

近赤外蛍光プローブによる生体内イメージング法の開発

上村 真生, 曾我 公平

1 はじめに

蛍光を発する分子やナノ粒子などのプローブをマウスなどの小動物の体内に導入し、体外からその蛍光を観察することによって体内のさまざまな生命現象を可視化する技術である *in vivo* (生体内) 蛍光バイオイメージングは、体内の様子を簡単にリアルタイム観察する手段として、現在のバイオ研究に欠かすことができない分析手法である¹⁾。しかし、市販されている蛍光プローブの多くは可視光領域 (400~700 nm) の蛍光を発するものがほとんどであり、このような短波長光は光散乱性が高いために、体内深部を観察することが極めて難しい (図1)。

この一方で、波長 700 nm 以上の近赤外 (NIR) 領域の光は、生体内物質や水の吸収・散乱が紫外・可視光と比べて比較的小さいために組織透過性が高く、生体内の観察に有利であることが以前からよく知られている²⁾³⁾。実際に、インドシアニングリーン (ICG) に代表される蛍光色素や量子ドットなどの長波長励起可能な蛍光プローブを利用することで、可視蛍光を利用する場合に比べて体内深部を観察できることが報告されている⁴⁾⁵⁾。

ところが、これらの NIR 蛍光イメージングは、いずれも蛍光波長が 1000 nm 以下の蛍光プローブを使用しているものに限定されてきた。これは、既往のイメージングシステムには撮像の限界が 1000 nm 程度の半導体シリコンが用いられているためである。また、10 年ほど前から、希土類含有セラミックスナノ粒子の NIR 光 (800~1000 nm) 励起・可視蛍光 (アップコンバージョン蛍光) を用いた蛍光イメージングが世界的に大流行しているが^{6)~8)}、これは観察する蛍光が可視領域の光であるため、既存のイメージングシステムがそのまま使用できたことが流行した大きな要因の一つである。

筆者らも、世界的にも早い 2005 年頃からこのアップコンバージョン蛍光を利用した蛍光バイオイメージングの Development of *in vivo* Analysis Method Based on Near-infrared Fluorescent Probes.

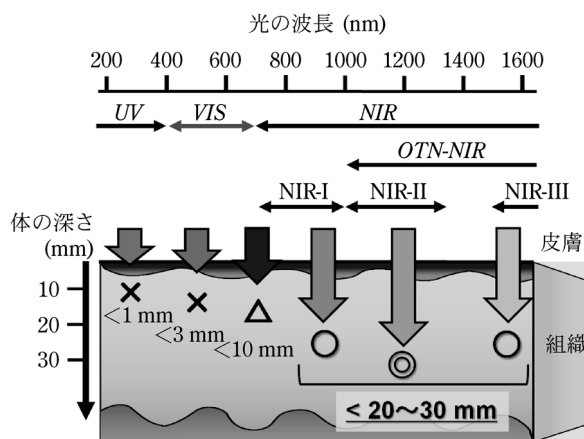


図1 光の波長と組織透過性

グの研究を進めていた⁹⁾。そして、この研究を進めているうちに、励起光だけでなく観察する蛍光も長波長化したほうが、圧倒的に生体深部の観察に有利であることがわかってきた。生体組織内の光の吸収と散乱が最も小さくなる波長域が波長 1000 nm を超える (over 1000 nm: OTN-) NIR 光領域に存在することは、1980 年代から既に知られており、この波長域を利用することで、より体内深部の蛍光イメージングが可能となる¹⁰⁾¹¹⁾。ICG などに代表される既往の NIR 蛍光イメージングが利用する光波長域である 700~900 nm (第一の生体の窓, NIR-I) では、皮下 10~20 mm 程度が現実的な観察の限界となっているのに対して、OTN-NIR 波長域は最大で 20~30 mm 程度まで光が透過可能である (図1)。OTN-NIR 波長域は、1100~1350 nm の波長域が「第二の生体の窓」(NIR-II)、1550~1800 nm の波長域が「第三の生体の窓」(NIR-III) と区別されており、これらの波長域の蛍光を利用したイメージングは近年になって高い注目を集めている²⁾³⁾¹¹⁾¹²⁾。

筆者らは世界に先駆けて、2009 年頃からこの OTN-NIR 蛍光を用いた生体内を分析する技術を開発してきた。本稿では、この OTN-NIR 蛍光イメージング技術の開発における蛍光プローブの合成とイメージングの実例について、開発中のエピソードも交えながら紹介する。

2 OTN-NIR 蛍光イメージングシステム

前述のように、1980年代から OTN-NIR 蛍光が生体内深部のイメージングに有利である可能性がわかってきたにもかかわらず、近年まで実現されなかったのは、OTN-NIR 波長域で撮像可能なカメラが市販されていなかったからである。そのため、OTN-NIR 蛍光プローブを開発しても、実際に *in vivo* イメージングを行うことができなかったのである。ところが、光通信技術の発達により、2000年代中盤から波長 800~1700 nm に感度を持つ InGaAs CCD カメラが市販されるようになり、蛍光イメージングへの利用が可能になった。そこで筆者らは、いち早くこのカメラを入手し、蛍光プローブの合成と並行して、イメージングシステムの開発にも取り組んだ。その後、2014 年末には、筆者らとの共同開発により、島津製作所から可搬型の OTN-NIR *in vivo* イメージングシステム「SAI-1000」が発売された (図 2)²⁾。この SAI-1000 は、現時点では世界で唯一、市販された OTN-NIR 蛍光イメージング装置である。

3 OTN-NIR 蛍光プローブ

現在までに報告されている OTN-NIR 蛍光プローブには、量子ドット¹³⁾¹⁴⁾や単層カーボンナノチューブ¹⁵⁾¹⁶⁾、希土類含有セラミックスナノ粒子^{17)~22)}、低分子有機蛍光色素^{23)~25)}などがある (図 3)。

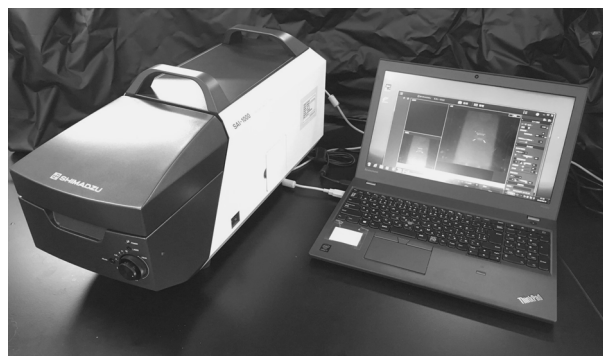


図 2 OTN-NIR イメージングシステム「SAI-1000」

量子ドットは、量子サイズ効果によって粒径に依存した蛍光波長を示すナノ粒子であり、可視蛍光を発するものは既に市販化されているため、バイオ研究における一般的な蛍光プローブとして知られている。OTN-NIR 蛍光を示す量子ドットは、可視蛍光を示す CdS などの量子ドットよりもバンドギャップがやや狭い PbS や PbSe などが利用される。筆者らも PbS を合成し、ナノ粒子表面に生体適合性高分子を修飾することで、マウスの血流を観察することに成功しているが (図 4)、Pb のような重金属を含有する量子ドットは、長時間体内で使用する場合には毒性の問題が懸念されている。

単層カーボンナノチューブも、強い OTN-NIR 蛍光を示す材料であり、2009 年にスタンフォード大学のグループによって報告された世界初の OTN-NIR 蛍光 *in vivo* イメージングに利用された蛍光材料である。しかし、この単層カーボンナノチューブは針状の形状を有するために、アスベストに似た健康被害をひき起こす可能性が指摘されているため、生体内に投与については一筋縄ではいかないのが現状である。

そこで筆者らは、量子ドットや単層カーボンナノチューブと比較して、毒性や形状などの生体への影響が極めて低い希土類含有セラミックスナノ粒子の利用を積極的に進めている。希土類含有セラミックスナノ

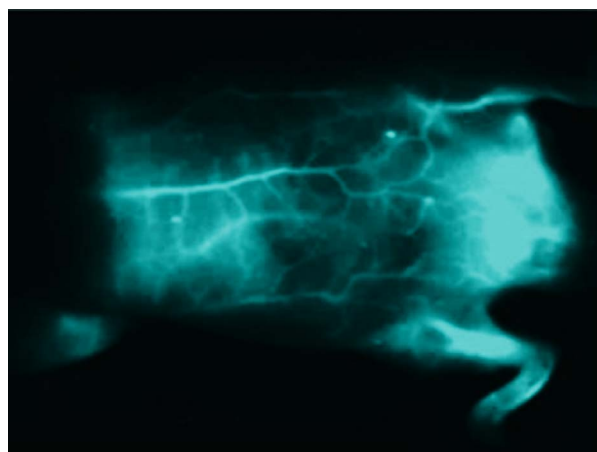


図 4 量子ドットを用いたマウスの OTN-NIR 蛍光イメージング

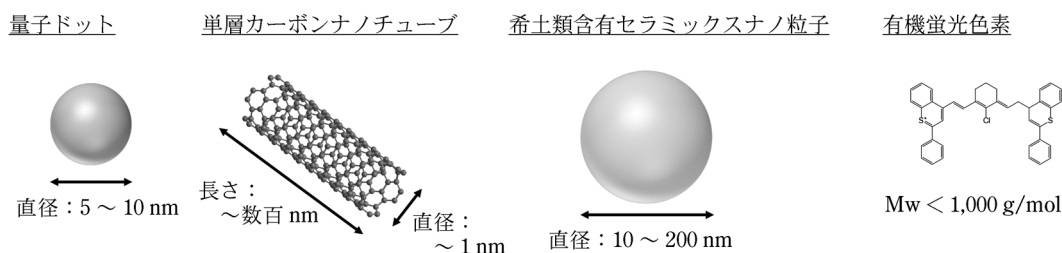


図 3 主な OTN-NIR 蛍光プローブ

粒子は、 NaYF_4 や NaGdF_4 , Y_2O_3 , YPO_4 などのセラミックスに3価の希土類イオンをドーピングした材料であり、狭いスペクトル幅と長い励起状態寿命を特徴とする蛍光材料である。また、前述のように、近赤外光励起・可視蛍光を示すことから、「アップコンバージョン蛍光ナノ粒子」という名称でもよく知られている材料である。この希土類含有セラミックスナノ粒子は、ドーピングする希土類イオンの種類によって可視アップコンバージョン蛍光およびOTN-NIR 蛍光の波長を制御することができる。筆者らは、この希土類含有セラミックスナノ粒子のOTN-NIR 発光を利用したさまざまな *in vivo* 蛍光イメージングや、アップコンバージョン蛍光を利用した光線力学療法を同時に行う技術などを報告している^{17)~20)}。さらに最近では、この希土類含有セラミックスナノ粒子が温度依存的な蛍光特性の変化を示すことに着目し、生体内の温度計測を行うことにも取り組んでいる²⁰⁾²⁶⁾。生体内の微小領域の温度を計測するナノ温度イメージングは、さまざまな生命現象の解明のみならず、^{がん} 癌温熱療法や温度応答型ドラッグデリバリーシステムとの併用も期待されている。可視蛍光を利用したナノ温度イメージングは既に多くの報告があるが、OTN-NIR 波長域のナノ温度イメージングはまだほとんど取り組まれておらず、実現することができれば体内深部の温度計測が可能になると期待される。

このような量子ドットや単層カーボンナノチューブ、希土類含有セラミックスナノ粒子を用いたOTN-NIR 蛍光イメージングは、2010年前後から筆者らを含むいくつかの研究グループから相次いで報告されはじめた^{13)~22)}。しかし、いずれの蛍光プローブも無機・金属系の材料であるため、将来的な医療応用を目指す上で体外排泄の問題をクリアしなければならないことが課題となっている。そこで筆者らは、この問題を解決するために、腎排泄可能な分子サイズの低分子蛍光色素を用いたOTN-NIR 蛍光プローブの研究に取り組み始めた。OTN-NIR 蛍光を示す有機蛍光色素 (IR-1061) が市販されていることを知った筆者らは、さっそく生分解性高分子と複合化することで蛍光プローブを作製した²⁵⁾。得られた蛍光プローブは強いOTN-NIR 蛍光を示し、マウスの血流を観察するイメージング実験にも成功した。また、この蛍光プローブは生分解性を示すことも明らかになったため、蛍光イメージング後は安全に体外排出することが可能な、OTN-NIR 蛍光プローブのとしての利用が期待できる。

4 まとめと今後の展望

本稿では、筆者らが世界に先駆けて進めてきたOTN-NIR 蛍光イメージング技術について簡単に紹介した。筆者らは現在、蛍光プローブのさらなる機能化と *in*

vivo イメージング応用を進めており、これまで観察することが難しかった生体内深部の生命現象を可視化することで、生命科学の発展や医療技術の進歩に貢献することが期待される。

本報で紹介した研究成果の一部は、JSPS 科研費新学術領域研究レゾナンスバイオ (15H05950)、挑戦的萌芽研究 (15K14131)、基盤研究 (B) (16H04499)、挑戦的研究 (萌芽) (17K20115)、日本板硝子材料工学助成会、旭硝子財団の助成を受けたものです。ここに謝意を表します。

文 献

- 1) A. L. Vahrmeijer, M. Hutteman, J. R. Vorst, C. J. H. Velde, J. V. Frangioni : *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, **10**, 507 (2013).
- 2) D. Jaque, C. Richard, B. Viana, K. Soga, X. Liu, J. G. Solé : *Adv. Opt. Photonics*, **8**, 1 (2016).
- 3) E. Hemmer, A. Benayas, F. Légaré, F. Vetrone : *Nanoscale Horiz.*, **1**, 168 (2016).
- 4) M. Ogawa, N. Kosaka, P. L. Choyke, H. Kobayashi : *Cancer Res.*, **69**, 1268 (2009)
- 5) X. Gao, Y. Cui, R. M. Levenson, L. W. K. Chung, S. Nie : *Nat. Biotechnol.*, **22**, 969, (2004).
- 6) S. Han, R. Deng, X. Xie, X. Liu : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53**, 11702 (2014).
- 7) Y. Sun, W. Feng, P. Yang, C. Huang, F. Li : *Chem. Soc. Rev.*, **44**, 1509 (2015).
- 8) Y. Wang, K. Zheng, S. Song, D. Fan, H. Zhang, X. Liu : *Chem. Soc. Rev.*, **47**, 6473 (2018).
- 9) M. Kamimura, D. Miyamoto, Y. Saito, K. Soga K, Y. Nagasaki : *Langmuir*, **24**, 8864 (2008).
- 10) R. R. Anderson, J. A. Parrish : *J. Inv. Derm.*, **77**, 13 (1981).
- 11) A. M. Smith, M. C. Mancini, S. Nie : *Nat. Nanotechnol.*, **4**, 710 (2009).
- 12) L. Shi, L. A. Sordillo, A. Rodríguez-Contreras, R. Alfano R : *J. Biophotonics*, **9**, 1 (2015).
- 13) G. Hong, J. T. Robinson, Y. Zhang, S. Diao, A. L. Antaris, Q. Wang, H. Dai : *Angew. Chem., Int. Ed.*, **51**, 9818 (2012).
- 14) Y. Nakane, Y. Tsukasaki, T. Sakata, H. Yasuda, and T. Jin : *Chem. Commun.*, **49**, 7584 (2013).
- 15) K. Welsher, Z. Liu, S. P. Sherlock, J. T. Robinson, Z. Chen, D. Daranciang, H. Dai : *Nat. Nanotechnol.*, **4**, 773 (2009).
- 16) S. Diao, J. L. Blackburn, G. Hong, A. L. Antaris, J. Chang, J. Z. Wu, B. Zhang, K. Cheng, C. J. Kuo, H. Dai : *Angew. Chem., Int. Ed.*, **54**, 14758 (2015).
- 17) M. Kamimura, N. Kanayama, K. Tokuzen, K. Soga, Y. Nagasaki : *Nanoscale*, **3**, 3705 (2011).
- 18) M. Kamimura, R. Saito, H. Hyodo, K. Tsuji, I. O. Umeda, H. Fujii, K. Soga : *J. Photopolym. Sci. Technol.*, **29**, 525 (2016).
- 19) M. Kamimura, A. Omoto, H. C. Chiu, K. Soga : *Chem. Lett.*, **46**, 1076 (2017).
- 20) M. Kamimura, T. Matsumoto, S. Suyari, M. Umezawa, K. Soga : *J. Mater. Chem. B*, **5**, 1917 (2017).
- 21) D. J. Naczynski, M. C. Tan, M. Zevon, B. Wall, J. Kohl, A. Kulesa, S. Chen, C. M. Roth, R. E. Riman, P. V. Moghe :

Nat. Commun., **4**, 2199 (2013).

- 22) Y. Sheng, L. Liao, A. Bandla, Y. Liu, N. Thakor, M. C. Tan : *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **2**, 809 (2016)
- 23) Z. Tao, G. Hong, C. Shinji, C. Chen, S. Diao, A. L. Antaris, B. Zhang, Y. Zou, H. Dai : *Angew. Chem., Int. Ed.*, **125**, 13240 (2013).
- 24) A. L. Antaris, H. Chen, K. Cheng, Y. Sun, G. Hong, C. Qu, S. Diao, Z. Deng, X. Hu, B. Zhang, X. Zhang, O. K. Yaghi, Z. R. Alamparambil, X. Hong, Z. Cheng, H. Dai : *Nat. Mater.*, **15**, 235 (2016).
- 25) M. Kamimura, S. Takahiro, M. Yoshida, Y. Hashimoto, R. Fukushima, K. Soga : *Polym. J.*, **49**, 799 (2017).
- 26) L. Wortmann, S. Suyari, T. Ube, M. Kamimura, K. Soga : *J. Lumin.*, **198**, 236 (2018).



上村真生 (Masao KAMIMURA)

東京理科大学基礎工学部材料工学科 (〒125-8585 東京都葛飾区新宿 6-3-1)。筑波大学大学院数理物質科学研究科博士後期課程修了。博士(工学)。《現在の研究テーマ》メカノバイオロジー, 蛍光バイオイメージング。《趣味》アルビレックス新潟現地観戦。

E-mail : masaokamimura@rs.tus.ac.jp



曾我公平 (Kohei SOGA)

東京理科大学基礎工学部材料工学科 (〒125-8585 東京都葛飾区新宿 6-3-1)。東京大学大学院工学系研究科博士課程修了。博士(工学)。《現在の研究テーマ》近赤外光バイオイメージング, 希土類発光材料。《趣味》音楽鑑賞。

E-mail : mail@ksoga.com

新刊紹介

産業界を生き抜くための技術力

西田新一 著

歴史のある有名な企業であっても、倒産や買収などの憂き目にあう時代、高い「技術力」は長く生き残るために大きな武器となりうるだろう。ところで、「技術力」とは何であるか。その問いへ簡潔に答えるのは意外と難しい。本書では、「技術力」の定義のほか、その確立に必要な「研究開発」、「製品と商品」、「会社力」とのかかわりをわかりやすく説明してくれる。そして、「技術力」によって苦境を乗り越えた会社の事例紹介は、これらの理解を深めるのにとても役立つ。「技術力」は「技術移転および技術向上の可能な能力である」と定義され、会社活動とともに成長できる能力である。したがって、現状の問題点を見極めて、「技術力」確立の必要性に気づけるかが大切であるという。「研究開発」は「技術力」の確立に欠かせないが、知識一辺倒ではなく、効率のよいプロセス、顧客志向や創造力を発揮するための人材育成、「商品」への意識変革が必要であり、これらの基盤となる会社自体の力、「会社力」の重要性を説いている。すなわち、健全な会社活動が、永続的な「技術力」確立へと導く近道となる。本書は、研究開発に携わる方や事業化に興味のある方へおすすめしたい一冊である。

(ISBN 978-4-901496-94-0・A5判・174ページ・1,600円+税・2018年刊・アグネ技術センター)

アトキンス 基礎物理化学：分子論的アプローチ 第2版 (上) (下)

Peter Atkins・Julio de Paula・Ronald Friedman 著
千原秀昭・稲葉 章 訳

アトキンスといえば「物理化学」を思い浮かべる方が多いだろう。したがって本書はその基礎編と思われるかもしれない。それは誤解である。ちなみに原題は“Physical Chemistry: Quanta, Matter, and Change”であり、「基礎」という言葉は入っていない。本書は「物理化学」と同等の充実した内容の教科書であるが、大きな違いは量子力学を最初に持ってきたことである。「物理化学」ではまず熱力学を学んでから量子力学を学ぶという流れであったのに対し、本書ではまず量子力学を学んでから熱力学へという流れになっている。上巻では主に量子力学及び原子・分子・分光について解説し、下巻では統計熱力学、熱力学、化学平衡、化学反応速度論、固体表面の諸過程などを取り扱う。端的に言えばミクロから始めるかマクロから始めるかのどちらの流れで学びたいか、あるいは教えたいか、ということ念頭に置いて選べばよいであろう。

内容としては、項目ごとに例題や重要事項のチェックリスト、式の一覧などが配され、物理化学学習のための優れた教科書として、学習効率を考えた構成になっている。演習問題も充実している。回答の一部は東京化学同人のホームページに掲載されており、残りの回答についても、教科書として採用した教員には提供されるとのことである。

(ISBN 上 : 978-4-8079-0945-2, 下 : 978-4-8079-0946-9・B5判・総997ページ・上5,700円, 下5,600円(いずれも税別)・2018年刊・東京化学同人)