

論文内容の要旨

博士論文題目

Cellular uptake of spontaneously formed lipid nanodiscs toward their molecular delivery application

(自発形成された脂質ナノディスクの細胞取り込みと分子デリバリーへの応用)

氏 名 HAO JINYU

(論文内容の要旨)

脂質分子を主要成分とする脂質ナノキャリアは、その高い生体親和性や表面修飾の柔軟性から、ドラッグデリバリーシステムへの応用が期待されている。脂質分子は多様な集合体を形成することが知られているが、ナノキャリアとしての研究例は球状カプセルであるリポソームが大半であった。本研究では、新規な非リポソーム系ナノキャリアの構築を目指し、両親媒性ポリメタクリレート誘導体を用いた脂質ナノディスクを用いた細胞への分子輸送技術の開発を行った。

疎水性モノマーおよび、カチオン性もしくは双性イオン性の親水性モノマーをランダム共重合することで両親媒性ポリマーを得た。脂質ナノディスクは、リポソームに合成したポリマーを添加することで調製した。動的光散乱及び透過型電子顕微鏡より、ポリマーの添加によってリポソームが断片化され、直径数十ナノメートルの円盤状脂質分子集合体が形成されること、ディスクの直径は脂質/ポリマー濃度比に依存することを確認した。

はじめに、カチオン性側鎖を有するポリマーによって形成されたナノディスクと HeLa 細胞の相互作用を評価した。蛍光色素を修飾した脂質ナノディスクによる細胞取り込みを評価したところ、その効率には脂質/ポリマー組成比に依存し、低い濃度比で形成されたナノディスクが高効率に取り込まれた。取り込み後の細胞内局在も脂質/ポリマー組成比に依存し、低い濃度比のナノディスクは核近傍へ輸送される一方で、高い濃度比を有するナノディスクは細胞質に留まることが示された。抗がん剤であるパクリタキセルを内包したナノディスクを調製し、その抗がん活性を評価したところ、同濃度のパクリタキセルを内包したリポソームと比較して、顕著に高い抗がん活性を示すことが明らかになった。

続いて、双性イオン型側鎖を有するポリマーとリン脂質によって形成された複合体と HeLa 細胞との相互作用を評価した。カチオン性ポリマーを用いたナノディスク同様に、双性イオン型ポリマーを用いた場合でも細胞取り込みが誘起されることを蛍光顕微鏡観察から確認した。また、細胞生存率測定の結果から、双性イオン型のポリマーを用いることで、カチオン性ポリマーが示した細胞毒性を大きく低減できることがわかった。

以上より、両親媒性ポリマーによって形成される脂質ナノディスクは、生細胞に対して高効率に分子を輸送できる手法であることが示された。

(論文審査結果の要旨)

脂質分子を主要構成成分とする脂質ナノキャリアは、その高い生体親和性や表面修飾の柔軟性から、ドラッグデリバリーシステムへの応用展開において大きな期待が寄せられている。脂質分子は多様な集合体形状をとることが知られている一方で、ナノキャリアとしての研究例は球状カプセルであるリポソームがその大半であった。本論文では、新規な非リポソーム系ナノキャリアの構築を目指し、両親媒性ポリメタクリレート誘導体を用いた脂質ナノディスクを用いた細胞への分子輸送技術の開発について述べている。

疎水性モノマーとしてメタクリル酸ブチルを、親水性モノマーとしてカチオン性のメタクロイルコリンクロリドもしくは双性イオン性の 2-メタクロイルオキシエチルホスホリルコリンをランダム共重合することで両親媒性ポリマーを得た。脂質ナノディスクは、リン脂質によって形成された単層リポソームに合成したポリマーを添加することで調製した。動的光散乱及び透過型電子顕微鏡より、ポリマーの添加によってリン脂質リポソームが断片化されることで直径数十ナノメートルのディスク状脂質分子集合体が形成されること、形成されたディスクの直径は脂質／ポリマー濃度比に依存することが明らかになった。

はじめに、カチオン性側鎖を有するポリマーによって形成されたナノディスクとヒト子宮頸がん由来の HeLa 細胞の相互作用を評価した。蛍光色素を修飾した脂質ナノディスクによる細胞取り込み挙動を評価したところ、その効率には脂質／ポリマー組成比に依存し、低い濃度比で形成されたナノディスクが高効率に取り込まれることが明らかになった。また、取り込み後の細胞内局在に関しても脂質／ポリマー組成比に依存し、低い濃度比のナノディスクは核近傍へ輸送される一方で、高い濃度比を有するナノディスクは細胞質に留まることが示された。ドラッグキャリアとしての有用性を検証するために、抗がん剤であるパクリタキセルを内包したナノディスクを調製し、その抗がん活性を評価したところ、同濃度のパクリタキセルを内包したリポソームと比較して、顕著に高い抗がん活性を示すことが明らかになった。

続いて、双性イオン型側鎖を有するポリマーとリン脂質によって形成された複合体と HeLa 細胞との相互作用を評価した。カチオン性ポリマーを用いたナノディスク同様に、双性イオン型ポリマーを用いた場合でも細胞取り込みが誘起されることを蛍光顕微鏡観察から確認した。また、細胞生存率測定の結果から、双性イオン型のポリマーを用いることで、カチオン性ポリマーが示した細胞毒性を大きく低減できることがわかった。

以上より、両親媒性ポリマーによって形成される脂質ナノディスクは、生細胞に対して高効率に分子を輸送できる手法であることが示された。本知見は、ドラッグデリバリーシステムの確立に向けた新しいナノキャリア技術として脂質ナノディスクが応用できる可能性を示すものである。

よって、審査委員一同、本論文が博士（工学）の学位論文としての価値を有していると認めた。