



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Delivering Functional Cargos by Extracellular Vesicles Engineered with a Lipid-binding Domain [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	OPADELE, Abayomi Emmanuel
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医理工学)
Dissertation Number	甲第15973号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92244
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Opadele_Abayomi_Emanuel_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医理工学）	氏名	オパデル アバヨミ エマニュエル
審査担当者	主査	准教授	小野寺 康仁
	副査	教授	白土 博樹
	副査	准教授	橋本 孝之

学位論文題名

Delivering Functional Cargos by Extracellular Vesicles Engineered with a Lipid-binding Domain
(脂質結合ドメインを用いた人工改変細胞外小胞による機能的カーゴの送達)

上記の学位論文は、細胞間相互作用の様式の一つである「細胞外小胞 (extracellular vesicle, EV)」を人工的に改変する新規技術の研究に関するものである。EV はそれを産生する細胞の内部に存在する物質（「カーゴ」）が生体膜小胞に包まれたものであり、内包されたカーゴはその活性が維持されたまま、生体内の遠位に存在する細胞へと送達され、そこで様々な作用を発揮する。受容細胞において、EV はエンドサイトーシス等で取り込まれ、膜融合を介して内包されていたカーゴは細胞質内へと放出される。本研究では、ウェルシュ菌 *Clostridium perfringens* の毒素タンパク質 perfringolysin O が持つコレステロール結合ドメインである「D4」を用いて EV に任意のタンパク質を取込ませる技術が新たに提示された。

審査にあたり、まず副査の橋本孝之准教授から、本論文の技術によって正常細胞を回避してがん細胞のみに物質送達が可能であるか、腫瘍塊のがん細胞に一樣に物質を送達することは可能であるか、人工改変の手法の違いにより受容細胞において EV が取込まれる部位の違いが生じるのは何故か、という質問があった。申請者は、本研究において用いられた、EV と受容細胞の間で起こる膜融合を促進するための「VSV-G タンパク質」の性質や、D4 との比較に用いた CD9 の性質、それらが人工改変 EV へ与える影響などに触れながら、適切に回答していた。ただし一部については、未だ答えを得られていないとの回答であった。また、橋本准教授からは、D4 を用いた技術の臨床応用はいつ頃になると考えているか、という質問があった。申請者は、具体的な数字

への言及はせず、個人的な展望を述べていた。

次に副査の白土博樹教授から、D4と比較対象であるCD9の分子量についての質問があった。申請者は、それぞれ20 kDaおよび13 kDa程度であると回答した。それに対して白土教授は、D4の分子量がより小さいことは、EVの安全性等において影響があるのか、と質問した。申請者は、EVは非常に小さい粒子であるため、より分子量が小さいものを人工改変に用いることは、カーゴ内包の効率化においてより有利であると考えている、と回答した。さらに白土教授からは、EVの物質送達効率の検討・比較のために適した技術に関する質問や、論文中の図表に関する助言・指摘があり、それらに対して申請者は適切に回答・説明を行っていた。

最後に、主査の小野寺康仁准教授は、本研究中ではEVによる物質送達の検出効率を最大限に引き上げるための様々な工夫がなされていたにもかかわらずEV内包カーゴの細胞質への解放の検出にはVSV-Gによる膜融合促進が必要であったことを指摘し、VSV-Gを用いずにこれを検出するためにはどのようなことが必要と考えるか、との質問を行った。申請者は、当該研究に限らず研究分野全体における非常に重大な問題であり、未だ検討中の課題であると回答し、今後の研究継続への意欲を示した。また、小野寺准教授からは、EV内包カーゴ検出のための新規技術として開発した「カーゴのタンデム化技術」を、臨床応用する可能性やその方法について質問があった。申請者は、本項目についても重要であるとしながらも、具体的な方策を提示するには至らなかったが、がん細胞の性質の解析を続けることでそのような技術も可能になるとの展望を示した。

本論文で提示された新規技術は、任意のタンパク質をEVに効率良く取込ませながらもEV外表面の性質変化の回避を試みた点が特徴的であり、EVの人工改変においてこれまで広く用いられてきたCD9などのテトラスパニンファミリーのタンパク質群が持つ潜在的な問題を解決する可能性が高い。また、本技術に基づき、EVの生化学的特性および生体内動態の解析やカーゴ送達による疾患の治療など、研究および臨床への応用展開が大いに期待できる。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し大学院課程における研鑽および単位取得の見込みなども考慮して、申請者が博士(医理工学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと判定した。