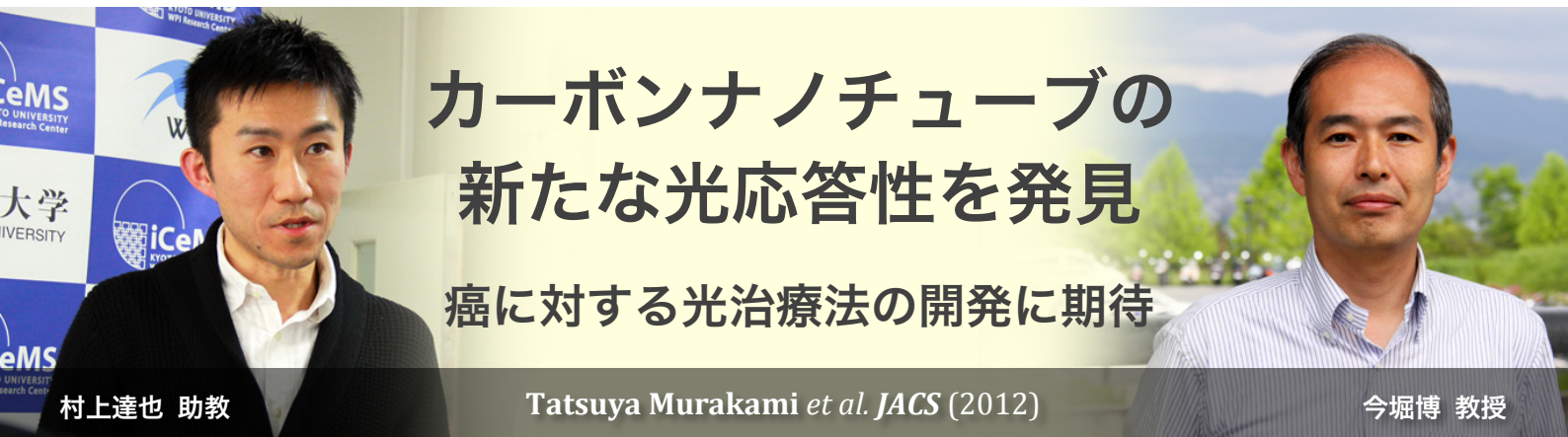


News Release

2012年10月19日
京都大学 物質-細胞統合システム拠点



カーボンナノチューブの 新たな光応答性を発見

癌に対する光治療法の開発に期待

村上達也 助教

Tatsuya Murakami *et al.* JACS (2012)

今堀博 教授

国立大学法人 京都大学（総長：松本紘）は、単層カーボンナノチューブの新たな近赤外光応答性を発見しました。この成果は、癌に対する光治療法の開発に寄与することが期待されます。

村上達也 同物質-細胞統合システム拠点（iCeMS=アイセムス）助教・iCeMS 京都フェロー、**今堀博** iCeMS 教授らの研究グループは、**橋田充** iCeMS・薬学研究科教授、**磯田正二** iCeMS 客員教授、**辻本将彦** iCeMS 研究員らと協力し、半導体性の単層カーボンナノチューブ（SWNT）が、生体に優しい近赤外光の照射によって活性酸素種（※1）を効率良く生成し、さらにその活性酸素種が癌細胞を死滅させることを発見しました。これまで、SWNT の発熱作用が、癌の光線治療メカニズムとして注目されてきましたが、本研究では、SWNT が熱だけでなく活性酸素種も用いて癌を死滅させることを明らかにしました。今後、半導体性 SWNT は、これら2つのメカニズムで癌細胞を死滅させるナノ材料としての活用が期待されます。

本成果は、日本学術振興会（JSPS）科学研究費 基盤研究（B）研究課題「ナノ細胞工学：ナノ材料の細胞内精密配置と機能発現」（代表者：村上達也）の一環として行われました。論文は米国東部時間10月19日に米科学誌「アメリカ化学会誌（*Journal of the American Chemical Society* = JACS）」オンライン速報版に掲載されました。

1. 背景

カーボンナノチューブ、カーボンナノホーン、フラーレンなどのカーボンナノ材料は、生物医学分野への応用が大いに期待されています。中でも単層カーボンナノチューブ（SWNT=Single-Walled Carbon Nanotube）は、生体に優しい近赤外領域（650-900 nm）の光を効率良く吸収できます。SWNT は吸収した光エネルギーを熱に変換する（光線温熱効果※2）ことがわかっており、近年では、その熱を利用した癌治療法の開発に注目が集まってきました。

SWNTは単層のグラフェンシート（※3）がチューブ状に折りたたまれた構造をしており、その折りたたまれ方によって、金属と半導体のどちらかの性質を示します。半導体性材料は、光照射によって発光する、あるいは活性酸素種を生成する（光線力学効果※4）ことが可能です。活性酸素種は強力な抗癌活性を示すことから、光線力学療法は次世代の癌治療法として期待されています。このような背景から、本研究グループは、金属性と半導体性 SWNT が近赤外光照射下で、どのような光応答性を示すかを調べました。

2. 研究内容と成果

今回、本研究グループは、SWNT を金属性 SWNT と半導体性 SWNT へ分離濃縮し、それらへ近赤外レーザーを照射すると、金属性 SWNT に比べて半導体性 SWNT は、やや低い光線温熱効果を示す一方、非常に高い光線力学効果を示すことを世界で初めて明らかにしました。さらに、この半導体性 SWNT の光線力学効果は癌細胞を死滅させるのに十分なものであることも発見しました。今後、半導体性 SWNT は、光線温熱効果と光線力学効果の2つのメカニズムで癌細胞を死滅させるナノ材料として活用されることが期待されます。

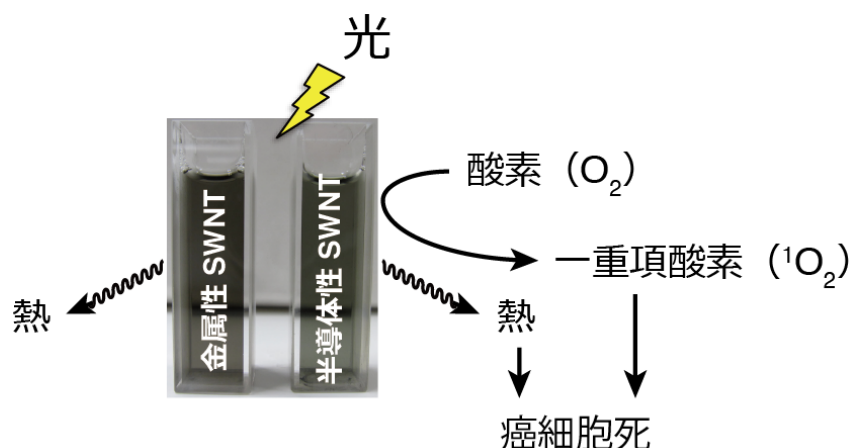


図 1. 半導体性・金属性 SWNT の異なる光応答性。生体に優しい近赤外光 (808 nm) を照射すると、半導体性 SWNT は熱だけでなく一重項酸素を生成し、癌細胞を死滅させる。

まず、金属性 SWNT と半導体性 SWNT への分離・濃縮は、蛋白質精製用のゲルを用いました。SWNT は水に全く分散しないため、それぞれの分散液には、SWNT 研究で頻用される合成界面活性剤 (SDS など) が含まれています。この結果、元の SWNT を、金属性：半導体性の量比が 55:45 と 14:86 の SWNT に分離することができました。今後、金属性 SWNT が濃縮された前者を m-SWNT (metallic-SWNT)、半導体性 SWNT が濃縮された後者を s-SWNT (semiconducting SWNT) と呼びます。

得られた各 SWNT 分散液に 808 nm の近赤外レーザーを照射すると、その光線温熱効果によって、いずれの分散液の温度も上昇しましたが、その温度上昇は、s-SWNT よりも m-SWNT の方が大きいことがわかりました。つまり、m-SWNT はより高い光線温熱効果を示すことがわかりました。

次に同じ実験条件で、活性酸素種の生成を比較しました。O₂ からの活性酸素種の生成メカニズムは type I と type II の 2 種類があり、前者ではスーパーオキシドアニオン (O₂^{•-})、後者では一重項酸素 (¹O₂) が生成されます。ちなみに光線力学療法で強力な抗癌活性を示すとされているのは、¹O₂ です。

これらの活性酸素種の検出試薬存在下、808 nm レーザーをそれぞれの SWNT に照射したところ、いずれの活性酸素種も s-SWNT でのみ生成を確認することができました。すなわち、近赤外光照射下、s-SWNT は m-SWNT よりも非常に高い光線力学効果を示すことがわかりました。それらの生成量はレーザーパワーに比例して増加しました。また、s-SWNT 分散液中に酸素を吹き込んでからレーザー照射すると、 $^1\text{O}_2$ の生成のみ増強され、このことは s-SWNT が従来の光線力学効果メカニズムに従って活性酸素種を発生したことを示しています。

最後に s-SWNT の光線力学効果が、癌細胞を死滅させるかどうか調べました。先述のとおり、s-SWNT は全く水に分散しないため、これまで合成界面活性剤を用いて実験を行ってきました。しかし合成界面活性剤は強い細胞毒性があるため、細胞実験を行うためには s-SWNT を別の物質で分散安定化する必要がありました。本研究グループでは、高比重リポ蛋白質 (HDL=High-density lipoprotein) も研究対象としており、HDL は SWNT に吸着することが知られています。試行錯誤の結果、HDL を用いて s-SWNT の分散安定性を保持しつつ、合成界面活性剤由来の細胞毒性をほぼ完全になくすことに成功しました。この HDL 処理 s-SWNT を癌細胞の培養液に添加し、808 nm レーザーを 10 分間照射すると、45% の癌細胞が死滅しました。重要なことに、 $^1\text{O}_2$ の消光剤を添加してレーザー照射すると、癌細胞の死滅率は 28% に低下し、 $^1\text{O}_2$ が s-SWNT の殺細胞活性に寄与することが明らかとなりました。この時培養液の温度は 41°C にまで上昇していたことから、s-SWNT は $^1\text{O}_2$ と熱の両方を用いて癌細胞を死滅させたと考えられます。

3. 今後の展開

今回、HDL処理s-SWNTが $^1\text{O}_2$ を生成して癌細胞を死滅させることを初めて明らかにしました。次の課題として、s-SWNTと癌細胞の詳細な殺細胞メカニズムを解明することが重要です。 $^1\text{O}_2$ の寿命は非常に短く、生成した場所から10 nm程度しか移動できないとされています。さらに $^1\text{O}_2$ による主要な殺細胞効果はミトコンドリアダメージに由来するとの報告もあることから、s-SWNTは細胞内に存在する可能性があります。今後、HDL処理s-SWNTが細胞とどのように相互作用しているのか調べるとともに、iCeMSの橋田グループなどと生物医学的な実験を進める予定です。

4. 用語解説

- ※1 **活性酸素種**：一重項酸素 ($^1\text{O}_2$)、スーパーオキシドアニオン ($\text{O}_2^{\bullet-}$)、ヒドロキシルラジカル (OH^\bullet)、過酸化水素 (H_2O_2) など、一般に生物毒性を示す酸素種で、酵素の失活、DNA の切断、脂質の過酸化などを引き起こす。中でも $\text{O}_2^{\bullet-}$ 、 OH^\bullet 、 H_2O_2 は、癌、炎症、老化などに関与していると考えられている。
- ※2 **光線温熱効果**：物質が吸収した光エネルギーを熱（振動エネルギー）として放出する効果。
- ※3 **グラフェンシート**：炭素原子が六角形の格子状に並んだ、1 原子の厚さの層。2004 年に単層のグラフェンの分離を成功させた英マンチェスター大の研究グループは、その功績により 2010 年ノーベル物理学賞を受賞した。
- ※4 **光線力学効果**：物質が吸収した光エネルギーを酸素分子 (O_2) に受け渡し、活性酸素種を生成する効果。

5. 論文タイトル・著者

“Photodynamic and Photothermal Effects of Semiconducting and Metallic-Enriched Single-Walled Carbon Nanotubes”

Tatsuya Murakami*, Hirotaka Nakatsuji, Mami Inada, Yoshinori Matoba, Tomokazu Umeyama, Masahiko Tsujimoto, Seiji Isoda, Mitsuru Hashida, Hiroshi Imahori*

Journal of the American Chemical Society (JACS), DOI: 10.1021/ja3079972

問い合わせ先

<研究内容について>

村上達也

京都大学 iCeMS 助教・iCeMS 京都フェロー

Tel: 075-753-9859 | murakami@icems.kyoto-u.ac.jp

今堀博

京都大学 iCeMS 教授

京都大学 大学院工学研究科 教授

Tel: 075-383-2566 | imahori@scl.kyoto-u.ac.jp

<京都大学 iCeMS について>

京都大学 iCeMS 国際広報セクション（飯島由多加、相山朋加）

Tel: 075-753-9755 | pr@icems.kyoto-u.ac.jp