

審 査 結 果 の 要 旨

論文題目 「新規修飾型エクソソームの開発に基づく取り込み効率と肝細胞選択性の向上」

学位申請者 松木 勇樹

本論文は、エクソソームに新たな修飾を施すことで、細胞内への取り込み率と利用効率の向上、ならびに標的細胞への指向性の向上が図れるかどうかを検討した新規 Drug Delivery System (DDS)に関する基礎研究である。

近年、エクソソームにおける細胞内外の伝達物質としての生理的役割について明らかにされつつある。本研究では、エクソソームの特性ならびに内包されている生理活性物質を疾患治療に資するため、エクソソーム自体を新たな DDS として活用する新規手法を開発している。具体的には、まず投与されたエクソソームの利用効率や細胞内での局在評価を可能にする2種のモニタリングエクソソーム（ホタルルシフェラーゼ、あるいは mCherry/EGFP 融合タンパク質を内包するエクソソーム）を作製し、その粒子径や表面電位、さらには電子顕微鏡観察によりその構造を評価した。適切な性状のモニタリングエクソソームを濃縮し、さらにエクソソーム表面に種々の修飾を施した後、初代培養肝細胞あるいはマウスに投与した。そして、ルシフェラーゼ活性測定や共焦点レーザー顕微鏡観察により、エクソソームの細胞内および組織内での動態・局在解析を行った。その結果、炭酸アパタイトナノ粒子によるエクソソーム表面の修飾が肝細胞への取り込み効率を向上させること、またラクトース鎖を用いた糖鎖修飾が肝細胞表面に表出するアシアロ糖タンパク質受容体を介して肝細胞への指向性を高めることを明らかにした。以上の結果から、エクソソームに新たな修飾を施すことにより、エクソソームが新たな DDS として利用可能であることを証明した。

本論文に対して、各審査委員から次のような質疑がなされた。

- 1) エクソソームという用語の定義は非常に細かいが、エクソソームと名付ける根拠は何か。
- 2) エクソソーム指向性タグとはどのようなものか。
- 3) モニタリングエクソソームと炭酸アパタイトナノ粒子の細胞内pH変化とそれぞれの動態について。
- 4) ルシフェラーゼ遺伝子の ATG コドンを削除することの意味は何か。
- 5) ポリリジン付加ガラクトース修飾の濃度が低いほどルシフェラーゼ活性が高いのは何故か。
- 7) 肝臓への取り込みが非常に高い効率だが、一般的な現象か。
- 8) EGFP シグナルの残存が細胞質基質への移行としているが、その他の可能性はないか。
- 9) 炭酸アパタイトナノ粒子とポリリジン付加ガラクトースの混合の効果・問題点はどのようなものが想定されるか。
- 10) 臨床応用（治療）を目指す視点から、今後の課題はどのようなものがあるか。

申請者は、審査委員からの指摘や質問に対して、自らの実験データ、未発表の実験データ、および文献的考察、さらには所属研究室におけるこれまでの研究成果も踏まえ、論理的かつ適切に回答し、本論文における当該分野における意義づけと将来における発展性や課題を明らかにした。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。
したがって、申請者 松木 勇樹 は東海大学博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	博士（医学）	秦野 伸二	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	稲垣 豊	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	幸谷 愛	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	加川 建弘	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	佐藤 正人	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）