

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ポリサルコシン修飾リポソームの調製と細胞内送達および薬物動態挙動
Title(English)	Preparation of Polysarcosine-Coated Liposomes and Their Intracellular Delivery and Pharmacokinetic Behavior
著者(和文)	HU MINGXIN
Author(English)	HU MINGXIN
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12562号, 授与年月日:2023年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:小島 英理,三重 正和,金原 数,丸山 厚,堤 浩
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12562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	Mingxin HU		
論文審査 審査員		氏 名	職 名		氏 名	職 名
	主査	小 畠 英理	教授	審査員	堤 浩	准教授
	審査員	三 重 正和	准教授			
		金 原 数	教授			
		丸 山 厚	教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文「Preparation of Polysarcosine-Coated Liposomes and Their Intracellular Delivery and Pharmacokinetic Behavior」は、英語で書かれ、全四章で構成されている。

第一章「General Introduction」では、本論文の主題となるリポソームを用いたドラッグデリバリーシステム (DDS) およびその表面へのポリエチレングリコール (PEG) 修飾の利点と問題点についてまとめており、そのような PEG の代替物として近年注目されているポリサルコシン (PSar) の性質・有用性について、これまでに報告されているポリサルコシン修飾材料の例を紹介しながら、概説している。このような背景をもとに、これまで、ポリサルコシンの鎖長や修飾密度による生体機能性の詳細な検討が行われてこなかったという問題を提起し、それに基づいて本研究の意義、目的、位置づけを説明している。

第二章「Effect of Polysarcosine Chain on Cell Uptake of Polysarcosine-coated Liposomes」では、ポリサルコシン修飾リポソーム (PSar-lipo) の細胞内移行挙動およびその経路について調査し、その成果をまとめている。最初に、クリック反応を利用した重合度の異なる 3 種のポリサルコシン脂質 (23, 45, 68 残基) の高収率合成、および合成した 3 種のポリサルコシン脂質についてそれぞれ 2 種の混合比 (5, 10 mol%) で計 6 種の Par-lipo の調製について述べている。調製した PSar-lipo の物性評価から、ポリサルコシン修飾はリポソームの物性 (形状・粒径・均一性・表面電荷・膜流動性・相転移温度) に影響を与えないことを明らかにしている。次に細胞毒性試験を行い、PSar-lipo は HeLa 細胞に対して毒性を示さないことを確認している。さらに、フローサイトメトリーおよび蛍光顕微鏡観察から、PSar 密度が 5 mol% の PSar-lipo は一般的な PEG 修飾リポソームと同程度の細胞内移行性を示すこと、10 mol% の Par-lipo が 5 mol% の PSar-lipo より速やかに細胞内に取り込まれることを示している。最後にエンドサイトーシス阻害剤を用いた取込実験から、いずれの PSar-lipo もカベオラ・脂質ラフト介在性エンドサイトーシスによって取り込まれることを明確にしている。PSar 修飾材料の細胞内移行機構については報告例が多くなく、DDS 用の PSar 修飾材料の設計指針および創薬デザインに大きく影響する可能性のある成果であると記述している。

第三章「Polysarcosine-Coated Liposomes Attenuating Immune Response Induction and Prolonging Blood Circulation」では、PSar-lipo の血中滞留性および組織集積性、頻回投与性を定量的に評価しており、DDS 材料としての有用性を証明している。まず、PSar-lipo において PSar 密度を 1-100 mol% まで変えてその形状・サイズ・多分散性を調査しており、15 mol% までは均一なリポソームが形成可能であると結論づけている。その知見をもとに、重合度の異なる 3 種のポリサルコシン脂質 (23, 45, 68 残基) と 3 種の混合比 (5, 10, 15 mol%) の組み合わせから 9 種の PSar-lipo を調製し、ラットを用いた動物実験を行い、投与後の抗体産生量について複数の酵素結合免疫吸着測定 (ELISA) から議論を行っている。結論としては、PSar の鎖長および密度は抗体産生には影響を与えない可能性が高いとしている。最も長い 68 残基の PSar 脂質において 15 mol% の混合比で調製した PSar-lipo が最も長い血中滞留性を示し、これは一般的な PEG 修飾リポソームよりも優れたものである。各組織の PSar-lipo の集積量をラット個体の蛍光イメージング解析から求めており、PSar 鎖長が長くなると肝臓への集積が抑制されること (68 残基 vs 23 残基)、さらに混合比が高いとき脾臓への集積が有意に減少すること (10 mol% vs 15 mol%) を明らかにしており、これにより長い血中滞留性が可能になっていると結論付けている。最後に頻回投与を行ったところ、2 回目の投与において 1 回目より血中滞留性が減少する Accelerated Blood Clearance (ABC) 現象が確認されたが、PEG 修飾リポソームに比べると大きく減弱されていることを明らかにしている。PSar 修飾の PEG 修飾に対する優位性を示す結果であり、DDS 分野における材料開発に大きな一石を投じる成果であるとまとめている。

第四章「Conclusion Remarks and Future Perspectives」では、第二章、第三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。本論文で得られた知見は、主に細胞や体内における現象を詳細に調査したものである。今後、そのメカニズムや原因の解明には、PSar のコンフォメーションや PSar 相の物性と、抗体や補体のような生体分子との相互作用の関係などに注目した材料化学的、高分子化学的、医工学的な基礎研究が必要であり、それらの解明がポリサルコシンを現在の PEG と同様に一般的に汎用的に利用可能にし、さらに効率的な DDS 材料の設計指針を決める要素となり、飛躍的に DDS 研究を加速させうると述べている。

以上を要するに、本論文は、現在新しい生体材料・医療材料のコーティング剤として注目されている PSar について、汎用的に用いられている PEG と、リポソームという同一プラットフォームを用いて比較することで、DDS における 2 つの大きな課題「細胞内移行」「体内動態」における影響について、鎖長・密度の効果も交え詳細に調査し、現象を研究したものであり、工学上ならびに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に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、東工大リサーチリポジトリ(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。