

## 審査の結果の要旨

氏名 宮田 完二郎

近年、ヒトゲノム解析に代表される分子生物学の目覚ましい進歩とともに、遺伝物質やタンパク質のように、細胞内シグナル伝達に關与する物質が、新たな薬物として認識されるようになった。その中で、標的とする細胞に特定の治療用遺伝子を発現させる遺伝子治療は、癌治療や再生医療など幅広い疾患への応用が非常に期待されている。しかしながら、遺伝物質(DNA)は、体内での代謝により失活しやすく、十分な治療効果が得られにくいという問題がある。そのため、薬剤の体内分布を制御することにより、その治療効果を最大限に引き出すドラッグデリバリーシステムは、遺伝子治療の発展に必要な不可欠な技術として広く注目を集めている。これまで、臨床試験における遺伝子デリバリーのほとんどは、ウィルスキャリアを用いたものであったが、死亡事故の例に見られるように、安全性が問題視されている。そこで、それに代わる新たな遺伝子キャリアとして、カチオン性高分子や脂質を用いた非ウィルス性キャリアの研究が急速に進んでおり、培養細胞への遺伝子導入効率は改善されてきている。一方、直接投与による遺伝子導入は、非ウィルス性キャリアの生体内での安定性が十分でないなどの理由により、いまだ効果的なシステムの設計は成されていない。申請者はこのような研究背景に基づいて、非ウィルス性キャリアの *in vivo* への展開を目指し、細胞内環境に応答して効果的に遺伝子を導入する超機能化高分子ミセル型遺伝子キャリアを設計・調製し、その特性解析を行い、得られた実験結果を、バイオマテリアル学観点から総合的に考察した内容を本学位請求論文にまとめている。

第1章は序論である。ここでは、*in vivo* で機能を発揮する遺伝子キャリアの設計を行う際に、どのような性質・機能が必要とされるかをまとめるとともに、これまでに報告されてきたキャリアシステムを具体的に紹介し、今後どのような改良が有効であるかを述べ、本研究の意義及び論点を明らかとしている。具体的な改良点としては、標的組織への到達効率を増加させるための生体内での安定性と、キャリアが細胞内で局在するエンドソームから細胞質へ脱出する機能に焦点をあてている。

第2章では、目的とする機能の一つである高分子ミセル型遺伝子キャリアのジスルフィド架橋を通じての安定化に関して、その方法と機能評価についてまとめている。ジスルフィド結合は、細胞質のような還元環境で開裂すると知られていることから、架橋ミセルに対して、細胞外での高い安定性と細胞内での遺伝子放出が予想されている。その一方で、これまで行われた架橋システムでは、過剰安定化による遺伝子発現効率の低下も報告されている。これらのことを考慮し、本論文では、ミセルの安定性を決定する因子の一つであるカチオン性高分子の荷電密度に着目し、荷電密度を制御した上での架橋導入方法を確立している。結果として得られた架橋ミセルは、アニオン性高分子との相互作用によって生じるミセルの解離に

対し、非常に高い安定性を示すとともに、擬似的な還元環境に応答した遺伝子放出を示している。さらに、培養細胞を用いた遺伝子導入実験において、架橋導入に基づく高い遺伝子導入効率を得られており、荷電密度の制御に伴う架橋導入の有効性が確かめられている。

第3章では、第2章においてまとめた架橋ミセルのさらなる展開として、長期保存を目指した凍結乾燥処理耐性と *in vivo* での遺伝子導入機能についてまとめている。結果として、架橋が導入されていないミセルの場合、凍結乾燥/再溶解処理により、凝集してしまい、遺伝子導入効率が 1/100 以下に低下するのに対し、チオール基導入率 13% 以上の架橋ミセルでは、その様な凝集は見られず、遺伝子発現効率も変化しないということが確認されている。さらに、28% 以上の導入率を有する架橋ミセルは、*in vivo* での遺伝子導入を可能にすることも確認しており、本架橋システムが実用的にも価値が高いことを実証的に主張していると評価できる。

第4章では、エンドソーム内の pH 変化を利用して、効果的に細胞質へ脱出する機能を有する新規ミセル型ベクターの調製とその機能について検討されている。まず、ポリマーの合成に始まり、ミセル調製とその物理化学的な機能評価、そして培養細胞への遺伝子導入に至る幅広い評価について述べられている。結果として、より少量のカチオン性高分子による高い安定性と遺伝子発現効率を得られており、*in vivo* への効果が期待されるシステムの構築が成されたものと結論づけられている。

第5章は総括であり、本研究で構築された架橋システムとエンドソーム脱出機能を有するシステムのそれぞれの機能についてまとめるとともに、今後のミセル型キャリアの展望について述べている。

以上のように、本論文は、機能性高分子ミセルが、遺伝子キャリアとして効果的に機能することを、その合成から動物実験に至る一連の周到な実験から実証しており、将来的には、このような試みを推進することによって、遺伝子治療も達成されるものと期待される。本論文の内容は、その独創的なアプローチや得られた成果の高い有用性から考えて、バイオマテリアル工学の分野において極めて秀逸であると判定される。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。