HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | GALA修飾ナノ粒子の肺血管内皮標的化メカニズム解明と核酸創剤への応用展開 [論文内容及び審査の要旨] |
| Author(s) | 楠本, 憲司 |
| Citation | 北海道大学. 博士(薬科学) 乙第6952号 |
| Issue Date | 2015-03-25 |
| Doc URL | http://hdl.handle.net/2115/59262 |
| Rights(URL) | http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/ |
| Type | theses (doctoral - abstract and summary of review) |
| Additional Information | There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL. |
| File Information | Kenji_Kusumoto_review.pdf (審査の要旨) |

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

# 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（薬科学）　　氏　名　　楠本　憲司

| | | | |
|---|---|---|---|
| | 主　査 | 教　授 | 原　島　秀　吉 |
| 審査担当者 | 副　査 | 教　授 | 武　田　宏　司 |
| | 副　査 | 准教授 | 秋　田　英　万 |
| | 副　査 | 講　師 | 中　川　宏　治 |

## 学 位 論 文 題 名

GALA 修飾ナノ粒子の肺血管内皮標的化メカニズム解明と核酸創剤への応用展開

## 博士学位論文審査等の結果について（報告）

Short interference RNA（siRNA)などの小分子核酸を医薬として応用する為には、本分子を適切な臓器に届けるための技術（体内動態制御技術）と、さらに細胞質まで届ける技術（細胞内動態制御技術）が必要となる。これらを達成するためのアイデアの一つとして、これまで遺伝子や siRNA が脂質膜に封入された多機能性エンベロープ型ナノ構造体が構築されてきた。本粒子は、様々な体内動態制御素子や細胞内動態制御素子を一つのナノ粒子内に搭載する上で極めて有用である。一つの機能性素子の例として、pH 依存的に α-ヘリクス構造をとり、エンドソーム膜との融合を促進するためのペプチド（GALA）が挙げられる。本素子の修飾によりこれまで核酸や抗体などを細胞質内に届ける技術を開発することに成功している。一方、近年、GALA は偶然にも、肺の血管内皮細胞に対するリガンドとしても機能することが明らかとなったが、その標的化機構に関する詳細は不明であった。

楠本氏は、本博士論文の中で、GALA の標的化分子の探索を行なうと共に、本ペプチド搭載粒子の医療応用を目指し、siRNA 導入キャリアとしての有用性を示している。また、さらなる工業化を視野に入れ、大量調製に有利なエタノール希釈法による調製法を確立すると共に、その機能評価を行なっている。

１点目の標的化機構の解明に関して、楠本氏は血中における GALA 修飾リポソームの動的挙動に着目している。一般に、カチオン性リポソームを血中に投与すると、これらは赤血球などとの凝集体を形成し、肺血管内皮細胞を閉塞させることで肺に移行することが示されている。GALA 修飾リポソームの肺集積が、これら肺血管の閉塞を伴うものであるかを検証するため、マウスの耳血管中における蛍光ラベル化リポソームの流れを in vivo 共焦点レーザー顕微鏡にて解析した結果、本粒子は極めて分散した形で血液中を流れることを明らかとした。即ち、GALA 修飾リポソームの肺移行は、従来からのカチオン性リポソームの機構とは異なるものであることを意味する。

楠本氏は、GALA が歴史的にインフルエンザの細胞内侵入機構(HA 蛋白の機能)を人工的に再現することをコンセプトに開発されたものであることから、その受容体として知られるシアル酸末端糖鎖が取り込みに寄与しているのではないかという仮説を立てた。実際、各種のシアル酸末端糖鎖結合レクチンの共存により GALA 修飾リポソームの取り込みが、

強く阻害されることが明らかとなった。従って、これら糖鎖が GALA の受容体となることを証明されたと考えられる。

また、楠本氏は、血管内皮のマーカーである CD31 遺伝子に対する siRNA を封入した MEND を開発し、その遺伝子ノックダウン効果を検証している。その結果、これまで臨床応用が進んでいる従来技術と比較しても高いノックダウン効果を得ることに成功している。また、本遺伝子のノックダウンにより、がんの肺転移が抑制されることも見出す事に成功している。

最後に、本粒子の工業的生産を目指し、従来の単純水和法からエタノール希釈法へと製法を変更することにも成功している。予想に反し、製法をエタノール希釈法に変更することによって、その遺伝子ノックダウン効率も高まることを見出している。その機構を解析した結果、これら異なる製法で調製された粒子の体内動態は同じであるものの、むしろ細胞内に取り込まれた後のエンドソーム脱出効率が高まることが要因であることを明らかとした。

以上、楠本氏は、GALA の肺血管内皮標的化機構を解明すると共に、本システムを siRNA の導入技術として発展させることに成功し、さらにそれを大量調製するための技術を開発することに成功している。本システムの siRNA 導入キャリアとしての応用展開は、肺標的化リガンドとエンドソーム脱出素子としての機能を併せ持つ GALA の能力を発揮させる上で極めてエレガントなシステムと言えよう。

よって筆者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。