



Title	Multi-scaled near-infrared and cathodoluminescence bioimaging with using rare-earth doped nanophosphors
Author(s)	福島, 昌一郎
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/55898">https://hdl.handle.net/11094/55898</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 福島 昌一郎 )	
論文題名	Multi-scaled near-infrared and cathodoluminescence bioimaging with using rare-earth doped nanophosphors (希土類蛍光体を用いた近赤外光・カソードルミネッセンス関連バイオイメージング法の確立)
論文内容の要旨	
<p>小動物のホールボディあるいは深部組織のミリメートルオーダーでの観測と、細胞内構造のナノメートルオーダーでの観測を、同一プローブを用いて可視化しその空間分布を相互補完的に観察する、近赤外光・カソードルミネッセンス (CL) 関連バイオイメージング法の確立を行った。近赤外光は紫外・可視光に比べて生体内での吸収・散乱が少ないため、生体深部の観察に適する。また、CLは電子線を物質に照射した際に生じる発光であり、電子顕微鏡同様の高空間分解能観測とプローブの発光色特性による選択性を併せ持つことから、細胞内構造のカラー化ナノイメージングが期待できる。</p> <p>上記の近赤外光・CL関連バイオイメージングを実現するイメージングプローブを、酸化物希土類蛍光体を用いて開発した。Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>を蛍光母材とし、希土類元素(発光中心元素:Tm, Ho,またはErと、近赤外光増感元素:Yb)を添加した三種の蛍光体は、980 nm 近赤外光励起において異なる近赤外波長域で発光を示す。また、電子線励起においては青、緑、赤の異なる可視域でのCLを発する。開発した蛍光体ナノプローブを用いて、同一領域内でのナノプローブ分布を近赤外顕微鏡とCL顕微鏡で可視化することで、本蛍光体ナノプローブが近赤外イメージングとCLイメージングによる関連バイオイメージングに応用可能であることを示した。</p> <p>CLナノイメージングに応用するために、蛍光体ナノプローブの合成法を発明した。合成法には尿素を沈殿材として用いる沈殿法を用いた。従来法に比べて、尿素を100倍以上の濃度で過剰添加することで、粒子核形成の促進と原料枯渇化を引き起こし、30 nmほどの粒子径をもつ、分散した蛍光体ナノプローブが得られることを示した。また、本合成法を用いることで、粒径制御に加えて、蛍光体中へ賦活する希土類元素濃度を0.1 mol%オーダーの精度で制御できることを示した。希土類蛍光体の発光強度は賦活された希土類元素濃度に大きく依存する。実験で得た最適な元素濃度値を粒子合成に反映することで、蛍光体ナノプローブの微細化と発光増強を実現した。</p> <p>開発した蛍光体ナノプローブを用いて本研究で提唱する近赤外光・CLバイオイメージングを検証した。ナノプローブを取り込ませた細胞シートのラット体内での位置を近赤外イメージングで体外から可視化できることを示した(大阪大学基礎工学研究科動物実験委員会承認番号:ES 26-4-0)。厚み1.5 mmの皮膚モデル越しに、ナノプローブを取り込ませた細胞を可視化できることを示した。また、細胞内に取り込まれたナノプローブの局在をCL発光色の違いで識別可能なことを示した。以上より、開発した蛍光体ナノプローブを用いることで、小動物のホールボディ観察から、体内細胞の深部イメージング、そしてCLによる細胞内のカラーナノイメージングまでを達成出来ることを示した。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 福島 昌一郎 )			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	三宅 淳
	副 査	教 授	和田 成生
	副 査	教 授	宮坂 博
	副 査	准教授	橋本 守

## 論文審査の結果の要旨

ミリメートルオーダーからナノメートルオーダーまで生体を観測する近赤外光・カソードルミネッセンス相関イメージング法の確立を行なうため、両者で使用可能なプローブの開発を行い、その実証を行なっている。近赤外光は、可視・紫外光にくらべて生体での散乱・吸収が少ないため生体深部まで到達することができ、近赤外励起・近赤外発光を観測することでミリメートルオーダーでの生体内部観察が期待できる。また、電子線はナノメートルオーダーまで細く収束することが可能であるため、光に比べて遥かに分解能高く観測することができる。これに加え、電子線励起により異なる波長で発光（カソードルミネッセンス）するプローブを用いることができれば、複数のタンパク質等の局在を、光学顕微鏡を越えた分解能での観測が実現できる。本研究では、これらを実現するためのプローブを開発し、また近赤外励起・発光イメージング、電子線励起発光イメージングの両立を実現している。

電子線照射でも退色することがなく、近赤外励起でも発光するナノ蛍光体プローブとして、 $Y_2O_3$ を蛍光母材として選択し、希土類元素（発光中心元素：Tm, Ho, またはErと、近赤外光増感元素：Yb）を添加した三種の蛍光体の合成法を確立した。合成法には尿素を沈殿材として用いる均一沈殿法を用いているが、尿素をこれまで報告されている濃度より100倍以上過剰添加することで、粒子核形成の促進と原料枯渇化を引き起こし、30 nmほどの粒子径をもつ、分散した蛍光体ナノプローブが得られることを示した。また、本合成法を用いることで、粒径制御に加えて、蛍光体中へ賦活する希土類元素濃度を0.1 mol%オーダーの精度で制御できることを示した。希土類蛍光体の発光強度は賦活された希土類元素濃度に大きく依存する。実験で得た最適な元素濃度値を粒子合成に反映することで、蛍光体ナノプローブの微細化と発光増強を実現した。

開発した蛍光体ナノプローブを用いて、近赤外光・カソードルミネッセンスパイオイメージングを検証した。粒径30 nmの単一プローブを電子線励起で退色することなくイメージング可能であること実証し、また細胞に取り込ませた複数種類の粒子を、発光波長により分別可能であることを示した。近赤外励起でもカソードルミネッセンスでも同一個所を観測可能で、相関イメージングが可能であることを示した。さらに、厚み1.5 mmの皮膚モデル越しにナノプローブを取り込ませた細胞を可視化可能であること、ナノプローブを取り込ませた細胞シートのラット皮下へ埋め込み、その位置を近赤外イメージングで体外から可視化できることを示した。

この研究をドラッグデリバリー観測に応用すれば、ドラッグの輸送追跡、器官への集積、個々の細胞への取り込みまでを同一プローブで観測することが可能となり、その有用性は高い。よって、博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認める。