

(様式第5号)

## X線マイクロCT法によるNiAl系LDHナノ材料系造影剤の評価 Characterization of NiAl-LDH-based contrast agent using X-ray micro CT imaging

徳留靖明、安東洋祐、赤松直輝  
Yasuaki Tokudome, Yosuke Ando, Naoki Akamatsu

大阪公立大学  
Osaka Metropolitan University

- ※1 先端創生利用（長期タイプ）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記してください。
- ※2 利用情報の公開が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後2年以内に研究成果公開（論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表）が必要です（トライアル利用を除く）。
- ※3 実験に参加された機関を全てご記載ください。
- ※4 共著者には実験参加者をご記載ください（各実験参加機関より1人以上）。

### 1. 概要（注：結論を含めて下さい）

本研究では、申請者らが開発した新奇な無機系材料のX線マイクロCT用の血管造影剤としての利用可能性を調査した。10 nm以下の微細な層状結晶を高濃度（> 10wt%）で含有した注型タイプ造影剤を複数作製し、これらの造影能（画像の均一性とX線吸収能）をBL07において系統的に評価した。今回は特に、層状結晶粒子の組成を変えた場合および添加濃度を変化させた場合の特性を評価した。層間アニオンとして塩化物イオンを含有した結晶を高濃度で含む造影剤が優れたX線吸収能と均一ゲル化性を示す可能性が示された。

#### (English)

The present study assessed the potential use of novel inorganic contrast agents for the applicants of vascular imaging using X-ray micro-CT. Cast-type contrast agents containing sub-10 nm fine layered crystals at high concentrations (> 10wt%) were prepared, and their imaging capabilities (image uniformity and X-ray absorption) were systematically evaluated at BL07 beamline. Special attention, for the present beamtime, was paid to the influence of the composition of the crystalline particles and their concentration. It was demonstrated that contrast agents containing the layered crystals at a high concentration with intercalating chloride ions showed excellent X-ray absorption and homogeneous gelation properties.

### 2. 背景と目的

生体組織・器官の発達過程を明らかにすることは、未解明な生命現象の理解とそれに基づく医学・生理学的応用につながる。トモグラフィ技術は、切り出した生体組織の一部ではなく組織全体を3次元的にその場観察することが可能であり、強力な4D（3次元+時間）イメージング技術である。中でも、他の測定手法に比べて高い空間分解能を有するX線CTでの生体組織観察法の発展が求められている。申請者はこれまでに、層状複水酸化物（LDH）<sup>(注)</sup>結晶のナノ結晶化<sup>1</sup>、マクロ/メソ構造制御<sup>2</sup>、溶媒分散性制御<sup>3</sup>、表面特性制御<sup>4</sup>等の独自技術を継続的に報告してきた。この中で、ナノLDH粒子が示す特異な物性を利用したX線マイクロCT用造影剤開発を着想し研究をおこなっている。

る。本研究では、市販の有機高分子系の血管造影剤の造影特性をはるかに凌ぎ、高分解・短時間観察を可能にする血管造影剤の開発を最終的な目的としている。今回は、既存の造影剤よりも優れた造影能を示す可能性がある新たな組成系について、その特性の系統評価を BL07にておこなった。

注) LDH は、 $[M^{2+}_{1-x}M^{3+}_x(OH)_2][A^{n-}_{x/n} \cdot mH_2O]$ の一般式で表される粘土鉱物の総称。ただし、 $M^{2+}$ と $M^{3+}$ はそれぞれ 2 価と 3 価の金属イオンを表し、 $A^{n-}$ は  $n$  価のアニオンである) 本実験では、2 価と 3 価の金属イオンとしてそれぞれ、 $N^{2+}$ と $Al^{3+}$  含みアニオンとして  $Cl^-$ を含む  $Ni_2Al(OH)_6 \cdot 0.33Cl \cdot 1.5H_2O$ の組成を持つ LDH を造影剤の基本的な構成要素として用いる。一部の実験では、 $Cl^-$ の一部を  $I^-$ に置換した LDH を用いた。

### 3. 実験内容 (試料、実験方法、解析方法の説明)

アルコール溶媒にNiAl系LDHナノ粒子粉末を加え、分散するまで攪拌した。ここに、シリコンアルコキシドおよびイオン交換水を加えてさらに攪拌し、37 °Cで静置することでゲル化性の造影剤を合成した。このゲル化に至る溶液(ゾル)をシリカガラス製のキャピラリー管(内径 0.10mm, 外径 0.375 mm)に封入することで、造影剤を充填・ゲル化させた。空気の接触による劣化を防ぐためキャピラリー管の上端は粘土でふさぎ、さらに上からパラフィルムで密閉した (Fig. 1a)。比較として市販の血管造影剤 (ポリメチルメタクリレート (PMMA) 系樹脂) をキャピラリー管に導入し試料とした。ここまでの試料作製は所属機関 (大阪公立大学) で行った。同様の手順で作製した組成の異なる試料を、九州シンクロトン光研究センターの持ち込み、BL07でCT特性を評価した。単色X線12 keVを使用してX線 $\mu$ -CT 測定を行った。サンプルを回転ステージに配置しCsIシンチレータ(厚さ1 mm)、対物レンズ(5 倍)、sCMOS (2048画素 $\times$ 2048画素) からなるマイクロX線カメラ(Kenvy-2) で透過 X 線を検出した (Fig. 1b)。0°~360°の回転で合計1000枚のX線投影を記録し、Shepp-Loganフィルタを用いた逆投影アルゴリズムによって3D データセットに再構成した。画像処理ソフトウェアImageJによって相対コントラストを評価した。

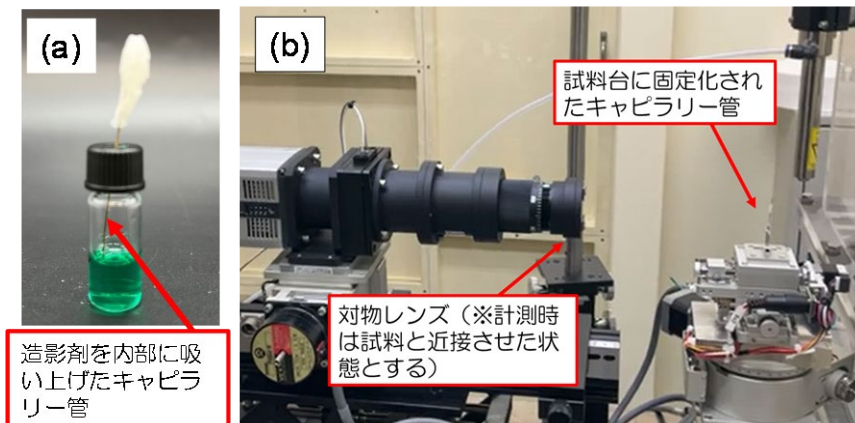


Fig. 1 (a) キャピラリー管に封入された測定サンプルおよび (b) 測定試料台の外観

### 4. 実験結果と考察

予備検討としてアルコール溶媒に分散させた各種 LDH 粒子の X 線吸収能を評価し基礎的な知見を得た。NiAl LDH の層間アニオンを変えた結晶 (層間アニオン:  $Cl^-$ あるいは  $I^-$ ) を異なる濃度でアルコール溶媒に分散させ X 線吸収能を評価した (Fig.2)。NiAl- $Cl^-$ 型 LDH と NiAl- $I^-$ 型 LDH を同濃度(200 g/L)で含む溶液を比較した場合、層間アニオンが  $I^-$ の場合の方がより高い CT 値が得られた。これは、 $Cl^-$ より  $I^-$ の方が重元素であり、X 線吸収係数が高いためである。Ni-Al- $I^-$ 型 LDH の最高分散濃度(200 g/L)と Ni-Al- $Cl^-$ 型 LDH の最高分散濃度(600 g/L)で両者の CT 値を比較した場合、NiAl- $Cl^-$ 型 LDH の方がより高い CT 値が得られた。この結果から、現状合成可能な LDH の中では NiAl- $Cl^-$ 型 LDH が有望な組成系であることが明らかになった。

次に、NiAl- $Cl^-$ 型に絞りゲル化性の造影剤の評価をおこなった。0.6 g/mL (アルコールに対する LDH の濃度)の造影剤と、ポリメチルメタクリレート (PMMA) 系樹脂を用いた市販の造影剤、既報造影

剤のコントラストを比較した画像を Fig. 3 に示す。空気の CT 値 (造影のコントラスト) を 0、シリカガラスの CT 値を 1 とすると、0.6 g/mL 組成の造影剤の相対的な CT 値は 0.74、既報造影剤は 0.45、PMMA は 0.14 であった。よって、既報よりも優れた造影能を持つ造影剤の作製に成功したことが分かる。0.6 g/mL の造影剤と PMMA を充填したキャピラリー管の Z 軸方向の断面図を Fig. 4 に示す。PMMA はキャピラリー管の中で収縮して空隙が生まれている。一方で、0.6 g/mL の造影剤はゲルに収縮がなく、均一にゲル化していることが分か

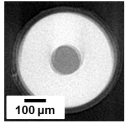
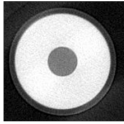
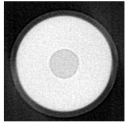
試料	Ni-Al-I (200 g/L)	Ni-Al-Cl (200 g/L)	Ni-Al-Cl (600 g/L)
画像			
CT値	0.504	0.442	0.893

Fig. 2 キャピラリー管に封入された NiAl-I 型および NiAl-Cl 型 LDH を異なる濃度で含むアルコール溶液の X 線 CT 画像。

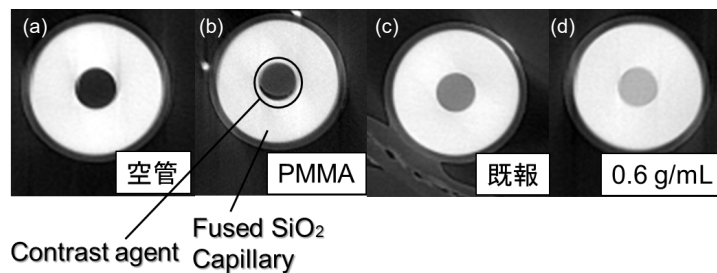


Fig. 3. X線CT像のスライス画像。(a) 空のキャピラリー、(b) ポリメチルメタクリレート (PMMA) 樹脂充填キャピラリー、(c) LDH造影剤充填キャピラリー (既報の組成)、(d) LDH造影剤充填キャピラリー (今回開発した組成)

る。血管組織の造影剤は充填されたのちに「ありのまま」の三次元血管組織をテンプレートする必要がある。このため、血管組織に導入した造影剤にはゲル化後も変形や収縮しないことが求められる。今回開発した LDH 系造影剤の均一ゲル化性とゲル化後の形状保持特性は、既存の PMMA のそれを上回っていると言える。

以上、今回合成した LDH 系造影剤は、市販造影剤のみならず申請者らがこれまでに開発してきた類似の造影剤よりも優れた X 線吸収能を持ち、キャピラリー管内で収縮せず均一にゲル化させることが可能であることが分かった。

## 5. 今後の課題

今回の計測では、造影剤の組成を変更し LDH 粒子濃度を上昇させることで X 線吸収能の向上が見られた。一方で、材料合成の観点から見れば、血管に環流可能な低粘度な状態を維持したままこれ以上の分散液の濃厚化は困難であると考えられる。さらなる CT 値の向上と短時間計測を可能とする造影剤開発には、結晶を構成する元素の変更などの新たな組成系の開拓が求められる。今後、このような材料開発を進めるとともに有望な材料群が得られた際には CT 値の評価を再度行いたい。

## 6. 参考文献

- 1 Tokudome, Y., Tarutani, N., Nakanishi, K. & Takahashi, M. Layered double hydroxide (LDH)-based monolith with interconnected hierarchical channels: enhanced sorption affinity for anionic species.

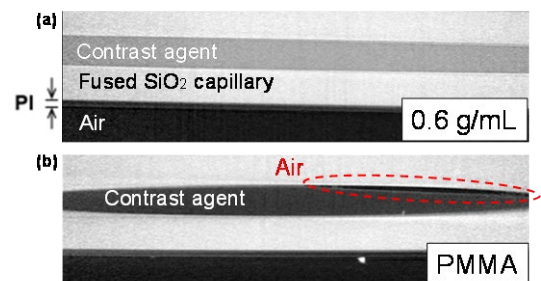


Fig. 4. X線CT像のスライス画像 (キャピラリー長手方向)。(a) LDH造影剤充填キャピラリー (今回開発した組成)、(b) ポリメチルメタクリレート (PMMA) 樹脂充填キャピラリー

*Journal of Materials Chemistry A* **1**, 7702-7708, doi:Doi 10.1039/C3ta11110e (2013).

- 2 Tarutani, N. *et al.* Single-Nanometer-Sized Low-Valence Metal Hydroxide Crystals: Synthesis via Epoxide-Mediated Alkalinization and Assembly toward Functional Mesoporous Materials. *Chem. Mater.* **28**, 5606-5610, doi:10.1021/acs.chemmater.6b02510 (2016).
- 3 Tokudome, Y. *et al.* Layered Double Hydroxide Nanoclusters: Aqueous, Concentrated, Stable, and Catalytically Active Colloids toward Green Chemistry. *Acs Nano* **10**, 5550-5559, doi:10.1021/acsnano.6b02110 (2016).
- 4 Tokudome, Y. *et al.* A nanoLDH catalyst with high CO<sub>2</sub> adsorption capability for photo-catalytic reduction. *Journal of Materials Chemistry A* **6**, 9684-9690, doi:10.1039/c8ta01621f (2018).

7. 論文発表・特許（注：本課題に関連するこれまでの代表的な成果）

1. Y. Tokudome,\* G. Poologasundarampillai,\* K. Tachibana, H. Murata, A. J. Naylor, A. Yoneyama, A. Nakahira, "Curable Layered Double Hydroxide Nanoparticles-Based Perfusion Contrast Agents for X-Ray Computed Tomography Imaging of Vascular Structures" *Adv. NanoBiomed Res.*, **2**, 2100123, 2022.
2. W. M. Tun, G. Poologasundarampillai, H. Bischof, G. Nye, O. N. F. King, M. Basham, Y. Tokudome, R. M. Lewis, E. D. Johnstone, P. Brownbill,\* M. Darrow,\* and I. L. Chernyavsky\*, "A massively multi-scale approach to characterising tissue architecture by synchrotron micro-CT applied to the human placenta" *J. R. Soc., Interface* **18**, 20210140, 2021.

8. キーワード（注：試料及び実験方法を特定する用語を2～3）

層状複水酸化物、コロイド、X線マイクロCT

9. 研究成果公開について（注：※2に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文（査読付）発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください。提出期限は利用年度終了後2年以内です。例えば2018年度実施課題であれば、2020年度末（2021年3月31日）となります。）

長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。

① 論文（査読付）発表の報告                      （報告時期： 2024 年 12 月）