMO (Contract Development and Manufacturing Organization) が中心となる可能性も高い。わが国でも現在、ARCALIS、タカラバイオ、エリクサジェンなどがCDMOビジネスを開始している。

mRNA分子設計を改変する目的は、mRNAからのタンパク質翻訳効率の向上、持続化、及び免疫原性の制御と考えられる。前二者については、cap構造、UTR配列、コドン最適化、poly (A) を含めた立体構造制御など、研究例も急増しており、とても本稿で全てを紹介しきれない。

ただ、この分野での注目の一つは、mRNAを環状化して、細胞質内でのmRNAの安定化、翻訳の持続化 (rolling circle translation) を図る技術である²⁾。複数の研究室から、種々の手法による環状RNA作成、従来の一本鎖RNAに比べて翻訳の効率化・持続化の報告がなされている。ただ、作成技術が容易ではないこと、翻訳開始点にIRES (internal ribosome entry site) を用いる必要があるが、通常のcap依存的なタンパク質翻訳に比べて効率は低いとの問題点は残る。またrolling circle translationでは、原理的には生成されるタンパク質が全て繋がってしまうが、これを切り離す技術が別に必要となる。

mRNAからのタンパク質翻訳効率向上・持続化を目指すもう一つの注目技術は、自己複製型RNA (Self-amplifying RNA ; saRNA) がある^{3, 4)}。これは、通常のワクチンや治療を目的とするタンパク質をコードするmRNAに、一本鎖RNAウイルスであるアルファウイルスのレプリコン遺伝子配列を挿入したもので、投与したmRNAが細胞質内で更に複製され、持続的な翻訳に働くというものである。既に欧米及び日本でも、このsaRNAを用いたコロナウイルスワクチンの臨床試験が進められている⁵⁾。投与されたRNAが更に細胞内で複製されるので、最初の投与量を大きく減らすことができ、タンパク

質生成の持続化も期待できる技術であるが、自己複製に関わる安全面が課題となる。BioNTechはこのアルファウイルス由来配列を含むmRNAと、ワクチンや治療を目的とするmRNAを別々に作成し、後者のみが複製されるようにすることによって安全性を高めるという工夫を加えている (Trans-amplifying mRNA)⁶⁾。

またmRNAの持つ免疫原性の制御も依然課題である。Kariko先生の研究で有名なシュードウリジンは⁷⁾、その派生体がModerna及びPfizerのコロナウイルスワクチンに用いられた。現在もmRNA創薬における代表的な修飾核酸であると言えるが、一方、特許の問題もあり、多くの企業で他の修飾核酸も広く用いられるなど、シュードウリジンがonly oneという存在では決してない。上記のsaRNAでは、RNA分子自体は天然型であることなどを含めて、核酸修飾の意義について再検討する必要があるかもしれない。

一方、次世代のmRNA創薬に向けて、mRNAを機能化する試みも始まっている。DNAでは臓器特異的プロモーターによる転写制御などの仕組みがあるが、mRNAでは制御可能なのは翻訳の段階に限られる。この翻訳制御のため、特定の低分子化合物に応答するタンパク質などを用いた人工翻訳制御因子が開発されており、これを用いることによって、低分子化合物や光照射などによって外部から投与されたmRNAの翻訳を制御することが可能となっている^{8, 9)}。また、細胞内の特定のタンパク質の有無によって、翻訳を制御する人工翻訳制御因子も開発されている (Fig. 1)¹⁰⁾。このシステムのポイントは、翻訳制御因子などのタンパク質も全てmRNAの形で投与することが可能であることで、例えばウイルス感染細胞、がん細胞などに選択的にmRNAを作用させる、細胞の分化や増殖の状態に応じて翻訳制御するなど、多くの応用が考えられる。mRNAのモダリティ自体にDDS的な機能を持たせるシステムとも言える。

2.2 DDS

mRNAを標的とする細胞に安全で効率的に送達するために、DDSの果たす役割は重要である。現在mRNAワクチンに用いられるDDSは、ほぼリポ脂質ナノ粒子 (LNP) 一択である^{11, 12)}。これは細胞

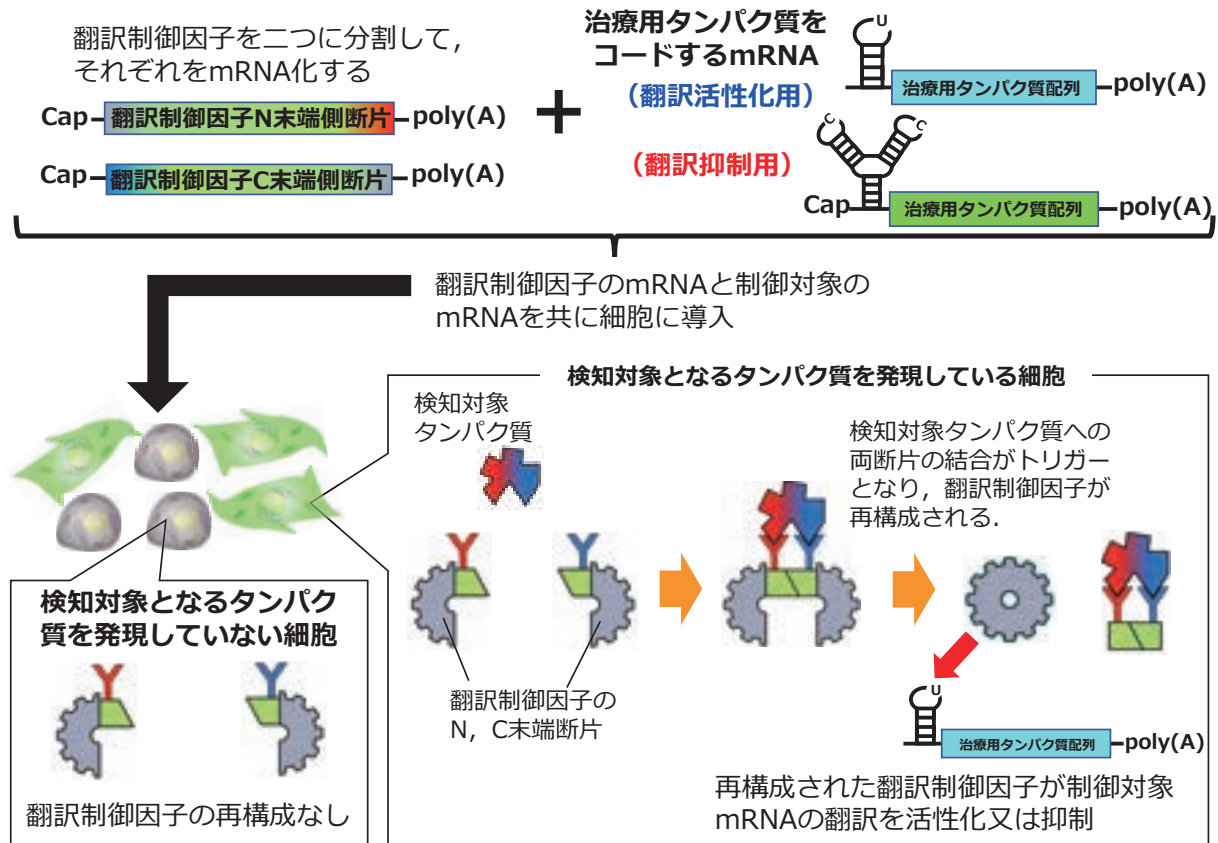


Fig. 1 投与mRNAからのタンパク質翻訳制御システム (文献10より)

膜(脂質二重膜)成分である脂質を主材料とし、種々の機能化分子を配合したキャリアである。本特集では秋田先生方の稿もあるのでここでは詳述しないが、LNPは現在多くの研究室・企業により種々の組成のものが開発されており、特に製薬企業の特許化戦略の重要なパーツの一つである。最も重要な成分である荷電脂質は、3級アミンを含む分枝状構造でほぼ共通しており、LNP投与後の迅速なエンドソームからの脱出、mRNA放出などに寄与しているものと考えられる¹²⁾。

mRNAワクチンにLNPが用いられる理由として、脂質の持つ免疫誘導能を利用して、LNP自体がアジュバントとして機能していることも重要なポイントである。実際、現在実用化されているコロナウイルスワクチンでも、特に一般的なアジュバントは含まれておらず、LNPがその役割を果たしている。ただ、その詳細な免疫学的メカニズムはまだ解明されていない点も多く、LNPによるIL-6やIL-1シグナルの活性化が重要との報告がある一方^{13, 14)}、内包されたmRNAによるMDA5シグナル活性化の

報告など¹⁵⁾、まだ諸説飛び交う状況である。コロナウイルスワクチンでは接種後の副反応が問題となっているが、これを抑制したワクチン開発に向けても、このメカニズム解明は重要な課題として残る。

一方、mRNAを疾患治療用途に用いる場合、投与部位に炎症を起こすことはほとんどの場合不都合と考えられ、ワクチン用のLNP/mRNAキャリアをそのまま応用することは難しい。高分子をベースとしたキャリアでは、この投与部位での炎症は抑制され、安全にmRNAを標的細胞で発現させることに加え、反復投与も容易となる。これについては、追って次項の疾患治療の欄で触れる。

3. mRNAを用いたワクチン・疾患治療

mRNAは原理的にどのようなタンパク質をコードすることも可能で、感染症ワクチン、がんワクチン、疾患・外傷治療等への応用は幅広い。そこでは、mRNAによって投与するタンパク質、すなわち何を何に対して投与するかという医学的情報が鍵

を握る。例えば、コロナウイルスワクチンでは、その迅速な開発の背景には、SARS、MARSなどの近縁コロナウイルスに対するワクチン開発の経験・知見があったことは知られている¹⁶⁾。言い換えると、mRNAがあればすぐワクチン開発ができるわけではなく、ウイルス感染症に関わる医学・生物学研究の蓄積が重要である。

mRNA創薬の特徴として、基礎的な医学・分子生物学研究で得られた知見、例えば新たなシグナル分子の情報が得られたとき、これはそのままクスリとなり得る。低分子化合物ライブラリからのスクリーニングプロセスを行うことなく、知見がそのままクスリに結びつくという意味で、創薬のあり方を根本的に変える可能性を秘める。

現在、mRNA創薬としては、感染症ワクチン、がんワクチン、治療用mRNA医薬の三つの方向性に大別される。いずれも、投与したmRNAにコードされたタンパク質を体内で産生させ、ワクチンや治療に働かせるという意味ではメカニズムは共通であるが、それぞれに適したmRNA分子設計やDDSの条件等は当然異なってくる。

3.1 感染症ワクチン

mRNAはコロナウイルスワクチンとして初めて実用化されたように、感染症ワクチンはmRNA創薬の代表的な応用分野である。mRNAワクチンの特徴として、仮にある感染症に対して有効性の高いワクチンフォーマットが確立すれば、そのmRNAの塩基配列を変えるだけで、そのまま他の感染症ワクチンとしても有効に働く可能性が高いということで、100日ミッション（WHOが緊急事態を宣言してから100日以内に危機対応医薬品等の実用化を達成しようという国際的な目標）にも対応しうる、最適なワクチンモダリティの一つと考えられる。また、世界的には新規変異ウイルスによる感染症は小規模なものを含めると頻発しているが、ワクチン開発は相対的に製薬企業にとって収益が上がらないことが多く、実際にワクチン開発に至る事例は少ない。しかし、mRNAを用いることによって、開発期間・コストを大幅に減らすことが可能で、従来は対象とならなかった地域感染症などに対するワクチン開発も可能となることが期待される。

一方、mRNAワクチンの課題として最も重要な

ものは、わが国でも昨今問題となった副反応・安全性の問題であろう。先述のLNPを含めた免疫誘導機序についてもまだ圧倒的に知見が少なく、副反応の少ないmRNAワクチン改良に向けては、今後大いに研究開発の余地がある。

また、パンデミックに備えた備蓄の問題も重要である。mRNAは不安定な物質であることから、長期の備蓄には不向きと言わざるを得ない。むしろmRNAはウイルス変異に対して臨機応変に設計を変更可能であることが特長でもあり、ワクチン備蓄という概念とフィットしない可能性もあり、公衆衛生的な観点からも議論が必要と考えられる。

3.2 がんワクチン

がんワクチンとは、がんの遺伝子変異に伴って細胞表面に提示される変異抗原（ネオ抗原）を標的として設計されるもので、免疫チェックポイント阻害薬などとの併用でがんの免疫療法を行うものである。患者さんごとに異なる変異抗原に対して、それぞれ最適なワクチンを設計する「個別化医療」を実現する手法として注目される。実際、コロナ禍以前には、mRNA創薬の最も有力な応用はこのがんワクチンと目されていた¹⁷⁾。

現在、世界的には10あまりのパイプラインが走り、感染症ワクチンに比べると相当に数は少ないが、その理由として、コロナ禍期間中、各社ともリソースを全面的にコロナウイルスワクチン開発に振り向けていたとの事情もあると考えられる。しかし、2022年12月にModernaからKeytruda（メルク社の免疫チェックポイント阻害薬）との併用による臨床試験成績（メラノーマに対する個別化mRNAワクチン）のプレスリリース、またBioNTechからも膵臓がんに対する個別化ネオ抗原ワクチンの臨床試験がNature誌に報告されるなど¹⁸⁾、いよいよがんワクチン開発も本番である。

3.3 疾患治療用mRNA医薬

先述のようにmRNAはどのようなタンパク質でも投与できるので、その疾患治療への可能性は幅広い。従来AAVなどウイルスベクターを用いて進められていた「遺伝子治療」を、mRNA投与に置き換える試みも多く始まっている¹⁹⁾。ウイルスベクターと比べたmRNAのメリットは、反復投与が可能、

ゲノム挿入変異リスクが少ないなど、安全性にポイントがある。一方、ワクチンと異なり、LNPを用いてmRNAを全身投与すると肝臓への集積性が高いことが問題となる。またワクチンと異なり、LNPの起炎性も制御が必要である。

作用機序の面からは、細胞外に分泌される成長因子・栄養因子などをmRNAを用いて投与するもの、シグナルタンパク質など細胞内で作用する因子の投与を行うものの2種に大別されるであろう。

前者で従来の遺伝子治療の適応と異なる、mRNAならではのユニークな創薬パイプラインとして、血管内皮増殖因子（VEGF）をコードするmRNA投与による虚血性心疾患治療が挙げられる²⁰。ここでは、mRNAはキャリアを用いないnaked mRNAの形で心筋に直接投与されており、現在臨床試験第2相である²¹。VEGF自体は既知の成長因子で、リコンビナントタンパク質での投与は過去にも多くの研究開発が行われたが、タンパク質自体の作用時間は短く、また投与直後は過剰に高濃度となりやすいなど、制御が難しい。

一方、mRNAを用いることによって、ある程度持続的にタンパク質発現させることができる。同様の分泌因子を用いた試みとして、自験例ながら、脳由来神経栄養因子（BDNF）のmRNAを用いた脳虚

血性疾患治療も報告されている²²。やはりBDNFも高い神経保護効果を持つ一方、生体内での作用時間が非常に短く、タンパク質での投与は困難であった。mRNAを用いることによって、神経細胞を取り囲むグリア細胞に効率よく取り込ませ、そこからBDNFタンパク質が一定時間分泌されることにより、虚血後の神経細胞死を防ぐことができる。

これらの治療において、投与量が過剰となることが最も大きなリスクであり、その点mRNAは適度な持続時間となるようなmRNA及びDDSの設計、並びに必要な応じた反復投与を行うことで制御可能と考えられる。また、生体内の細胞がタンパク質を分泌するので、より生理的な作用機序となることが期待される。このような分泌因子の投与としては、IL-12などサイトカイン投与によるがん治療²³、遺伝性疾患に対するタンパク補充療法などにおいても、多くの臨床試験が進められている²⁴。

一方、mRNAを用いた細胞内因子タンパク質の投与は更に次の世代の創薬と言えるが、これも自験例ながら、軟骨誘導性転写因子Runx1 mRNAの関節内投与による、関節軟骨の変性抑制・再生治療が試みられており、現在前臨床試験中である（Fig. 2）²⁵。この治療を実現する技術的ポイントの一つが、ほとんど炎症を起こさず標的細胞にmRNAを

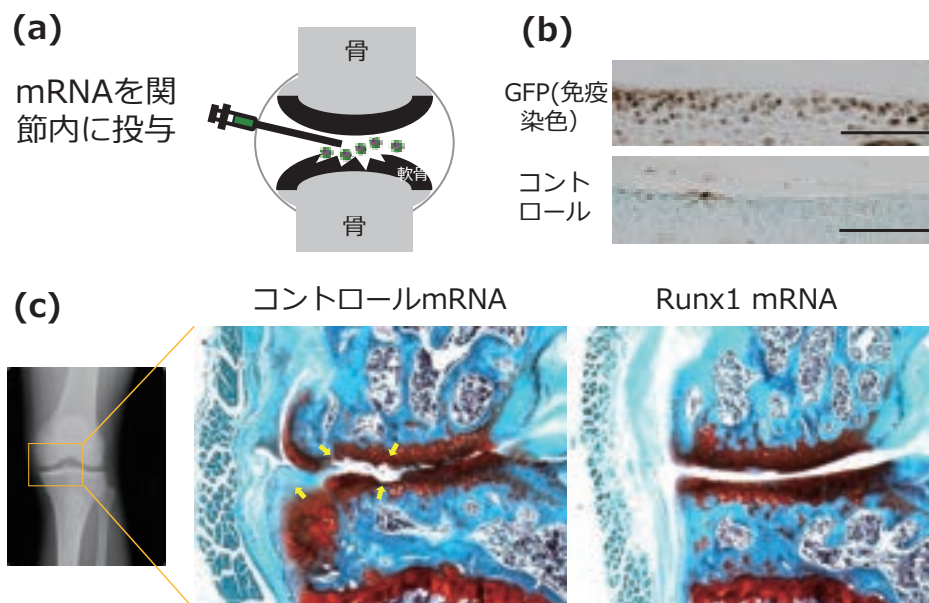


Fig. 2 mRNA関節内投与による変形性関節症治療

(a) mRNAをナノミセル型キャリアに内包して関節内投与。(b) GFP mRNA投与後の軟骨組織。軟骨細胞に広く発現が観察される。(c) モデル動物に対する軟骨誘導性転写因子（Runx1）発現mRNAの投与。Runx1 mRNAによって軟骨変性が抑制される。（文献25より）

導入可能なDDSであるナノミセル型キャリアで、軟骨内の細胞に広くmRNAを導入することができると^{26, 27)}。この方向でのmRNAを用いた治療のゴールは、生体内でのdirect reprogrammingやゲノム編集への応用であろう。実際後者については、標的遺伝子のガイドRNA、Cas9のmRNAをLNPに同梱し、肝へ投与した臨床試験で、良好な治療効果が報告され、mRNAを用いたゲノム編集治療が現実となりつつある²⁸⁾。mRNAからのタンパク質発現は一過性かつ制御可能であり、適切なDDSを組み合わせることにより、体内で細胞を直接制御するという目的には最も適したモダリティとなる可能性がある。

4. 終わりに

本稿のタイトルである「現状」として、現時点(2023年5月)で実用化されているmRNAは、まだ各種のコロナウイルスワクチンのみである。しかし、製薬企業、ベンチャー企業で開発が進められるパイプラインは現在、世界で80を越える。更にmRNA創薬に関わる学術論文数の増加は数え切れない。コロナ禍の終息が見え始めたこのタイミングで、改めて本誌でmRNA創薬の特集が組まれるのは大変意義深いことで、改めてmRNA創薬の本当の意義・価値を改めて理解し、再認識することのきっかけになればと願う。

文献

- 1) 位高啓史, 秋永士朗, 井上貴雄. mRNA医薬開発の世界の動向. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2019, **50**, p.242-249.
- 2) Wesselhoeft, R.A.; Kowalski, P.S. and Anderson, D.G. Engineering circular RNA for potent and stable translation in eukaryotic cells. *Nat Commun.* 2018, **9**, 2629.
- 3) Geall, A.J.; Verma, A.; Otten, G.R.; Shaw, C.A.; Hekele, A., *et al.* Nonviral delivery of self-amplifying RNA vaccines. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012, **109**, p.14604-14609.
- 4) Bloom, K.; van den Berg, F.; and Arbuthnot, P. Self-amplifying RNA vaccines for infectious diseases. *Gene Ther.* 2021, **28**, p.117-129.
- 5) de Alwis, R.; Gan, E.S.; Chen, S.; Leong, Y.S.; Tan, H.C., *et al.* A single dose of self-transcribing and replicating RNA-based SARS-CoV-2 vaccine produces protective adaptive immunity in mice. *Mol Ther.* 2021, **29**, p.1970-1983.
- 6) Beissert, T.; Perkovic, M.; Vogel, A.; Erbar, S.; Walzer, K.C., *et al.* A Trans-amplifying RNA Vaccine Strategy for Induction of Potent Protective Immunity. *Mol Ther.* 2020, **28**, p.119-128.
- 7) Kariko, K.; Buckstein, M.; Ni, H. and Weissman, D. Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity.* 2005, **23**, p.165-175.
- 8) Nakanishi, H. and Saito, H. Caliciviral protein-based artificial translational activator for mammalian gene circuits with RNA-only delivery. *Nat Commun.* 2020, **11**, 1297.
- 9) Nakanishi, H.; Yoshii, T.; Kawasaki, S.; Hayashi, K.; Tsutsui, K., *et al.* Light-controllable RNA-protein devices for translational regulation of synthetic mRNAs in mammalian cells. *Cell Chem Biol.* 2021, **28**, p.662-674. e5.
- 10) Nakanishi, H.; Saito, H. and Itaka, K. Versatile Design of Intracellular Protein-Responsive Translational Regulation System for Synthetic mRNA. *ACS Synth Biol.* 2022, **11**, p.1077-1085.
- 11) Verbeke, R.; Lentacker, I.; De Smedt, S.C. and Dewitte, H. Three decades of messenger RNA vaccine development. *Nano Today.* 2019, **28**, 100766.
- 12) Han, X.; Zhang, H.; Butowska, K.; Swingle, K.L.; Alameh, M.G., *et al.* An ionizable lipid toolbox for RNA delivery. *Nat Commun.* 2021, **12**, 7233.
- 13) Alameh, M.G.; Tombacz, I.; Bettini, E.; Lederer, K.; Sittplangkoon, C., *et al.* Lipid nanoparticles enhance the efficacy of mRNA and protein subunit vaccines by inducing robust T follicular helper cell and humoral responses. *Immunity.* 2021, **54**, p.2877-2892. e7.
- 14) Tahtinen, S.; Tong, A.J.; Himmels, P.; Oh, J.; Palermartinez, A., *et al.* IL-1 and IL-1ra are key regulators of the inflammatory response to RNA vaccines. *Nat Immunol.* 2022, **23**, p.532-542.
- 15) Li, C.; Lee, A.; Grigoryan, L.; Arunachalam, P.S.; Scott, MKD., *et al.* Mechanisms of innate and adaptive immunity to the Pfizer-BioNTech BNT162b2 vaccine. *Nat Immunol.* 2022, **23**, p.543-555.
- 16) Scudellari, M. Coronavirus piece by piece. *Nature.* 2020, **581**, p.252-255.
- 17) Kranz, L.M.; Diken, M.; Haas, H.; Kreiter, S.; Loquai, C., *et al.* Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy. *Nature.*

- 2016, **534**, p.396-401.
- 18) Rojas, L.A.; Sethna, Z.; Soares, K.C.; Olcese, C.; Pang, N., *et al.* Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer. *Nature*. 2023, **618**, p.144-150.
- 19) Huang, X.; Kong, N.; Zhang, X.; Cao, Y.; Langer, R., *et al.* The landscape of mRNA nanomedicine. *Nat Med*. 2022, **28**, p.2273-2287.
- 20) Zangi, L.; Lui, K.O.; von Gise, A.; Ma, Q.; Ebina, W., *et al.* Modified mRNA directs the fate of heart progenitor cells and induces vascular regeneration after myocardial infarction. *Nat Biotechnol*. 2013, **31**, p.898-907.
- 21) Collen, A.; Bergenheim, N.; Carlsson, L.; Chien, K.R.; Hoge, S., *et al.* VEGFA mRNA for regenerative treatment of heart failure. *Nat Rev Drug Discov*. 2022, **21**, p.79-80.
- 22) Fukushima, Y.; Uchida, S.; Imai, H.; Nakatomi, H.; Kataoka, K., *et al.* Treatment of ischemic neuronal death by introducing brain-derived neurotrophic factor mRNA using polyplex nanomicelle. *Biomaterials*. 2021, **270**, 120681.
- 23) Hotz, C.; Wagenaar, T.R.; Gieseke, F.; Bangari, D.S.; Callahan, M., *et al.* Local delivery of mRNA-encoded cytokines promotes antitumor immunity and tumor eradication across multiple preclinical tumor models. *Sci Transl Med*. 2021, **13**, eabc7804.
- 24) Garber, K. mRNA pioneers refocus on therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2022, **21**, p.699-701.
- 25) Aini, H.; Itaka, K.; Fujisawa, A.; Uchida, H.; Uchida, S., *et al.* Messenger RNA delivery of a cartilage-anabolic transcription factor as a disease-modifying strategy for osteoarthritis treatment. *Scientific reports*. 2016, **6**, 18743.
- 26) Itaka, K. and Kataoka, K. Progress and prospects of polyplex nanomicelles for plasmid DNA delivery. *Curr Gene Ther*. 2011, **11**, p.457-465.
- 27) Uchida, H.; Itaka, K.; Nomoto, T.; Ishii, T.; Suma, T., *et al.* Modulated protonation of side chain aminoethylene repeats in N-substituted polyaspartamides promotes mRNA transfection. *J Am Chem Soc*. 2014, **136**, p.12396-12405.
- 28) Gillmore, J.D.; Gane, E.; Taubel, J.; Kao, J.; Fontana, M., *et al.* CRISPR-Cas9 In Vivo Gene Editing for Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med*. 2021, **385**, p.493-502.