



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Targeting macrophages in the tumor-microenvironment to enhance their anti-tumorous functions by gene silencing using optimized siRNA-loaded lipid nanoparticles [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	SHOBAKI, NOUR A. K.
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第13771号
Issue Date	2019-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/75921
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SHOBAKI_NOUR_review.pdf, 審査の要旨



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 Nour A. K. Shobaki

審査担当者	主 査	教 授	原 島 秀 吉
	副 査	教 授	小 川 美 香 子
	副 査	准教授	山 田 勇 磨
	副 査	講 師	高 倉 栄 男
	副 査	助 教	佐 藤 悠 介

学 位 論 文 題 名

Targeting macrophages in the tumor-microenvironment to enhance their anti-tumorous functions by gene silencing using optimized siRNA-loaded lipid nanoparticles
(siRNA 搭載脂質ナノ粒子を用いた遺伝子抑制によるがん微小環境中におけるマクロファージの抗腫瘍性強化)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

がん組織では間質成分及び細胞が特殊な微小環境を構築しており、これをがん微小環境と呼ぶ。マクロファージはがん微小環境中に多数存在し、腫瘍関連マクロファージ（tumor-associated macrophage; TAM）と呼ばれ、その多くはがん微小環境によって教育されることで腫瘍促進性の表現型（M2）を示す。血管新生促進、がん細胞増殖促進および免疫抑制などの様々なメカニズムを介してがんの進展に寄与していることから、M2 マクロファージの抗腫瘍性（M1）へのリプログラミングを標的とした新たながん免疫療法が着目されている。一方で、TAM への選択的な薬物送達に関する報告は少なく、動物モデルにおける上記コンセプトに基づくがん治療効果を示した報告は無い。

本論文は、任意の遺伝子発現を抑制可能な short interfering RNA (siRNA) を TAM へ選択的に送達し、その薬効を発現可能なデリバリーシステムを開発すること、さらに、M2 表現型の誘導・維持に重要な遺伝子発現の抑制により M1 表現型へリプログラミングすることでがん微小環境を改変し、がん治療への応用性を実証することを目的としている。

筆者はまず、マクロファージへの効率的な siRNA デリバリーシステムの開発を目的として、高膜融合性 pH 感受性カチオン性脂質 CL4H6 を基盤とした脂質ナノ粒子（lipid nanoparticle; LNP）の最適化を行った。その結果、骨髓由来マクロファージにおいて標的遺伝子を 80%以上抑制することに成功した。汎用されている市販のトランスフェクション試薬では抑制率 50%に満たないことから、マクロファージ標的に有用な LNP を構築したと判断できた。続いて、LNP 表面に修飾するポリエチレングリコール（PEG）量を検討した結果、LNP のがん組織への集積に重要なパラメーターである高い血中滞留性と優れた血中安定性を両立する LNP の構築に成功した。ヒト腎細胞がん由来 OS-RC-2 細胞皮下移植がん組織内における LNP の分布をフローサイトメトリーにより定量的に調べたところ、LNP はがん細胞を含む非白血球集団、好中球、およびその他の白血球集団と比較して TAM へ 5～20 倍選択的に取り込まれることを明らかにした。さらに、同がんモデルマウスに LNP を静脈内投与した結果、TAM における標的遺伝子の 70%程度の抑制が認められた。最後に、同がんモデルマ

ウスにおける治療実験を行った。siRNA はヒトがん細胞における遺伝子抑制に起因する抗腫瘍効果への影響を排除する目的でマウス特異的な配列を選定した。実験の結果、LNP 投与により有意な抗腫瘍効果が認められ、また、陽性対照であるドキソルビシン封入リポソーム製剤と同等以上の効果を示した。がん組織における遺伝子発現解析を行った結果、標的遺伝子発現の減少、M1 マクロファージの増加、血管内皮細胞の減少、がん増殖性サイトカインの減少が認められ、血管新生の抑制およびがん増殖阻害を介した抗腫瘍効果が示唆された。

これを要するに、著者は、*in vivo* モデルにおいて TAM への選択的かつ効率的に siRNA を送達可能な LNP 製剤を開発し、TAM における遺伝子発現の抑制によるがん治療という治療戦略の **proof of concept** を得ることに成功した。本知見は TAM を標的とした新たながん免疫療法の開発に大いに貢献することが期待される。

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