

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 川村 渉

近年、薬物送達システム(Drug delivery system; DDS)による体内動態の最適化は盛んに研究されており、中でも標的指向性キャリアは病変部位へのキャリア集積の向上による診断薬および治療薬のそれぞれ造影能および薬効の向上に役立つことが期待されている。DDS キャリアの中でも特に、内部に中空スペースを持ち、低分子薬剤・イメージング剤・酵素等を搭載可能なベシクル型キャリアはその汎用性の高さから盛んに研究されており、中でも **Polyion complex some (PICsome)**はキャリアサイズの調整(100-400 nm)・高い血中安定性・水溶性高分子の内包など優れた特性を有している。本論文では、この様な PICsome 型キャリアの性能を決める最も重要な因子である粒径と標的指向性の制御を、小粒径化法の開発並びに環状 RGD(cRGD)ペプチド修飾法の確立により達成し、得られた cRGD-PICsome の細胞内・体内動態を詳細に検討している。その後、応用の一例として、核磁気共鳴画像法(MRI)用に内部に鉄ナノ微粒子(SPIO)を封入した cRGD-PICsome を開発し、それによる脳腫瘍部位の新生血管イメージングを検討している。以下に、各章ごとの審査概要を記す。

第一章では、DDS における各キャリアの中でも、特にベシクル型キャリアについて紹介し、各ベシクルに共通して見られる構造的特徴やキャリアとしての特徴を記述している。その後、ベシクル型キャリアの中での PICsome の位置づけ及びこれまでの先行研究の紹介を行っている。PICsome を含めたこれらのキャリアは、受動的ターゲティング (**Passive targeting**) 及び能動的ターゲティング (**Active targeting**) による標的部位への集積が考えられるが、それぞれのターゲティング法の特徴と解決すべき課題の説明も行っている。

第二章では、PICsome の材料面での改良のうち、特に小粒径化(**Small PICsome**)について論じている。**Small PICsome** では、PICsome 構築時の緩衝溶液の pH を調整することで、得られる PIC のポリマー比を意図的に操作し、結果 PEG 比率を制御することに成功している。

第三章では PICsome 表面への cRGD リガンドの導入について論じている。cRGD の導入では腫瘍部位への親和性と肝臓等の他の臓器への取込みの balan

スをとる必要があり、本研究では PICsome 表面への cRGD の導入量によるバランス調整を試みている。cRGD の定量的導入のため、始めに所定の割合で cRGD 導入部位を持つブロックコポリマーを混合し、そこに凍結融解法を用いることで定量的に cRGD を導入した PICsome の構築に成功している。得られた PICsome の構造確認は、<sup>1</sup>H 核磁気共鳴法, DLS 及び TEM によりの確に行なわれている。

第四章では得られた cRGD 導入 PICsome のうち、特に粒径 100 nm のものについて細胞内動態の評価を行っている。正常ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)及びヒト脳腫瘍細胞(U87MG)を用い、PICsome の細胞内取り込みにおける cRGD 導入の影響を分析している。その結果、cRGD の導入量に依存して細胞取込み量の向上が確認されている。また、各種阻害剤を用いた実験より、cRGD による PICsome の細胞内取り込みは主としてクラスリン介在型エンドサイトーシスであるとの推論をおこなっている。

第五章では、動物実験により、PICsome への cRGD 導入量の違いに基づく体内動態の違いを観察している。cRGD の導入量の増加に伴って肝臓及び脾臓への取込みの増大が起こり、血中滞留性が低下することが確認されている。その結果、表面 PEG 鎖の 50%に cRGD を導入した PICsome (50%-cRGD-PICsome) が最も優れた腫瘍集積性を有すると結論づけている。この 50%-cRGD-PICsome と cRGD 未導入 PICsome (Ctrl-PICsome) の体内動態を生体内顕微鏡で確認する実験を行い、Ctrl-PICsome は血中で長時間滞留するのに比べ、50%-cRGD-PICsome は腫瘍表面の新生血管のみに特異的に取り込まれている様子の観察に成功している。以上より、新生血管ターゲティングを行うのに最適な cRGD-PICsome の構築方法を提示している。

第六章では、これまでの結果の応用例として、MRI 用造影剤 SPIO(鉄ナノ微粒子、一般名 Ferucarbotran)封入型 50%-cRGD-PICsome 及び Ctrl-PICsome を構築し、その機能評価を行っている。すなわち、ヒト脳腫瘍細胞をマウスに移植し、MRI にて造影能を評価しており、皮下移植及び同所(脳)移植モデル双方にて、腫瘍のイメージングに成功している。特に同所移植モデルでは、増殖が活発であると思われる新生血管部位のイメージングにも成功している。

以上の結果を第七章にて総括しており、キャリア材料設計におけるサイズ及びリガンド導入の重要性に言及し、また、機能性の評価についても総括している。特に cRGD 導入による新生血管ターゲティング及び MRI への応用は PICsome の DDS キャリアとしての有用性を示すものであり、バイオマテリアル及びイメージング分野を中心に、バイオエンジニアリング領域の発展に資する重要な知見であると考えられる。

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。