

平成 31 年 2 月 12 日

崇城大学大学院

工学研究科委員会





研究科長 小 野 長 門 殿

論文審査委員

主査 松 本 陽 子



論文審査結果の報告（甲）

論文提出者	奥 村 真 樹 （ 1619D02 ）
論文題名	がんのセラノスティクスを目指した医用工学的研究
審査委員	主 査 教 授 松 本 陽 子 
	副 査 教 授 市 原 英 明 
	副 査 教 授 松 下 琢 
	副 査 教 授 三 枝 敬 明 

論文審査結果の要旨

がんの診断方法には、PET、MRI、内視鏡検査、腫瘍マーカーなどがあるが、簡便で高い精度で診断できる手法が望まれている。現在のがんの診断から治療までには、多くの時間を必要とし、患者の生活の質(QOL)への配慮が求められている。セラノスティクスとは治療と診断を同時に行うという新しい手法であり、治療期間の短縮や経済的負担の軽減などが期待できる。従来セラノスティクス研究では、蛍光試薬含有ナノ粒子やMRI造影剤(超常磁性ナノ粒子、金コロイド)に抗がん剤を内包させる方法などが用いられてきたが、調製が複雑で、安定性が悪く、高価になるという問題点があった。

ハイブリッドリポソーム(HL)は、低価格な素材を用いて容易に調製ができ、長期間の安定的な膜を維持できる医用素材である。薬剤を用いず、HLのみでがん細胞に対する治療効果を示し、*in vivo*においても種々の担がんモデルマウスに対する治療効果が明らかとなっている。また、正常細胞には作用せず、がん細胞に選択的に蓄積し、増殖抑制作用を示すため、高い安全性が明らかとなっている。

本研究では、HLのがん細胞に選択的に蓄積する特徴に着目し、セラノスティクス製剤への応用を目的とした。がん治療に関し、*in vitro* および *in vivo* での HL の大腸がん

細胞および乳がん細胞に対する治療効果について検討した。また、生体透過性に優れ、リン脂質と親和性が高く、低毒性のインドシアニングリーン(ICG)を含有させたHL(HL/ICG)を新たに創製した。さらに、*in vitro* および *in vivo* におけるHL/ICGの大腸がん細胞および乳がん細胞への蓄積について検討した。

- (1) HL およびHL/ICGの膜物性について検討したところ、HLは細網内皮系(RES)が回避可能な100 nm以下の膜直径を一ヶ月以上維持していた。また、HL/ICGにおいてもICGの含有量に関わらず、100 nm以下の膜直径を一ヶ月以上維持していた。このことからHLおよびHL/ICGは、臨床応用に有用であることが示唆された。
- (2) HLの大腸がん(WiDr, HCT116)細胞および乳がん(MDA-MB-453)細胞に対する*in vitro*での制がん効果について検討した。HLは正常大腸細胞に対しては低毒性であったが、WiDr, HCT116, MDA-MB-453細胞の増殖をDMPCと比べ顕著に抑制した。また、HLのアポトーシス誘導についてTUNEL染色およびPI assayを用いて検討したところ、WiDr, HCT116, MDA-MB-453細胞にアポトーシスを誘導していることが明らかとなった。さらに、HLで処理した細胞の膜流動性の変化を測定したところ、HLはHCT116, MDA-MB-453細胞の膜流動性を大きく増大させた。
- (3) *in vivo*における大腸がんおよび乳がんに対するHLの治療効果について検討した。WiDr細胞皮下移植モデルマウスに対してHLの局所投与を行ったところ、アポトーシス誘導を伴う腫瘍の縮小が確認された。さらに、HCT116細胞同所移植モデルマウスに対するHLの静脈投与による治療効果について検討したところ、アポトーシスを伴って腫瘍重量は有意に低くなっており、Normalと同様の重量であった。次に、HLのMDA-MB-453細胞同所移植モデルマウスに対する治療効果を確認したところ、アポトーシスを伴った腫瘍の縮小が確認された。
- (4) *in vitro*におけるHL/ICGの大腸がん細胞および乳がん細胞に対する蓄積について検討した。HL/ICGで処理したWiDr, HCT116, MDA-MB-453細胞において、ICGの強い蛍光が観察された。一方、HL/ICGで処理した正常大腸細胞および正常乳腺細胞ではICGの蛍光は観察されなかった。このことから、HL/ICGは正常細胞には蓄積せず、大腸がん細胞および乳がん細胞に対して選択的に蓄積することが明らかとなった。
- (5) *in vivo*においてHL/ICGのがん検出能について*in vivo* 蛍光イメージングシステムを用いて検討した。WiDr細胞皮下移植モデルマウスに対してHL/ICGを局所投与したところ、97時間後においても腫瘍にICGの蛍光が観察された。また、HCT116細胞同所移植モデルマウスにHL/ICGを静脈投与した場合、48時間後でも外部から非侵襲的にICGの蛍光が観察可能であった。摘出した腫瘍においてもICGの強い蛍光が観察された。次に、MDA-MB-453細胞同所移植モデルマウスに対するHL/ICGの蓄積を観察したところ、24時間後に腫瘍に強い蛍光が観察でき、摘出した腫瘍でもICGの強い蛍光が観察できた。このことから、HL/ICGは種々の担がんモデルマウスの腫瘍に対して選択的に蓄積することが確認され、HL/ICGの優れたがん検出能を明らかにした。

以上の結果より、HLの*in vitro* および *in vivo* における大腸がんおよび乳がんに対するアポトーシス誘導による制がん効果が明らかとなった。さらに、HL/ICGの腫瘍に対する選択的な蓄積が得られ、原発腫瘍の検出が確認できた。今回新たに創製したHL/ICGは、従来のセラノスティクス薬剤と異なり、調製が容易で、長期間安定、高い安全性、顕著な制がん作用といった優れた特徴を持っている可能性を示した。今後、さらに多くの知見を重ねて、HL/ICGのセラノスティクス製剤への応用が期待される。

最終試験結果の要旨

本論文において得られた知見は、ハイブリッドリポソームの大腸がんおよび乳がんに対する治療効果およびインドシアニングリーン含有ハイブリッドリポソームのがん検出能について明らかにしたものである。*in vitro* および *in vivo* でがんに対する治療効果および検出能が確認され、がんのセラノスティクス薬剤としての可能性が示された。本研究は、医用工学の学際領域で重要な研究成果である。よって本論文提出者は、博士（工学）の学位を得る資格があると認める。提出論文について公開試験を行わせた後、論文内容および関連する分野について口頭による試験を行い、専攻内会議にかけた結果、最終試験に合格したものと認めた。