

(左) 中瀬 生彦

Nakase Ikuhiko

大阪公立大学 大学院理学研究科 教授/
LAC-SYS研究所 所長補佐

(中央) 飯田 琢也

Iida Takuya

大阪公立大学 大学院理学研究科 教授/
LAC-SYS研究所 所長

(右) 床波 志保

Tokonami Shiho

大阪公立大学 大学院工学研究科 准教授/
LAC-SYS研究所 副所長

がん細胞が分泌するナノ粒子は、がんのバイオマーカーとして注目されている。しかし、極めて微量の生体物質を測定するためには、従来、長時間の遠心分離を含む複雑な工程が必要で、臨床現場に持ち込むことは困難だった。大阪公立大学大学院理学研究科/LAC-SYS研究所の飯田琢也教授らの研究グループは、光照射により発生する圧力と熱の効果を利用した「光濃縮」の原理を利用して、このナノ粒子の効率的な検出に成功。がんの診断・治療で社会実装につなげる研究に取り組んでいる。

特集
OVERVIEW 2

がん細胞が分泌するナノ粒子を光で検出 極微量を効率的に、診断・治療で実装へ

3時間半の検出時間が5分に 超早期がんの無痛診断に道

近年、腫瘍学の領域ではがん患者の病態を正確に把握し、治療計画などに反映させる精密医療への流れが加速しており、治療薬開発とともに微量のバイオマーカーを検出する優れた検査方法の開発の重要性が高まっている。そのバイオマーカーとしては、mRNAなどを含むナノ粒子である「細胞外小泡(Extracellular vesicle, EV)」が注目されている。微量試料からナノスケールEVを迅速かつ高感度に検出することは、がんなどの難治性疾患の早期診断に有用だ。しかし、従来の検出法では、数時間の超遠心分離を含め、複雑な工程

が必要だった。

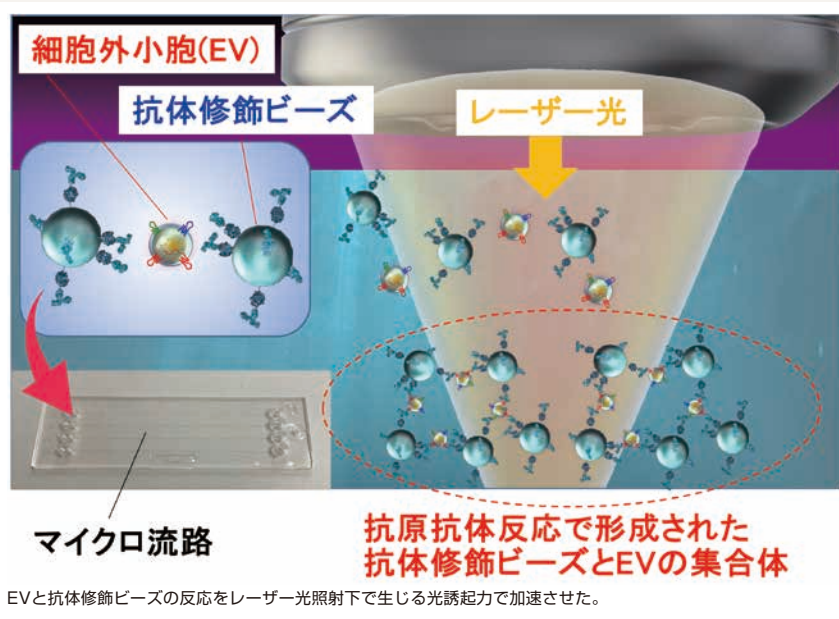
大阪公立大学LAC-SYS研究所の飯田琢也所長と床波志保副所長、中瀬生彦所長補佐らの研究グループは、2023年に驚くべき成果を発表した。英国王立化学会が発行する「Nanoscale Horizons」は、非常に権威の高い科学雑誌の1つとして知られている。飯田さんらの発表論文は、この科学雑誌において「2023 Outstanding Paper Award」に選ばれるなど、国内外から高い評価を受けている。

成果の内容は、超遠心分離を含む複雑なプロセスを省略し、がん細胞に由来するナノ粒子であるEVの検出時間を3時間半から5分に短縮したというものだ。具体的な手法とし

ては、EVとEV表面の膜たんぱく質と選択的に結合する抗体を修飾した「抗体修飾ビーズ」の選択的な結合反応をレーザー光照射下で生じる光誘起力で加速させた(図1)。これにより集積した立体構造を高解像度かつ3次元情報の再構築を可能とする「共焦点光学システム」で解析した。

その結果、わずか500ナノ(ナノは10億分の1)リットルのサンプル中に含まれる約1000個~1万個のナノスケールEVを5分以内に計測することを実現。検出できたEVの量は従来法の4000分の1に相当し、極微量だった。さらに、大腸がん細胞と肺がん細胞が分泌したEVの表面状態の差異の計測にも成功した。「この技術を使えば、ゴマ粒程度の微量血液

図1 細胞外小胞のマイクロフロー光濃縮の概念図



で検査できるため、従来法では困難だった超早期がんを痛みを伴わずに超早期診断し、治療につなげることが可能となります」と飯田さんは説明する。

生体物質を濃縮して反応加速 発熱効果を利用した新原理も

前段の成果を上げるに当たり、飯田さんらは「光濃縮」の技術を発明した。これは、光誘起力と光発熱により生じる光誘起対流の相乗効果を利用して、生体物質を濃縮して反応を加速させるという原理だ。「光ピンセット」という、透明な物体と周囲の液体の屈折率の違いにより光誘起力を発生させ、光の強い領域に引き寄せる性質を持つ技術から着想した。レーザー光を光の波長と同程度の回折限界まで集光することにより、発生する光の圧力を高めて、細胞など数マイクロ(マイクロは100万分の1)メートル以下の小さな粒子を捕えて操作できる技術である。

飯田さんらは、この光誘起力で捕えられた金属ナノ粒子の集合体の周りに、光の熱で対流とバブルを発生させて、対流により運ばれてきた粒子がバブル表面に集積するという光濃縮の原理を世界で初めて実証し

た。この原理を利用して、1兆分の1グラムの微量たんぱく質を数分で検出することにも成功し、14年に論文を発表。JSTの未来社会創造事業で研究を進展させ、人間の血管と同程度の太さの流路の中で、ポンプによる圧力と光の圧力によって高効率に金属ナノ粒子を集積化し、集合体からの発熱効果によるバブル発生の高効率化も実現した。

研究グループは、そのバブルが流路中で収縮する過程を利用して、バブル表面に吸着したたんぱく質と金属ナノ粒子の集合体のサイズから、1フェムト(フェムトは1000兆分の1)グラムレベルのたんぱく質を数分で検出できる「バブルガムセンサー」の新原理を見いだした(図2)。これは、微量な体液から成人病などの原因となるたんぱく質を、初期の

実験より1000倍以上高感度に検出できるバイオ分析技術の基礎となるものだ。食品業界や医療分野における革新的な検査手法を提供し得る成果で、その後の発展研究で発熱量を制御することで熱に弱いEVにも適用可能になった。

狙ったがん細胞の破壊に成功 副作用なく、低コストも利点

飯田さんらは「光濃縮」の原理を解明して、たんぱく質、DNA、微生物、細胞などの極微量の生体サンプルを、遠隔的かつ非破壊に計測・制御する「光誘導加速システム(Light-induced Acceleration System; LAC-SYS)」の研究を進めている。LAC-SYSプロジェクトは、16年6月に統合前的大阪府立大学の「大阪府立大学キーププロジェクト」として認定を受け、17年5月にLAC-SYS研究所を設立して、食品検査・臨床検査・医薬品開発・環境技術・エネルギー変換など21世紀のさまざまな社会的課題

図2 1フェムトグラムレベルのたんぱく質を検出できる「バブルガムセンサー」

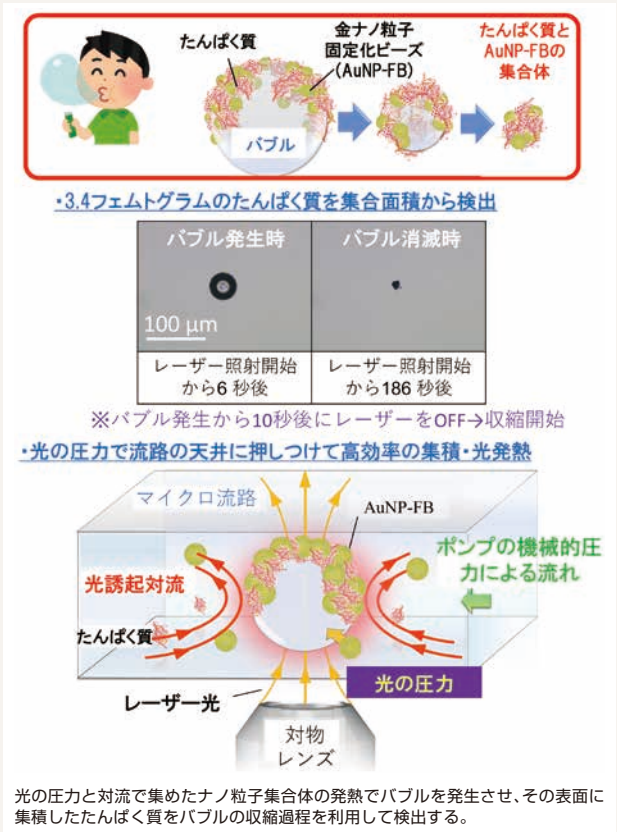


図3 光濃縮を使った医療・健康に役立つ小型デバイスのビジョン



の解決に貢献するべく、LAC-SYSの研究開発を推進している。

実用化を目指した取り組みとして、レーザー照射だけの簡便な操作で微量バイオマーカーを検出する光濃縮検査技術について、愛知県がんセンターの田口歩分野長と共同研究を行うことになった。21年より、飯田さんを研究開発代表とする「低侵襲ハイスループット光濃縮システムの開発」が未来社会創造事業「共通基盤」領域の本格研究課題として採択

され、床波さん・中瀬さん・田口さんとともに本格的に研究を開始した。その成果の1つが最初に紹介した、がん細胞由来ナノ粒子の効率的な検出の成功である。

飯田さんらは、光濃縮を利用して狙ったがん細胞の破壊も実現した。がん細胞を死滅させて治療するためには、細胞死の一種である「アポトーシス」を誘発する分子を細胞内に導入するための効率向上が必要だ。細胞内に高効率に分子を導入するため

には、分子は高濃度であることが好ましい。飯田さんらは、従来法の100～1000分の1の低濃度でも、光誘起対流を発生させて分子を細胞表面に輸送・濃縮することで、細胞内導入が効率よく起こり、十分な効果が得られることを低濃度のミトコン

ドリア検出試薬を細胞内の小器官に選択的に導入して実証した。

さらに、従来の100分の1の低濃度の抗がん活性ペプチド(R8-PAD)をがん細胞に濃縮導入し、狙った細胞群へのアポトーシスの誘発にも成功した。今回開発した手法は、極低濃度であっても生物機能性分子を必要量・狙った細胞だけに導入し、その機能を発現できるため、創薬プロセスにおいて、細胞への薬効評価の高効率化や低コスト化、副作用の低減などに関する新たな知見を得ることが期待できる。

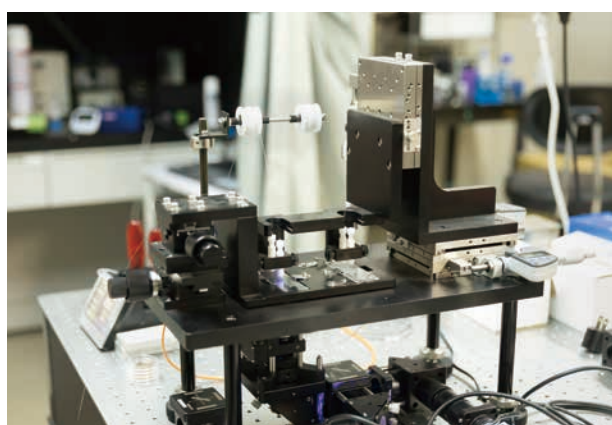
この研究をチームの中で主導した中瀬さんは、治療においては薬効を期待

しつつ、副作用を考慮すると過剰な薬を入れたくないという。光は無毒なため、光濃縮はそれを可能にできる原理だ。中瀬さんは「光濃縮であれば、微量で狙った細胞に薬を運べるため、低コストというメリットも大きいです。実用化に向けて乗り越えなければならない課題がまだまだありますが、実現できればインパクトは大きいと思います」と技術の応用への期待を語る。

実装を目指す活用先は広範 検査や診断、健康管理を手軽に

将来的には、細胞などの生きたサンプルの特徴に応じて設計された、低コストで簡便なシステムの開発を構想している。「例えば、システムをスマホなどに接続するなどのIoT技術との融合で、手軽に検査や診断、未病のための健康管理ができるような未来を目指しています」と展望を語る(図3)。他にも、製薬プロセスでは異物検査、薬効評価の効率化、食品関係では出荷前の飲食物や小売店・飲食店などの現場での検査、環境分野

図4 光濃縮システムの試作機



研究中の試作機。中央のガラス板には人の血管ほどの太さのマイクロ流路が刻まれており、そこにレーザー光を照射する。

図5 LAC-SYSのマルチ検査デバイスのコンセプト



る。光濃縮技術と膜透過性ペプチドの研究から得た知見を組み合わせたら、細胞膜をなかなか通過しないたんぱく質や薬剤透過の起爆剤になるのではないかと考え、研究に参加したという。「薬学で光濃縮を使って研究をしているのは私たちだけではないかと思います。このように異分野との研究を行うことで、思いも寄らないところでブレイクスルーが起こるので、今

では水や大気などの環境計測とモニタリングなど、飯田さんらが実装を目指す活用先は広範だ。

広範な活用先への実装に当たり、床波さんらの主導の下、数分間で数万個の生きた細菌を低ダメージかつ高密度に集積できる光濃縮用バイオチップの開発にも成功している。これら一連の成果は、物理・化学・生物学・医学などの異分野の専門家が結集して得られたものだ。学問分野の枠を超えた異分野融合が成功の鍵となった。「物理学を専門とする私が立てた光濃縮の基礎理論を、化学を専門とする床波先生との共同実験で実

証して解明。細胞内に薬を濃縮導入する研究は、薬学が専門である中瀬先生との共同研究があったからこそ実現できました」と振り返る。

異分野の専門家が集まったの研究では苦労もあったと床波さんは話す。物理と化学では、専門用語から思考、研究の進め方まで全く異なっていたからだ。「そのため、最初は理解を深めるために議論を重ねました。飯田先生が物理の数式をホワイトボードにぎっしり書き込んで説明してくれましたが全く理解できず、本当にお互いの言っていることがわかるようになるまでには2年くらいかかりました」。

中瀬さんは、細胞の内側に薬剤を運ぶプロセスを中心に研究してい

後もそこに期待しています」と話す。

病院で使えるマルチ検査デバイスの実装も最終目標の1つ。少ない検体で短時間に複数の検査を同時に行えるデバイス実現に向け、最新の研究成果を組み込んだ光濃縮ユニットの試作機も開発中だ（図4）。「高感度と迅速性を維持しながら4検体を同時測定できるシステムを目指していますが、将来的には、一度に1000サンプル、1万サンプルを測ることも夢ではありません」（図5）。現在、がんだけでなく、認知症や糖尿病などさまざまな領域での疾患マーカーの高感度計測、病態解明の研究が進められており、近い未来の社会実装の実現が期待される。

（TEXT：伊藤左知子、PHOTO：石原秀樹）

「JASIS 2024」でのJST 未来社会創造事業のシンポジウム開催のご案内

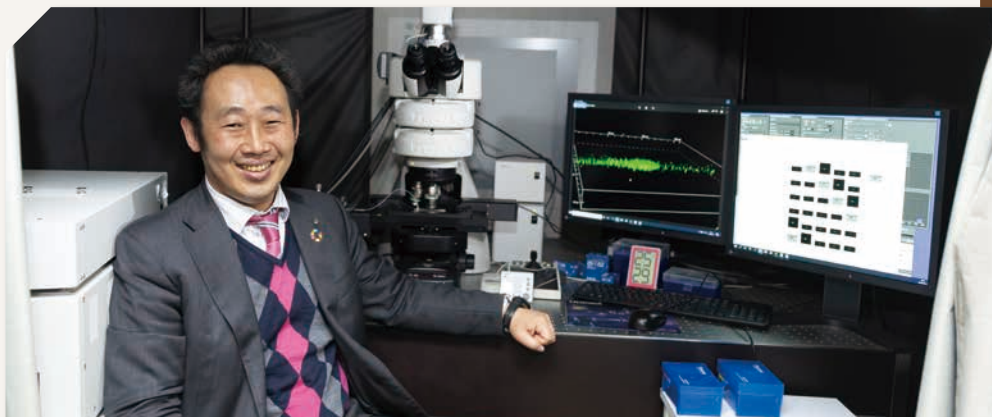
分析機器、科学機器メーカーが一堂に会し、最先端の科学・分析システムとソリューションが集結する展覧会「最先端科学・分析システム&ソリューション展（JASIS）」。

今年は、JSTの未来社会創造事業がJASISでシンポジウムを開催し、飯田先生を含めた6名の講演者が「研究開発が創る未来像」をご紹介します。会場では、大阪公立大学LAC-SYS研究所も出展を予定しており、今回の記事でもご紹介しました光濃縮システムの試作機も展示しておりますので、ぜひご来場ください。

◆開催概要

日時：2024年9月6日（金）10:00～12:30
会場：幕張メッセ国際会議場 201会議室
入場料：無料（事前登録制）
主催：日本分析機器工業会・日本科学機器協会
※JASIS2024（リアル開催）の会期は2024年9月4日（水）～6日（金）です。

URL：<https://www.jasis.jp/>



基礎研究を大事にしながら、社会のこともきちんと見て、自分の専門分野を超えた幅広い視点で、研究成果をどのように社会に還元していくかというビジョンを持つことが、研究を大きく広げるために重要なスタンスではないかと思っています。