

氏名 岡田 咲耶

主論文審査の要旨

細胞社会の恒常性を維持するために、ヒトを含む高等動物の細胞は増殖や分化、環境応答に必要な物質や情報を他の細胞と交換・補完する。細胞間で情報を交換・補完する際に、細胞は膜で包埋された球状の構造体「膜ベシクル」を用いることがある。膜ベシクル内にはタンパク質や RNA が包埋され、その膜ベシクルを細胞外に放出したり細胞内に取り込んだりする。しかし、細胞がどのようにして膜ベシクルの構造や機能を制御しているのか、その分子基盤は不明な点が多い。また、膜ベシクルを操作して細胞機能を増強もしくは減弱し、細胞社会を改変する技術は未発達である。

本学位論文は、1976年に米国のスコット博士が発見した直径 5-20 μm の細胞由来の大型膜ベシクルの誘導法に改良を加え、その改良法を用いて調製した大型膜ベシクルの構造と機能を実験的に考察したものである。7章構成から成る本学位論文の主な内容は、1章で本研究の背景、第 2~3章では「大型膜ベシクルの調製と構造決定」、第 4~6章で「膜ベシクル-細胞間相互作用と薬剤送達」の実験結果が、7章では考察とまとめが述べられている。

第 2~3章では、スコット博士の原著論文で記載されている大型膜ベシクル誘導法に改良を加えている。2価の金属イオンを膜のブレップ化を誘導する溶液から取り除いたり、両親媒性化合物を添加したりすることで、ヒト子宮頸がん細胞株の細胞表層膜からのベシクル化の反応効率を高めた。さらにパーコール密度勾配により純度の高い膜ベシクル画分を単離して、電子顕微鏡や蛍光試薬による内容物の検出、タンパク質と RNA 分析などを実施した。これにより、ヒト細胞由来の大型膜ベシクルの基本的な構造と膜ベシクルが呈する生化学的な性質を明らかにした。

第 4~6章では、調製した膜ベシクルと複数種のヒトやマウスの培養細胞との相互作用を検討している。実験の結果、ヒト細胞由来の大型膜ベシクルの細胞毒性が低いことや膜ベシクルが細胞表層に結合することを明らかにした。さらに、細胞表層の糖鎖の状態を糖鎖分解酵素や糖鎖合成阻害剤で処理することで、膜ベシクルの内容物を細胞内部に効率よく移行させる条件を見出した。特に、シアル酸を特異的に分解する酵素ニューロミニダーゼによる細胞処理が膜ベシクル内の物質の移行を促進する現象は興味深く、糖鎖の中でも、特にシアル酸の状態の変化が膜ベシクルと細胞膜の相互作用に重要なことが示唆された。さらに、抗がん作用を示すドキソルビシンや免疫応答を制御するクルクミンを取り込ませた大型膜ベシクルの薬剤効果を検証したところ、大型膜ベシクルを薬剤送達のための輸送担体として活用する可能性を示すことに成功した。

本論文の特筆すべき点は、細胞由来の大型膜ベシクルの構造基盤を明らかにした点と、大型膜ベシクルと細胞間相互作用を解析して大型膜ベシクルを用いた薬剤送達の可能性を示した点の 2 点を挙げることができる。エキソソームやマイクロベシクルなどの小型細胞外膜ベシクルや人工脂質膜のリポソームとは異なる細胞由来の大型膜ベシクルの生化学的特性や細胞適合性が明らかになったことで、今後、ヒト細胞由来の大型膜ベシクルを用い

た細胞機能の改変・操作が様々な研究の場で展開されると期待される。

なお、本学位論文に関連する研究業績として査読付きの国際学術誌に論文 3 報が掲載済みである。これは 1 つの論文が査読付き国際誌に公表されていることを学位基準の条件とする本専攻コースの基準を満たしている。さらに、論文提出者は国際会議とプロジェクトゼミナールで英語の口頭発表を行っており、学位審査委員会は英語でのコミュニケーション能力が論文提出者に十分備わっていると判断される。

学位審査委員会は令和 4 年 1 月 24 日に理学部 1 号棟 C226 大講義室で学位論文発表会を開催し、論文提出者に対してパワーポイントを用いた口頭での論文内容の説明を 35 分、その後に質疑応答を 30 分行った。論文内容に関する発表は明快で分かりやすく、質問に対する応答も的確であった。本学位論文は、論文提出者が学部 2 年次から **Junior Research Fellow** として開始した研究をまとめたもので独自性と新規性が高い。また、論文提出者は博士課程後期 1 年次に日本学術振興会特別研究員 **DC1** に採択され、本論文の研究領域と関連する学会賞を 1 件受賞している。

以上から、学位審査委員会は論文提出者が高い総合理解力と研究遂行能力を持つことを認めた。

最終試験の結果の要旨

学位審査委員会は、論文の内容および学術雑誌等への発表状況を鑑み、提出された論文が学位論文として十分な内容であることを認めた。さらに、最終試験での発表と質疑応答から、論文提出者が論文内容およびその周辺分野に対する十分な知識と説明能力を有し、学位授与に十分な総合理解力と高い研究遂行能力を有することを認めた。以上に基づき、審査委員会は合格と判断した。なお、学位論文で用いた図表等の著作権が掲載された学術雑誌の出版社に帰属し流用を禁じられているため、学位論文の公表は要約のみとする。また、本論文について剽窃チェックソフトを用いて確認し、剽窃は無いと判断した。

審査委員	理学専攻生物科学コース	教授	齊藤 寿仁
審査委員	理学専攻生物科学コース	教授	谷 時雄
審査委員	理学専攻生物科学コース	准教授	伊豆田 俊二
審査委員	理学専攻生物科学コース	教授	高宗 和史