



| | |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title | リポソームを用いた中枢神経への低侵襲薬物輸送システムの開発 [論文内容及び審査の要旨] |
| Author(s) | 福井, 隆史 |
| Description | 配架番号 : 2712 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(医学) |
| Dissertation Number | 甲第14976号 |
| Issue Date | 2022-03-24 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/85852 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | FUKUI_Takafumi_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（医学） 氏名 福井 隆史

主査 教授 田中 真樹
審査担当者 副査 教授 矢部 一郎
副査 准教授 乗本 裕明

学位論文題名

リポソームを用いた中枢神経への低侵襲薬物輸送システムの開発
(Development of a minimally invasive drug delivery system
for the central nervous system using liposomes)

申請者は、リポソームを用いた末梢組織から中枢神経への drug delivery system (DDS) の開発を試みた。リポソームの軸索逆行性輸送には最適な脂質組成があること、cholera toxin B subunit (CTB) による修飾によってリポソームの軸索輸送効率が飛躍的に高められることを明らかにした。本研究成果は、末梢組織から中枢神経を標的とした DDS 開発の基盤となる。

審査にあたり、まず副査の乗本准教授から、リポソームが積載されるのは浮遊しているダイニンなのか微小管に結合しているダイニンなのか質問があった。申請者は、現時点では詳細は不明であるが、おそらく両方の機序が関与すると考えられると回答した。次に、ダイニンのイメージングが可能かどうかの質問があり、申請者はリポソームに金を封入し、坐骨神経を電子顕微鏡で観察する事で理論的には可能ではあるが、電子顕微鏡での解析が困難であり、あまり現実的ではないと回答した。次に、定量の判定は目で見て行ったのか、または機械的に行ったのかの質問があり、申請者は目で見て判定したと回答した。また、CTB 修飾によって輸送が向上した理由として、なぜダイニンへの積載効率向上といえるのかとの質問に対し、in vitro 実験では R8 の方が CTB 修飾よりも細胞内取り込みが多いにも関わらず、in vivo 実験では CTB 修飾の方が輸送量が増えることを考慮すると、ダイニンへの積載効率が向上したと考えるのが妥当であると回答した。次に、R8 リポソームを軸索内に取り込まれた後に外すことはできないかとの質問があり、まだ、現実的に可能かは分からないが、Liposome in Liposome という概念があるため、うまく調製すれば現実となる可能性があるという回答した。次に運動神経細胞体の大きさが少し違うように見える理由について質問があり、リポソームが細胞内で偏在していた可能性、切片の切れ方による可能性が高いと回答した。

副査の矢部教授から、投与したリポソームは越シナプス性にも輸送されるのかとの質問があり、今回作成したリポソームでは、そのようなことはないが、狂犬病ウイルスなどは越シナプス性に輸送されるので、今後そのようなリポソームも夢ではないのではないかと回答した。次に髄腔内投与した場合と筋肉内・末梢神経内に投与した場合の違いについて質問

があり、申請者は、脊髄クモ膜下投与では、脊髄全体に作用してしまう可能性がある事、また手技に伴い出血、感染、神経損傷などのリスクが存在するのに対し、筋末梢神経投与では、標的細胞特異的かつ低侵襲に投与できる点で優れていると回答した。続いて、R8 はアミノ酸が結合したペプチドなので、投与部位に炎症が起こる可能性について質問があり、申請者はその可能性が高いが、まだ詳細な検討はできていないと回答した。次にリポソーム封入物質は分泌されるエクソソームのようなものになるのかとの質問に対し、申請者は、BDNF などの物質ではエクソソームとなり、分泌されて周囲の細胞に作用する可能性があるかと回答した。

最後に主査の田中教授から、脊髄と DRG のどちらによりリポソームが輸送されているかとの質問があり、統計学的な解析はまだ出来ていないが、脊髄への輸送効率の方が少し高い印象があると回答した。同じ個体に CTB や Fluoro-Gold などの positive control と各種リポソームを混ぜて投与したのかとの質問があり、本来はそれが一番正しい方法ではあると思うが、positive control の CTB とリポソームに修飾した CTB が二重に染色されてしまう可能性なども考慮して、別個体に投与して対照としたと回答した。次に、in vitro と in vivo の結果が違う原因についての質問があり、申請者は、in vitro 実験で用いた細胞は運動神経の初代培養細胞ではなく、あくまでも motor neuron like cell でしかないため、in vivo の結果を必ずしも反映していない可能性が高いと回答した。また、リポソームが取り込まれる神経線維の種類は分かっているかとの質問があり、そこまでは検討しておらず分からないと回答した。特許取得についても質問があり、専門家と相談し、軸索輸送可能な点に新規性はあるが、CTB が非常に一般的なものであるため、強く特許を申請できる段階にはないと結論になり、今は保留中になっていると回答した。また、論文中の略語表記や方法に記載しておくべき項目など最終版を提出する際に訂正すべき点についても指摘があった。

この論文は、末梢組織から中枢神経への DDS を新たに開発した新規性の高い研究であり、今後の実用化への基盤となる。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。