HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | Creation of anticancer nanomedicine targeting lysosomal glycosidases [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s) | 小出, 亮介 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(生命科学) |
| Dissertation Number | 甲第13825号 |
| Issue Date | 2019-12-25 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/76599 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Ryosuke_KOIDE_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　　小出　亮介

| | | | |
|---|---|---|---|
| 審査担当者 | 主　査 | 教　授 | 西村　紳一郎 |
| | 副　査 | 教　授 | 幸田　敏明 |
| | 副　査 | 教　授 | 門出　健次 |
| | 副　査 | 教　授 | 比能　洋 |
| | 副　査 | 講　師 | 谷口　透 |

## 学 位 論 文 題 名

Creation of anticancer nanomedicine targeting lysosomal glycosidases

(がん細胞のリソソーム糖分解酵素を標的とするナノ医薬の創出)

## 博士学位論文審査等の結果について（報告）

細胞膜の基本構造は両親媒性のリン脂質が安定な二重膜構造を自己組織的に形成することにより構築されている。リン脂質の中でもホスフォリルコリン基（PC 基）を頭部に持つホスファチジルコリンとスフィンゴミエリンの総量は生体膜を構成するリン脂質全体の70%以上を占めているがこの２つのリン脂質にはホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、あるいはホスフォイノシチドなど他のリン脂質とは全く異なる重要かつ普遍的な「抗接着性（生体内の多様な分泌タンパク質の非特異的な吸着を排除する性質）」という機能が存在する。

申請者は生体膜の抗接着性の重要性と構造に着目してこの機能を付与した新たなナノ医薬の創製を最終的な目的とする研究に取り組み、まず細胞が放出する微粒子であるエクソソームをモデルとして「ナノソーム」を作製した。ナノソームは生体膜に存在する最も重要なリン脂質が共有する PC 基を頭部に持つ単純なリン脂質モデルであるアルカンチオール誘導体（11-mercaptoundecylphosphorylcholine）から成る配向制御された単分子膜で完全被覆した直径 10～30 nm 程度の金属あるいは金属酸化物半導体を基本構造とするナノ微粒子である。自己組織化により高度に配向制御された高密度 PC 基からなる単分子膜（PCSAM）で覆われたナノソームの表面は低い分極率と両性イオン（zwitterion）構造に基づく静電相互作用によって安定な水和構造の形成に極めて有利であることが示された。すなわち、自然界に存在するリン脂質の極性基の大部分を占めるこの zwitterion の超分子構造が生体膜表面の抗接着性の本質であることがナノソームを用いた実験により初めて証明された。実際、高密度 PC 修飾アルカンチオール単分子膜で共有結合を介して被覆された蛍光性ナノ微粒子である量子ドット（PCSAM-QD）は 100%血清に長時間暴露しても血清タンパク質の非特異的吸着が検出されないことを蛍光相関スペクトルにより実証している。これに対して

現在微粒子表面の被覆に広く用いられているポリエチレングリコール（PEG）誘導体により修飾した同じサイズのナノ微粒子は血清と接触した瞬間に血清タンパク質の非特異的吸着による凝集・沈殿を生じることも明らかになった。この現象はこれまでに開発された様々なナノ微粒子表面において観察されており、「タンパク質コロナ」として広く認知されているが同時にドラッグデリバリーシステム（DDS, drug delivery system）などを指向するナノ医薬品の研究開発において最も重大で深刻な問題となっている。このような背景からタンパク質コロナを表面で形成しない抗接着性のナノソームはエクソソームに代表される細胞外微粒子モデルとしてのみならず、さらに高機能性を付与して新たなナノ医薬品の創出を目指す創薬研究においても有望な材料であることが示されている。

次いで、申請者は抗接着性の表面構造を実現したナノソームの医薬品、特に低分子化合物（ペイロード）の担体としての機能化に関して、多くのがん細胞のリソソーム内で高発現していることが知られている糖分解酵素を標的分子とする具体的な実験を進めている。まず、ナノソーム表面で抗接着性と低分子薬剤などのペイロードを簡単に提示する機能を同時に満たすため、混合単分子膜（PC/AO-mixed SAM, AO=aminooxy linker）により被覆することでナノ微粒子表面に様々なアルデヒド/ケトン化合物を任意の表面密度で提示可能とした。さらにこれらの新たに作製した低分子アルデヒド/ケトン誘導体を提示したナノソームの抗接着性、粒径分布や表面のゼータ電位を含めた品質管理の工程をも含む合成プロトコルを確立している。

がん細胞は細胞外からエンドサイトシスやマクロピノサイトシスによって取り込む大量の糖タンパク質をリソソームで分解し、生成したアミノ酸や糖を再利用して細胞の増殖に必要な新しい糖タンパク質を異常なスピードで生合成している。そこで、申請者はこの過程で最も重要な役割を担うリソソームに分布しているエクソ型糖分解酵素であるβ－ヘキソサミニダーゼに対する低分子阻害剤を合成・担持したナノソームを新たに作製してその抗がん活性を評価した。その結果、このナノソームはエンドサイトシスによって取り込まれた後リソソーム膜を崩壊してがん細胞（肝細胞がん）のアポトシスを低濃度（$IC_{50}$=10 nM）で誘導すること、さらにこのがん細胞を移植したマウスにおいても顕著な抗がん活性を示すことが明らかとなっている。

本研究によって初めて実現した抗接着性のナノ微粒子である「ナノソーム」は多種類の低分子化合物や様々なリガンド分子を同時にしかも簡単にその表面に提示できるので、現在も広く利用されている PEG 修飾リポソームや高分子ミセル等を凌駕するこれまでに類を見ない全く新しいタイプの創薬プラットホームとして極めて有望である。研究成果の主要な部分については既に一般化学分野において世界的に権威ある学術雑誌に掲載されており（Koide and Nishimura, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 14513）、この領域のこれからの発展に大いに貢献することは明らかである。

よって、審査員一同は申請者が博士（生命科学）の学位を授与されるに十分相応しいと判断した。