

審査の結果の要旨

氏名 木幡 愛

核酸は遺伝情報の媒体という生物学的な重要性に加え、難治性疾患や遺伝子疾患の治療薬として実用化が期待されている。核酸に化学的修飾を施すことで体内安定性・薬効を向上させる手法が広く展開されているが、期待される送達効率に達するためには、患部臓器への標的指向性や効率的な細胞内送達など、未だ多くの課題が残っている。本論文では、多様な生体高分子表面に強く接着する分子糊を基盤とした、核酸表面の化学修飾技術について述べている。

第1章では、はじめに核酸の構造や特徴、次に小分子医薬や抗体医薬と比較し核酸医薬の有用性について述べている。さらに、代表的な核酸医薬の作用機序をまとめたのち、実用化における課題およびそれらの解決策として開発されてきた核酸修飾手法を提示している。このような核酸修飾技術の研究背景に基づき、多価の静電相互作用を利用した従来のアプローチと比較し、核酸への接着を段階的に制御できる分子糊の可能性を述べている。核酸接着を制御し表面を機能化するための基本戦略として、多価相互作用におけるグアニジニウム基の特異的な性質と分子設計の自由度がもたらす利点について言及している。また、光反応性架橋剤ベンゾフェノン (BP) による共有結合形成の有用性についても述べている。

第2章では、siRNA を鋳型とした分子糊の重合によって、微小な『siRNA 内包ナノカプセル』を設計・合成している。このナノカプセル表面へトランスフェリン Tf を導入することにより、Tf 由来の細胞透過能を利用し siRNA を3次元腫瘍組織モデル深部へと送達することに成功した。この Tf 修飾 siRNA 内包ナノカプセルを用いて、標的遺伝子の発現抑制にも至っている。この siRNA 内包ナノカプセルは分子糊ポリマーの多価性を利用して siRNA を安定に内包しつつも、内因性レポーター分子に応答して分子糊がモノマーへと戻ることにより siRNA から脱離する。さらに、siRNA 内包ナノカプセル表面へ様々なタンパク質を導入できることが明らかとなっており、*in vivo* ドラッグデリバリーへの応用におい

ては表面修飾タンパク質の性質を反映した体内動態を示すことが見込まれる。

第3章では、DNA アプタマーに接着する光反応性分子糊を合成し、光照射によって DNA アプタマー／標的タンパク質複合体を共有結合的に架橋する技術を報告している。ここでは癌細胞膜上に発現している受容体 **c-Met** と選択的に結合する DNA アプタマー-SL1 の複合体に光反応性分子糊を適用し、光照射によって SL1 を **c-Met** 上に固定化した。光照射無しでは脱離してしまうような希薄濃度条件に晒しても、光照射をすると SL1 が **c-Met** 上に留まり、受容体 **c-Met** のリガンド分子として知られる肝細胞増殖因子 HGF の結合を阻害することに成功している。ウェスタンブロッティング解析や共焦点顕微鏡を用いた観察から、HGF の結合に誘導される **c-Met** のリン酸化および癌細胞遊走が抑制されたことが明らかとなっている。ポイントは、SL1 と **c-Met** とをまず非共有結合的に複合化させて仮留めしておき、それを光誘起反応により共有結合型複合体に変えることで非特異的な結合形成を避けるという戦略である。光反応性分子糊を用いることにより、非侵襲的に汎用な DNA／タンパク質複合体を安定化することができるため、上記の研究成果は DNA アプタマーを用いた診断治療法の開発において基礎的知見を得るための一助となりうる。

以上、本論文では、生体高分子表面に高い接着性を示す『分子糊』を基盤とし、生医学的応用を志向した核酸表面の化学修飾技術を開拓した。特に、生体高分子表面に対する分子糊の接着を段階的に行うことで、(i) 非特異的な分子間架橋を避け、(ii) 高効率な光固定化反応を誘導することに成功している。ここで示されている核酸修飾技術は、いずれも分子糊および光反応性分子の普遍性に基づくものであるため、修飾タンパク質や DNA アプタマーの選択によって、癌治療に限らず多岐にわたる対象へと適用することができる。本論文で報告している手法の発展によって、核酸医薬の可能性が大きく拡張され、核酸／タンパク質相互作用の理解や新たな疾患治療法の開発が加速的に進むことが見込まれる。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。