

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26750165

研究課題名(和文) その場での血中薬物モニタリングに向けた涙液のラマン測定システムの開発

研究課題名(英文) Development of therapeutic drug monitoring system based on paper-based Raman spectroscopy

研究代表者

西村 隆宏 (Nishimura, Takahiro)

大阪大学・情報科学研究科・助教

研究者番号：10722829

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)：患者のいるその場で行える治療薬物モニタリング(TDM)は、安全で効果的な薬物治療のために有用である。本研究では、採血不要で迅速なTDMを目指し、涙液のラマン分光によるTDMシステムを提案する。涙液採取とラマン散乱測定用の基板として紙を利用する。これにより、極めて低侵襲にサンプルを採取し、容易で安価にTDMを実現できる。紙へ金ナノロッドを吸着させた基板を作製した。これにより、人工涙液中の薬物のラマン散乱光が増強されることを確認した。基板の作成が簡易かつ安価であり、測定には複雑な前処理を必要としないことから、オンサイトでのTDMにおける有効性を示した。

研究成果の概要(英文)：Therapeutic drug monitoring (TDM) that can be performed near the patient is helpful for safe and effective pharmacotherapy. This study aims to realize rapid TDM that does not require blood sampling. For this purpose, paper-based Raman spectroscopy of tear fluid is proposed for on-site TDM. The paper substrates are used for tear sample collection and measurement. The use of paper offers a minimally invasive, simple, and inexpensive method for therapeutic drug monitoring. As a prototype demonstration, paper-based SERS substrates were fabricated with filter papers and gold nanorods. Experimental results show that the Raman signals of a target therapeutic drug in artificial tear fluid were enhanced with the fabricated substrates. This indicates that the proposed approach is led to on-site TDM.

研究分野：情報フォトンクス

キーワード：POCT ラマン分光 薬物モニタリング

1. 研究開始当初の背景

薬物治療において、薬効、副作用、服用状態などを正確に把握するために、血中薬物濃度が重要となる。高齢化や在宅医療の重要性の高まりにより、病院だけでなく家庭や介護現場で利用可能な血中薬物濃度モニタリングの需要が予想される。しかし、測定には採血が必要となり、患者の苦痛や感染の危険性を伴う。また、病院だけではなく、家庭や介護現場においても薬物治療は行われる。そこで、低侵襲かつ特別な手技を必要としない、その場での血中薬物モニタリング手法が必要と考えられる。

薬物動態学的に、涙液中と血液中の薬物濃度に相関関係があることが示されている[S. Sato: Drug Metabolism and Pharmacokinetics (2007)]. また、低侵襲に採取可能であることから、涙液は血中薬物モニタリングにおける優れた検体となることが示唆されている[M. Nakajima: Therapeutic Drugs Monitoring (2000)]. 涙液などの微量な検体を低コストで扱う手法として、ペーパーマイクロ流路技術が有用である[A. W. Martinez: PNAS (2008) 他]. 紙の毛細管現象を利用することにより、外部からの駆動力や操作を必要としない検体の採取・輸送・分画が可能となる。検体の同定・定量には、染色などの前処理が不要で対象分子の信号取得できるラマン分光法が有効である。また、ナノ構造を用いた表面増強ラマン散乱によってシグナルを増強すれば、ラベルフリーで微量な対象分子の定量が可能である。これらの技術の統合により、採血なしで、低侵襲な検体採取により、トレーニングフリーで、安価でかつ汎用的な血中薬物モニタリングの実現が期待できる。

2. 研究の目的

上記背景を基に、本研究では、涙液のラマン分光による血中薬物モニタリングシステムを開発し、提案手法の有用性を明らかにすることを目的とする。具体的な目的は、(1) 紙ベース基板を利用した表面増強ラマン分光(SERS)による薬物同定・濃度定量、(2) 涙液の採取・対象薬物の分画・表面増強ラマン測定を可能にする紙デバイス、(3) ラマン信号検出装置の小型化に向けた回折光学素子などの基盤技術を開発することである。

3. 研究の方法

(1) 紙ベース基板を利用した SERS による薬物同定・濃度定量

金ナノ粒子を吸着させた紙ベース基板を作製して、溶液に含まれる微量薬物が SERS により同定・定量できることを実証する。SERS は微量検体の検出において有用であるが、測定用基板が高価であるため、医療現場や在宅での日常的な診断・検診などへの

応用は困難であると考えられる。紙ベース基板での SERS により、低コストでの測定可能性を示し、この課題を解決する。また、取得したスペクトルの解析により、汎用的に薬物検出へ利用できることを示し、特異的な免疫反応などを利用した市販簡易キットに対する優位性を明らかにする。

(2) 涙液の採取・対象薬物の分画・表面増強ラマン測定を可能にする紙デバイス

紙の毛細管現象を利用し、外部からの駆動力や操作を必要としない、涙液採取、薬物と不要物を分画するマイクロ流路を検討する。これにより、涙液中に含まれる脂質やタンパク質などを除去し、薬物定量の精度の向上を図る。

(3) ラマン信号検出装置の小型化に向けた回折光学素子

本手法による、その場測定の実現には、高価なラマン分光測定装置も、各現場において利用可能にしなければならない。そのために、レンズ機能と分光機能を併せ持つ回折光学素子を、薬物のラマンスペクトルに対応して、検討する。

4. 研究成果

セルロース紙に金ナノロッドを吸着させ、紙製 SERS 基板 (PSERS) を作製した (図 1)。SEM による観察から、セルロース上に均一に金ナノ粒子が吸着していることを確認にした。PSERS の増強効果と検出限界を明らかにするため、てんかん薬として利用されるフェノバルビタールナトリウム (PB) 水溶液を測定した。同濃度の PB 溶液を測定した際の、紙のみと PSERS のラマンスペクトルを図 2 に示す。紙のみによるラマン分光測定に比べ感度が向上することが示された (紙: ≥ 100 mM, PSERS: ≥ 1 mM)。ヒト涙液には、タンパク質をはじめ様々な不純物が含まれており、それらと分離して薬物を検出することが必要となる。ヒト涙液に成分を模した擬似涙液を作製して溶媒とし、PSERS を用いてフェノバルビタールの測定を行ったところ、水溶液中と同様に 1 mM まで PB のピークが観察され、涙液中薬物分析への適用可能性が示された。PSERS は低コストかつ簡易に作製でき、臨床における実用が期待できる。しかし、血中薬物濃度が有効域内であるときに期待される濃度の検出感度は達成されていない。本研究で用いた測定系では、励起波長や金ナノ粒子構造の設計の最適化がされていないため、今後の測定感度の向上は可能と考えられる。

涙液採取は、臨床利用されているシルマー試験紙と同様に、涙液採取部を結膜嚢へ入れて毛細管現象を利用して行うことを想定している。そこで、さらなる感度向上をめざし、紙や紙へプリントした物質との相互作用の違いを利用し、ペーパークロマトグラフィー

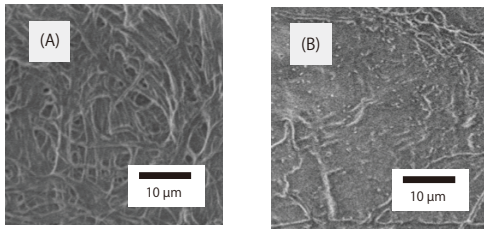


図1: (A)セルロース紙と(B)金ナノ粒子吸着セルロース基板(PSERS)のSEM像. ほぼ一様に金ナノ粒子が吸着した.

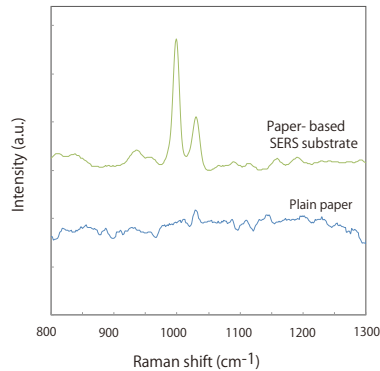


図2: 紙(Plain paper)のみとPSERSのラマンスペクトル

に基づく分画手法を検討した. その場測定の実現には, 高価なラマン分光測定装置も, 各現場において利用可能にしなければならない. ラマン分光測定には, 波長分解能を得るために, 分光部が大きくなる. そこで, 回折光学素子や散乱物体を用いたラマンの設計技術をもとに, 検討した.

PSERSに基づく本手法は, 基板の作成が簡易かつ安価であり, また, 測定には複雑な前処理を必要とせず, 今後は測定時間の短縮も期待できる. さらに, 用いる分光器も小型かつ軽量である. このことから, 本手法は, ベッドサイドでの検査に求められる, 経済性, 迅速性, 持ち運びのしやすさという特性を持ち合わせているといえる. 今後, 薬物への特異性, 感度, 精度を向上させることにより, 病室, 在宅, 介護施設等あらゆる状況で実施できる薬物レベル検査手法の実現が期待される.

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2件)

① 横山萌恵, 西村隆宏, 山田憲嗣, 丁憲勇, 木戸倫子, 櫻井芳昭, 大野ゆう子, ポイントオブケア治療薬物モニタリングに向けた紙製基板を用いた涙液ラマン分光の可能性, 看護理工学会誌, 査読有, 2巻, 2015, 1号, pp. 25-31.

② 西村隆宏, 藤井亮, 小倉裕介, 谷田純, Optically controllable molecular logic circuits, Applied Physics Letters, 査読有, 107巻, 2015, pp. 013701-10.1063/1.4926361.

[学会発表] (計6件)

① Moe Yokoyama, Takahiro Nishimura, Kenji Yamada, Michiko Kido, Yoshiaki Sakurai, Daiki Mita, Yoshinori Yamaguchi, Eiichi Tamiya, Toshiaki Nagakura, Yuko Ohno, Paper-based Raman spectroscopy for on-site therapeutic drug monitoring, 2014 World Automation Congress, Hawaii, USA, 2014年8月5日.

② Moe Yokoyama, Takahiro Nishimura, Kenji Yamada, Yuko Ohno, Paper-based Raman spectroscopy for on-site therapeutic drug monitoring, IEEE EMBS Special Topic Conference on Healthcare Innovation & Point-of-Care Technologies (HIC-POCT 2014), Seattle, Washington, USA, 2014年10月9日

③ Moe Yokoyama, Kenji Yamada, Takahiro Nishimura, Michiko Kido, Hieyong Jeong, Yuko Ohno, Raman spectroscopy of tear fluid with paper substrate for Point-of-care therapeutic drug monitoring, SPIE Photonics West 2015, San Francisco, USA, 2015年2月9日.

④ Kenji Yamada, Moe Yokoyama, Takahiro Nishimura, Paper-based surfaced enhanced Raman spectroscopy for drug level testing with tear fluid, European Conferences on Biomedical Optics 2015, Munich, Germany, 2015年6月23日.

⑤ Hitoshi Kimura, Takahiro Nishimura, Yusuke Ogura, and Jun Tanida, Bayesian-based PSF decomposition of fluorescence coded images for super-resolution fluorescence imaging, The 5th Japan-Korea Workshop on Digital Holography and Information Photonics, Gangneung, Korea, 2015年9月17日.

⑥ Takahiro Nishimura, Atsushi Onishi, Yusuke Ogura, and Jun Tanida, Development of photothermal actuator for fluorescence resonance energy transfer based nanorobot, SPIE/OSJ Biophotonics Japan, Tokyo, Japan, 2015年10月28日.

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西村隆宏 (NISHIMURA, Takahiro)
大阪大学・大学院情報科学研究科・特任助
教
研究者番号：10722829