

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19895

研究課題名（和文）がんの高効率加温・自動温度制御・血管塞栓を同時に実現する窒化鉄微小球の創製

研究課題名（英文）Development of iron nitride microspheres for hyperthermia with highly efficient heating, automatic temperature control, and arterial embolization

研究代表者

川下 将一（Kawashita, Masakazu）

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：70314234

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：マグネタイト（Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>）を還元・窒化処理することにより、窒化鉄の一つであるFe<sub>16</sub>N<sub>2</sub>が得られた。このようにして得られたFe<sub>16</sub>N<sub>2</sub>は、出発原料のFe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>よりも高い発熱特性を示すと見積もられ、Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>と同等の細胞適合性を示した。また、鉄イオンを含むフッ化水素酸にシリカガラス微小球を浸漬し、これを還元・窒化することにより、シリカガラス表面にFeおよびFe<sub>8</sub>Nが析出した微小球が得られることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの低侵襲治療法の一つに、マグネタイトなどの酸化鉄微粒子が交流磁場中で発熱することを利用した温熱療法がある。窒化鉄はマグネタイトよりも高い発熱特性を示す可能性がある。そこで本研究では、がんの温熱治療に適した窒化鉄微小球を合成することを目的とした。その結果、窒化鉄はマグネタイトと同等の細胞適合性を示し、より高い発熱能を示す可能性が明らかとなった。さらに、シリカガラスをコアとし、その表面に純鉄と窒化鉄が析出した微小球が得られることも明らかとなった。このようにして得られた微小球はがんの温熱治療に有用であると期待される。

研究成果の概要（英文）：Fe<sub>16</sub>N<sub>2</sub>, which is one of the iron nitrides, was obtained by reducing and nitriding magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>). Thus obtained Fe<sub>16</sub>N<sub>2</sub> was estimated to show higher heat-generating ability than Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, and its cytocompatibility was almost same as that of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Further, it was found that Fe and Fe<sub>8</sub>N-deposited silica glass microspheres were obtained when silica glass microspheres were immersed in hydrofluoric acid containing iron ions and subjected to reduction-nitriding treatment.

研究分野：生体材料学

キーワード：窒化鉄 微小球 温熱治療

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

1981年以降、がんは死因の第1位であり、2人に1人ががんを患い、3人に1人ががんで死亡するといわれている。現在、がんを治療する最も一般的な方法は外科手術による患部切除であるが、切除された臓器の機能が回復せず、患者の生活の質が低下する場合も少なくない。そこで近年では、患部を切除することなく、がん細胞のみを死滅させる機能温存療法への期待が高まっている。患部の切除を伴わない治療法の一つに温熱療法(ハイパーサーミア)がある。これは、がん細胞が熱に弱く43°C程度で死滅するのに対して、正常細胞は48°C程度まで耐え得る性質を利用した治療法である。マグネタイト( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )等の酸化鉄( $\text{Fe}_x\text{O}_y$ )微粒子は、交流磁場の下に置かれると発熱する。従って、酸化鉄微粒子を静脈注射等によって腫瘍内に送り込んだ後、これを交流磁場下に置けば、患部を加温して治療できる。実際、欧米では、交流磁場装置を用い、脳腫瘍の一種である多形性膠芽腫や前立腺がん等に対する、 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ナノ粒子を用いたハイパーサーミアの臨床試験が進められている。

このように $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 微粒子を用いたハイパーサーミアは次世代のがんの低侵襲治療法として期待を集めているが、 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 微粒子よりも発熱特性に優れた微粒子が得られれば、更に高い加温治療効果、すなわち「高効率ハイパーサーミア」を実現できる可能性がある。また、ハイパーサーミアでは腫瘍部の温度を43~48°Cに制御する必要があるが、 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 微粒子を用いたハイパーサーミアでは、がん患部の正確な温度制御は不可能である。光ファイバー温度計等で患部の温度を実測することは、温度計挿入時にがん細胞が周囲に飛散し、予期せぬ転移を招く恐れがあるため、不可能である。強磁性体が常磁性体に変化するキュリー点を43~48°Cに有する微粒子を用いれば、患部が43~48°Cになると同微粒子は発熱しなくなるので、患部の自動温度制御、すなわち「インテリジェントハイパーサーミア」が可能となる。

### 2. 研究の目的

窒化鉄( $\text{Fe}_x\text{N}_y$ )は、出発原料や合成方法によって種々の組成および結晶構造を取り、その中には、 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (92 emu/g)の2倍以上の高い飽和磁化(240や193 emu/g)を示す $\text{Fe}_{16}\text{N}_2$ や $\text{Fe}_4\text{N}$ 、飽和磁化は $\text{Fe}_3\text{O}_4$ よりもやや低い(約70 emu/g)ものの43~48°Cにキュリー点を有する $\text{Fe}_x\text{N}_y$ ( $0.4 < y/x < 0.435$ )がある。高い飽和磁化を示す $\text{Fe}_{16}\text{N}_2$ や $\text{Fe}_4\text{N}$ は交流磁場下において優れた発熱効率を示し、従来の $\text{Fe}_3\text{O}_4$ よりも効率的に患部を加温できる可能性がある。また、キュリー点を43~48°Cに有する $\text{Fe}_x\text{N}_y$ ( $0.4 < y/x < 0.435$ )を用いれば、患部の自動温度制御が可能となる。そこで本研究では、高効率インテリジェントハイパーサーミアを実現する $\text{Fe}_{16}\text{N}_2$ 微粒子、 $\text{Fe}_4\text{N}$ 微粒子あるいは $\text{Fe}_x\text{N}_y$ ( $0.4 < y/x < 0.435$ )微粒子を開発することを目的とする(図1)。

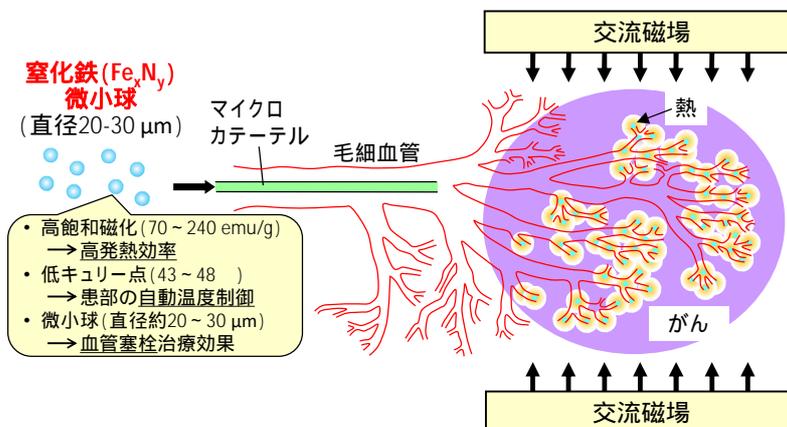


図1 窒化鉄微小球を用いたがんの温熱治療

### 3. 研究の方法

(1) 種々の粒径(8.4±1.9 nm, 32±10 nm および 394±155 nm)のマグネタイトナノ粒子(MNPs)を合成し(それぞれM-a, M-b および M-c とする)、これらを水素( $\text{H}_2$ )雰囲気中、300°Cで2時間加熱処理し、さらにアンモニア( $\text{NH}_3$ )雰囲気中、145°Cで40時間加熱処理(還元・窒化処理)した(それぞれM-a-RN, M-b-RN および M-c-RN とする)。得られたサンプルの構造を粉末X線回折法(XRD)および透過電子顕微鏡(TEM)により調べた。また、振動試料型磁力計(VSM)を用いてサンプルの磁気特性を評価し、さらに磁化曲線から交流磁場下での発熱量を見積もった。また、M-b-RNのラット由来線維芽細胞(Rat-1細胞)に対する毒性をMTTアッセイにより評価し、出発原料のM-bのそれと比較した。

(2) 鉄イオンを含むフッ化水素酸( $\text{Fe-HF}$ )に直径約10  $\mu\text{m}$ のシリカ( $\text{SiO}_2$ )ガラス微小球を30°Cで18日間浸漬し、さらにこれを $\text{H}_2$ 雰囲気中、350°Cで3.5時間加熱処理し、さらに $\text{NH}_3$ 雰囲気中、150°Cで30時間加熱処理することにより、窒化鉄微小球の合成を試みた(図2)。得られたサンプルの構造をXRDおよび走査型電子顕微鏡(SEM)により評価し、磁気的性質をVSMにより調べた。

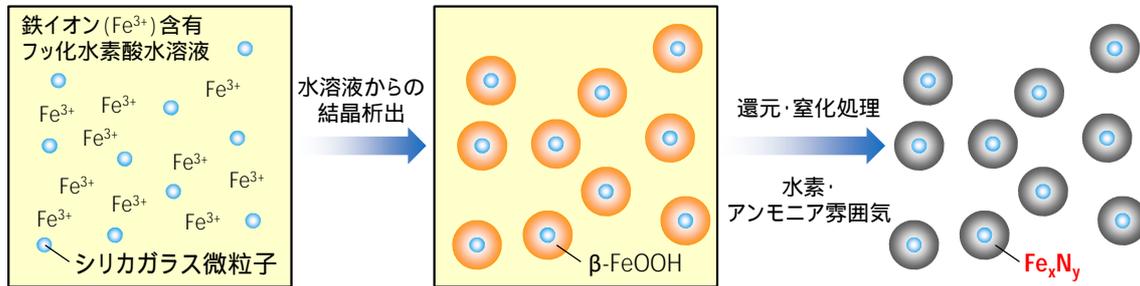


図2 窒化鉄微小球の作製

#### 4. 研究成果

(1) 還元・窒化処理前後のサンプルの TEM 写真を図 3 に示す。いずれのサンプルの場合も、還元・窒化処理により、凝集が生じ、粒子径は増大した。還元・窒化処理前後のサンプルの XRD パターンを図 4 に示す。Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> からなる MNPs を還元・窒化処理することにより、主に Fe<sub>16</sub>N<sub>2</sub> からなる微粒子が得られた。

M-a-RN、M-b-RN および M-c-RN の飽和磁化および保磁力は、M-a-RN : 128 emu/g、1670 Oe、M-b-RN : 163 emu/g、985 Oe、M-c-RN : 156 emu/g、465 Oe となり、いずれの場合も出発原料の M-a、M-b および M-c のそれらよりも大きな値となった。

磁化曲線から 100 kHz、300 Oe の交流磁場下での磁気ヒステリシス損失による発熱量を見積もると、M-b-RN は 23 W/g、M-b は 11 W/g となった。従って、Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> に代わり Fe<sub>16</sub>N<sub>2</sub> を用いることで高効率な温熱治療の実現が期待できることがわかった。

さらに、M-b-RN を Rat-1 細胞の培地に直接添加したところ、M-b-RN と M-b との間に毒性の大きな違いはみられなかった。以上より、Fe<sub>16</sub>N<sub>2</sub> が従来生体材料として研究されてきた Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> と同等の細胞適合性を示し、より高い発熱能を示す温熱種となり得ることが明らかとなった。

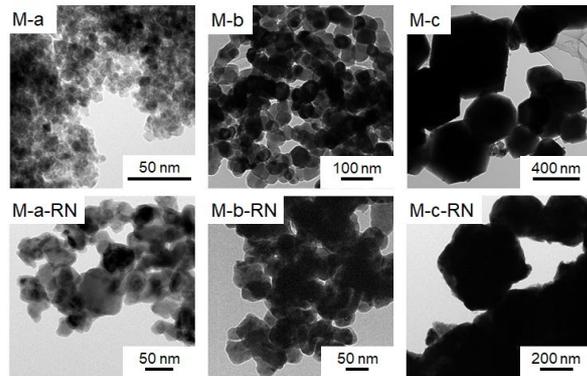


図3 還元・窒化前後のサンプルの TEM 写真

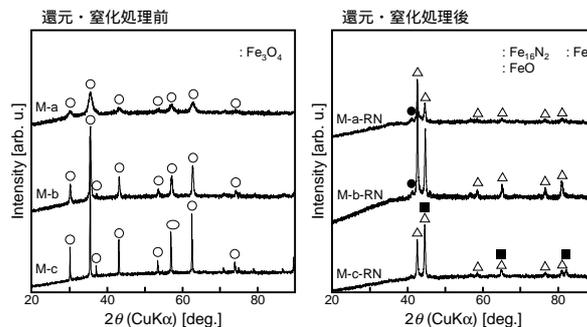


図4 還元・窒化前後のサンプルの XRD パターン

(2) XRD 測定の結果によれば、SiO<sub>2</sub> ガラス微小球を Fe-HF に浸漬することにより、その表面に β-FeOOH が析出した微小球が得られ、さらにこれを還元・窒化処理することにより、β-FeOOH は Fe(50%)と Fe<sub>8</sub>N(47%)に変化することが分かった。以上より、本法によって SiO<sub>2</sub> ガラス表面に Fe および Fe<sub>8</sub>N が析出した微小球が得られることが明らかとなった。一方、窒化後にも Fe が残存していたことから、窒化が十分でなく、より高温および/あるいは長時間の窒化処理が必要なことも明らかとなった。

SEM の結果によれば、Fe-HF 浸漬により、SiO<sub>2</sub> ガラス微小球の表面はほぼ β-FeOOH によって覆われていたが、その後の還元・窒化処理により、その一部が剥離していた(図 5)。これは、還元・窒化処理時に β-FeOOH の急速な脱水および結晶相変化が生じたためと考えられる。従って、還元・窒化処理においては、その昇温速度を下げる必要があることが明らかとなった。

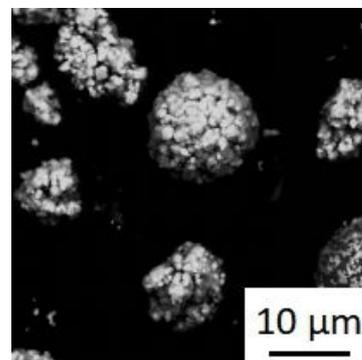


図5 Fe-HF 浸漬後、還元・窒化処理した SiO<sub>2</sub> ガラス微小球の SEM 写真

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 川下将一	4. 巻 53
2. 論文標題 経カテーテル動脈塞栓治療用微小球の合成	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 セラミックス	6. 最初と最後の頁 814-818
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 M. Shibata, T. Ogawa, M. Kawashita	4. 巻 45
2. 論文標題 Synthesis of iron nitride nanoparticles from magnetite nanoparticles of different sizes for application to magnetic hyperthermia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ceramics International	6. 最初と最後の頁 23707-23714
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ceramint.2019.08.086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 M. Shibata, T. Ogawa, M. Kawashita
2. 発表標題 Synthesis of iron nitride for magnetic hyperthermia of cancer
3. 学会等名 the 29th Annual Meeting of the European Society for Biomaterials (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 M. Shibata, T. Ogawa, H. Kanetaka, M. Furuya, K. Yokota, M. Kawashita
2. 発表標題 Magnetic property and heat-generating ability of iron nitrides
3. 学会等名 30th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柴田美咲, 金高弘恭, 古谷真衣子, 横田琴音, 小川智之, 川下 将一
2. 発表標題 窒化鉄ナノ粒子のラット由来線維芽細胞に対する毒性
3. 学会等名 日本セラミックス協会2019年年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Shibata, H. Kanetaka, M. Furuya, K. Yokota, T. Ogawa, M. Kawashita
2. 発表標題 Cytotoxicity of iron nitride nanoparticles for biomedical applications
3. 学会等名 the 30th Annual Meeting of the European Society for Biomaterials (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Kawashita, M. Shibata, T. Ogawa, M. Furuya, K. Yokota, H. Kanetaka
2. 発表標題 Development of iron nitride as thermal seeds for hyperthermia
3. 学会等名 19th Asian BioCeramics Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川下将一
2. 発表標題 深部がんの血管内治療に用いられる微小球
3. 学会等名 ニューガラスフォーラム若手懇談会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柴田美咲, 小川智之, 金高弘恭, 古谷真衣子, 横田琴音, 横井太史, 川下将一
2. 発表標題 窒化鉄を含む磁気温熱治療用材料の作製
3. 学会等名 第23回生体関連セラミックス討論会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 無機生体材料学分野 (川下研究室)  <a href="http://www.tmd.ac.jp/bcr/">http://www.tmd.ac.jp/bcr/</a></p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	金高 弘恭  (Kanetaka Hiroyasu)  (50292222)	東北大学・歯学研究科・准教授    (11301)	
研究分担者	小川 智之  (Ogawa Tomoyuki)  (50372305)	東北大学・工学研究科・准教授    (11301)	