HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	細胞内動態制御戦略に基づく機能性材料を用いた肝臓標的遺伝子デリバリーシステムの開発［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	鵜川, 真実
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11413号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55303
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Masami_Ukawa_review.pdf, 審査の要旨

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（生命科学）　　氏 名　鵜 川　　真 実

審査担当者	主 査	准教授	秋 田 英 万
	副 査	教 授	原 島 秀 吉
	副 査	教 授	前 仲 勝 実
	副 査	准教授	尾 瀬 農 之

学 位 論 文 題 名

細胞内動態制御戦略に基づく機能性材料を用いた肝臓標的遺伝子デリバリーシステムの開発

博士学位論文審査等の結果について（報告）

遺伝子治療は、難治性の疾患の治療に有効であると考えられており、がんや糖尿病、遺伝性疾患などの様々な疾患をターゲットとした応用研究が行われている。遺伝子導入に用いられるベクターは、ウイルスベクターと非ウイルスベクターに大別される。ウイルスベクターは遺伝子発現活性や持続性の面で優れているが、安全性の面での問題が指摘されている。非ウイルスベクターは安全性に優れているが、ウイルスベクターと比較して性能が劣っていた。本論文は、このような遺伝子治療の現況を踏まえ、リポソーム型核酸送達システムである多機能性エンベロープ型ナノ構造体（Multifunctional Envelope-type Nano Device; MEND）による肝臓への遺伝子デリバリーシステムの開発により、将来的に肝臓における遺伝子治療を達成することを目的としたものである。

第一章では、生体適合性材料である MPC ポリマー（PMB50)に着目し、MEND の細胞内動態に及ぼす影響について検討を行った。MPC 修飾により、細胞内取り込みと遺伝子の脱被覆過程に改善が認められた。そこで筆者は MEND 粒子表面の物理化学的性質の変化に着目し、GALA 修飾 MEND においてのみ MPC 修飾によるゼータ電位低下がみられることから、MEND 表面における GALA のトポロジーが MPC ポリマーによって変化し、GALA の膜融合活性が向上したと結論付けた。一方、細胞内取り込みの上昇はポリマー自身の膜透過性によるものと考えられ、これは肝臓に非選択的なメカニズムであるため、筆者は肝臓への標的性を高めるために MPC ポリマーの修飾なしに中性電荷となる脂質組成の MEND を構築することとしている。

第二章では、pH 応答性脂質様物質（ssPalmM-MEND)を用いて中性電荷の MEND を作製した。人工遺伝子ベクターの弱点とされる遺伝子発現持続性の乏しさを克服するため、分子内に非メチル化 CpG 配列を含まないプラスミド DNA を封入した。その結果、ssPalmM-MEND と CpG 配列を含まないプラスミド DNA を組み合わせた場合のみ遺伝子発現活性が 2 週間程度持続した。一方、CpG 配列を含むプラスミド DNA を用いた場合や、カチオン性表面電荷を有する MEND では持続性は認められなかった。非持続型 MEND を投与したマウスにおいて炎症性サイトカイン産生が起きたことや、サンプル間の肝臓内導入遺伝子量に持続性の有無を説明しうる差が認められなかったことから、筆者は非持続型 MEND 投与時に免疫系を介する導入遺伝子のサイレンシングが起きている可能性を指摘した。

第三章では、第二章で構築した ssPalmM-MEND の改良を行った。本 MEND を臨床において応用するためには、遺伝子発現活性の向上の他に、100 nm 程度の肝類洞血管内皮の間隙を通過し、ヒト肝細胞へ到達するために粒子径の縮減が必要である。そこで筆者は、DNA の凝縮化に必須と考えられていたポリカチオンを用いずに MEND を作製することとした。筆者は DNA がエタノール水溶液中で不溶化することを利用し、ポリカチオンによる凝縮化を経ずに ssPalmM 脂質エンベロープに封入することに成功した。本製法を用い、従来の製法では不可能であった 100 nm を大きく下回る大きさの MEND の調製に成功した。また、脂質組成の最適化により、第二章の ssPalmM-MEND と比較して遺伝子発現活性を 10 倍程度上昇させ、本製法の有用性を示した。

これを要するに，著者は，肝臓を標的とした人工遺伝子ベクターの開発にとって重要な新知見を得たものであり、臨床における遺伝子治療の実現に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は，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。