

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 10 日現在

機関番号：12701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26289124

研究課題名(和文) 生体内環境における磁性ナノ粒子の発熱機構を解明する評価分析法の確立

研究課題名(英文) Evaluation method for analysis of heating mechanism of intercellular magnetic nanoparticles

研究代表者

竹村 泰司 (TAKEMURA, Yasushi)

横浜国立大学・工学(系)研究科(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) 12,100,000円

研究成果の概要(和文)：ハイパーサーミアとは、がんの温熱治療のことである。腫瘍部を42.5℃以上に選択的に加温することが求められる。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として期待されている。このがん治療法を実現するために高効率に発熱する磁性ナノ粒子の開発に結びつく研究成果を得た。具体的には生体内環境下での磁性ナノ粒子の発熱機構を解明することに成功した。

研究成果の概要(英文)：Hyperthermia is a cancer therapy which heats temperature of a cancer tissue at over 42.5 deg. C to kill the cancer cells selectively. It poses a low risk to the body and causes few side effects as compared to surgery, chemotherapy, and radiation therapy. This study contributed for development of highly efficient heating of magnetic nanoparticles. The heating mechanism of intercellular magnetic nanoparticles was successfully analyzed.

研究分野：計測工学、磁気工学、磁性材料

キーワード：計測工学 磁性 ナノ粒子 磁性ナノ粒子

1. 研究開始当初の背景

ハイパーサーミアとは、がんの温熱治療のことである。腫瘍部を 42.5 以上に選択的に加温することが求められる。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として期待されている。磁性ナノ粒子は交流磁場を印加すると磁気的な損失により発熱することからハイパーサーミアの発熱体として有望であり、国内外で広く研究されている。しかしながら腫瘍部に集約させた比較的低濃度の磁性ナノ粒子から十分な発熱を得ることが困難である。低磁界強度下において高い発熱を示す磁性ナノ粒子の実現には、その発熱機構を解明する必要がある。

2. 研究の目的

実際の生体内環境における磁性ナノ粒子の発熱機構を解明することに着眼した。従来は液中や固体中に分散させた磁性ナノ粒子を用いた実験が行われているが、本研究では細胞中の磁性ナノ粒子の交流磁場下での磁気的な性質を解明することを目的とした。そのためには細胞への磁性ナノ粒子添加や、微量な磁性ナノ粒子の磁気特性を高感度に測定するための計測システムの構築が必要となる。

3. 研究の方法

(1)発熱特性の評価、微量・低濃度磁性ナノ粒子の直流・交流磁気特性の評価

溶媒に分散させた  $Fe_3O_4$ 、 $-Fe_2O_3$  磁性ナノ粒子の発熱特性を評価した。従来は交流磁場を印加し、発熱した磁性ナノ粒子の温度を直接測定していたが、本研究では交流ヒステリシス測定から磁気損失を定量評価する手法を用いた。

(2) 磁性ナノ粒子の表面修飾と細胞への取り込み、細胞内磁性ナノ粒子の分散・局在状態の評価

粒子間凝集を抑制する表面修飾を施した磁性ナノ粒子を培養 HeLa 細胞に添加し、細胞内外の凝集や局在を蛍光顕微鏡により評価した。

(3)細胞内磁性ナノ粒子の磁気特性評価、及び細胞内磁性ナノ粒子の発熱起源の同定

1細胞あたりに  $Fe_3O_4$ 、0.5  $\mu g$  程度を内在させ、35 mm 径ウェルプレートで培養した  $10^5$  個の細胞のうち、 $2 \times 10^3$  個程度を測定試料として、その交流磁場印加下での磁気特性を測定した。その周波数特性からブラウン緩和とネール緩和による発熱への各々の寄与を考察した。

(4)生体内環境での発熱機能の解明

細胞内での磁性ナノ粒子の凝集・局在と、磁性ナノ粒子の発熱機構との相関、それらと血液中のように磁性ナノ粒子の束縛が弱い環境下との相異を評価することにより、生体内環境での発熱機構を解明した。

4. 研究成果

(1)磁性ナノ粒子の発熱特性と磁気特性を測定するための計測システムを構築した。溶媒に分散する微量の磁性ナノ粒子の交流磁気特性を高精度に評価可能である。図1に溶媒中に分散させた  $Fe_3O_4$  ナノ粒子(コア径=11 nm)の交流ヒステリシス曲線を示す。磁性ナノ粒子の濃度を 37~370 mg-Fe/ml の間で変化させている。磁場周波数は、(a)5 kHz、(b)500 kHz である。このように周波数、磁性ナノ粒子の濃度等の依存する明瞭な交流ヒステリシス曲線が測定できた。

図2は、直流磁場下での静的ヒステリシス曲線に加えて、磁場周波数 5~500 kHz において測定した交流ヒステリシス曲線を重ねて示したものである。

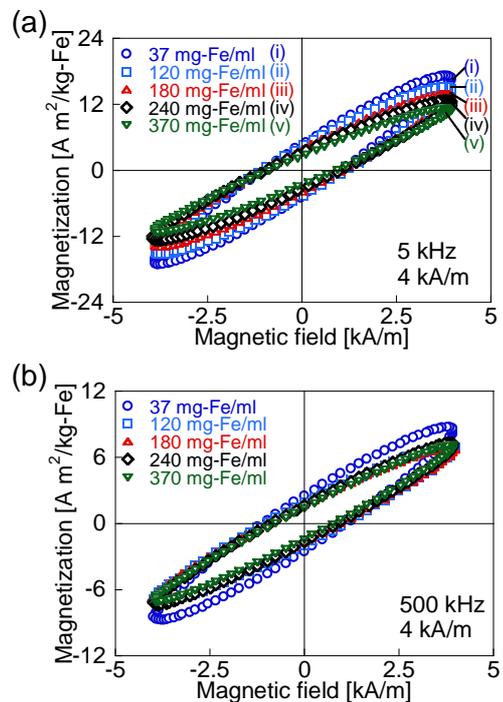


図1 溶媒中に分散させた  $Fe_3O_4$  ナノ粒子(コア径=11 nm)の交流ヒステリシス曲線。濃度: 37~370 mg-Fe/ml、磁場周波数:(a)5 kHz、(b)500 kHz。

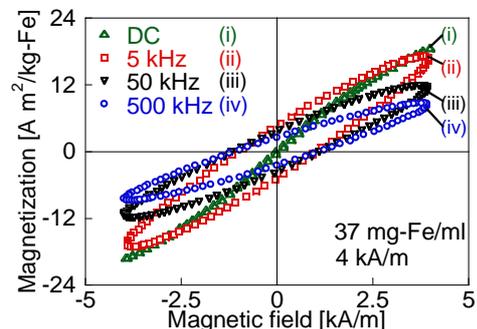


図2 溶媒中に分散させた  $Fe_3O_4$  ナノ粒子(コア径=11 nm)の交流ヒステリシス曲線。濃度: 37 mg-Fe/ml、磁場周波数: DC、5~500 kHz。

直流ヒステリシス曲線から、測定した磁性ナノ粒子が超常磁性的な磁化特性をもつことがわかる。この状態ではヒステリシスの面積がなく、磁氣的な損失はない。交流磁場下ではヒステリシスが開き、この面積が磁氣的な損失として発熱量に相当する。即ち磁性ナノ粒子の発熱温度を測定しなくても、発熱を定量評価することが可能である。

図3は、交流ヒステリシス曲線の面積を Intrinsic Loss Power (ILP) の指標で示した、その周波数依存である。低周波側のピークは、溶媒中磁性ナノ粒子に特有なブラウン緩和に起因するものである。ブラウン緩和とは粒子が交流磁場により回転する磁化反転機構である。

(2) 細胞内の磁性ナノ粒子は、物理的に束縛されるためにブラウン緩和は生じないと報

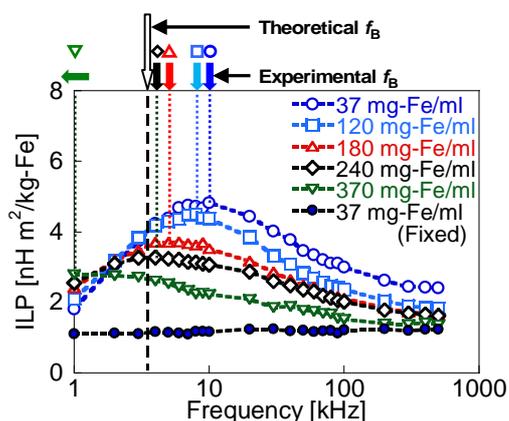


図3 溶媒中及び固体中に分散させた  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ナノ粒子 (コア径 = 11 nm) の交流ヒステリシス曲線から算出した Intrinsic Loss Power (ILP) の周波数依存。

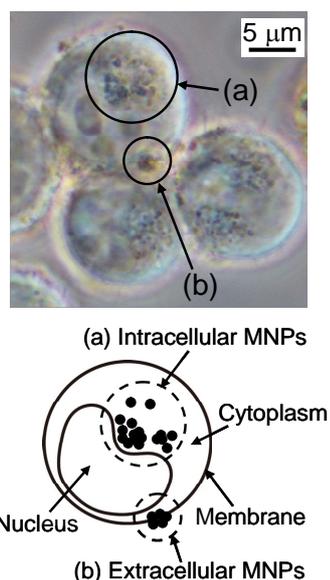


図4 磁性ナノ粒子を添加した HeLa 細胞の顕微鏡像とその模式図。細胞外に凝集している磁性ナノ粒子及び細胞内に取り込まれ局在する磁性ナノ粒子。

告されているが、本研究では細胞に取り込ませた磁性ナノ粒子の、がん温熱治療で印加する高周波磁界下での磁気特性を測定することに成功した。細胞中の磁性ナノ粒子から生じる発熱量を初めて定量的に示した。

図4は、磁性ナノ粒子を添加した培養細胞の位相差顕微鏡による観察像である。本研究のオリジナルである交流磁化特性の測定を行い、一様に分散する磁性ナノ粒子の特性と細胞内に局在する場合の特性の差異を明確に示すことができた。さらに細胞中の磁性ナノ粒子から生じる発熱量を初めて定量的に示した。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計10件)

Satoshi Ota, Ryoji Takeda, Tsutomu Yamada, Ichiro Kato, Satoshi Nohara, Yasushi Takemura, Effect of particle size and structure on harmonic intensity of blood-pooling multi-core magnetic nanoparticles for magnetic particle imaging, International Journal on Magnetic Particle Imaging, Vol 3, No 1, Article ID 1703003, pp. 1-9, 2017. 査読有

DOI: 10.18416/ijmpi.2017.1703003

Chakkarapani Prabu, Subbiah Latha, Palanisamy Selvamani, Fredrik Ahrentorp, Christer Johansson, Ryoji Takeda, Yasushi Takemura, Satoshi Ota, Layer-by-layer assembled magnetic prednisolone microcapsules (MPC) for controlled and targeted drug release at rheumatoid arthritic joints, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, Vol. 427, pp. 258-267, 2017. 査読有

DOI: 10.1016/j.jmmm.2016.11.030

Asahi Tomitaka, Hamed Arami, Andrea Raymond, Adriana Arias, Ajeet Kaushik, Rahul Jayant, Yasushi Takemura, Yong Cai, Michal Toborek, Madhavan Nair, Development of magneto-plasmonic nanoparticles for multimodal image-guided therapy to the brain, Nanoscale, vol. 9, Issue 2, pp. 764-773, 2017. 査読有

DOI: 10.1039/c6nr07520g

Vidya Sagar, V.S.R. Atluri, A. Tomitaka, P. Shah, A. Nagasetti, S. Pilakka-Kanthikeel, N. El-Hage, A. McGoron, Y. Takemura, M. Nair, Coupling of transient near infrared photonic with magnetic nanoparticle for potential dissipation-free biomedical application in brain, Scientific Reports, 6, 29792, pp. 1-11, 2016. 査読有

DOI: 10.1038/srep29792

Satoshi Ota, Ryoichi Kitaguchi, Ryoji Takeda, Tsutomu Yamada, Yasushi Takemura,

Rotation of magnetization derived from Brownian relaxation in magnetic fluids of different viscosity evaluated by dynamic hysteresis measurements over a wide frequency range, *Nanomaterials*, 6, 170, pp. 1-11, 2016. 査読有  
DOI:10.3390/nano6090170

Satoshi Ota, Tsutomu Yamada and Yasushi Takemura, Magnetization reversal and specific loss power of magnetic nanoparticles in cellular environment evaluated by ac hysteresis measurement, *Journal of Nanomaterials*, vol. 2015, Article ID 836761, pp. 1-8, 2015. 査読有  
DOI:10.1155/2015/836761.

Asahi Tomitaka, Yasushi Takemura, Measurement of specific loss power from intracellular magnetic nanoparticles for hyperthermia, *Journal of Personalized NanoMedicine*, Vol. 1, Issue 1, pp. 33-37, 2015. 査読有  
<http://jpnjournal.org/articles/Measurement-Specific-Loss-Power-Intracellular-Magnetic-Nanoparticles-Hyperthermia.pdf>

Asahi Tomitaka, Yasushi Takemura, Zaohua Huang, Upal Roy, Madhavan Nair, Recent advances in magnetoliposomes as drug delivery carriers, *Journal of Personalized NanoMedicine*, Vol. 1, Issue 2, pp. 51-57, 2015. 査読有  
<http://jpnjournal.org/articles/Recent-Advances-in-Magnetoliposomes-as-Drug-Delivery-Carriers.pdf>

大多哲史、竹村泰司、抗体を修飾した磁性ナノ粒子のがん治療への応用、*医学のあゆみ*、特集「ナノ粒子メディスン Update」, Vol. 252, No. 4, pp. 293-296, 2015. 査読無  
<https://www.ishiyaku.co.jp/magazines/ayumi/AyumiArticleDetail.aspx?BC=925204&AC=14718>

Satoshi Ota, Tsutomu Yamada, Yasushi Takemura, Dipole-dipole interaction and its concentration dependence of magnetic fluid evaluated by alternating current hysteresis measurement, *Journal of Applied Physics*, Vol.117, Issue 17, 17D713, pp. 1-4, 2015. 査読有  
DOI: 10.1063/1.4914061

[学会発表](計10件)総件数36件

Satoshi Ota, Ryoji Takeda, Tsutomu Yamada, Ichiro Kato, Satoshi Nohara, Yasushi Takemura, Effect of particle size and structure on harmonic intensity of blood-pooling multi-core magnetic nanoparticles for magnetic particle imaging, 7th International Workshop on

Magnetic Particle Imaging (IWMPi), March 23, 2017, Prague (Czech Republic).

Yasushi Takemura and Satoshi Ota, Magnetic properties of intercellular magnetic nanoparticles for biomedical applications, European Advanced Materials Congress (EAMC), August 23, 2016, Stockholm (Sweden).

Ryoji Takeda, Ryoichi Kitaguchi, Satoshi Ota, Tsutomu Yamada and Yasushi Takemura, Magnetic loss and constant magnetic rotation of magnetic nanoparticles in viscosity dependence evaluated by dynamic hysteresis measurement, The 11th International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers, June 4, 2016, Vancouver (Canada).

Satoshi Ota, Ryoji Takeda, Tsutomu Yamada and Yasushi Takemura, Magnetization dynamics of magnetic nanoparticle associated with magnetic relaxation characterized by alternating current hysteresis measurement, The 11th International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers, June 2, 2016, Vancouver (Canada).

Yasushi Takemura, Satoshi Ota, Localization of magnetic nanoparticles and its effect on magnetic relaxation evaluated by dynamic magnetization measurement for magnetic particle imaging, 6th International Workshop on Magnetic Particle Imaging (IWMPi 2016), March 18, 2016, Lübeck (Germany).

Satoshi Ota, Ryoji Takeda, Tsutomu Yamada, Yasushi Takemura, Evaluation of harmonic signal from blood-pooling magnetic nanoparticles for magnetic particle imaging, 6th International Workshop on Magnetic Particle Imaging (IWMPi 2016), March 17, 2016, Lübeck (Germany).

Satoshi Ota, Yiliang Wang, Ryoichi Kitaguchi, Tsutomu Yamada and Yasushi Takemura, Evaluation of magnetic nanoparticles for hyperthermia and magnetic particle imaging by their dynamic hysteresis curves, Biomedical Engineering Society 2015 Annual Meeting, Oct. 8, 2015, Tampa (USA).

Satoshi Ota, Tsutomu Yamada and Yasushi Takemura, Magnetization reversal and specific loss power of intracellular magnetic nanoparticles evaluated by ac hysteresis measurement, The 59th Annual Magnetism and Magnetic Materials (MMM) Conference, Nov. 7, 2014, Honolulu (USA).

Satoshi Ota, Tsutomu Yamada and Yasushi

Takemura, Dipole-dipole interaction and its concentration dependence of magnetic fluid evaluated by ac hysteresis measurement, The 59th Annual Magnetism and Magnetic Materials (MMM) Conference, Nov. 7, 2014, Honolulu (USA).

Yasushi Takemura, Biocompatibility and biofunctionality of magnetic nanoparticles, 226th Meeting of The Electrochemical Society (ECS), ECS and SMEQ Joint International Meeting, October 7, 2014, Cancun (Mexico).

〔その他〕

ホームページ等

<http://er-web.jmk.ynu.ac.jp/html/>

[TAKEMURA\\_Yasushi/ja.html](http://TAKEMURA_Yasushi/ja.html)

<http://www.takemura.ynu.ac.jp/>

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

竹村 泰司 (TAKEMURA, Yasushi)

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)

横浜国立大学・大学院工学研究院・助手

研究者番号：70251767

### (3)連携研究者

上 大介 (KAMI, Daisuke)

京都府立医科大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：80415588