

[別紙 2]

## 審査の結果の要旨

論文提出者氏名 柿澤 資訓

メソスコピック領域での材料構造の制御は、新たな機能性材料の創出の可能性を開くものであり、基礎および応用の両面から活発な研究が進められている。特に、この領域に位置する粒径（10-100nm）を有する微粒子は、その特異な性質から医療を含む種々の分野での利用が期待されている。

本論文では、高分子の自己組織化の現象を利用してブロック共重合体と核酸からなる微粒子（高分子ミセル）を合成し、その核酸送達システムとしての展開について検討を行っている。すなわち、静電相互作用を会合の駆動力とし、正電荷を持つブロック共重合体と負電荷を持つ核酸からなる高分子ミセルの内核を可逆的に架橋することにより、外部化学環境の変化に応答して解離する性質を高分子ミセルに付与することが可能であることを示している。また、無機結晶の形成過程にブロック共重合体が共存することにより、無機結晶と高分子複合体を内核とした高分子ミセルが形成され、更なるその粒子に核酸分子を担持可能であることを見いだしている。さらに、これらの高分子ミセルについて、アンチセンス療法等核酸を利用する治療法における核酸送達システムの利用という観点からその材料特性の検討を行っている。

第1章は緒論であり、ブロック共重合体からの高分子ミセル形成について述べるとともに、アンチセンス療法の原理、問題点の議論から、高分子ミセルの核酸送達システムとしての位置づけを研究例の紹介を通じて示し、本論文の目的と構成について記述している。

第2章においては、poly(ethylene glycol)(PEG)と poly(L-lysine)(PLL)のブロック共重合体である PEG-PLL の PLL 鎖の側鎖アミノ基にチオール基を導入し、これを用いてジスルフィド結合内核架橋ミセルを調製しその特性解析を行っている。核酸のモデル高分子として用いた poly(aspartic acid)(PAA)を内包したミセルの粒径は数十 nm であり、その分布は単分散であることが、動的光散乱測定の結果から示されている。また、静的光散乱測定による高分子ミセルの分子量の評価の結果から、内核を架橋したミセルは、塩濃度増加の際の解離が抑制され、架橋していないものと比較して大幅に安定性が向上していることが明らかとされている。更に、内核架橋ミセルは、還元剤の濃度に応答して架橋が開裂し、高塩濃度下では解離する性質を有することを見いだしている。

第3章では、アンチセンス DNA を内包した架橋ミセルについて特性解析を行っている。チオール基を導入した PEG-PLL は、水溶液中で自発的にアンチセンス DNA と会合してミセルを形成し、その粒径はチオール基導入率に関わらずほぼ一定であることを明らかにしている。また、ポリアニオン交換反応実験から、ジスルフィド結合による内核架橋により、内包された DNA の放出が抑制されていることを確認している。加えて、DNA は内核架橋ミセルに内包されることにより、核酸分解酵素による分解を回避できることが、キャピラリー電気泳動測定の結果から示されている。また、生体由来の還元剤であるグルタチオン濃度の依存して、架橋ミセルから内包されたアンチセンス DNA が放出されることから、この高分子ミセルが還元環境応答性を持つことを結論づけている。

第4章においては、PEG と PAA のブロック共重合体(PEG-PAA)とリン酸カルシウムから粒子が形成されることを見だし、その特性解析と核酸の送達システムとしての評価を行っている。CaCl<sub>2</sub> 水溶液と NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 水溶液を混合すると沈殿が生じるが、溶液中に PEG-PAA が存在することにより、微粒子が形成され、沈殿生成が抑制されることが濁度測定および光散乱測定により示されている。粒子の粒径は、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、PEG-PAA 濃度により 100-200nm の範囲で変化することが動的光散乱測定により明らかとされている。また、液体クロマトグラフィーの結果から、この PEG-PAA/リン酸カルシウム複合体微粒子は、DNA を高い効率で内包することが可能であり、その内包量は NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 濃度に依存することが見いだされている。この粒子の核酸送達システムとしての性質として、細胞への取り込み挙動がフローサイトメトリーにより評価され、この粒子に内包されることにより DNA の取り込みが大幅に促進されることが示されている。更に、この粒子は、低カルシウム濃度である細胞質へ到達後には溶解し、放出された DNA が核に移行しうることが明らかとされている。以上の結果から、PEG-PAA/リン酸カルシウム複合体微粒子は、環境応答性を持つ新規な核酸送達システムとして高い有用性を有していると結論づけている。

第5章は、総括である。

以上、本論文は、核酸とブロック共重合体からなる高分子ミセル型の自己組織化微粒子に環境応答性を付与するという新たな設計指針を示し、その送達システムとしての有用性を示している。このような知見は今後、医療分野のみならず様々な領域における機能性材料の設計に貢献するものであり、材料工学的観点からも有用性が期待される。

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。