審 査 の 結 果 の 要 旨

論文題目 Study on the Design of Antibody-Conjugated Polymeric Micelles and Their Biological Performance for Tumor Targeted Therapy

(抗体結合型高分子ミセルの設計及びがん標的治療への応用に関する研究)

氏　名　安　珠　娗

がんの薬物治療に於いては、薬剤の有効性を充足させながら、副作用を抑制するなどの患者に対して低負荷な治療を提供する必要がある。そのためには、がん組織に対して、選択的に薬剤を送達させる技術の開発が鍵となる。この点に於いて、医学・薬学の分野で広く使用されている抗体は特定のがん組織に対する非常に高い選択性を有しているため、抗体-薬剤物複合体（antibody-drugs conjugates, ADC）などの腫瘍を特異的に標的する治療薬の開発が試みられてきた。しかしながら、ADCでは抗原認識能を保持したままでの化学修飾法に限界があり、そのために薬物搭載量、薬効、選択性などを適切にバランスさせることが困難となっている。一方で、高分子ミセルなどのナノキャリアを利用することで抗がん剤をがん組織へ集積させる薬物送達システム（DDS）が注目を集めている。これらはEPR効果（Enhanced Permeability and Retention効果；がん組織においては血管新生の促進と血管壁の著しい透過性が亢進し、リンパ系が未発達であるため、高分子物質が集積・滞留する）を駆動力とすることで少ない副作用と固形がんに対する優れた治療効果を達成しているが、同時に高分子合成化学を基盤技術とすることで、内包薬物量の制御やミセル表層の機能化が容易である。本論文では、白金錯体制がん剤オキサリプラチンの活性体ダッハプラチン（DACHPt）を内包した高分子型ミセル表層へ抗体フラグメントを導入した抗体ミセルの開発を行い、従来のADCが抱える問題点を克服することによって、難治がんの一つである膵臓がんへの有効性を検証している。以下、各章毎に本論文の審査結果の概要を述べる。

第一章では、DDSについての現在までの発展状況ならびに受動的デリバリーとリガンド分子を使用した能動的デリバリーの有用性についてまとめている。DDSに関連した基本的な知識と治療方法の現状について総括するとともに、ドラッグキャリアの特性、キャリアを構成するブロック共重合体などの材料、白金抗がん剤であるオキサリプラチンの誘導体DACHPtなどの内包薬剤について説明している。また、本論文で標的として選択したティッシュファクター（Tissue factor、TF）、それらを特異的に認識する抗体導入高分子ミセルの有効性について説明するとともに、ADCと比較した場合の利点につ

いて臨床試験の状況を踏まえながら要約している。

第二章では、抗体を導入する前の前駆体ミセルであるマレイミド導入ミセルの合成について検討している。本章では二官能性のポリエチレングリコール (poly(ethylene glycol、PEG)を出発材料としたアミノ酸誘導体モノマーの精密重合によって、PEG末端へマレイミド残基を定量的に導入可能とする合成方法を確立している。さらにDACHPtと生成ポリマーの配位子交換反応を利用することにより、内核へ白金抗がん剤を内包し、且つマレイミド修飾PEGで外側を覆った高分子型ミセルが調製可能であることを明らかにしている。

第三章では、前駆体ミセルへの抗体フラグメント(Fab’)の導入について詳細に検討している。鍵反応はミセル表層のマレイミド基とFab’のチオール残基のマイケル付加反応であるが、本章ではミセルとFab’をそれぞれ異なった蛍光色素でラベル化し、それらのシグナルをゲルパーミエーションクロマトグラフィーや蛍光相関分光法で追跡することによって抗体ミセルの生成を定量的に評価することを可能にしている。

第四章では、抗体ミセルの抗原認識能と細胞への取込について検討している。はじめに抗原となるTFの発現をフローサイトメトリーで確認した結果、ヒト膵臓がん由来細胞株であるPANC-1とBxPC3にTFの過剰発現を認めている。また、同じくフローサイトメトリーを用いて蛍光ラベル化したミセルと各がん細胞への結合能を評価した結果、PANC-1ならびにBxPC3に対する抗原選択的な結合が生起することを明らかにしている。共焦点レーザー顕微鏡を用いた観察からは、抗体ミセルが速やかにPANC-1とBxPC3細胞表面へ結合し、その後、エンドサイト-シスによって細胞内へ取り込まれることも明らかにしている。これらの結果は、抗体ミセルが抗原を有する腫瘍選択的に薬物送達することが可能であることを示唆する重要な知見である。

第五章では、抗体ミセルの腫瘍増殖抑制能について膵臓がんを有するモデルマウスを用いてin vivoで評価している。PANC-1とBxPC3をそれぞれ皮下へ移植したマウスへ抗体ミセルを投与した結果、コントロール群や低分子の制がん剤投与群と比較して、抗体ミセルは有意な抗腫瘍効果を発揮することを見出している。また、抗体ミセルの腫瘍増殖抑制能は、前駆体ミセルと抗体の共投与群よりも優れていると述べている。この結果は、抗体ミセルによる抗腫瘍効果の向上には、ミセルと抗体の結合が必要不可欠であることを示すものである。さらに、体内動態試験の結果より、抗体ミセルがマウスの血中で安定であること、さらには腫瘍への集積性が高いことを確認している。これより、本実験によって、本研究で確立された抗体ミセルがヒト由来の膵臓がんの治療へ適用可能であることを明らかにしている。

第六章では、総括として本論文で開発した抗体ミセルの有効性についてまとめるとともに、それらの将来展望について述べている。

以上、本論文では、抗TF抗体フラグメントとDACHPt内包高分子ミセルから構成される抗体ミセルの調製法を新たに確立し、さらに、難治がんのひとつである膵臓がんの治

療が可能であることを確認している。本論文で得られた結果は、DDSなどの関連する研究領域ならびに医療の現場へ極めて有益な知見を与えるとともに、がんの標的治療に有用なバイオマテリアルの開発を通じてバイオエンジニアリング分野の発展へ寄与するものと結論される。

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。