

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲	第 11062号
------	-----	----------

氏 名 塚田 千恵

論文題目

生体内投与を想定した Au ナノ粒子と生体分子の吸着反応に関する研究

論文審査担当者

主査	名古屋大学	教授	八木 伸也
委員	名古屋大学	教授	曾田 一雄
委員	名古屋大学	准教授	佐々木 勝寛
委員	東京医科歯科大学	教授	宇尾 基弘

論文審査の結果の要旨

塚田千恵君提出の論文「生体内投与を想定した Au ナノ粒子と生体分子の吸着反応に関する研究」は、分散剤を用いることなく作製した Au ナノ粒子を生体内に投与した場合を想定し、生体分子の中でも金属との吸着反応活性が高いチオール基 (-SH) をもつアミノ酸である L-システイン、および細胞膜の脂質二重層を主に構成するフォスファチジルコリン (PC) から成るリポソームと Au ナノ粒子との吸着反応に着目したもので、次の 7 章で構成されている。

第 1 章は序論で、ナノ粒子の安全性評価の必要性、分子吸着反応から評価することの重要性、試料作製の工夫点、分子吸着反応系 (Au ナノ粒子、L-システイン、リポソーム) の選択理由、放射光利用実験で注意すべき点、生体適合性の高いナノ粒子の作製に対する提案について述べている。

第 2 章では、分散剤を用いない作製手法である液中プラズマ法による Au ナノ粒子コロイド水溶液の作製について述べた後、各実験手法として、吸収端近傍 X 線吸収微細構造法 (NEXAFS)、原子間力顕微鏡 (AFM)、X 線光電子分光法 (XPS)、紫外・可視分光法 (UV-Vis)、透過型電子顕微鏡 (TEM)、赤外顕微分光法 (IR) についての原理・概要を説明している。

第 3 章では、Au ナノ粒子表面に吸着した生体分子の化学状態分析に有用な NEXAFS 測定において、放射光 X 線の照射による放射線損傷の影響について調べた。その際に Au ナノ粒子と L-システインを吸着反応させた試料に対して窒素 (N) 及び酸素 (O)-K 吸収端領域の放射光 X 線を照射すると、-SH 基で吸着したシステインは、Au ナノ粒子からの光電子やオーージェ電子により Au-S 結合が解離して脱離したことや、オーージェ電子刺激イオン脱離により N-C 結合が解離して NH₂ や NH₃⁺ の脱離が生じたことを示した。

第 4 章では、生体内での分子吸着反応を明らかにするために、水環境下で Au ナノ粒子と L-システインの吸着反応を促し、反応時間に伴う化学状態変化と粒子径の変化を明らかにした。また、第 3 章で議論した放射線損傷と同様の議論を行うため、水を保持した状態での放射線損傷について考察した。さらに、Au ナノ粒子の凝集がその表面に吸着したシステイン吸着種のカルボキシル基やアミノ基で互いに水素結合することによって生じている可能性を示した。

第 5 章では、Au ナノ粒子が生体内に投与された際に生体の細胞膜に吸着して細胞内部に取り込まれる可能性を考え、PC を用いて細胞膜モデルのリポソームを作製した後、Au ナノ粒子との吸着反応を調べた。その結果、Au ナノ粒子は PC リポソームの外側に吸着し、内側には取り込まれないことが明らかとなった。さらに、Au ナノ粒子が PC リポソーム表面に吸着する過程として、一つ目に Au ナノ粒子がそのままりポソームに吸着すること、二つ目にリポソームの形成に寄与していない PC が Au ナノ粒子表面を覆った後にそのナノ粒子が PC リポソームに吸着する形態の存在をつきとめた。

第 6 章では、生体適合性の高い Au ナノ粒子の作製を考え、液中プラズマ法で準備した Au ナノ粒子表面における PC の表面修飾構造について明らかにした。また、分光学的手法 (IR 分光法) からは PC が密な膜を形成し、自己組織化膜に似た形態を有していることも示した。

第 7 章では本論文を総括し、今後の展望について述べた。本研究では、生体内に Au ナノ粒子を投与した場合を想定し、L-システインや PC リポソームとの吸着反応について明らかにした。また、生体適合性の高いナノ粒子の作製を目指して PC 修飾した Au ナノ粒子の作製を試み、修飾後のふるまいを解明した。さらに、吸着分子の化学状態分析に有用である放射光 X 線を用いた NEXAFS 測定において、Au ナノ粒子表面に吸着した生体分子の放射線損傷についても考察を行った。本研究では、生体内で生じるナノ粒子の分子吸着反応について、これまで困難であった水環境下における吸着反応を軟 X 線領域の分光学的手法から明らかにし、さらにナノ粒子の凝集要因やリポソームに対する吸着場所など顕微鏡観察と併せて複合的な考察を行った。

これらの研究成果は、工学研究と生物及び医学研究を結び付ける非常に重要な知見を与えたばかりでなく、今後の医工連携の研究アプローチにも大きく貢献すると考えられる。よって塚田千恵君は、博士 (工学) の学位を受けるに十分な資格があるものと判断した。