

審査の結果の要旨

論文題目 Study on the Design of Glutathione Sensitive Polymeric Micelles for the Delivery of Anticancer Drugs

(制がん作用を有するグルタチオン感受性ポリマーミセルに関する研究)

氏 名 顔 宏吉 (Hung-Chi Yen)

全身投与が可能である高分子ミセル型DDSはEPR効果 (Enhanced Permeability and Retention効果；がん組織は血管透過性が充進しリンパ系が未発達であるため、高分子物質が長時間滞留する)を駆動力とすることで、固形がんに対して高い集積性と治療効果を発揮することが明らかとなっている。近年ではさらなる高機能化が図られ、pHや光、さらにはがん細胞に内在する特定の因子に反応して薬剤を放出するシステムが検討されている。このような機能化は、DDSの腫瘍特異的な薬物送達に加えて、がん細胞内のみで薬効を示すことが可能となることから、副作用の低減と効果的ながん治療を達成することが可能な次世代の化学療法として注目されている。本論文では、キノンアルカロイド系の制がん剤であるカンプトテシン (Camptothecin, CPT) を還元環境下で切断されるジスルフィド結合を介してポリエチレングリコール (poly(ethylene glycol)、PEG) 共重合体へ導入し、それらを原材料とした高分子ミセルと光化学療法の薬剤として臨床展開されているPorfimer sodium (Photofrin®) との併用によって、がん細胞のみで薬剤を徐放する新規なDDSを開発した。さらに難治がんの一つである膀胱がんへの有効性について検証している。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、がん治療とDDSの現状についてまとめている。高分子ミセルをドラッグキャリアとして用いたDDSに関連する基本的な知識と治療方法について総括するとともに、CPTの特性、光化学療法について説明している。特に膀胱がんについては、現在医療現場で実施されている光線力学療法の問題点を指摘するとともに、本論文のDDSを用いた場合の有用性や期待される効果について概説している。

第二章では、CPTを導入した新規ブロック共重合体の合成と生成ポリマーの構造解析、さらにはそれらの自己組織化によって形成される高分子ミセルについてまとめている。本章では、アミノ酸誘導体モノマーの精密重合によってPEG-*b*-polylysineを合成し、さらにpolylysine側鎖へ細胞内のグルタチオンによって切断されるジスルフィド結合を介する形でCPTを導入した。生成ポリマーは水中にて親疎水性バランスを駆動力として自己組織化し、粒径が45nmのコアシェル型の高分子ミセルを形成することを確認した。

さらに、得られた高分子ミセルからはグルタチオン濃度に応じてCPTが徐放されることを明らかにしている。

第三章では、前章までに得られた高分子ミセルのin vitroにおける特性について詳細に検討している。ラット膀胱がんAY27細胞、ヒト由来子宮頸がん細胞HeLa、ヒト肺基底上皮腺癌細胞A549、マウス直腸がん由来C26細胞などを用いた細胞毒性試験では、低分子のCPTと比較してCPT内包高分子ミセルの優位性を明らかにしている。さらに蛍光色素でラベル化した高分子ミセルを用いて細胞内動態を観察した結果、ミセルがエンドサイトーシスによって細胞内へ取り込まれ、後期エンドソームやリソソームと共局在していることが確認された。

第四章では、第三章で得られた知見を基にCPT内包ミセルとPhotofrin®の併用効果、すなわち光刺激によるミセルからの薬物徐放について検証を行った。細胞に影響を与えない濃度のPhotofrin®とCPT内包ミセルの存在下にて10分間の光照射を行った結果、ラット膀胱がんAY27細胞ならびにヒト由来子宮頸がん細胞HeLaに対する細胞毒性が増強されることを確認した。また、共焦点顕微鏡の観察より、CPT内包ミセルが細胞内へ取り込まれた後に光刺激によってエンドソーム内からグルタチオン濃度の高い細胞質へ移行することが確認された。以上の結果より、本論文で開発したCPT内包ミセルは光刺激によってエンドソームを脱出し、その後細胞質内のグルタチオンに応じてCPTを徐放する設計通りの機能を有していることを明らかにした。

第五章では、CPT内包ミセルの腫瘍増殖抑制能について膀胱がんを有するモデルマウスを用いてin vivoで評価した。AY27を皮下へ移植したマウスへCPT内包ミセルならびにPhotofrin®を投与し、さらに光照射を行った治療群は、有意な抗腫瘍効果を示すことが確認された。一方、コントロール群や光未照射の群の抗腫瘍効果は観察されなかった。In vivo共焦点顕微鏡を用いた実験と腫瘍切片の組織学的な観察から、腫瘍に集積したミセルはエンドソームへ取り込まれ、光照射によって細胞質内でCPTを徐放していることが観察された。これらの結果は、本論文で開発したミセルの設計・機能が生体内でも実現可能であることを示唆する重要な知見である。

第六章では、総括として本論文で開発したCPT内包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、光刺激によって薬物を徐放するCPT内包ミセルの合成法を新たに確立し、さらに、難治がんのひとつである膀胱がんの治療が可能であることを見出した。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我が国のみならず世界のバイオエンジニアリング研究の発展へ貢献するものと確信する。

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。