

106 X線吸収性発光ナノ粒子による細胞機能操作法の開発	山下 貴之
------------------------------	-------

【目的】 光感受性タンパク質を用いて照射により細胞分子機能を制御する技術（光操作技術）は、時空間精度の高さを背景として、ゲノム編集などの最新の生命科学技術と融合する形で生物医学系分野で広く活用されはじめており、副作用の少ない次世代の低侵襲治療法として幅広い医学応用が期待されている。ところが、光操作技術は、生体組織内で散乱・吸収されやすい可視～近赤外光を刺激光とするため、深部や広範囲の組織へのアプローチを苦手とする。従来、刺激光を組織深部に届けるためには光ファイバーなど照射装置を組織内に埋め込む手法が用いられているが、組織侵襲や有効体積の小ささなどが問題となる。そのため光操作技術は潜在能力を十分発揮する形での臨床応用が進んでおらず、根本的な問題解決が求められている。そこで、私たちは、生体組織を透過する X 線を可視光へと変換する発光素材である無機シンチレータ粒子を組織に注射し、体外からの X 線照射により遠隔的に光操作を行う独自技術（X 線光操作法）を開発してきた。これまで、光操作技術の進歩が著しい神経科学分野での本技術の適用を目指して、高効率で X 線を可視光に変換でき、かつ、潮解性を持たないため扱いやすい Ce:GAGG を用いた技術開発を進めてきた。本研究では、Ce:GAGG 粒子をマウス脳内に埋め込み、低線量のパルス X 線照射により神経機能の操作を試みるとともに、本手法の安全性をさらに高めるため、Ce:GAGG ナノ粒子の作製と本技術への応用も検討した。

【方法】 まず、Ce:GAGG 発光により効率よく開口する光感受性イオンチャネル（オプシン）をスクリーニングした。次に、Ce:GAGG 結晶の生体親和性を培養細胞とのインキュベーションおよび脳内への粒子注入により確認した後、スクリーニングにより見出した最適オプシンを生体マウス中脳ドーパミン神経に発現させ、X 線照射により神経活性マーカーである cFos の発現が誘導されるか、ドーパミン神経が関与する場所嗜好性に変化が現れるか、を検討した。さらに、化学合成により Ce:GAGG ナノ粒子を合成し、様々な合成条件を検討することで蛍光量子収率の高い材料の作製を目指した。

【結果】 Ce:GAGG 発光により興奮性オプシンである ChRmine と抑制性オプシンである GtACR1 が効率よく活性化することが分かった。また、Ce:GAGG 結晶には顕著な細胞毒性がなく、Ce:GAGG マイクロ粒子は注射部位に長期間留まることが分かった。X 線照射により、脳内に注射した Ce:GAGG 粒子塊が発光し、ChRmine 発現細胞に cFos の有意な発現が誘導された。また、動物に悪影響を及ぼさない低線量のパルス X 線照射により自由行動下のマウスの中脳ドーパミン神経を活性化し、場所嗜好性を変化させることに成功した。さらに、蛍光量子収率で 90% 程度の Ce:GAGG ナノ粒子が完成した。

Ce:GAGG シンチレータを用いた X 線光操作実験

