

A Study on Single Nanoparticle Analysis using Plasmonic Nanopore Structure

松田, 倫太郎

<https://hdl.handle.net/2324/6787415>

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (理学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

氏 名	松田 倫太郎		
論 文 名	A Study on Single Nanoparticle Analysis using Plasmonic Nanopore Structure (プラズモニックナノポア構造を用いた 1 粒子解析法に関する研究)		
論文調査委員	主 査	九州大学	教授 玉田 薫
	副 査	九州大学	教授 加納 英明
	副 査	九州大学	准教授 有馬 祐介
	副 査	九州大学	教授 加地 範匡 (工学研究院)
	副 査	北海道大学	准教授 龍崎 奏

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、プラズモニックナノポアデバイスを改良した独自の 1 粒子表面分子解析技術を構築し、この技術を用いることでエクソソーム表面分子ががんマーカーになり得る事を明らかにした。さらに血液および尿中のエクソソーム表面分子を本技術で計測することで、エクソソームの体内動態が解析できることを示した。エクソソームはがんマーカーとして注目されている一方で、体内動態と表面分子の相関性など生物学的にも不明な点が多く、基礎から応用まで幅広く研究されている。こうした背景から、本研究成果の意義は大きく、独自の 1 粒子表面分子解析技術を構築したことで、表面分子をマーカーにした全く新しいがん検査技術の可能性や、エクソソームの体内動態と表面分子の相関性を解析するための新しいツールの可能性を示すことに成功し、エクソソーム研究に大きく貢献したと言える。以下、各章ごとの内容を述べる。

2 章では、プラズモニックナノポアデバイスを改良した独自の 1 粒子表面分子解析技術を構築した。すり鉢構造のような傾斜構造を有する 3 次元的なナノポア構造を採用することで、1 粒子からのラマン散乱光を約 10^8 倍に増強することに成功した。本論文ではシミュレーションを用いてその原理についても言及し、すり鉢構造の斜面によって励起光が構造の底にあるナノポア構造に集光されると同時に、すり鉢構造によってナノポア構造の縁が鋭角構造になることで構造効果が生じ、結果的に 10^8 倍という強い表面増強ラマン散乱光が得られることを明らかにした。また、実験的にもそれを証明した。以上のように、一連の構造設計、シミュレーション、実験により、独自の 1 粒子表面分子解析技術の構築に成功した。

3 章では、前章で示した 1 粒子表面分子解析技術を用いて、実際にエクソソームの計測を行い、表面分子に基づいたエクソソーム識別が可能であることを明らかにした。具体的には、三種類のがん細胞由来エクソソームと健常者の血中エクソソームを計測対象とし、各エクソソームに対して 100 粒子以上を計測することで、ラマンスペクトルの統計解析を可能にし、最終的に機械学習によって各エクソソームの識別が可能であることを明らかにした。エクソソームの表面分子を 1 粒子ずつ計測した例はなく、さらに統計解析が行える量のデータを計測し、実際に機械学習によって表面分子情報に基づいたエクソソーム識別に成功した例は本研究が初めてである。これは 1 粒子ラマンスペクトルが大量に得られたことで初めて可能になったものである。さらに、本計測によってエクソソーム表面分子の多様性についても初めて示すことができ、エクソソームを理解するためのツールとしても本技術が有望であることを示した。本章では、がん細胞由来エクソソームを健常者の血

中エクソソームを約 98%の精度で識別し、さらに三種類のがん細胞由来エクソソーム（大腸がん、乳がん、肝がん）間においてもそれぞれ 94%以上の精度で識別できることを明らかにした。この結果はエクソソームの表面分子情報ががんマーカーになり得ることを強く示唆する結果であり、新しいがん検査技術の構築につながる重要な基礎データである。

4 章では、表面分子情報に基づいたエクソソーム識別だけではなく、表面分子の同定を行い、さらにエクソソームの体内動態について言及した。エクソソームは様々な生体分子で構成されているため、ラマンピークのピークアサインを行う場合、複数の候補分子があるため分子同定が困難である。本学位論文では、相関係数解析を導入することでこの問題を解決し、可能性の高い候補分子を同定した。本章では、この解析方法に基づき、X 線を照射したマウスの血中と尿中のエクソソームを解析し、X 線照射によって高マンノースが支配的に存在しているエクソソームがマウスの体内で作られ、そのエクソソームが血液を経由して尿まで到達し、体外に排出されている可能性を明らかにした。上述のように、エクソソームの体内動態と表面分子の相関性は極めて重要であるが未解明なところが多い。今回の結果は、この 1 粒子解析技術がエクソソームの体内動態を解析するためのツールとして有用であることを示唆するものであり、その意義は大きいと言える。

以上の結果、本研究者の研究によって、新たな 1 粒子解析技術が構築され、さらにこの技術がエクソソーム研究において基礎的な観点のみならず応用的な観点からも意義があることが示された。本研究は、エクソソームに限らずドラッグデリバリーシステム (DDS) で用いられるワクチン粒子の評価など、様々な分野への貢献が期待される。よって、本研究者は博士（理学）の学位を受ける資格があるものと認める。