

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24350098

研究課題名(和文)薬物送達システムに資する無機中空蛍光体の蛍光特性に関する基礎的研究

研究課題名(英文)Fundamental study on the luminescent properties of the inorganic hollow phosphors to contribute to the drug delivery system

研究代表者

神 哲郎 (Jin, Tetsuro)

独立行政法人産業技術総合研究所・ユビキタスエネルギー研究部門・主任研究員

研究者番号：30357248

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：ドラッグデリバリーシステム(DDS)材料の一つとして希土類蛍光体中空粒子に着目して、多機能かつ多段階でがん細胞を攻撃できる DDS 材料開発の検討を行った。得られた蛍光体中空粒子は粒径の揃った表面が滑らかな球状で得られ、各々の粒子は単分散していた。試料の蛍光スペクトルでは、3価のコウロビウムイオンに基づく蛍光ピークが観察され、その蛍光は肉眼でも十分観察できるほど強いものであった。さらに葉酸で表面を修飾してヒト由来がん細胞に蒔いたところ選択的に結合し中性子線照射に伴うガンマ線発生によりがん細胞が死滅する傾向が示された。

研究成果の概要(英文)：Neutron capture therapy (NCT) is one of available ways for intractable cancers in human body. BNCT is in practical use, in addition, gadolinium neutron capture therapy (GdNCT) is also useful because Gd ion has a toxicity against human cells by gamma-ray generation under irradiation thermal neutrons. Using a lanthanide phosphor including Gd synthesized by our technique, the phosphors are able to form unique shapes such as hollow sphere, and the phosphor showing a good emission can be used as a new type drug delivery system (DDS) possessing several functions such as gamma-ray generation under irradiation of thermal neutron, drug delivery and level of the tumor cells in one material. In this study, the preparation of hollow sphere lanthanide phosphor was performed using polymer beads as a template by hydrothermal treatment. And then the tumor cell killing effect of this material against cultured the cancer cell after irradiation of thermal neutron and incubation was investigated.

研究分野：無機材料工学

キーワード：希土類蛍光体 ドラッグデリバリーシステム 分相 ガラス 表面改質 生体親和性

## 1. 研究開始当初の背景

ガン治療において患者の負担を最小にし  
ながら最大の効果を発揮する DDS が盛んに  
研究されている。これまで検討されてきた  
DDS は主に薬剤伝送の機能や外部電磁波に  
誘導される熱による攻撃など1つの機能を  
有するのみで、無効の場合、治療方法を再検  
討しなければならない問題があった。

一方、蛍光強度が非常に強い希土類無機蛍  
光体は、古くからテレビあるいは三波長型蛍  
光灯に用いられてきた。しかしながら、この  
種の結晶性の無機蛍光体は  $4\mu\text{m}$  以下の粒径  
になると表面欠陥での無輻射遷移によって  
蛍光強度を劇的に低下させるという事実が  
知られており、微粒化しても工業的な利用  
価値は無いと考えられてきた。

## 2. 研究の目的

$\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$  と同様の蛍光特性を示す希土類酸  
化物蛍光体  $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$  をナノメーターオーダ  
ーでホロースフィア形状あるいは多孔質で  
合成して薬の包含を可能にし、さらにこの蛍  
光体を抗体等の機能性有機化合物で表面を  
改質した材料で、*ガン等の病変部位に選択的  
に結合させて目視で確認できる輝度で発光  
させることが目標である。* 上記目標を達成す  
るため、以下の点を詳細に検討する。

無機蛍光体の強い蛍光強度を保持しつつ生  
体内で血栓を生じにくい大きさである  $200$   
 $\text{nm}$  以下の粒径にする。

末端にガン組織と特異的に反応する抗体な  
らびに金と優位的に反応するチオール基  
(-SH)を有する機能性有機化合物の設計と精  
密合成を行い、金ナノ粒子を付加した無機蛍  
光体表面をこれで改質する。

培養ガン細胞ならびに生体内ガン組織に in

vitro で直接投与し、この蛍光特性について  
検討する。

## 3. 研究の方法

### 希土類酸化物蛍光体中空状結晶の合成と金 ナノ粒子の付加

ポリスチレン微粒子をテンプレート(鋳  
型)剤に用いた水熱法により、 $\text{Gd}_2\text{O}_3$  を主成  
分とする中空状結晶の希土類酸化物蛍光体  
の合成を行う。 $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$  も  $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$  と同様  
の蛍光特性を示ことがわかっている。目標と  
するサイズは長さ  $1\mu\text{m}$  以下とする。これと並  
行して、*得られたチューブ状結晶表面に金ナ  
ノ粒子(5~10nm)を付加する。* 付加する金  
ナノ粒子の量(密度)と蛍光特性の相関性  
について検討する。

### 分相ガラスの微粒化

希土類蛍光体を結晶化させた分相ガラス  
の粒径制御を行う。目標は  $1\mu\text{m}$  以下とする。  
具体的には、分相ガラス原料を適当な溶媒に  
溶解してミセルを形成しこれを高温気流中  
で加熱熔融しガラス微粒子を創成する。前段  
の研究で熔融法によって  $10\mu\text{m}$  までの制御に  
成功している。そこで、このときの原料濃度、  
ミセル径、気流速度、加熱温度を精査して目  
標の微粒子を創生する。

### 抗体機能性有機化合物の設計と精密合成

*ガンと特異的に結合する抗体機能性有機  
化合物の設計と創成を行う。* 具体的には、3-  
メルカプトプロピルトリメトキシシラン  
(3-MPTS)およびその誘導体のメトキシ基と  
抗体を加水分解ならびに脱水縮合反応で結  
合させ、これを金ナノ粒子を付加した無機蛍  
光体と反応させる。

### 無機蛍光体の表面改質

合成した機能性有機化合物を用いて表面改

質を行い、蛍光特性の検討を行う。続いて、金ナノ粒子を表面に付加した当該蛍光体の表面の抗体機能性有機化合物との反応性ならびに抗体機能性有機化合物の導入量と蛍光特性について精査し抗体機能性有機化合物の分子設計の指針として検討する。

上記研究で創成した無機蛍光体ナノ粒子を、実際にガン細胞を培養した溶液中に直接投与して拡散性を検討する。すなわち、生理食塩水中に分散した蛍光体をシャーレ中の細胞コロニーに所定量滴下して時間経過の拡散状況をレーザー顕微鏡で観察する。拡散性の粒径依存性や形状依存性も併せて検討する。

具体的な手法を以下に示す。

モルフォロジー制御した蛍光体中空粒子  $(Y,Gd)_2O_3:Eu^{3+}$  および  $(Y,Gd)BO_3:Eu^{3+}$  中空粒子の合成は、積水化成工業製のポリスチレン(PS)ビーズをテンプレートとして用いた。酸化物合成は所定濃度の希土類硝酸塩に当該ビーズを浸漬して  $100^{\circ}C$ 、3h 水熱処理した後  $700\sim 800^{\circ}C$  空气中で加熱処理した。一方希土類ホウ酸塩の合成は所定濃度の希土類硝酸塩ならびにホウ酸水溶液に当該ビーズを浸漬して、 $200^{\circ}C$ 、20h 水熱処理した。金ナノ粒子は粒径 15nm の水中に分散した液を用い、これを蛍光体粉末に滴下し乾燥させた。葉酸は末端基にチオール基を導入した誘導体を合成し、これを金ナノ粒子付加蛍光体の表面に結合させた。この表面改質 蛍光体をヒト由来肺がん細胞に添加して、蛍光レーザー顕微鏡により細胞表面からの蛍光について検討した。熱中性子照射は京都大学原子炉実験所内の実験用原子炉において、あらかじめ well 上で培養したヒト由来

がん細胞に細胞培養液中所定濃度の希土類蛍光体分酸液を入れ、well の側面から照射した。

(ソルボサーマル法により合成した希土類ホウ酸塩蛍光体中空粒子の蛍光特性)

ソルボサーマル法による合成は、日東高圧製攪拌機付きオートクレーブを用いて、合成温度域  $150\sim 300^{\circ}C$ 、反応時間  $1\sim 24h$  の範囲で行った。加熱処理する前にオートクレーブ内反応雰囲気十分に窒素置換した。モルフォロジー制御した  $(Gd,Y)BO_3:Eu^{3+}$  中空粒子蛍光体の合成は、積水化成工業製のポリスチレン(PS)ビーズをテンプレートとして用いた。希土類ホウ酸塩の合成は所定濃度の希土類硝酸塩、ホウ酸および尿素の各種溶液に当該ビーズを浸漬してソルボサーマル処理した。

(溶融法による蛍光結晶化ガラスの作製)

ホウケイ酸ガラスに  $GdBO_3$ 、 $GdF_3$  結晶を析出し、蛍光元素として  $Eu$ 、 $Tm$  をドープした結晶化ガラスの作製を行った。作製の手法としては、化学的に安定なガラスが得られる溶融法によって行った。

#### 4. 研究成果

上記条件での水熱処理後遠心分離して乾燥

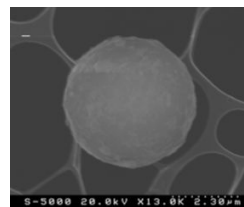


Fig. 1 FE-SEM image of  $(Y,Gd)BO_3:Eu^{3+}$  microsphere  
させた試料を XRD によって同定したところ、 $GdBO_3$  に帰属されるピークが観察された。さらに FE-SEM によるモルフォロジー

観察を行った。結果として図 1 に示すように、テンプレートとして用いた PS 微粒子で滑らかな曲率を有して結晶化していることがわかった。続いて、この蛍光体の蛍光特性を検討した。得られた蛍光スペクトルでは、591nm, 610nm および 624nm の特徴的な 3 本の希土類ホウ酸塩を母結晶とする  $\text{Eu}^{3+}$  イオンに基づく蛍光ピークが観察され、その蛍光は肉眼でも十分観察できるほど強いものであった。希土類蛍光体を葉酸で表面修飾した中空粒子をヒト由来がん細胞に蒔いたところ、葉酸レセプター-FR- $\alpha$  を有する SK-BR-3(肺がん細胞)の細胞膜表面において希土類蛍光体の  $\text{Eu}^{3+}$  イオンに基づく蛍光が観察された。このことから、目標とするがんに応じてレセプターに対応する有機化合物(抗体)で表面を修飾すれば幅広い種類のがん組織表面に当該蛍光体 DDS 材料を付着することが可能であることが示された。さらに様々な濃度で調整した希土類蛍光体 DDS 分散液を入れたがん細胞への熱中性子線照射に伴う Gd からのガンマ線によるがん細胞の細胞死の検討を行った。結果として、照射後がん細胞の多くは死滅していた。

(ソルボサーマル法により合成した希土類ホウ酸塩蛍光体中空粒子の蛍光特性)

反応温度を高温にするに従って結晶成長に伴い蛍光強度が増大したが、微粒子が凝集し沈殿する問題があった。そこで反応温度を 230℃ から 190℃ まで下げたところ、この問題は解消した。上記条件での水熱処理後遠心分離して乾燥させた試料を XRD によって同定した。GdBO<sub>3</sub> に帰属されるピークが観察され

た。水熱処理法で得られる希土類ホウ酸塩の合成温度としては比較的低温の 190℃ において比較的良好な結晶性を有することがわかった。さらに FE-SEM によるモルフォロジー観察を行った。結果としてテンプレートとして用いた PS 微粒子上滑らかな曲率を有して結晶化していることがわかった。

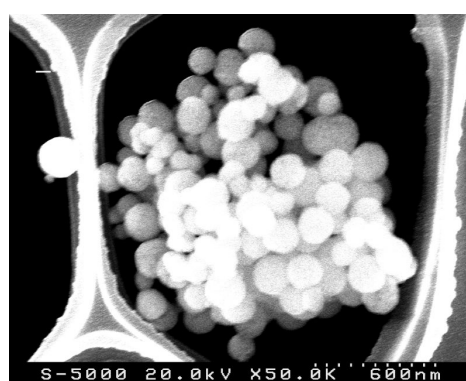


Fig. 2 FE-SEM image of GdBO<sub>3</sub>:Eu<sup>3+</sup> phosphor hollow microsphere prepared at 190℃. 加えて、粒径が 100nm 前後であるにもかかわらず粒子間の結合が見られなかった。得られた蛍光スペクトルでは、591nm, 610nm および 624nm の特徴的な 3 本の希土類ホウ酸塩を母結晶とする  $\text{Eu}^{3+}$  イオンに基づく蛍光ピークが観察され、その蛍光は肉眼でも十分観察できるほど強いものであった。反応温度 230℃ で得られた試料と比較して、190℃ で得られた試料は蛍光強度は低下した。このことから、反応温度が低いために結晶の生成量および結晶成長が不十分だったことが示唆された。

(溶融法による蛍光結晶化ガラスの蛍光特性)

54.6SiO<sub>2</sub>-11.1B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-15.8NaF-18.5Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(mol%) の組成から得た母ガラスに、外割りとして GdF<sub>3</sub> を 5.5 mol%、TmF<sub>3</sub> を 0.4 mol% 添加した。原料をアルミナ坩堝に入れ、1350℃ で 1 時間溶融したのち、600℃ から徐冷を行った。得ら

れたガラスを、750℃で48時間結晶化処理を行い、当該試料のXRD測定による評価を行った。

このGdF<sub>3</sub>:Tm結晶が析出した結晶化ガラスに724nmの光を照射すると、強度は弱いが見光域の590nm近傍にアップコンバージョンによる蛍光が生じていることがわかる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1件)

神 哲 郎、モルフォロジー制御した希土類蛍光体の多段階攻撃型ドラッグデリバリーシステムへの応用、セラミックス, 50, 211-215 (2015)

[学会発表](計 12件)

1)神哲郎・落石知世・渋谷有里・矢澤哲夫、希土類蛍光体中空粒子の応用、希土類討論会、2014年05月22日、タワーホール船堀(東京都江戸川区)

2)渋谷有里・嶺重温・矢澤哲夫・落石知世・神哲郎、Sr<sup>2+</sup>添加によるGdF<sub>3</sub>析出結晶化ガラスの結晶構造への影響と蛍光特性評価、日本セラミックス協会2015年年会、2015年03月18日、岡山大学(岡山市)

3)神哲郎・落石知世・渋谷有里・矢澤哲夫、希土類蛍光体中空粒子の表面改質の検討、第27回日本セラミックス協会秋季シンポジウム、2014年09月09日、鹿児島大学郡元キャンパス(鹿児島市)

4)渋谷有里・嶺重温・矢澤哲夫・落石知世・神哲郎、発光元素Tm<sup>3+</sup>をドープしたGd<sup>3+</sup>含

有結晶化ガラスのアップコンバージョン蛍光特性、第27回日本セラミックス協会秋季シンポジウム、2014年09月09日、鹿児島市(鹿児島大学郡元キャンパス)

5)臼井寛明、嶺重温、神哲郎・落石知世・矢澤哲夫、発光元素Eu<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup>をドープしたGd<sup>3+</sup>含有結晶化ガラスの蛍光特性、第54回ガラスおよびフォトンクス材料討論会、2013年11月21日、産業技術総合研究所関西センター(大阪府池田市)

6)神哲郎、モルフォロジー制御による希土類蛍光体の新展開、第9回「学際領域における分子イメージングフォーラム」(招待講演)、2013年10月29日、宇宙航空研究開発機構(JAXA)(東京都調布市)

7)神哲郎、希土類蛍光体の新展開、2013年光化学討論会(招待講演)、2013年09月11日、愛媛大学(愛媛県松山市)

8)神哲郎、落石知世、矢澤哲夫、大幸裕介、臼井寛明、希土類蛍光体中空粒子の合成と表面改質、日本セラミックス協会第26回秋季シンポジウム、2013年09月05日、信州大学(長野県長野市)

9) 臼井寛明、大幸裕介、嶺重温、落石知世、神哲郎、矢澤哲夫、アルカリポロシリケートガラスにおけるGdBO<sub>3</sub>:Eu<sup>3+</sup>結晶の析出、日本セラミックス協会2013年年会、2013年3月18日、東京工業大学(東京都)

10)神哲郎、落石知世、大幸裕介、矢澤哲夫、生体親和性有機化合物で表面改質した希土類蛍光体の蛍光特性、日本セラミックス協会2013年年会、2013年3月18日、東京工業大学

(東京都)

11) 神 哲 郎、落 石 知 世、大 幸 裕 介、  
矢澤哲夫、生体親和性に資する表面改質した希土類蛍光体の蛍光特性、第51回セラミックス基礎科学討論会、2013年1月9日、仙台国際センター(仙台市)

12) 神 哲 郎、多孔質ガラスとその応用、第39回ナノバイオテクノロジー研究会、2012年12月7日、名古屋工業大学(名古屋市)  
〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称:ナノ複合体、それを備えたDDS製剤、及びそれらの製造方法

発明者:神 哲 郎、落 石 知 世

権利者:神 哲 郎、落 石 知 世

種類:特願

番号:2013-000456

出願年月日:2013年1月7日

国内外の別: 国内

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

神 哲 郎 (JIN, Tetsuro )

産業総合技術研究所・ユビキタスエネルギー研究部門・主任研究員

研究者番号:30357248

### (2)研究分担者

( OCHIISHI, Tomoyo )

産業総合技術研究所・バイオメディカル研究部門・主任研究員

研究者番号:30356729

矢澤 哲夫 (YAZAWA, Tetsuo)

兵庫県立大学大学院・工学研究科・教授

研究者番号:50347522

大幸 裕介 (DAIKO, Yusuke)

名古屋工業大学大学院・工学研究科・助教

研究者番号:70514404

### (3)連携研究者

( )

研究者番号: