

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：12701

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23360179

研究課題名(和文) 磁性ナノ粒子の発熱機構と培養細胞中の存在形態の評価分析法の開発

研究課題名(英文) Study on evaluation methods of heating mechanism and distribution in cultured cell of magnetic nanoparticles

研究代表者

竹村 泰司 (TAKEMURA, Yasushi)

横浜国立大学・工学研究院・教授

研究者番号：30251763

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円、(間接経費) 3,750,000円

研究成果の概要(和文)：がん温熱治療(ハイパーサーミア)は、傷跡や副作用のない、患者負担が軽微な治療法として期待される。腫瘍部に集約させた磁性ナノ粒子を外部交流磁界で発熱させる方法が有望である。腫瘍部を選択的に十分に加温するためには、低磁界強度で高効率に発熱する磁性ナノ粒子の開発が急務である。磁性ナノ粒子の発熱機構を明らかにするために、発熱特性及び細胞添加時の特性を評価する手法を確立した。

研究成果の概要(英文)：Hyperthermia, thermal treatment for cancer, is expected to reduce scar and side effects. A heating method using magnetic nanoparticles delivered to tumor is promising. Magnetic nanoparticles are heated by an external magnetic field. In order to heat tumor selectively, study on magnetic nanoparticles heated effectively by a magnetic field with low intensity is significant. In order to analyze the heating mechanism of magnetic nanoparticles, evaluation methods for heating property and distribution in cultured cell are developed.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：磁性ナノ粒子 がん温熱治療 磁気緩和

1. 研究開始当初の背景

がん温熱治療（ハイパーサーミア）は、外科療法、化学療法（抗がん剤）、放射線療法に伴う傷跡や副作用のない、患者負担が軽微な治療法である。腫瘍部に集約させた磁性ナノ粒子を外部交流磁界で発熱させる方法が有望であるが、体内に集約可能な低濃度で十分な発熱を得ることができないという根本的な課題がある。近年、臨床試験が初めて実施されたが、印加する磁界強度・周波数は高い。腫瘍部を選択的に十分に加温し、かつ人体への安全や正常部の加温を抑制するためには、低磁界強度で高効率に発熱する磁性ナノ粒子の開発が急務である。

2. 研究の目的

磁性ナノ粒子の発熱機構を明らかにするために、磁気特性と発熱特性の測定手法を確立することを研究目的とした。

また、磁性ナノ粒子を添加した培養細胞の形状像に加え、走査プローブ顕微鏡を用いた高感度磁気像により磁性ナノ粒子の位置を特定する観察評価法を検討した。

3. 研究の方法

(1) 発熱特性の評価

溶媒若しくは寒天中に分散させた磁性ナノ粒子の交流磁界による自己発熱温度を測定した。磁性ナノ粒子は市販品に加え、国内企業、国内外共同研究大学から提供されるものである。一次粒径：8~200 nm、二次粒径：30 nm~1 μm 程度として、生体適合性の高い $\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 、 Fe_3O_4 に加え、磁気特性や細胞毒性にバリエーションをつけるために CoFe_2O_4 、 NiFe_2O_4 、 MnFe_2O_4 など種々のフェライト材料を試料とした。

(2) 磁性ナノ粒子の磁気力顕微鏡観察

走査プローブ顕微鏡のカンチレバーの動的 Q 値制御を可能にするシステムを導入し、磁性ナノ粒子の高感度な磁気力顕微鏡観察を実施した。観察方法におけるパラメータ最適化等を比較的粒径の大きな磁性粒子を用いて実施し、消磁した試料と着磁処理した試料で明瞭な磁気像の相異を観測した。

(3) 発熱起源の同定

発熱起源の同定：直流・交流磁気特性から、発熱に寄与する損失を反映したマイナーループ面積を算出した。

(4) 表面修飾による分散・二次粒径

表面修飾による分散、二次粒径、生体適合性の制御と分散性確保（凝集防止）、生体適合性向上、生体分子の固定化のために磁性ナノ粒子に表面修飾（コーティング）処理を行った。

(5) 磁性ナノ粒子を添加した細胞観察

走査プローブ顕微鏡を用いて磁性ナノ粒子を添加した細胞の形状像と磁気像を観察するとともに、位相差・蛍光顕微鏡による培養過程の細胞観察を行った。

4. 研究成果

(1) 磁性ナノ粒子の発熱特性、直流・交流磁気特性の評価、及び溶媒・寒天中試料のデータ比較から、交流磁気損失におけるネール緩和とブラウン緩和の寄与を明確に分離し、示すことができた。

(2) 磁気力顕微鏡観察におけるパラメータ最適化等を比較的粒径の大きな磁性粒子を用いて実施し、消磁した試料と着磁処理した試料で明瞭な磁気像の相異を観測した。

(3) 溶媒や寒天に分散させた微量の磁性ナノ粒子から定量解析に十分な感度・精度を得るための機器の設定を行うことに成功した。これにより磁気緩和損失から磁化が反転するネール緩和と粒子自体が回転するブラウン緩和の寄与を定量的に分離することが可能となった。

(4) Fe_3O_4 磁性ナノ粒子を用いて、磁気特性と発熱特性がコート材料に大きく依存することを見いだしているが、一次粒径を一定として、二次粒径が異なる磁性ナノ粒子の磁気特性、発熱特性の相関を明らかにした。

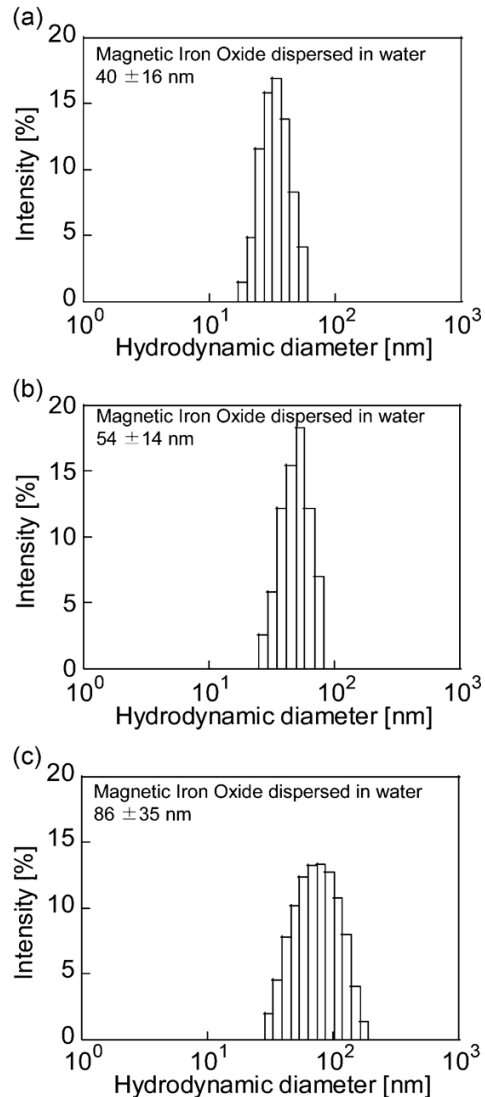


図1 二次粒径を変えた磁性ナノ粒子の粒径分布

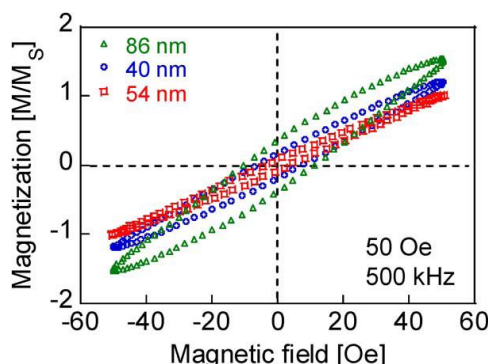


図2 交流磁場下(50 Oe, 500 kHz)で測定した磁性ナノ粒子のヒステリシス曲線

図1は、デキストランで表面修飾した磁性ナノ粒子の二次粒径である。動的光散乱法(DLS法)で測定したものであり、同一の一次粒径ながら、二次粒径が制御されている。これらの交流ヒステリシス曲線を図2に示す。磁場強度を50 Oeとしたマイナー曲線であるが、別に測定した発熱特性と傾向が一致しており、交流ヒステリシス曲線の測定が、磁性ナノ粒子の発熱特性、発熱機構の評価に有用であることを実証した。

(5) 画像解析から磁性ナノ粒子の二次粒径と、細胞内外かの区別を含むその分散状態を評価することに成功した。

(6) 磁性ナノ粒子を添加した細胞の観察から磁性ナノ粒子の局在などに関する知見を得た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

Minhong Jeun, Sanghoon Lee, Yu Jeong Kim, Hwa Yeon Jo, Ki Ho Park, Sun Ha Paek, Yasushi Takemura, and Seongtae Bae, Physical Parameters to Enhance AC Magnetically Induced Heating Power of Ferrite Nanoparticles for Hyperthermia in Nanomedicine, IEEE Transactions on Nanotechnology, Vol. 12, Issue 3, pp. 314-322, 2013. 査読有.

doi: 10.1109/TNANO.2013.2247414

Satoshi Ota, Yoshiyuki Takahashi, Asahi Tomitaka, Tsutomu Yamada, Daisuke Kami, Masatoshi Watanabe, Yasushi Takemura, Transfection efficiency influenced by aggregation of DNA/polyethylenimine max/magnetic nanoparticle complexes, Journal of Nanoparticle Research, 15, 1653, pp. 1-12, 2013. 査読有.

doi: 10.1007/s11051-013-1653-y

K. Nakamura, K. Ueda, A. Tomitaka, T. Yamada, Y. Takemura, Self-heating

temperature and ac hysteresis of magnetic iron oxide nanoparticles and their dependence on secondary particle size, IEEE Transactions on Magnetics, vol. 49, no. 1, pp. 240-243, 2013. 査読有.

doi: 10.1109/TMAG.2012.2226567

上田浩司、富高あさひ、山田努、竹村泰司:液中分散された磁性ナノ粒子の高周波励磁における磁気緩和、電気学会論文誌A(基礎・材料・共通部門誌), Vol. 132, No. 10, pp. 813-817, 2012. 査読有.

doi: 10.1541/ieejfms.132.813

Asahi Tomitaka, Tsutomu Yamada and Yasushi Takemura, Magnetic nanoparticle hyperthermia using Pluronic-coated Fe₃O₄ nanoparticles: an in vitro study, Journal of Nanomaterials, Volume 2012, Article ID 480626, 5 pages, 2012. 査読有.

doi:10.1155/2012/480626.

Asahi Tomitaka, Koji Ueda, Tsutomu Yamada, Yasushi Takemura, Heat dissipation and magnetic properties of surface-coated Fe₃O₄ nanoparticles for biomedical applications, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, Volume 324, Issue 21, pp. 3437-3442, 2012. 査読有.

doi: 10.1016/j.jmmm.2012.02.060

Minhong Jeun, Sanghoon Lee, Jae Kyeong Kang, Asahi Tomitaka, Keon Wook Kang, Young Il Kim, Yasushi Takemura, Kyung-Won Chung, Jiyeon Kwak and Seongtae Bae, Physical limits of pure superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles for a local hyperthermia agent in nanomedicine, Applied Physics Letters, 100, 092406, pp.1-4, 2012. 査読有.

doi: 10.1063/1.3689751

〔学会発表〕(計25件)

Satoshi Ota, Kosuke Nakamura, Asahi Tomitaka, Tsutomu Yamada, Yasushi Takemura, Evaluation of hysteresis loop and magnetic relaxation time of magnetic nanoparticles under alternating magnetic field, 4th International Workshop on Magnetic Particle Imaging (IWMPI 2014), Berlin, Germany, March 28, 2014.

Yasushi Takemura, Evaluation of magnetic nanoparticles for biomedical applications, 2013 EMN (Energy Materials and Nanotechnology) Fall Meeting, INVITED, Abstracts Book of 2013 EMN Fall Meeting, pp. 85-86, Orland, USA, Dec. 7, 2013.

大多哲史、富高あさひ、山田努、上大介、五條理志、渡邊昌俊、竹村泰司:ポリエチ

レンイミンおよびその修飾磁性ナノ粒子の異なる細胞内局在の評価、第51回日本人工臓器学会大会(共催:第5回国際人工臓器学術大会、第21回国際ロータリー血液ポンプ学会大会) 横浜、2013年9月27日。

S. Ota, A. Tomitaka, T. Yamada, D. Kami, M. Watanabe, Y. Takemura, Transfection of polyethylenimine and its coated magnetic nanoparticles by different pathways in cytoplasm, Biomedical Engineering Society, Annual Meeting 2013, P-Th-A- 200, Seattle, USA, September 26, 2013.

清野貴史、大多哲史、高橋慶行、富高あさひ、上大介、渡邊昌俊、山田努、竹村泰司: 磁性ナノ粒子を用いた遺伝子導入法とその導入効率における交流磁場の影響、平成25年電気学会 基礎・材料・共通部門大会、12-P-15、横浜、2013年9月12日。

巻田遼、大多哲史、山崎直哉、富高あさひ、山田努、竹村泰司: 磁性ナノ粒子を用いたハイパーサーミアにおけるアポトーシス促進剤の効果、平成25年電気学会 基礎・材料・共通部門大会、12-P-17、横浜、2013年9月12日。

赤池正平、大多哲史、山崎直哉、富高あさひ、山田努、竹村泰司: 抗体を結合させた磁性ナノ粒子を用いたがん温熱治療の検討、平成25年電気学会 基礎・材料・共通部門大会、12-P-23、横浜、2013年9月12日。

大多哲史、富高あさひ、山田努、上大介、渡邊昌俊、竹村泰司: ポリエチレンイミン修飾磁性ナノ粒子/DNA複合体の凝集に依存した遺伝子導入効率、第37回日本磁気学会学術講演会、札幌、2013年9月5日。

大多哲史、山崎直哉、富高あさひ、山田努、竹村泰司: 磁性ナノ粒子ハイパーサーミアと抗体を組み合わせたがん治療効果、第37回日本磁気学会学術講演会、札幌、2013年9月5日。

Yasushi Takemura, Intensity and frequency of exciting magnetic field for biomedical applications, 第37回日本磁気学会学術講演会、シンポジウム「Generation and utilization of a magnetic field for medical applications」、Symposium organizer、札幌、2013年9月4日。

竹村泰司: 磁気ハイパーサーミアの発熱体と磁場条件、日本ハイパーサーミア学会第30回大会 シンポジウム「磁性体を用いたハイパーサーミアの現状と未来」、横浜、2013年8月31日。

S. Ota, N. Yamazaki, A. Tomitaka, T. Yamada, Y. Takemura, Combination of magnetic hyperthermia, antibody, and cryptotanshinon enhancing the effect of cancer therapy, The 3rd International

Symposium on Advanced Magnetic Materials and Applications (ISAMMA 2013), Taichung, Taiwan, July 21-25, 2013.

大多哲史、竹村泰司: 機能化磁性ナノ粒子を用いたがん温熱治療とアポトーシス誘導、12th Conference for BioSignal and Medicine (CBSM2013), バイオシステムダイナミクスと医療デバイス理工学、山梨、2013年7月13日。

Yasushi Takemura, Magnetic nanoparticles for biomedical applications - from cancer therapy to gene delivery -, 2nd International Congress on Advanced Materials, E7, INVITED, Zhenjiang, China, May 17, 2013.

Naoya Yamazaki, Asahi Tomitaka, Tsutomu Yamada, Yasushi Takemura, Induced apoptosis in combination therapy of antibody and hyperthermia using Cryptotanshinone and antibody/magnetic nanoparticle complex, 30th Annual Meeting of the Society for Thermal Medicine, Aruba, April 19, 2013.

S. Ota, A. Tomitaka, T. Yamada, D. Kami, M. Watanabe, Y. Takemura, Aggregation of DNA/PEI max/magnetic nanoparticle complexes inducing decline of transfection efficiency, The 11th International Conference on Ferrites (ICF 11), Okinawa, April 17, 2013.

Yasushi Takemura, Heating methods and materials for hyperthermia - from medical equipment to nanotechnology, 2012 EMN (Energy Materials and Nanotechnology) Fall Meeting, B21, INVITED, Abstracts Book of 2012 EMN Fall Meeting, pp. 85-86, Las Vegas, USA, Dec 1, 2012.

Yasushi Takemura, Combination therapy of antibody and hyperthermia using magnetic nanoparticles, The 3rd Annual World Congress of NanoMedicine-2012, 1-2-1, INVITED, Shenzhen, China, Nov. 2, 2012.

Yasushi Takemura, New functionality of magnetic nanoparticles in biomedical applications - from gene delivery to combination therapy with antibody -, The 2nd International Conference of the Asia Union of Magnetics Societies (ICAUMS2012), 2pC-1, INVITED, Nara, Oct. 2, 2012.

Asahi Tomitaka, Tsutomu Yamada and Yasushi Takemura, Influence of surface coating on magnetic and self-heating properties of Fe₃O₄ nanoparticles and in vitro experiment for hyperthermia, 9th

International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers, Poster 147, Minneapolis, USA, May 23, 2012.

- ⑳ Kosuke Nakamura, Koji Ueda, Asahi Tomitaka, Tsutomu Yamada and Yasushi Takemura, Self-heating temperature and ac hysteresis of magnetite nanoparticles and their dependence on secondary particle size, 9th International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers, Poster 93, Minneapolis, USA, May 23, 2012.
- ㉑ 上田浩司、富高あさひ、山田努、竹村泰司：交流励磁したフェライト系磁性ナノ粒子の磁気緩和、電気学会マグネティクス研究会、MAG-11-112、仙台、2011年11月25日。
- ㉒ Yasushi Takemura, Thermal therapy for cancer: from magnetic nanoparticles to excitation by MRI, BIT Life Sciences' 2nd Annual NanoMedicine-2011 Conference, Session 318: Practical Instrument and Analytical Technology in Nanostructure Characterization, INVITED, Digests Book pp. 129, Shenzhen, China, Nov. 3, 2011.
- ㉓ 上田浩司、小林宏紀、富高あさひ、山田努、竹村泰司：癌温熱治療用磁性ナノ粒子の高周波励磁下での緩和機構の評価、2011年第35回日本磁気学会学術講演会、27pF-12、新潟、2011年9月27日。
- ㉔ T. Kitame, K. Ueda, H. Kobayashi, A. Tomitaka, T. Yamada and Y. Takemura, Evaluation of self-heating property of magnetic nanoparticle coated by dispersant, Asia-Pacific Interdisciplinary Research Conference 2011 (AP-IRC 2011), 18PP-36, Toyohashi, Nov. 18, 2011.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹村 泰司 (TAKEMURA YASUSHI)

国立大学法人横浜国立大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号：30251763

(2) 研究分担者

山田 努 (YAMADA Tsutomu)

国立大学法人横浜国立大学・大学院工学研究院・助手

研究者番号：70251767