

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：12701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23656013

研究課題名(和文)がん細胞特異的磁気ナノ微粒子のハイパーサーミアへの応用

研究課題名(英文)Cancer cell selective magnetic nanoparticles and application for hyperthermia treatment

研究代表者

一柳 優子 (Ichiyanagi, Yuko)

横浜国立大学・工学研究院・准教授

研究者番号：90240762

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：ナノサイズの磁気微粒子を独自の製法で作製し、磁気特性を明らかにした。がん細胞に選択的な機能性を持たせるために、官能基を修飾する方法を確立した。アミノ基と葉酸を修飾することにより、がん細胞に選択的に導入されることを確認した。磁気クラスターの組成を調整し、直流および交流磁化率測定により、交流磁場中でもっとも熱散逸がおけると予想できる試料の粒径を最適化した。交流磁場中での発熱変化を測定すると、高いもので20度近くの温度上昇が観測できた。得られた磁気ナノ微粒子をがん細胞を培養したディッシュに撒き、交流磁場を印加してがん細胞の生存率を調べたところ、明らかなハイパーサーミア効果が確認できた。

研究成果の概要(英文)：Magnetic nanoparticles encapsulated in amorphous SiO<sub>2</sub> were prepared using our original wet chemical method. The cancer cell selective magnetic particles were developed by functionalization. Magnetization measurements were performed for various composition and particle size. AC magnetic susceptibility measurements were performed for samples, and particle composition, size were optimized for magnetic hyperthermia treatment. In vitro experiments to study the hyperthermia effects on cancerous cells were carried out and drastic effects were obtained.

研究分野：ナノ・マイクロ

科研費の分科・細目：応用物理学・工学基礎、応用物性・結晶工学

キーワード：magnetic hyperthermia nanoparticle ac susceptibility cancer ferrites relaxation loss

### 1. 研究開始当初の背景

ナノメートルサイズの磁気微粒子は、高密度記録媒体や各種磁性材料のみならず、ナノテクノロジーの各分野で注目を集めている。これからはライフサイエンス分野と物理の分野を融合させ、新しい科学技術の発展に貢献していくべきであると考えた。

申請者は、金属塩化物水溶液とメタ珪酸ナトリウム水溶液を混合することにより、沈殿物としてアモルファス SiO<sub>2</sub> のランダムネットワーク中に、直径 2-30 nm 程度の磁気クラスターが形成されることを確認していた。これらの磁気相転移の研究を行う中で、平成 18 年からは境界領域へのアプローチを始め、鉄酸化物にアミノ基や蛍光物質を修飾することに成功している。外部磁場により生体組織内で局在化が可能になることも確認した。

### 2. 研究の目的

本研究は独自の製法で磁気ナノ微粒子を生成し、磁氣的性質を明らかにするとともに、官能基と葉酸を修飾しガン細胞選択性を持たせた上で、磁気ハイパーサーミア(温熱療法)へ応用することを目的とする。交流磁化率の測定から磁気緩和に関するパラメータを解析し、発熱機構を解明することでガン細胞が壊死するまでの温度上昇を実現し医療技術に貢献する。

### 3. 研究の方法

遷移金属を含むナノサイズの磁気微粒子を種々作成し、これに葉酸やタンパクを修飾してガン細胞に特異的に導入可能な機能性を持たせる。各種サンプルの磁気特性を詳細に調べ、特に交流磁化率の虚部の振る舞いから磁気ハイパーサーミア(温熱療法)に適したものを探索する。磁化のデータから選択したサンプルについて交流磁場を印加し、昇温過程を観察し、発熱量を定量的に決定する。

### 4. 研究成果

#### 磁気ナノ微粒子作製と官能基修飾

ハイパーサーミア用媒体として有用と思われる磁気微粒子を生成した。特に鉄(Fe)酸化物に亜鉛(Zn)をドーブした系、さらにマグネシウム(Mg)、マンガン(Mn)をドーブした系、また鉄とニッケル(Ni)を含むフェライト系の物質について、単相のサンプルを作製し、粒径制御、組成の調整をおこなった。磁気微粒子に機能性を持たせるためのアミノ基の修飾方法を確立させた。機能化した端に葉酸修飾を施した。

#### 構造評価と磁気測定

XRD, TEM, FT-IR などの評価と放射光を利用した局所構造の解析を行った。各サンプルについて、直流(DC)および交流(AC)の磁化測定を詳細に行った。特にこの系の発熱機構は主にネール緩和による発熱が支配的と考えたため、交流磁化率の虚数成分に注目し、試料の最適化を行った。交流周波数 100Hz, 交流

磁場 1 Oeにて測定した。

1 例として Fe<sub>2.7</sub>Co<sub>0.3</sub>O<sub>4</sub> (x = 0.3)磁気微粒子の 6-18 nm の交流磁化率虚数部の温度依存性を図 1 に示す。室温付近では 7.5 nm のものがピークを示す。この条件で熱散逸が最も効果的であると考えられる。

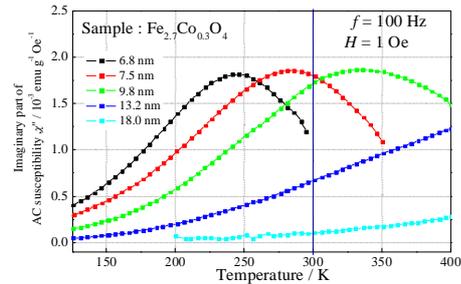


図 1 粒径別 Fe<sub>2.7</sub>Co<sub>0.3</sub>O<sub>4</sub> の交流磁化率虚数部の温度依存性

#### 発熱測定

各試料の交流磁場による温度上昇を測定するため、温度上昇測定装置の構築を行った。この装置を用いて温度上昇を測定した結果、試料によっては 15 度から 20 度の温度上昇が観察できた。がん細胞を死滅させるのに十分な温度上昇である。温度上昇の結果を図 2 に示す。交流磁化率の結果から予想したとおり、7.5 nm のものが最も発熱効率が高かった。5 分間で 20 度の温度上昇が確認できた。

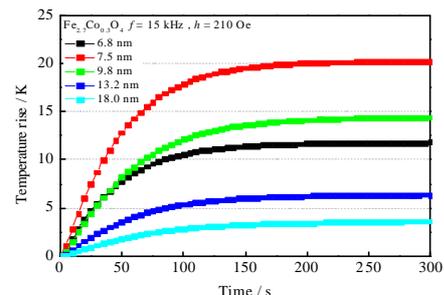


図 2 粒径別 Fe<sub>2.7</sub>Co<sub>0.3</sub>O<sub>4</sub> の交流磁場中における温度上昇

#### in vitro 実験

前立腺がんの細胞を用いて、磁気ハイパーサーミアを検証するシステムを構築した。交流磁場をかけるとドラスティックにがん細胞が死滅し、効果が明らかになった。磁場をかけない場合はほとんど細胞は死滅せず、本微粒子の毒性が低いことも証明された。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 14 件)

1. T. YANO, A. KUROKAWA, T. MIYASAKA, K. MORI, M. HACHISU, H. TAKEUCHI, S. YANO, K. ONUMA, T. KONDO, K. MIKE and

Y. ICHIYANAGI, "Magnetic and Dielectric Properties of Multiferroic  $\text{Bi}_{1-x}\text{GdxFeO}_3$ ", Journal of the Japan Society of Powder and Powder Metallurgy, Vol.61 No.S1(2014) S30-S33.(査読あり)

2. M. Hachisu, K. Onuma, T. Kondo, K. Miike, T. Miyasaka, K. Mori, and Y. Ichiyanagi "Superparamagnetic behavior of Fe-doped  $\text{SnO}_2$  nanoparticles", AIP Conf. Proc. 1585 (2014)3.(査読あり)

3. Akinobu Kurokawa, Takuya Yanoh, Shinya Yano, and Yuko Ichiyanagi, "Preparation and magnetic properties of multiferroic  $\text{CuMnO}_2$  nanoparticles", Journal of Nanoscience and Nanotechnology 14, (3) (2014) 2553-2556.(査読あり)

4. T. Kondo, A. Kurokawa, H. Takeuchi, T. Yanoh, S. Yano, K. Onuma, K. Miike, T. Miyasaka and Y. Ichiyanagi, "Magnetic Properties of  $\text{MgFe}_2\text{O}_4$  Nanoparticles and Zn Doping Effect", Trans. Mat. Res. Soc. Japan 38[4] (2013)513-516.(査読あり)

5. Yuko Ichiyanagi, "Development of functional magnetic nanoparticles for biomedical application", Proceedings of SPIE, Oxide-based Materials and Devices III, Vol.8263, (2013)191-197.(査読あり)

6. 一柳優子、月刊バイオインダストリー 特集：ナノメディシン最前線 「がん細胞選択性機能を持つ磁気ナノ微粒子の開発とハイパーサーミアへの応用」シーエムシー出版 2013.6月号 p33 - 39.(査読あり)

7. H. Takeuchi, A. Kurokawa, T. Yanoh, S. Yano, K. Onuma, T. Kondo, K. Miike, T. Miyasaka, M. Hachisu, K. Mori and Y. Ichiyanagi, "Production of  $\text{Fe}_{3-x}\text{Zn}_x\text{O}_4$  nanoparticles for agents in hyperthermia treatment", Journal of Basic and Applied Physics, Vol. 2, Iss. 4, (2013) p201-204. (査読あり)

8. S Yano, A Kurokawa, H Takeuchi, T Yanoh, K Onuma, T Kondo, K Miike, T Miyasaka and Y Ichiyanagi, "Synthesis and study of magnetic properties of Co-doped anatase  $\text{TiO}_2$  nanoparticles" Journal of Physics: Conference Series **433** (2013) 012019.(査読あり)

9. L Zhu, N Sakai, T Yanoh, S Yano, N Wada, H Takeuchi, A Kurokawa, and Y Ichiyanagi "Synthesis of multiferroic  $\text{DyFeO}_3$  nanoparticles and study of their magnetic properties", Journal of Physics: Conference Series **352** (2012) 012021. (査読あり)

10. Shu Taira, Yuko Ichiyanagi, "Analysis of Complex Materials using Functionalized Magnetic Nanoparticles" (pp.179-204), "Magnetic Nanoparticles: Properties, Synthesis and Applications" Chapter 5, Nova Publishers 2012. (査読あり)

11. Toshiki Miyasaka, Akinobu Kurokawa, Hiromasa Takeuchi, Shinya Yano, Takuya Yanoh, Kazuki Onuma, Takaya Kondo, Kazunari Miike,

and Yuko Ichiyanagi, "Magnetic Properties and X-ray Absorption Fine-Structure Spectra of  $\text{CoMn}_2\text{O}_4$  Nanoparticles" e-J. Surf. Sci. Nanotech. Vol. 10 (2012) 643-646. (査読あり)

12. N Sakai, L Zhu, A Kurokawa, H Takeuchi, S Yano, T Yanoh, N Wada, S. Taira, Y Hosokai, A Usui, Y Machida, H Saito and Y Ichiyanagi, "Synthesis of  $\text{Gd}_2\text{O}_3$  nanoparticles for MRI contrast agents", Journal of Physics: Conference Series **352** (2012) 012008. (査読あり)

13. Shinji Kimura, Toshiyuki Mashino, Tomoyuki Hiroki, Daiki Shigeoka, Naoki Sakai, Liming Zhu, Yuko Ichiyanagi, "Effect of Heat Treatment on Jahn-Teller Distortion and Magnetization in Cu Ferrite Nanoparticles", Thermochemica Acta, 532 (2012) 119-122. (査読あり)

14. Y. Ichiyanagi, D. Shigeoka, T. Hiroki, T. Mashino, S. Kimura, A. Tomitaka, K. Ueda and Y. Takemura, "Study on Increase in Temperature of Co-Ti Ferrite Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia Treatment," Thermochemica Acta 532 (2012) 123-128. (査読あり)

[学会発表](計 35 件)

[国際会議]

1. Yuko Ichiyanagi, "Self-heating properties and MRI contrast of multifunctional magnetic nanoparticles", EMN Fall meeting Orlando, USA 招待講演 2013.12.9

2. Kazuki Onuma, Tomoyuki Hiroki, Yuko Ichiyanagi, "Structural Characteristics and Ionization Ability of Manganese Oxide Nanoparticles", 9th International Symposium on Atomic Level Characterizations for New Materials and Devices '13 (ALC'13) 2013.12.5 Kona, USA

3. Toshiki Miyasaka, Takaya Kondo, Kazunari Miike, Kazuki Onuma, Masaya Hachisu, Kazumasa Mori, and Yuko Ichiyanagi, "Local Structure Control of Manganese Oxide Nanoparticles Encapsulated by Amorphous  $\text{SiO}_2$ ", 9th International Symposium on Atomic Level Characterizations for New Materials and Devices '13 (ALC'13) 2013.12.5 Kona

4. T. Kondo, K. Onuma, K. Miike, T. Miyasaka, M. Hachisu, K. Mori, Y. Ichiyanagi, "Magnetic and self heating properties of Mn-Zn ferrite nanoparticles as agents of hyperthermia treatment", 7th International Symposium on Nanomedicine 2013.11.8

5. K. Miike, N. Sakai, Y. Ichiyanagi, Y. Hosokai, A. Usui, Y. Machida, H. Saito, "Magnetic Properties and MRI Contrast Effect on  $\text{CoFe}_3\text{-xO}_4$  Nanoparticles" 7th International Symposium on Nanomedicine Kitakyushu 2013.11.8 **Best Poster Award**

6. K. Mori, K. Onuma, T. Kondo, K. Miike, T. Miyasaka, M. Hachisu, Y. Kikuchi, Y. Ichiyanagi, "Synthesis of the PEI coated cobalt ferrite

nanoparticles for magnetic hyperthermia”, 7th International Symposium on Nanomedicine Kitakyushu, 2013.11.8

7. Yuko Ichiyanagi, “Optimization of Self-Heating Properties of Multifunctional Magnetic Nanoparticles”, 7th International Symposium on Nanomedicine Kitakyushu 招待講演 2013.11.7

8. Takaya KONDO, Kazumasa MORI, Kazunari MIIKE, Toshiki MIYASAKA, Kazuki ONUMA, Masaya HACHISU and Yuko ICHIYANAGI, ”SELF HEATING PROPERTIES OF Mn-Zn FERRITE NANOPARTICLES AS AGENTS FOR HYPERTHERMIA TREATMENT”, The Fifth International Symposium on the New Frontiers of Thermal Studies of Materials, Yokohama 2013.10.28

9. Kazumasa MORI, Yu KIKUCHI, Takaya KONDO, Kazunari MIIKE, Kazuki ONUMA, Toshiki MIYASAKA, Masaya HACHISU and Yuko ICHIYANAGI “TG-DTA ANALYSIS OF PEI COATED COBALT FERRITE NANOPARTICLES FOR MAGNETIC HYPERTHERMIA” The Fifth International Symposium on the New Frontiers of Thermal Studies of Materials, Yokohama, 2013.10.28

10. Y. Ichiyanagi, H. Takeuchi, T. Kondo, K. Miike, T. Miyasaka, K. Onuma, M. Hachisu, and K. Mori “Functional Magnetic Nanoparticles for Hyperthermia Treatment and MRI Agent” Seeheim SCM2013, Frankfurt. Germany 2013 10.3 招待講演

11. A. Kurokawa, S. Yano, T. Yanoh, M. Hachisu, H. Takeuchi, K. Onuma, T. Kondo, K. Miike, T. Miyasaka, K. Mori, S. Kaido, Y. Ichiyanagi “Transition Metal Doping Effects on Electronic States and Magnetic Properties of NiO Nanoparticles”, Intl.Conf. Fine Particle Magnetism, Perpignan フランス 2013.6/24-27

12. H. Takeuchi, A. Kurokawa, T. Yanoh, S. Yano and Y. Ichiyanagi“, Production of  $Fe_{3-x}Zn_xO_4$  Nanoparticles for Agents in Hyperthermia Treatment”, Intl.Conf. Fine Particle Magnetism, Perpignan フランス 2013.6/24-27

13. Yuko Ichiyanagi, “Functional magnetic nanoparticles and biomedical applications”, EMN WEST MEETING, Houston USA 2013.1.9 招待講演

14. Yuko Ichiyanagi, 6th International Symposium on Nanomedicine, “Multifunctional Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications”, Matsue Japan2012.11.29 招待講演

15. T. Kondo, H. Takeuchi, A. Kurokawa, T. Yanoh, S. Yano, K. Miike, T. Miyasaka, K. Onuma, S. Ohruai and Y. Ichiyanagi, “Magnetic Properties of  $MgFe_2O_4$  Nanoparticles and Zn Doping Effect”, IUMRS-International Conference on Electronic Materials, 2012.9.27. Yokohama

16. Yuko Ichiyanagi, “Functional Magnetic

Nanoparticles for Hyperthermia Treatment” 2012 Northeastern Asian Symposium, Sendai,2012.9.20 招待講演

17. A. Kurokawa, N. Sakai, L. Zhu, H. Takeuchi, S. Yano, T. Yanoh, K. Onuma, T. Kondo, K. Miike, T. Miyasaka, Y. Ichiyanagi, “Synthesis and Magnetic Properties of Fe-doped NiO Nanoparticles”, ICM2012 2012.7.8-13 Busan, Korea

18. H Takeuchi , A Kurokawa , T Yanoh , S Yano and Y Ichiyanagi, “Production of  $Fe_{3-x}Zn_xO_4$  nanoparticles for agents in hyperthermia treatment”,ICM2012 2012.7.8-13 Busan, Korea

19. Yuko Ichiyanagi, “Evaluation and application of magnetic nanoparticles” XAFS15 Satellite workshop, XAFS theory and nano particles, 18-20 July 2012, Chiba, Japan

20. T. Miyasaka, A. Kurokawa, H. Takeuchi, S. Yano, T. Yanoh, K. Onuma, T. Kondo, K. Miike and Y. Ichiyanagi, ”Magnetic properties and XAFS spectra of  $CoMn_2O_4$  Nanoparticles”, XAFS15 Satellite workshop, XAFS theory and nano particles, 18-20 July 2012, Chiba, Japan

21. Yuko Ichiyanagi, “Functional Magnetic Nanoparticles for Hyperthermia and Imaging Agent”, Villa Conference on Interaction Among Nanostructures, Orland, Florida, USA 2012.4.18 招待講演

22. Yuko Ichiyanagi “Functional Magnetic Nanoparticles for Hyperthermic and Imaging Agent”, 5th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2011),2012, 3.(15-)17, Nagoya University ES Hall 招待講演

23. Yuko Ichiyanagi Development of functional magnetic nanoparticles for biomedical application, Photonic West, SPIE OPTO, Oxide-based Materials and Devices III Conference, San Fransisco, USA 招待講演, 2012.1.24

24. Yuko Ichiyanagi “Functional Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications”,BIT’s 1<sup>st</sup> Annual Symposium of Drug Delivery Systems, Nov 4. 2011 Shenzhen, China

[国内学会]

25. 宮坂俊樹、小沼一紀、近藤貴哉、三池和成、蜂巢将也、森一将、菊池祐、兵藤公美典、森本翔大、山崎敦史、一柳優子

「Mn 酸化物ナノ微粒子の XAFS による局所構造解析と磁気特性」物理学会第 6 9 回年会 2014.3.27 平塚

26. 三池和成、近藤貴哉、宮坂俊樹、小沼一紀、森一将、蜂巢将也、菊池祐、兵藤公典、森本翔太、山崎敦史、細貝良行、臼井章仁、町田好男、齋藤春夫、一柳優子「Mn 及び Co 系フェライトナノ微粒子の MRI 造影効果と発熱特性」物理学会第 6 9 回年会 2014.3.27 平塚

27. 近藤貴哉、小沼一紀、三池和成、宮坂俊樹、蜂巢将也、森一将、一柳優子「磁気ハイパーサーミアに向けた Mn-Zn ferrite ナノ微粒子

の磁気特性及び発熱評価」日本物理学会 2013 年秋季大会 2013.9.25-28 徳島  
 日本物理学会第 68 回年次大会  
 28. 宮坂俊樹, 近藤貴哉, 三池和成, 蜂巢将也, 森一将, 一柳優子「スピネル型  $MMn_2O_4$  ( $M = Fe, Ni, Co, Zn$ ) ナノ微粒子の結晶構造変化と磁気特性」日本物理学会 2013 年秋季大会 2013.9.25-28 徳島  
 29. 三池和成, 近藤貴哉, 宮坂俊樹, 森一将, 蜂巢将也, 細貝良行, 臼井章仁, 町田好男, 齋藤春夫, 一柳優子, 「Core-shell 型 Co フェライトの MRI 造影効果におけるシリカ層の影響」ナノ学会第 11 回大会 (東工大・100 年記念館) 2013.6/6-8  
 30. 宮坂俊樹, 近藤貴哉, 三池和成, 蜂巢将也, 森一将, 一柳優子, 「スピネル型 Mn 酸化物ナノ微粒子の  $SiO_2$  包含効果と局所構造解析」ナノ学会第 11 回大会 (東工大・100 年記念館) 2013.6/6-8  
 31. 森一将, 小沼一紀, 近藤貴哉, 三池和成, 宮坂俊樹, 蜂巢将也, 一柳優子「薬剤輸送を目指した磁性ナノ微粒子の機能化」ナノ学会第 11 回大会(東工大・100 年記念館)6/6-8  
 32. 近藤貴哉, 竹内宏賢, 三池和成, 宮坂俊樹, 蜂巢正也, 森一将, 一柳優子, 「磁気ハイパーサーミアに向けたフェライトナノ微粒子の磁気特性と発熱特性」ナノ学会第 11 回大会 (東工大・100 年記念館) 2013.6/6-8  
 33. 竹内宏賢, 黒川瑛宣, 矢納拓弥, 矢野真也, 小沼一紀, 近藤貴哉, 三池和成, 宮坂俊樹, 海藤翔太, 蜂巢将也, 森一将, 一柳優子「 $Fe_{3-x}Co_xO_4$  ( $x = 0.3, 0.5$ ) ナノ微粒子の磁気特性及び磁気ハイパーサーミアに向けた発熱評価」2013.3.26-29 大阪  
 34. 三池和成, 細貝良行, 臼井章仁, 町田好男, 齋藤春夫, 一柳優子「金属酸化物ナノ微粒子の磁気特性と MRI 造影効果」日本物理学会秋季大会 横浜 2012.9.19-22  
 35. 近藤貴哉, 黒川瑛宣, 矢納拓弥, 竹内宏賢, 矢野真也, 小沼一紀, 宮坂俊樹, 三池和成, 一柳優子「Mn-Zn ferrite ナノ微粒子の作製と磁気特性及び発熱特性」日本物理学会秋季大会 横浜 2012.9.19-22

〔図書〕(計 1 件)

S. Taira, Y. Ichiyanagi, Analysis of Complex Materials using Functional Magnetic Nanoparticles, "Magnetic Nanoparticles: Properties, Synthesis and Applications", Chapter 5, Nova Publishers, 2012 総ページ 322 ページ

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 「温熱療法用 Ni-Zn 系フェライト磁気ナノ微粒子、及びそれを用いた温熱療法用いた温熱療法用薬物結合複合体」  
 発明者: 一柳優子、竹内宏賢、大類翔太  
 権利者: 同上

種類: 特許  
 番号: 特願 2012-133436  
 出願年月日: 2012.5.13  
 国内外の別: 国内

取得状況 (計 1 件)

名称:  
 発明者:  
 権利者:  
 種類:  
 番号:  
 取得年月日:  
 国内外の別:

〔その他〕  
 ホームページ等  
<http://yukolab.ynu.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
 一柳優子 (Yuko Ichiyanagi)  
 横浜国立大学・工学研究院・准教授  
 研究者番号: 90240762

(2) 研究分担者  
 ( )

研究者番号:

(3) 連携研究者  
 ( )

研究者番号: