

新規生体透視ナノイメージングを可能とする
金属内包カーボンナノチューブ材料開発

所属：名古屋大学高等研究院・医学系研究科呼吸器内科専攻

助成対象者：佐藤和秀

共同研究者：中西勇介

概要

「第2の生体の窓」と呼ばれる波長 1000nm を超える波長域の近赤外光 (NIR-II)が、極めて高い組織透過性を示すことが知られており、生体深部の蛍光イメージング応用が期待されている。しかしながら、NIR-II 領域の生体適合材料は極めて限られている。本研究では、世界に先駆けて磁性(MRI)イメージングと NIR-II 蛍光イメージングを用いた新材料開発を行い、さらには生体イメージングに応用することで、腫瘍血管イメージングや肺疾患の吸入イメージングを行う。

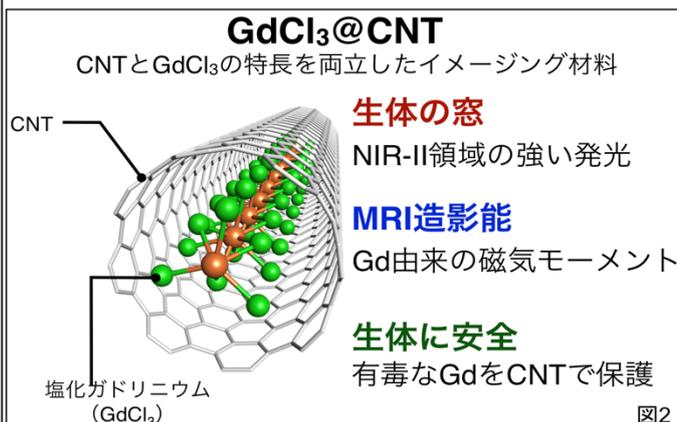
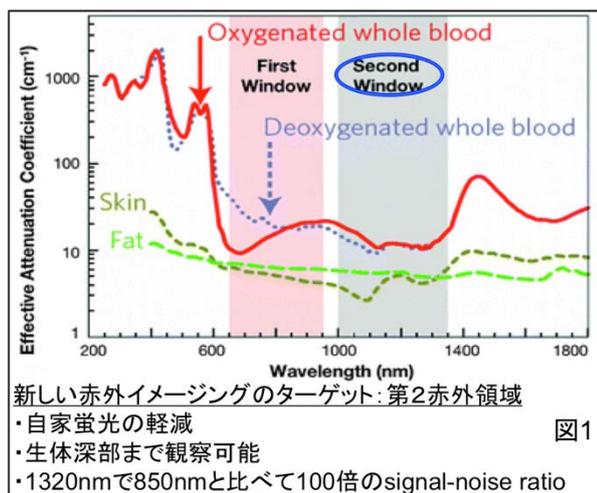
abstract

It is known that near-infrared light in the wavelength range above 1000 nm (NIR-II), which is called the "second biological window," shows extremely high tissue penetration, and is expected to be used for fluorescence imaging of deep tissue. However, biocompatible materials in the NIR-II region are extremely limited. In this study, we will be the first in the world to develop new materials using magnetic resonance imaging (MRI) and NIR-II fluorescence imaging, and then apply them to in vivo imaging, such as tumor vascular imaging and inhalation imaging of lung diseases.

研究内容

「背景」

臨床医学において、イメージングに依る診断・評価は病態の把握、治療法の決定、治療効果計測に必須である。近年、解剖学的なイメージングから病態、病気のみを診断し描出する分子イメージングが新しい分野、方法として知られている。その中でも蛍光を用いたイメージングは、広く細部生物実験や、遺伝子組み換え動物実験などに使用され、今日のバイオ系の研究の礎と成っている。その中でも、近赤外光の1000 nm を超える領域はNIR-II領域(第II近赤外光領域)と呼ばれ近年注目を集めている。その特徴は、自家蛍光が極端に少なく、生体深部までの観察が可能であり、1320nmで850nmとくらべて100倍のsignal-noise ratioを得ることができ、インビボイメージングの新領域として期待されている(図1)。しかしながら、他の蛍光材料に比較して生体で用いることのできる蛍光材料が不足しているのが現状である。



「目的」

本研究提案の目的は、世界初の金属(Gd)内包カーボンナノチューブ(CNT)を開発し、その生体適合性修飾を検討し、最終的にはMRI(磁性イメージング)も同時に行えるNIR-IIのイメージング材料としての生体応用を達成する(図2)。MRIを用いたCNTのリアルタイムイメージングのみならず、腫瘍血管の治療によるリアルタイムの変化、吸入イメージングの達成による肺疾患の効果測定へとつなげる。また、革新的治療として報道されている近赤外光線免疫療法の血流このように、自然由来の炭素素材を将来の医学臨床応用、生体応用を見据えたイメージング剤として開発を行う。

「結果」

単層カーボンナノチューブであるMEIJO eDIPS EC1.0(株式会社

名城ナノカーボン)を準備した。なお、上記単層カーボンナノチューブの中心直径は1.0 nmである。中心直径の数値とは、含有されるカーボンナノチューブの中央値の数値であり、カイラル指数から算出した数値であるが、電子顕微鏡での観測においても同等の数値が確認できる。大気雰囲気下の電気炉にて、単層カーボンナノチューブを6時間かけて500℃まで昇温し、500℃に達した時点で加熱を止めて、室温まで放冷した。この操作は、単層カーボンナノチューブ両端を開くためのものである。室温まで冷却した石英管から生成物を取り出して水洗した。ここでの水洗にて、カーボンナノチューブに関与しなかったGdI₃、及び、カーボンナノチューブに内包されずにカーボンナノチューブの外表面に付着するGdI₃は除去される。水洗後のGd内包カーボンナノチューブを、Gd内包カーボンナノチューブとした。Gd内包カーボンナノチューブにつき、透過型電子顕微鏡(以下、TEMと略すことがある。)での観察を行った。製造例1のGd内包カーボンナノチューブのTEM像を図3に示す。

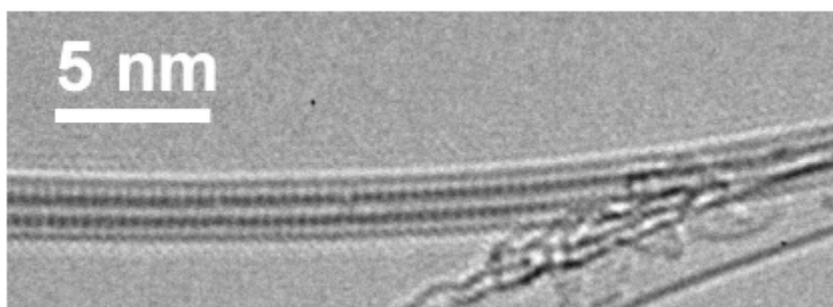


図3 TEM像

図3のTEM像から、Gd内包カーボンナノチューブのいずれにおいても、カーボンナノチューブの内部にGd含有物質が内包されているのが確認できる。カーボンナノチューブの内部でGdが連なったワイヤー状の構造が観察された。

なお、TEM観察によれば、Gd内包カーボンナノチューブのいずれにおいても、存在するカーボンナノチューブのうち、概ね半数のカーボンナノチューブにGd含有物質が内包されていると判断できた。

次に透過型電子顕微鏡にエネルギー分散型X線分析装置を組み合わせたTEM-EDXにて、Gd内包カーボンナノチューブのうち、GdI₃含有物質が内包されているのが確認されたカーボンナノチューブについての分析を行った(図4)。その結果、GdI₃内包カーボンナノチューブのEDXスペクトルからは、Gd及びC1に

由来するピークが観察された。

EDXスペクトル

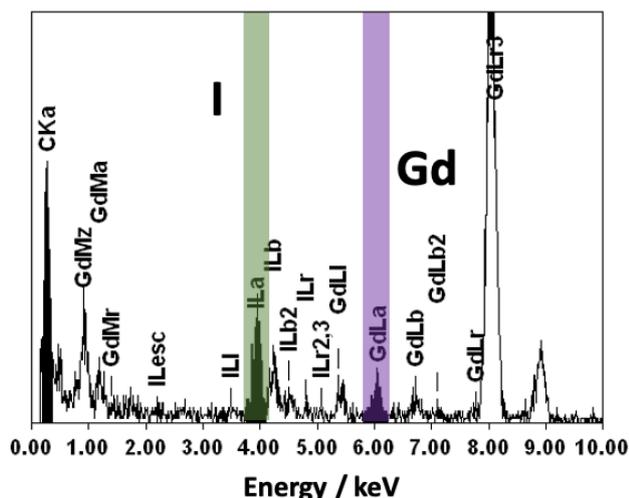
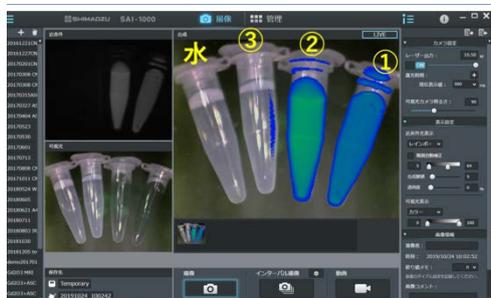


図 4 EDX スペクトル

混合し、密閉式超音波分散装置 Nanoruptor NR-350（東湘電機株式会社）を用いて、4時間超音波処理することで分散液とした。分散液を分離用小型超遠心機 CS100GXL（日立工機株式会社）に供して、52000rpmで1時間、遠心分離をすることで、カーボンナノチューブ凝集体などを沈殿させた。遠心分離処理後の分散液における上部分散液を採取してその後の検討に用いた。

上記作成の、GdI3 溶液、水(陰性コントロール)の NIR-II 蛍光を評価するために、SHIMADZU の SAI-1000 を用いて蛍光を評価した(図 5)。結果は GdI3 内包の CNT で十分な NIR-II 蛍光を認めた。次に、MRI での検討を行い、磁性イメージングについての可否を検討した。陽性コントロールとして造影剤のオムニスキャン、対比コントロールとして水を加えた。結果は、GdI3 は T1、T2 強調画像の両方で、水より濃く写り、陽性造影剤として利用できることが明らかとなった。



- ①GdI₃@DIPS1.0 (0.36 mg/ml) 分散後、遠心はしていない
- ②GdI₃@DIPS1.0 (0.50 mg/ml) 分散後、遠心分離して凝集したCNTを除去
- ③GdI₃水溶液 (0.336 mg/ml)

図 5 NIR-II 蛍光の評価

上記、作成した材料の NIR-II と MRI の造影能が明らかとなった。

「今後」

造影能が明らかとなったので、今後は疾患動物モデルにて応用を行っていく。

引用文献

本助成に関わる成果物

[論文発表]

なし(投稿準備中)

[口頭発表]

なし

[ポスター発表]

なし

[その他]

特許出願を行った。

特願 2020- 17491

「金属内包カーボンナノチューブを用いた画像診断新規造影剤」

発明者： 佐藤和秀、中西勇介、永田雅貴、安井裕智、 出願人：名古屋大学