

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	高機能化タンパク質ナノ粒子の開発とその応用
Title(English)	
著者(和文)	池田裕介
Author(English)	Yusuke Ikeda
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10815号, 授与年月日:2018年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:小島 英理,山口 雄輝,白木 伸明,小倉 俊一郎,三重 正和
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10815号, Conferred date:2018/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	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	池田 裕介	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	小島 英理	教授	三重 正和	准教授
	審査員	山口 雄輝	教授		
		白木 伸明	准教授		
		小倉 俊一郎	准教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「高機能化タンパク質ナノ粒子の開発とその応用」と題し、5章より構成されている。

第1章「序論」では、医療分野において応用が試みられているナノ粒子をはじめとした微粒子材料について概説した後、エラスチン様ポリペプチド(ELP)から成るタンパク質ナノ粒子の特性とそれを用いた研究について述べ、それらナノ粒子をがんの診断と治療技術に応用することによる優位性を明らかにし、本研究の目的と意義を述べている。

第2章「ルシフェラーゼ融合タンパク質ナノ粒子の作製とその特性評価」では、バイオセンシングシステムの高感度化を目指し、エラスチン由来のペプチドの繰り返し配列(AVGVP)₄₂にポリアスパラギン酸 D₄₄を付与したナノ粒子形成融合タンパク質 AD にトゲオキヒオドシエビ由来のルシフェラーゼである Nanoluc®と Biotin acceptor peptide を融合し、発光能とアビジンを介した抗体結合能を付与することで、免疫アッセイにおける検出プローブとなる融合タンパク質(ADNB)を作製し、その機能評価を行っている。ADNB は大腸菌発現系を利用した遺伝子工学的な手法により作製を行っている。肝臓がんの腫瘍マーカーである AFP を標的として、1次抗体とストレプトアビジン標識2次抗体を介して、ADNB ナノ粒子を結合する ELISA 系を構築し、検討を行っている。その検出能を調べたところ、従来の標的1分子に1酵素を提示する検出法と比較して、10倍程度高い検出能を有することを示している。また、ヒト血清中における AFP についても高感度かつ定量的に検出することができ、臨床検査へ応用できる可能性を示している。

第3章「iRGD 融合タンパク質ナノ粒子の作製とその特性評価」では、ドラッグデリバリーシステムにおける優れた薬剤キャリアの構築を目指し、エラスチン由来のペプチドの繰り返し配列(AVGVP)₄₂にポリアスパラギン酸 D₄₄を付与したナノ粒子形成融合タンパク質 AD に、腫瘍に対するホーミングペプチドである internalizing RGD(iRGD)ペプチドを融合し、がん細胞に対する標的能と細胞内移行能を付与することで、ドラッグデリバリーシステムにおけるキャリアとなる融合タンパク質(ADiR)を作製し、その機能評価を行っている。ADiR は、大腸菌発現系を利用した遺伝子工学的な手法により作製を行っている。ADiR をコートした培養皿上にヒト肺がん細胞を添加すると、コートした融合タンパク質の濃度依存的に細胞数が増加し、がん細胞表面のインテグリンに特異的に結合することを示している。また、蛍光分子を内包した ADiR ナノ粒子が、ヒト肺がん細胞内部において有意に蓄積されていることから、細胞内移行能を有していることを示し、ドラッグデリバリーシステムに適したキャリアであることを明らかにしている。

第4章「臨床応用に向けた iRGD 融合ナノ粒子の抗腫瘍評価と血中動態の評価」では、第3章で構築した ADiR ナノ粒子の臨床応用を想定し、血清中でのナノ粒子の機能発現、抗がん剤を内包したナノ粒子による細胞死誘導、血液循環におけるナノ粒子の滞留性について検討を行っている。血清中の蛍光分子内包ナノ粒子においてもがん細胞内部への蓄積が見られ、iRGD の機能を保持し、薬剤を内包したままがん細胞内部へと移行することを示している。また、抗がん剤を内包してヒト肺がん細胞へ投与すると、iRGD 配列のがん細胞標的能と細胞内移行能の両機能の相乗効果により、内包した抗がん剤を細胞内で放出することで、顕著に細胞死を誘導することを示している。さらに蛍光分子を内包したナノ粒子をマウス血中に静脈注射すると、免疫細胞の捕食による排泄を回避し、血中に長時間滞留する性質を有していることを示しており、iRGD を融合したタンパク質ナノ粒子が生体内の腫瘍を標的とした臨床応用に適用可能であることを明らかにしている。

第5章「結論」では、各章で得られた結果を総括すると共に、今後の展望について述べている。

これを要するに、本論文は、シグナル増幅の役割を担う酵素とビオチン化ペプチド、あるいはがん細胞標的化ペプチド配列を用いて、新規な高機能化タンパク質ナノ粒子を構築し、バイオセンシングシステムおよびドラッグデリバリーシステムにおける有用性を明らかにし、今後のがん診断・治療技術の発展に資する多くの知見を得たものであり、工学上および工業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。