

審査の結果の要旨

氏名 大澤 重仁

ポリオキサゾリン (POx) は、分子量の精密な制御が可能なことや、側鎖構造によっては生体適合性や下限臨界共溶温度 (LCST) を有することから、機能性バイオマテリアルとして近年注目が集まっている。本論文では、POx の LCST 挙動を巧みに利用した材料設計によって、核酸送達システムの機能向上を行っている。

第一章では序論として、POx の特性を述べるとともに、核酸送達の基盤となる親水性連鎖-正電荷性連鎖からなるブロック共重合体と pDNA との自己会合により形成される核酸内包高分子ミセルについて概説している。その上で、内包する核酸を保護する機能と送達する機能に課題が残されていることを指摘し、POx の LCST 挙動に基づく親水性-疎水性変化を用いて、これら課題を克服するという本論文のねらいを述べている。具体的には、核酸担持内核と親水性シェル層との間に疎水性層を保護層として新たに導入することによって、内包核酸の保護機能を強化することと、がん組織が酸性環境下にあることに着目し、pH に応答してシェルを疎水化させることによってがん細胞への選択的送達をねらうことを提案している。これらをそれぞれ第二章から第四章、および第五、六章で取り扱うことを述べ、本論文の構成を示している。

第二章では、遺伝子治療のためのプラスミド DNA (pDNA) 内包高分子ミセルに着目し、pDNA 担持内核と親水性シェル層との間に疎水性保護層を導入するためのトリブロック共重合体の合成法を述べている。具体的には、親水性連鎖としてポリエチルオキサゾリン (PEtOx)、温度応答性連鎖としてポリノルマルプロピルオキサゾリン (PnPrOx)、カチオン性連鎖としてポリリジン (PLys) を持つトリブロック共重合体 PEtOx-*b*-PnPrOx-*b*-PLys を作製している。

第三章では、合成したトリブロック共重合体と pDNA とからなる高分子ミセルの構造および特性評価と生物学的機能評価を行っている。疎水性保護層導入高分子ミセルは、PnPrOx の LCST 以下の温度において pDNA と PEtOx-*b*-PnPrOx-*b*-PLys を混合することで高分子ミセルを形成させ、その後 LCST 以上である 37 度とすることで PnPrOx 連鎖を疎水化させるという二段階の手順によって得ている。疎水性保護層の形成は、¹H-NMR シグナルと高分子ミセルの

形態の変化、ならびに核酸分解酵素およびポリアニオンであるコンドロイチン硫酸に対する安定性の向上を通じて確認している。この高分子ミセルは、培養細胞に対する遺伝子発現効率を向上させるのみならず、血中滞留性も向上させることを示し、POx の温度応答性を活用することによる疎水性保護層の効果を述べている。

第四章では、前章で開発したトリブロック共重合体を、保護機能がより重要となる mRNA 送達システムへと展開している。mRNA は非分裂細胞でも遺伝子発現可能であることから大きな期待が寄せられている。しかしながら、生体内での安定性が極めて低いことがその適用を妨げている。これに対し、PEtOx-*b*-PnPrOx-*b*-PLys を用い、mRNA を疎水性保護層内に封入することで安定性を強化させることを試みている。結果、血清に対する安定性を大幅に向上させることに成功し、培養細胞に対する遺伝子発現効率の向上、さらには血中滞留性の向上を達成している。

第五章、第六章では、POx の親水性-疎水性転移を活用したがん細胞への送達効率の強化を試みている。そのための材料準備として第五章では、POx 末端への機能性分子導入のための末端アミノ化法を述べている。ここでは、アジ化ナトリウムによるオキサゾリン重合停止反応による末端アジド化と、それに引き続くトリフェニルホスフィン (TPP) によるアジドの還元を行い、95%以上の POx 末端アミノ変換を達成するとともに、アジ化ナトリウムとの反応は 1 時間、TPP との反応は 3 時間で完了することを確認している。これを、POx の末端を高効率かつ短時間にアミノ化する新規な合成法として提案している。

第六章では、前章で開発した POx の末端アミノ化法を基に、 pK_a が 6.7 にあるフェニルボロン酸誘導体 F₂PBA を導入した F₂PBA-POx-*b*-PLys を合成し、pH による F₂PBA の親水性-疎水性変化をトリガーに POx シェルを疎水性転移させ、がん組織選択的に細胞取込を促進させる環境応答性高分子ミセルを構築している。実際、生体温度 37 °C、pH7.4 において親水性であったシェルが、がん組織の pH である 6.7 では疎水化することを確認するとともに、結果として pH6.7 とすることで遺伝子発現効率が高まることを示し、本戦略の有効性を実証している。

第七章では、一連の結果を総括し、POx の刺激応答性に基づく核酸送達システムの機能向上の成果をまとめている。

以上、本論文では、材料工学を基盤とする独創的な分子設計によって、POx の持つ LCST 挙動を巧みに利用し、核酸内包高分子ミセルの核酸保護機能と送達機能を強化させることを実現している。この成果は、スマートバイオマテリアルとしての POx の新たな応用法を示すとともに、核酸治療の実現に大きく寄与するものであり、材料工学における貢献は大きいと判断される。

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。