T2R2 東京工業大学リサーチリポジトリ
Tokyo Tech Research Repository

# 論文 / 著書情報
# Article / Book Information

| | |
|---|---|
| 題目(和文) | ポリフェノール/フェニルボロン酸導入高分子複合体を基盤とした新規薬物送達システムの構築 |
| Title(English) | Construction of polyphenol/phenylboronic acid-conjugated polymer complexes-based drug delivery system |
| 著者(和文) | 本田雄士 |
| Author(English) | Yuto Honda |
| 出典(和文) | 学位:博士(工学),<br>学位授与機関:東京工業大学,<br>報告番号:甲第11986号,<br>授与年月日:2021年3月26日,<br>学位の種別:課程博士,<br>審査員:西山 伸宏,近藤 科江,上田 宏,丸山 厚,北本 仁孝 |
| Citation(English) | Degree:Doctor (Engineering),<br>Conferring organization: Tokyo Institute of Technology,<br>Report number:甲第11986号,<br>Conferred date:2021/3/26,<br>Degree Type:Course doctor,<br>Examiner:,,,, |
| 学位種別(和文) | 博士論文 |
| Category(English) | Doctoral Thesis |
| 種別(和文) | 論文要旨 |
| Type(English) | Summary |

Powered by T2R2 (Tokyo Institute Research Repository)

（博士課程）
Doctoral Program

# 論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

| | | | |
|---|---|---|---|
| 系・コース：<br>Department of, Graduate major in | 生命理工学<br>ﾗｲﾌｴﾝｼﾞﾆｱﾘﾝｸﾞ | 系<br>コース | 申請学位（専攻分野）：<br>Academic Degree Requested | 博士<br>Doctor of | （　工学　） |
| 学生氏名：<br>Student's Name | 本田雄士 | | 指導教員（主）：<br>Academic Supervisor(main) | 西山伸宏 | |
| | | | 指導教員（副）：<br>Academic Supervisor(sub) | | |

要旨（和文 2000 字程度）
Thesis Summary（approx.2000 Japanese Characters ）


本論文は「ポリフェノール/フェニルボロン酸導入高分子複合体を基盤とした新規薬物送達システムの構築(Construction of Polyphenol/Phenylboronic Acid-Conjugated Polymer Complexes-Based Drug Delivery System.)」と題して、ポリフェノールの一つであるタンニン酸 (TA)とボロン酸導入高分子で構成された複合体の構造物性及び薬物送達システム(DDS)への応用に関する研究の成果が記されたものであり、英文で書かれ、5 章より構成されている。第１章では、ポルフェノール及び TA の性質を中心にして、本研究に至る背景と研究目的が述べられている。近年、ポリフェノールの一種であるタンニン酸(TA)はその生理活性に加えて、接着材料としての利用が注目を集めている。その接着性によって TA はタンパク質など様々な生理活性物質と複合体を形成する事が報告されており、生体内における薬物送達システムとしての利用が期待されている。しかし、TA は生体組織や血中成分と非特異的に相互作用してしまうことから、薬物送達システムとしての利用が制限されている。そこで、TA のガロイル基とボロン酸エステルを水中で自己会合的に形成するボロン酸導入高分子を用いることで、高分子をシェル、TA を中間層、生理活性物質をコアとした全身投与型三元系複合体の構築およびその三元系複合体の新規薬物送達システムとしての応用を試みた。第二章では、タンパク質を内包したタンパク質/TA/ボロン酸導入高分子三元系複合体の構造解析および薬物動態を評価した。内包するタンパク質として緑色タンパク質(GFP)を用いた。複合体の形成は、粒子径測定と電気泳動にて評価した。ボロン酸導入高分子は、PEG-ポリリシンブロック共重合体(PEG-PLys)のリシン側鎖にアミド結合を介して 3-carboxyl-4-fluoro-phenylboronic acid (FPBA)を導入した PEG-PLys(FPBA)を用いた。粒子径を蛍光分光相関法にて測定したところ、GFP/TA 複合体（4nm 前後）に PEG-PLys(FPBA)を加えることで、粒径が 20nm の均一な GFP/TA/PEG-PLys(FPBA)三元系複合体(GFP 三元系複合体)の形成が確認された。次に、血中成分との相互作用を調べるために、牛血清(FBS)中での複合体の粒径を測定したところ、GFP/TA 複合体は FBS 濃度が上がるにつれて粒径が増加した一方、GFP 三元系複合体の粒径は FBS 濃度を上げても一定であったことから、PEG-PLys(FPBA)がシェルとして血中成分との相互作用を抑制していることが示された。さらに、皮下腫瘍モデルマウスを用いて GFP 三元系複合体の体内動態を評価するため、皮下腫瘍モデルマウスに GFP サンプルを静脈投与してから所定時間後、回収した臓器および血中の GFP 量を ELISA にて定量した。その結果、GFP および GFP/TA に比べて GFP/TA/PEG-PLys(FPBA)三元系複合体の血中滞留性および腫瘍集積性の向上が確認された。これより、この三元系複合体は、血中でも形成されており、薬物動態を改善できることを実証した。

第３章では、酵素を内包した三元系複合体の in vitro および in vivo における活性を評価し、酵素プロドラッグ療法への展開を記述した。酵素プロドラッグ療法とは、事前に酵素をがんなどの疾病箇所に特異的に集積させ、その酵素と特異的に反応する基質を投与することで、疾病箇所特異的に治療を行う方法である。高効率な酵素プロドラッグ療法を達成するためには、酵素を疾病箇所により多く集積させる必要がある。そこで、この三元系複合体にβ-Galactosidase(β-Gal)を内包させたβ-Gal/TA/高分子三元系複合体を形成させ、反応すると蛍光を発する Tokyo Green-β-Gal を基質として用いて活性を評価した。生理的 pH (7.4)で、β-Gal 三元系複合体の活性を評価したところ、β-Gal の活性より低下することが確認された。一方、がん細胞内におけるβ-Gal 三元系複合体の活性はβ-Gal 単体と同等であった。この三元系複合体はエンドサイトーシスによって取り込まれていたことからエンドソーム pH(5.5)でボロン酸エステルが解離し、細胞内での希釈および生体内分子との交換反応によって TA が解離してβ-Gal が放出されたと考えられる。また、タンパク質分解酵素を添加しても、β-Gal 三元系複合体の活性低下は確認されなかった。最後に、β-Gal 三元系複合体も GFP 三元系複合体と同様に優れた腫瘍集積性を示したことから、生体内におけるβ-Gal 活性を評価したところ、β-Gal 三元系複合体はβ-Gal 単体およびβ-Gal/TA 複合体より腫瘍で高い活性を示した。さらに、腫瘍での活性は、脾臓や肝臓などの正常組織より高いことから、この三元系複合体は疾病箇所で選択的かつ高活性を示すことが確認された。

第４章では、ポリフェノールとボロン酸導入高分子の組み合わせを標的指向性(リガンド)分子の開発へ応用した。具体的には、がんを標的化できるポリフェノール分子とボロン酸導入高分子にて複合体を形成させ、この複合体が in vitro と in vivo 両方においてがん標的リガンド分子として機能する事を示した。

このことから、ポリフェノールとボロン酸導入高分子の組み合わせは、生体内においても安定して形成され、巨大分子の薬物送達キャリアおよびがんを標的化するリガンド複合体として機能することが示された。


備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

（博士課程）
Doctoral Program

# 論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

| | | | |
|---|---|---|---|
| 系・コース：<br>Department of, Graduate major in | 生命理工学 系<br>ﾗｲﾌｴﾝｼﾞﾆｱﾘﾝｸﾞ コース | 申請学位（専攻分野）：<br>Academic Degree Requested | 博士 （ 工学 ）<br>Doctor of |
| 学生氏名：<br>Student's Name | 本田雄士 | 指導教員（主）：<br>Academic Supervisor(main) | 西山伸宏 |
| | | 指導教員（副）：<br>Academic Supervisor(sub) | |

要旨（英文 300 語程度）
Thesis Summary（approx.300 English Words ）


In recent years, tannic acid (TA), one of the polyphenols, has attracted a great deal of attention due to its adhesive and nano-complex-forming properties. Thus, TA can easily form complexes with various biomacromolecules such as proteins and virus vectors, and has potential as a novel protein delivery carrier. However, TA might interact non-specifically with blood components and the vessel wall, which limits its systemic application. In this study, I constructed novel protein delivery nanocarriers comprising TA and boronic acid-conjugated polymers. The boronic acid-conjugated polymer can form boronate ester with galloyl group of TA, and thus covered protein/TA complex to construct the core-shell-type ternary complex in aqueous solution. In chapter 2, I prepared a self-assembled protein ternary complex comprising TA and phenylboronic acid-conjugated polymer to evaluate the conformation and the biodistribution of the protein/TA/polymer ternary complex. The ternary complex covered with PEG exhibited a small hydrodynamic diameter of ~10–20 nm and prevented an unfavorable interaction with serum components, thereby accomplishing significantly prolonged blood circulation and enhanced tumor accumulation in a subcutaneous tumor model.

In Chapter 3, β-galactosidase (β-Gal) was encapsulated in the ternary complex, and the enzymatic activity was evaluated in *in vitro* and *in vivo* environment. At physiological condition, the β-Gal ternary complex was stably formed, and protected the loaded β-Gal from enzymatic degradation by proteinase, and thus suppressed the β-Gal activity, while in the intracellular environment, the ternary complex showed the recovery of β-Gal activity by the release of the loaded β-Gal. Thereby, the ternary complex showed high accumulation and selective enzymatic activity at the tumor site.

In chapter 4, the facile technique constructed of polyphenol and boronic acid-conjugated polymer has been applied to the development of the tumor-targeting complex. In conclusion, my study demonstrated the combination of polyphenol and boronic acid-conjugated polymer was stably formed even in *in vivo* and functions as a biomacromolecule delivery carrier and tumor-targeting ligand complex.


備考 ： 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。