

近傍の細胞は、遠方の細胞に比べ膜蛋白質HER2やPAR1がより動的な状態にあることを示している。*in vitro*の結果を考慮すると、血管近傍の細胞は、遠方の細胞に比べ細胞全体に渡りアクチン繊維の重合・脱重合活性が活発であり、その結果HER2やPAR1の拡散性が増大し、浸潤突起形成を活性化しているのかもしれない。この活性化は腫瘍細胞の血管方向への運動に寄与していると考えられる。

#### E. 結論

本研究では、独自の *in vivo* イメージング装置を用いてがん転移に重要な腫瘍細胞の膜動態をナノメーター、ミリ秒スケールでイメージングすることに成功した。その結果、血管近傍細胞は、遠方の細胞に比べ、アクチン繊維ダイナミクスが活発であり、これによりHER2やPAR1の拡散性が増大し、浸潤突起形成を促進させている可能性が示唆された。これまでは技術的な問題のため、このような分解能で腫瘍内の細胞を可視化し、細胞動態を議論することは出来なかった。

しかし、本研究によって新たな *in vivo* イメージング法が確立し、*in vivo*における細胞動態の本質に迫ることが可能となった。今後は、本研究によって開発された *in vivo* イメージング技術の精度をさらに発展させると共に、抗がん剤のがん転移への効果を1細胞レベルでリアルタイム観察する技術に応用したいと考えている。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ① Watanabe TM, Sato T, Gonda K, and Higuchi H. Three-dimensional nanometry of vesicle transport in a living cell using dual-focus imaging optics. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 359, 1-7, 2007.
- ② Gonda K, Oami K, Takahashi M. Centrin controls the activity of the ciliary reversal-coupled voltage-gated  $Ca^{2+}$  channels  $Ca^{2+}$ -dependently. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 362, 170-176, 2007.
- ③ Yoo J, Kambara T, Gonda K, Higuchi H. Intracellular imaging of targeted proteins labeled with Quantum Dots. *Experimental Cell Research*, 314, 3563-3569, 2008.

##### 2. 学会発表 (筆頭著者のみ)

- ① Gonda K, Watanabe TM, Higuchi H. Imaging of membrane protrusion of cellular migration in tumor using quantum dots. International Symposium on Bio-nanosystems, September, 2006 Matsushima, Japan
- ② Gonda K, Watanabe TM, Higuchi H. Imaging of membrane protrusion of cellular migration in tumor using quantum dots. 5th East Asian Biophysics Symposium & 44rth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, November, 2006 Okinawa, Japan

厚生労働科学研究費補助金 (医療機器開発推進研究事業)  
平成 18-20 年度 分担研究報告書

コア-シェル型造影ナノ粒子の作製法の開発に関する研究

(分担) 研究者 小林 芳男 茨城大学工学部 教授

研究要旨

市販の X 線造影剤あるいは MRI 造影剤にはアレルギーや毒性を発現するものもある。造影能を有する材料を微粒子化 (造影粒子) し、それを生体に対して無毒な材料でカプセル化を行えば、造影粒子が直接生体と触れることがなくなるため、これらアレルギーや毒性を抑制できると予想される。本研究では、X 線造影粒子として AgI ナノ粒子を、MRI 造影粒子として Gd 化合物ナノ粒子を対象として、各ナノ粒子のシリカカプセル化法の開発および造影特性の検討を行った。また、造影粒子に抗体タンパク質を担持させると患部に特異吸着して造影効率を高めることが期待される。本研究ではタンパク質の担持方法の開発も行った。

A. 研究目的

X 線あるいは MR 造影剤はアレルギー等の副作用が問題となっている。また、これらの造影剤は溶液状であるので、分析部位に長時間留まることができないため、安定した造影を行うことが困難である。その解決策として造影能を有する材料のカプセル化が考えられる。これにより、造影剤と生体が直接接触することを防ぎ、さらには体液中での造影剤の流速を制御できると予想されるので、良好な造影能を発現することが期待される。本研究は、X 線造影能を有するヨード化合物として合成が比較的容易な AgI を、MR 造影能を有する物質として知られる Gd を取り上げ、これらの材料のシリカカプセル化法を開

発することを目的とする。また、得られた粒子の造影能の評価やタンパク質担持法の開発も行う。

B. 研究方法

B-1. 各種複合粒子の作製

B-1-1. シリカカプセル化 AgI ( $\text{AgI}/\text{SiO}_2$ ) 粒子コロイドの高濃度化 ( $10^{-3} \text{ mol/l}$ ) : これまで開発してきた  $\text{AgI}/\text{SiO}_2$  粒子コロイドの作製法では、ヨード濃度が  $10^{-4} \text{ mol/l}$  という低濃度であった。本検討では、AgI ナノ粒子の分散性を考慮して、これまでよりも 10 倍高ヨード濃度 ( $10^{-3} \text{ mol/l}$ ) の  $\text{AgI}/\text{SiO}_2$  粒子コロイドの作製を行った。以下に手順を示す。過塩素酸銀 ( $\text{AgClO}_4$ ) 水溶液をヨウ化カルシウム (KI)

水溶液に添加し、AgIコロイド溶液を調製した。これにシランカップリング剤である(3-mercaptopropyl) trimethoxysilane (MPS)を加え、その15分後にエタノール、Tetraethoxy silane (TEOS)、DMFを順に加えることでAgI/SiO<sub>2</sub>複合粒子を作製した。[AgI]=1.0×10<sup>-3</sup> mol/lとした。

B-1-2. amine-freeシリカカプセル化法の開発：1-1の方法ではアミン系触媒が用いられていた。アミンは生体に対して有毒であることが知られている。そこで、本検討では、アミン系触媒を用いない、すなわちamine-freeシリカカプセル化法の開発を行った。手順は、1-1の方法の中でDMFの代わりにNaOHを用いる以外は同様である。[AgI]=1.0×10<sup>-3</sup> mol/lとした。

B-1-3. 追添加シリカカプセル化法の開発～さらなる高濃度化 (5.0×10<sup>-3</sup> mol/l)に向けて～：上記のamine-freeシリカカプセル化法により[AgI]=1.0×10<sup>-3</sup> mol/lとなるように各試薬濃度を調整してAgI/SiO<sub>2</sub>複合粒子を作製した。これを1サイクルとし、このサイクルを5回繰り返した。したがって、[AgI]=5.0×10<sup>-3</sup> mol/lになることになる。

B-1-4. AgI/SiO<sub>2</sub>粒子の表面修飾およびタンパク質の担持：タンパク質はアミノ基やカルボキシル基と結合するものが多い。本研究では、粒子表面のアミノ化およびカルボキシル化を検討した。

AgI/SiO<sub>2</sub> 粒子コロイドにaminopropyltrimethoxysilaneを作用させることにより粒子表面のアミノ化を行った(AgI/SiO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>)。さらにsuccinic anhydride/DMF溶液を作用させることにより、カルボキシル基を表面に導入した

(AgI/SiO<sub>2</sub>-COOH)。タンパク質の担持はこれらの各表面修飾試料コロイドにタンパク質水溶液を添加することにより行った。用いたタンパク質は牛血清アルブミン(BSA)である。

B-1-5. SiO<sub>2</sub>/Gd/SiO<sub>2</sub>多層複合粒子の作製法の開発：Stöber法により調製した球状単分散シリカ粒子をコアとし、Gd化合物を均一沈殿法でコーティングし、さらにその外側をStöber法によりシリカでカプセル化して多層カプセル化粒子とした。

B-1-6. シリカカプセル化Gd化合物(Gd/SiO<sub>2</sub>)複合粒子の作製法の開発：B-1-4においてシリカ粒子をコアとして用いた理由は、Gd化合物単独では微細な粒子を合成することが困難であるからである。また、シリカコアの使用により、粒子中のGdを高濃度にするには困難である。一方、分散安定剤種や各種濃度条件等は粒子の形状や大きさに大きな影響を及ぼすことが予想できる。したがってこれらの影響を詳細に検討することにより、得られる知見が微細複合粒子の作製法の確立に反映できる可能性がある。本節では、Gd化合物粒子を均一沈殿法により調製し、これをコアとしてStöber法によりシリカコーティングを行う方法の開発に取り組んだ。

## B-2. キャラクターリゼーション

粒子の形状を透過型電子顕微鏡(TEM)により調べた。TEM観察用試料は、コロジオン膜貼り付けCuメッシュにコロイド溶液を直接的かして乾燥させることにより作製した。粒子の表面状態は光電子分光装置(XPS)およびレーザーゼータ電位計によりそれぞれ調べた。BSAの吸着量は



分光光度法により測定した。

#### 倫理面への配慮

本研究は現在までのところ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。また、動物実験は全て麻酔下で行い、動物愛護に十分配慮してある。

### C. 研究結果

C-1. AgI/SiO<sub>2</sub>粒子コロイドの高濃度化 (10<sup>-3</sup> mol/l) : 作製時における各種試薬の濃度条件を適切に定めることにより、良好なAgI/SiO<sub>2</sub>粒子が作製できた。図1に得られたカプセル化粒子のTEM像の一例を示す。平均粒子径約30nm程度のカプセル化粒子が観察された。この成果に関しては、第8回化学工学会学生発表会一関大会 および The 4th International Conference on Advanced Materials (ICAMP-4)で報告し、その概要はAdvanced Materials Research誌にまとめられている。また、このカプセル化粒子は良好なX造影能を発現することを確認した。この内容に関しては、The 25th Congress of the International Association for Breast Cancer Researchで報告し、その概要はBreast Disease誌にまとめられている。

C-2. amine-freeシリカカプセル化法の開発 : 図2に種々のTEOS濃度において合成したAgI/SiO<sub>2</sub>複合粒子のTEM像を示す。TEOS濃度が低いとき(図2(a), (b))は、AgI粒子はカプセル化されず単独のAgI粒子の周りにゲル状のシリカ粒子が析出しているのが観察された。TEOS濃度を4.0 mmol/l

以上にするとAgI粒子はシリカによって良好にカプセル化されるようになった。

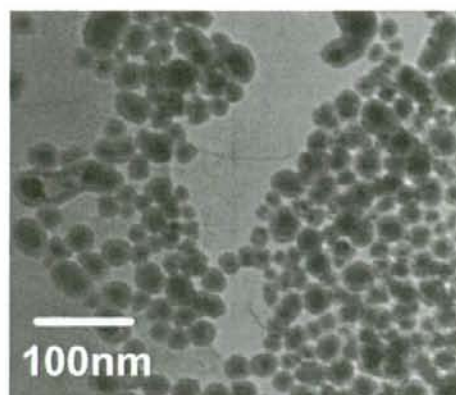


図1. シリカカプセル化 AgI ナノ粒子の TEM 像。

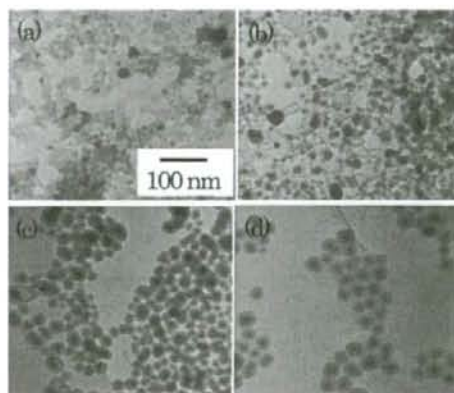


図2 種々のTEOS 濃度において合成した AgI/SiO<sub>2</sub>複合粒子のTEM像。  
[TEOS] = (a) 0.4, (b) 1.0, (c) 4.0, (d) 8.0 mmol/l, [MPS] = 0.045 mmol/l, [NaOH] = 1.1 mmol/l, [KI] = 2 mmol/l, [AgClO<sub>4</sub>] = 1mmol/l, [H<sub>2</sub>O] = 20 mol/l

また、各カプセル化粒子の平均粒径および分散度はそれぞれ28.3 nmおよび20.8% (図2(c))、31.6 nmおよび16.6% (図2(d))であり、従来よりも小粒径のAgI/SiO<sub>2</sub>複合粒子を合成することができた。この成果に関しては、The 9th Annual Conference of the Yugoslav Materials Research Society (YUCOMAT 2007) (Herceg Novi, Montenegro, September 2007)で報告し、その概要はSurface Engineering誌にまとめられている。

C-3. 追添加シリカカプセル化法の開発：図3に追添加法により調製したAgI/SiO<sub>2</sub>複合粒子のTEM画像を示す。12.7~54.5 nm程度のAgIナノ粒子を包含したシリカカプセル化複合粒子を比較的良好に作製することができた。この成果に関しては、化学工学会第73年会（静岡、2008年3月）で報告した。

C-4. AgI/SiO<sub>2</sub>粒子の表面修飾およびタンパク質の担持：図4に各表面修飾粒子のTEM像を示す。各表面修飾後も、凝集や癒着、あるいはコア-シェル構造の損傷等は見られなかった。図5にゼータ電位を示す。アミノ化により、等電点が高pH側に、カルボキシル化により、再び低pH側にそれぞれシフトした。このことから、アミノ化とカルボキシル化が良好に行われたことが窺われる。図6にAgI/SiO<sub>2</sub>-COOHのXPSスペクトルを示す。カルボキシル化により、C=Oのピークが現れた。このことも、カルボキシル基の導入を示している。タンパク質担持実験によると、表面修飾により、よりBSAが吸着することがわかった。これに関しては、第61回コロイドおよび界面化学討論

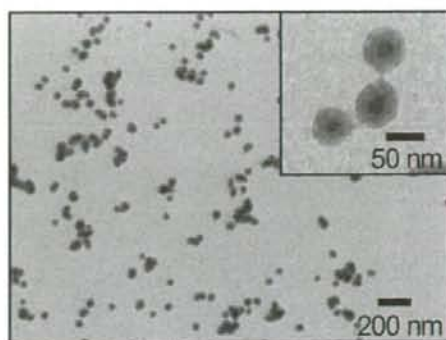


図3 追添加法により調製したAgI/SiO<sub>2</sub>複合粒子のTEM像。

[TEOS] = 0.04 mol/l, [MPS] = 0.23 mmol/l, [NaOH] = 1.1 mmol/l, [KI] = 6.0 mmol/l, [AgClO<sub>4</sub>] = 5.0 mmol/l, [H<sub>2</sub>O] = 20 mol/l

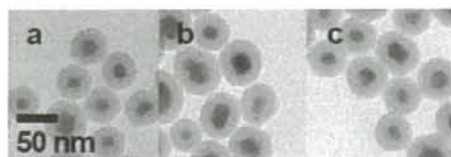


図4. 各粒子のTEM像。  
(a) AgI/SiO<sub>2</sub>粒子、(b) AgI/SiO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>粒子、  
(c) AgI/SiO<sub>2</sub>-COOH粒子

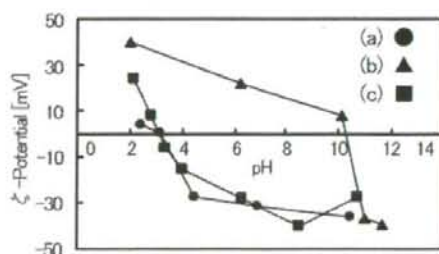


図5. 各粒子のゼータ電位のpH依存性。  
(a) AgI/SiO<sub>2</sub>粒子、(b) AgI/SiO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>粒子、  
(c) AgI/SiO<sub>2</sub>-COOH粒子

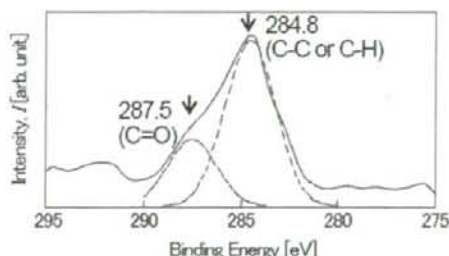


図6. AgI/SiO<sub>2</sub>-COOH粒子のCl<sub>1s</sub>XPSスペクトル。

会で報告した。

C-5.  $\text{SiO}_2/\text{Gd}/\text{SiO}_2$  多層複合粒子の作製法の開発：図7にGdを用いたカプセル化粒子のSTEM像を示す。 $\text{SiO}_2/\text{Gd}$ 粒子では、単独のGd化合物は観察されず、Gd化合物シェルが形成した。 $\text{SiO}_2/\text{Gd}/\text{SiO}_2$ 粒子に関しては、Gdシェルの上にシリカシェルが形成しているのが確認できた。図8に各種試料のMRI像を示す。いずれの粒子分散液も造影可能であり、明瞭なMRI像が得られた。このため、MRI造影剤としての利用が期待される。これに関しては、The 25th Congress of the International Association for Breast Cancer Researchで報告し、その概要はBreast Disease誌にまとめられている。

C-6.  $\text{Gd}/\text{SiO}_2$  複合粒子の作製法の開発：図9aおよびbにPVPおよびSDSをそれぞれ安定剤として用いて作製したGd化合物粒子のTEM像を示す。粒径はそれぞれ  $51.84 \pm 12.16$  nm (a)および  $38.92 \pm 6.04$  nm (b)であった。図9cおよびdにそれぞれこれらの粒子を用いて作製した $\text{Gd}/\text{SiO}_2$ 粒子のTEM像を示す。いずれも5~10 nm程度のシリカ層が形成されている様子が観察された。現在、発表の準備を行っている。

#### D. 考察

D-1.  $\text{AgI}/\text{SiO}_2$  コア-シェル型複合粒子：得られた $\text{AgI}/\text{SiO}_2$ 粒子は良好なX線造影能を有することが確認できた。また、これまでに開発した $\text{AgI}$ ナノ粒子のシリカカプセル化法の改良を行った。具体的には、amine-free法および追添加法である。各種濃度条件を変化させると、系のイオン強

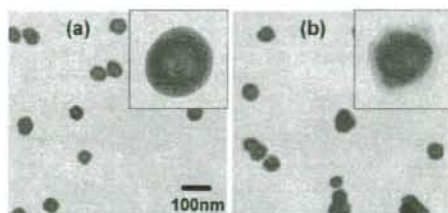


図7. 各種粒子のSTEM像。  
(a)  $\text{SiO}_2/\text{Gd}$ 粒子, (b)  $\text{SiO}_2/\text{Gd}/\text{SiO}_2$ 粒子.

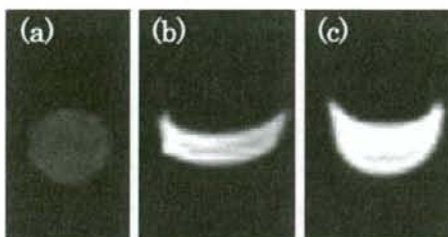


図8. 各種試料のMRI像 (T1強調)  
(a)  $\text{H}_2\text{O}$ , (b)  $\text{SiO}_2/\text{Gd}$ 粒子, (c)  $\text{SiO}_2/\text{Gd}/\text{SiO}_2$ 粒子.

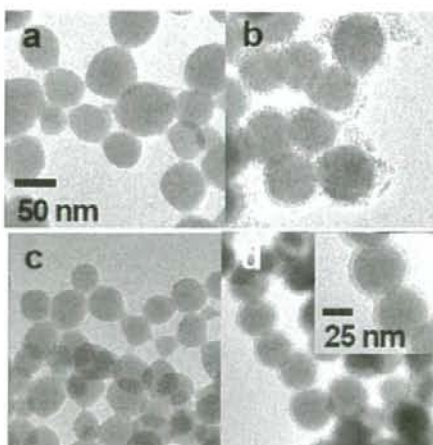


図9. 各粒子のTEM像。  
(a, c) Gd粒子, (b, d)  $\text{Gd}/\text{SiO}_2$ 粒子  
(a, b) PVP使用, (c, d) SDS使用

度に変化する。イオン強度は微粒子の分散凝集状態を決める重要な要素の一つであるため、各種濃度条件は、得られる複合粒子の形態を決める。以上の点を踏まえて、各種濃度を変化させて複合粒子を合成し、TEM観察による結果を総合するこ



とによって、良好な複合粒子が生成する適切な条件を見つけることができた。得られたシリカカプセル化AgIナノ粒子はX線造影能を発現することが確認された。また、表面修飾を行うことによりタンパク質の担持が可能であることがわかった。この結果は、患部への特異吸着の可能性を示しており、センチネルリンパ節生検技術の実用化に向けて今後の展開が期待される。

D-2. Gd-SiO<sub>2</sub>系コア-シェル型複合粒子：得られたSiO<sub>2</sub>/Gd/SiO<sub>2</sub>多層複合粒子はMR造影能を有することが確認された。各種センシングへの応用が期待できる。また、シリカをコアと用いずともGd/SiO<sub>2</sub>コア-シェル型複合粒子の合成が可能であることがわかった。この複合体粒子は粒子1個あたりのGd含有量がSiO<sub>2</sub>/Gd/SiO<sub>2</sub>多層複合粒子に比べて大きいので、より鮮明な画像化が可能であると予想される。これらのGd-SiO<sub>2</sub>系コア-シェル型複合粒子コロイドは濃度が小さいため、画像化に用いるコロイド溶液を準備するためには、合成したコロイド溶液を多段階、長時間工程により濃縮する必要がある。したがって、実用的には高濃度でしかも分散性が優れるコロイド溶液を用いる必要があるため、今後はこれらの点を解決する技術の開発が必要となる。

## E. 結論

液相中での化学反応を利用して、各種シリカカプセル化ナノ粒子の作製に成功した。得られた複合粒子は、新たな医療診断材料としての利用が期待される。そのため、当複合粒子を用いた診断技術の

開発も今後の検討課題の一つである。

## 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) Sakurai Y, Takeda M, Kawazoe Y, Kasuya A, Kobayashi Y, Kamei T, Nakajima M, Ohuchi N. Nanosized Silver Iodide Beads as New Contrast Media for Sentinel Lymph Node Navigation Surgery. Breast Disease, 25, 55-56, 2006
- 2) Takeda M, Kobayashi Y, Sakurai Y, Cong L, Ishida T, Suzuki A, Amari M, Ohuchi N. Detection of Sentinel Lymph Nodes by Novel MR Contrast Media, Breast Disease. 25, 47, 2006.
- 3) Kobayashi Y, Misawa K, Takeda M, Ohuchi N, Kasuya A, Konno M, Control of Shell Thickness in Silica-Coating of AgI Nanoparticles. Advanced Materials Research, 29-30, 191-194, 2007.
- 4) Kobayashi Y, Shimizu N, Misawa K, Takeda M, Ohuchi N, Kasuya A, Konno M, "Preparation of Amine-Free Silica-Coated AgI Nanoparticles with Modified Stöber Method," Surface Engineering, 24, 248-252, 2008.

### 2. 学会発表

- 1) 清水直樹、小林芳男、武田元博、大内憲明、今野幹男、X線造影用AgI/SiO<sub>2</sub>コア-シェル型複合粒子の合成。第8回化学

工学会学生発表会（一関大会）平成 18 年 3 月、一関。

2) Kobayashi Y, Misawa K, Takeda M, Ohuchi N, Kasuya A, Konno M, Control of Shell Thickness in Silica-Coating of AgI Nanoparticles, The 4th International Conference on Advanced Materials (ICAMP-4) 2006, Hamilton, New Zealand.

3) Sakurai Y, Takeda M, Kawazoe Y, Kasuya A, Kobayashi Y, Kamei T, Nakajima M, Ohuchi N, Nanosized Silver Iodide Beads as New Contrast Media for Sentinel Lymph Node Navigation Surgery, The 25th Congress of the International Association for Breast Cancer Research, 2006, Montreal, Canada.

4) Kobayashi Y, Shimizu N, Takeda M, Ohuchi N, Kasuya A, Konno M, Preparation of Amine-Free Silica-Coated AgI Nanoparticles with a Modified Stöber Method, The 9th Annual Conference of the Yugoslav Materials Research Society (YUCOMAT 2007), 2007, Herceg Novi, Montenegro.

5) 湊真理絵、小林芳男、液相法による AgI/SiO<sub>2</sub> 複合粒子の作製法の開発の研究。第 18 回日本化学会関東支部茨城地区研究交流会 平成 19 年 11 月、水戸。

6) 湊真理絵、小林芳男、武田元博、粕谷厚生、大内憲明、AgI/SiO<sub>2</sub> 複合粒子コロイドの調製法の開発。化学工学会第 73 年会 平成 20 年 3 月、浜松。

7) 湊真理絵、小林芳男、武田元博、粕谷厚生、大内憲明、医療検査用コア-シェル型複合粒子の合成に関する研究。第 61

回コロイドおよび界面化学討論会、平成 20 年 9 月、福岡。

H. 知的財産権の出願登録状況  
準備中



多元イメージングナノ粒子の超臨界水熱合成に関する研究

分担研究者 名嘉節 東北大学多元物質科学研究所 准教授  
 分担研究者 高見誠一 東北大学多元物質科学研究所 准教授  
 分担研究者 北條大介 東北大学多元物質科学研究所 助教

研究要旨 本研究では、各種イメージングを1つのナノ粒子で可能とする多元イメージングナノ粒子の合成に取り組み、これに成功した。さらに、生体内におけるナノ粒子の凝集を抑制する手法としてOH基提示法を提案し、これを実現する手法を確立した。

A. 研究目的

近年、ナノ粒子を利用したがん診断・治療が注目されている。ナノ粒子は、数～数百 nm 程度のサイズを有する粒子である。細胞よりも小さいため、蛍光を発する、磁場中で加熱するなどの性質を持つ材料のナノ粒子を合成することで、1つの細胞に対する診断・治療が期待できる (図1)。これまで、単一の造影能を持つ粒子の利用が試みられていたが、複数の機構による造影能を持つナノ粒子を利用できれば、応用範囲がますます広がる。さらに、造影能に加え、磁性温熱療法、中性子捕捉療法など治療能をナノ粒子に付与できれば、診断、治療部位の確認、治療が格段に容易となる。

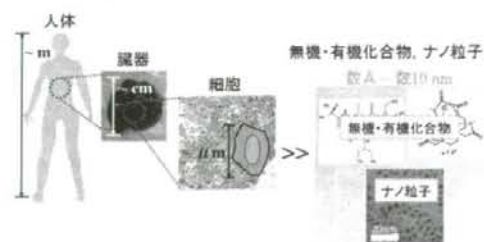


図1 診断・治療へのナノ粒子の利用

これらの診断治療用ナノ粒子は、体内に導入することから、生体安定性が強く求められる。現在、硫化カドミウムなどの蛍光性量子ドットには、重金属イオンの溶出が懸念されている。そこで本研究では、本研究では生体内環境でも化学的に安定な金属酸化物ナノ粒子に注目した。さらに、生体内で凝集せず

に分散状態を保つために、粒子表面の改質を重要な課題と位置づけた。

現在、無機材料によるイメージング技術としては、蛍光、X線、MRIを用いた手法が存在する。それぞれの特徴を表1に示す。これらの性質は排他的なものでなく、材料の選択により、1つのナノ粒子で複数の特性を示すことが可能となる。

表1 各種イメージング手法の特徴

	蛍光	X線	MRI
原理	励起光による発光	原子核によるX線の減衰	電磁波の吸収
プローブ	励起光 (紫外線)	X線	ラジオ波
適した材料	蛍光を示す化合物	原子番号の大きな元素を含む物質	不対電子 (磁性) を有する材料
深度	浅い	深い	深い
人体への影響	非侵襲	X線による影響あり	非侵襲

希土類原子の1つであるGdは、4f軌道に7つの不対電子を有しているため、全元素中で最大の電子由来の磁気モーメントを持つ。さらに、この4f軌道の不対電子は、閉殻構造を有する5s、5p軌道にシールドされ、周りの化学的環境の影響を受けにくい。また、Gdは比較的原子番号が大きいため、X線の散乱係数も高い。そこで、Gdを含む材料はMRI、X線のデュアルイメージング材料として有望である。この背景の下、Gd錯体が研究されてきたが、錯体から解離したGdイオンが生

体毒性を示すという課題が存在する。そこで本研究では、固体 Gd 材料として  $Gd(OH)_3$  に注目し、そのナノ粒子合成を目的とした。さらに、蛍光にも注目し、MRI, X 線, 蛍光を示す多元イメージング材料として、 $GdVO_4$  に蛍光を示す希土類元素をドーブした  $GdVO_4:RE$  (RE は希土類元素) ナノ粒子の合成にも取り組んだ。さらに、本研究では前述したように、これらナノ粒子の表面修飾手法の開発を行った。

## B. 研究方法

ナノ粒子の合成は、回分式反応器ないし流通式反応器により行った (図 2)。回分式反応器の場合、 $Gd(NO_3)_3$  など金属塩化合物の水溶液と KOH 水溶液と混合して金属水酸化物ゲル (たとえば  $Gd(OH)_3$  など) を沈殿させ、洗浄後出発原料として用いた。この水酸化物ゲル懸濁液を反応器に封入し、 $400^\circ\text{C}$  程度で加熱することによりナノ粒子の合成を試みた。流通式反応器による合成の場合、反応溶液を高圧ポンプで送液し、別途送液、加熱した蒸留水と混合することにより  $400^\circ\text{C}$  程度まで加熱して、反応を進行させた。

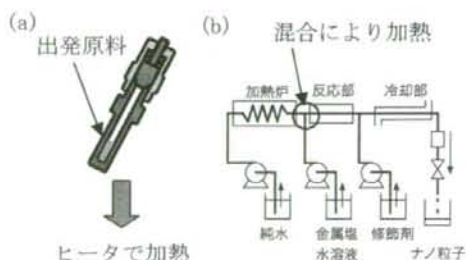


図 2 (a) 回分式、(b) 流通式による合成

本研究では、ナノ粒子の合成に加え、その粒子表面の改質も目的としている。そこで、合成場において粒子表面を修飾するために、回分式合成では、原料と一緒に表面修飾剤を反応器内に封入して合成を行った。また、流通式装置では、図 2b に示すように流路を設け、修飾剤を導入した。

## C, D. 研究結果、考察

### 1-1) $Gd(OH)_3$ ナノ粒子の合成と特性評価【合成条件の検討】

硝酸ガドリニウム・5水和物 ( $Gd(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ ) を精製水に溶解させ、 $0.02\text{ M}$  水溶液を調製した。この溶液に、別途調製した水酸化カリウム  $0.06\text{ M}$  水溶液を同体積加えることで、水酸化ガドリニウム ( $Gd(OH)_3$ ) 懸濁液を作製した。その後、遠心分離により固液分離し、上澄み除去後の沈殿物に精製水を加えて再度懸濁させることで沈殿物の洗浄を行い、 $0.01\text{ M}$   $Gd(OH)_3$  懸濁液を調製して出発原料とした。

合成は流通式反応装置を用いて行った。結晶化に与える影響を調べるため、反応温度を  $160, 260, 360, 470^\circ\text{C}$  として実験を行った。また、pH の影響を見るために温度を  $360^\circ\text{C}$  に固定して出発原料の pH を  $4, 8, 12$  と変えて合成を行った。図 3 に pH 中性条件下で温度を変えて水熱処理した Gd 化合物の XRD パターンを示す。出発原料の回折パターンには、明確なピークが見られないこと、測定した全角度領域において強度がバックグラウンドと変わらないことから、アモルファス状態であることが明らかとなった。反応温度を上げて  $270^\circ\text{C}$  以上にすることで、結晶性の  $Gd(OH)_3$  が形成されることが明らかとなった。

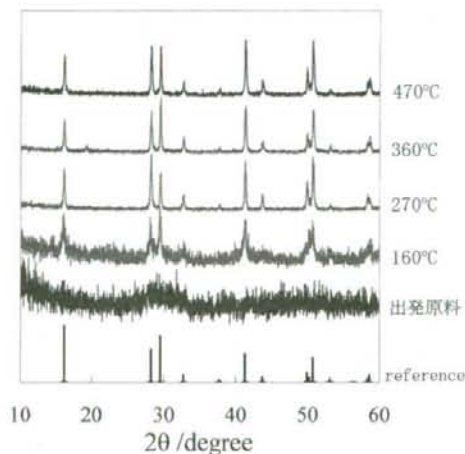


図 3 異なる温度で合成した  $Gd(OH)_3$  の XRD パターン

また、温度を  $470^\circ\text{C}$  まで上げても生成相は  $Gd(OH)_3$  であった。次に、反応温度を  $360^\circ\text{C}$  に固定し、pH を  $4\sim 12$  まで変えて水熱合成したところ、酸性、アルカリ性どちらの条件でも、 $Gd(OH)_3$  結晶が得られた。以上結晶性



Gd(OH)<sub>3</sub> 粒子は、アモルファスの Gd(OH)<sub>3</sub> を 270℃ 以上で水熱処理することで形成し、特に高い温度とすることで高結晶性となることを明らかにした

【サイズ制御手法の提案】

次に本研究では、合成した Gd(OH)<sub>3</sub> ナノ粒子のサイズ制御を目指し、混合部の内径・pH の影響を検討した。反応温度は、結晶 Gd(OH)<sub>3</sub> が形成する 270℃ とした。流通式装置において原料液と加熱水とが混合する箇所の管の内径を変えて合成した粒子の TEM 像を図 4 に示す。XRD 測定からいずれも結晶性 Gd(OH)<sub>3</sub> であることを確認している。粒子形状は直方体、あるいは紡錘形であった。混合部内径を 4.8, 2.3, 1.3 mm と小さくすることで、生成する粒子の長軸方向の平均粒径が 121, 63, 39 nm と小さくなることが明らかとなった。これは、図 4 中に示すように、管径を細くすることで原料と加熱水との混合時間が短くなり、粒子成長を抑制したためである。

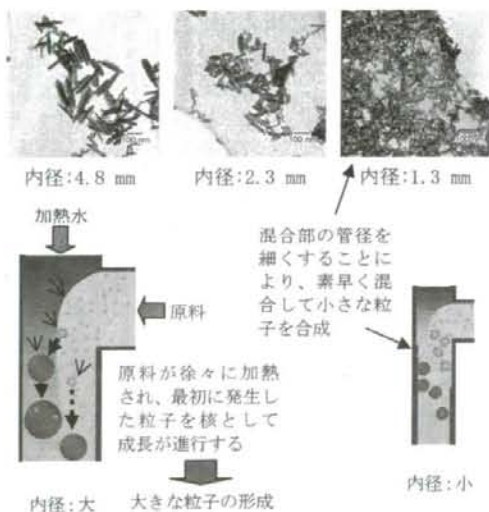


図 4 混合部内径を変えて作製した Gd(OH)<sub>3</sub> 粒子の TEM 像

反応溶液の pH を変えて作製した粒子の TEM 像を図 5 に示す。この際の反応条件は温度 270℃、混合部内径 1.3 mm とし、反応時間を 2.5 s とした。生成物は pH にかかわらず結晶性の Gd(OH)<sub>3</sub> が得られた。

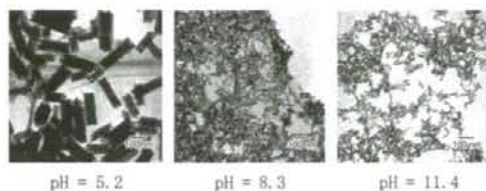


図 5 pH を変えて作製した Gd(OH)<sub>3</sub> 粒子の TEM 像

図 5 に示すように、pH を 5.2, 8.31, 11.43 と上げるにつれて、生成粒径が 181, 39, 29 nm と減少した。

以上に示すように、流通式超臨界水熱合成装置を用いて、混合状態や pH を操作因子として溶解度を急速に減少させることにより、Gd(OH)<sub>3</sub> 粒子のサイズを目的とする 10~100 nm まで制御可能となることを明らかとした。

1-2) GdVO<sub>4</sub> ナノ粒子の合成と特性評価

【合成条件の検討】

本研究では、Gd(OH)<sub>3</sub> に続き GdVO<sub>4</sub> ナノ粒子の合成を目指した。まず、回分式反応装置を用い、合成条件の探索を行った。バナジン(V)酸アンモニウム (NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub>) および水酸化カリウム (KOH) について、0.1 M NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub>, 0.1 M KOH 水溶液を調製した。同様に、硝酸ガドリニウム(III) (Gd(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O) および硝酸ユーロピウム(III) (Eu(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O) を精製水に溶かし、0.093 M Gd(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 0.007 M Eu(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 水溶液を調製した。反応温度は室温, 200, 300, 400℃ とし、反応圧力は 30 MPa とした。反応終了後、生成物を遠心分離と水中への再分散により精製した。

ナノ粒子形成のため合成温度、pH の影響を調べた。pH の影響は、反応温度 300℃、圧力 30 MPa において、反応溶液の pH を 3.5~12.1 まで変えた。GdVO<sub>4</sub> ナノ粒子では、希土類元素をドーピングすることで蛍光特性を付与できるはずである。そこで、希土類元素として Eu を選択し、Eu ドーピング量の効果について調べた。400℃, 30 MPa において、Gd<sub>1-x</sub>VO<sub>4</sub>:Eu<sub>x</sub> の x が 0.07~1 となるように、原料である Gd(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> および Eu(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> の濃度を変えて合成を行った。



反応温度を変えて得られた生成物の同定および結晶性の評価を行うため、XRD 測定を行った (図 6)。全ての温度領域で、XRD 回折パターンが  $GdVO_4$  のリファレンスと一致していることから、生成した粒子は  $GdVO_4$  単相であることが判明した。また、 $200^\circ\text{C}$  以下ではピークの S/N 比が低く、粒子の結晶性はきわめて低いことがわかった。反応温度を高くするほどピーク強度が上昇しており、結晶性が高くなることを確認した。

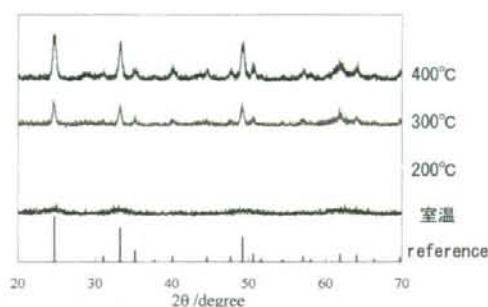


図 6 温度を変えて合成した  $GdVO_4$  粒子の XRD パターン

合成した粒子の TEM 像を図 7 に示す。室温または  $200^\circ\text{C}$  で合成した場合、生成物の形態は不定形をしており、XRD の結果と一致している。温度を上げ  $300^\circ\text{C}$ 、 $400^\circ\text{C}$  とした場合に立方体状ナノ粒子の生成が確認された。また  $300^\circ\text{C}$ 、 $400^\circ\text{C}$  において形成される粒子はどちらも  $20\text{ nm}$  程度であり、粒径に変化は見られなかった。これは、反応温度  $300^\circ\text{C}$ 、 $400^\circ\text{C}$  において、 $GdVO_4$  核発生・粒子成長が、より低い温度で生じていることを示している。

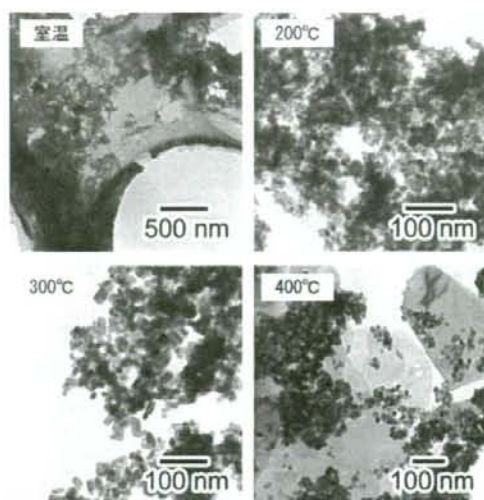


図 7 温度を変えて合成した  $GdVO_4$  粒子の TEM 像

次いで、反応 pH が結晶性へ与える影響について調べた。すべてのピークは  $GdVO_4$  のリファレンスと一致した。従って、pH が  $3.56 \sim 12.12$  という広い領域において  $GdVO_4$  を単相で合成可能である。また、pH が高くなるにつれて、生成物の結晶性は低くなることも確認できた。合成した粒子の TEM 像を図 8 に示す。

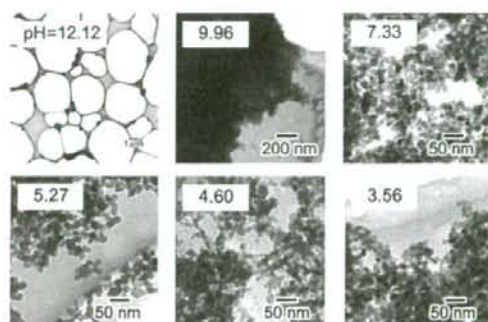


図 8 pH を変えて合成した  $GdVO_4$  粒子の TEM 像

pH  $3.55$  から  $7.33$  の領域でナノ粒子の形成を確認した。その平均粒径は、およそ  $20\text{ nm}$  であった。一方 pH を  $9.96$  より高くすると、 $1\ \mu\text{m}$  ほどのアモルファス状の大きな粒子が形成された。pH を高くしたことにより粒子の溶解が生じ、表面の溶解した粒子同士が融着して巨大化したものと考えている。以上の

検討より、高結晶性かつ単相の  $GdVO_4$  粒子を合成するには、 $300^\circ\text{C}$ 以上、 $\text{pH } 3.56\sim 7.33$ の条件で合成すれば良いことを明らかにした。

#### 【流通式装置による合成】

回分式装置を用いて明らかにした合成条件に基づいて、 $GdVO_4$  ナノ粒子の合成を流通式装置で行った。合成条件を表2に示す。XRD測定より、いずれの条件においても合成された試料は  $GdVO_4$  結晶性であることが明らかとなった。

表2 流通式装置を用いた実験条件

加熱水流速 (mL/min)	原料	濃度 (mol/L)	流速 (mL/min)	混合部内径 (mm)	反応温度 ( $^\circ\text{C}$ )	pH
12	$\text{NH}_3\text{VO}_3$	0.005	3	2.3	400, 300	4
	KOH	0.01				
	$\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$	0.00465				
	$\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$	0.00035				
12	$\text{NH}_3\text{VO}_3$	0.005	3	0.3	400	4
	KOH	0.01				
	$\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$	0.00465				
	$\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$	0.00035				

生成物のTEM像を図9に示す。回分式反応器を用いた実験では、反応温度を変えても粒径は変化しなかったが、内径2.3 mmの混合部を用いて300, 400 $^\circ\text{C}$ で作製した  $GdVO_4$  ナノ粒子の粒径はそれぞれ17 nm, 15 nmとなり、高い合成温度でより小さなナノ粒子を合成することに成功した。

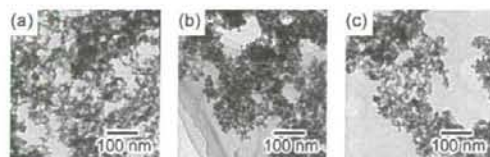


図9 反応温度を変え流通式装置で作製した  $GdVO_4:\text{Eu}$  粒子のTEM像。(a) 混合部内径2.3 mm,  $300^\circ\text{C}$ , (b)  $400^\circ\text{C}$ , (c) 混合部内径0.3 mm,  $400^\circ\text{C}$

さらに、混合部内径を0.3 mmと小さくして $400^\circ\text{C}$ で作製することで、粒子径を12 nmまで小さくすることに成功した。 $Gd(\text{OH})_3$ の合成でも述べたように、内径を小さくすることでより混合が速くなり、低溶解度すなわち高過飽和度が達成されたためと考えている。

以上の結果に示すように、流通式装置を用いた  $GdVO_4:\text{RE}$  ナノ粒子の合成に成功した。

#### 2) 診断・治療用ナノ粒子表面修飾法の開発

$Gd(\text{OH})_3$ ,  $GdVO_4$  ナノ粒子の合成に続き、本研究では診断・治療用ナノ粒子の表面修飾法の開発を行った。 $Gd(\text{OH})_3$ を対象とし、まず、どのような有機化合物の官能基が  $Gd(\text{OH})_3$ の表面と結合するかを明らかにした。図10に示す3種類の修飾剤共存下の共存下で  $Gd(\text{OH})_3$ の合成を試みた。



図10 使用した修飾剤の構造式

合成したナノ粒子のXRDパターンより、上記3種類のいずれの修飾剤存在下でも  $Gd(\text{OH})_3$  ナノ粒子を合成できることが明らかとなった。赤外吸収スペクトルの測定より、デカン酸存在下で合成した粒子の表面に、修飾剤とナノ粒子表面の結合に起因する  $\text{COO}^-$ ピークが確認できた。そこで、以降の実験ではカルボキシル基 ( $-\text{COOH}$  基) を含む化合物を修飾剤として用いることとした。

以上の予備的な検討に続き、本研究では生体中での分散を目指したナノ粒子の表面修飾を試みた。生体へナノ粒子を投与する場合、大抵は生体の静脈へナノ粒子分散液を注射することにより行う。投与された粒子は、血流によって標的組織へと運ばれるが、この送達の際に粒子が凝集を起してしまうと、生体内で捕獲・排出されてしまう。そこで、血液中でのナノ粒子の分散が極めて重要となる。

血液のpHは、生体内で7.35~7.45の間で厳密に調節されている。従って、このpH領域で粒子を分散させる必要がある。粒子の分散性改善には、ゼータ電位を大きくすることおよび粒子間に立体反発を持たせるという2つの方法がある。ゼータ電位を大きくするためには、 $\text{COOH}$ あるいは $\text{NH}_2$ を粒子表面に出すことが有意な方法である。しかし、pHが中性の領域での分散には困難が伴う。さらに、QDを用いた生体実験から  $\text{COOH}$  あるいは  $\text{NH}_2$  が出ている粒子には細胞毒性があることが報告されている。従って、OH基をその構造中に持ち、中性領域でも親水性を有しかつ立体反発が可能な修飾剤を修飾剤として選択



した。

以上の検討を踏まえ、本研究では、図1-1に示すグルコン酸カリウム、クエン酸カリウムによる表面修飾を試みた。

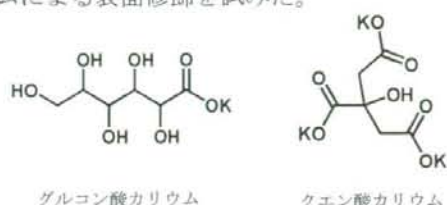


図1-1 用いた修飾剤の構造

まず、これまでに述べた手法で  $Gd(OH)_3$  ナノ粒子を合成して反応管から取り出した後、上記修飾剤と混合し、反応管に再び封入して加熱した。その結果得られたナノ粒子の形状を図1-2に示す。

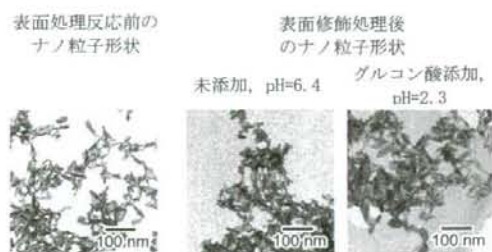


図1-2 表面修飾前後の  
 $Gd(OH)_3$  ナノ粒子の形状

ここに示すように、2回目の加熱により粒子は若干成長しているものの、もともとの粒子とはほぼ同様の形状を有している。上記有機分子がナノ粒子表面を修飾しているか確認するために赤外吸収スペクトルを測定したところ、OH基に対応する  $3300\text{ cm}^{-1}$  付近にピークが観測された。また、 $2900\text{ cm}^{-1}$  付近にはCH伸縮振動に由来するピークが確認された。表面修飾を行っていない粒子ではこれらのピークが存在しないことから、 $Gd(OH)_3$  ナノ粒子とグルコン酸カリウムを共存させて加熱することにより、グルコン酸を  $Gd(OH)_3$  ナノ粒子の表面に複合化できると結論付けられる。

以上に示したように、グルコン酸カリウムを用いることで、 $Gd(OH)_3$  ナノ粒子の表面にOH基を多く有するグルコン酸を複合化できることを明らかにした。(図1-3)

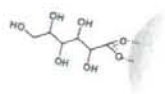


図1-3 グルコン酸修飾ナノ粒子  
の表面分子構造

## E. 結論

本研究では、1つの細胞に対する診断・治療を実現するために、複数種類のイメージングを1つのナノ粒子で可能とする多元イメージングナノ粒子を提案し、その実現に向けて材料の検討を行った。 $Gd(OH)_3$ 、 $GdVO_4:RE$  (REは希土類元素)を提案し、そのナノ粒子合成手法の開発に取り組んだ。回分式、流通式反応器を用いた超臨界水熱合成を行うことにより、それぞれのナノ粒子を合成することに成功した。

さらに生体内におけるナノ粒子の凝集を抑制するために必要な表面修飾構造を議論し、OH基を多く含む有機分子を、COOH基をリンカーとして用いてナノ粒子表面に複合化する方法を提案した。さらに、 $Gd(OH)_3$  ナノ粒子にグルコン酸カリウムを修飾することで、設計した表面修飾構造を有する  $Gd(OH)_3$  ナノ粒子の合成に成功した。

## F. 健康危険情報

## G. 研究発表

### 1. 論文発表、総説

- 佐々木隆史, 大原 智, 梅津光央, 名嘉 節, 阿尻雅文, 鍋田千賀, 市川秀喜, 福森義信, 「超臨界水熱法によるGd中性子捕捉療法用新規無機ナノ粒子の調製」粉体工学会誌, 43, 440-444, (2006).
- 佐々木隆史, 大原 智, 梅津光央, 名嘉 節, 阿尻雅文, 「医療応用を目指した有機-無機ハイブリッドナノ粒子の超臨界水熱合成」, Jasco Report 超臨界技術特集, 277-281, (2006)
- 佐々木隆史, 名嘉 節, 大原 智, 阿尻雅文, 「量子ドットの生命科学領域への応用 第10章 蛍光特性ナノ粒子の表面修飾」, シーエムシー出版, 115-121,



(2007)

- 大原 智, 梅津光央, 名嘉 節, 高見誠一, 阿尻雅文、「超臨界流体技術の開発と応用 第2章 超臨界流体を用いる微粒子・有機合成技術、6. 超臨界水を用いたナノ粒子製造」シーエムシー出版, 56-61, (2008)

## 2. 学会発表

- 佐々木隆史, 大原 智, 梅津光央, 高見誠一, 名嘉 節, 阿尻雅文, 鍋田千賀, 市川秀喜, 福森義信、「超臨界水熱法による Gd 中性子捕捉療法用新規無機ナノ粒子の調製」、粉体工学会第 41 回技術討論会、2007 年 9 月、大阪。
- 佐々木隆史, 田中 研, 大原 智, 梅津光央, 名嘉 節, 阿尻雅文、「医療応用を目指したハイブリッド無機ナノ粒子の超臨界水熱合成」、化学工学会第 38 回秋季大会、2007 年 9 月、福岡。
- Sasaki T, Ohara S, Umetsu M, Naka T, Adschiri T, Supercritical Hydrothermal Synthesis of Hybrid Gd(OH)<sub>3</sub> Nanoparticles : Application to Neutron Capture Therapy. 1st International Symposium on Applications of Supercritical Fluids in Green Chemistry and Material Science, March, 2007, Beijing.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

## 別紙 1

雑誌論文  
(2006~  
2008年)

発表者氏名	連名著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	号	開始頁	終了頁	出版年	本報告書収載
Tada H	Higuchi H, Watanabe TM, Ohuchi N	In vivo real-time tracking of single quantum dots conjugated with monoclonal anti-HER2 antibody in tumors of mice.	Cancer Res.	67		1138	1144	2007	○
Kobayashi M	Mizumoto T, Shibuya Y, Enomoto M, Takeda M	Fluorescence tomography in turbid media based on acousto-optic modulation imaging	Appl. Phys. Lett.	89	18	181102-1	181102-3	2006	○
Li-Shishido S	Watanabe TM, Tada H, Ohuchi N.	Reduction in nonfluorescence state of quantum dots on an immunofluorescence staining	Biochem Biophys Res Commun.	351		7	13	2006	○
Zhang J	Ohara S, Umetsu M, Naka T, Hatakeyama Y, Adschiri T	Novel Approach to Colloidal Ceria Nanocrystals: Tailor-made Crystal Shape in Supercritical Water	Adv. Mater.	19	2	203	206	2007	
Mousavand T	Takami S, Umetsu M, Ohara S, Adschiri T	Supercritical Hydrothermal Synthesis of Organic-Inorganic Hybrid Nanoparticles	J. Mater. Sci.	41	5	1445	1448	2006	
Kobayashi M	Kasamatsu T, Shibuya Y, Enomoto M	Optical visualization of ultrasound pressure fields in turbid media based on a coherent detection imaging technique	Jpn. J. Appl. Phys.	45	A3	1836	1840	2006	
van Wijk R	Kobayashi M, van Wijk E	Anatomic characterization of human ultra-weak photon emission with a movable photomultiplier and CCD imaging	J. Photochem. Photobiol. B: Biol.	83		69	76	2006	



Sakurai Y	Takeda M, Kawazoe Y, Kasuya A, Kobayashi Y, Kamei T, Nakajima M, Ohuchi N	Nanosized Silver Iodide Beads as New Contrast Media for Sentinel Lymph Node Navigation Surgery	Breast Disease	25	55	56	2006	
Takeda M	Kobayashi Y, Sakurai Y, Cong L, Ishida T, Suzuki A, Amari M, Ohuchi N	Detection of Sentinel Lymph Nodes by Novel MR Contrast Media	Breast Disease	25	47	47	2006	
Tada H	Higuchi H, Watanabe T, Ohuchi N	imaging of tumor-targeting quantum dot in breast cancer of living mice	Breast Disease	25	43	43	2006	
Ohuchi N	Takeda M, Nakajima M, Sakurai Y, Kawai M, Ishida T, Higuchi H	Application of nanotechnology for breast cancer research: Nano-DDS and molecular imaging based on visualization of single particle in vivo	Breast Disease	25	47	47	2006	
Park YS	Liz-Marzán LM, Kasuya A, Kobayashi Y, Nagao D, Konno M, Mamykin S, Dmytruk A, Takeda M and Ohuchi N	X-ray Absorption of the Gold Nanoparticles with Thin Silica Shell.	J Nanosci Nanotechnol	6	3503	3506	2006	○
Sakurai Y	Takeda M, Kobayashi Y, Ohuchi N	Generation of nanosized silver-iodide beads for medical application	Future Medical Engineering Based on Bionanotechnology. Proceedings of the Final Symposium of the Tohoku University 21st Century Center of Excellence Programme. Imperial College Press, pp		505	508	2006	

Cong L	Kobayashi Y, Takeda M, Ohuchi N	Development of silica coated silver iodide nano-particles in different sizes for novel x-ray contrast media.	Future Medical Engineering Based on Bionanotechnology. Proceedings of the Final Symposium of the Tohoku University 21st Century Center of Excellence Programme. Imperial College Press, pp	311	315	2006	
Kawai M	Higuchi H, Watanabe TM, Tada H, Ohuchi N	In vivo visualization of metastasis of human breast cancer cells labeled with Quantum dots in mice	Future Medical Engineering Based on Bionanotechnology. Proceedings of the Final Symposium of the Tohoku University 21st Century Center of Excellence Programme. Imperial College Press, pp	369	376	2006	
Li S	Higuchi H, Ohuchi N.	Effects of Trastuzumab and paclitaxel in HER2-overexpressing breast cancer	Future Medical Engineering Based on Bionanotechnology. Proceedings of the Final Symposium of the Tohoku University 21st Century Center of Excellence Programme. Imperial College Press, pp	395	400	2006	
Nakajima M	Takeda M, Kobayashi M, Ohuchi N	Nano-sized fluorescent particles as new tracers for sentinel node detection: an experimental model for decision of appropriate size and wavelength	Future Medical Engineering Based on Bionanotechnology. Proceedings of the Final Symposium of the Tohoku University 21st Century Center of Excellence Programme. Imperial College Press, pp	465	472	2006	

Tada H	Higuchi H, Watanabe T, Ohuchi N	In vivo breast cancer cell imaging using quantum dot conjugated with anti-her2 antibody	Future Medical Engineering Based on Bionanotechnology. Proceedings of the Final Symposium of the Tohoku University 21st Century Center of Excellence Programme. Imperial College Press, pp	515	520	2006	
Ohuchi N	Nakajima M, Tada H, Ishida T, Takeda M, Higuchi H	Nano-sensing capsules for medical application: nano-particles for sentinel navigation and quantum dots conjugation with anti-her2 antibody for molecular imaging of cancer	Future Medical Engineering Based on Bionanotechnology. Proceedings of the Final Symposium of the Tohoku University 21st Century Center of Excellence Programme. Imperial College Press, pp	245	259	2006	
Mamykin S	Kasuya A, Dmytruk A, Ohuchi N	Photocurrent of nanoassembled Si film in contact with electrolyte	Journal of Alloys and Compounds	434	720	2007	○
中島護雄	武田元博、大内憲明	蛍光ナノ粒子による癌センチネルリンパ節検出とナノ医療の展望	日本機械学会誌	109	92	2006	
桜井 遊	武田元博、小林芳男、中島護雄、亀井 尚、粕谷厚生、川添良幸、大内憲明	新規ナノサイズヨウ化銀ビーズを用いた造影効果とX線センチネルリンパ節検出への応用	乳癌基礎研究	16	43	2006	
樋口秀男	渡邊朋信、多田寛、武田元博、大内憲明	バイオナノイメージングとナノ医療	応用物理	75	695	2006	
大内憲明		＜概論＞ナノテクノロジーの発展医療への期待	バイオテクノロジージャーナル	7	22	2007	
樋口秀男	渡邊朋信、李松花、多田寛、大内憲明	蛍光性量子ドットによるがん細胞の単一分子イメージング	バイオテクノロジージャーナル	7	30	2007	
武田元博	小林芳男、小林正樹、桜井遊、中島護雄、大内憲明	ナノサイズセンシングクラスターの新規開発と外科治療への応用	バイオテクノロジージャーナル	7	36	2007	