

Title	Syntheses of Photo-Cross-Linkable Gelatin and Multiple Branching Polyacrylamides and Their Medical Applications
Author(s)	石川, 英加
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59945">https://hdl.handle.net/11094/59945</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	石川英加
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第25626号
学位授与年月日	平成24年9月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用化学専攻
学位論文名	Syntheses of Photo-Cross-Linkable Gelatin and Multiple Branching Polyacrylamides and Their Medical Applications (光架橋ゼラチンおよび多分岐型ポリアクリルアミドの合成と医療応用)
論文審査委員	(主査) 教授 神戸 宣明  (副査) 教授 明石 満 教授 真嶋 哲朗 教授 井上 佳久 教授 生越 専介 教授 関 修平 教授 茶谷 直人 教授 馬場 章夫 教授 三浦 雅博 教授 安蘇 芳雄 教授 芝田 育也

## 論文内容の要旨

本研究は、光反応を用いて高分子の機能化を行い、得られた生成物の物理的評価ならびに *in vitro* および *in vivo* 実験を行うことにより、新しい高分子材料として医療応用への可能性を検討したものである。第1-3章では、遺伝子治療への応用をめざし、多分岐型高分子のナノ分子設計と合成を行い、種々異なる機能を有した遺伝子導入ベクターを開発した。第4章では、脳外科治療への応用をめざして、光反応性ゼラチンを合成し、動脈瘤に対する低侵襲性塞栓剤としての有用性を示した。得られた知見をまとめると以下のとおりである。

第1章では、分岐構造を有する高分子の精密合成を目的として、ジチオカルバメート基を有する光イニフィアタ重合による4分岐型のカチオン性重合体の生成に成功した。このリビングラジカル重合法を用いて、医療材料における遺伝子導入試薬として使用目的に合わせた機能を付加し、その性能を評価した。4分岐型カチオン性高分子をベクターとして、血管内皮細胞をターゲットに遺伝子導入の効率化を試みた結果、RGDペプチドの添加量に応じて、ベクター/DNAからなるポリイオン錯体 (PIC) の導入量を増加させることに成功した。第2章では、4分岐型カチオン性-非イオン性ブロック共重合体の重合に成功し、これを siRNA と混合することにより速やかに PIC を形成することを明らかにするとともに、粒径測定から長期安定性を確認した。この結果を基に、*in vitro* ならびに *in vivo* においてサイレンシング効果を市販ベクターと比較したところ、同程度の遺伝子発現の抑制効果が得られた。第3章では、光照射によるジチオカルバメート基のラジカル発生能を利用し、ラジカルカップリング反応による二量化に成功した。

第4章では、可視光によりゲル化するゼラチンの合成を目的として、食用色素であるエオシン Y をゼラチン側鎖に導入し、水素供与体共存下での光ゲル化反応を検討した。合成したエオシン化ゼラチン水溶液が、数十秒の光照射で容易にゲル化することを明らかにし、その反応機構を提案した。この結果を踏まえ、動脈瘤塞栓剤としての利用を目的として可視光を用いた *in vitro* の実験を行い、新しい医療材料としての可能性を示した。

以上、本研究では、高分子の機能化を目指したナノ構造設計に基づいて、分岐構造を有するさまざまな高分子材料を光反応を利用して合成し、低毒性の遺伝子導入剤および動脈瘤塞栓剤として医療応用への可能性を示した。

## 論文審査の結果の要旨

近年の医療の高度化に伴って、多くの高分子材料がバイオマテリアルとして臨床現場において活躍の場を広げ、最新の遺伝子治療や血管内治療においても高分子材料無くして成り立たなくなっている。遺伝子治療分野において、遺伝子 DNA を目的の細胞に高効率で送り届けるターゲティングができれば、副作用の少ない効果的な治療が可能となり、さらに siRNA を細胞内に効率良く導入することができれば、特定の遺伝子の発現を抑制する新たな治療法となる。また、体内の任意の場所で自在に硬化できる材料が開発できれば、難治性の巨大動脈瘤等の塞栓治療に有効となり、低侵襲の血管内治療の可能性を広げる。

本論文では、循環器系疾患の遺伝子治療への応用をめざして血管内皮細胞を対象とする遺伝子導入の高効率化、siRNA の高効率導入剤の開発、遺伝子導入剤のための高分子設計方法の開発、ならびに脳動脈瘤の塞栓剤材料の開発を目的としており、主な成果を要約すると以下の通りである。

1) 血管内皮細胞と特異的な結合能を有する RGD ペプチドが、光リビングラジカル重合によって合成した多分岐型カチオン性ポリアクリルアミドと遺伝子とのポリイオン錯体の表面に吸着することを明らかとし、血管内皮細胞へ高効率で遺伝子導入することに成功している。本研究によって初めて、RGD ペプチドを添加する新しい遺伝子導入システムが開発されている。

2) ジメチルアミノプロピルアクリルアミドとジメチルアクリルアミドとのブロック共重合鎖を4本有する多分岐型カチオン性ポリマーを合成し、siRNA や shRNA の導入剤として有効であることを見出し、細胞実験によって市販の RNA 専用導入試薬に比べて低毒性で同程度の遺伝子発現抑制効果を得ることに成功している。さらにマウスを使った動物実験において、肝臓や肺で遺伝子抑制効果を有することを明らかとしている。

3) ジエチルジチオカルバメートの光カップリング反応性を利用して、高分子合成が可能であることを見出している。新しい光重合法として、分岐型ポリアクリルアミドの複合化など、遺伝子導入の高効率化に有効と考えられるさらなる多分岐構造設計方法を提案している。

4) 光照射によってラジカルを発生するエオシンを側鎖に有する光架橋ゼラチンを合成し、その水溶液はカテーテルで動脈瘤内に誘導することが可能であり、光照射によって動脈瘤内部で硬化して塞栓できることを明らかとしている。これにより、治療の選択肢を広げる新しい治療方法の提供に成功している。

以上のように、本論文では光リビングラジカル重合によって、安全性が高く、高効率な遺伝子導入ならびに遺伝子発現を抑制できる多分岐型ポリアクリルアミドの合成に成功している。さらに、動脈瘤内での光照射によって架橋して硬化するゼラチンの合成に成功している。これらの成果は、遺伝子治療や血管内治療などへの応用に関する重要な基礎研究として、先端医療の発展に大きく寄与することが期待される。

よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。