

蛍光性ナノロッド表面へのヒドロキシアパタイト修飾と薬物担体への応用

佐川拓矢^{*,**}・山口大志^{**}・鈴木智彦^{*}・飯島一智^{*,**,*}・
家高佑輔^{*,**}・橋詰峰雄^{*,**,*†}^{*}東京理科大学工学部工業化学科 東京都葛飾区新宿6-3-1 (〒125-8585)^{**}東京理科大学大学院工学研究科工業化学専攻 東京都葛飾区新宿6-3-1 (〒125-8585)^{***}横浜国立大学大学院工学研究院 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台79-5 (〒240-8501) (現所属)

† Corresponding Author, E-mail: mhashizu@ci.tus.ac.jp

(2023年9月22日受付, 2024年1月11日受理)

要 旨

無機蛍光材料は単色性や耐久性に優れており、生体標識などへの応用が期待されている。本研究では、水酸化ユロピウムナノロッド (europium hydroxide nanorod, ENR) の表面にヒドロキシアパタイト (hydroxyapatite, HAp) を修飾することで生体適合性および pH 応答性を有する蛍光無機ナノロッドを作製した。HAp の修飾には擬似体液に浸漬する方法および交互浸漬法 (alternate soaking process, ASP) による方法を用いた。いずれの方法でも ENR と HAp との複合化が見られ、とくに ASP による方法では ENR の表面すべてを HAp が覆い、被覆量は ASP のサイクル数に依存した。HAp 被覆 ENR がウシ血清アルブミンやシトクロム C などタンパク質の吸着能をもつことを確認した。また吸着したタンパク質の放出挙動がタンパク質の等電点と溶液の pH に依存して変化することを見いだした。

キーワード：水酸化ユロピウムナノロッド、ヒドロキシアパタイト、表面修飾、擬似体液、交互浸漬法

1. 緒 言

蛍光材料は発光ダイオード (LED) やディスプレイなど身の回りのものにはもちろん、蛍光プローブなど生物化学や医療分野などでも利用されている。蛍光材料は有機系蛍光材料、無機系蛍光材料に分類され、有機系蛍光材料は蛍光の強度と波長のチューニングが容易である一方、無機系蛍光材料はより単色性、耐久性に優れている。近年、生体適合性をもつ微粒子などの材料に蛍光物質を導入し、生体標識 (バイオプローブ) として利用する研究が活発に行われている。それらは細胞、組織の標識化やあるいはそれら自身の細胞内、体内動態の追跡などに利用されている¹⁾。in vitroでの調査では、蛍光プローブは良い単色性、高い発光効率、大きな吸着断面積、高い光退色耐性、化学的/物理的安定性を有することが理想的であり、これらの要件を満たすために有機色素や蛍光タンパク質²⁾、希土類元素がプローブとして用いられる。希土類元素の中でも、ランタニド (Ln) イオンは 4f 内、4f-5d 遷移に由来する発光を示す。それらの単色性や耐光退色性はバイオプローブへの応用に有効で、さらに大きなストークスシフト、長い蛍光寿命といった特徴もある³⁾。たとえば Wong らは水熱合成により作製した水酸化ユロピウムナノロッド (europium hydroxide nanorod, ENR) に有機発色団をコーティングし、in vitro のイメージング材料としての利用を報告している⁴⁾。以上のように、希土類元素を用いた蛍光材料は盛んに研究されている。

生体材料は、生体に直接接触させて利用する材料であるた

め、高い生体適合性が必要となる。ヒドロキシアパタイト (hydroxyapatite, HAp) はリン酸カルシウムの一種で、その化学式は $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ であらわされる。HAp は天然にはリン鉱石として、生体内においては骨や歯の無機主成分として知られているが、人工的な合成も容易である。HAp の結晶構造は六方晶系に属し⁵⁾、原子の配列が異なる二種類の結晶面がある。一つは正に帯電した Ca^{2+} がおもに存在する *a(b)* 面であり、もう一つは負に帯電した PO_4^{3-} と OH^- が存在する *c* 面である⁶⁾。結晶面による電荷の違いはタンパク質吸着にかかわっており、酸性タンパク質は *a(b)* 面に、塩基性タンパク質は *c* 面に吸着しやすいことが報告されている⁷⁾。HAp は優れた生体適合性を有しており、生体に埋入したときの拒否反応が少ない。さらに、生体組織との親和性が高く、骨組織に埋植すると材料と骨組織が強固に結合される。そのため、HAp の多孔質体などは骨の欠損を補填するための材料として広く利用されている⁸⁾。また HAp をほかの材料表面にコーティングすることで、新たな生体適合材料を作製する取り組みも行われている^{8,9)}。骨に類似した組成と構造をもつ HAp (骨類似アパタイト) の作製法として、擬似体液 (simulated body fluid, SBF) を用いたバイオミメティックな手法が提案されている¹⁰⁾。SBF はタンパク質や細胞を含まず、ヒト血漿の無機イオン組成とほぼ等しく調整された水溶液である。この手法で作製された HAp は化学量論性 HAp と比較して、一部のイオンが置換されており、また結晶性が劣っているが、それらの特徴が高い生体活性をもたらしているとも言える。ヒトの体液は HAp に対して過飽和で準安定な状態にあるが、いったん HAp の核形成が起これば自発的な結晶成長を起こす。体液を模倣した SBF も同様の挙動を示し、SBF 中に置か

【図表について】電子ジャーナルサイト「J-STAGE」ではカラーでご覧いただけます。https://www.jstage.jst.go.jp/browse/shikizai-char/ja/