

[別紙 2]

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 JULE Eduardo Enrique

親疎水性のブロック共重合体が水中で自己組織化することによって形成されるコア-シェル型の高分子ミセルは、その表層のポリエチレングリコール(PEG)ブラシ構造に伴い、凝集や非特異吸着が抑制され、血中長期循環能を有する薬物キャリアとなることが期待されている。そこで、本論文ではこの様な高分子ミセルの特徴に着目し部位特異的な薬物キャリアとして利用可能な表層に官能基を有する高分子ミセルの設計とその生医学的物性解析が論じられている。

緒論では、現在のドラッグデリバリーシステム (DDS) における問題点を具体的な例を用いて明記し、その様な問題を解決するためのアプローチとして末端反応性 PEG-ポリラクチド (PLA) ブロック共重合体から形成される高分子ミセル薬物の有用性について述べられている。また、今後の薬物キャリア設計に際して不可欠な細胞選択的な取り込みを可能にするべく、レセプター介在エンドサイトーシスを基調とした DDS への展開についても詳細に解決がなされている。

第 1 章では、末端にアセタール基を有する PEG-PLA ブロック共重合体 (acetal-PEG-PLA) の合成とリガンド分子としてラクトースが結合した高分子ミセル (Lac-Micelles) の調製、ならびに物性評価、さらには、生医学方面における重要性が述べられている。調製された Lac-Micelles は、水溶液中で高い安定性を示すことを確認している。また、ブロック共重合体の PLA 鎖末端に蛍光物質を結合させた系を用いて、ガラス転移温度を測定した結果、その値は 38℃ であることが明らかとされている。さらに、高分子ミセルの臨界会合濃度が温度に依存することやミセル間での高分子鎖の交換が温度

依存的に起きることなど、興味深い物理化学的特性が見出され、これらのミセルを DDS 分野に展開する上で重要な知見が得られたと結論づけている。

第2章においては、表面プラズモン共鳴(SPR)装置を用いた Lac-Micelles とラクトース特異的結合能を示すことが知られているレクチン(RCA120)との相互作用について検討している。チップ表面上に RCA120 を固定化し、Lac-Micelles 水溶液を流すことによって、その認識能を評価した結果、ラクトースが導入されていないときには、チップ表面に固定化された RCA120 と Lac-Micelles との間には有意な吸着は観察されず、非特異吸着が有効に抑制されることが明らかとされている。また、ラクトース導入率が 40%を境に急激なレクチンとの親和性向上が観測され、リガンド密度依存的な吸着特性を示すことが明確とされている。以上の結果から、Lac-Micelles と RCA120 とのリアルタイム SPR 解析は、糖レセプターを表面に有する細胞に対する Lac-Micelles の挙動をモデル化できる実験系であると結論づけている。

第3章においては、SPR 装置を用いて Lac-Micelles と RCA120 との相互作用を速度論的なアプローチに基づいて詳細な検討を行っている。解析ソフトウェアを用いるカーブフィッティングから、多価結合による Lac-Micelles の RCA120 に対する結合は、典型的な多価結合の特徴を有し、非常に低い解離定数を呈することが示している。リガンド密度 80%の Lac-Micelles (高分子鎖 100 本あたり 80 本がラクトース化されている)は、RCA120 に対して、迅速な結合が観察される ( $k_{a1}=3.2 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{S}^{-1}$ ) が、一方で極めて遅い解離を示すことも明らかとされた ( $k_{d1}=1.3 \cdot 10^4 \text{ S}^{-1}$ )。このデータをもとに、フィッティング解析を行った結果、両者の結合は、3価の結合であることが確認され、その平衡解離定数( $K_{D1}=k_{d1}/k_{a1}$ )は、興味深いことにウィルスが一般的に有する値と近い 4nM となることが示されている。一方、20%のラクトースが導入された Lac-Micelles においては、同じ RCA120 に対して2価で結合していることが確認されている ( $K_{D1}=1360 \text{ nM}$ )。以上の結果から、リガンド密度の増大に伴いタンパク質認識能は著しく増加し、さらに詳細な速度論的解析から、その様な増加は主として解離抑制に基づくものであると結論づけている。

第4章においては、実際に培養細胞 (HepG2) を用いて、Lac-Micelles の細胞への取り込み能を評価している。具体的には、アセタール基が導入された高分子ミセル (Ace-micelles) をコントロールとして用いて、細胞表面に発現しているシアロ糖タンパク質レセプターとの結合からレセプター介在性エンドサイトーシスに

よる Lac-Micelles の細胞への取り込みを評価したところ、ラクトース導入率の高い Lac-Micelles において著しい取り込みの促進が観察された。これより、ミセル表面に適切なリガンド分子を導入し、その密度を制御することによって、細胞への取り込み能を向上できることが明らかとなり、受容体依存的 DDS としてリガンド導入高分子ミセルが有用であると結論づけられている。

以上に示されたように、本論文で得られた結果は、特定の細胞に対するアクティブターゲティングを可能にする高性能薬物キャリア設計における多分子集合体構造の重要性を示すものであり、表層に糖を配した高分子ミセルの調製から物性評価、さらには、培養細胞への取り込み評価を通じて、その DDS 材料としての有用性が明らかとされている。

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。