

審査の結果の要旨

氏名 カブラル ロレンゾ オラシオ アマデオ

生体適合性に優れたナノスケールの微粒子である高分子ミセルは、高い血中滞留性を示す一方で、腫瘍毛細血管の選択的透過性亢進作用（EPR 効果）によって、固形ガンに効果的に集積することが示されている。これらの特性を利用することによって、高分子ミセル内核に薬物を搭載することで新規な制ガン剤送達システムの創製が期待できる。これまでにポリエチレングリコール(PEG)-ポリアミノ酸ブロック共重合体が形成する高分子ミセル内核に、広く臨床応用されている制ガン剤であるシスプラチンを導入し、その物理化学的、生物学的評価から、高分子ミセルの制ガン剤送達システムとしての有用性が確認されている。本研究では、マテリアル工学的観点から第三世代の白金系制ガン剤であるオキサリプラチンの活性形である Dichloro(1,2-Diaminocyclohexane)Platinum(II) (DACHPt)を導入した高分子ミセルを新たに構築し、その新規制ガン剤送達システムとしての機能を検証し、高分子ミセル型薬物キャリアにおける構造—機能相関を明らかにすることを目的としている。以下、各章毎に、本論文の審査結果の概要を述べる。

第1章の序論においては、ガンの標的治療における高分子キャリアの重要性から説き起こし、PEG-ポリアミノ酸ブロック共重合体からなる制ガン剤内包高分子ミセルの有用性を指摘している。さらに、制ガン剤内包高分子ミセルのこれまでのガン標的治療における展開を述べるとともに、白金系制ガン剤を内包する高分子ミセルを創製する意義および新たに第三世代の白金系制ガン剤である DACHPt を高分子ミセルに内包することの論点を明確に述べている。

第2章では、DACHPt と PEG-poly(glutamic acid)ブロック共重合体 (PEG-PGlu)、もしくは PEG-poly(aspartic acid)ブロック共重合体 (PEG-PAsp)との間の金属錯体形成に基づく DACHPt 内包高分子ミセルを調製し、その粒径や生理的塩濃度に調製した緩衝液中における薬物放出挙動などのキャラクタリゼーションを行っている。その結果、両者ともに粒径 40 nm 程度の極めて単分散性が良好な高分子ミセルを与えることを明らかにしている。また、これらの DACHPt 内包高分子ミセルは純水中では長期にわたっての安定性を維持するが、生理的塩濃度下の緩衝液中においては、長期にわたる薬物徐放挙動を示すことが示されている。さらに、内包薬物の徐放挙動に関して、PEG-PAsp と PEG-PGlu から形成される高分子ミセルについて詳細な比較解析を行っており、後者の方がより長期にわたって一定の薬物徐放が可能であること、ならびに徐放が開始されるまでに十分な誘導期を有することを見出している。このような挙動について、両方のブロック共重合体におけるポリアミノ酸セグメントの疎水性ならびに白金錯体の配位機構の面からの考察を行い、PEG-PGlu から形成される DACHPt 内包高分子ミセルの方が薬物キャリアとして優れた性質を有することを結論づけている。

第3章では、マウス大腸ガン由来の細胞株である C26 を用いることによって、DACHPt 内包高分子ミセルの *in vitro* 制ガン活性評価を低分子のプロドラッグであるオキサリプラチンと比較しながら検討している。高分子ミセルに内包した DACHPt はオキサリプラチンよりも

一桁ほど毒性が低いものの、長期接触によってその活性が上昇していくことが観察され、時間とともに高分子ミセルより薬物が徐放されることを確認している。さらに、ヒト腫瘍細胞パネルを用いて各種ガン細胞に対する活性を網羅的に検討した結果、一部の細胞種においては、オキサリプラチン単独の場合よりも高い細胞毒性を示すことを見いだしている。また、DACHPt 内包高分子ミセルは、シスプラチン耐性ガン細胞に対してオキサリプラチンよりも高い活性を有することを見いだしており、白金錯体制ガン剤に対して耐性を獲得したガン細胞についても高い効果を発揮することを示唆している。さらに、これらの結果についての考察を行い、DACHPt 内包高分子ミセルが直接、細胞内に取り込まれることによって、従来の低分子制ガン剤とは異なる機序で細胞へ作用する可能性を指摘している。

第4章では、DACHPt 内包高分子ミセルの *in vivo* 評価を行っている。DACHPt 内包高分子ミセルは、オキサリプラチンに比べて高い血中滞留性を有するとともに、48 時間後において約 20 倍という優れた腫瘍集積性を示すことを確認している。また、ブロック共重合体の組成との関連においては、PGlu 鎖長の短い方が、相対的に高分子ミセル外殻の PEG 密度が上昇する結果、ガン以外への一般臓器、特に肝臓への非特異的集積が抑制され、腫瘍への選択的集積性が增大することを見出している。さらに、C26 をはじめとする種々の腫瘍モデルに対して、DACHPt 内包高分子ミセルが高い制ガン活性を示すことを確認し、その固形ガン治療における有用性を示している。さらに、DACHPt 内包高分子ミセルは悪性黒色腫の肺転移モデルに対しても高い増殖抑制効果をもたらすことを見いだしており、本系が原発ガンのみならず転移ガンの治療に対しても高い有用性を示すことを指摘している。

第5章では制ガン剤内包高分子ミセル表面への葉酸コンジュゲートについて述べている。これは、葉酸を高分子ミセル表面に担持させることで、腫瘍細胞に特異的に過剰発現している葉酸受容体との選択的結合を介して、高分子ミセルが細胞内へ取り込まれることを意図した分子設計である。葉酸担持高分子ミセルが葉酸受容体に対して特異的な結合活性を有することを確認した後に、*in vitro* における細胞毒性評価を行い、葉酸担持高分子ミセルが葉酸非担持高分子ミセルよりも優れた効果を示すことを見いだしている。この結果から、高分子ミセル表面に葉酸などのリガンドを導入することで、制ガン剤内包高分子ミセルの腫瘍細胞への特異的選択性の向上が可能であると結論づけている。

以上のように本論文では、高分子ミセルがオキサリプラチン活性型薬物である DACHPt を送達するキャリアとなり得ることを培養細胞レベルのみならず系統的な動物実験を行うことから明らかとしており、その際には、ブロック共重合体組成の精密制御が不可欠であるというマテリアル工学的見地から重要な結論を導き出している。さらに、固形ガン部位における血管透過性の亢進を利用した受動的ターゲティング (EPR 効果) のみならず、高分子ミセル表面にリガンド分子を搭載することで腫瘍に対して特異的に集積し、顕著な制ガン活性を発現し得るという能動的ターゲティングの可能性をも示している。リガンド分子の機能発現が例示する化学的修飾による機能性付与の可能性は、今後の高分子ミセル系薬物送達システムにおける新たな展開を示しており、優れた展開であると考えられる。また、本研究の成果に基づき、DACHPt 内包高分子ミセルの臨床開発が始まっていることも、特筆に値する事項で

ある。本論文の内容は、白金錯体系制がん剤による新規治療法を高分子材料設計の観点より提案するものであり、その独創的なアプローチやガン化学療法における有用性から考えて、バイオマテリアルを中心とする医工学研究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。