

論文審査の要旨および学識確認結果

報告番号	甲 第 号	氏 名	萩原 健司
論文審査担当者：	主査	慶應義塾大学教授	工学博士 佐藤 智典
	副査	慶應義塾大学教授	農学博士 井本 正哉
		慶應義塾大学教授	工学博士 岡 浩太郎
		慶應義塾大学教授	博士（工学） 藤本 啓二
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>学士（工学）・修士（工学）萩原健司君提出の学位請求論文は「プラスミド DNA/キトサン/コンドロイチン硫酸三元複合体による <i>in vitro</i> と <i>in vivo</i> での遺伝子導入」と題して、5章で構成されている。遺伝子治療や再生医療などの分野では、安全且つ高効率で特定の遺伝子を細胞内に導入する手法が求められている。本論文では、その様な目的のために、生体適合性に優れた天然由来の多糖を用いた遺伝子の細胞内へのデリバリーシステムが提案されている。プラスミド DNA (pDNA) をキトサンおよびコンドロイチン硫酸と混合することで三元複合体を作製して、物理化学的なキャラクタリゼーションに加えて、<i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> での遺伝子導入が検討されている。その結果、pDNA の細胞内導入法として、pDNA/キトサン/コンドロイチン硫酸三元複合体が有用であることを見いだしている。</p> <p>第一章では、遺伝子治療の歴史的背景と現状、および本研究の目的と意義について述べている。第二章では、pDNA/キトサン複合体を分子量や硫酸化度の異なるコンドロイチン硫酸で被覆した種々の三元複合体を作製して、物理化学的なキャラクタリゼーションを行なうことで、細胞への取り込みに適した粒子サイズを有し且つ構造安定性が高い三元複合体を見いだしている。そのような三元複合体は、培養細胞への取り込み効率も高く、高い遺伝子発現活性を有していることが示されている。また、細胞内への取り込み経路および細胞内輸送機構を解析することで、三元複合体はマクロピノサイトーシスで細胞内に取り込まれ、エンドソームを脱出後に微小管を経由することなく、複合体の状態を維持したまま核内に移行していることを明らかにしている。</p> <p>第三章では、pDNA/キトサン/コンドロイチン硫酸三元複合体の凍結乾燥製剤としての可能性および <i>in vivo</i> での遺伝子発現活性について評価している。自殺遺伝子を組み込んだ三元複合体を、担癌マウスに局所投与することで、高い抗腫瘍効果が得られることが示されている。また、三元複合体を凍結乾燥後に再水和してもpDNAの構造と機能が保持されていることを見いだしており、さらに担癌マウスでの高い抗腫瘍効果も維持されていることが示されている。さらに、三元複合体の高い抗腫瘍効果は、腫瘍組織中での複合体の浸潤性が高いことで、広範囲に導入遺伝子が発現していることが要因になっていると述べている。</p> <p>第四章では、pDNA/キトサン/コンドロイチン硫酸三元複合体の高い遺伝子発現活性のメカニズムを解析するために、細胞内での輸送効率や転写効率について検討している。pDNA/キトサン複合体がコンドロイチン硫酸で被覆されることで、細胞内への pDNA の取り込み量を向上させる効果があるが、核移行効率はわずかに低下していると述べている。一方で、遺伝子発現効率を評価することで、転写効率が向上することを見いだしている。</p> <p>第五章では、本研究の結論が述べられている。</p> <p>本論文では、pDNA と天然由来の多糖との複合体を作製し、その物性および機能解析を行なうことで、優れた遺伝子デリバリーシステムを構築することに成功している。この成果は、高分子科学への貢献のみならず、遺伝子治療への応用が期待される。よって、本論文の著者は博士（工学）の学位を受ける資格があるものと認める。</p>			
学識確認結果	学位請求論文を中心にして関連学術について上記審査委員で試問を行い、当該学術に関し広く深い学識を有することを確認した。 また、語学（英語）についても十分な学力を有することを確認した。		