

平成21年6月26日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007 ～ 2008
 課題番号：19710098
 研究課題名（和文） 可視発光性シリコンナノ粒子の細胞と動物における安全性評価および排出機構の検討
 研究課題名（英文） Safety and excretion mechanism of visible luminescent silicon nanoparticles in cell and animal
 研究代表者
 佐藤 慶介（SATO KEISUKE）
 独立行政法人物質・材料研究機構・量子ビームセンター・NIMS ポスドク研究員
 研究者番号：70366384

研究成果の概要：シリコンナノ粒子表面に OH 基を修飾することで、分散性の高い溶液を生成した。この分散溶液に光を照射することで、粒子サイズに依存した青色から赤色までの高輝度の可視発光を得た。また、シリコンナノ粒子は、細胞内に高濃度食食させても生存率の低下がみられず、細胞レベルでの安全性を確認した。さらに、生体内にシリコンナノ粒子を投与することで、血流の状況を可視化計測することができた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	600,000	0	600,000
2008 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,200,000	180,000	1,380,000

研究分野：ナノ多機能材料創製、バイオサイエンス、応用物性、結晶工学
 科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学・ナノ材料・ナノバイオサイエンス
 キーワード：ナノ粒子、半導体、シリコンナノ粒子、可視発光、バイオ、細胞、イメージング

1. 研究開始当初の背景

現在、可視領域 [(青紫色 (波長：380nm) から赤色 (波長：730nm) の範囲)] で発光する半導体ナノ粒子材料が注目されており、ディスプレイ材料、照明材料、医療用材料、化粧品材料、衣料材料、服飾材料など幅広い分野への応用が期待されている。特に、発光性半導体ナノ粒子材料を用いた医療応用では、癌細胞と正常細胞を簡便に識別するための蛍光材料、癌細胞の転移・進行状況を標識するための蛍光材料、細胞内の異なる遺伝子やたんぱく質の挙動を確認するための蛍光材料、目的の患部に薬物を効果的かつ集中的に送り込む薬物

送達システムによる薬剤の行き先を位置検出するための蛍光材料などバイオイメージングを対象とした様々な用途での使用を目指して研究開発されている。しかし、現在医療用に研究・開発されているバイオイメージング用材料は、化合物半導体ナノ粒子である硫化カドミウムやセレン化カドミウムなどの資源が希少で、材料費が高価で、特に人体に有害な重金属元素が含まれたものを使用している。さらに、生体内での循環代謝機構においても粒子サイズが大きいため生体内導入後の排出方法に問題を抱えているものが大半である。このため、厚生労働科学研究費のプロジェクト研究

などにおいても細胞や動物レベルの実験に留まっており、実際の臨床応用には未だ多くの解決すべき課題があり、実用化への障壁が高くなっているのが現状である。

本研究課題では、バイオイメージング用材料として新規であり、人体への影響が少ないと考えられるシリコンナノ粒子の生体安全性と粒子の排出機構について調査する。

2. 研究の目的

本研究課題は、バイオイメージング用材料として新規であるシリコンナノ粒子を様々な用途での使用を可能にするために、(1) 表面修飾したシリコンナノ粒子分散溶液の製造および発光特性評価、(2) シリコンナノ粒子の毒性試験、(3) シリコンナノ粒子の生体内での挙動および発光観察、(4) シリコンナノ粒子の排出機構評価を目的としている。

3. 研究の方法

(1) 表面修飾したシリコンナノ粒子分散溶液の製造および発光特性評価

シリコンナノ粒子は、高周波スパッタリング装置と高温加熱処理により生成した。シリコンナノ粒子から得られる発光色は、酸化処理による粒子サイズの制御により調整した。生成したシリコンナノ粒子は、フッ酸蒸気中に曝すことで粒子表面を水素終端させた。その後、大気中にて粒子表面の水素をOH基に置換させた。OH基を修飾したシリコンナノ粒子は、数回純水洗浄し、超音波処理によりリン酸緩衝生理食塩水内に分散させた。発光特性は、シリコンナノ粒子分散溶液にUV光を照射し、マルチチャンネルアナライザを用いて評価した。

(2) シリコンナノ粒子の毒性試験

48時間前培養したHeLa細胞に、表面修飾したシリコンナノ粒子を 1.12×10^{-2} から1.12 mg/mlまでの濃度で添加し、48時間共培養した。細胞毒性試験は、ミトコンドリア活性から生存率を類推するMTT法を用い、共培養後の細胞を蛍光顕微鏡装置によりカウントした。

(3) シリコンナノ粒子の生体内での挙動および発光観察

表面修飾したシリコンナノ粒子をリンパ管内にシリンジにより直接投与し、シリコンナノ粒子による血流状況をUV照射による可視化計測により評価した。

(4) シリコンナノ粒子の排出機構評価

シリコンナノ粒子が流動した器官を抽出し、シリコンナノ粒子の滞留状況を評価した。

4. 研究成果

(1) 表面修飾したシリコンナノ粒子分散溶

液の製造および発光特性評価

シリコンナノ粒子の表面にOH基を修飾することで、粒子分散性の高い溶液を生成することができた。この分散溶液にUV光を照射することで、粒子サイズに依存した青色から赤色にかけての可視発光を高輝度、長寿命で得ることに成功した。また、各発光色を示すシリコンナノ粒子は、生体内を十分に循環できるサイズ(3nm以下)での製造技術を確立できた。

(2) シリコンナノ粒子の毒性試験

(1)で製造した分散溶液を用いて、HeLa細胞による毒性試験を行った。1.12mg/mlまでの粒子濃度に対して、細胞の生存率の低下は認められておらず、細胞レベルでの安全性を確認した。また、シリコンナノ粒子が貪食されたHeLa細胞に光を照射することで、可視発光を肉眼にて十分に認識することができた。

(3) シリコンナノ粒子の生体内での挙動および発光観察

(2)の毒性評価を基に、毒性を示さない濃度において、シリコンナノ粒子をリンパ管で流動させたところ、ナノ粒子からの発光により血流の状況を可視化計測することに成功した。また、シリコンナノ粒子からの発光輝度は、十分肉眼で目視できるものであった。本実験から、生体内投与による発光輝度の最適な条件設定を確立することができた。

(4) シリコンナノ粒子の排出機構評価

生体内を流動していたシリコンナノ粒子は、生体組織に付着していることが確認され、生体外への排出に問題を抱えていることが分かった。これは、シリコンナノ粒子への表面修飾の不均一さ、修飾濃度、修飾材料に関係していた。

本研究期間内での実験結果より、シリコンナノ粒子の生体安全性が明確化され、生体内での可視化計測も実現されたことから、シリコンナノ粒子の生体内イメージングへの実用性が示唆された。このことは、今後の癌医療や治療に必要な技術として広く活用されていくことが十分に見込まれることから、医療分野へのインパクトは非常に高いものと考えられる。しかし、シリコンナノ粒子が生体内の器官に付着するなどの問題が生じており、今後は、この成果を基に、表面修飾技術の確立を目指していく必要がある。

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 11 件)

- ① □K. Sato, H. Tsuji, K. Hirakuri, N. Fukata and Y. Yamauchi, Controlled chemical etching for silicon nanocrystals with wavelength-tunable photoluminescence, Chemical Communications, (in press) 査読有
- ② □K. Sato, N. Fukata and K. Hirakuri, Doping and characterization of boron atoms in nanocrystalline silicon particles, Applied Physics Letters, 94, 161902 (2009) 査読有
- ③ □K. Sato, H. Tsuji, N. Fukata, K. Hirakuri and Y. Yamauchi, Facile preparation of red luminescent silicon nanocrystals via controlled chemical etching, Chemistry Letters, 38, 558-559 (2009) 査読有
- ④ □佐藤慶介、新野一樹、深田直樹、平栗健二、シリコンナノ粒子系エレクトロルミネッセンス素子の不純物ドーピングによるキャリア注入効率向上、照明学会誌、93、307-311、2009年 査読有
- ⑤ □K. Sato, M. Hiruoka, K. Fujioka, N. Fukata, K. Hirakuri and K. Yamamoto, Toxicity effect of cancer cell labeled with visible luminescent nanocrystalline silicon particles and visualization observation in vivo, Materials Research Society Symposium Proceedings, 1145, 1145-MM04-23 (2009) 査読有
- ⑥ □K. Fujioka, M. Hiruoka, K. Sato, N. Manabe, R. Miyasaka, S. Hanada, A. Hoshino, R. D. Tilley, Y. Manome, K. Hirakuri and K. Yamamoto, Luminescent passive-oxidated silicon quantum dots as biological staining labels and their cytotoxicity effects at high concentration, Nanotechnology, 19, 415102 (2008) 査読有
- ⑦ □K. Sato, N. Kishimoto and K. Hirakuri, Enhancement of electroluminescent properties in ethanol dispersible nanocrystalline silicon particles, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 8, 374-378 (2008) 査読有
- ⑧ □K. Sato, N. Kishimoto and K. Hirakuri, White luminescence from silica glass containing red/green/blue luminescent nanocrystalline silicon particles, Journal of Applied Physics, 102, 104305 (2007) 査読有
- ⑨ □M. Hiruoka, K. Sato and K. Hirakuri, Correlation between surface

composition and luminescence of nanocrystalline silicon particles dispersed in pure water, Journal of Applied Physics, 102, 024308 (2007) 査読有

- ⑩ □K. Sato, N. Kishimoto, T. Oku and K. Hirakuri, Improvement of luminescence degradation in pure water of nanocrystalline silicon particles covered by a hydrogenated amorphous carbon layer, Journal of Applied Physics, 102, 014302 (2007) 査読有
- ⑪ □K. Sato, S. Yanagisawa, A. Funakubo, Y. Fukui, K. Hirakuri and T. Higami, Biological properties of nanocrystalline silicon particles for biomedical applications, Materials Research Society Symposium Proceedings, 958, 263-268 (2007) 査読有

〔学会発表〕 (計 10 件)

- ① K. Sato, Silicon nanoparticles as fluorescent labeling of living cells, MANA International Symposium 2009, 2009年2月26日, Ibaraki, Japan
- ② K. Sato, N. Fukata, M. Hiruoka, K. Hirakuri, K. Fujioka and K. Yamamoto, Toxicity effect of cancer cell labeled with visible luminescent nanocrystalline silicon particles and visualization observation in vivo, Materials Research Society 2008 Fall Meeting, 2008年12月1日, Boston, USA
- ③ K. Sato and K. Hirakuri, Annealing behavior on luminescent color from nanocrystalline silicon particles, The Sixth Pacific Rim International Conference on Advanced Materials and Processing, 2007年11月9日, Jeju, Korea
- ④ 佐藤慶介、新規機能性を付加したシリコンナノ粒子の各種デバイス応用、明治大学先端半導体ワークショップ、2007年10月6日、神奈川 (招待講演)
- ⑤ K. Sato and K. Hirakuri, Luminescent state evaluation of nanocrystalline silicon particles studied by light-irradiated ESR method, 11th International Conference on Defects-Recognition, Imaging and Physics in Semiconductors, 2007年9月11日, Berlin, Germany
- ⑥ 佐藤慶介、昼岡正樹、平栗健二、藤岡宏樹、山本健二、樋上哲哉、可視発光機能性シリコンナノ粒子の細胞毒性試験および生体内動態観察、第68回秋季応用物理

学会学術講演会、2007年9月6日、北海道

- ⑦ K. Sato, M. Hiruoka and K. Hirakuri, Stable luminescence in pure water from carbon passivated nanocrystalline silicon particles, 11th International Conference on the Formation of Semiconductor Interfaces, 2007年8月21日, Manaus, Brazil
- ⑧ K. Sato, M. Hiruoka and K. Hirakuri, Application of solution dispersible nanocrystalline silicon particles to various optical devices, Fifteenth International Conference on Composites/Nano Engineering, 2007年7月20日, Haikou, China (招待講演)
- ⑨ K. Sato, M. Hiruoka and K. Hirakuri, Effect of surface composition on luminescent property from nanocrystalline silicon particles immersed in pure water, International Conference on Nano Science and Technology 2007, 2007年7月3日, Stockholm, Sweden
- ⑩ 佐藤慶介、昼岡正樹、平栗健二、舟久保昭夫、福井康裕、藤岡宏樹、山本健二、樋上哲哉、可視発光機能性シリコンナノ粒子の生体安全性および生体内流動性試験、ナノ学会第5回大会、2007年5月22日、茨城

[図書] (計5件)

- ① 佐藤慶介、丸善株式会社、第3版現代界面コロイド化学の基礎、2009年、153-155
- ② 佐藤慶介、平栗健二、日本工業出版、光アライアンス、2009年、33-37
- ③ 佐藤慶介、工業調査会、電子材料、2008年81-85
- ④ 佐藤慶介、シーエムシー出版、量子ドットの生命科学領域への応用、2007年、74-88
- ⑤ 佐藤慶介、日本工業出版、クリーンテクノロジー、2007年、27-30

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称：ドライプロセス装置
発明者：佐藤慶介、深田直樹
権利者：独立行政法人物質・材料研究機構
種類：特許権
番号：特願2009-007329
出願年月日：2009年1月16日
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 慶介 (SATO KEISUKE)
独立行政法人物質・材料研究機構・量子
ビームセンター・NIMS ポスドク研究員
研究者番号：70366384

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし