

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18315

研究課題名(和文) リポソームをテンプレートとしたモリブデンナノ粒子合成法の実用化に向けた研究開発

研究課題名(英文) Development of Nano-sized calcium molybdate synthesis 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) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、核医学診断に用いられるテクネチウムを効率的に生成するために、その親核種であるモリブデンのナノ粒子を生成する手法の構築を行った。効率的にナノ粒子を生成するために球状脂質二分子膜(リポソーム)を反応場としてモリブデンナノ粒子の合成を行った。リポソームの内膜にモリブデンイオンを封入し、外側からカルシウムを添加することで難溶性のモリブデン酸カルシウムを生成する手法を採用した。様々な条件を最適化することで、数十nm程度の粒子を得ることができた。これは用いられている粒子よりも100倍程度小さいものである。

研究成果の概要(英文)：The CaMoO<sub>4</sub> nanocrystals on the liposome interface was successfully formed by adding the calcium ion. The CaMoO<sub>4</sub> formation process was examined using liquid phase analysis and solid phase analysis. The CaMoO<sub>4</sub> formation on the liposome was also confirmed by negative staining TEM images. The calcium ion concentration controlled the liposome aggregation. The liposome aggregation may result in the enhancement of CaMoO<sub>4</sub> crystal growth at the interface of the liposome aggregates. The reaction time is also important for the formation of smaller CaMoO<sub>4</sub> particles. Accordingly, it is better to shorten the reaction time to make a small particle on liposome interface (<5 minutes), and to use lower calcium concentration for prevention of liposome aggregation (<2.5 mmol dm<sup>-3</sup>). The particle size of obtained CaMoO<sub>4</sub> was about 10 nm and this particle can be used for the neutron irradiation to make technetium efficiently.

研究分野：分析化学

キーワード：リポソーム ナノ粒子 テクネチウムジェネレーター

1. 研究開始当初の背景

(1) 核医学診断に用いられるテクネチウムジェネレーター

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 ( $^{99m}\text{Tc}$ ) の親核種であるモリブデン ( $^{99}\text{Mo}$ ) 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。 $^{99}\text{Mo}$  は高濃縮  $^{235}\text{U}$  の核分裂生成物からの抽出が必要なこと、 $^{99m}\text{Tc}$  および  $^{99}\text{Mo}$  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  $^{99m}\text{Tc}$  および  $^{99}\text{Mo}$  を輸入に頼らず国内で安定供給する新規技術が強く望まれている。現在検討されている有力な  $^{99m}\text{Tc}$  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  $^{99m}\text{Tc}$  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[1] (図 1(a))。

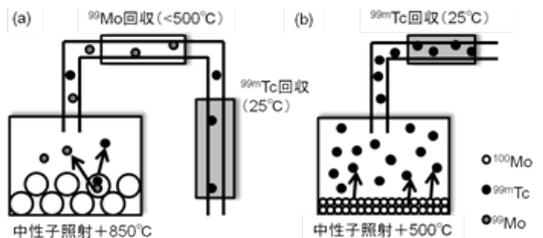


図1  $^{99}\text{Mo}$ 、 $^{99m}\text{Tc}$ 製造法(昇華法)の概要および研究の波及効果: (a)  $^{100}\text{Mo}$ の粒径が大きい場合、中性子照射により生成する $^{99}\text{Mo}$ や $^{99m}\text{Tc}$ が $^{100}\text{Mo}$ 粒子内から飛び出しにくく、850°C程度の条件が必要となる。(b)  $^{100}\text{Mo}$ ナノ粒子を用いた場合、回収率の大幅な上昇が見込めるため $^{99}\text{Mo}$ の昇華温度以下で操作でき、反応条件の緩和および系の簡易化に繋がる。

(2) 昇華法を用いたテクネチウムジェネレーターの問題点

この手法は原子炉を必要とせず高純度の $^{99m}\text{Tc}$ を得ることができる非常に有望な技術である。昇華法の実用化も始まっているが、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 $^{99m}\text{Tc}$ が $^{100}\text{MoO}_3$ 内から飛び出しにくくなるうえ反応確率も低くなるため収率が悪くなる。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。

反応副生成物である $^{99}\text{Mo}$ の昇華温度を超えるため、 $^{99}\text{Mo}$ 分離プロセスが必要となる(図 1(a))。システムが 1 段階増えるため、ランニングコストが高くなる。

加熱(>800)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 $^{100}\text{MoO}_3$ の再利用するための操作が煩雑になる。

以上の問題は $^{99m}\text{Tc}$ 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のひとつとなっている。このような背景から $^{100}\text{Mo}$ ナノ粒子の利用が検討されているが、粒径数百 $\mu\text{m}$ 程度の $^{100}\text{Mo}$ 濃縮同位体をナノ粒子化する場合、物理的に破砕する方法では数百nmから数 $\mu\text{m}$ 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

いため大量の $^{100}\text{Mo}$ が必要となる。 $^{100}\text{Mo}$ 濃縮同位体は非常に高価なうえ(100 万円/1g)、需要拡大に伴う価格高騰も予見されている。このため粒径が小さい(20 nm 程度) $^{100}\text{Mo}$ ナノ粒子を高収率で合成する新たな手法が必要であった。

2. 研究の目的

本研究では、リポソームを反応場としたモリブデン酸塩ナノ粒子(以下 Mo ナノ粒子)合成法において目的粒子を高収率で得ることを目的とした。リポソームをテンプレートとした Mo ナノ粒子合成を実用化するために、粒径および収率の向上に着目し研究を行った。

3. 研究の方法

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。

実験では、カルシウムイオンの濃度を変化させて、リポソーム表面に生成するモリブデン酸カルシウム粒子の物性について透過型電子顕微鏡(TEM)を用いて分析を行った。同時にリポソーム自体の挙動をゼータ電位測定および粒度分布測定により分析を行った。

4. 研究成果

(1) リポソームのが結晶生成に与える寄与

リポソームに封入する  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$  溶液の濃度(0.1 M, 0.5 M, 1 M)及び攪拌時間(5 分、30 分、1 時間、10 時間、24 時間)を変えて  $\text{CaMoO}_4$  合成実験を行い、小粒径の  $\text{CaMoO}_4$  粒子を生成する上で適切な封入  $\text{MoO}_4^{2-}$ 濃度及び攪拌時間を検討した。各種条件を変えた際の Mo の反応率を求め、横軸に攪拌時間、縦軸に Mo 反応率を取ってプロットした結果を図 2 に示す。

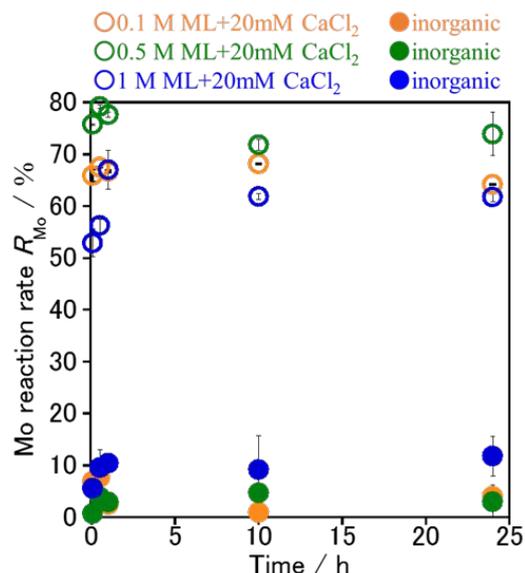


図2 リポソームの有無による粒子生成率の違い

図2は、反応前後の  $\text{CaMoO}_4$  粒子の生成率縦軸にプロットしたものを示している。まず、リポソームの有無による Mo 反応率の違いを見ると、リポソーム存在下ではいずれも攪拌時間に依らず、Mo 反応率は 50%以上となった。一方で無機条件下での Mo 反応率はいずれも 10%以下となった。 $\text{CaMoO}_4$  の溶解度積を考慮すると、いずれの条件も  $\text{CaMoO}_4$  生成に対して過飽和であったが、リポソーム存在下と比較してリポソームがない場合は反応率が著しく低下し、明らかにリポソームのテンプレート効果が見られた。

## (2) 生成物同定

各実験条件で得られた生成物の SEM 像を図 3 に示す。

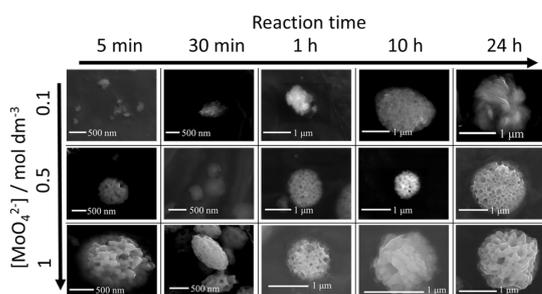


図 3 生成物の SEM 像

全体を通して、サブミクロンサイズの球状粒子やそれらが凝集したような粒子が見られた。各生成物について SEM-EDS により元素分析した結果、全て Ca と Mo のピークが検出された。さらに、SEM 像で見られた生成物 (n=60) について、SEM-EDS から得られた Ca 及び Mo を定量したところ、Ca/Mo モル比は  $1.2 \pm 0.2$  となった。また、TEM-SAED により、得られた生成物へ 3 方位 (uvw) = (-1 1 0)、(1 -1 1)、(-2 0 1) から電子を入射した際に現れた回折スポットについてそれぞれ調べ、生成物が持つ結晶面の同定を行った。Ca と Mo からなる結晶は 1 種類しか報告されていないため、SAED による解析はパウエル石の晶系に基づいて行った。TEM-SAED の結果から、生成物の回折スポットはそれぞれ (1 1 0)、(0 0 2)、(1 0 1)、(1 1 2) 面を持つことが分かり、これを粉末 X 線回折の結果と合わせると、主な回折ピークと一致した。よって、TEM-SAED の結果から、今回の実験で得られた生成物はパウエル石構造を持つ  $\text{CaMoO}_4$  であることが同定された。また、今回行った実験条件全てで同様の結果が得られた。

## (3) 生成物粒径と結晶性評価

図 3 に示した生成物 SEM 像 (封入  $\text{MoO}_4^{2-}$  濃度、時間依存性) の結果より、これらのパラメータ増加に伴い生成物の粒径が増大する傾向が見られた。次に、各生成物の粒度分布に着目し、各封入  $\text{MoO}_4^{2-}$  濃度の攪拌時間 1 時間と 24 時間の生成物に絞り、それぞれ任意に 100 個選んで作成したヒストグラムを図 21 に示す。

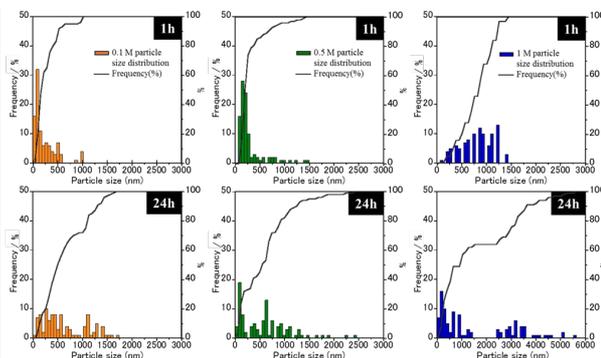


図 4 SEM 像から作成した各条件における  $\text{CaMoO}_4$  粒径分布

図 4 より、粒度分布はそれぞれ封入  $\text{MoO}_4^{2-}$  濃度と攪拌時間に依存して粒径が増大する傾向が見られた。そして、各ヒストグラムにおいて積算分布の 10%、50%、90%径 (以降  $D_{10}$ 、 $D_{50}$ 、 $D_{90}$  と記述) について、横軸に封入  $\text{MoO}_4^{2-}$  濃度、縦軸に粒径を取ってプロットしたものを図 5 に示す。

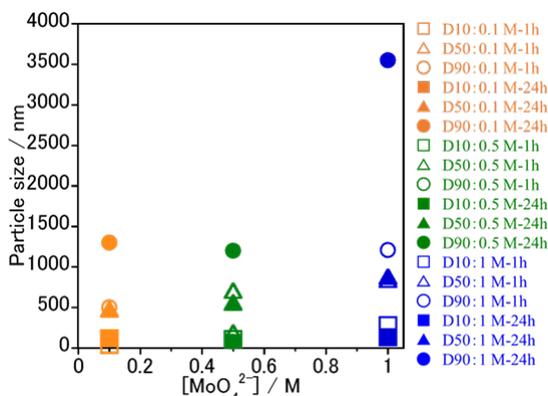


図 5 ヒストグラムから求めた  $D_{10}$ 、 $D_{50}$ 、 $D_{90}$  粒径

図 5 は、リポソーム内に封入するモリブデンの濃度および反応時間が増えるほど、生成する粒子の粒径も大きくなることを意味している。0.1 M と 0.5 M の違いは見られなかったため、以降、リポソーム内に封入するモリブデン濃度は 0.5 M に最適化した。

## (4) ML の凝集に関する液相観察

次にカルシウムイオンをリポソーム溶液に添加した際のリポソームの凝集挙動が生成物粒径に与える影響を検討した。Ca<sup>2+</sup> 添加後、反応途中の溶液を分取してゼータ電位測定及び UV-vis 測定を行った。まず、ML 溶液へ 20 mM  $\text{CaCl}_2$  溶液を添加する前後におけるゼータ電位の変化を測定した結果を図 6 へ示す。また、比較として  $\text{MoO}_4^{2-}$  を含まないリポソーム (FL) についても同様に実験を行った。この結果、いずれの ML も  $\text{CaCl}_2$  溶液添加前は  $\sim -45$  mV であったが、添加後すぐにゼータ電位がおよそ 0 mV まで上昇した。その後、経過時間によらずどの ML もゼータ電位は 0 mV のままであった。この結果を踏まえると、 $\text{CaCl}_2$  溶液を添加直後に ML

間の斥力がなくなったため、CaCl<sub>2</sub> 溶液を添加した瞬間から溶液中で ML の凝集が生じたことが予測される。

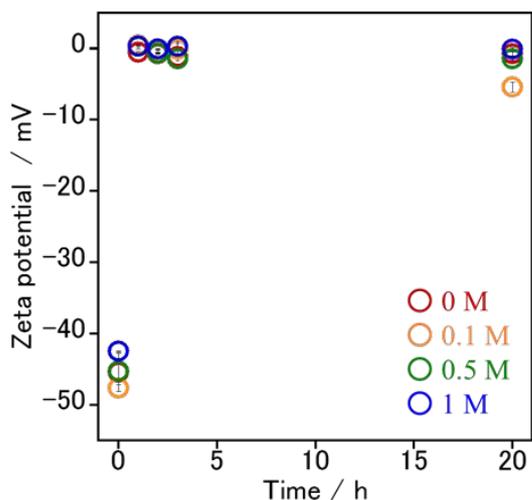


図 6 カルシウムイオン添加後のゼータ電位の時間変化

次に、ML が凝集することで沈降が生じているかを調べるため、吸光度の経時変化を UV-vis を用いて分析した。結果を図 7 に示す。

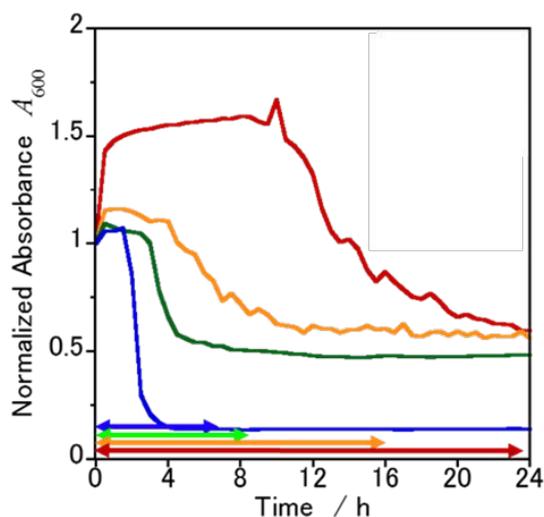


図 7 カルシウムイオン添加後の反応溶液の吸光度変化

図 7 より、20 mM CaCl<sub>2</sub> 溶液添加後、時間経過につれて吸光度が減少した。このことから、リポソーム自体が凝集・沈降していることが裏付けられた。これは、リポソーム自体が凝集するほか、CaCl<sub>2</sub> 溶液添加後にリポソーム表面で CaMoO<sub>4</sub> 粒子が生成しているため、粒子の沈降が促進したと推察される。

#### (5) 低濃度 Ca<sup>2+</sup> を添加した際の生成物の固相分析および生成メカニズムの解明

図 7 および他の実験より、カルシウムイオン濃度が低いほうが生成する粒子が小さくなることが分かった。また、反応時間は1時間を越える

と粒径が大きくなることが分かったため、これを超えない条件で実験を行った。反応中の溶液を分取して 2 %酢酸ウランウム溶液でネガティブ染色を施し TEM 観察を行った。ネガティブ染色をすることで、試料乾燥に伴う凝集等の効果を低減できる。また、ネガティブ染色した試料で見られた生成物が実際に CaMoO<sub>4</sub> であるかを確認するため、添加 CaCl<sub>2</sub> 溶液濃度 1.0 mM、攪拌時間 5 分の無染色試料及び添加 CaCl<sub>2</sub> 溶液濃度 20 mM、攪拌時間 24 時間の無染色試料に対して STEM-EDS 分析により元素マッピングを行った。無染色試料の元素分析 (STEM-EDS) 結果とネガティブ染色した試料の形態分析 (TEM 像) を相補的に用いることで CaMoO<sub>4</sub> の成長過程を調べた。まず、STEM-EDS 分析の結果を図 8 に示す。

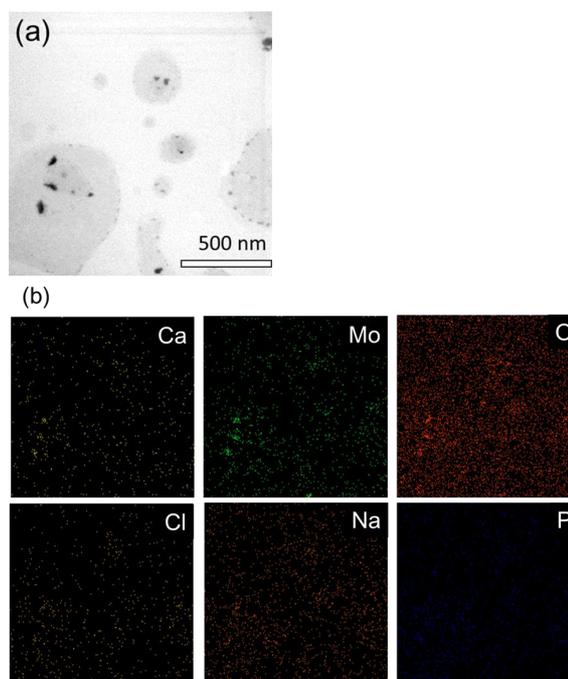


図 8 (a)無染色試料の TEM 像、(b)同視野の元素分析結果

図 8 は 1.0 mM CaCl<sub>2</sub> 溶液添加後 5 分の溶液の結果である。図 8(b)より、Ca と Mo がほぼ同じ位置に出ていることから、生成物は CaMoO<sub>4</sub> であることが確認された。一方で、リポソーム (PC) 由来と思われる P の X 線は全体的に一樣に検出された。これは、STEM-EDS 分析用の試料調製の乾燥過程において、リポソームの崩壊とともにリン脂質が全体に広がっているためと推察される。また図より副生成物である NaCl が確認された。この図より、NaCl は CaMoO<sub>4</sub> と比較して像のコントラストが強く (BF 像の場合、より黒く) 出ることが分かった。よって、ネガティブ染色において黒点で観察された生成物は NaCl、灰色の生成物を CaMoO<sub>4</sub> とした。1.0 mM CaCl<sub>2</sub> 溶液を添加後、各経過時間のネガティブ染色-TEM 像を図 9 に示す。図中、NaCl、CaMoO<sub>4</sub> を識別する例として代表的な生成物を丸で囲んでいる。

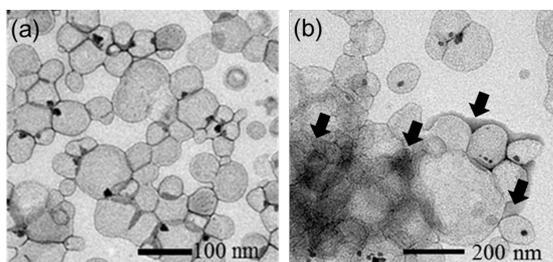


図 9 カルシウムイオンを添加した際のネガティブ染色 SEM 像 (反応時間: (a) 1 mM、5 分、(b) 20 mM、24 時間)

図 9 より、いずれの添加  $\text{CaCl}_2$  溶液濃度においても凝集したリポソーム間において  $\text{CaMoO}_4$  の生成が確認された。添加  $\text{CaCl}_2$  溶液濃度が 1.0 mM の場合、24 時間を通して  $\text{CaMoO}_4$  成長の有意な粒径変化はあまり見られなかった。一方で、 $\text{CaCl}_2$  濃度が 20 mM の場合、 $\text{CaMoO}_4$  成長の時間依存性が観察された。 $\text{CaCl}_2$  溶液添加後、経過時間 5 分では 1.0 mM のときと同様凝集した ML の間に  $\text{CaMoO}_4$  の生成が確認され、経過時間 1 時間では  $\text{CaMoO}_4$  の成長が確認された。その後、経過時間 10 時間において、ML をとりこみながら  $\text{CaMoO}_4$  が成長している像が観察された。

#### (6) 結論

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のナノ粒子を生成する手法を確立し、その条件を最適化した。カルシウムイオンを低濃度にすることでリポソームの凝集を抑え、反応時間を短くすることで数十 nm 程度の粒子を得ることが可能となった。また、この際の収率は 80% を超えており、十分な効率でナノ粒子を得ることが可能となった。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件) 全て査読有

[1] S. Yamasaki, S. Yamada, H. Takemura, K. Takehara, Electrochemical Control of Bioluminescence by Blocking the Adsorption of the Bacterial Luciferase Using a Mercaptopyridine Self-assembled Monolayer, Analytical Sciences 33(3) (2017) 307-311.

[2] S. Yamasaki, K. Tanaka, N. Kozai, T. Ohnuki, Effect of flavin compounds on uranium(VI) reduction-kinetic study using electrochemical methods with UV-vis spectroscopy, Applied Geochemistry 78 (2017) 279-286.

[3] S. Yamasaki, G. Furuki, A. Ochiai, T. Ohnuki, K. Sueki, K. Nanba, R. C. Ewing, S. Utsunomiya, Radioactive Cs in the estuary sediments near Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant, Science of the Total Environment 551 (2016) 155-162.

(学会発表) (計 5 件)

[1] リポソームをテンプレートに用いたモリブデン酸カルシウムの合成とその反応機構, 栗田 紗緒里; 山崎 信哉; 坂口 綾; 末木 啓介; 宇都宮 聡, 日本化学会第 98 春季年会 /2018-03-20--2018-03-23

[2] 球状リン脂質二重膜を用いた核医学診断用  $^{99}\text{Mo}$  材料の合成法の検討と物性評価, 栗田 紗緒里; 山崎 信哉; 落合 朝須美; 宇都宮 聡; 坂口 綾; 末木 啓介, 2017 年放射化学会年会・第 61 回放射化学討論会 /2017-09-06--2017-09-08

[3] 天然水中のヨウ素の存在状態解明に向けた電気化学的手法の基礎的検討, 山崎 信哉; 田中 万也; 本多 真紀; 末木 啓介, 2016 年度日本地球化学会年会 /2016-09-14--2016-09-16

[4] 脂質二分子膜修飾電極の電気化学的挙動に対する疎水性薬剤の影響, 甲斐 めぐみ; 山崎 信哉; 竹原 公, 日本分析化学会 第 64 年会 /2015-09-09--2015-09-11

[5] 脂質二分子膜修飾電極の電気化学的挙動に対する疎水性薬剤の影響, 甲斐 めぐみ; 山崎 信哉; 竹原 公, 第 75 回分析化学討論会 /2015-05-23--2015-05-24

(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]

ホームページ等

Google scholar (YAMASAKI Shinya)

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

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

山崎 信哉 (YAMASAKI Shinya)  
筑波大学・数理物質系化学域・助教  
研究者番号: 70610301

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

##### (4) 研究協力者

栗田 紗緒里 (KURITA Saori)