

氏名（本籍）	木村 聡大			
学位の種類	博士（医学）			
学位記番号	博甲第 9938 号			
学位授与年月	令和 3 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	新規膵がん治療を目的とした rBC2LCN レクチン修飾リポソームに関する研究			
主査	筑波大学教授	博士（薬学）	本間 真人	
副査	筑波大学教授	医学博士	小島 寛	
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	石川 栄一	
副査	筑波大学助教	博士（神経科学）	岡田 拓也	

## 論文の内容の要旨

木村聡大氏の博士学位論文は、膵臓がん（膵がん）細胞の表面に発現している特異的な糖鎖に結合する rBC2LCN レクチンと呼ばれるタンパク質をリポソームの表面に修飾し、リポソーム内に封入した抗がん薬の膵がん特異的な Drug delivery system (DDS) について検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

（目的）臨床膵がんに類似した形態像を呈するヒト膵がん細胞株（Capan-1）に特異的に発現しているフコシル化糖鎖を標的とし、これらの糖鎖に特異的に結合するタンパク質である rBC2LCN レクチンを輸送担体とした、レクチン-毒素結合体が膵がんにも有用な抗がん薬となる可能性が先行研究によって指摘されている。著者は、より生体適合性が高く、広く臨床使用されている抗がん剤内包リポソームを毒素にかわるレクチンのカウンターパートとして選択し、リポソーム表面に rBC2LCN レクチンを修飾することで抗がん剤の膵がん細胞への標的指向性を高めることを目的として研究を行っている。

（方法）著者は、ドキソルビシン含有リポソーム（Doxosome）を対象に、その表面に脂質リンカーを用いて rBC2LCN レクチンを挿入する post insertion method でレクチン修飾リポソーム

（Lec-Doxosome）を調製している。調製した Lec-Doxosome について、著者は、rBC2LCN レクチンが高い結合性を有するヒト膵がん細胞株（Capan-1）ならびに結合性の低いヒト膵がん細胞株（SUIT-2）を用いて、in vitro での細胞結合性、細胞取込み性および殺細胞効果を非修飾リポソームの Doxosome と比較している。殺細胞効果の検証においては、フコースを用いた阻害実験も併せて行っている。In vivo 試験では、前述のヒト膵がん細胞株を用いた皮下腫瘍モデルマウスを確立し、Lec-Doxosome と Doxosome を経静脈的に投与した際の腫瘍への薬剤集積性と抗腫瘍効果を経時的に比較している。また、これらのリポソームを投与した際の有害事象の有無を血液学的、病理組織学的に評価している。

（結果）著者は、post insertion method を用いて rBC2LCN レクチンをリポソーム表面に修飾することに成功しており、レクチンのリポソームへの修飾は SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって確認している。In vitro 試験においては、フコシル化糖鎖を発現している Capan-1 で Doxosome よりも

Lec-Doxosomeの方が細胞への結合性や取り込みが有意に高く、100 µg/mlの濃度以上で殺細胞効果が増強することを認めている。一方、フコシル化糖鎖を発現していない SUIT-2 では同様な効果が認められないこと、Capan-1 において見られた Lec-Doxosome の効果は、フコースの添加によって阻害されることから、リポソーム表面に修飾したレクチンが細胞表面のフコシル化糖鎖に結合することの重要性を指摘している。In vivo 試験においては、Capan-1 モデルマウスにおける腫瘍組織へのドキシソルピシン集積性について検討し、Doxosome よりも Lec-Doxosome で有意に高いことを明らかにしている。また、腫瘍体積や腫瘍重量で評価した抗腫瘍効果は、有意では無いが Doxosome と比較して Lec-Doxosome で増強する傾向を認めている。なお、Lec-Doxosome 投与群において死亡例や明らかな体重減少例は観察されず、ドキシソルピシンに基づく血液学的・病理学的に特異的な有害事象が認められないことを確認している。

(考察) 本研究において、著者は膵がん細胞のフコシル化糖鎖に特異的に結合する rBC2LCN レクチンをドキシソルピシン内包リポソームの表面へ修飾することに成功している。In vitro の検証結果からは、rBC2LCN レクチンの表面修飾に伴い標的細胞表面糖鎖への結合を介して細胞内へリポソームを効率的に誘導できることを証明している。In vivo においてもレクチン修飾したリポソームについて腫瘍集積性の向上を明らかにしているが、抗腫瘍効果の増強を観察するには至っていない。この理由としては、レクチン修飾により上乘せられたリポソーム量ならびに内包したドキシソルピシン量が、抗腫瘍効果の有意な差をもたらすには十分でなかったこと、膵がんに対する抗がん剤としてドキシソルピシンが適切でなかった可能性を、著者は指摘している。本研究においてリポソームの膵がん細胞への標的指向性を高める手段として、膵がん細胞表面糖鎖を標的としたレクチン修飾が有用であることを著者は初めて示し、さらに抗腫瘍効果を高めるための改善策を提案している。すなわち、より効率的なレクチン修飾や膵がん細胞により効果的な内包薬剤（ゲムシタビンやイリノテカンなど）を用いたリポソームへの応用によって抗腫瘍効果の増強が期待されるとしている。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

抗がん剤の腫瘍特異性を高める DDS としてリポソーム製剤が開発されているが、木村聡大氏はその膵がん特異性を高めるために、がん細胞の表面に発現しているフコシル化糖鎖に着目し、糖鎖に特異的に結合する rBC2LCN レクチンを輸送担体としたリポソーム製剤を試作した。そのリポソーム製剤の標的指向性を膵がん細胞や担癌マウスで検証した本論文は、レクチンをリポソームの輸送担体として利用可能であることを初めて明らかにし、将来、さらに膵がん指向性の高いリポソーム製剤の開発への応用性を示した点で高く評価される。

令和3年1月6日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、木村聡大氏は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。