

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Tumoral Acidic pH-responsive Polycarboxybetaine-coated Lipid Nanoparticle for Effective siRNA Delivery
著者(和文)	SUNGYi-Jung
Author(English)	Yijung Sung
出典(和文)	学位:博士(学術), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12301号, 授与年月日:2022年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:西山 伸宏,三浦 裕,小島 英理,曾根 正人,柳田 保子,小倉 俊一郎
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12301号, Conferred date:2022/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

## 論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	Yi-Jung Sung	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	西山 伸宏	教授	柳田 保子	教授
	審査員	三浦 裕	准教授	小倉 俊一郎	准教授
		小島 英理	教授		
		曾根 正人	教授		

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Tumoral acidic pH-responsive polycarboxybetaine-coated lipid nanoparticle for effective siRNA delivery」と題して、腫瘍および細胞内酸性環境下で電荷的中性からカチオン性に変化する pH 応答性ベタインポリマーの脂質ナノ粒子型 siRNA 送達システム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、6 章より構成されている。

第 1 章「Introduction」では、siRNA の送達システムの基本設計を中心にして、本研究に至る背景と研究目的が述べられている。脂質ナノ粒子が siRNA 送達システムとして広く研究され、その一部が実用化されているが、固形がんを標的とした siRNA のデリバリーにおいては多くの課題が存在し、血中滞留性やがん集積性の向上のために脂質ナノ粒子に必要とされる機能の最適化に加えて、腫瘍内微小環境を活用したデリバリー戦略が必要であると述べられている。これらを踏まえて、本論文では、血中 pH では電荷的中性を示すが、腫瘍および細胞内酸性環境下でカチオン性に変化する pH 応答性ベタインポリマーが siRNA のデリバリーに極めて有効であると考えられ、本ポリマーをシェルとして有する脂質ナノ粒子を構築することを目的としたことが記されている。

第 2 章「Synthesis of polyzwitterion modified lipid」では、pH 応答性ベタインポリマーと脂質 (1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine)(DSPE) のコンジュゲート体の合成について述べられている。DSPE に dibenzocyclooctyne(DBCO)-maleimide を反応させた後、 $\alpha$  末端にアジド基を有する pH 応答性ベタインポリマー N<sub>3</sub>-PGlu(DET-CAR)<sub>30</sub> と混合し、銅触媒フリーのクリック反応を行うことでコンジュゲート体の合成を行い、プロトン核磁気共鳴 (<sup>1</sup>H-NMR) と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による解析を行った結果、高純度並びに高収率 (87%) で目的とする DSPE-PGlu(DET-CAR)<sub>30</sub> が合成できたことが記載されている。

第 3 章「Preparation/characterization of lipid nanoparticles」では、第 2 章において合成した DSPE-PGlu(DET-CAR)<sub>30</sub> を用いた siRNA 搭載脂質ナノ粒子の調製について述べられている。脂質ナノ粒子は、カチオン性脂質、ヘルパー脂質、コレステロールを含有する 90% t-ブチルアルコール水溶液と DSPE-PGlu(DET-CAR)<sub>30</sub> と siRNA を含有するリン酸緩衝液 (pH7.4) を混合し、限外ろ過で精製することにより調製でき、構成成分の組成の最適化によって 130 nm の粒子径に調整できることが明らかにされている。pH 応答性ベタインポリマー含有脂質ナノ粒子に関して、異なる pH 条件下でのゼータ電位を測定した結果、コントロールとして同条件で調製したポリエチレングリコール (PEG) 含有脂質ナノ粒子が pH5.5 から pH7.4 の範囲においてほぼ中性の電荷を示したのに対して、PGlu(DET-CAR)<sub>30</sub> 含有脂質ナノ粒子は、pH7.4 において中性の電荷を示すが、pH6.5 以下において +18 mV のカチオン性を示すことが明らかにされている。これらの結果より、PGlu(DET-CAR)<sub>30</sub> 含有脂質ナノ粒子は腫瘍および細胞内酸性環境下でカチオン性に変化する特性を有するものと結論づけられている。

第 4 章「In vitro assessment」では、ポリマー含有脂質ナノ粒子の in vitro 特性について述べられている。PGlu(DET-CAR)<sub>30</sub> 含有脂質ナノ粒子は、腫瘍内酸性環境に反応した細胞内取り込みの増加と細胞内移行を示し、PEG 含有脂質ナノ粒子と比較して優れたエンドソーム脱出効率と siRNA による遺伝子ノックダウン効率を示すこと、培養細胞に対して細胞毒性を示さないことが明らかにされている。

第 5 章「In vivo assessment」では、ポリマー含有脂質ナノ粒子の in vivo 特性について述べられている。PGlu(DET-CAR)<sub>30</sub> 含有脂質ナノ粒子は、PEG 含有脂質ナノ粒子と比較して優れた血中滞留性とがん集積性を示し、固形がんに対する優れた遺伝子ノックダウン効果と治療用 siRNA を用いることによる有意な抗腫瘍効果と高い安全性が示され、PGlu(DET-CAR)<sub>30</sub> 含有脂質ナノ粒子の固形がんを標的とする siRNA 送達システムとして有用であることが明らかにされている。

第 6 章「Conclusion & Future perspective」では、本研究の成果が総括され、将来展望が述べられている。これを要するに、本論文では、pH 応答性ベタインポリマーの脂質ナノ粒子型 siRNA 送達システムのシェル材料としての有用性を実証することに成功しており、学術上貢献するところが大きい。よって本論文は博士 (学術) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ (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