

審査の結果の要旨

氏名 加賀谷英生

本研究は、血管病変に対する効果的な遺伝子導入を実現するため、環状型 RGD ペプチドをリガンドとして導入した高分子ナノミセルをベクターとして用いた遺伝子デリバリーシステムの遺伝子導入効率の評価を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. HUVEC ならびに VSMC に対する遺伝子発現量の解析の結果、HUVEC に対しては、cRGD-PEG-PAsp(DET) ミセルを用いた遺伝子発現量は、PEG-PAsp(DET) ミセルと比べ、N/P 比 5 および 10 において有意に高かった。同様に、VSMC に対しては、cRGD-PEG-PAsp(DET) ミセルを用いた遺伝子発現量は、PEG-PAsp(DET) ミセルと比べ、N/P 比 4 および 5 において有意に高かった。
2. HUVEC ならびに VSMC に対する高分子ナノミセルの細胞内取り込みの解析の結果、投与後 0.5, 1, 3 時間後の測定において、HUVEC, VSMC とともに、cRGD-PEG-PAsp(DET) ミセルを投与された群は PEG-PAsp(DET) ミセルと比較して有意に細胞内取り込み量が高かった。
3. HUVEC ならびに VSMC に対する高分子ナノミセルの細胞内動態の解析の結果、投与後 6 時間ならびに 24 時間での観察で、ともに、cRGD-PEG-PAsp(DET) ミセル投与後の pDNA は、PEG-PAsp(DET) ミセル投与後の pDNA と比較して、よりカベオソームと共局在する比率が高かった。一方、PEG-PAsp(DET) ミセル投与後の pDNA は、cRGD-PEG-PAsp(DET) ミセル投与後の pDNA と比較して、よりエンドソームならびにリソソームと共局在する比率が高かった。
4. 内膜肥厚モデルにおける遺伝子発現の解析の結果、cRGD-PEG-PAsp(DET) ミセルを投与された動脈では投与後 day 2 の時点における遺伝子発現量がもっとも高く、投与後 day 3 ならびに day 4 のルシフェラーゼ活性は投与後 day 1 のそれとほぼ同等であった。一方、PEG-PAsp(DET) ミセルを投与された動脈では、投与後 day 1 でピークを迎え、投与後 day 3 ならびに day 4 はごくわずかであった。統計学的解析では、投与後 day 1 での比較において PEG-PAsp(DET) ミセルを投与された群の遺伝子発現量は、cRGD-PAsp(DET) ミセルを投与された群に比べ有意に高かった。しかしながら、投与後 day 3 ならびに day 4 での比較においては、逆に cRGD-PEG-PAsp(DET) ミセルを投

- 与された群は、PEG-PAsp(DET)ミセルを投与された群に比べ有意に高かった。
5. 内膜肥厚モデルにおける高分子ナノミセルの肥厚内膜への取り込みの解析の結果、投与1日後の観察で、cRGD-PEG-PAsp(DET)ミセル投与後のpDNAはPEG-PAsp(DET)ミセル投与後のpDNAに比べ、取り込み量が有意に高かった。

以上、本論文は、培養細胞ならびに内膜肥厚モデルにおいて、遺伝子発現ならびに取り込みの解析から、リガンドを導入されたcRGD-PEG-PAsp(DET)ミセルはPEG-PAsp(DET)ミセルとは異なる特徴を有することを明らかにした。本研究はこれまで優れた方法が皆無に等しかった、非ウイルスベクターを用いた血管病変への遺伝子デリバリーシステムの構築に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。