

整理番号	H26-J-028	報告者氏名	多賀谷 基博
------	-----------	-------	--------

研究課題名

「超早期がん診断・治療を目指した希土類イオン含有メソ多孔質アパタイト粒子の創製」

<代表研究者> 機関名： 国立大学法人 長岡技術科学大学 職名： 産学融合特任准教授  
氏名： 多賀谷 基博

<共同研究者> 機関名： 職名： 氏名：  
機関名： 職名： 氏名：  
機関名： 職名： 氏名：  
機関名： 職名： 氏名：

<研究内容・成果等の要約>

増殖・転移の遅い段階の「超早期」腫瘍を、生体親和性の高い発光材料によって細胞レベルで高感度に検出する診断技術が求められている。本研究では、生体親和性および発光効率の高いナノ粒子を創製し、細胞レベルで腫瘍部位を特定するイメージング技術を研究した。具体的には、発光種として生体毒性の低いユウロピウムイオン (Eu(III)) または色素を用いて、発光種表面でアパタイトの核形成を誘起し、界面活性剤を添加することによって多孔質化する研究を行った。その結果、生体親和性の高い色素分子の末端基を核形成場とした水酸アパタイト(又は酸化チタン)の色素/無機ハイブリッドナノ粒子を新規に創製する技術の世界で初めて見出した。クロロフィル/水酸アパタイトハイブリッドナノ粒子創製を例にとれば、クロロフィル色素 (Chl) の中心金属イオンを核形成場とした Chl - アパタイト複合形成メカニズム (Chl - アパタイト間の静電相互作用と Chl - Chl間の疎水性相互作用の微妙なバランス) を解明した。その知見によって、粒成長と発光特性(励起波長・発光スペクトル形状・発光効率)を自在に制御する手法を見出した。さらに、ハイブリッドナノ粒子表面へがん細胞に対して特異的に結合・取込まれるリガンド分子を化学修飾する技術を確立した。創製したナノ粒子は、生体毒性がなく、低エネルギー励起光(波長450 nm以上の長波長領域)で発光するため、生体組織の劣化を軽減できる。さらに、腫瘍部位(サイズ: 2 mm以下)へ生体毒性なく効率的に結合・取込まれ、蛍光顕微鏡によって容易に観察された。以上により、本研究の生体親和性発光メソ多孔質アパタイト粒子創製によって「細胞にやさしく高感度で微小な腫瘍を検出できる技術」が確立し、非侵襲がん診断技術を確立した。今後、がんの超早期予防・診断医療技術への実用展開を行い、日本国の医療・バイオ分野へ大きく貢献する。

## &lt; 研究発表(口頭、ポスター、誌上別) &gt;

**口頭発表(12件)****口頭発表1：国内招待講演(1件)**

1. 多賀谷 基博(国内)「構造を特徴とする複合材料作製技術と異種接合界面機能化」[発表番号: 3] 長岡技術科学大学・新潟工科大学 新技術説明会、2015年5月26日(JST 東京本部別館ホール(東京都 市ヶ谷))

**口頭発表2：国内・一般講演(8件)**

1. Sarita Morakul, Yuichi Otsuka, Kiyoshi Ohnuma, Motohiro Tagaya, Satoshi Motozuka, Yukio Miyashita, Yoshiharu Mutoh 「Characterization on Fluorescence complex of HAp with amino acid and its cytotoxicity」[発表番号: W-15] 第4回日本バイオマテリアル学会北陸若手研究発表会、2015年11月30日(石川県能美市 北陸先端科学技術大学石川ハイテク交流センター)
2. 小林 幸平、山口 正、多賀谷 基博「擬似体液におけるシリカメソ構造体膜の反応挙動の評価」[発表番号: W-05] 第4回日本バイオマテリアル学会北陸若手研究発表会、2015年11月30日(石川県能美市 北陸先端科学技術大学石川ハイテク交流センター)
3. 本塚 智、池田 智也、多賀谷 基博、森永正彦「粉碎による鉄粒子中の結晶方位の制御」[発表番号: 322、要旨集p. 887]日本鉄鋼協会 第170回秋季講演大会、2015年9月16日-18日(九州大学 伊都キャンパス、12会場)
4. 本塚 智、加藤 寛之、石黒 建佑、鎌土 重晴、佐々木 泰祐、多賀谷 基博、許 哲峰、森永 正彦「DV-X 法によるマグネシウム合金中の析出物形状と成長方位の予測」[発表番号: Oral-5] 第28回DV-X $\alpha$ 研究会、2015年8月5日(山形大学 小白川キャンパス)
5. 許 哲峰、八木 祐樹、小西 卓磨、崔 龍範、松木 一弘、末次 憲一郎、本塚 智、多賀谷 基博「Bi系高温はんだ合金の設計と開発」[発表番号: 373] 日本金属学会 2015年 春期講演大会、2015年3月18日(東京都 東京大学駒場キャンパス)
6. 五十嵐 侑、多賀谷 基博、小林 高臣「シリカメソ構造体膜の骨芽細胞培養基材への応用」群馬高専—長岡技術科学大 物質・材料系 ジョイントシンポジウム、2015年3月5日(新潟県 長岡技術科学大学)
7. 松矢武彦、大塚雄市、本塚智、多賀谷基博、大沼清、宮下幸雄、武藤達治「冷間等方加圧法により作製した水酸アパタイト複合皮膜の抗菌性評価」[発表番号: 1D22] 日本機械学会 第27回バイオエンジニアリング講演会、2015年1月8日-1月9日(新潟県 朱鷺メッセ)
8. 山口 正、多賀谷 基博、小林 高臣「アパタイト被覆リン脂質ベシクルの骨芽細胞培養特性へ及ぼす効果」[セッション(3)、第23回アパタイト研究会講演要旨集: pp.46-pp.47] 第23回 日本アパタイト研究会、2014年12月11-12日(富山県 富山県民共生センター「サンフォルテ」3F)

**口頭発表3：国際会議・一般講演(3件)**

1. Takehiko Matsuya, Yuichi Otsuka, Kiyoshi Ohnuma, Motohiro Tagaya, Sarita Morakul, Satoshi Motozuka, Yukio Miyashita, Yoshiharu Mutoh “Antibacterial evaluation of composite coating of hydroxyapatite/8-hydroxyquinoline with photocatalyst by visible light irradiation.” [Session 12: Biomedical Devices II, 発表番号: O.078] 6th International Conference on Mechanics of Biomaterials and Tissues, 6-10 December 2015 (Waikoloa, Hawaii, USA).
2. Motohiro Tagaya “Nanobiomaterial-Based Interfaces Toward Cell Therapeutics.” [Session S: Safety Society & Technology, 発表番号: SO-7] The 4th International GIGAKU Conference in Nagaoka (IGCN2015), 2015年6月19-21日(Nagaoka, Niigata, Japan).
3. Takehiko Matsuya, Yuichi Otsuka, Kiyoshi Ohnuma, Motohiro Tagaya, Sarita Morakul, Satoshi Motozuka, Yukio Miyashita, Yoshiharu Mutoh “Antibacterial Evaluation of Composite Coating of Hydroxyapatite/8-Hydroxyquinoline With Photocatalyst by Visible Light Irradiation.” [Session S: Safety Society & Technology, 発表番号: SO-9] The 4th International GIGAKU Conference in Nagaoka (IGCN2015), 2015年6月19-21日(Nagaoka, Niigata, Japan).

**ポスター発表(9件)****ポスター発表1：国内・一般講演(6件)**

1. 池田 智也、本塚 智、多賀谷 基博、森永 正彦「粉碎で鉄粒子に形成された集合組織に対する熱処理の影響」[発表番号: PS-30] 日本鉄鋼協会 第170回秋季講演大会、2015年9月16日-18日(九州大学 伊都キャンパス)
2. 小林 幸平、柴 弘太、本塚 智、多賀谷 基博「シリカメソ構造体膜における細孔間距離の制御」[学生ポスター講演(1)]公益社団法人日本セラミックス協会 第1回ナノバイオセラミックスによる細胞機能制御テクノロジー研究会、2015年8月21日(新潟県長岡市 アオーレ長岡 市民ホールD)
3. 片岡 卓也、本塚 智、柴 弘太、大沼 清、大塚 雄市、許 哲峰、多賀谷 基博「界面活性剤を用いた水酸アパタイト合成技術の開発」[学生ポスター講演(3)] 公益社団法人日本セラミックス協会 第1回ナノバイオセラミックスによる細胞機能制御テクノロジー研究会、2015年8月21日(新潟県長岡市 アオーレ長岡 市民ホールD)

4. 片岡 卓也, 柴 弘太, 本塚 智, 小川 展弘, 山口 正, 大沼 清, 大塚 雄市, 許 哲峰, 多賀谷 基博「陽イオン界面活性剤ミセルによる水酸アパタイトの核形成 / 成長制御と DV-X $\alpha$  計算による界面相互作用解析」[ポスター発表, 発表番号: Poster-22] 第 28 回 DV-X $\alpha$  研究会, 2015 年 8 月 5-6 日 (山形大学 小白川キャンパス)
5. 山口 正, 本塚 智, 柴 弘太, 許 哲峰, 大塚 雄市, 大沼 清, 多賀谷 基博「水酸アパタイトナノ結晶合成におけるカチオン性界面活性剤の共存効果」[ポスター発表, 発表番号: 1P089] 日本セラミックス協会 2015 年年会, 2015 年 3 月 18 日 (岡山大学 津島キャンパス)
6. 山口 正, 小林 高臣, 多賀谷 基博「リン脂質ベシクル表面へのリン酸カルシウム化合物の形成」[ポスター発表, 発表番号: 1P090] 日本セラミックス協会 2015 年年会, 2015 年 3 月 18 日 (岡山大学 津島キャンパス)

#### ポスター発表 2 : 国際会議・一般講演 (3 件)

1. Satoshi Motozuka, Shigeharu Kamado, Taisuke Sasaki, Xu Zhefeng, Motohiro Tagaya, Masahiko Morinaga “An Electronic Approach to the Prediction of Precipitate Morphology in Magnesium Alloys.” [Session M: Material Design, 発表番号: MO-11] The 4th International GIGAKU Conference in Nagaoka (IGCN2015), 2015 年 6 月 19-21 日(Nagaoka, Niigata, Japan).
2. Kota Shiba, Takako Sugiyama, Genki Yoshikawa, Motohiro Tagaya [発表番号: PIR-20] “Synthesis of Monodispersed Titania-based Luminescent Nanoparticles for Bio-medical Applications.” MANA International Symposium 2015, 2015 年 3 月 11 日 (Tsukuba International Congress Center, Ibaraki, Japan).
3. Tania Peñafior, Tadashi Yamaguchi, Takaomi Kobayashi, Motohiro Tagaya [発表番号: PM-31] “Synthesis of Zinc-Containing Hydroxyapatite Nanocrystals towards Catheter Surface Modification” MANA International Symposium 2015, 2015 年 3 月 11 日 (Tsukuba International Congress Center, Ibaraki, Japan).

#### 誌上発表 (13 報)

##### 誌上 1 : 学術論文誌 (7 報)

1. Takehiko Matsuya, Yuichi Otsuka, Motohiro Tagaya, Satoshi Motozuka, Kiyoshi Ohnuma, Yoshiharu Mutoh “Formation of Stacked Luminescent Complex of 8-hydroxyquinoline Molecules on Hydroxyapatite Coating by Using Cold Isostatic Pressing” *Materials Science & Engineering, C: Materials for Biological Applications*, 58, 127-132 (2016).
2. Motohiro Tagaya, Kouhei Kobayashi, Masami Nishikawa “Additive Effect of Phosphoric Acid on Phosphorus-containing Mesoporous Silica Film Formation.” *Materials Letters*, 164, 651-654 (2016).
3. Kota Shita; Motohiro Tagaya, Takako Sugiyama; Nobutaka Hanagata “Preparation of Luminescent Titania/Dye Hybrid Nanoparticles and Their Dissolution Properties for Controlling Cellular Environments.” *RSC Advances*, 5, 104343-104353 (2015)
4. Tania Guadalupe Peñafior Galindo, Takuya Kataoka, Motohiro Tagaya “Morphosynthesis of Zn-substituted Stoichiometric and Carbonate Hydroxyapatite Nanoparticles and Their Cytotoxicity in Fibroblasts.” *Journal of Nanomaterials*, Volume 2015, Article ID: 376045, 8 pages (2015).
5. Satoshi Motozuka; Motohiro Tagaya; Masahiko Morinaga “Texture Formation in Iron Particles Using Mechanical Milling with Graphite as a Milling Aid” *AIP Advances* 5, 097127, 097127/1-097127/8 (2015).
6. Kai Li; Minoru Satoh; Motohiro Tagaya; Takaomi Kobayashi, “Coprecipitated Removal of Cu<sup>2+</sup> Using Dextran in Cationic Porphyrin Aqueous Solution.” *Sensors and Materials*, 27, 899-906 (2015).
7. Prasit Pattanawat, Motohiro Tagaya, Takaomi Kobayashi “A Novel Highly Sensitive Humidity Sensor Based on Poly(Pyrrrole-CO-Formyl Pyrrole) Copolymer Film: AC and DC Impedance Analysis.” *Sensors and Actuators B: Chemical*, 209, 186-193 (2015).

##### 誌上 2 : 書籍 (2 冊)

1. 多賀谷 基博, 柴 弘太, 第 9 章「シランカップリング剤による微細構造形成技術」・第 2 節「マイクロパターン構造形成プロセスにおけるシランカップリング剤の活用と機能」, 書籍名『シランカップリング剤の調整・処理条件事例集』, 株式会社 技術情報協会, 金原 繁 監修, 印刷中 (発刊予定日: 平成 28 年 1 月末日) (2016).
2. 田中 順三, 生駒 俊之, 編著, 田中 順三, 生駒 俊之, 伊藤 博, 芹澤 武, 早乙女 進一, 花方 信孝, 吉岡 朋彦, 澤田 敏樹, 多賀谷 基博「ナノバイオとナノメディシン —医療応用のための材料と分子生物学—」, 株式会社 コロナ社, 第 4 章「生体組織を再生するナノバイオニクス」, pp 159-203 (2015).

##### 誌上 3 : 総説・解説 (4 報)

1. Motohiro Tagaya “In Situ QCM-D Study of the Nano-Bio Interfaces with Enhanced Biocompatibility.” *Polymer Journal*, vol. 47, No. 9, pp. 599-608.
2. 柴 弘太, 多賀谷 基博「ナノバイオニクスを切り拓くシリカおよびチタニアナノ粒子技術」, ケミカルエンジニアリング, 化学工業社, Vol. 11, No.3, pp.61-66 (2015).
3. 多賀谷 基博, 柴 弘太「細胞機能活性化材料研究の新潮流」, 高分子学会 超分子研究会アニュアルレビュー, 社団法人 高分子学会, Vol. 2014, No.35, pp.4-5 (2015).
4. 多賀谷 基博, 柴 弘太「バイオセンシングに向けた基板表面の膜構築技術の新展開」, 月刊コンバーテック, (株) 加工技術研究会, Vol. 17, No. 9 (9 月号 (2015 年 9 月 15 日発行)), pp. 59-61 (2015).

< 研究の目的、経過、結果、考察（5000字程度、中間報告は2000字程度） >

## 研究の目的

従来の診断技術で見つかった腫瘍は外科手術によって完全に摘出できない場合があり、結果として再発・転移する。そのため、増殖・転移の遅い超早期診断において、細胞レベルで腫瘍を高感度に検出する診断技術が求められている。細胞のがん化において、見掛けの形態変化が起こる前に分子レベルの活動変化が起こる。例えば、がん細胞は正常細胞に比べて大量にブドウ糖を消費し、HER2 レセプターを発現する (*Lancet* 1, 36 (1985) ; *Nature Protocols* 2, 753 (2007))。同時に、細胞膜上に葉酸受容体が過剰に発現し、葉酸分子を特異的に結合・吸収する (*Cancer Res* 65, 5317 (2005))。そのため、がん細胞の分子レベルの変化に着目し、その活動を高感度に検出して画像化できれば、超早期診断の実現が可能となる。

形態変化のない超早期の腫瘍を細胞レベルで高精度に映し出すイメージング技術は、細胞特異性と生体親和性の高い発光材料の創製が基盤となっている。従来のイメージング材料として、有機色素 (*Nature Medicine* 15, 104 (2009)) および量子ドット (*Science* 281, 2016 (1998)) 等が報告されている。しかし、有機色素は退色・劣化速度が速いため観察感が低く、紫外線励起の光毒性が問題である。一方、量子ドットは材料成分として生体毒性の高い Cd・Hg を含んでいる点が問題である。そのため、生体・細胞親和性が高く、且つ、発光効率・耐光性の高い材料創製が望まれていた。

生体内・外で非侵襲にがん細胞を効率よく検出することを目的とし、生体親和性および発光効率の高いナノ粒子を創製し、細胞レベルで腫瘍部位を特定するイメージング技術を研究した。具体的に、発光種として、希土類イオン (Eu (III) イオン) またはクロロフィル色素 (Chl) を添加した炭酸アパタイトナノ粒子、及びフルオレセイン (FS) を添加したチタニアナノ粒子の2種の材料の合成法を創出した。さらに、がん細胞へ特異的に結合・取込まれる分子を各種ナノ粒子表面へ化学修飾する技術開発を行い、がん細胞へのナノ粒子の結合・取込挙動を考察した。以下には、クロロフィル色素 (Chl) を添加した炭酸アパタイトナノ粒子、及び、フルオレセイン (FS) を添加したチタニアナノ粒子の2種類のナノ粒子について報告する。

## 研究の経過

### (1) クロロフィル (Chl) / 炭酸アパタイト複合ナノ粒子の創製

湿式法により、Chl 含有の炭酸アパタイトナノ粒子を合成した。Chl の中心金属イオン種、合成温度、及び Chl 添加量などの合成条件を制御し、ナノサイズの粒子を創製した。結晶中に存在する Chl の存在状態と発光特性の関係を計測・解明し、バイオイメージングに最適な発光特性 (低エネルギー励起・鋭い発光スペクトル・高い発光効率) をもつナノ粒子を創出した。合成した試料は、粉末 X 線回折、走査型電子顕微鏡、赤外・ラマンスペクトル、熱分析装置、及び発光スペクトルにより評価した。

### (2) フルオレセイン (FS) / チタニア複合ナノ粒子の創製

チタニウムイソプロポキシド (TTIP)、FS、3-アミノプロピルトリエトキシシラン (APTES) の混合溶液場を作製し (図1)、TTIP と APTES の加水分解と共縮重合によって FS を核形成場とした核形成反応を見出した。FS/Ti モル比は、1/1000、1/500、1/100 とした。そして、オクタデシルアミン (ODA) を添加し、粒成長の制御を行った。得られた FS 含有チタニア粒子は、褐色であった。

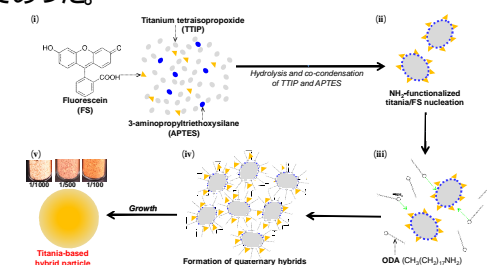


図1 FS 含有チタニアナノ粒子の創製スキーム。

### (3) がん細胞結合性分子修飾と特異的結合・取込挙動の解明

(1)と(2)で得たナノ粒子表面に対して、アミノシランを介して細胞結合性分子を修飾・固定化した。細胞結合性分子として、葉酸受容体を標的とした葉酸分子 (FA) および HER2 を標的とした HER2 抗体を用いた。表面修飾技術については、液相反応により APTES をナノ粒子表面へ化学吸着させ、最表面へアミノ基を形成させた。次いで、アミノ基と細胞結合性分子内のカルボン酸の脱水縮合反応 ( $-NH_2 + HOOC - \rightarrow -NH - CO -$ ) により、細胞結合性分子をナノ粒子表面へ共有結合を介して形成させた。さらに、化学修飾したナノ粒子を用いて、蛍光顕微鏡と蛍光強度測定により、HELA がん細胞表面へ特異的な結合・取込特性を計測・解明し、イメージングに最適な材料を創製した。

## 研究の結果と考察

### (1) クロロフィル(Chl)/炭酸アパタイト複合ナノ粒子

湿式法によって、中心金属が  $Mg^{2+}$  である Chl (Chl  $\alpha$ : 末端がフィトール、Chl  $c$ : 末端がカルボン酸) への炭酸アパタイトの析出を実施した。その結果、結晶構造中に静電的に配位した Chl は、Chl - Chl 間の疎水性相互作用によって発光特性が変化した。つまり、合成条件 (Chl 添加量、合成温度、等) によって、Chl のモノマー/ダイマー比が変化し、発光特性を制御できることがわかった。さらに、Chl - 炭酸アパタイト間の静電相互作用によって、核形成・結晶形成が生じ、ナノ粒子の形態を制御できることがわかった。得られたナノ粒子は、可視光領域の励起光 (波長:  $> 450$  nm) により、可視光領域の橙色発光 (主に波長 500–600 nm) が生じることがわかった。合成によって得たナノ粒子は、イメージングに最適な水分散系での発光特性 (低エネルギー励起、鋭い発光スペクトル形状、高い発光効率) であった。

細胞結合性分子 (葉酸分子: FA) をナノ粒子表面へ化学修飾した。FA 修飾・Chl 含有炭酸アパタイトナノ粒子は、容易にリン酸緩衝食塩水 (PBS) へ分散し、ナノ粒子の発光色は橙色であった (図 2)。量子収率は 8~15% であり、実用可能な収率であった。次に、HELA がん細胞と線維芽細胞 (正常細胞) を用いた細胞培養法を確立し、細胞表面へ本研究で開発したナノ粒子の培地分散液を添加し、細胞活性計測に基づいた生体毒性を評価した。その結果、図 3 のように、粒子が存在する場合と粒子が存在しない場合において、HELA がん細胞と線維芽細胞に対する増殖挙動は同様であった。つまり、本研究で開発したナノ粒子は、生体毒性がないことが示された。



図 2 FA 修飾・Chl 含有炭酸アパタイトナノ粒子を PBS へ分散させた写真 (左) と蛍光顕微鏡像 (右)。

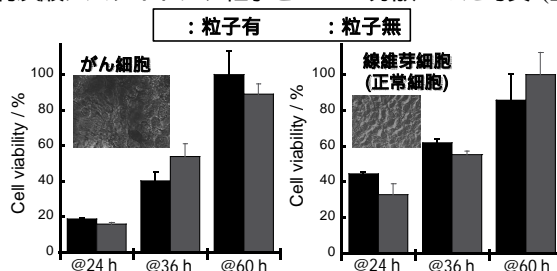


図 3 HELA がん細胞と NIH3T3 線維芽細胞の細胞活性評価結果 (■: 粒子噴霧有、■: 粒子噴霧無)。

HELA がん細胞へ FA 修飾・Chl 含有・炭酸アパタイトナノ粒子を噴霧してから 12 時間後に撮影した透過光像と蛍光像を図 4 に示す。この結果から、初期の細胞膜表面への結合反応およびレセプター介在性エンドサイトーシス経路による取込反応が生じることがわかった。さらに、HELA がん細胞集合体へ FA 修飾・Chl 含有炭酸アパタイトナノ粒子を噴霧してから 36 時間後に撮影した透過光像と蛍光像を図 5 に示す。がん細胞集合体の形状に沿ってイメージングできることがわかった。以上によって、FA 修飾・Chl 含有炭酸アパタイトナノ粒子は、生体毒性がなく、可視光領域の励起光によってがん細胞およびがん細胞集合体の可視光イメージングが可能であることが示された。



図 4 HELA がん細胞へ FA 修飾・Chl 含有炭酸アパタイトナノ粒子を噴霧してから 12 時間後に撮影した透過光像 (左写真) と蛍光像 (右写真)。

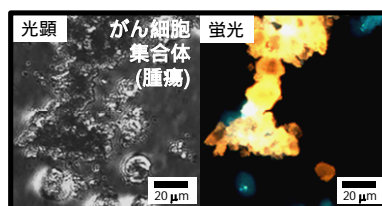
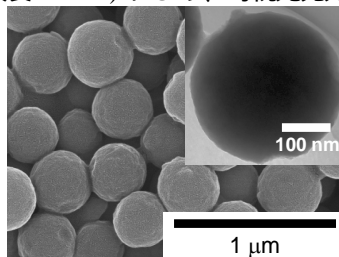


図 5 がん細胞集合体へ FA 修飾・Chl 含有炭酸アパタイトナノ粒子を噴霧してから 36 時間後に撮影した透過光像 (左写真) と蛍光像 (右写真)。

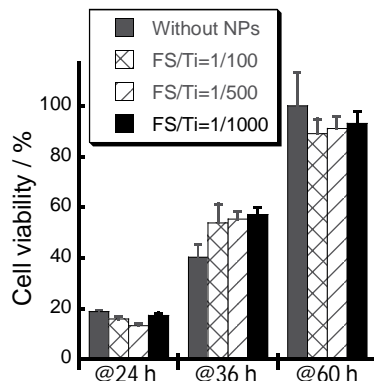
## (2) フルオロセイン (FS) 含有チタニアナノ粒子

FS を含有したチタニア粒子の湿式での簡便な合成技術を創出した。合成した FS 含有チタニアナノ粒子の吸収色は褐色であり、FS 含有量によって吸収色が変化した。さらに、**図6** の SEM および TEM 像から、単分散な真球状で粒径 300 nm 程度であることがわかった。これは、生体毒性が低い粒径であり、噴霧方式の診断材料の粒径として最適と考えられた。さらに、可視光励起 (波長 493 nm) により、可視光発光 (波長 555 nm) が生じた。



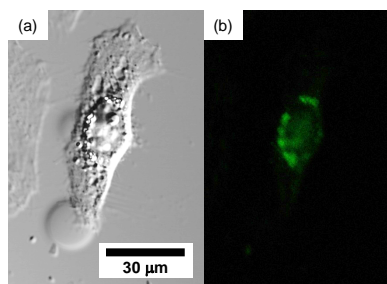
**図6** FS 含有チタニア粒子の SEM 像 (挿入図: TEM 像)。

細胞結合性分子 (HER2 抗体) を粒子表面へ化学修飾した。その結果、HER2 抗体修飾・FS 含有チタニア粒子は、細胞培養液へ容易に分散し、その発光色は緑色であった。FS 単体に比べて励起光に対して安定であり、チタニアに包接された FS は光分解せず半永久的に発光することがわかった。培地分散液へ HER2 抗体修飾・FS 含有チタニア粒子を添加し、線維芽細胞の増殖挙動の計測によって生体毒性を評価した。その結果を**図7**に示す。開発した粒子が存在する場合と存在しない場合において同様の初期増殖挙動であった。すなわち、開発した HER2 抗体修飾・FS 含有チタニア粒子は、生体毒性がないと考えられた。



**図7** HER2 抗体修飾・FS 含有チタニア粒子 (粒子噴霧無、粒子噴霧有 (FS/Ti モル比: 1/1000、1/500、1/100)) の線維芽細胞活性評価結果。

がん細胞イメージング動態の結果を**図8**に示す。その結果、位相差像および蛍光像から、がん細胞膜表面への結合反応および取込反応が観察され、特に、細胞の核周辺近傍への選択的イメージングを実現した。



**図8** HER2 抗体修飾・FS 含有チタニア粒子をがん細胞へ噴霧してから 12 時間培養した際の (a) 位相差および (b) 蛍光像。

以上により、無機/有機複合晶析技術によって、色素を含有した無機ナノ粒子の合成技術を確立した。合成したハイブリッドナノ粒子は、生体親和性が高かった。発光特性は、色素分子間相互作用と無機イオン-色素間相互作用によって制御でき、細胞イメージングに最適な発光特性であった。また、低エネルギー励起光 (可視光 450 nm 以上の長波長領域) で発光するため、生体組織劣化がなかった。さらに、無機イオン・析出または金属アルコキシド・縮合反応によって、発光色素を包接しているため、耐光性が向上した。本研究の性能は「細胞にやさしく高い観察感度で微小な腫瘍を検出できる低濃度診断技術」として紹介され、日本国の医療技術へ貢献できる。