

SICORP e-ASIA共同研究プログラム
「材料 (ナノテクノロジー)」分野 事後評価報告書

1 共同研究課題名

「マイクロ流体中の金ナノ粒子被覆酸化ナノワイヤによる Dengue 熱疾患診断法の創成」

2 日本一相手国研究代表者名 (研究機関名・職名は研究期間終了時点):

日本側研究代表者

安井 隆雄 (名古屋大学 大学院工学研究科・准教授)

タイ側研究代表者

サーコン・ラホング (モンクット王工科大学ラートクラバン校・准教授)

インドネシア側研究代表者

ミトラ・ドジャマル (バンドン工科大学・教授)

3 研究概要及び達成目標

本国際共同研究では、蚊に刺されることによって感染するウイルス性疾患 Dengue 熱を対象とし、発症後 3 日目における血清や尿を用いた高精度・迅速な検査法の開発を目指した。デバイス(日本チーム)・材料(タイチーム)・理論(インドネシアチーム)の共同研究の結果、(1)間接検出法: 尿中の Dengue 熱関連エクソソームの捕捉とマイクロ RNA 発現量の解析として、Dengue 熱罹患にかかるエクソソームの存在の確認に成功した。さらに、(2)直接検出法: 金ナノ粒子被覆酸化ナノワイヤによる尿中 Dengue 熱由来 NS1 タンパク質の検出と発症初日の尿サンプルによる Dengue 熱検出に成功した。以上のように、コロナ禍にありながら、当初の目標(発症後 3 日目における血清や尿を用いた高精度・迅速な Dengue 熱検査法の開発)を上回る成果が得られた。

4 事後評価結果

4.1 研究成果の評価について

4.1.1 研究成果と達成状況

本国際共同研究では、高精度・迅速な Dengue 熱検査法を開発すべく、マイクロ流体中の金ナノ粒子被覆酸化ナノワイヤによる Dengue 熱疾患検出法の創出を目的とした。創出した Dengue 熱疾患検出法は、直接検出法と間接検出法に分けられる。それぞれの成果と達成状況は以下の通り。

(1) 間接検出法: 尿中の Dengue 熱関連エクソソームの捕捉とマイクロ RNA 発現量の解析

ナノワイヤを用いたエクソソームの網羅的捕捉において、表面電荷による分離を提案、各種酸化ナノワイヤの中から酸化亜鉛ナノワイヤが最も捕捉効率が優れていることを明らかにし、成果を論文発表した (Biosens. Bioelectron. 2021)。続いて、酸化亜

鉛ナノワイヤの結晶成長時にアンモニアを添加して成長時間を増加させることによって、従来の wurtzite のみの結晶構造ではなく、局所的に zinc blende が混在する結晶構造となること、そしてこのナノワイヤの方が 1 本あたりのエクソソームの捕捉効率が高いことを明らかにした (Nanoscale 2022, Outside back cover に選出)。さらに、上述のナノワイヤをウェルプレートの底面に作製し、尿中からエクソソームの捕捉とエクソソームの膜タンパク質の検出を同時に行うオールインワンプラットフォームの開発を行い、これに成功した (ACS Nano 2023)。最後に、デング熱陰性患者とデング熱陽性患者の尿中からエクソソームを捕捉し、内包されるマイクロ RNA の発現量解析を行い比較した結果、デング熱疾患に關与する尿中マイクロ RNA の存在を確認した。当該研究成果は現在論文投稿中である。

(2) 直接検出法: 金ナノ粒子被覆酸化鉛ナノワイヤによる尿中デング熱 NS1 蛍光検出

本研究では、デング出血熱やデングショック症候群の重要なバイオマーカーである尿中のデング非構造化 1 タンパク質 (デング NS1) をターゲットとし、金ナノ粒子被覆酸化鉛ナノワイヤによる NS1 の捕捉、プラズモン増強蛍光による NS1 の高感度検出を行った。

インドネシアならびにタイチームにおいて、金ナノ粒子被膜ナノワイヤの計算・設計を行い、日本にてオールインワンプラットフォームならびに金ナノ粒子被覆酸化鉛ナノワイヤを開発、市販のデング NS1 測定キットの 4500 倍の高感度検出が可能であることを明らかにした。そしてタイチームにて採取した健常者、デング熱陰性患者、デング熱陽性患者の 9 検体の血清試料について、ウイルス特異的 IgM 抗体と NS1 抗体の検出によりデング陽性/陰性を判別し、市販のデング NS1 測定キットよりも信頼性の高い判定が可能であることを確認した。当該研究成果は現在論文投稿中である。

さらに、酸化亜鉛ナノワイヤを成長させた後にアンモニアを添加した成長溶液で二次成長させることで分岐型酸化鉛ナノワイヤを作製、これに金を被覆することで、従来の市販キットに比べ 1 万倍高い検出下限を有する高感度デバイスの作製に成功した。これにマイクロ流路デバイスを取り付け、発症初日の患者の尿サンプルを用いた検査を行い、健常者、デング熱陰性患者、デング熱陽性患者間の違いを定量的に示す結果を得た。これは、当初の目標 (発症後 3 日目における血清や尿を用いた高精度・迅速なデング熱検査法の開発) を上回る成果である。

以上のように、本国際共同研究では、十分な研究成果が得られ、当初の目標を完全に達成したことに加えて、一部当初の目標を上回る優れた成果が得られたものと評価する。しかし、論文発表や学会発表に比べて、特許出願が多少弱く感じられた。

各国分担として、日本側は、酸化亜鉛ナノワイヤ、金ナノ粒子被膜酸化鉛ナノワイヤ、金ナノ粒子被膜分岐型酸化鉛ナノワイヤの作製と、オールインワンプラットフォームやマイクロ流路デバイスの融合を担当、当該プラットフォーム・デバイスのタイチームへの提供や、当該プラットフォーム・デバイスを用いたデング熱患者尿サンプルからのデング熱の間接/直接検出を実施した。これらの研究では、タイチームからの留学生が重要な役割を担っている。相手国側であるタイチームは、コロナ禍による影響を受けながらも、留学生の日本側プロジェクトへの参画に加えて、デング

熱患者のサンプル提供、デング NS1 との結合定数が大きい抗体の開発など、本国際共同研究の目標達成に大きく貢献した。一方、インドネシアチームは、マイクロ流体中の酸化ナノワイヤ近傍の流体ダイナミクスと金ナノ粒子被覆酸化ナノワイヤの蛍光増強のシミュレーションが担当であったが、コロナ禍による影響もあり、貢献は限定的であった。

4.1.2. 国際共同研究による相乗効果

本国際共同研究では、デバイス・材料・理論の3本の柱による3カ国の共同研究の相乗効果と共同ワークショップや SNS を用いた研究交流により、スパイラルアップ型（上昇気流型）の研究体制の構築を目指した。以前より共同研究実績のある日本一タイチームにおいては、日本チームだけでは実施不可能なデング熱疾患診断法の構築に成功し共著論文を発表するなど、国際共同研究の相乗効果が明らかに認められる。インドネシアを含む3カ国での共同研究については、未だ論文発表には至っていないが、今後「直接検出法：金ナノ粒子被覆酸化ナノワイヤによる尿中デング熱 NS1 蛍光検出」において、ハイインパクトの共著論文発表が実現することを期待する。

4.1.3 研究成果が与える社会へのインパクト、我が国の科学技術協力強化への貢献

本事業にて開発されたデバイスは、研究代表者・安井が共同創業したスタートアップ企業より製品化の検討が進められている。デバイスの製品化が完成した暁には、タイの病院にてデング熱の治験が開始できる状況にある。これが完成すれば、デング熱検出技術のアジア地区での実用化において、大きな社会的インパクトの創出が期待される。

その目標実現のためにも、主要技術の知的財産確保の取り組みを早急に進めることが重要である。日本チームが担当した材料やデバイス作製法に留まらず、タイチームから提供された新規抗体もまた特許出願の対象となると思われるが、スタートアップ支援などを活用して、十分な研究支援体制を構築し、主要技術の知的財産確保を戦略的に進めることを期待する。

また、本研究で開発された基盤技術は、他のウイルス性疾患（新型コロナウイルス COVID19 のような突発性新型コロナウイルス性疾患を含む）の診断へと応用展開できる可能性を秘めており、将来的に社会実装を通じて、国際共通的な課題の解決、国の科学技術力強化に貢献できる可能性を秘めている（SDGs 目標 3「すべての人に健康と福祉を」に該当）。

4.2 相手国研究機関との協力状況について

SICORP e-ASIA 共同研究プログラムでは、各チームの研究者のポテンシャルをどのように結びつけるかが最も重要なポイントである。各チームの専門家の持てる力をうまく結びつけ、それぞれの国の制約を連携によって乗り越えて目標を達成したことは、称賛に値する。期間中、合同ミーティングは計 6 回と頻度は高くなかったが、SNS 等も活用し、十分な協力体制は得られたものと理解する。

今後の展開として、現在米国 CDC 予算にタイチーム・日本チームで応募を行って

おり、今後の展開が期待される。計画書では、本研究成果を生活排水に応用することが提案されている。さらに、日本・タイ・インドネシアの3カ国では、SICORP への異なるテーマでの応募を検討中であり、人的交流の継続が期待される。

人材育成に関しては、タイチームからの留学生が日本チームで Ph.D.を取得し、日本国内の企業や大学でポジションを獲得するなど極めて良好である。タイからの留学生の1人は本デバイスの実用化を目指し、上述のスタートアップ企業に入社し、自ら社会実装に取り組んでいる。彼らは、将来的にはタイへ帰って、アカデミアのポジションや、企業の重要なポジションにつくことを目指しており、SICORP が目指す人材育成の循環にも適合すると考えられる。

4.3 その他

本国際共同研究の成果として、「尿中DNA変異検出による神経膠腫(グリオーマ)検知～DNAのキャッチ&リリース技術を開発～」を、研究代表者・安井、日本チーム共同研究者・柳田、タイチーム研究者・Sakon Rahongとして、名古屋大学・JSTより共同プレスリリースした(2023年5月30日)。これは、タイチームの研究者より尿中DNAによるデング熱検出の提案を受け実施し、得られた成果である。今後タイチームと共同で英語でのプレスリリースを行う予定である。