

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25820454

研究課題名(和文) 効率的なTc-99m製造のためのモリブデンナノ粒子の新規合成法の確立

研究課題名(英文) Development of molybdenum nanoparticle synthesis method using liposome as a template

研究代表者

山崎 信哉 (YAMASAKI, Shinya)

筑波大学・数理物質系・助教

研究者番号：70610301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：核医学診断に用いられるテクネチウム-99mの親核種であるモリブデン-99を国内生産するために昇華法が提案されている。この手法を効率化するためにMo-100のナノ粒子が必要である。そこで本研究では、微生物によるナノ粒子生成反応を模擬して、人工的にモリブデンナノ粒子を合成する手法を構築した。生体膜の構成成分であるホスファチジルコリンとコレステロールを水中で分散させ、球状リン脂質二重膜(リポソーム)を作成した。このリポソームの内部にモリブデン酸イオンを封入し、外部からカルシウムイオンを添加した。この際の諸条件を検討することで、30-50 nm程度のモリブデンナノ粒子の合成を確認した。

研究成果の概要(英文)：Efficient molybdenum nano particle synthesis method is required to generate the technetium-99m, which is utilized for the diagnostic imaging. In the present study, the molybdenum nano particle was synthesized by using liposome, composed of phosphatidylcholine and cholesterol in imitation of the biomineralization of lanthanide phosphate by a yeast. The sodium molybdate was encapsulated into the liposome and the calcium chloride solution was added to the liposome solution. Various experimental conditions such as reagent concentration and incubation time were optimized to obtain the nano size molybdenum particle. As a result of this study, the nanoparticles having 30-50 nm size were successfully obtained on the liposome, which was confirmed by DLS measurement and TEM analysis.

研究分野：分析化学

キーワード：ナノ粒子 リポソーム テクネチウムジェネレーター

1. 研究開始当初の背景

主に心疾患を対象とした核医学診断に用いられるテクネチウム(^{99m}Tc)の親核種であるモリブデン(^{99}Mo)は100%輸入により供給されているが、カナダの原子炉や輸送のトラブルなどにより輸入が途絶えることが過去に起こっている。 ^{99}Mo は高濃縮 ^{235}U の核分裂生成物からの抽出が必要なこと、 ^{99m}Tc および ^{99}Mo の半減期が短く貯蔵ができないことに加え、今後見込まれる需要拡大の点からも ^{99m}Tc および ^{99}Mo を輸入に頼らず国内で安定供給する新規技術が必要であった。

現在検討されている有力な ^{99m}Tc 生産手法のひとつに、濃縮 $^{100}\text{MoO}_3$ に中性子を照射し $^{99}\text{MoO}_3$ および ^{99m}Tc を得たのち、昇華温度の違い($^{99}\text{Mo}:795$ 、 $^{99m}\text{Tc}:310$)を利用して分離抽出する昇華法が挙げられる。しかし昇華法の実用化に際して、材料となる $^{100}\text{MoO}_3$ の粒径が大きいこと($>100\ \mu\text{m}$)が問題となっている。粒径が大きいと中性子照射により生成する ^{99m}Tc が $^{100}\text{MoO}_3$ 内から飛び出しにくくなり反応効率が悪くなる。現状は800を超える条件が必要であるが、以下の問題が生じる。

^{99}Mo の昇華温度を超えるため ^{99}Mo 分離プロセスが必要となる。

加熱により $^{100}\text{MoO}_3$ 表面が融解するため $^{100}\text{MoO}_3$ が冷めると表面が固まり、効率が劇的に下がる。このため $^{100}\text{MoO}_3$ の再利用ができない。

以上の問題は ^{99m}Tc の生産性を著しく悪くするものであり、昇華法の実用化を妨げる要因となっている。このような背景から ^{100}Mo ナノ粒子の利用が検討されているが、ナノサイズの ^{100}Mo 濃縮同位体は市販されていない。粒径($\sim 100\ \mu\text{m}$)の ^{100}Mo 濃縮同位体をナノ粒子化する場合、物理的に破碎する方法では数百nmから数 μm 程度の粒径が限界である。また加熱処理によりナノ粒子を合成する場合、回収効率が悪い大量の ^{100}Mo が必要となる。 ^{100}Mo 濃縮同位体は非常に高価なうえ(80万円/1g)、需要拡大に伴う価格高騰も予見されている。このため高収率で粒径が小さい($<50\ \text{nm}$) ^{100}Mo ナノ粒子を作成する新たな手法が必要であった。

2. 研究の目的

微生物がその生体膜表面で希土類リン酸塩のナノ粒子を生成することが分かっている。そこで、本研究では微生物を模擬した系でナノ粒子生成反応を再現すること、およびMoナノ粒子生成法を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

生体膜の構成成分であるリン脂質(ホスファチジルコリン)とコレステロールを水中で分散させ、球状リン脂質二重膜(リポソーム)を作成した。このリポソームを簡易な微生物モデルとしてモリブデン酸カルシウムナノ

粒子の合成法について検討した。

図1にリポソームの概念図および研究手法のモデル図を示す。

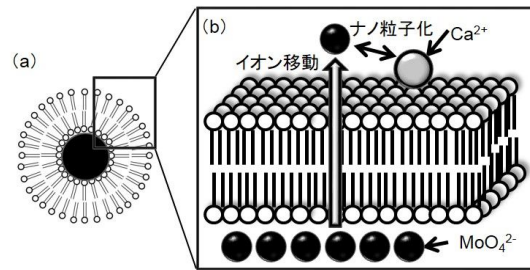


図1 球状脂質二分子膜(リポソーム、(a))と研究手法のモデル図(b)

本研究ではリポソームの内部にモリブデン酸イオンを封入し、リポソームの外部にカルシウムイオンを添加することでリポソーム表面を反応場としてモリブデン酸カルシウムを合成する方法を用いた。

リポソーム表面で生成した固相を分析するために、透過型電子顕微鏡(TEM)を用いた。本研究ではリポソーム試料を乾燥させずにTEM観察を行うための最適条件の検討を行い、生成した固相の分析を行った。

4. 研究成果

リポソームの精製とモリブデン酸カルシウムの合成

ホスファチジルコリンとコレステロールを重量比1:2でクロロホルムに溶解させた後、エバポレーターを用いてクロロホルムを除去した。ナスフラスコの底に形成した脂質膜を一晩真空デシケーターの中で乾燥させてクロロホルムを完全に除去した。その後、50mMのモリブデン酸ナトリウム溶液を脂質濃度が10000ppmになるように加え、ボルテックスキキサーで激しく攪拌してリポソーム溶液を得た。その後、100nmのメンブレンフィルターに20回溶液を通すことで、粒径の揃ったリポソームを作成した(図2)。

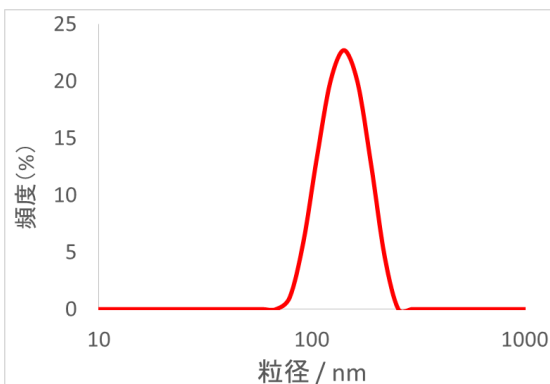


図2 作成したリポソームの粒度分布

リポソームを作成した後、リポソーム内に封入されず外部溶液に残っているモリブデン酸イオンを除去するため、Sephadex G-50 fine

を用いてゲルろ過を行った。樹脂は 1.1 mm × 20 cm で充填し、自然滴下によりリポソームとモリブデン酸イオンを分離した。

ゲルろ過により得たリポソーム溶液に対して 10 mM 塩化カルシウム溶液を体積比 1:1 で加え室温で攪拌しながら放置した。

24 時間放置したリポソーム溶液について動的光散乱および透過型電子顕微鏡を用いて固相生成について検討した。

動的光散乱は、リポソーム溶液を 0.01 cm³ を純水を用いて 3 cm³ に希釈し動的光散乱光度計を用いて 3 回粒度分布を測定した。その結果、リポソームの粒径が 20 nm 程度増加していることが分かった。また、40 nm 付近に新たなピークを確認した。

さらに固相の生成を確認するために透過型電子顕微鏡観察を行った。最適化した測定法は 示す。リポソーム溶液 0.01 cm³ を 1% イオン液体のアセトン溶液 1 cm³ に加え混合した後、TEM 用の Cu グリッドにイオン液体を 0.01 cm³ 滴下し、真空引きを行ったデシケーター中で 1 晩静置して水分を完全に乾燥させた。作成した試料を収差補正 TEM により分析を行った。測定で得られた暗視野像を図 3 に示す。図中の 150 nm 程度の球体がリポソームであり、図中下部の白丸が生成した固相である。これらの固相は数 nm の結晶が凝集して 30 ~ 50 nm の大きさになっていることが分かった。

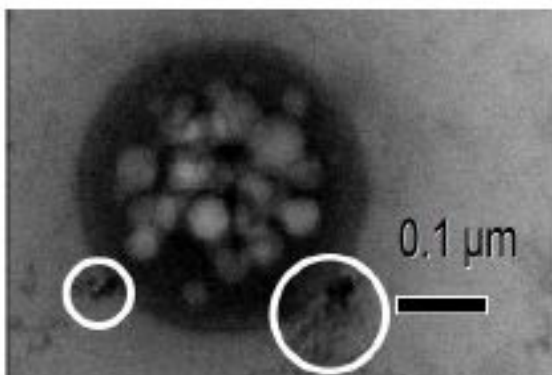


図 3 リポソーム（黒色部分）と表面に析出したモリブデン酸カルシウムの沈殿（白丸）

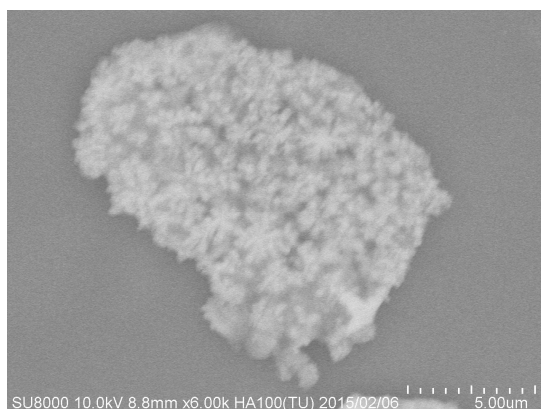


図 4 リポソームなしで合成したモリブデン酸カルシウムの SEM 像
動的光散乱および TEM の結果から、本研究

で検討した合成法により、目的のモリブデン粒子の生成が確認できた。

また、比較としてビーカー中で混合することで作成したモリブデン酸カルシウムの SEM 像を図 4 に示す。この結果を見ると、リポソームがない場合、結晶成長が起こり 1 μm 以上の塊が生成することが分かる。この比較からリポソームの存在がナノ粒子の生成に重要な役割を果たすことが示された。

リポソームを非破壊法で TEM 観察するための条件設定

本研究を遂行するにあたり、リポソーム表面を反応場として生成する固相を分析するための手法を確立する必要があった。従来の染色法では TEM 試料作成時に真空引きをするため水中でのみ安定に存在するリポソームの破壊が起こる。また、TEM 分析を行う際は測定部が高真空状態になるため、水が脱水する。これにより装置の性能が損なわれるため、あらかじめ脱水する必要がある。そこで本研究ではイオン液体を用いて試料調製する方法を検討した。イオン液体は常温常圧で液体状態をとるイオン対であり、真空中においても揮発しない性質を持つ。そこで本研究では数種類のイオン液体を用い、TEM 試料調製法の最適化を行った。

本研究で用いたのはイミダゾール基を持つ陽イオンと、陰イオンである酢酸イオンまたはヘキサフルオロリン酸イオンからなるイオン液体について検討した。TMM 試料作成法についてはリポソーム溶液をイオン液体と混合した後真空引きにより水を除去して TEM グリッドに乗せる方法と、イオン液体と混合した後 TEM グリッドに載せた後に真空引きにより水を除去する方法を検討した。

濃度や時間などを変化させてリポソーム試料を調製し TEM 観察を行った結果、下記の知見を得た。

(i) イオン液体の組成について

本研究で用いたイオン液体について、陰イオンの組成の影響は見られなかった。一方で陽イオンのアルキル基を増加させていき疎水性の影響をみたところ、炭素数が 6 を超えると明瞭なリポソーム像が得られなかった。これは、イオン液体の疎水性とリポソームの成分であるリン脂質との相互作用の増加によりリポソームが破壊するためと考察した。アルキル基の炭素数 2 から 4 で明瞭な像が得られた。

(ii) 脱水の方法について

リポソーム溶液とイオン液体を混合した後脱水して TEM グリッドにのせる方法と、イオン液体と混合して TEM グリッドにのせた後に脱水する方法を検討した。この結果、脱水した後 TEM グリッドにのせるとリポソームの数が多すぎるため観察に向かないことが分かった。一方で TEM グリッドに試料を乗せて脱水すると適切な TEM 像が得られ

た。結果を図5に示す。

今回決定した最適条件により、多数のリポソーム像を得ることができた。

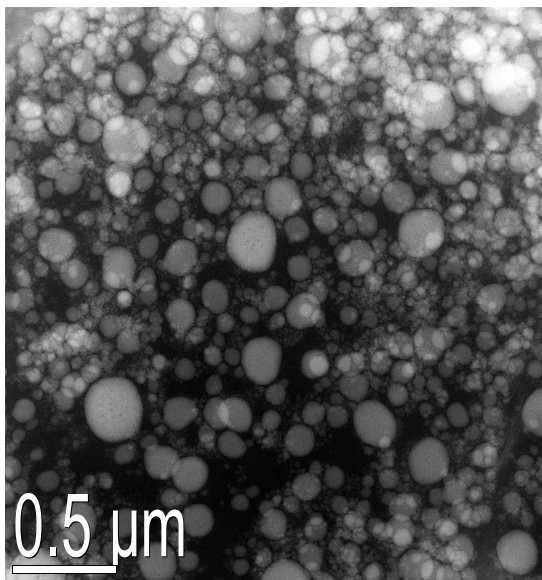


図5 イオン液体を用いて作成したリポソーム試料のTEM像

本研究ではリポソームをテンプレートとしてモリブデン酸カルシウムを生成する方法を確立した。本手法を用いることでモリブデン酸カルシウムのナノ粒子を合成する手法の目処が立った。

今後はこの手法をもとにモリブデンナノ粒子の生成効率の上昇を目指すとともにサイズの制御を行うことで、当初の目的であるTcジェネレーターに用いるためのモリブデンナノ粒子合成法の実用化に繋げることが今後の課題である。

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)

S. Yamasaki, O Shirai, K Kano, N Kozai, F Sakamoto, T Ohnuki, Adsorption Behavior of Lanthanide Ions on Nonbiological Phospholipid Membranes: A Model Study Using Liposome, Chemistry Letters 42 (8), 819-821, 査読有, 2013. DOI: doi.org/10.1246/cl.130226

〔学会発表〕(計 1 件)

山崎 信哉、金子 誠、岩田 孟、正木 翔太、大貫 敏彦、宇都宮 聡、日本鉱物科学会 2014 年年会、R4-10、2014 年 9 月、熊本大学(熊本県熊本市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ

(1) Google scholar

<https://scholar.google.co.jp/citations?user=Dofna-dIAAAAJ&hl=ja>

(2) Researchers ID

<http://www.researcherid.com/rid/E-7703-2015>

6. 研究組織

(1)研究代表者

山崎 信哉 (YAMASAKI Shinya)

筑波大学・数理物質系・助教

研究者番号：70610301

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし