

審査の結果の要旨

氏名 安楽 泰孝

昨今、ナノテクノロジー主導のバイオテクノロジー研究が盛んに行われている。これらの研究の目標の一つに、生体内で活躍できる『バイオナノデバイス』の創製がある。種々の生理活性物質、診断材料などを安全に生体に持ち込むためには、生体適合性材料でデザインされたナノカプセルの開発が必須である。中でも中空粒子はひととき有望であり、リポソーム・高分子ベシクルを利用した材料の開発が数多くなされてきた。近年、これらの集合体形成の弱点(煩雑な調製法等)を補うべく、水系での単純な調製を特徴とする『ポリオンコンプレックス型ポリマーソーム(PICsome)』が開発された。本学位請求論文においては、これまでに報告された PICsome がいずれも μm サイズであり、そのサイズ・構造・物性制御法確立されていない点に着目し、薬物送達などで有用と考えられるサブミクロンサイズの PICsome、すなわち、Nano-PICsome の創製とその物性・機能評価が行われており、その結果からサイズと物性を制御した Nano-PICsome を設計する指針が明らかにされている。さらに、Nano-PICsome の *in vivo* 評価を行うことで、既存の中空粒子を超える汎用性の高いデリバリーキャリアとしての有用性がまとめられている。本論文は、以下の 6 章からなる。

第 1 章は序論であり、既存のベシクル(リポソーム、ポリマーソーム)の一般的な特徴とその有用性に触れるとともに、ポリオンコンプレックス (PIC) 材料並びに従来の PICsome の物性にも触れ、本研究の意義及び論点を明確としている。

第 2 章では、Nano-PICsome の調製とその物性評価について詳細に検討している。これまでに得られた知見を基に、PIC を形成するポリマー成分の PEG 含有率と緩衝液のイオン強度に注目し、ポリアニオンに PEG-poly(α,β -aspartic acid) (PEG-P(Asp) (45-75))、ポリカチオンに PEG 鎖を有さない Homopoly([5-aminopentyl]- α,β -aspartamide) (Homo-P(Asp-AP) (82))を、緩衝液に pH 7.4 10 mM リン酸緩衝液 (0 mM NaCl)を用い、電荷比が等しくなるように混合すると、一枚膜構造(膜厚; 10-15 nm)の Nano-PICsome が得られることが明らかにされている。また、調製時のポリマー溶液濃度を変えることで、容易に Nano-PICsome のサイズ制御が可能であること、並びに内水相への水溶性高分子の内包が可能であることが議論されている。さらに、Nano-PICsome を形成する PIC 膜の構造と関連した物質透過挙動についても検討を行い、Nano-PICsome が有する基本的

な物性を成分ポリマーの構造との関連でまとめている。

第3章では、Nano-PICsome が経時変化に伴い高い単分散性と狭い粒径分布を保ったまま数日かけて成長し、その後、成長が止まる(100→280 nm)という特異な挙動を示すことを見出している。申請者はここで、その成長過程を分子レベルで解析し、動的挙動発現メカニズムの解明を試みている。その結果、Nano-PICsome 調製直後の溶液中には、ベシクルである Nano-PICsome 以外に 1 対、または 2 対の PIC が存在しており、時間依存的に Nano-PICsome 膜中に取り込まれることでサイズ成長を助長していることを明らかにしている。また、成長後に再度激しく攪拌することで、初期の状態に戻すことが可能であるというベシクル生成の可逆性をも見出している。

第4章では、水溶性の縮合剤である 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride)を用いて PIC 膜中にアミド結合を形成することで、生理条件下でも安定にサイズと構造を維持可能な架橋 Nano-PICsome を調製することに成功している。さらにこの架橋 Nano-PICsome は、従来の Nano-PICsome とは異なり「耐凍結乾燥」「耐遠心濃縮安定性」を有していることをも明らかとしている。また、加える架橋剤の量で PIC 膜の透過性をコントロールできることが示されており、選択透過性を有する Nano-PICsome という新しいベシクルキャリアの提案を行っている。

第5章では、サイズの異なる架橋 Nano-PICsome を調製し、担がんマウスの尾静脈より循環血液中に導入することによって、その血中滞留性および臓器分布を評価している。その結果、100~150 nm の架橋 Nano-PICsome は、がん組織における血管壁が物質透過性の亢進を示すという性質 (EPR 効果) に基づいて、がん局所への高い集積性を示すことを明らかとしている。一方、サイズを大きくした 150~200 nm の Nano-PICsome は、約 20 時間という著しく長い血中半減期を達成出来ることが示されている。この値は、これまで報告されている他の中空粒子型キャリアと比較して、同等かもしくはそれ以上であり、今後、生体内長期循環型デリバリーキャリアとして応用展開される可能性が示唆されている。

第6章では、2~5章で検討した内容を簡潔にまとめるとともに、Nano-PICsome の医療分野への応用、今後の展望について議論することで本論文を閉じている。

以上のように本学位請求論文は、Nano-PICsome の調製を出発点として、その物性制御、動的挙動発現メカニズムの解明、PIC 膜修飾による安定性の賦与等を通し、得られた特性を活かしてサイズの異なる Nano-PICsome による体内動態の相違を明らかにすることで、Nano-PICsome がデリバリーキャリアとして用いる上で、大きなメリットを有していることを見出し、さらにその構造特性の制御機構にまで踏み込んだ議論と構造設計指針が打ち出されている。このように本

論文の内容は、サイズと構造が厳密に制御された中空粒子を設計する独創的な指針の提案や得られた成果の薬物送達システムとしての高い有用性から考えて、バイオマテリアル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。