

パルスレーザー照射による局所高温場を用いた高融点材料粒子の 合成とホウ素中性子捕捉療法用新規薬剤粒子の開発

産業技術総合研究所 ナノ材料研究部門

主任研究員 石川 善恵

(平成 26 年度一般研究開発助成 AF-2014204)

キーワード：レーザープロセス、液中レーザー溶融法、サブミクロン球状粒子

1. 研究の目的と背景

1・1 ホウ素中性子捕捉療法用ホウ素薬剤について

天然ホウ素の 2 割を占める ^{10}B は高い中性子吸収断面積を有し、中性子を吸収することによって電離効果の高い α 粒子を放出する。 α 粒子の飛程は 5~10 ミクロンと、一般的な細胞の大きさよりも小さいことから、 ^{10}B を含む化合物を腫瘍細胞に選択的に取り込ませることによって、中性子照射により腫瘍細胞のみを選択的に破壊することが可能である¹⁾。これがホウ素中性子捕捉療法(BNCT)の原理であり、これまで外科的治療が困難な腫瘍への適応や低侵襲な治療として、臨床試験が進められているところである。

BNCT を安全かつ効率良く実施するためには、腫瘍細胞に、選択的かつ十分な量の ^{10}B の蓄積が必須である。現在ではボロカプタイト(BSH; $\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$)やパラポロフェニールアラニン(BPA; $\text{C}_9\text{O}_4\text{NBH}_{12}$)などが用いられているが、それらの腫瘍細胞に対する選択性や蓄積特性は未だ不十分である²⁾。このため、実際にはこれらの薬剤を大量に投与するために、2, 3 ガス中でのレーザーアブレーションによる薄膜作製や微粒子合成は古くから知られているが、1990 年台後半より、液中のターゲットに対してのレーザーアブレーションに関する研究が開始された。この液中レーザーアブレーション法では大がかりな真空装置等が不要で、液中に固定したターゲット基板や液中に分散したターゲット粒子にレーザー照射するだけで容易にクラスターやナノ粒子の合成が可能であることから、現在も国内外で広く研究がなされている。リトルにも及ぶ点滴がなされており、患者への肉体的な負担が避けられないことが問題となっている。そこでホウ素化合物のドラッグデリバリーシステム構築

に関する研究が数多くなされているが、腫瘍細胞選択性や ^{10}B 蓄積量、安全性などの課題を完全に克服するには至っていない。そこで、有機ホウ素化合物からなる従来の BNCT 薬剤に対し、大量の ^{10}B を含むナノ~サブミクロンサイズの無機粒子が新たに注目されている。しかし単体のホウ素粒子では表面の酸化によって毒性を有する H_3BO_3 の生成が避けられないことから、化学的に安定な B_4C や BN が有力な候補と考えられている。現在申請者らは B_4C に着目し、基礎的な *in vitro*, *in vivo* 試験を通して BNCT 薬剤としての可能性を検証しているところである。

薬剤化研究を進めて行く上では、粒子の体内動態を明らかにする必要がある。特に化学的に安定な無機粒子の場合、投与方法や投与部位によっては、一般的な薬剤分子とは大きく異なる動態を示すと考えられている。そこで例えば、*in vivo* 試験において生きた動物体内の粒子の分布をその場観察することが可能となれば、体内動態に関する情報を得ることが出来る。そこで本研究では、MRI 造影効果を有する Fe を含有する B_4C 粒子の合成を試みた。

1・2 粒子合成手法について

レーザーを用いた材料合成プロセスとしてガス中でのレーザーアブレーションによる薄膜作製や微粒子合成が古くから知られているが、1990 年台後半より、液中のターゲットに対してのレーザーアブレーション(液中レーザーアブレーション法)に関する研究が開始された³⁾。この手法では液中に固定したターゲット基板や液中に分散したターゲット粒子にレーザー照射するだけで容易にクラスターやナノ粒子の合成が可能である。これに対し申請者らは、一般的なアブレーションでのレーザーフルエンスより、1~2 桁程度低いフルエンスのレーザー

を分散液中の粒子に照射することで、原料粒子よりも大きなサブミクロン球状粒子が主生成物として得られる現象を見出した⁴⁾。このプロセスでは、原料粒子がアブレーションするのではなく溶解液滴化し、直後に冷却を経ることで表面張力による球形を維持した粒子が生成する。そこで我々はこの手法を「液中レーザー溶解法」と称し、新しい球状粒子合成方法として研究を進めてきた。

これまでにこの液中レーザー溶解法によって、有機溶媒中に分散したホウ素粒子に適切なフルエンスのレーザー光を照射することでホウ素を瞬間的に溶解液滴化し、生じた高温のホウ素液滴と液滴周囲の分散媒分子との高温化学反応により B_4C 球状粒子が得られることを確認している。このように本手法を用いれば、高融点材料であるホウ素を室温大気圧下の液体中で瞬時に溶解することが可能である。さらに BNCT 用要素薬剤として不可欠な同位体濃縮された ^{10}B 化合物のなかでも比較的容易に入手が可能な ^{10}B 粒子を原料として容易に B_4C 粒子を合成することが可能である。そこで本研究では B_4C 粒子にイメージング機能を付与することを目的とし、 B_4C 粒子と鉄化合物粒子の混合分散液に対して本手法を適用することでイメージング機能やハイパーサーミアなどの応用が期待出来る、磁性を有したホウ素化合物粒子の合成を目的とした。

2. 実験方法

B_4C 球状粒子は、B の濃度 100 ppm のエタノール分散液 5 ml に、約 $300 \text{ mJ cm}^{-2} \text{ pulse}^{-1}$ で 5 分間レーザー照射 (Nd:YAG レーザー、パルス幅: 7 ns、パルス周波数: 30 Hz、波長: 355 nm) 後に改修した粒子を、未反応のホウ素を溶解除去するために硝酸水溶液で処理したものを洗浄して得た。

合成した炭化ホウ素粒子と、種々の酸化鉄粒子をそれぞれ 100 ppm となるように調製したエタノール分散液を照射用ガラス容器に 5 ml 採った。照射用ガラス容器は超音波浴中に固定し、液面からレーザー光を様々なフルエンスで 5 分間照射した。照射後の粒子は磁気分離により磁性を有する粒子のみを回収した。X 線回折 (XRD) を用いた回収粒子の結晶構造分析や、走査電子顕微鏡 (SEM) による形状観察を行った。さらに振動試料型磁力計 (VSM) を用いて回収粒子の磁気特性を評価した。

3. 実験成果

3・1 酸化鉄粒子の選定

予め本手法で得た B_4C 粒子 (a) と複合化を試みた酸化鉄原料粒子の SEM 写真を図 1 (b), (c) に示す。 $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ は約 10 nm 程度のナノ粒子 (b) であり、 Fe_3O_4 は約 100 nm の粒子が不規則に連なった形状の粒子 (c) であった。

B_4C 粒子との混合分散液を $150 \text{ mJ cm}^{-2} \text{ pulse}^{-1}$ で照射して

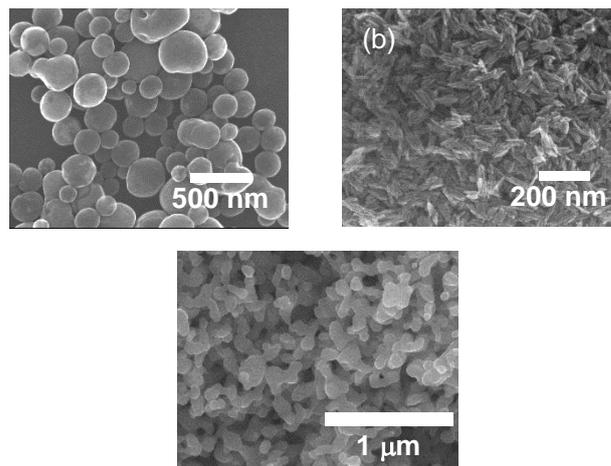


図 1 照射前の原料粒子
(a) 本手法で得た B_4C 粒子, (b) $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, (c) Fe_3O_4

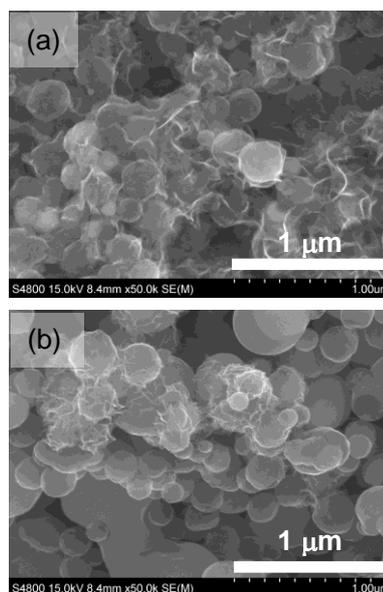


図 2 照射後、磁気回収して得られた粒子。
(a) B_4C と $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ の混合分散液の照射後、
(b) B_4C と Fe_3O_4 の混合分散液の照射後。

得た粒子の磁気回収物を図2に示す。 α - Fe_2O_3 との混合分散液の照射の場合(a)、針状または薄膜状の生成物が確認出来たが、生成した球状粒子は比較的サイズの揃ったサブミクロン球状粒子であった。これに対し Fe_3O_4 との混合分散液の照射の場合(b)、サブミクロンサイズの粒子に加えて、大きな粒子の融合によって生じたと考えられるミクロンサイズの粒子も確認出来た。

これらの粒子の XRD 測定結果を図3に示す。 B_4C と

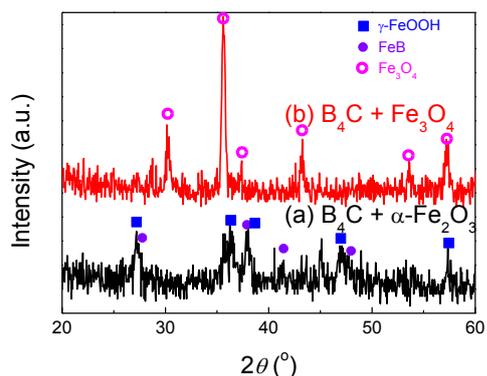


図3 照射後、磁気回収して得られた粒子のXRD。(a) B_4C と α - Fe_2O_3 の混合分散液の照射後、(b) B_4C と Fe_3O_4 の混合分散液の照射後。

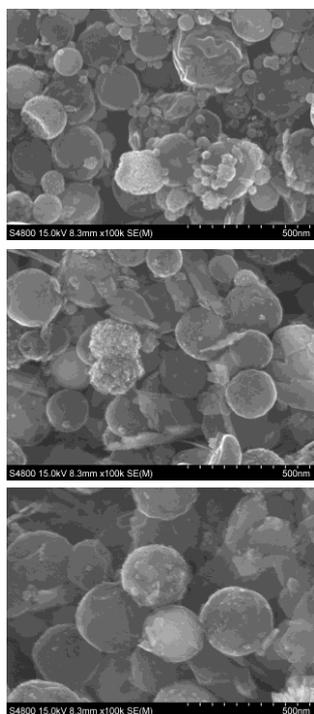


図4 様々なレーザーフルエンスで照射して得られた粒子。(a) 75, (b) 100, (c) $200 \text{ mJ cm}^{-2} \text{ pulse}^{-1}$

α - Fe_2O_3 の混合分散液の照射の場合、 γ - FeOOH に加えて FeB の生成が確認出来た。一方で、 B_4C と Fe_3O_4 の混合分散液照射の場合、磁気回収物は Fe_3O_4 であり、 B を含む化合物は確認出来なかった。これは、 α - Fe_2O_3 の場合はナノ粒子であり、分散液中で B_4C 粒子と接触しやすいのに対し、 Fe_3O_4 は比較的大きな粒子の連続体であることから α - Fe_2O_3 と比べて B_4C と接触しにくかったためと考えられる。後のさらなる分析によって、図2(a),(b)共に観察された球状粒子を覆っている針状または薄膜状の生成物は γ - FeOOH であり、希酸で処理することによって溶解除去が可能であることが明らかとなった。これらの結果より、本研究では原料鉄酸化物として α - Fe_2O_3 を用いることとした。

3・2 Fe-B合金生成メカニズムの解明

B_4C 粒子と α - Fe_2O_3 との混合分散液へ、種々のフルエンスでレーザー照射後、磁気回収した粒子のSEM写真を図4に示す。得られた粒子はいずれの条件においても球状の粒子であった。また得られた粒子のXRD測定を行ったところ、75や $100 \text{ mJ cm}^{-2} \text{ pulse}^{-1}$ で照射した場合の磁気回収物は γ - Fe_2O_3 と γ - FeOOH であり、 B を含む化合物は確認出来なかった。 $150, 200 \text{ mJ cm}^{-2} \text{ pulse}^{-1}$ では γ - FeOOH に加えて FeB が確認され、 $250, 300 \text{ mJ cm}^{-2} \text{ pulse}^{-1}$ でさらに Fe_2B も生成することが明らかになった。

粒子の比熱と各状態におけるエンタルピー変化を用いると、あるサイズの一つの粒子の状態変化に必要な熱量を求めることが出来る。一方で、粒子がレーザー光から吸収するエネルギーは、フルエンスと粒子サイズや波長依存性を考慮した粒子の吸収効率から求めることが出来る。粒子が吸収したエネルギー全てが粒子の温度上昇に利用されると仮定すると、各フルエンスにおける B_4C と α - Fe_2O_3 粒子の状態を推測することが出来る。

75 や $100 \text{ mJ cm}^{-2} \text{ pulse}^{-1}$ では B_4C は固体のままであるが、 α - Fe_2O_3 は溶融が可能と推測される。従って、図4(a)に示す粒子は α - Fe_2O_3 の溶融により生じた球状粒子と考えられる。これまでの研究により、エタノール中で鉄酸化物を照射すると、 FeO や Fe などの低酸化状態の成分を含む球状粒子が得られることがわかっている⁵⁾。これは、高温の鉄酸化物溶融液滴を取り囲んでいるエタノール分子の熱分解により、還元性を有す

る CO や H₂ が発生するためと考えられる。 α -Fe₂O₃ は反強磁性材料であるが、本研究ではレーザー照射後に磁気回収された粒子が得られ、その粒子は γ -Fe₂O₃ と γ -FeOOH であった。これはレーザー照射によって高温になった α -Fe₂O₃ が熔融や分解によって低酸化状態の Fe₃O₄ を経て再度酸化することにより γ -Fe₂O₃ が生成したと考えられる。さらに、 α -Fe₂O₃ がレーザー照射により熱分解した一部の成分が分散媒であるエタノール中で加水分解を受けて γ -FeOOH が生成したと考えられる。

一方、150 mJ cm⁻² pulse⁻¹ 以上のフルエンスでは α -Fe₂O₃ および B₄C の両方が熔融していると推測される。この様に、本手法において FeB や Fe₂B のような Fe-B の合金粒子を得るためには、それぞれの成分を含む原料粒子の両方が熔融している必要があることが明らかとなった。

150 mJ cm⁻² pulse⁻¹ で得られた粒子の磁気測定を行ったところ、室温で強磁性を示した。本手法は同位体濃縮された ¹⁰B₄C に対しても適応が可能であり、比較的入手が容易な ¹⁰B 粒子を原料として様々な応用が期待出来る、磁性を有したホウ素薬剤の製造技術としての可能性を示していると考ええる。

4. 結論

B₄C と α -Fe₂O₃ 粒子の混合分散液へのレーザー照射によって Fe-B 合金球状粒子を得ることが出来た。合金粒子を得るためには、B₄C と α -Fe₂O₃ の両方ともに熔融するフルエンスが必要であることが明らかとなった。

謝辞

本研究は、公益財団法人天田財団平成 26 年度一般研究開発助成(AF-2014204)からの研究費により行われた。

参考文献

- 1) R. F. Barth, A. H. Soloway, and R. G. Fairchild, *Cancer Res.* **50**, 1061 (1990)
- 2) M. W. Mortensen, P. G. Sørensen, O. Björkdahl, M. R. Jensen, H. J. G. Gundersen, and T. Bjørnholm, *Appl. Radiat. Isot.* **64**, 315 (2006).
- 3) P. P. Patil, M. D. Phase, A. S. Kulkarni, V. S. Ghaisas, K. S. Kulkarni, M. S. Kanetkar, B. S. Ogale, G. V. Bhide, *Phys. Rev. Lett.* **58**, 238 (1987).
- 4) Y. Ishikawa, Y. Shimizu, T. Sasaki, N. Koshizaki, *Aool. Phys. Lett.* **91**, 161110 (2007).
- 5) 石川 善恵, 越崎 直人, Alexander Pyatenko, 電気学会誌 論文誌 C, **135**, 9, 1066 (2015)