

氏名	Xiuhui WANG
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	博甲第 8986 号
学位授与年月日	平成 31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	数理物質科学研究科
学位論文題目	

Preparation of Bifunctional Scaffolds of Gold Nanorods and Gelatin for Photothermal Therapy of Breast Tumor and Adipose Tissue Engineering

(乳がん光熱治療と脂肪組織再生の機能を兼ね備えた金ナノロッド/ゼラチン足場材料の作製)

主査	筑波大学教授(連係大学院)	博士(工学)	陳 国平
副査	筑波大学教授	工学博士	長崎 幸夫
副査	筑波大学教授(連係大学院)	博士(工学)	川上 亘作
副査	筑波大学教授(連係大学院)	博士(工学)	田口 哲志

論文の要旨

本論文は、乳がんの光熱治療と脂肪組織の再生機能を兼ね備えた金ナノロッド/ゼラチン複合足場材料の作製についてまとめたものである。

第 1 章では、研究背景として、乳がんの治療法に関する先行研究が文献に基づいてまとめられ、それらを踏まえて、本論文全体の目的が提示されている。手術療法は、原発巣にとどまりかつ肉眼で確認できるがんを取り除く直接的かつ局所的な治療法である。しかし、がん細胞が血液やリンパ液にのって他臓器に転移している場合には、手術療法は無力である。さらに、がん組織の切除によって乳房が大きく欠損すると、欠損部位が自然に再生されることはほとんどない。そこで本論文では、原発がんの治療だけでなく、転移がんも治療すること、さらに原発巣の切除で生じた欠損組織を再建することが理想的な治療と考えた。そのために、がんの新しい治療法として注目されている光熱療法、免疫療法、そして生体組織工学を統合した治療を実現するための高機能生体材料を設計・作製した。以下の 2~4 章では、本材料を開発するために詳細に検討した内容を述べている。

第 2 章では、がん光熱療法とがん免疫療法の協働効果を探究するため、金ナノロッドの光熱効果によるがん細胞の殺傷、および殺傷されたがん細胞による免疫細胞の機能への影響を調べている。近年、がん細胞が正常細胞よりも熱に弱いことを利用したがん治療として、ナノ粒子を用いた光熱療法が大きな注目を集めている。中でも金ナノロッド(AuNR)は、高い光熱変換効率をもつために、がん光熱療法の研究で広く用いられている。しかし、これまでの光熱療法は、がんの局所治療を想定して用いられてきたため、

光熱アブレーションによって殺傷されたがん細胞が免疫細胞に与える影響については、ほとんど注目されてこなかった。もし、殺傷されたがん細胞が免疫系を活性化し、転移したがん細胞を免疫細胞が攻撃できれば、がん光熱療法と免疫療法を組み合わせた原発がん・転移がん治療が可能になるはずである。そこで著者は、AuNR を用いて殺傷されたがん細胞によって引き起こされるナイーブ樹状細胞の活性化について調べた。まず、シード媒介成長法によって AuNRs を合成し、その表面をウシ血清アルブミン (BSA) で被覆した。次に、この BSA 被覆 AuNRs をマウス乳がん細胞 (4T1-Luc) 内に取り込ませた後、近赤外光レーザー光を照射することでがん細胞を殺傷した。つづいてトランズウェル等を用いた細胞培養環境でマウスナイーブ樹状細胞と共培養した後、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等のサイトカインを ELISA 法で定量し、樹状細胞の活性化を評価した。その結果、ナイーブ樹状細胞は、殺傷されがん細胞-樹状細胞間相互作用、および殺傷されたがん細胞由来の可溶性成分によって活性化されることが明らかとなった。したがって、本成果は光熱療法と免疫療法を組み合わせた原発がん・転移がんの同時治療への途をつけるものである。

第 3 章では、金ナノロッドを用いたがん光熱療法の効率を高めるため、金ナノロッドと多孔質材料との複合化について述べている。遊離状態の金ナノロッドをがん部位に特異的かつ有効濃度で集積させることは困難である。これらの問題を解決する手段として、担体へのナノ粒子の固定化が考えられる。そこで著者は担体として、ゼラチン多孔質材料の利用を考えた。まず、AuNR、ゼラチン、および空孔形成剤として氷微粒子を混合した後、凍結乾燥を行うことによって、AuNR を複合化したゼラチン多孔質材料を作製した。本 AuNR/ゼラチン多孔質材料は、近赤外線照射下で高い光熱変換効果を示し、その到達温度は、AuNR の導入量、NIR レーザー出力強度、および照射時間を変えることによって制御することができた。AuNR-ゼラチン複合足場材料は、*in vitro* 細胞培養および *in vivo* 実験においてヒト乳がん細胞 (MDA-MB-231-Luc) に対して高効率の光熱アブレーション効果を示した。

第 4 章では、がん治療後の乳房の再建を想定し、生体組織工学による脂肪組織の再生について検討している。第 3 章の AuNR/ゼラチン複合多孔質材料を足場材料として用いてヒト間葉系幹細胞 (hMSC) を *in vitro* 培養した。その結果、hMSC は増殖培地中で AuNR/ゼラチン複合足場材料に接着し、増殖した。さらに、脂肪分化誘導培地中で培養した hMSC は脂肪滴を形成し、また脂肪生成遺伝子 (*CEBPA*、*PPARG*、*LPL*、および *FASN*) の発現を亢進した。よって、AuNR/ゼラチン複合足場材料が、乳がん治療後の乳房再建のための脂肪組織再生を促進することが示された。

第 5 章では、本論文の内容を総括している。すなわち、①AuNR の光熱効果によって殺傷された乳がん細胞が樹状細胞を活性化すること、②ゼラチン多孔質材料と複合化 AuNR は、乳がん細胞を高い効率で殺傷できること、③AuNR/ゼラチン複合足場材料において、ヒト間葉系幹細胞が脂肪細胞に分化することを示した。これらの研究成果は、光熱療法、免疫療法、生体組織再生工学を統合した多機能バイオマテリアルの設計に役立つ指針となるとともに、原発がんと転移がんの同時治療、および組織再建の実現に資するものである。

審 査 の 要 旨

〔批評〕

本論文は、乳がん光熱治療と脂肪組織再生の機能を兼ね備えた金ナノロッド/ゼラチン複合足場材料の研究成果をまとめたものである。現在、女性が罹患するがんの中では、乳がんが世界で最も多く、がん死亡の主因にもなっている。乳がんの治療では、手術によってがんを取りきることが基本であるが、著者は手術療法の限界と問題点として次の点を挙げている。すなわち、①がん細胞が血液やリンパ液にのって他臓器に転移していると、手術療法は無力である。②がん組織の切除によって乳房が大きく欠損した場合、その欠損部位が自然に再建されることはほとんどない。そこで著者は、これらの問題を解決するため、原発がん、転移がんの治療、さらに原発巣に生じた欠損組織を再建することを実現する新規な多機能バイオマテリアルを提案している。具体的には、近赤外線照射によって発熱する効果（光熱効果）をもつ金ナノロッドをゼラチン多孔質材料と複合化した足場材料を設計・作製した。本複合足場材料の開発において、入念にデザインされた実験によって、次の3点を明らかにした。①金ナノロッドの光熱効果で殺傷された乳がん細胞が樹状細胞を活性化すること、②ゼラチン多孔質材料に導入した金ナノロッドは、乳がん細胞を高い効率で殺傷できること、③金ナノロッド/ゼラチン複合足場材料において、ヒト間葉系幹細胞が脂肪細胞に分化する。これらの研究成果は、光熱療法、免疫療法、生体組織再生工学を統合した多機能バイオマテリアルの設計に資する基礎的知見を与えるだけでなく、原発がん、転移がんの治療、さらに原発巣に生じた欠損組織再建の実現に途を拓くものである。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として十分な学術的価値をもつと認められる。

〔最終試験結果〕

平成31年2月19日、数理物質科学研究科学学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

〔結論〕

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士（工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。