

審査の結果の要旨

氏名 ディリサラ アンジャネユル

近年、疾患の原因がタンパク質の機能不良に起因することが明らかになってきたことで、人為的にタンパク質の発現を制御することによって疾患を治療する遺伝子治療に注目が集まっている。特に、既存の治療法では治癒の困難な難治性がんに対する期待は大きく、全身投与を可能とする遺伝子キャリアの開発に期待が寄せられている。全身投与用遺伝子キャリアには、生体内の異物認識機構に捕捉されずに標的組織に移行し、効率よく治療用遺伝子を発現する特性が求められる。遺伝子発現を達成するためには多くの障壁を効率よく突破していく特性が必要であり、なかでも最も大きな障壁は血中安定性である。これまでにキャリアの安定性を高める素子の開発や、遺伝子キャリア表層を覆うポリエチレングリコール (PEG) 鎖の密度を高める戦略が提案されてきた。一方において、そのような血中滞留性の増強は遺伝子発現効率を減少させてしまう。本研究ではこの二律背反する事象を解決すべく、これまで見出してきた機能を集約しつつ、全身投与で効果的に遺伝子発現を導く遺伝子キャリア構造の最適条件を見出すことを目的としている。以下、各章毎に、本論文の審査結果の概要を述べる。

第1章では、遺伝子治療とそれを可能とする遺伝子キャリア開発の背景、特に PEG とポリカチオン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遺伝子内包高分子ミセル (ポリプレックスミセル) を取り上げ、その構造特性と全身投与に向けたこれまでの取り組みを説明している。特に PEG-poly(L-Lysine) (PEG-PLys) からなるポリプレックスミセルに注目し、これまでに開発された標的指向戦略、PEG 密度を上げる戦略ならびにジスルフィド架橋の効果を述べるとともに、残されている課題を指摘し、本研究の方向性と意義を述べている。

第2章では、架橋導入 PEG-PLys ポリプレックスミセルにおいて、プラスミド DNA (pDNA) が整然と折り畳まれてロッド型にパッケージングされることを確認するとともに、そのロッド長、PEG 密度が PLys 鎖長によって調節されることを示している。これらの構造特性を基に、血中滞留性を評価し、PEG 密度と架橋の効果を議論している。

第3章では、細胞取込に着目し、PLys 鎖長依存性についてポリプレックスミ

セルの構造安定性、PEG 密度、ロッド長といった構造特性を基に、架橋およびリガンドの効果を複合させ、総合的に検討している。その結果、効果的な細胞取込を得る上でロッド長 200nm が臨界であり、それ以下に制御した場合、架橋効果、リガンド効果が発揮されること、反対に臨界ロッド長以上では架橋、リガンドを導入してもなお取込が制限されることを見出している。最適解として得られたポリプレックスミセルは優れた遺伝子発現効率を有し、PEG 層を持たない市販の遺伝子導入試薬に導入効率の面で匹敵することを明らかにしている。最後に、PEG シールディング、架橋、標的指向性を装備するこのポリプレックスミセルの特性から、全身投与での有用性を指摘している。

第 4 章では、難治性がんとして知られるすい臓がんに対し、血管新生阻害遺伝子を用いた全身投与での治療効果を検討している。第 3 章で得られたポリプレックスミセルを用いることで、血管新生阻害に基づく有意な抗腫瘍効果が得られることを実証している。反対に、ロッド長が臨界長より長いポリプレックスミセルは、血中滞留性に優れるものの腫瘍での遺伝子発現が得られず、結果として抗腫瘍効果が導かれないことを示し、ポリプレックスミセル設計におけるロッド長制御の重要性を指摘している。

第 5 章では、全身投与に最適なポリプレックスミセル形として、ロッド長を臨界長より短く保ちつつ、PEG で十分に覆うことを提案し、PEG 鎖長を従来の 21kDa から 80kDa にすることで上記の条件を満たすポリプレックスミセルが得られることを示している。実際に 80kDa からなるポリプレックスミセルは、飛躍的に高い血中滞留性を持ちつつ、遺伝子発現効率にも優れることを明らかにしている。これらの結果から、ここにリガンドを装着することで、さらなる遺伝子発現効率の増強とがん指向性とを擁する全身投与用ポリプレックスミセルが得られることを提案している。

第 6 章は、総括として、一連の結果を整理するとともに、全身投与用遺伝子キャリア開発に対する本論文の意義と展望をまとめている。

以上、本論文では、PLys 鎖長を変調することによるポリプレックスミセルの構造特性を基に、架橋の効果、リガンドの効果を系統的に検証し、遺伝子発現を最大限に得るポリプレックスミセルの形態を特定するとともに、その効果を膵臓がんに対する全身投与による抗腫瘍効果として実証している。本研究は、これまで個々に開発されてきた遺伝子発現を増強する戦略を、構造特性を基盤とした評価を基に統合させることに成功しており、ここで得られた構造設計指針を基盤に今後の全身投与型遺伝子キャリア開発を促進することで、バイオエンジニアリングの分野に大きく貢献するものと判断される。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。