

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	pH応答性ポリベタイン修飾脂質ナノ粒子のマイクロ流体デバイスによる調製と分子量の最適化
Title(English)	
著者(和文)	本間啓太郎
Author(English)	Keitaro Homma
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12900号, 授与年月日:2024年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:西山 伸宏,三浦 裕,小畠 英理,小倉 俊一郎,藤枝 俊宣,柳田 保子
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12900号, Conferred date:2024/9/20, 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

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	本間 啓太郎	
論文審査 審査員		氏名		職名	氏名	職名
	主査	西山 伸宏		教授	藤枝 俊宣	准教授
	審査員	三浦 裕		准教授	柳田 保子	教授
		小島 英理		教授		
		小倉 俊一郎		准教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「pH 応答性ポリペプチン修飾脂質ナノ粒子のマイクロ流体デバイスによる調製と分子量の最適化」と題して、シェル材料として pH 応答性ポリペプチンを有する siRNA 内包脂質ナノ粒子(LNP)の調製とその機能評価に基づく最適化に関する研究の成果が記されたものであり、和文で書かれ、4 章より構成されている。

第 1 章「序論」では、核酸医薬の送達システムとしての LNP に関する研究背景とそのシェル材料としてのポリペプチン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。これまでに LNP が広く研究され、siRNA 内包 LNP はその一部が実用化されているが、肝臓以外の臓器・組織を標的化することが困難であること、ポリエチレングリコール(PEG)脂質を用いることで LNP の血中滞留性を向上させることが可能であるが LNP の核酸導入効率を低下させる PEG ジレンマの課題が存在することから、これらを解決しうる新たな LNP 設計戦略が必要であると述べられている。その戦略の一つとして、血中の pH7.4 では電荷的中性を示す一方で、がん組織や細胞内の酸性 pH 環境でカチオン性を示す pH 応答性ポリペプチンが PEG ジレンマを解決する LNP の新規シェル材料として有望であることが述べられている。これらを踏まえて、本論文では、pH 応答性ポリペプチン修飾 LNP の調製法を確立し、その機能評価に基づき pH 応答性ポリペプチンの最適化を行うことを目的としたことが記されている。

第 2 章「異なる分子量を有する pH 応答性ポリペプチン修飾 LNP の調製」では、分子量の異なる pH 応答性ポリペプチン-脂質の合成とマイクロ流体デバイスを用いた siRNA 内包 LNP の調製について述べられている。重合度が 20, 70, 110 のポリ(γ -ベンジル-L-グルタメート)を合成し、アミノリシス反応による側鎖変換と脂質とのクリック反応によって分子量の異なる pH 応答性ポリペプチン-脂質(CB20, CB70, CB110)が合成できたことが記載されている。得られた pH 応答性ポリペプチン-脂質を用い、流体マイクロデバイスによる siRNA 内包 LNP の調製条件の検討を行った結果、カチオン/アニオン比(N/P 比)が 6、Total Flow Rate が 3mL/min においてサイズが 120nm、siRNA 内包率が 90%以上の LNP が調製できたことが記載されている。

第 3 章「異なる分子量を有する pH 応答性ポリペプチン修飾 LNP の機能評価」では、第 2 章において調製された siRNA 内包 LNP の機能評価について述べられている。ヒト卵巣がん由来 SK-OV-3-luc 細胞に対する細胞取り込みを検討した結果、PEG 修飾 LNP と比較して pH 応答性ポリペプチン修飾 LNP は培地の pH を 7.4 から 6.5 変化させることで顕著な細胞取り込みの増大を示し、CB20, CB70, CB110 の順で細胞取り込み量が増大したことが記載されている。次に、蛍光色素カルセインを用いてエンドソーム脱出能を評価した結果、CB20 修飾 LNP が非常に高いエンドソーム脱出効率を示し、CB20, CB70, CB110 の順でエンドソーム脱出効率が減少することが確認され、この結果はリポソームの膜融合実験の結果と一致していたことが記載されている。さらに、siLuc による SK-OV-3-luc 細胞に対する遺伝子サイレンシング効果(RNAi 効果)を検討した結果、pH6.5 において有意な RNAi 効果が得られ、エンドソーム脱出効率およびリポソームの膜融合実験の結果に一致して、CB20, CB70, CB110 の順で RNAi 効果が減少したことが述べられている。これらすべての結果を踏まえて、pH 応答性ポリペプチン修飾 LNP による siRNA 送達効率はポリペプチンの分子量に依存し、分子量の大きいポリペプチンはエンドソーム内での LNP の膜融合を阻害するために CB20 修飾 LNP が siRNA 送達効率においては最も優れていることが考察されている。

第 4 章「総括」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、従来の PEG 修飾 LNP の PEG ジレンマの課題を克服することを目的としてマイクロ流体デバイスを用いた pH 応答性ポリペプチン修飾 LNP の調製法を確立し、その有用性を明らかにすると同時にポリペプチンの分子量を最適化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(工学)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。