

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 伊藤 智美

本論文は、生体内において診断と治療の双方を同時に行うことができる生体内導入型診断・治療ナノマシン（生体反応自律応答型ナノマシン）の開発を目指し、細胞上の生体分子を認識し、その場で選択的に酵素反応するポリマーナノ粒子の創製を目的としている。生体の防御反応を回避できる細胞膜類似表面をもつポリマーナノ粒子に、生体反応に応答するための抗体、細胞機能の制御が可能な酵素、さらに細胞周辺の環境の微小な変化に応答するグラフトポリマー鎖を固定化している。これにより、抗体で標的部位に特異的に反応したのち、ナノ粒子表面のポリマー鎖の構造変化が生じて酵素が反応を開始するような巧妙な機序の実現を図っている。また外部から刺激を与えるのではなく細胞周辺の環境に応じて反応を開始するという自発的な制御法としての新たな概念を提示している。細胞膜の構造に着目し分子設計された、リン脂質極性基を有する 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)を一成分とした共重合体が、タンパク質の吸着を著しく低減し、細胞の接着、活性化も抑制して、極めて高い生体親和性を有することを利用している。これをポリマーナノ粒子の表面設計に展開し、分子診断や治療のためのナノマシンの創製へと発展させている。本論文では、リン脂質極性基を有するポリマーナノ粒子を調製し、ポリマーナノ粒子の物理的特性、バイオ分子との結合特性およびバイオ分子の活性制御についての知見を全7章で展開している。

第1章では、社会的背景、目的、意義、および周辺領域の研究例の概観を通し、本研究の新規性・独創性を示しており、以降の各章への導入となっている。

第2章では、細胞膜類似表面を有するポリマーナノ粒子の調製を目的とし、タンパク質結合部位とリン脂質極性基を有するポリマーの合成を行い、さらにこのポリマーを用いてポリマーナノ粒子の調製し、物性評価および表面解析を行っている。

第3章では、ポリマーナノ粒子へのバイオ分子の導入について検討している。蛍光標識されたバイオ分子（抗体）をポリマーナノ粒子に導入し蛍光強度を測定することにより結合の確認をしている。またバイオ分子の構造及び活性が変化することなく結合できることを明らかにしている。

第4章では、ポリマーナノ粒子に2種類のバイオ分子の同時固定化を実施し、これに成功している。すなわち、2種類のバイオ分子の割合を変化させた混合液を用いてポリマーナノ粒子と反応させると、ポリマーナノ粒子上に結合するバイオ分子の割合を任意に制御できることを明らかにしている。また異種タンパク質を結合させていながら、お互いの反応を阻害することなく進行することも見だしている。これにより、抗体による細胞膜上の特異部位の認識を酵素による特定バイオ分子との反応が可能であることを結論している。

第5章では、生体反応に応答するシステムの構築を目指し、ポリマー鎖として生体環境下で

の pH 変化で構造転移を誘起するポリグルタミン酸に着目して、環境変化に応答する系を導入している。プレート表面に酵素及びポリグルタミン酸を同時に固定化した場合、生体内 pH 環境から pH が低下する (pH6) ことで酵素の活性が上昇することを見いだした。これは、ポリグルタミン酸で覆われていた酵素が、pH 低下に対応した構造変化により、基質との反応性が変化したと考えられた。一方、ポリマーナノ粒子での酵素活性は、酵素のみを結合した場合と有意な差がなく、活性変化が見られなかったことについて、pH 応答性を得るためには粒子表面に存在する酵素とポリグルタミン酸の量や固定化密度が重要であるとの知見を得ている。

第6章では、ポリマーナノ粒子の細胞毒性評価、細胞表面上での酵素反応について検討している。ポリマーナノ粒子の細胞毒性は、一般のポリスチレンナノ粒子と比較しても、有為に細胞毒性が低いことを明らかにしている。また酵素を結合したポリマーナノ粒子は細胞表面上でも酵素反応が進行することを示している。これらの結果は、リン脂質二分子膜上にタンパク質が存在する細胞膜構造をポリマーナノ粒子上に再現できることを明確に示している。

第7章では、細胞に対するポリマーナノ粒子の挙動についての評価を総括している。これらの研究の遂行により、新しい医療、細胞標的治療など先端医療に適用できるナノマシンとしての生体反応自律応答型ポリマーナノ粒子の設計概念を提示している。

以上、生体分子を認識しそれに対して選択的に反応する、自律応答型ナノマシンを創製するためのポリマーナノ粒子の設計および生体反応に応答するシステムの概念を提示したことはマテリアル工学の発展、応用展開に大きな貢献をした。

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る。