



Title	Studies on Control of Phase Variability in Lipid Nanoparticles and Its Effect on Their Interaction with Cell Membranes
Author(s)	Xuehui, Rui
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/101459
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (Xuehui RUI)	
Title	Studies on Control of Phase Variability in Lipid Nanoparticles and Its Effect on Their Interaction with Cell Membranes (脂質ナノ粒子の相変化および細胞膜との相互作用に及ぼす効果の制御に関する研究)
<p>Abstract of Thesis</p> <p>Lipid-based self-assembling nanomaterials hold significant promise across a range of applications. The organization of lipid molecules into distinct nanomaterial phases is influenced by specific lipid formulations and preparation techniques, enabling transitions between different states. In this study, we prepared lipid nanoparticles in various phases and assessed their impact on the cell plasma membrane during incubation. Interactions with these lipid nanoparticles induced alterations in the lipid composition and biophysical properties of the cell plasma membrane.</p> <p>Chapter 1 introduces the fundamental concepts of lipid-based self-assembling nanoparticles and key properties related to the biophysical properties of cytoplasmic membranes. It also reviews studies on membrane polarity and fluidity, providing insights into the interactions between lipid nanoparticles (LNPs) and cell membranes.</p> <p>Chapter 2 focuses on the preparation and characterization of lipid nanoparticles in different lyotropic phases. Techniques such as Small-Angle X-Ray Scattering (SAXS), Transmission Electron Microscopy (TEM), and Cryo-TEM were employed to comprehensively analyze LNP lyotropic phase status and morphologies. Key parameters of the LNPs across various phases were calculated and compared.</p> <p>Chapter 3 investigates the properties of lipid membranes across different LNP phases. These properties were characterized using fluorescence probes (Laurdan and DPH) and Raman spectroscopy. The 2-OHOA/MO binary component system served as an ideal model for studying membrane properties during the transition from lamellar to cubic phases. The results provided insights into changes in lipid packing, membrane-water interfacial polarity, and phase transitions.</p> <p>Chapter 4 examines the polarity of the cell plasma membrane using Laurdan two-photon microscopy (TPM). The study reveals that different cell types exhibit distinct lipid membrane polarities. Additionally, the high resolution of TPM enables the visualization of heterogeneity in membrane fluidity and polarity. Basing on this methodology, we further investigated how the LNPs modulates the biophysical properties of cell plasma membranes. We propose that nanoparticle internalization influences membrane characteristics.</p> <p>Chapter 5 elucidates the impact of LNPs on membrane dynamics from both physical and biological perspectives. Building on these findings, we introduce a novel strategy for coating cubic-phase lyotropic liquid crystalline nanoparticles (Cubosomes) with cell membranes. This biomimetic surface modification aims to create a stabilized, immune-evasive nanodrug delivery system (DDS).</p> <p>Chapter 6 presents the general conclusions of this work. The findings enhance our understanding of how lipid nanoparticles influence cell plasma membranes, potentially leading to more effective drug delivery systems utilizing these nanomaterials.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Xuehui RUI)			
論文審査担当者	(職)		氏 名
	主 査	教 授	馬越 大
	副 査	教 授	境 慎司
	副 査	教 授	出口 真次

論文審査の結果の要旨

脂質から成る分子集合体は、各種の材料やDDSなどの医工学材料の設計・開発に広く応用されている。各種条件においてリン脂質自身が供する構造変化に加え、分取集合構造を形成することで顕在化するミクロ相分離状態の変化が活用されているものの、定量的かつ体系的に検討された例は少ない。本学位論文では、リン脂質ナノ粒子(LNP)(リポソーム、脂肪酸ならびに脂肪酸モノオレインが構成するCubosomeというナノチャンパー連結型の自己集合体、あるいは、膜タンパク質修飾型Cubosomeほか)を医薬品キャリアとして選択し、Cubosomeと生体膜との相互作用を定量的に評価して制御する手法について述べられている。第1章では、脂質自己集合体の調製方法、その基礎物性の解析手法、ならびに、それらを活用した一般的なDDS設計手法について背景調査されている。第2章では、相状態の異なるLNPsを対象として、各種解析手法(小角X線散乱(SAXS)、TEM、Cryo-TEM)を用いて、物理物性を体系的に検討し、LNPsの構造を制御する鍵因子を明らかにした。第3章では、膜内在性プローブDPH、膜界面内在性蛍光プローブLaurdanの蛍光分光法を用いて、LNPsの脂質膜内部の物理化学的物性(流動性ならびに極性)を体系的に検討した。特に、Lamellar構造からCubic構造への構造転移における物理化学的物性の大きく変化が観測され、膜物性モニタリングの指標としての妥当性を示した。第4章では、第3章で述べた手法を展開させ、LNPsの送達対象である細胞膜の物性評価手法を確立した。2光子蛍光顕微鏡を活用して、前述の物理化学的物性(流動性および疎水性)をin situで観察できる手法を確立し、さらには、両物性を同時に計測することにより、対象となる細胞膜の相状態を推算する手法を示した。さらには、LNPsが細胞内部に送達される(内包化される)プロセスを観察して、同時に、物性を推算できることを示した。第5章では、上記の知見を総合して、LNPs各種物性を解析した結果に基づき、LNPs-生体膜との相互作用を制御することでナノキャリアを送達するための戦略をスキームとして提案した。マクロファージ修飾型Cubosomeをケーススタディとして選択し、Cubosomeの物性評価、細胞内部へのin vitro送達、マウスを用いたin vivo送達について検討した結果、提案された戦略の妥当性が述べられている。今後、脂質ナノ粒子(キャリア)を用いた高効率のDDS設計・開発のための指針となる手法であると考えられる。以上の理由により、本論文を博士(工学)の学位論文として価値のあるものと認める。