

20030627

厚生科学研究研究費補助金

萌芽的先端医療技術推進研究事業

「ナノサイズ・センシングカプセルの新規開発
と医療応用（H14-ナノ-010）」に関する研究

平成 15 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大内 憲明 東北大学大学院医学系研究科

平成 15（2004）年 3 月

目 次

I	総括研究報告	
	「ナノサイズ・センシングカプセルの新規開発と医療応用」に関する研究	1
	大内 憲明	
II	分担研究報告	
1	「動物をモデルとした新規センチネルリンパ節蛍光検出生検法およびX線造影剤開発」に関する研究	9
	武田 元博	
2	「量子力学計算による医療用新物質探索と物性予測」に関する研究	13
	川添 良幸、水関 博志	
3	「フラーレンネットワーク合成—無機半導体ナノサイズセンシングカプセルの合成—」に関する研究	18
	柏谷 厚生	
4	「抗HER2抗体を結合したナノクリスタルによる、ヒト乳がん細胞のイメージング」に関する研究	22
	佐竹 正延	
5	「高感度蛍光検出法の開発」に関する研究	26
	小林 止樹	
6	「新規センチネルリンパ節蛍光検出生検法ならびにCI・MRI 利用拡大」に関する研究	29
	石田 孝宣	
7	「白血球細胞マクロファージによる単一 CdSe ナノ粒子の貪食」に関する研究	33
	樋口 秀男	
9	「新規シリカコーティング蛍光ヒースおよびX線造影剤開発」に関する研究	36
	小林 芳男	
III	研究成果の刊行に関する一覧表	
	別紙1 雑誌論文一覧	39
	別紙2 学会発表一覧	44
IV	研究成果の刊行物・別刷	51

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
（総括）研究報告書

ナノサイズ・センシングカプセルの新規開発と医療応用

（主任）研究者 大内 憲明 東北大学大学院医学系研究科腫瘍外科学分野

研究要旨

新規センシングナノカプセルの創製による新たな診断治療薬の開発を目指して以下の研究を行った。

- 1 CD/SE ナノクラスターを作製、蛍光特性の解析を継続し、新たに Cd/Se の安定なクラスター数を明らかにした。
- 2 AgI、蛍光ビーズ、量子ドットのナノサイズシリカコーティングビーズならびに磁性ビーズの作製に成功した。蛍光ビーズに関して安全性の確認を行った。AgI ビーズに関して造影剤としての可能性について検討を行った。
- 3 スーパーコンピューティングにより金属内包シリコンフラーレンの予測に引き続き、シリコンナノチューブの存在を予測した。現在シリコンナノチューブの作成を行っている。
- 4 量子ドット結合抗腫瘍モノクローナル抗体を用いて培養癌細胞の染色に引き続き、担癌マウスのイメージングに取り組んでいる。
- 5 高感度蛍光画像計測装置、および高分解能蛍光画像計測装置を用いてシリカコーティングナノビーズの蛍光特性を評価し、蛍光寿命等の改善を明らかにした。さらに移動型高感度蛍光計測装置を作製し現在装置の評価を行っている。

医療分野において、テーラーメイド診療、EBM など、個々の患者の病態に応じた科学的根拠に基づいた治療法が求められつつある。今後の展開として、ナノテクノロジーは医療に広く応用されていくと考えられ、分子標的治療およびセンチネルリンパ節生検等新規の応用が強く期待される。

今後、センチネルリンパ節生検の臨床応用も含め、さらに最適な条件を突き詰めて臨床応用を目指し、国民の健康に資する研究を行って行きたい。

分担研究者氏名・所属施設名及び所属施設における職名 武田元博（東北大学病院、助手）、川添良幸（東北大学金属材料研究所、教授）、粕谷厚生（東北大学学際科学国際高等研究センター、教授）、佐竹正延（東北大学加齢医学研究所、教授）、小林正樹（東北工業大学、助教授）、水関 博（東北大学金属材料研究所、助手）、石田孝宣（東北大学病院、助手）、樋口秀男（東北大学大学院工学研究科、助教授）、小林芳男（東北大学大学院工学研究科、助教授）

A 研究目的

1985年に発表されたフラーレンおよびナノチューブ構造はその強固かつ特異なかご状、および円筒状構造から、多くの分野での応用が期待される。医学薬学分野では、有用性が期待されるかそのままでは有害な薬物をフラーレン構造内に取り込むことで、無害化することが期待されている。しかしこれらは構造が強固なため内部に原子や分子を挿入することか困難であり、医療に応用された例はない。本研究は特にシリコンフラーレン・ネットワークおよびコーティング剤を薬剤の

カプセルとして用いることで、これまで生体に応用できなかった試薬を安全な医療検査薬として活用し、アレルギー等の副作用が問題となっている検査薬品の副作用を完全に排除する技術の確立を目的とする。

B 研究方法

研究方法=上記目的のために、スーパーコンピューティングによるフラレンネットワーク等分子設計グループ（川添、水関ら）、フラレンネットワーク並びにコーティングビーズ作製グループ（粕谷、小林ら）、応用法研究グループ（武田、佐竹、石田、樋口ら）をそれぞれ作り、それぞれが下記のテーマについて研究を行う。

1 医療用蛍光試薬の開発 ナノサイズGd/Se蛍光ビーズを試験的に作製する。また市販の蛍光ビーズ、量子ドットをシリカコーティングし、動物実験モデルによる有用性、並びに最適な計測条件の検討を行う。

2 X線造影剤の開発 ヨードを用いたセンシングナノカプセルを作製し、X線透過性、TEMによる粒径計測を行い、動物を用いた造影実験を行う。

3 生体分子標的検査試薬の開発（佐竹ら） HER2発現ヒト乳癌培養細胞KPL-4及びKPL-4移植マウス乳癌モデルの癌組織を用い、HER2蛋白に対するモノクローナル抗体をCdSeナノクリスタルで標識してイメージングを行った。

4 新規蛍光画像計測装置の試作 生体極微弱発光計測技術を応用し、臨床試験を模した動物実験を行うべく移動型高感度

蛍光計測装置の試作を行う。さらに当初の計画には盛り込んでいなかったが鏡視下蛍光観察装置も試作することとした。蛍光センチネル検出法の応用をより具体的に検討することが目的である。今後これらの装置を用いて動物をモデルとしたセンチネルリンパ節生検法の検討を進めていく予定である。

5 スーパーコンピューターを用いたフラレンネットワークの分子設計 第一原理計算に基づく分子設計により、新たに有用な分子構造の薬品を設計する。

6 新規検査試薬の動物実験による有用性検証 上記で得られた試薬を実際に動物モデルに応用し、目的とする病変の検出を試み、有効性、安全性についての検証を行い、臨床への応用を目指す。

7 ナノサイズセンシングカプセルの新たな応用法開発 生体内の単分子検出技術の確立を目指す。まず取り掛かりとして細胞の貪食を活性化させるため、CdSe粒子に抗体を架橋させた試料を作製した。次いでこの結合物が免疫細胞に貪食される様子を観察する。

倫理面への配慮

本研究は現在までのところ、動物実験による有効性、安全性の検証が主目的である。動物を用いた実験はすべて全身麻酔下に行っており苦痛を伴うものではない。また本研究における動物実験計画は本学の動物実験委員会に実験計画書を提出し、認可されている。

C 研究結果

1 医療用蛍光試薬の開発（粕谷） Gd/

Se作製において安定な構造をとるGd/Seのクラスター数を明らかにすることができた。この中で(CdSe)₃₃及び(CdSe)₃₄が籠状に大量に合成できることを明らかにした。今年度は更なる高性能化、多機能化、多様化を図るために第一原理計算による物質設計を進めてII-VI族半導体としては直径2 nm以下のCdSeの微粒子化及び、磁性体としてはコバルトフェライトナノ粒子の高保磁力化を達成した。更に新物質として、シリコンは人体への影響も少なく微粒子にすると可視光領域で発光することから、標識粒子として極めて有望である。電気化学的エッチング法を用いてナノメートルサイズの粒状のみならず、チューブ状のシリコン粒子を始めて作製することか出来た。

2 X線造影剤の開発(小林芳男ら) まずヨード内包コーティングビーズの作製を行った。ヨード内包ビーズとしてAgIを用い、シリカコーティングビーズの作製に成功した。X線CT検査では造影剤として、従来の造影剤に匹敵するCT値を示す濃度を得ることができた。現在、X線撮影装置による評価と最適なサイズに関してさらに検討を行っており、特許出願準備中である。

3 生体分子標的検査試薬の開発(佐竹ら) CdSeナノクリスタル-プロテインA conjugateと抗HER2抗体及び、CdSeナノクリスタル-ストレプトアビジンconjugateとヒオチン化抗HER2抗体とのcomplexを作成してきた。Anti HER2 antibodyが細胞膜蛋白であるHER2に結合することを応用して、ホルマリン固定および固定していないlive cellの状態てKPL-4を共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察し、細胞膜の蛍光像を観察し得

た。引き続き、in vivoでの腫瘍イメージングに取り組んでいる。量子ドットと抗体とを結合させる最適な条件を検討しているところである。

4 新規蛍光画像計測装置の試作(小林、武田ら) 試作した超高感度蛍光画像計測装置を用いて作製したシリカコーティングナノビーズの蛍光特性を計測した。その結果、シリカコーティングにより蛍光寿命が延びることが明らかになり、現在論文投稿中である。また、臨床試験を模した動物実験を行うべく移動型高感度蛍光計測装置ならびに鏡視下蛍光観察装置を試作した。今後この装置を用いて動物をモデルとしたセンチネルリンパ節生検モデルの検討を進めていく予定である。

5 スーパーコンピューターを用いたフラレンネットワークの分子設計(川添、水関ら) 遷移金属内包切頭二十面体シリコンフラレンの存在の予測に引き続き、スーパーコンピューターを用いた第一原理に基づく計算によって従来存在し得ないと考えられたシリコンナノチューブの存在を初めて予測することに成功した。現在、粕谷らがシリコンナノチューブの実在証明のための実験に取り組んでいる。

6 新規検査試薬の動物実験による有用性検証(武田、石田ら) ラットをモデルとして体表からのセンチネルリンパ節検出を目的とした蛍光計測実験を行った。この計測で、生体計測において最適なビーズの蛍光波長とサイズを決定した。今後、体表計測のみでなく、鏡視下手術時のセンチネルリンパ節計測等あらたな診断応用の検討を行う。

7 ナノサイズセンシングカプセルの新たな応用法開発（樋口） ナノ粒子に対する細胞の貪食を活性化させるため、~10nmのCdSe粒子に抗体を架橋させた試料を作製した。抗体は細胞表面と結合性を持っているため、抗体と結合した物質は貪食されやすくなる。これらのナノ粒子を分化させたマクロファージ中に入れ、24時間インキュベートして蛍光顕微鏡で観察し、貪食されたナノ粒子の鮮明な像を長時間測定できた。また貪食の瞬間を捉えるため、抗体を架橋させたナノ粒子を大きなビーズに結合させ、それをレーザーでトラップし細胞に接着させ10分から30分の連続観察を行い、マクロファージが貪食する瞬間を観察することが出来た。

D 考察

1 医療用蛍光試薬の開発（粕谷、小林芳男） Gd/Se量子ドットや蛍光ビーズのシリカコーティングを行い、市販蛍光ヒースに関しては蛍光特性の把握がほぼできた。今後は市販ならひに試作した量子ドットについてシリカコーティングを行い、安全性ならひに有用性について検討する必要がある。随時動物実験を行い、これらを検証して行きたい。磁性粒子は蛍光粒子と共に蛋白質や薬剤と結合させることにより、標識として或いは搬送体として有効に作用する。今後、新たな応用法の開発を行いたい。またシリコンは人体への影響も少なく微粒子にすると可視光領域で発光することから、標識粒子として極めて有望である。量子ドット同様の応用が期待できる。

2 X線造影剤の開発（小林芳男） ヨー

ド内包コーティングビーズについては、今後最適な粒径、濃度、分散条件を探索しつつ、X線撮影装置ならひにTEMによる評価と最適化を行う必要がある。

3 生体分子標的検査試薬の開発（佐竹ら） 半導体ナノクラスターであるCdSeを用いたナノクリスタルは、従来の蛍光色素に比へ、1)極めて励起効率が高い（従来の蛍光色素の20-30倍）、2)材料が無機物なので有機系蛍光色素に比へ蛍光寿命が極めて長く、繰り返し励起光照射に耐え得る、3)粒径を変えることで蛍光波長が可変、などの優れた特徴があり、将来的に高感度計測が必要な生体内での応用が期待されている。我々は現在KPL-4移植マウス乳癌モデルを用いて、レーザー励起イメージングシステムによる、体外からの癌組織のイメージングを行うため様々な条件を検討しており、さらに研究を重ねている。本法は癌診断のブレイクスルーになるとともに、分子標的治療の効果判定や、腫瘍の局在診断などに応用が期待される。

また、現在米国で臨床試験中の分子標的治療薬等、使用可能なモノクローナル抗体の種類を増やして行きたい。

4 新規蛍光画像計測装置の試作（小林、武田ら） 超高感度蛍光画像計測装置によりコーティングヒースの蛍光特性の把握が行われているが、あらたな方法で、より深部方向の対象を計測する技術の開発を進めていく予定である。

また今回試作した、移動型高感度蛍光計測装置ならひに鏡視下蛍光観察装置を用いて臨床利用を模した大型動物を用いた実験を行う必要がある。

5 スーパーコンピューターを用いたフラ

ーレンネットワークの分子設計（川添、水関ら） 今後さらにスーパーコンピューターを用いて従来存在し得ないと考えられてきたフラレンネットワークを用いた物質を設計し、実証していきたい。金属内包シリコンフラレについては蛍光特性も計算で予測でき、センシングナノカプセルとして有力な候補となったことから、現在合成を試みている方法で大量合成の道を探っていく。

6 新規検査試薬の動物実験による有用性検証（武田、石田ら） ラットをモデルとして、経皮的センチネルリンパ節検出を目的とした、さらに効率のよい、より深在性の蛍光ビーズも検出できる計測系の開発を進め、更にあらたな診断応用の道を探る予定である。

7 ナノサイズセンシングカプセルの新たな応用法開発（樋口） 単分子計測の準備は整いつつあり、今後は細胞内タンパクをマーキング、単分子計測を行い、タンパクの細胞内動態等、新規の応用法・計測法の検討を行う予定である。

E 結論

ナノサイズセンシングカプセルは新たな医療診断技術に応用されることがさらにはっきりし、応用の道も具体化してきた。これまでもところ、研究はほぼ予定通りに進行しており、新しい診断技術の開発が期待される。

F 健康危惧情報

現在までのところ、本研究は人間を対象としたものではないため、健康に対する害は生じない。

G 研究発表

1 論文発表

- 1) 大内憲明、武田元博、川添良幸、佐竹正延、粕谷厚生。クラスター利用ナノ医療。ナノ学会会報、1 (2) 101-105, 2003
- 2) Amari M, Moriya T, Harada Y, Ishida T, Ohnuki K, Takeda M, Sasano H, Horii A, Ohuchi N LOH analyses of asynchronous lesions of ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma Jpn J Clin Oncol, 33(11) 556-562, 2003
- 3) Ishida T, Ohuchi N, Moriya T, et al Pathological assessment of intraductal spread of carcinoma in relation to surgical margin state in breast conserving surgery Jpn J Clin Oncol, 33 (4) 161-166, 2003
- 4) Sakayori M, Kawahara M, Shiraishi K, Nomizu T, Shimada A, Kudo T, Abe R, Ohuchi N, Takenoshita S, Kanamaru R, Ishioka C Evaluation of the diagnostic accuracy of the stop codon (SC) assay for identifying protein-truncating mutation in the BRCA1 and BRCA2 genes in familial breast cancer J Hum Genet, 48 130-137, 2003
- 5) Minami Y, Ohuchi N, Tsubono Y, et al (total 5, 4th) The increase of female breast cancer incidence in Japan emergence of birth cohort effect Int J Cancer, 108 901-906, 2004
- 6) Ohuchi N, Ishida T, Ohnuki, Takeda M Advances in diagnosis of breast cancer mammography for screening and mri for breast-conserving surgery R Ros, T Kakizoe (eds) "Innovative

achievements in cancer imaging” The 33rd International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund pp 30-34, 2003

7) Yang M, Moriya T, Oguma M, de la Cruz C, Endoh M, Ishida T, Hirakawa H, Orita Y, Sasano H, Ohuchi N Microinvasive Ductal Carcinoma of the Breast The Clinicalpathologic Profile and Immunohistochemical Features of 28 Cases Pathol Int, 53 (7) 422-428, 2003

8) Takeda M, Ishida T, Onuki K, Suzuki A, Sakayori M, Ishioka C, Nomizu T, Noguchi S, Matsubara Y Ohuchi N Collaboration of Breast Cancer Clinic and Genetic Counseling Division for BRCA1 and BRCA2 Mutation Family in Japan Breast Cancer, 11(1), 30-32, 2004

9) De La Cruz C, Moriya T, Endoh M, Watanabe W, Takeyama J, Ming Y, Oguma M, Sakamoto K, Suzuki T, Hirakawa H, Orita O, Ohuchi N, Sasano H Invasive micropapillary carcinoma of the breast Clinicopathological and immuno-histochemical study Pathol Int, 54 90-96, 2004

10) Shiraishi K, Kato S, Han S-Y, Liu W, Otsuka K, Sakayori M, Ishida T, Takeda M, Kanamaru R, Ohuchi N, Ishioka C Isolation of temperature-sensitive p53 mutations from a comprehensive missense mutation library J Biol Chem, 279 (1) 348-355, 2004

11) 大内憲明 がん検診。臨床腫瘍学、日本臨床腫瘍学会編(西條長宏ら)443-449, 2003

12) 大内憲明、石田孝宣、大平広道、増田

真幸。乳房温存療法 整容性を目指した乳房温存手術の手技。小山博樹、霞富士雄、飯野祐一、大内憲明(編)先端医療シリーズ 21「乳癌の最新医療」。先端医療技術研究所、東京、pp 262-265, 2003。

13) 大貫幸二、大内憲明。マンモグラフィ。小山博樹、霞富士雄、飯野祐一、大内憲明(編)先端医療シリーズ 21「乳癌の最新医療」。先端医療技術研究所、東京、pp 87-92, 2003

14) 大内憲明、石田孝宣、大貫幸二、武田元博、石橋忠司、非浸潤性乳管癌 放射線科医師に直面する課題と展望。臨床放射線、48 (7)、803-809、2003

15) 鈴木昭彦、石田孝宣、森谷卓也、大内憲明、乳腺症と乳癌。産婦人科治療、産婦人科治療 (6)、642-646、2003

2 学会発表

1) 石田孝宣、大貫幸二、武田元博、鈴木昭彦、田澤篤、中島護雄、宇佐美伸、多田寛、大内憲明、当科における非浸潤癌の乳癌温存療法の成績。第 103 回日本外科学会 平成 15 年 6 月 6 日

2) 武田元博、小林正樹、高山昌理子、中島護雄、楊 明、石田孝宣、大貫幸二、森谷卓也、大内憲明 新規計測用チャンバーを用いた乳腺腫瘍組織の生物フォトン画像計測 第 103 回日本外科学会 平成 15 年 6 月 6 日

3) 石田孝宣、大貫幸二、武田元博、大内憲明、当科における両側乳癌症例の検討。第 11 回日本乳癌学会 平成 15 年 6 月 13 日

4) 武田元博、石田孝宣、大貫幸二、酒寄真人、石岡千加史、野水整、野口眞三郎、福

島雅典、松原洋一、大内憲明。家族性乳がん保因者における遺伝子診療体系の確立。第11回日本乳癌学会 平成15年6月13日

5) 大貫幸二、石田孝宣、武田元博、鈴木昭彦、鈴木昭彦、宇佐美伸、大内憲明、初回受診者と繰り返し受診者の発見率から見た乳癌検診の精度管理、第13回日本乳癌検診学会 平成15年11月21日

6) 宇佐美伸、大貫幸二、石田孝宣、武田元博、鈴木昭彦、大内憲明、検診発見の微細石灰化病変に対する診断方法についての検討、第13回日本乳癌検診学会 平成15年11月21日

7) Tada H, Satake M, Kaei T, Takeda T, Nakajima M, Kawazoe Y, Kasuya A, Ohuchi N Breast cancer cell imaging by nanocrystals semiconductor QD conjugated with anti-HER2 antibody

24th IABCR, Nov 11, 2003

8) Suzuki A, Ohuchi N, Shiraishi K, Sato T, Das I, Kitajewski J Generation of Transgenic Mouse to Conditionally Active Notch1 signaling 24th IABCR, Nov 11, 2003

II 知的財産権の出願登録状況

外国特許

発明の名称 多重粒子及びその製造方法

出願日 平成15年12月26日

出願番号 PC-9040

発明の名称 センチネルリンパ節検出剤及びその検出方法

出願日 平成16年03月08日

出願番号 PC-9113

II. 分担研究報告

ナノサイズ・センシングカプセルの新規開発と医療応用
動物をモデルとした新規センチネルリンパ節蛍光検出生検法およびX線造影剤開発
に関する研究

（分担）研究者 武田 元博 東北大学病院 助手

研究要旨

新規センシングナノカプセルの創製による新たな診断治療薬の開発を目指して、センチネルリンパ節生検におけるナノサイズセンシングカプセルの最適な蛍光波長、サイズの決定を継続を行い、AgI、蛍光ビーズを用いたシリカコーティングビーズ作製とその有用性、安全性評価のための動物実験を行った。

A 研究目的

本研究はフローレン・ネットワーク、コーティング剤を薬剤のカプセルとして用いることで、これまで生体に応用できなかった試薬を医療検査薬として活用し、かつアレルギー等の副作用が問題となっている検査薬品の副作用を完全に排除し、技術の確立を目的とする。筆者らはセンシングナノカプセルをセンチネルリンパ節生検に応用するべく、昨年度決定した最適な波長、サイズに基づき、本年度はシリカコーティングナノカプセルの有用性の検討を主目的に研究を行った。

B 研究方法

研究方法=センシングナノカプセルをセンチネルリンパ節生検に応用するべく、下記のテーマについて検討を行った。

1 新規蛍光ビーズを用いた有用性・安全性試験 粕谷、小林芳男らが作製したシリカコーティング蛍光ビーズを用いて、基礎的な蛍光特性、動物実験モデルによ

る最適な蛍光特性、サイズ等計測条件の検討を行い臨床への応用を目指す。その際体内分布等安全性についても検討を行う。

2 X線造影剤の開発 粕谷、小林芳男らが作製したヨード内包センシングナノカプセルを用い、CTによるX線撮影、TEMによる粒径の計測をおこない、実用化に向けた検討を行う。

3 新規蛍光画像装置の試作 分担研究者である小林正樹と共同で、動物をモデルとした蛍光計測に必要な試作機的设计・試作を行い、性能を評価する。

倫理面への配慮

本研究は現在までのところ、動物実験による有効性および安全性の検証が主目的である。動物を用いた実験はすべて全身麻酔下に行っており苦痛を伴うものではない。また本研究における動物実験計画は既に本学の動物実験委員会に実験計画書を提出し、認可されている。

C 研究結果

1 新規蛍光ビーズを用いた有用性・安全性試験 昨年度決定した最適な蛍光波長、サイズ 具体的には径40nm、蛍光波長720nmおよび755nmの市販蛍光ビーズを用いて作製したコーティングビーズを用いてセンチネルリンパ節計測を行った。その結果、コーティングビーズもセンチネルリンパ節計測に利用できることが明らかになった。しかしコーティングによりサイズの増大が避けられないため、造影率の低下が認められた。この内容は平成16年度第104回日本外科学会総会で報告予定である。

粕谷、小林芳男らが作成したシリカコーティング蛍光ビーズを実験に供した。現在有効性と安全性について検討を進めている。

2 X線造影剤の開発 粕谷、小林芳男らと共にヨード内包コーティングビーズの作製を行った。現在、動物モデルおよびX線撮影装置による有用性評価と最適なサイズ等の条件について検討を行っており、特許出願の準備を進めている。この内容についても平成16年度第104回日本外科学会総会で報告予定である。

3 新規蛍光画像装置の試作（小林正樹、武田ら） 昨年度試作した超高感度蛍光画像計測装置を用いてシリカコーティングビーズの蛍光特性評価を行った。その結果、シリカコーティングによって蛍光ビーズの蛍光寿命延長が生じることが明らかになった。この装置を用いて動物をモデルとした新規蛍光センチネルリンパ節生検法の開発を進めていく予定である。またある程度大型の動物実験を行うため

の移動型高感度蛍光計測装置を試作した。さらに当初の計画に入れていなかったが、蛍光計測法の応用範囲を拡げる為、鏡視下蛍光観察装置を試作した。

D 考察

1 新規蛍光ビーズを用いた有用性・安全性試験 今後、さらに最適なコーティングビーズの蛍光特性を探ると共に、可能であれば粕谷らが作製した、より蛍光効率の高い Gd/Se 蛍光ビーズについても動物実験を行い、有用性・安全性の検討を行う必要がある。またコーティング材料、厚さなど最適なコーティング技術を今後も目指す必要があり、随時動物実験を行い、得られたビーズの有用性、安全性を検証して行きたい。

2 X線造影剤の開発 粒径、X線透過特性の計測終了後、動物実験による有効性、安全性の検討を行う予定である。

3 新規蛍光画像装置の試作（小林、武田ら） 生体極微弱発光計測技術を応用した新規超高感度蛍光画像計測装置を用いてより深部方向の対象を計測する技術の開発を進めていく予定である。また、移動型装置や鏡視下観察装置を用いて新たな応用法を実証する必要がある。

E 結論

以上の実験によりナノサイズセンシングカプセルは新たな医療診断技術として利用可能であることがわかってきた。今後も研究を進め、さらに新しい応用や新しい診断技術の開発が期待される。

F 健康危惧情報

現在までのところ、本研究は人間を対象としたものではないため、健康に対する害は生しない。

G 研究発表

1 論文発表

- 1) Takeda M, Ishida T, Ohnuki K, Suzuki A, Sakayori M, Ishioka C, Nomizu T, Noguchi S, Matsubara Y, Ohuchi N. Collaboration of Breast Cancer Clinic and Genetic Counseling Division for BRCA1 and BRCA2 Mutation Family in Japan. *Breast Cancer*, 11(1), 30-32, 2004
- 2) Shiraishi K, Kato S, Han S-Y, Liu W, Otsuka K, Sakayori M, Ishida T, Takeda M, Kanamaru R, Ohuchi N, Ishioka C. Isolation of temperature-sensitive p53 mutations from a comprehensive missense mutation library. *J Biol Chem*, 279 (1) 348-355, 2004
- 3) Amari M, Moriya T, Harada Y, Ishida T, Ohnuki K, Takeda M, Sasano H, Horii A, Ohuchi N. LOH analyses of asynchronous lesions of ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol*, 33(11) 556-562, 2003
- 4) 大内憲明、武田元博、川添良幸、佐竹正延、粕谷厚生。クラスター利用ナノ医療。ナノ学会会報、1 (2) 101-105, 2003
- 5) 大内憲明、石田孝宣、大貫幸二、武田元博、石橋忠司、非浸潤性乳管癌 放射線科医師に直面する課題と展望。臨床放射線、48 (7)、803-809、2003

2 学会発表

- 1) 石田孝宣、大貫幸二、武田元博、鈴木昭彦、田澤篤、中島護雄、宇佐美伸、多田寛、大内憲明、当科における非浸潤癌の乳癌温存療法の成績。第 103 回日本外科学会 平成 15 年 6 月 6 日
- 2) 武田元博、小林正樹、高山昌理子、中島護雄、楊 明、石田孝宣、大貫幸二、森谷卓也、大内憲明 新規計測用チャンバーを用いた乳腺腫瘍組織の生物フォトン画像計測 第 103 回日本外科学会 平成 15 年 6 月 6 日
- 3) 石田孝宣、大貫幸二、武田元博、大内憲明、当科における両側乳癌症例の検討。第 11 回日本乳癌学会 平成 15 年 6 月 13 日
- 4) 武田元博、石田孝宣、大貫幸二、酒寄真人、石岡千加史、野水整、野口眞三郎、福島雅典、松原洋一、大内憲明家族性乳がん保因者における遺伝子診療体系の確立。第 11 回日本乳癌学会 平成 15 年 6 月 13 日
- 5) 大貫幸二、石田孝宣、武田元博、鈴木昭彦、鈴木昭彦、宇佐美伸、大内憲明、初回受診者と繰り返し受診者の発見率から見た乳癌検診の精度管理、第 13 回日本乳癌検診学会 平成 15 年 11 月 21 日
- 6) 宇佐美伸、大貫幸二、石田孝宣、武田元博、鈴木昭彦、鈴木昭彦、大内憲明、検診発見の微細石灰化病変に対する診断方法についての検討、第 13 回日本乳癌検診学会 平成 15 年 11 月 21 日
- 7) Tada H, Satake M, Kaei T, Takeda M, Nakajima M, Kawazoe Y, Kasuya A, Ohuchi N. Breast cancer cell imaging by nanocrystals semiconductor QD conjugated with anti-HER2 antibody 24th IABCR, Nov 11 2003

Ⅱ 知的財産権の出願登録状況
研究代表者と同じ

ナノサイズ・センシングカプセルの新規開発と医療応用

量子力学計算による医療用新物質探索と物性予測

（分担）研究者 川添 良幸 東北大学金属材料研究所

（分担）研究者 水関 博志 東北大学金属材料研究所

研究要旨

我々が用いているGW近似法は、標準理論である密度汎関数理論と局所密度近似に基づく第一原理計算法に電子交換相関相互作用を取り込むためのHedinによる電子ガス理論からの大きな寄与によって成り立っている。今回シリコンクラスター及び金属内包シリコンフラーレンに対するGW近似計算を行い、初めてシリコンクラスター及び金属内包シリコンフラーレンに対してイオン化ポテンシャル及び電子親和力の絶対値算定に成功した。

A 研究目的

本プロジェクトでは、かん部位の詳細決定のために必要とされるナノスケールの機能性粒子として、最初に市販されている数十ナノメートルサイズのCdSe微粒子を採用し、マウスを用いて実用性確認試行を行った。既に、従来のRIや有機色素に比べて30倍以上の発光強度とレーザー照射後、数十分という長寿命の発光時間を有し、体内での発光を外部から十分に測定できることを確認している。また、昨年度は、実験と理論の共同研究として、第一原理シミュレーション計算により、量子効果の著しいCdSeの1ナノメートルサイズの魔法数クラスター大量合成と形状及び物性予測を行った。¹⁾ このクラスターは、従来からの炭素原子のみから構成されたフラーレンやカーボンナノチューブ、また単一元素系を安定化させるための1金属原子添加金属内包フラーレンとは全く異なり、2元合金クラスターとして最初のナノメートルサイズ

における安定粒子であり、今後、周期律表中の各種組合せに対して幅広い探索かなされることか期待される。図1に原子構造を示す。2元合金の種類は3千もあり、成分や構造の自由度も考慮すれば、まさに無限の可能性が存在する。さらに、現在の標準理論である密度汎関数理論と局所密度近似に基づく第一原理計算法をはるかに越えたより高精度の量子力学計算法の定式化とその活用により、継続的に、さらなる高機能性粒子の理論設計を試みている。

B 研究方法

1 第一原理計算とは何か？

80年台の終わり頃から、第一原理計算（first principles calculation、*ab initio* method）という用語が、物理、化学、薬学、材料、さらには生体研究等の幅広い分野に多数登場するようになった。物質は、半導体であろうがタンパク質で

あろうが、全て同じ体系、即ち、量子力学の法則に従いクーロン相互作用する多数の電子と原子核からなる多体系である。すなわち、既に世の中に存在する、またはこれから創製したい物質は、量子力学の方程式を解くことによって、その構造を完全に決定でき、その物理・化学的性質から生起する反応まで完全に予測可能である。全く実験値を使わないため、実験に頼らず、電子・原子レベルでのシミュレーション計算により、試験管の代わりに、「計算機の中で」要求仕様に合致した物質を合成することができる。これが、理想的な第一原理計算による新物質設計である。

2 GW近似法

本研究の基盤となっているシリコンクラスター及び金属内包シリコンフラーレンに対するGW近似計算を行い、そのイオン化ポテンシャル及び電子親和力の絶対値算定に成功した。GW近似法は、標準理論である密度汎関数理論と局所密度近似に基づく第一原理計算法に電子交換相関相互作用を取り込むためのHedinによる電子ガス理論からの大きな寄与である。本研究では、従来行われていた擬ポテンシャル法と平面波展開による結晶のフロンティア電子状態計算の枠のレベルを超え、我々が独自に開発している全電子混合基底法により、複雑な構造体に対する全電子状態の絶対値算定を可能としたものである。通常的第一原理計算は基底状態を対象としているため、このような励起状態を含む物理量の絶対値算定は不可能である。

3 シリコンフラーレン

炭素の新ナノスケール構造体であるフラーレンとナノチューブは、1985年の発見以来、精力的に研究されて来たが、シリコンのナノ構造体に関しては、まだ十分な探索がなされていない。その主な理由は、20量体程度のシリコンクラスターは9ないし10量体を組み合わせた極めて歪んだ形をしており、あまり安定ではないことが知られているからである。我々は、スーパーコンピュータを活用した第一原理シミュレーション計算によって、シリコンクラスター及び金属内包シリコンフラーレンに対して、イオン化ポテンシャル及び電子親和力の絶対値算定を行った。

倫理面への配慮

本研究は現在までのところ動物、人体を対象とした実験を行っていないため倫理的問題は生じない。

C 研究結果

今回の成果が、始めてシリコンクラスター及び金属内包シリコンフラーレンに対して、イオン化ポテンシャル及び電子親和力の絶対値算定に成功したものである。これらの値から、表1に示すHOMO-LUMO (Highest Occupied Molecular Orbital - Lowest Unoccupied Molecular Orbital) ギャップが求まるため、対象とするクラスターの発光色が理論的に確定または予言できた。表1を見れば明らかに、通常なされている局所密度近似(LDA)やハートレーフォック近似(HFA)は正しい算定を与えず、理論的根拠の薄いハイブリッド模型(単にLDAとHFAに対する操作)がそ

れなりの値を出すのみである。

D 考察

現在、単元素シリコンクラスターに対しては、実験結果があり、本シミュレーション結果と良い一致を示している。また、金属内包シリコンフラーレンに対しては、質量スペクトルに特異的なピークが見られ、魔法数クラスターであることが確認され、今後の大量合成と単離、物性測定が望まれている状況である。

シリコンは極めて高精度で精製され、安価なため、工業上、今後とも極めて重要な元素であり、この新構造体の発見は、近い将来のシリコン基ナノデバイス設計に大きな奇与をなすものと期待される。この金属内包シリコンクラスターのようなナノスケールの物質には可視光発光物質があり、それら安全なセンチネルリンパ節生検による最小手術へ応用することも可能である。単独のクラスターだけでも、各種の新規な物性が期待出来るが、さらにこれらを組み合わせた構造体を考える。クラスターを結合して2量体が構成できる。例えば、(a)Zrとか(b)Tiを内包したシリコン16量体2個を結合した擬似分子が可能である。(a)の場合は、フラーレン構造を保持しながら結合しており、次々と同様の操作を行えば金属内包シリコンナノチューブを構築できる。一方、(b)では、結合はファンデルワール式的で弱く、クラスターは安定に存在するため、クラスターの独自性を保ったまま、自己組織化を行わせることが出来る。同様に、磁性を持つ金属内包シリコンクラスターを自己組織化させれば、ナノ磁気記録媒体の創製が可能となる。これらの中には半金属

も見つかっており、スピントロニクス用材料として有望である。このように、クラスターを大量に作成し、それらを組み合わせて有用な物性を有する構造体を作る、というアイデアは、真にナノテクノロジーの手法である。

E 結論

シリコンフラーレンを初めとして、多くの可能性のある発光素子用ナノスケールクラスターを「計算機の中で」仮想実験として生成し、その物性の詳細を検討している。その中で、CdSe、シリコンクラスターは有望な素材である。将来、これらの有用物質が大量に合成され、計算機シミュレーションとの共同研究によって、加速度的に機能性の高い新物質を創製することが可能となることが予測される。

F 健康危惧情報

現在までのところ、本研究は人間を対象としたものではないため、健康に対する害は生しない。

G 研究発表

論文発表

参考文献

- 1) Ultra Stable Nanoparticles of CdSe Revealed from Mass Spectrometry, Atsuo Kasuya, Rajaratnam Sivamohan, Yoru A Barnakov, Igor M Dmitruk, Takashi Nirasawa, Volodymyr R Romanyuk, Vijay Kumar, Sergiy V Mamykin, Kazuyuki Tohji, Balachandran

Jeyadevan, Kozo Shinoda, Toshiji Kudo,
Osamu Terasaki, Zheng Liu, Rodion V
Belosludov, Vijayaraghavan
Sundararajan and Yoshiyuki Kawazoe,
Nature Materials 3 (2004) pp 99 102

Materials Physics 68[19] (2003)
pp 1954121-1954125

Ⅱ 知的財産権の出願登録状況
研究代表者と同じ

2) Breakdown of time reversal symmetry
of photoemission and its inverse
in small silicon clusters,
Soh Ishii, Kaoru Ohno, Vijay Kumar and
Yoshiyuki Kawazoe,
Phys Rev B Condensed Matter and

表1 Be内包シリコンフラーレンのHOMO-LUMOギャップ値 (eV)。通常なされている局所密度近似 (LDA) やハートレーフォック近似 (HFA) では、全く異なる値になっている。ハイブリッドモデル (B3LYP) は、GW近似に近い値を出すか、理論的根拠の薄い経験模型である。

	LDA	HFA	B 3 L Y P	GWA
I P	5 25	7 17	7 06	6 9
E A	3 57	0 59	1 78	1 5
G a p	1 68	6 58	5 28	5 3

図1 理論的に決定されたCdSeナノ粒子の構造。かご上の構造を持つ極めて安定な魔法数クラスター。実験的には、質量スペクトルに大量合成されたことが確認され、物性が計られ始めている。

