

| | | | |
|---------|---|---------|--------------------------|
| 氏名 | Emmanuel Chekwube OSSAI | | |
| 学位の種類 | 博 士 (生物工学) | | |
| 学位記番号 | 博 甲 第 8161 号 | | |
| 学位授与年月日 | 平成 29年 3月 24日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 | | |
| 審査研究科 | 生命環境科学研究科 | | |
| 学位論文題目 | Characterization of Lipid Vesicles Formulation by Multiple Emulsion and Solvent Evaporation Integrated Process for Improved Entrapment of Hydrophilic Bioactive Molecules (親水性生理活性分子の内包化の向上のための 多相エマルジョン - 溶媒蒸発プロセスによる脂質ベシクル形成の特性解明) | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 博士 (工学) | 市川 創作 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 農学博士 | 佐藤 誠吾 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 工学博士 | 中嶋 光敏 |
| 副査 | 筑波大学准教授 | 博士 (農学) | Marcos Antonio das NEVES |

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、多相エマルジョン - 溶媒蒸発プロセスにおける脂質ベシクル形成に着目し、親水性生理活性分子の内包率の向上という観点から脂質ベシクルの形成特性について解明を行ったものである。

第 1 章では、本研究の背景として物質内包脂質ベシクル作製法に関する既往の研究をまとめ、各作製法の特徴が議論されている。脂質ベシクルは、リン脂質などの両親媒性分子により形成される二分子膜が、その内側に微小な水相を取り込んで閉鎖小胞構造を形成したナノメートルからマイクロメートルオーダーの分子集合体であり、その構造特性から医薬品や食品、化粧品における生理活性分子のキャリアとして利用が検討されている。しかしながら、親水性生理活性分子を効率的に脂質ベシクルに内包化すると共にそのサイズを制御することは困難であり、新たな物質内包脂質ベシクルの作製技術の開発が求められている。この様な背景から、著者は親水性生理活性分子の効率的な内包化とサイズ制御が期待できる多相エマルジョン - 溶媒蒸発プロセスに着目し、内包率の向上という観点で脂質ベシクルの形成特性を解明することの重要性を指摘している。

第 2 章では、親水性生理活性分子のモデルとして蛍光分子カルセインを使用し、多相エマルジョン - 溶媒蒸発プロセスによるカルセイン内包脂質ベシクルの形成特性について検討している。このプロセスでは、はじめに脂質ベシクル作製の基材として使用する多相エマルジョン、すなわちカルセインが溶解した微細水滴 (W_1 相) を包含する油滴 (O相) を外水相 (W_2 相) に分散させた $W_1/O/W_2$ エマルジョンをマイクロチャンネル乳化法により作製している。次に、液中乾燥法により O 相の有機溶媒を蒸発させることで

カルセイン内包脂質ベシクルの形成を試み、その特性を評価している。その結果、多相エマルジョンの微細水滴とほぼ同じ182 nmの大きさの脂質ベシクルが形成できることを明らかにした。この結果は、微細水滴のサイズを制御することで脂質ベシクルのサイズが制御できることを示唆している。また、脂質ベシクルへのカルセインの内包率は89 %となり、既存のベシクル作製法と比較して効率的に親水性分子を内包化できることを示した。

次に、カルセインの内包率に対する、外水相の乳化剤と液中乾燥条件の影響を明らかにしている。得られた実験結果に基づいて脂質ベシクルの形成プロセスに関与する因子について考究し、内包率に影響を及ぼす3つの内包分子漏出メカニズム、すなわち(1)多相エマルジョン油滴の不安定化・崩壊による微細水滴の外水相への漏出、(2)油相の逆ミセルによる内包分子の微細水滴から外水相への輸送・漏出、(3)乳化剤によるベシクル脂質膜の不安定化・可溶化による内包分子の漏出を提案し、これらのメカニズムについて実験的な検証を行っている。

第3章では、第2章で得られた知見を基に、多相エマルジョン - 溶媒蒸発プロセスにより親水性生理活性分子である抗癌薬5-フルオロウラシル及び糖尿病治療薬塩酸メトホルミンの脂質ベシクルへの内包化を検討している。医薬品添加剤プルロニックF-68を外水相乳化剤として使用した場合、5-フルオロウラシルの内包率は36 %、塩酸メトホルミンの内包率は41 %となり、既往の報告と比較して高い内包率が達成できたことを示している。また、形成された脂質ベシクルのサイズは200 nm程度であり、基材とした多相エマルジョンの微細水滴のサイズと対応することを示している。

第4章では、研究を総括し、多相エマルジョン - 溶媒蒸発プロセスによる物質内包脂質ベシクルの形成に関する今後の課題と展望が述べられている。

審 査 の 要 旨

本論文において著者は、多相エマルジョン - 溶媒蒸発プロセスによる脂質ベシクル形成の特性について、親水性生理活性分子の内包率の向上という観点から解明を試みている。親水性のモデル分子カルセインを使用した検討では、カルセインを高い内包率で脂質ベシクルに内包化すると共に、多相エマルジョンの微細水滴とほぼ同じ大きさの脂質ベシクルが形成できることを明らかにした。また、外水相の乳化剤と液中乾燥条件の影響を検討し、内包率に影響を及ぼす3つの内包分子漏出メカニズムを提案した。さらに、モデル分子で得られた知見を基に、親水性の薬品分子を効率的に脂質ベシクルに内包できることを示した。これら系統的な実験と論考により、本論文は、多相エマルジョン - 溶媒蒸発プロセスにより、サイズが制御された脂質ベシクルに親水性生理活性分子を効率的に内包化できることを示すと共に、本プロセスにおける脂質ベシクルの形成特性を明らかにした。得られた成果は、本プロセスによる脂質ベシクルの形成特性の解明という学術的な意義に加え、生理活性分子を効率的に内包化したキャリアの作製という産業基盤技術としても有意義であり、高く評価できる。

平成29年1月12日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(生物工学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。