

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	プラスミドDNAデリバリーを指向したpH変換型ポリ双性イオン導入ナノシステムの開発
Title(English)	Development of Stepwise pH Responsive Polyzwitterion Introduced Nanocarrier for Plasmid DNA Delivery
著者(和文)	SHENXin
Author(English)	Xin Shen
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12605号, 授与年月日:2023年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:西山 伸宏,三浦 裕,中村 浩之,小島 英理,丸山 厚,曾根 正人
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12605号, Conferred date:2023/9/22, 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	SHEN XIN	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	西山 伸宏	教授	丸山 厚	教授
	審査員	三浦 裕	准教授	曾根 正人	教授
		中村 浩之	教授		
		小島 英理	教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Development of Stepwise pH-Responsive Polyzwitterion-Introduced Nanocarrier for Plasmid DNA 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 応答性ペタインポリマーをシェルとする高分子ミセル型プラスミド DNA(pDNA)送達システム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「General Introduction」では、pDNA 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。がんに対する遺伝子治療がこれまでに研究され、その一部が実用化されているが、固形がんを標的とした pDNA 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 DDS 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 応答性ペタインポリマーが pDNA 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高分子ミセル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 Polymers and Their Cytotoxicity」では、pH 応答性ペタインポリマーと分岐型ポリエチレンジアミン(PEI)のコンジュゲート体の合成について述べられている。PEI に dibenzocyclooctyne(DBCO)-succinimidyl ester(NHS)を反応させた後、 α 末端にアジド基を有する pH 応答性ペタインポリマー-N₃-PGlu(DET-Car)₁₀₀ 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(PGlu(DET-Car)-bPEI)が合成できたことが記載されている。同様に、PEI にポリエチレングリコール(PEG)(分子量: 20,000)を反応させることによって PEG-bPEI を合成し、細胞毒性評価を行った結果、PEI で見られる細胞毒性が PGlu(DET-Car)および PEG のどちらのコンジュゲート体においても顕著に抑制されたことが述べられている。

第 3 章「Preparation and Characterization of polyplex micelles (PMs)」では、第 2 章において合成した PGlu(DET-Car)-bPEI および PEG-bPEI を用いた pDNA 内包高分子ミセル(それぞれ PGDC PM および PEG PM)の調製について述べられている。異なる N/P 比(PEI 中のアミノ基/pDNA 中のリン酸基)で pDNA とポリマーを混合し、ゲル電気泳動、粒径、ゼータ電位の評価を行った結果、N/P=15 において粒径 100nm の高分子ミセルが形成され、PEG PM は pH5.5 から pH7.4 の範囲においてはほぼ中性の電荷を示したのに対して、PGDC PM は pH7.4 において僅かにアニオン性の電荷を示すが、pH6.5 で +7 mV、pH5.5 で +15 mV のカチオン性を示したことが明らかにされている。これらの結果より、PGDC PM は血中では電荷的に中性であるが、腫瘍および細胞内酸性環境下で pH に応じた段階的なプロトン化に基づくカチオン性を示す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、pDNA 内包高分子ミセルの in vitro 特性について述べられている。PGDC PM 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 PM と比較して優れたエンドソーム脱出効率と pDNA のデリバリーに基づく遺伝子導入効率を示すこと、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、pDNA 内包高分子ミセルの in vivo 特性について述べられている。PGDC PM 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導入効率をもたらすことが述べられている。さらに、PGDC PM は、マウス神経芽腫モデルに対する可溶性血管内皮増殖因子受容体-1(sFlt-1)遺伝子のデリバリーによる治療実験において、有意な抗腫瘍効果と高い安全性を示し、PGDC PM が固形がんを標的とする遺伝子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 and 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 応答性ペタインポリマーの pDNA 送達用高分子ミセル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で作成してください。