

Development of novel nanosystem-based approaches toward the medical applications of proteins

唐, 蘅敏

<https://hdl.handle.net/2324/1806848>

出版情報：九州大学, 2016, 博士（工学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	唐 衛敏
論文名	Development of novel nanosystem-based approaches toward the medical applications of proteins (新規ナノシステムの設計に基づく医療応用に向けたタンパク質活用法の開発)
論文調査委員	主査 九州大学 准教授 岸村 顕広 副査 九州大学 教授 神谷 典穂 (工学府) 副査 熊本大学 教授 新留 琢郎 (自然科学研究科) 副査 九州大学 准教授 水本 博

論文審査の結果の要旨

タンパク質製剤は、生体由来のタンパク質、もしくはバイオテクノロジーを利用して製造した天然物に限りなく類似させたタンパク質を医薬品として利用したものを指す。これまでに、インスリンなどをはじめとするヒト型のホルモンや、サイトカイン、成長因子、血液成分、酵素、ワクチン類、モノクローナル抗体などがタンパク質製剤として開発・販売されており、その市場も拡大の一途を辿っている。しかし、その一方で、タンパク質の医薬品応用に向けてはその大きな分子サイズおよび複雑な構造が障壁となっており、バイオアベイラビリティの向上、利用時・製剤時の安定性の向上や、投与時の血中滞留性の改善などが強く求められている。本論文では、ナノ材料の利用に基づく新たなナノシステムの設計により、タンパク質の医療応用に向けて立ちはだかる困難の克服に取り組んでおり、特にナノ材料を活用したタンパク質の経皮送達システム開発と、酵素のナノカプセル化による利用法拡大に焦点を当てて行った研究についてまとめている。得られた成果は以下のとおりである。

第一に、タンパク質の新規経皮送達システムの開発を行っている。特に、これまで困難であった角質層のタンパク質透過性向上のための方法の一つとして熱刺激に注目し、近赤外光を吸収し、効率よく熱に変換できる金ナノロッド (GNR) を用いることによるタンパク質の経皮吸収効率の向上に取り組んでいる。また、持続的な加熱は皮膚組織全体へのダメージとなり得る一方で、適度な加熱は免疫応答の活性化につながることから、照射条件や照射モードの選択・調節が結果に与える影響について評価している。その結果、連続波 (CW) レーザーを用いた場合には、モデルタンパク質であるオブアルブミン (OVA) の皮内浸透が促進されると同時に、HSP70 の発現が誘導されることを見出し、経皮ワクチンを目的とするならばこの CW レーザー照射が有効であることを見出している。一方、パルスレーザーを用いた場合には、HSP70 の発現は認められず、OVA の浸透のみが促進されることを見出し、その原因が瞬時の高温加熱による GNR の変形とそれに伴う近赤外域の吸収の消失にあると考察している。以上に基づき、インシュリンなどの血流への移行が薬効に直結するタンパク質を投与する場合にはパルスレーザーが好ましいことを見出している。

次に、生体由来の酵素を生体内で効果的に用いるためにナノリアクターに注目し、これを用いた新たな治療法の提案を行っている。具体的には、ナノリアクターを用いて疾患の原因物質を酵素で分解・除去するという、新しい生体解毒療法の開発に取り組んでいる。酵素が温度や pH、さらにはプロテアーゼによる分解などによって容易に失活することから、酵素を保持し送達するキャリアと

して①酵素の活性を維持したまま担持できる、②酵素を保護しつつも物質透過性の制御が可能、の二つの要件を満たす材料として、ポリオンコンプレックス (PIC) 型ポリマーベシクル (PICsome) に注目し、ナノリアクターを開発している。ここでは、モデル病因物質としてヒスタミンに注目し、その分解酵素であるジアミンオキシダーゼ (DAO) を PICsome に封入して DAO@PICsome を作製している。また、病態モデルを用いた細胞実験および動物実験において、DAO@PICsome は DAO 単体に比べてより過酷な条件で活性維持が可能であり、また、より長時間にわたって投与部位でヒスタミン分解機能を発揮できることを明らかにしている。これらの結果から、DAO@PICsome が生体解毒用リアクターとして有用であることを見出している。

最後に、酵素ナノリアクターの長期的な機能維持の実現を目指して、ナノリアクターのさらなる開発を行っている。酵素反応を生体外で利用する場合、利用環境が細胞内に代表される生理環境とは全く異なるため、その性質や挙動が生来の動作環境とは著しく異なる可能性があること、即ち、細胞内環境が様々なタンパク質が多量に存在する濃厚系であり、酵素がナノ～サブミクロンサイズに区画化 (コンパートメント化) されている環境で動作していることに注目し、これらの特徴的な環境をナノリアクターの設計に取り入れることで、その性能の向上に取り組んでいる。実際には、モデル酵素として β -ガラクトシダーゼ (β -gal) を 100 nm スケールの PICsome に内包し (β -gal@PICsome)、種々の処理条件後にその酵素活性を評価している。また、ナノリアクター内にデキストランを共存させた PICsome も作製し (β -gal/Dex@PICsome)、比較検討を行っている。その結果、 β -gal@PICsome が 37 °C、24 時間処理後に活性維持可能であること、また、 β -gal/Dex@PICsome は -20 °C において、酵素活性維持が可能であることを明らかにしている。それぞれ、同一条件ではフリーの β -gal はほぼ失活していることから、コンパートメント化やデキストラン共存の効果により活性維持がもたらされ、保存安定性向上につながっていると結論している。同時に、より酵素に対して低侵襲な PICsome 封入法の検討も進め、作製時に酵素溶液を添加するタイミングや原料溶液の混合手法と活性の相関を明らかにしている。以上の結果から、より穏和な手法で酵素をコンパートメント化し、さらに機能性高分子と共存させることによって、より安定して高いパフォーマンスを維持できる酵素リアクターの作製が可能であると結論している。

以上、要するに、本論文では、タンパク質の医療応用に向けてその送達法、利用法、安定化法の拡大に寄与する十分な成果を上げるに至っており、ナノシステム的设计に基づくタンパク質利用の新たな方向性を切り開くことに成功したものとして、生命工学の分野において価値ある業績であると認められる。

よって、本研究者は博士 (工学) の学位を受ける資格があるものと認める。