

氏名	MELISSA LIM SIAW HAN
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博 甲第 6441 号
学位授与の日付	2021 年 9 月 24 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文題目	Lactosome-conjugated siRNA nanoparticles for photo-enhanced gene silencing in cancer cells (がん細胞における遺伝子サイレンシングの光増強に向けた siRNA 担持ナノ粒子 (ラクトソーム) の開発)
論文審査委員	教授 寶田剛志 教授 藤原俊義 准教授 山田浩司

#### 学位論文内容の要旨

The A<sub>3</sub>B-type Lactosome comprised of poly(sarcosine)<sub>3</sub>-*block*-poly(L-lactic acid), a biocompatible and biodegradable polymeric nanomicelle, was reported to accumulate in tumors *in vivo* via the enhanced permeability and retention (EPR) effect. Recently, the cellular uptake of Lactosome particles was enhanced through the incorporation of a cell-penetrating peptide (CPP), L7EB1. However, the ability of Lactosome as a drug delivery carrier has not been established. Herein, we have developed a method to conjugate the A<sub>3</sub>B-type Lactosome with ATP-binding cassette transporter G2 (ABCG2) siRNA for inducing *in vitro* apoptosis in the cancer cell lines PANC-1 and NCI-H226. The L7EB1 peptide facilitates the cellular uptake efficiency of Lactosome but does not deliver siRNA into cytosol. To establish the photoinduced cytosolic dispersion of siRNA, a photosensitizer loaded L7EB1-Lactosome was prepared, and the photosensitizer 5,10,15,20-tetra-kis(pentafluorophenyl)porphyrin (TPFPP) showed superiority in photoinduced cytosolic dispersion. We exploited the combined effects of enhanced cellular uptake by L7EB1 and photoinduced endosomal escape by TPFPP to efficiently deliver ABCG2 siRNA into the cytosol for gene silencing. Moreover, the silencing of ABCG2, a protoporphyrin IX (PpIX) transporter, also mediated photoinduced cell death via 5-aminolevulinic acid (ALA)-mediated PpIX accumulated photodynamic therapy (PDT). The synergistic capability of the L7EB1/TPFPP/siRNA-Lactosome complex enabled both gene silencing and PDT.

#### 論文審査結果の要旨

セラノスティックス (Theranostics) とは、治療と診断を融合させた新しい概念の医療技術であり、がんを中心とした個別化医療に大きな期待が寄せられている。

申請者らの研究グループは、生分解性ポリマーミセルであるラクトソームナノ粒子に特異的な短縮型 IgG バリエーションを結合させた <sup>89</sup>Zr 標識の新規ドラッグデリバリーシステム (DDS) を開発している。同粒子に、アポトーシスを誘導する siRNA を結合させることで、治療効果のある分子を細胞内に送達すると同時に、PET 画像で腫瘍を可視化することを目指している。この点において本研究では、A<sub>3</sub>B 型ラクトソームに ABCG2 siRNA を結合させ、がん細胞株 PANC-1 および NCI-H226 に *in vitro* でアポトーシスを誘導できるかを検証した。L7EB1 ペプチド (cell-penetrating peptide) は、Lactosome の細胞内への取り込みを容易にするが、siRNA を細胞質に送り込むことはできない。そこで、光増感剤を添加した L7EB1-Lactosome を作製したところ、光増感剤である TPFPP が細胞内分散性に優れていることを見出した。また申請者らは、L7EB1 による細胞内への取り込みの促進と、TPFPP による光によるエンドソームへの逃避の複合的な効果を利用して、ABCG2 siRNA を細胞質に効率的に送出し、5-アミノレブリン酸 (ALA) を介した PpIX 集積型光線力学療法 (PDT) による光誘導性の細胞死を確認した。

論文審査委員から、解析方法や、研究結果の考察について質疑があり、関連研究に基づいた論理的な考察による回答が申請者よりなされた。siRNA の KD 効果をタンパク質レベルで検証できていない点について疑義が多く出たが、現状では当該粒子を大量に生産することが叶わず WB 解析に足るタンパク質量の確保が難しく、現在粒子の大量生産方法の開発を進めていることが申請者より成された。本研究は、ナノテクノロジーと材料科学の複合的な進歩に焦点を当てた画期的な研究であり、価値ある業績であると認める。

よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。