



Title	Studies on Characterization of Cubosomal Drug Carriers and Their Interactions with Model Cell Membranes
Author(s)	Wakileh, Ward Daoud Salim
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/101701
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 (Ward Daoud Salim Wakileh)	
Title	Studies on Characterization of Cubosomal Drug Carriers and Their Interactions with Model Cell Membranes (Cubosome薬剤担体ならびにモデル細胞膜との相互作用の特性解析に関する研究)
<p>Cubosomes are dispersed bicontinuous cubic phase nanoparticles that have demonstrated their potential as drug delivery carriers owing to their high drug payloads and fusogenic properties. The design process of cubosomes as drug delivery carriers requires consideration of factors such as their structure, drug release, and interactions with cell membranes which are heavily influenced by the properties of the cubic membrane. In this work, systematic characterizations of the nanoparticles' structure and membrane were performed to elucidate how changes in the membrane environment can impact the carrier's structure and dispersibility. Also, a methodology to examine the interactions of cubosomes with model cell membrane through the examination of cubic membrane and structure was established. The results of this work provide new insights that can be helpful in clarifying the cubosome uptake mechanism by cells as well as the optimal design of cubosomes as drug delivery carriers.</p> <p>In chapter 2, the effects of the incorporation of the hydrophobic drug hydrocortisone (HC) on the physicochemical properties of monoolein (MO) and MO/oleic acid (OA) self-assemblies are investigated. The HC incorporation influenced the surface property of MO and MO/OA dispersions, causing aggregation of the self-assemblies at high hydrocortisone loading. In addition, the change in surface properties of the self-assemblies due to drug incorporation results in changes in structural changes and formation of aggregations. The characterization method in this chapter is essential to clarify the influence of the drug on the properties such as polarity, zeta-potential, and particle size etc., and how these properties correlate to colloidal stability.</p> <p>In chapter 3, the methodology to elucidate the changes to the physicochemical properties of cubosomes when interacting with cell membrane lipids was established. The interactions of MO cubosomes after mixing with DOPC liposomes using time-resolved small-angle X-ray scattering (TR-SAXS) and the changes to the generalized polarization (GP_{340}) values of Laurdan probed cubosomes over time were shown. The cubic-to-lamellar phase transition was confirmed in the time-resolved SAXS spectra. Using the GP_{340}, the kinetics of apparent lipid exchange (k_{app}) were obtained and the apparent amount of DOPC in the cubosomes over the course of interaction could be estimated.</p> <p>In chapter 4, the approach developed in chapter 3 was expanded upon to examine the changes in the structural and cubic membrane of MO cubosomes when mixed with model cell membranes at different phase states. In addition, the changes induced by the cubosomal carrier on the model cell membrane were investigated. The time of the structural change of the cubic phase to lamellar phase was influenced by the fluidity of the liposome bilayers. Mixing the cubosomes with fluid membrane liposomes required less time to transition to the lamellar phase and vice versa. Examining the GP_{340} values of the cubosomes and liposomes after mixing revealed that the membrane hydration states of the cubosomes and liposomes transitioned to resemble the hydration state of their counterpart, and the time needed to reach the final intermediate state was influenced by the membrane hydration of the liposomes.</p> <p>In chapter 5, based on the results of the characterization of the drug incorporated carrier in chapter 2 and the methodology developed in chapters 3 and 4, the effects of loading of the drug, HC, on the interactions of MO cubosomes with liposomes were showcased. Although the incorporation of the drug did not alter the duration and kinetics of the cubic to lamellar phase transition, the membrane state analysis using Laurdan fluorescence probe showed slower kinetics in the drug loaded cubosomes. This implies that the rate of lipid exchange between carriers and cell membranes was suppressed in the presence of drug molecules.</p> <p>In chapter 6, the conclusions of this work are presented, and suggestions for future work by enhancing the current methodology and broadening the scope of this approach for other types of lipid nanoparticles are addressed.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Ward Daoud Salim Wakileh)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主査 教授	馬越 大
	副査 教授	松林 伸幸
	副査 教授	西山 憲和

論文審査の結果の要旨

Cubosomeは脂質膜の双連続Cubic相が界面活性剤により分散されて形成するナノ粒子である。高い薬物担持能や細胞膜への融合性の高さから、医薬品などの薬物送達担体としての応用が期待されている。薬物キャリアとしての設計には、安定性や細胞との相互作用の仕方など、様々な要因を慎重に考慮する必要があるが、Cubosomeの融合特性や細胞膜へ与える影響、薬物を担持することによる融合特性の変化など、十分に明らかにされていないことが多い。本学位論文では、ナノ粒子の安定性や融合性について、構造と脂質膜の特性に基づいて系統的に解析し明らかにしている。また細胞膜との相互作用を解析するための新規評価手法について提案を行い、細胞膜の特性がナノ粒子の融合に与える影響や、ナノ粒子への薬物の担持が融合に与える影響について述べている。第1章では、Cubosomeを含む様々な脂質ナノ粒子の特徴とその応用に関する背景が調査されている。第2章では、主にCubosomeを構成するモノオレインを用いた脂質ナノ粒子を設計し、疎水性薬剤であるHydrocortisoneを担持する影響について述べられている。Hydrocortisoneの担持によりナノ粒子の膜特性は疎水化し、担持量が増加すると内部構造の変化や分散安定性の低下があることを明らかにした。第3章では、Cubosomeが細胞膜モデルと相互作用する際の物理化学的変化を評価するための手法が提案されている。時間分解小角X線散乱測定と、蛍光分子Laurdanによるナノ粒子の膜物性評価を組み合わせることで、融合に伴う構造変化と膜物性の変化を併せて評価することが可能であることを示している。第4章では、第3章で確立した評価手法を様々な膜物性を示す細胞膜モデルに適用し、細胞膜物性の違いによる融合速度の違いについて述べられている。細胞膜の流動性と融合速度には相関があり、Cubosomeは高い流動性の細胞膜モデルに対して早い融合を示すことを明らかにした。第5章では、Cubosomeへの疎水性薬物の搭載が融合特性に及ぼす影響を同手法にて検討した。疎水性薬剤であるHydrocortisoneを担持したCubosomeは未修飾のCubosomeと比べて融合後の膜物性変化が遅い様子が示された。第6章では、前章までの知見ならびに関連する報告に基づいて、本学位論文で提案された解析手法を他のタイプの脂質ナノ粒子の設計・評価に適用することが提案されており、本手法の将来性について述べられている。今後、薬物キャリアとしてのナノ粒子の設計ならびにその性能評価において、重要な指針となる知見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。