

審査の結果の要旨

氏名 内田 智士

本研究は pDNA や mRNA といった核酸を内包させた生体適合性ナノミセルの将来の臨床応用を目指し、特に *in vivo* 応用の研究を進めることで、その機能評価、システムの改良、新たな応用方法の開発を試みたもので下記の結果を得ている。

1. 生体適合性ナノミセルを *in vivo* 導入する際に、ナノミセル溶液中に存在する核酸と結合していないフリーポリカチオンが急性毒性の原因となっていることを見いだした。それに対して、生体内ポリアニオンであるコンドロイチン硫酸(CS)を添加すると、CS がフリーポリカチオンと結合することで、フリーポリカチオンに起因する毒性が軽減されることが示された。
2. ナノミセル表面のポリエチレングリコール(PEG)は、ナノミセルの生体適合性において重要な役割を果たす一方で、細胞内取り込みやエンドソーム脱出といった核酸導入に至る様々な過程に対して阻害的に働くことが知られていた。このような PEG ジレンマを解消するために、ナノミセル表面の PEG 密度の最適化を試みた。そこで得られたナノミセルはフリーポリカチオンが少ない環境下でも効率的な核酸導入効率を示したことから、安全な核酸導入システムとして極めて有望である。
3. *in vivo* 環境で核酸キャリアが毒性を惹起するメカニズムの解明を調べたところ、ナノミセル表面の PEG が *in vivo* 環境におけるナノミセルの凝集を防ぐことで、マクロファージによるナノミセルの貪食やそれに伴う炎症が抑制されることが強く示唆された。この結果は *in vivo* 核酸導入における PEG の必要性を示しており、今後の非ウイルス性核酸ベクターの設計において重要な指針となるものである。
4. mRNA デリバリーは、ホストゲノムへの挿入変異を伴わずに、生体内で持続的に治療用タンパク質を産生させる手段として有望だが、mRNA が生体内で不安定であること、更に Toll 様受容体(TLR)を介した免疫原性を持つことから、その *in vivo* 応用は限られていた。これに対してナノミセルで mRNA を内包させ、*in vivo* 中枢神経系への導入を行ったところ、mRNA の不安定性、免疫原性の問題が克服され、1 週間近くにわたるタンパク質発現が得られた。
5. ナノミセルは高い安全性を示すため、培養細胞に対してその機能を損なわずに核酸を導入することが可能である。この性質を生かしナノミセルの核酸導入細胞移植への応用を試みたが、その際に移植細胞の宿主組織における機能を高めるため、3次元培養システムであるスフェロイド培養を用いた。ナノミセルを用いて *ex vivo* でスフェロイドに対して pDNA を導入し、そのスフェロイドを皮下移植したところ、移植組織において1か月以上にわたる核酸の効率的な発現を認めた。

以上、本論文では既存のナノミセルシステムの安全性の更なる向上に成功しただけでなく、安全性に関するメカニズムの詳細な解析や細胞移植への応用においても優れた成果が得られている。本論文で得られた知見は、将来のナノミセルの臨床応用に向けて重要な礎を築くことで、新たな医療の可能性を提示するものである。したがって、学位の授与に値するものと考えられる。