



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Design of Novel Targeted Co-delivery System for Combined Chemotherapy and Gene Therapy of Hepatocellular Carcinoma [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	MAHMOUD, ABUBAKR AHMED YOUNIS
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第14219号
Issue Date	2020-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/79406
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mahmoud_Younis_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 Mahmoud AbuBakr Ahmed Younis

主査教授	原島秀吉
審査担当者 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

学位論文題名

Design of Novel Targeted Co-delivery System for Combined Chemotherapy
and Gene Therapy of Hepatocellular Carcinoma
(肝細胞癌に対する化学療法と遺伝子治療の新規併用療法の確立)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

肝細胞癌 (Hepatocellular carcinoma: HCC) は世界で 5 番目に多いがん疾患であり、癌による致死率は 3 番目に高い癌である。化学療法剤による生存率は 10～15% で、耐性発現がその主因となっている。ソラフィニブ (SOR) は FDA により認可されているマルチキナーゼ阻害薬であり、耐性の HCC に対して使用されるが、SOR に対する耐性が生じると打つ手はなくなる。また、SOR の投与による副作用は深刻であることも知られている。一方で、ミドカイン (MK) 遺伝子は HCC に高発現している増殖性サイトカインで、抗アポトーシス作用、細胞分裂作用、新生血管作用、化学療法に対する耐性作用を有することが知られている。

本研究では、SOR と MK に対する siRNA を併用することにより、HCC に対して賞状的に抗腫瘍効果を誘起する併用療法を提唱した。本研究では、YSK05 という我々独自に開発した pH 応答性カチオン性脂質による脂質ナノ粒子 (LNP) に両者を搭載し、HCC に対する選択的リガンド SP94 で表面修飾した LNP を作成し、以下の検討を行った。

まず、*in vitro* 実験において、SOR と MK 遺伝子に対する siRNA の相乗効果を検証した。肝癌細胞として HepG2 細胞 (ヒト)、Hepa1-6 細胞 (マウス)、正常肝細胞として FL83B 細胞を用いた。SP94 リガンドで修飾した LNP は肝癌細胞で良く取り込まれ、MK 遺伝子のノックダウン効率も高く、かつ、殺細胞性も高かった。さらに、MK 遺伝子のノックダウンによって SOR に対する HCC の感受性が高くなることを初めて示すことができた。

次に *in vivo* 実験へ移行した。しかしながら、*in vitro* で用いた LNP を HCC 移植マウスへ投与しても、癌組織への移行性は見られなかった。まず、LNP の血中滞留性を確認したところ、滞留性は見られなかった。そこで、PEG-SP94 の修飾密度を最適化することにより、血中滞留性を確保し、かつ、腫瘍組織での MK 遺伝子のノックダウン活性の良い条件を探索した。マイクロ流路を用いて極小サイズの LNP を調整することで、血中滞留性、癌組織中ノックダウン活性、癌組織選択性の 3 点を同時に満足する条件を見出すことに成功した (PEG-SP94:10%, 粒子径 60 nm, YSK05:DOPE:Chol:PEG-SP94:PEG = 5:2:3:1:0.3)。MK 遺伝子のノックダウンの ED50 値は 0.1 mg/kg とこれまでに報告されている値の中で最小であった。

EPR-効果で腫瘍血管を透過し、腫瘍組織内部への浸透力および MK 遺伝子のノックダウン効果において、60 nm が最適であった。この条件において、種々の血中パラメータを測定して毒性についても検討を行い、本条件においては、全く毒性はみられなかった。

最後に、SOR に対して耐性を獲得した耐性 HepG2 における本システムの治療効果を検証した。SOR 耐性の HepG2 を調整し、MK 遺伝子の発現レベルを測定すると、正常な HepG2 の 3 倍も亢進していた。*in vivo* で本併用療法を投与すると、顕著な抗腫瘍効果を得ることに成功した。

以上、SOR と MK-siRNA を搭載した SP94 表面修飾 LNP による併用療法は、HCC において MK 遺伝子のノックダウンにより SOR の感受性が亢進し、相乗的に抗腫瘍効果を発揮することが明らかとなった。さらに、SOR 耐性の HCC においても本併用療法の有効性を検証することができた。よって、筆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。