

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12508

研究課題名(和文)新規磁気粒子イメージング法を用いた磁気送達及び磁気温熱療法の最適化システムの開発

研究課題名(英文)Development of a system for optimizing magnetic targeting and magnetic hyperthermia treatment using newly-developed magnetic particle imaging

研究代表者

村瀬 研也(Murase, Kenya)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：50157773

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：近年、磁性ナノ粒子(MNP)を内包した薬剤を外部磁場を用いて目的の場所に送達する磁気送達法や外部から交番磁場を印加して癌細胞を死滅させる磁気温熱療法が注目されている。これらの治療法の有効性を高めるためには、集積したMNPの空間分布を可視化し、集積量を正確に定量する必要がある。最近、我々はMNPを画像化する磁気粒子イメージング(MPI)法およびその装置を開発した。そこで、我々のMPI法を用いて磁気送達や磁気温熱療法の効果を最適化するシステムを開発し、その有用性をファントムや動物実験によって検討した。その結果、開発したシステムは磁気送達や磁気温熱療法の最適化に有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In recent years, the magnetic targeting of delivering drugs encapsulating magnetic nanoparticles (MNP) to target sites by utilizing an external magnetic field and magnetic hyperthermia treatment which kills cancer cells by applying an alternating magnetic field from the outside are attracting attention. In order to increase the effectiveness of these therapies, it is necessary to visualize the spatial distribution of accumulated MNPs and accurately quantify the accumulated amount. Recently, we have developed an imaging method of MNPs called magnetic particle imaging (MPI) and the device. Then, we developed a system to optimize the effect of magnetic targeting and therapeutic effect of magnetic hyperthermia treatment using our MPI method, and investigated the usefulness of the system using phantom and animal experiments. As a result, it was suggested that the developed system is useful for optimizing the effects of magnetic targeting and magnetic hyperthermia treatment.

研究分野：医用生体工学

キーワード：磁気粒子イメージング 磁気送達 磁気温熱療法 磁性ナノ粒子

1. 研究開始当初の背景

近年、磁性ナノ粒子と薬剤を内包したリポソームや磁性ナノ粒子で標識したレポーター遺伝子を、外部磁場を用いて目的の場所に局所集中させる磁気送達法が提案され、次世代のがん治療法として注目を集めている。また、外部から交番磁場を印加することにより磁性ナノ粒子の発熱を誘導して癌細胞を死滅させる磁気温熱療法も注目を集めている。これらの治療法を実用化して有効性を高めるためには、集積した磁性ナノ粒子の空間分布を高精度に可視化し、集積量を正確に定量する必要がある。しかし、現在のところこれらを行う低侵襲で信頼性の高い手段がなく、安全性が担保できないため、上記の治療法の実用化が妨げられている。

磁性ナノ粒子の画像化には、通常核磁気共鳴撮像法(MRI)が使用されている。しかし、磁性ナノ粒子は静磁場中において周囲の磁場を歪めるため、MRIでは陰性造影剤(信号が低下)として働く。したがって、磁性ナノ粒子が視認性の良い陽性造影剤(信号が増加)として働くイメージング法の開発が求められている。最近、我々は磁性ナノ粒子の外部磁場に対する非線形応答性を利用して磁性ナノ粒子の空間分布を画像化する磁気粒子イメージング(Magnetic Particle Imaging: MPI)法およびその装置を新規に開発した[1,2]。また、我々の考案したデータ収集法や画像再構成法を用いて磁性ナノ粒子の空間分布を高感度・高精度に画像化できることを実証した[1,2]。そこで、我々の開発したMPI法を用いれば上記の課題が解決でき、磁気送達法や磁気温熱療法の実用化と有効性の向上に寄与出来ると考えたのが本研究課題の着想に至った経緯である。

2. 研究の目的

本研究課題の目的は、新規に開発したMPI法を用いて磁気送達や磁気温熱療法の効果を最適化するシステムを開発し、その有用性や信頼性をファントムや動物実験によって明らかにすることである。

3. 研究の方法

現有のMPI装置[1,2]では、送信コイルと受信コイルが分離しているため両軸の一致精度を改善する必要がある。そこで、平成27年度には、まず一体型送受信コイルを開発して、両コイルの軸の一致精度を上げて感度の均一性を改善する。また、信号対雑音比を考慮してコイルの巻き数や長さを最適化した受信コイル(グラジオメータ)を作成する。並行して、ファントム実験を行って次年度以降の研究の基礎データを収集する。まず、種々の濃度に希釈した磁性ナノ粒子(リゾピスト®)のサンプルをMPI装置で撮像し、MPI画像の画素値と濃度との関係を種々の条件下で測定する。また、既存の磁気温熱療法用の交番磁場発生装置[3]を用いてサンプルを

加温し、赤外線サーモグラフィーを用いて経時的に温度を測定して温度上昇量とMPI画像の画素値との関係を検討する。なお、交番磁場による加温の際には、周波数を100 kHzから1 MHzまで、磁場強度は0.5から3.5 kA/mまで変えて測定し、交番磁場周波数や磁場強度との関係についても詳細に検討する。

平成28年度と平成29年度はファントム実験とマウスを用いた動物実験を行って、MPI法を用いて磁気送達の効果を最適化するシステムの有用性や信頼性について検討する。

ファントム実験では、磁気送達による肺がん治療を想定して検討する。まず、気管分岐部を想定したテフロン製のY字分岐管の下流に吸引器を接続して、ネプライザーでエアロゾル化した磁性ナノ粒子(リゾピスト®)をY字分岐管の上流から吸引する。Y字分岐管の下流の両方に肺組織を模擬したウレタンスポンジを配置し、吸引器とY字分岐管の間に流量計を設置して流量を制御する。また、Y字分岐管の分岐部に磁気送達用のネオジム磁石(0.5 テスラ)を配置する。実験終了後に、ウレタンスポンジをMPI装置で撮像してMPI画像の画素値を算出し、流量やY字分岐管とネオジム磁石の距離との関係を検討する。並行して、数値流体解析ソフトウェアを用いてY字分岐管の下流への流入量を計算し、MPI装置で撮像したMPI画像の画素値との相関を求めて本法の精度や信頼性を検討する。なお、磁気送達には静磁場よりも低周波で振動する交番磁場の方が有効であるとの仮説を立て、磁気送達用の磁石にはネオジム磁石の他に、最大磁場強度0.5 テスラで周波数が0から400 Hzまで可変出来る既存の交番磁場発生装置[4]を用いて上記と同様の測定を行い、磁気送達に最適な交番磁場周波数についても検討する。

マウスを用いた動物実験では、ファントム実験と同様に磁気送達による肺がん治療を想定して検討する。まず、ICRマウスにマウス用気管内投与器具を用いてリゾピスト®を20~50 µL気管内投与する。その時、ネオジム磁石(0.5 テスラ)を片方の肺の上に設置する。リゾピスト®を投与して1時間安静にした後、MPI装置を用いて胸部を中心に撮像し、左右肺のMPI画像の画素値を計測する。なお、解剖学的位置を確認するために、MPI撮像後に既存のX線CT装置で撮像して、MPI画像との融合画像を作成する。実験終了後に、マウスの肺を摘出してプルシアンブルー染色を行い、左右肺の鉄の取り込みを観察してMPI画像と比較する。また、各肺に取り込まれた鉄の量を偏光ゼーマン吸光光度計で定量分析して、MPI画像の画素値との相関を検討する。ファントム実験の場合と同様に、磁気送達用の磁石にはネオジム磁石の他に、低周波の交番磁場発生装置[4]を用いて上記と同様の測定を行い、磁気送達に最適な交番磁場周波数についても検討する。

平成28年度はまず固形腫瘍への磁気送達

について検討する。BALB/c マウスにマウス大腸がん細胞 (Colon-26) を約 1×10^6 cells/mL 播種して担がんマウスを作成する。腫瘍の大きさが約 100 mm^3 に達した時点で、2 群 (各群 10 匹程度) に分ける。1 群にリゾピスト® を封入したポリエチレングリコール修飾リポソームを尾静脈から投与し、24 時間後に MPI 装置で撮像して腫瘍部の画素値を算出する。他の 1 群には、磁気送達の効果を検討するため、リゾピスト® の投与直後に腫瘍部に瞬間接着剤を用いてネオジム磁石 (0.5 テスラ) を接着し、24 時間後に MPI 装置で撮像して腫瘍部の画素値を算出する。両群とも、MPI 撮像後に腫瘍組織を摘出し、プルシアンブルー染色を行って鉄の取り込みを観察し、MPI 画像と比較する。また、腫瘍組織中の鉄濃度を偏光ゼーマン吸光光度計で定量分析する。両群について MPI 画像の画素値と偏光ゼーマン吸光光度計で測定した鉄濃度を比較して、MPI 法の精度や磁気送達の効果について検討する。

次に、MPI 法を用いた磁気温熱療法の最適化に関して検討する。まず上記と同様の方法で担がんマウスを作成する。腫瘍の大きさが約 100 mm^3 に達した時点で、4 群 (各群 10 匹程度) に分け、その内の 3 群の腫瘍内に 3 種類の濃度 (125, 250, 500 mM) のリゾピスト® を直接投与する。投与直後に MPI 装置 (図 1) で撮像して腫瘍部の画素値を算出する。引き続き、既存の磁気温熱療法用装置 [3] で腫瘍部を加温する。その時、光ファイバ温度計を用いて腫瘍内部と直腸の温度を計測する。残りの 1 群は対照群として腫瘍部に生食のみを投与する。各群の腫瘍体積を 4 週間毎日測定し、腫瘍体積の増加率を求める。4 週間後に腫瘍を摘出し、プルシアンブルー染色を行って鉄の取り込みを観察し、MPI 画像と比較する。また、腫瘍組織内の鉄濃度を偏光ゼーマン吸光光度計で定量分析する。さらに、TUNEL 染色を行ってアポトーシス細胞の数を定量する。最後に、MPI 撮像で得られたリゾピスト® の 3 次元分布と初年度で得られた基礎データを基に数値流体解析ソフトウェアを用いて Pennes の生体伝熱方程式 [5] を解き、温度上昇量を推定して最大および平均温度上昇量を求める。推定した温度上昇量や MPI 画像の画素値と腫瘍体積増加率やアポトーシス細胞数との関係を検討して、磁気温熱療法の効果最適化システムを構築する。そして、種々の交番磁場周波数や磁場強度の下で同様の測定を行い、本システムの精度や信頼性を評価する。

4. 研究成果

図 1 に磁気送達による肺がん治療を想定して検討するために作成したファントムの概要を示す。図 2 は磁石との距離を変化させた場合のウレタンに集積した煙霧化した磁性ナノ粒子の MPI 画像を示す。磁石間の距離が小さいほど磁性ナノ粒子の集積が増加す

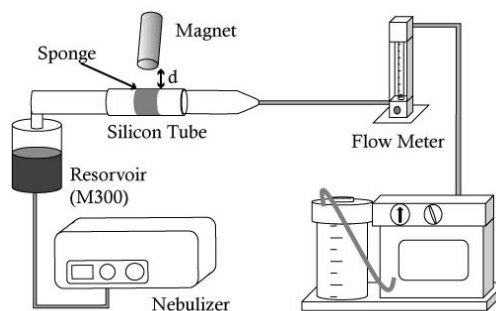


図 1 煙霧化した磁性ナノ粒子を用いた磁気送達の有効性を評価するためのファントム

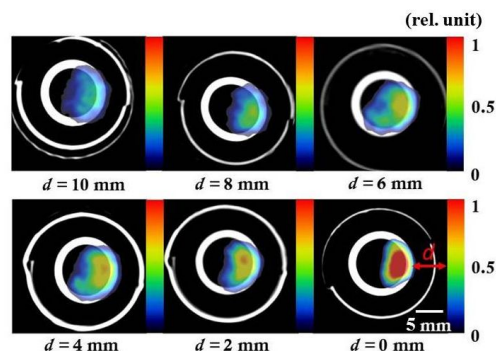


図 2 磁石間距離を変えた場合のウレタンに集積した磁性ナノ粒子の MPI 画像の例

ることが分かる。

図 3 は煙霧化した磁性ナノ粒子の流量を変えた場合を示すが、流量が増すにつれて集積の増加が観察される。

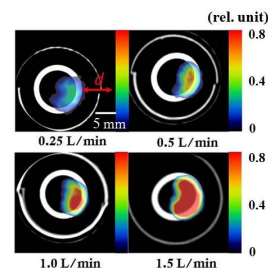


図 3 流量を変えた場合のウレタンに集積した磁性ナノ粒子の MPI 画像の例

図 4 は、磁気送達の有効性を検討するためにに行った担がんマウスを用いた動物実験の様子を示す。

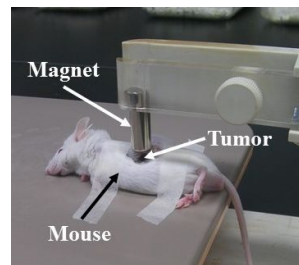


図 4 磁気送達の有効性を評価するためにに行った担がんマウスを用いた実験

図 5 は、腫瘍に磁石を装着させた後に経時的に撮像して得られた MPI 画像の例 (下段) を示す。比較のため、磁石を装着しない場合には装着しない場合に比べ MPI 画像の画素値の変化が小さいことが観察できる。また、図 6 は、MPI 画像上で腫瘍に関心領域を設定して計算した腫瘍での平均画素値の経時的

変化を示す(白)。比較のため、磁石を腫瘍に装着しない場合(黒)も示すが、磁石を装着した場合は、1日目と3日目において装着しない場合に比較して有意に高い値を示した。これらの結果は、MPI が磁気送達の効果を実証する手段であることを示唆すると考えられる。

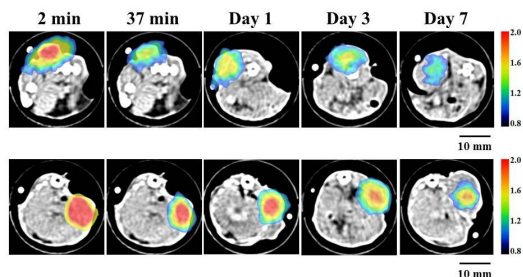


図5 磁石を腫瘍に装着しない場合(上段)と装着した場合(下段)の経時的に撮像したMPI画像

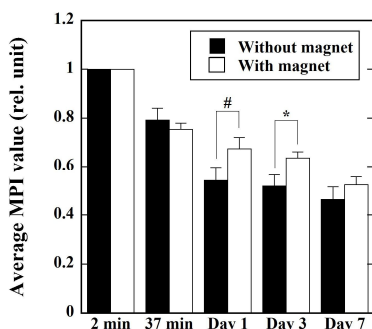


図6 磁石を腫瘍に装着しない場合(黒)と装着した場合(白)の腫瘍におけるMPI画像の平均画素値の経時変化

我々の開発したMPI法は、既存のMRIとは異なる原理で磁性ナノ粒子の空間分布を画像化するものである。すなわち、MRIでは磁性ナノ粒子による静磁場の歪みに起因した水のプロトンの緩和速度の変化から間接的に磁性ナノ粒子の空間分布を画像化するのに対して、我々の方法では磁性ナノ粒子からの信号を直接測定するためMRIに比べて定量性に優れている。また、MPIの磁性ナノ粒子の検出感度は、MRIに比べ理論上1000から10000倍(磁性ナノ粒子の磁気モーメントは、MRIで対象にしている水のプロトンの約100万倍)大きいので、検出感度においてもMRIに比べて優位である。さらに、MPI装置(図1)は構造が非常に簡単であるため、製作費やランニングコストはMRI装置の10から100分の1程度と予想され、コスト面でもMRIに比べて優位である。したがって、MRIの代替技術として広く普及することが期待できる。また、我々のMPI装置で撮像後にイメージング用の交番磁場の周波数(数百Hz)を磁気温熱療法用(数百kHz)に切り替えれば、診断と治療を同じ装置で行うこと(セラノスティックス)が実現出来る可能性があり、この点

においても既存の医療機器に比べて優位性がある。磁性ナノ粒子の安全性は既に確認されており、臨床でも使用されているため実用化のハードルは極めて低いと考えられる。したがって、本研究課題が成功した場合には、新しい医療機器の開発、磁性ナノ粒子や有機磁性体を利用した新しい薬剤の開発や再生医療等への応用にも拍車がかかることが期待され、結果として社会に安全・安心な診断法や治療法を提供できるものと期待できる。

参考文献

[1] Murase K, Hiratsuka S, Song R, Takeuchi Y. Development of a system for magnetic particle imaging using neodymium magnets and gradiometer. *Jpn J Appl Phys* 2014; 53(6): 067001 (7 pages).
 [2] Murase K, Song R, Hiratsuka S. Magnetic particle imaging of blood coagulation. *Appl Phys Lett* 2014; 104(25): 252409 (4 pages).
 [3] Murase K, Oonoki J, Takata H, Song R, Angraini A, Ausanai P, Matsushita T. Simulation and experimental studies on magnetic hyperthermia with use of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Radiol Phys Technol* 2011; 4(2): 194-202.
 [4] Murase K, Takata H, Takeuchi Y, Saito S. Control of the temperature rise in magnetic hyperthermia with use of an external static magnetic field. *Phys Med* 2013; 29(6): 624-630.

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7件)
 1) Banura N, Murase K. Magnetic particle imaging for aerosol-based magnetic targeting. *Jpn J Appl Phys*, 査読有, 2017; 56(8): Article ID: 088001. DOI: 10.7567/JJAP.56.088001
 2) Murase K. Specific loss power in magnetic hyperthermia: comparison of monodispersion and polydispersion. *SSRG International Journal of Applied Physics (SSRG-IJAP)*, 査読有, 2017; 4(1): 1-9. DOI: 10.14445/23500301/IJAP-V4I1P101
 3) Murase K. A simulation study on the specific loss power in magnetic hyperthermia in the presence of a static magnetic field. *Open Journal of Applied Sciences*, 査読有, 2016; 6(12): 839-851. DOI: 10.4236/ojapps.2016.612073
 4) Murase K. Methods for estimating specific loss power in magnetic hyperthermia revisited. *Open Journal of Applied Sciences*, 査読有, 2016; 6(12): 815-825. DOI: 10.4236/ojapps.2016.612071

5) Banura N, Mimura A, Nishimoto K, Murase K. Heat transfer simulation for optimization and treatment planning of magnetic hyperthermia using magnetic particle imaging. arXiv, 査読無, 2016; arXiv:1605.08139.

6) Murase K. An integral-transform approach to the bioheat transfer problems in magnetic hyperthermia. arXiv, 査読無, 2016; arXiv:1604.07138.

7) Kuboyabu T, Ohki A, Banura N, Murase K. Usefulness of magnetic particle imaging for monitoring the effect of magnetic targeting. Open Journal of Medical Imaging, 査読有, 2016; 6(2): 33-41. DOI: 10.4236/ojmi.2016.62004

〔学会発表〕(計12件)

1) Banura N, Murase K. Experimental and simulation studies on the usefulness of magnetic particle imaging for monitoring the effect of magnetic targeting. 7th International Workshop on Magnetic Particle Imaging, 2017.

2) Murase K, et al. In vivo monitoring of magnetic targeting using magnetic particle imaging. 10th International Symposium on Nanomedicine, 2016.

3) Banura N, et al. Development of a system for heat transfer simulation for optimization and treatment planning of magnetic hyperthermia using magnetic particle imaging. 12th International Congress of Hyperthermic Oncology, 2016.

4) Banura N, et al. Heat transfer simulation for optimization and treatment planning of magnetic hyperthermia using magnetic particle imaging. 6th International Workshop on Magnetic Particle Imaging, 2016.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村瀬 研也 (MURASE, Kenya)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：50157773

(2) 研究分担者

近江 雅人 (OHMI, Masato)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：60273645

木村 敦臣 (KIMURA, Atsuomi)

大阪大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：70303972

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者