

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

平成 30 年 11 月 22 日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所属部局・研究科 工学研究科

職 名・学 年 博士後期課程2年

氏 名 梅 原 由 衣

助 成 の 種 類	平成 30 年度 ・ 在外研究助成	
研 究 課 題 名	腫瘍低酸素領域に酸素を供給するセラノスティック型複合シリカナノ粒子の設計・合成・評価	
受 入 機 関	University of Vienna, Vienna, Austria	
渡 航 期 間	平成 30 年 8 月 1 日 ～ 平成 30 年 10 月 31 日	
成 果 の 概 要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有()	
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,015,000 円
	使用した助成金額	1,015,000 円
	返納すべき助成金額	0 円
	助成金の使途内訳	渡航費：252,920 円
		滞在費：762,080 円
計：1,015,000 円		
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 貴財団の助成により、在外研究に必要な費用を賄うことができ、在外研究先において金銭面・生活面の心配をすることなく、研究活動に集中することができました。ご支援を頂きましたことに心から感謝申し上げます。	

【緒言】

腫瘍組織周辺では、腫瘍細胞の異常に速い増殖に血管新生が追い付かず、その結果、酸素の供給が追い付かない低酸素細胞が存在する領域があることが知られている。この低酸素細胞は、光線力学療法や放射線療法に対し治療抵抗性を有するとともに、癌の悪性度を高め、予後を悪化させる主要因になると考えられている。従って、腫瘍低酸素細胞を特異的に検出することや、それらの低酸素細胞に酸素を供給することは、新たな腫瘍治療戦略の確立に貢献する可能性を秘めている。

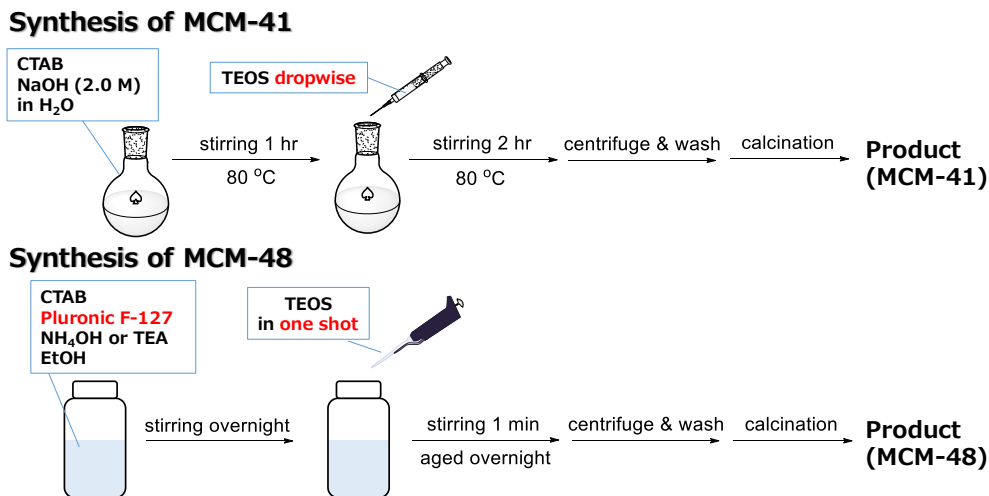
一方、多孔性シリカナノ粒子は、粒子径や細孔のサイズ制御、およびナノ粒子表面に様々な官能基を導入により、物性の制御が容易であり、蛍光色素や金属錯体、さらにはタンパク質などの高分子を共有結合によりナノ粒子表面に固定する、あるいはナノ粒子に内包することが可能である。近年、これらの特性に加え、高い生体適合性と低毒性に注目が集まり、多孔性シリカナノ粒子を生体イメージングやドラッグデリバリーシステム (DDS) に応用する研究が活発に行われている。

そこで筆者は、本在外研究において受入先である Kleitz 教授の指導の下、粒径、細孔径、および表面官能基の種類と修飾量を制御した複数の新規な多孔性シリカナノ粒子を合成し、その物性評価を行った。今後は、筆者が既に合成に成功している低酸素応答性ナノ粒子との比較を行う。

【結果と考察】

Kleitz 教授の研究室において、筆者は多孔性シリカナノ粒子の合成、および物性評価に関する技術と、筆者の所属研究室にはなかった窒素吸脱着装置による BET 表面積の測定法

Scheme 1. 多孔性シリカナノ粒子の合成



を習熟した。まず、MCM-41 および MCM-48 と呼ばれる 2 種類の多孔性シリカナノ粒子について、様々な粒径のナノ粒子を合成した (Scheme 1)。

合成したナノ粒子について、動的光散乱法 (DLS) による粒径測定、粉末 X 線回折 (XRD) の測定による結晶構造の解析、さらに窒素吸脱着等温線の測定による細孔径および表面積の測定を行った。その結果、MCM-41 については 150 nm、200 nm、また MCM-48 については 50 nm、100 nm、200 nm の粒径を有し、それぞれ細孔径が 4 nm 程度に制御された 5 種類の多孔性シリカナノ粒子の合成に成功した。図 1 には、粒径 150 nm の MCM-41 ナノ粒子の分析結果を示した。

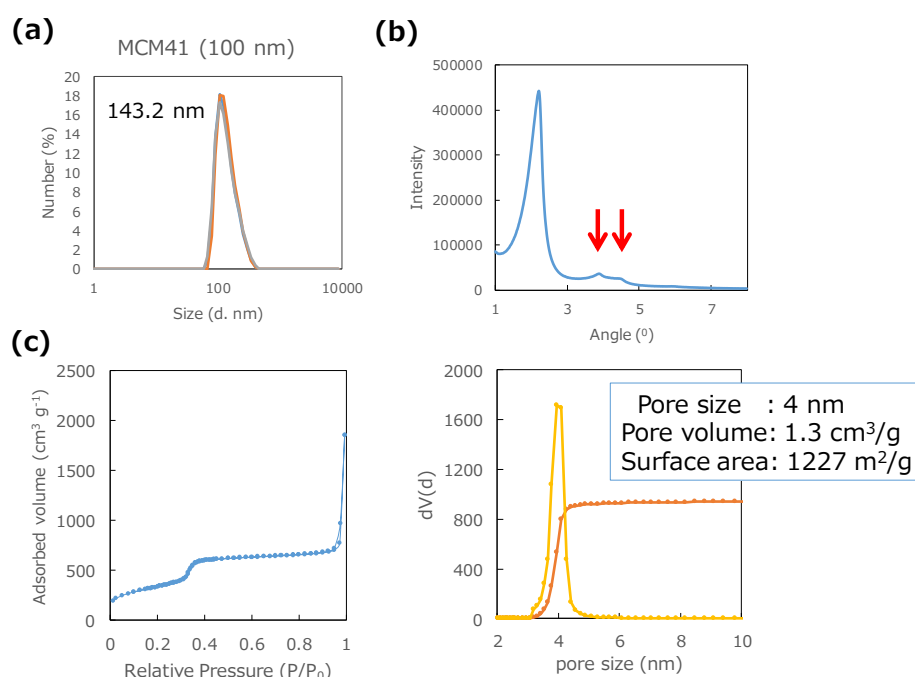
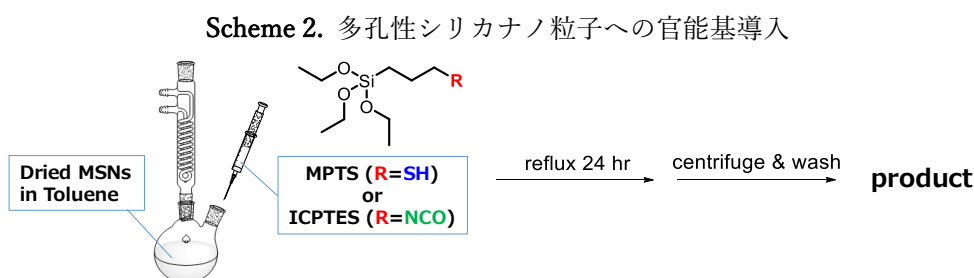


図 1. 合成した MCM-41 粒子の (a) DLS による粒径測定結果、(b) XRD による結晶構造解析結果、赤矢印は MCM-41 に特徴的な回折ピーク、(c) 窒素吸着等温線の測定結果と BET 法による細孔径と細孔体積および表面積の測定結果。

次に、合成した多孔性シリカナノ粒子について、静電相互作用による薬剤の導入や縮合反応による有機化合物の導入の可能性を明らかにするため、メルカプト基 (-SH) およびイ



イソシアナート基 ($-N=C=O$) を有するトリエトキシシラン (MPTS、および ICP TES) を用いるシランカップリング反応を行った (Scheme 2)。その結果、熱重量分析 (TG) により、それぞれの粒子に対して重量当たり約 3% のメルカプト基と約 20% のイソシアナート基の導入が示唆された。現在、イソシアナート基が導入されたと考えられる多孔性シリカナノ粒子について、固体 NMR 測定によるイソシアナート基の有無を確認している。

さらに、酸素濃度に応答してりん光発光強度が変化するりん光発光性ルテニウム錯体と、MCM-41 および MCM-48 に導入したイソシアナート基との反応による MSN-Ru ナノ粒子の合成を行った。水とエタノールによる洗浄後、減圧乾燥した粒子は、ルテニウム錯体由来の淡いオレンジ色を示し、DMSO 中での紫外-可視吸収スペクトルの測定により、ルテニウム錯体に起因する 460 nm の吸収が観測された (図 2)。

帰国後は、合成した新しい多孔性シリカナノ粒子について、透過型電子顕微鏡 (TEM) による撮像、および MSN-Ru については酸素濃度応答性、光毒性の有無等、生体応用に向けた評価を継続して行っている。

一方、申請書に記載した「多孔性シリカナノ粒子の細孔内への金ナノ粒子の固定」については、Kleitz 教授および Kleitz 研究室 PD・学生とのディスカッションの結果、hollow 型のナノ粒子で検討することとなった。しかしながら、従来法では、テンプレートとして用いた界面活性剤を完全に除去することが不可能であり、粒径や細孔径の揃ったナノ粒子を得ることができなかった。また、テトラクロロ金 (III) 酸イオンの還元が多孔性シリカナノ粒子の細孔内および表面で促進され、最終生成物の単離が困難であり、目的とする金ナノ粒子の固定には成功していない。従って、金ナノ粒子の固定については、帰国後も Kleitz 教授との共同研究として、光音響イメージングに極めて有効と考えられる「異方性金ナノ粒子を細孔内に固定した hollow 型多孔性シリカナノ粒子」の合成を継続し、さらに細孔内に薬剤 (放射線増感剤等) を導入することにより、画像診断と放射線治療とを同時に実現するセラノスティックプローブの開発を行う予定である。

【今後の予定】

筆者が、本在外研究において合成した新しい多孔性シリカナノ粒子は、生体への適合性が高く、ドラッグデリバリーシステムや分子プローブ型造影剤としての応用、および実用化が期待される。また、本在外研究を契機として、より困難な hollow 型多孔性シリカナノ粒子の合成と金ナノ粒子の固定について、Kleitz 教授との共同研究を継続する。生体応用に向け

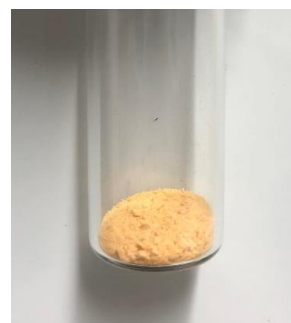


図 2. 合成した MSN-Ru (MCM-41, 150 nm) の写真.

た細胞毒性評価や機能評価、小動物における実用性の評価は、筆者の所属研究室で実施し、Kleitz 教授との共同研究として論文発表することを目指す。

【謝辞】

貴財団からの助成による在外研究により、海外の大学の研究室における研究の進め方を知ることができ、また、筆者の所属研究室ではできなかった無機合成と無機材料の評価について重要なノウハウを学ぶことができました。さらに、今後の共同研究につながる出会いを得ることができ、3 か月という短いながらも濃密な時間を過ごす貴重な経験となりました。助成を頂いた公益財団法人京都大学教育研究振興財団、留学を許可頂いた工学研究科物質エネルギー化学専攻の近藤輝幸教授、および突然の連絡にも関わらず、筆者を快く受け入れて頂いたウィーン大学 Freddy Kleitz 教授に心から感謝申し上げます。

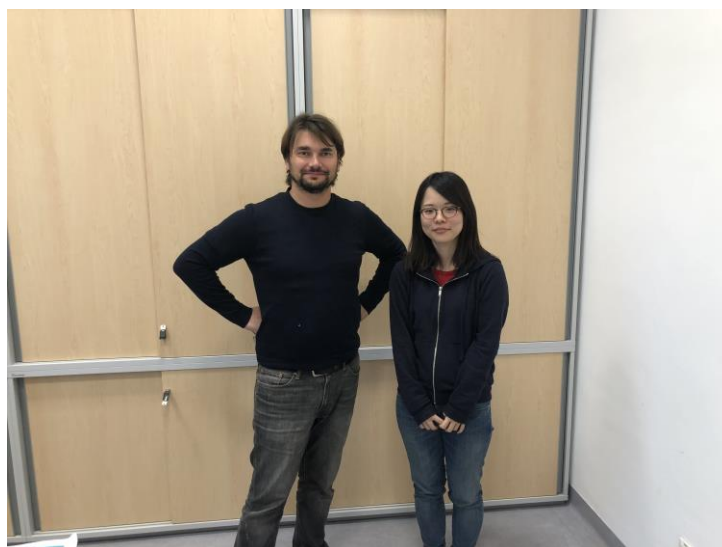


図 3. Kleitz 教授と筆者.