

(続紙 1)

京都大学	博士 (工 学)	氏名	中辻 博貴
論文題目	Surface modification of photoresponsive nanomaterials enables optical control of cellular function (光応答性ナノ粒子の表面修飾が可能にする細胞の光制御)		

(論文内容の要旨)

本論文は、光応答性ナノ材料を用いた新たな生物医学応用法の開発を目指し、その表面修飾に注目して検討を行った結果をまとめたものである。全 4 章及び序論・結論からなる。

序論では、光の生物医学応用に関する背景と新たな光応答性ナノ材料の開発について紹介し、光応答性ナノ材料の重要性と可能性について論じている。また、生体内でのナノ粒子製剤のコロイド分散・動態制御を目的とするドラッグデリバリーシステム、光応答性ナノ材料の生物医学応用を指向した表面化学の重要性に言及し、ドラッグデリバリーシステムの概念がその表面化学に利用できることを述べている。

第一章では、金属性ナノ材料の新たな生体適合化・機能化の方法として、オレイン酸と血清タンパク質である高比重リポタンパク質(HDL)の変異体を用いた手法について報告している。まず、棒状の金ナノ粒子である金ナノロッド(AuNR)を用いて検討を行っている。金ナノロッドは、生体透過性の高い近赤外領域に高い吸収を持ち、また高い光熱変換効率を示すことから生体応用に優れた光線温熱材料として期待されるナノ粒子である。AuNR 表面をオレイン酸で置換した後に、細胞膜透過性ペプチドで修飾された HDL 変異体で被覆することで、生体適合性の向上及び細胞内取り込みの増強に成功している。また、本手法を用いることで、細胞取り込みの増強による光線温熱治療効果の増強を *in vitro* で確認している。

第二章では、HDL/半導体性カーボンナノチューブ複合体を利用した光線力学療法の可能性について報告している。カーボンナノチューブはそのカイラリティによって異なる性質を示すこと、半導体性カーボンナノチューブ成分を濃縮することで、近赤外光照射下、活性酸素種を産出する(光線力学効果)ことが知られている。しかし、カーボンナノチューブは凝集すると励起状態が消光され光線力学効果を失うため、その生体応用には生理的条件下での安定した単分散が必要となる。そこで HDL を用いたカーボンナノチューブの分散化が検討されている。HDL は両親媒性ナノ材料であるため、カーボンナノチューブの疎水性表面に物理吸着することが予想される。条件検討の結果、生理的条件下で単分散する HDL/半導体性カーボンナノチューブ複合体の作製に成功し、この複合体は、培養細胞に対して細胞毒性を示さないことを明らかにしている。さらに、この HDL/半導体性カーボンナノチューブ複合体と、活性酸素種阻害剤を用いた細胞実験によって、半導体性カーボンナノチューブの光線力学効果ががん細胞死滅に寄与するだけの十分な殺細胞活性を持つことを初めて実証している。

第三章では、AuNR の光線温熱効果を利用した熱応答性イオンチャネル TRPV1 の光制御法について報告している。TRPV1 とは、主に神経細胞に存在する外部刺激応答性イオンチャネルであり、熱や痛みを感知する役割を果たしている。細胞膜上に存在する TRPV1 を光で加熱するには、AuNR を TRPV1 が発現する細胞膜へ安全にかつ十分量輸送できれば可能になると予想される。そこで、カチオン性合成ポリマー及び、カチオン性脂質を混合した HDL 変異体 (catHDL) を用いて AuNR を修飾し、静電相互作用を利用した細胞膜輸送を試みている。その結果、catHDL で被覆した AuNR が最少の膜障害性で最大の細胞膜結合性を示すことを見出している。また、この catHDL 被覆 AuNR で TRPV1 強制発現細胞を処理し光照射を行うことでカルシウムイオンの流入を確認している。この現象は、AuNR、TRPV1、光照射に依存し、光線温熱効果による TRPV1 の活性化が確認されている。

第四章では、熱ショックタンパク質 (HSP) プロモーターと AuNR を用いた遺伝子発現の光制御法の開発について述べている。HSP プロモーターは、熱に応答して遺伝子発現を駆動するプロモーターであり、遠隔操作で遺伝子発現を制御するための標的の一つとして注目されている。そこで、遺伝子を細胞内に導入し、さらに細胞内光線温熱効果で安全にその遺伝子発現を誘導できる AuNR 表面修飾法の開発を検討している。様々なカチオン性分散剤で被覆した AuNR について遺伝子導入能を比較評価し、その結果アニオン性とカチオン性脂質の両方で被覆した AuNR が最も高い遺伝子導入能を示すことを見出している。この理由として、高い細胞内取り込み・エンドソーム脱出を提案している。この AuNR を用いることで、10 秒間という短時間の近赤外レーザー照射で遺伝子発現を誘導することに成功している。また、ナノ粒子に遺伝子導入能を持たせる本手法が他の金属ナノ粒子 (マグネタイト) にも適用可能であることを実験で示し、プラスミド DNA トランスフェクションにおける有効性も主張している。

最後の結論において、本論文得られた成果について要約している。

調査委員	京都大学大学院工学研究科
	教授 今堀博
	京都大学大学院工学研究科
	教授 秋吉一成
	京都大学大学院工学研究科
	教授 白川昌宏