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), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11986号, 授与年月日:2021年3月26日, 学位の種別:課程博士, 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), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11986号, Conferred date:2021/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
 学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

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。ポリフェノールの一種である 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2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基質を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、 β -Cal 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。 第5章では、本研究の成果が総括され、将来展望を述べている。