

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 24 年 4 月 30 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2009 ~ 2011

課題番号：21240054

研究課題名(和文) がん病巣とセンチネルリンパ節を磁性ビーズの「励磁音響効果」で
画像化する技術の開発研究課題名(英文) Developing technology for imaging cancer tumors and sentinel lymph
nodes utilizing sonic wave emission by magnetically stimulated particles

研究代表者

松下 伸広 (MATSUSHITA NOBUHIRO)

東京工業大学・応用セラミックス研究所・准教授

研究者番号：90229469

研究成果の概要(和文): 我々は、磁性粒子の励磁音響効果によるセンチネルリンパ節の位置検出に用いるために、1個の受波器で微小球音源の三次元的方向を算出できる新デバイスを発明した。すなわち、(1) 受波器を反射板の非対称位置にマウントし、直接および反射板を介してマイクロフォンに入射した励磁音響効果によるバースト波に関する速度ポテンシャル応答(すなわち、いわゆるインパルス応答)から音源の三次元的方向を算出する「兎耳型マイクロフォン」(Bunny ear Reflector Microphone (BERM))、(2) 受波器を覆うヘッドの表面に、M 系列符号に基づいて無秩序な位置に小穴を開け、各小穴を通過して受波器に入射したバースト励磁音響波のインパルス応答から音源の三次元的方向を算出する「無秩序経路ホロフォニックセンサ」(Random Path Holophonic Sensor)を発明した。また我々は、“二段階リガンド法”によって粒径分布が鋭いフェライトビーズを合成する技術を開発し、これによって種々の粒径をもったクエン酸被覆フェライトビーズを作製し、粒径が 20 nm のときにマウスの一次リンパ節(センチネルリンパ節に相当する)に高い効率で集積するとともに、強い励磁音響信号を発することを見出した。

研究成果の概要(英文): In order to apply to sentinel lymph node mapping by emission of acoustic waves by magnetically-stimulated particles, we developed new devices which will enable 3D magnetic particle imaging by using only one microphone. They are (1) Bunny ear Reflector Microphone (BERM) in which a microphone is mounted on a asymmetric position of a reflector and the impulse response of burst acoustic waves propagated directly and reflected by the reflector is analyzed. And (2) “Random Path Holophonic Sensor” in which the impulse response of burst ultrasonic waves propagated through the small apertures distributed randomly (after maximal-length sequences) on a microphone head is analyzed. Simulation experiments confirmed the operation principle of our new devices. We also developed “two-step ligand exchange reaction”, by which we successfully synthesized ferrite beads with narrow size distribution; when their average size was 20 nm they showed strong magneto-acoustic effect and they were accumulated at the first lymph nodes (pseudo sentinel lymph nodes) of a mouse at a high efficiency.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	14,100,000	4,230,000	18,330,000
2010年度	11,300,000	3,390,000	14,690,000
2011年度	10,500,000	3,150,000	13,650,000
年度			
年度			
総計	35,900,000	10,770,000	46,670,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：励磁音響効果、画像装置、がん診断、フェライトナノ粒子、磁性ビーズ、センチネルリンパ節診断、標的化、磁気ハイパーサーミア

1. 研究開始当初の背景

(1) 我々は、磁性粒子に交流磁界を印加すると音響波を発生する現象を発見し「励磁音響効果」と命名した。これを用いてがん病巣や各種の標的臓器を検出する技術の基礎実験を行なうとともに、磁性ビーズによる抗がんハイパーサーミアをも合わせて行なう技術の可能性を見出していた。

(2) さらに我々は、均粒径を厳密に制御したフェライトナノ粒子を水溶液中で合成しその表面を化学物質で修飾するか、またはウイルスのカプシドたんぱく質のカプセルで包んで、それらの表面に抗体などの生理活性物質を固定する技術を開発していた。

(3) また我々は、すでに、フェライトビーズを流磁界で励磁して発生する磁波（励磁音響波ではない）を検出してセンチネルリンパ節（最初に転移が起きるはずのリンパ節）を手術中に同定する技術を開発し、300例以上の臨床研究を行っていた。

(4) 我々は、これらの技術を統合して、励磁音響効果によってがん病巣およびセンチネルリンパ節を画像化して検出する技術を開発するとともに、がん細胞に標的化でき、さらに高い励磁音響特性と磁気誘導加熱特性を示す磁性ビーズを作製する本研究計画を立案するに至った。

2. 研究の目的

(1) 我々が発見した「磁性粒子の励磁音響効果」を利用して、がん病巣と各種の標的臓

器に吸着・吸収させたフェライトビーズをキャリアとして励磁音響効果によって造影する装置を開発する。この画像装置は、簡便、安価、軽量、携帯可能であり、標的部位を画像で確かめつつ手術を行えるので、切開部を縮小した低侵襲性の画期的な手術法を可能にすると期待される。

(2) がん細胞に特異的に吸着される高機能性フェライトビーズを作製し、これを用いて励磁音響効果による標的部位の画像化技術を開発するとともに、磁性ビーズの磁気誘導発熱効果を高めてがん部位のハイパーサーミア治療をも併せて行う技術の可能性を検討する。

3. 研究の方法

(1) 我々が発見した「磁性粒子の励磁音響効果」を利用して、がん病巣と各種の標的臓器に吸着・吸収させたフェライトビーズをキャリアとして励磁音響効果によって造影する装置を開発する。この画像装置は、簡便、安価、軽量、携帯可能であり、標的部位を画像で確かめつつ手術を行えるので、切開部を縮小した低侵襲性の画期的な手術法を可能にすると期待される。

(2) がん細胞に特異的に吸着される高機能性フェライトビーズを作製し、その励磁音響効果による標的部位の画像化技術を開発するとともに、磁性ビーズの磁気誘導発熱効果を高めてがん部位のハイパーサーミア治療をも併せて行う技術の可能性を検討する。

4. 研究成果

(1) まず圧電マイクロフォンを用い、金属のシールド層を設けて、励磁用の交流磁界(150 kHz)によって発生する電磁ノイズを抑制した。しかし、試料に比べてマイクロフォンの受波面積が広いため出力電圧が低下し、また強い共振特性を持つために倍音の周波数(300 kHz)付近のゲイン変化が大きいことが判明した。そこで、広帯域でフラットな感度を有する MEMS 超音波センサで代替したところ、この問題が解決されることを見出した。

さらに、励磁交流磁界を擬似ランダム M 系列符号で変調し、検出信号を同じ M 系列符号で復調することによってノイズをスペクトラム拡散させて低減させる“ノイズ拡散抑制法”を考案した。最初のステップとして、フェライトビーズ(市販の MR 造影剤リゾビスト[®])の試料に 20 kHz の交流磁界を印加し、励磁された 40 kHz の第二高調波・超音波成分を検出し、ノイズ拡散抑制法により S/N を 100 倍(約 40dB)向上させることに成功した。従って、受波器として MEMS センサが適していると判断した。

(2) 当初は、多数の受波器を配列したアレイを用いて画像を描くことを計画したが、我々は 1 個の受波器で微小球音源の三次元的方向を算出できるデバイスを発明し、これを描画装置に応用することをめざした。図 1 に示すように受波器を非対称な形状の反射板の非対称位置にマウントし、直接および反射板を介してマイクロフォンに入射したバースト波に関する速度ポテンシャル応答を求め、これを解析して音源の三次元的方向を算出して受波器の位置を描画する。これを我々は「兎耳型マイクロフォン」(Bunny ear reflector microphone, BERM)と命名した(兎の耳が、本発明と同様な非対称な反射板を構成していることに因んでいる)。図 2 に音圧応答のシミュレーション結果の一例を示したが、直接波および反射波(回折波)のピークから直接波および反射波(回折波)のピークから音源の方位角を一意的に決定できることが示された。

(3) BERM では音源から多くの経路(直接波および反射板の各点を経由する回折波の経路)を経て受波器に入射したバースト波のインパルス応答を解析したが、この基本原理を発展させて、より簡単にインパルス応答を解析できる技術を発明した。

すなわち、図 3 に示したように受波器を、M 系列符号に基づいて無秩序な位置に小穴を開けた半球殻状のヘッドの中心に設置し、各小穴を通過して受波器に入射したバースト励磁音響波の音圧応答信号をから応答インパルス

応答の観測値を得る。そして、空間の各点に音源が置かれたときのインパルス応答を計算しておき、これと上述の観測値の間の相関が最大になる点を決めることによって、音源の三次元位置を一意的に決定できる。これを

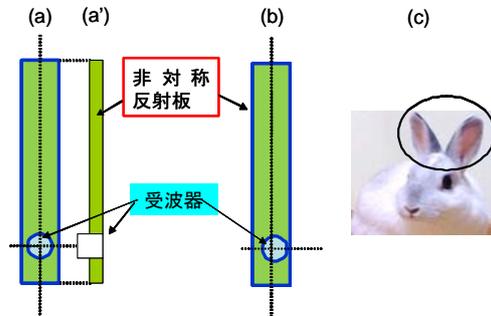


図 1 兎耳型マイクロフォン (BERM) の構造と兎の耳朵。

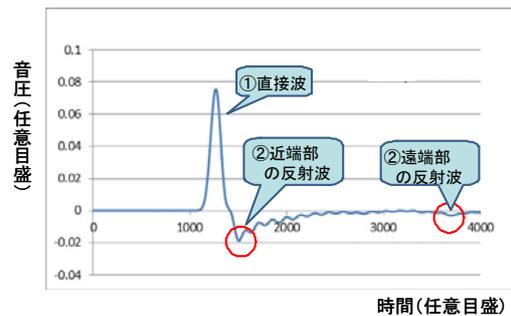


図 2 微小球音源を関数駆動したときに BERM で得られる音圧応答信号のシミュレーション結果の一例。

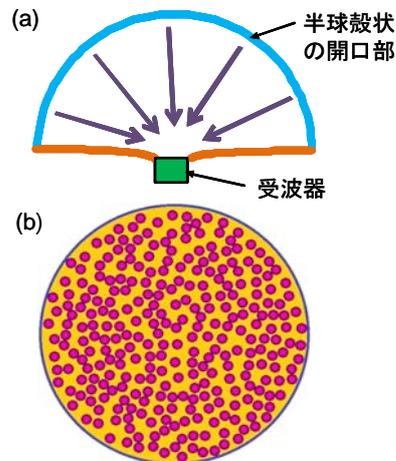


図 3 (a) RPH センサの断面図、(b) 半球状のヘッドの表面の無秩序な位置に小穴が開けられている様子。

我々は「無秩序経路ホロフォニックセンサ」(Random Path Holophonic (RPH) センサ)と命名した。

実際にセンチネルリンパ節の検出に用いるには、図4に示したように、受波器を半球状の先端を持つ樹脂製丸棒中に埋め込み、先端の表面に同じ樹脂の細長い突起をM系列符号に従って無秩序な位置に配置すればよい。励磁音響波が体表面からすべての突起を経由して弾性波として受波器に伝播するので、上述の原理に従って音響源の位置を一意的に決定できる。

図5にセンサヘッドの前方の三点から発せられ、受波器に到達したバースト波の音圧応答信号のシミュレーション結果を示した。直接波のピークの後に続く反射波の音圧応答は無秩序に乱れており、それらの速度ポテンシャルをM系列符号の数学的性質を利用して解析することによって音源の三次元位置を一意的に決定できることが示された。

以上、我々は、一つの微小球音源の位置を

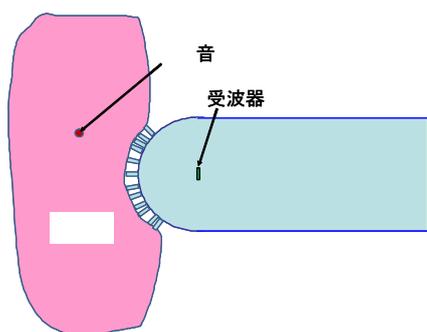


図4 人体の標的臓器に捕捉されたフェライト粒子を励磁音響効果で検出するためのプローブ。

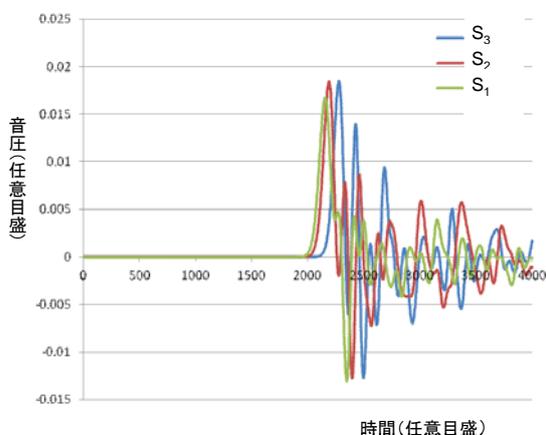


図5 三点 S_1 , S_2 , S_3 に置かれた微小球音源を 関数駆動したときにRHPセンサで得られる音圧応答信号のシミュレーション結果の一例。

RPH センサで決定できることを示したが、さらに我々は音源が有限の大きさを持つ場合にも、これを多くの微小球音源の集合とみなし、M系列符号の性質を利用することによって、三次元描画が可能であることを示した。(詳細は、電気学会マグネティックス研究会(2012年6月21 - 22日, 信州大学, 長野)研究会資料MAG-12-059に記載した)。

(4) “二段階リガンド法”によって粒径分布が鋭いフェライトビーズを作製する技術を開発し、この方法によって種々の粒径をもったクエン酸被覆フェライトビーズを作製し、粒径が20 nmのときにマウスの一次リンパ節(センチネルリンパ節に相当する)に高い効率で集積するとともに、強い励磁音響信号を発することを発見した。また、二段階リガンド法で作製したフェライトビーズの表面にEGFをクロスリンカ - で化学結合させ、このビーズがEGFR高発現がん細胞に選択的に集積し、従ってがん細胞の画像化に適していることを見出した。さらに、センチネルリンパ節を摘出後の生検で組織切片を染色する時間を、組織切片に電界を印加することによって大幅に短縮する技術を開発した。

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4件)

- (1) M. Hatakeyama, H. Kishi, Y. Kita, K. Imai, K. Nishio, S. Karasawa, Y. Masaïke, S. Sakamoto, A. Sandhu, A. Tanimoto, T. Gomi, E. Kohda, M. Abe and H. Handa: A Two-step Ligand Exchange Reaction Generates Highly Water-dispersed Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications; J. Mater. Chem., 査読有, 21巻、2011, 5959-5966
- (2) Toda H, Minamiya Y, Kagaya M, Nanjo H, Akagami Y, Saito H, Ito M, Konno H, Motoyama S, Ogawa J.: A novel immunohistochemical staining method allows ultrarapid detection of lymph node micrometastases while conserving antibody; A novel immunohistochemical staining method allows ultrarapid detection of lymph node micrometastases while conserving antibody, 査読有, 44巻, 2011, 133-139
- (3) Ono T, Minamiya Y, Ito M, Saito H, Motoyama S, Nanjo H, Ogawa J.: Sentinel node mapping and micrometastasis in

patients with clinical stage IA non-small cell lung cancer; Interact Cardiovasc Thorac Surg, 査読有, 9巻, 2009, 659-661

- (4) Taniguchi T., Nakagawa K., Watanabe T., Matsushita N., and Yoshimura M.: Hydrothermal Growth of Fatty Acid Stabilized Iron Oxide Nanocrystals; J. Phys. Chem. C, 査読有, 113巻, 2009, 839-843

〔学会発表〕(計18件)

- (1) 阿部正紀, 上田智章, 松下伸広, 半田宏, 北本仁孝: 新技術“Random Path Holophonic センサー”による励磁音響信号源の三次元画像化に関する基礎研究; 電気学会マグネティクス研究会, MAG-12-059, 2012年6月21日, 長野
- (2) 南谷佳弘, 今井一博, 齋藤元, 今野隼人, 川原田康, 藤嶋悟志, 小川純一: 肺癌におけるセンチネルリンパ節の現状と微小転移検出法の開発; 第13回 SNNS 研究会学術集会, 2011年12月2,3日, 東京
- (3) 武田理恵, 洪正洙, 勝又健一, 岡田清, 松下伸広: スピンスプレー法による結晶化 $-\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{ZnO}$ 複合薄膜の作製; 粉体粉末冶金協会 平成23年度秋季大会, 2011年10月26~28日, 大阪
- (4) 畠山士, 岸寛, 北善紀, 今井乾介, 西尾広介, 唐澤慧記, 政池由佳, 坂本聡, Adarsh Sandhu, 谷本伸弘, 五味達哉, 甲田英一, 阿部正紀, 半田宏: 二段階リガンド交換反応を用いた水高分散性ナノ磁性微粒子の作製とバイオメディカル分野への応用; 第35回日本磁気学会学術講演会, 2011年9月27日, 新潟
- (5) Nobuhiro Matsushita (Invited): Hydrothermally Treated Ferrite Nanoparticles with High Dispersibility and Their Bio-Medical Applications; MISM2011, August 21-25, 2011, Moscow, Russia
- (6) Nobuhiro Matsushita (invited): Functional Nanoparticles Synthesized by Oleate-modified Hydrothermal Growth Method; PacRim9, July 10-14, 2011, Cairns, Australia
- (7) 星野大樹, 松田祐子, 板野理, 長谷川博俊, 飯田修史, 畠山士, 半田宏, 日下部守昭, 上田政和, 北川雄光: 新規鉄磁性体ナノ粒子を用いたセンチネルリンパ節同定法の開発; 第35回リンパ学会, 2011年6月4日, 東京
- (8) 武田理恵, 洪正洙, 勝又健一, 岡田清, 松下伸広: スピンスプレー法による結晶化 $-\text{Fe}_2\text{O}_3$ 薄膜の作製; 粉体粉末冶

金協会 平成23年度春季大会, 2011年5月30日~6月1日, 東京工業大学

- (9) R. Takeda, K. Katsumata, K. Okada, H. Matsumoto, S. Yoshida, N. Matsushita: Environmentally-friendly Solution Process to Cover 3D Substrate Surface with Ferrite Layer; InterMag 2011, April 25-29, 2011, Taipei, Taiwan
- (10) N. Matsushita, K. Fuse, H. Wagata, T. Nakagawa, M. Tada, M. Abe, K. Katsumata, K. Okada: Ink-jet Fabrication of Magnetic Beads Using Dispersed Ferrite Nano-particles in Biodegradable Polymer; InterMag 2011, April 25-29, 2011, Taipei, Taiwan
- (11) H. Hoshino, S. Matsuda, K. Imai, A. Hirota, H. Hasegawa, Y. Ishii, T. Endo, S. Iida, O. Itano, D. Kokuryo, I. Aoki, M. Hatakeyama, H. Handa, M. Kusakabe, M. Ueda, Y. Kitagawa: Development of a novel sentinel lymph nodes detection system using 20nm magnetite nanoparticles by MRI and Gauss-meter; AACR Annual Meeting, April 2-6, 2011, Orland, Florida, USA
- (12) 阿部正紀, 上田智章, 畠山士, 半田宏: 「フェライト・ビーズの検出技術とセンチネルリンパ節診断への応用」, 日本磁気学会第176回研究会資料, pp.1 (2011)
- (13) Hiroshi Toda, Masami Kagaya, Hajime Saito, Manabu Ito, Hayato Konno, Yoichi Akagami, Jun-ichi Ogawa: A new rapid immunohistochemical staining method using AC electric field to detect lymph node micrometastasis during surgery; The 7th International Sentinel Node Society Meeting, November 18-20, 2010, Yokohama, Japan
- (14) 南谷佳弘, 戸田洋, 加賀谷昌美, 赤上陽一, 齋藤元, 伊藤学, 今野隼人, 小川純一: 肺癌における先端治療の開発 電界非接触攪拌技術を用いた迅速免疫組織染色法によるリンパ節微小転移診断; 第48回日本癌治療学会学術集会, 2010年10月28-30日, 京都第48回日本癌治療学会学術集会
- (15) FUSE K., Taniguchi T., Okada K., and Matsushita N.: Aqueous Solution Synthesis of Size-Controlled Magnetite Nanoparticles for Bio Magnetic Beads; 26th International Japan-Korea Seminar on Ceramics,

- November 24, 2009, Tsukuba, Japan
- (16) 布施啓示、中川和紀、谷口貴章、岡田 清、
松下伸広、阿部正紀、中川 貴、多田 大：
フェライト/生分解性ポリマー複合ビ
ーズ作製へのインクジェット法の適
用；粉体粉末冶金協会平成 21 年度秋季
大会、2009 年 10 月 28 日、名古屋
- (17) Taniguchi T., Watanabe T., Yoshimura
M., and Matsushita N.: Rational
Hydrothermal Route to Functional
Metal Oxide
Nanoparticles; ICMAT 2009, June 26,
2009, Singapore
- (18) Abe M., Kakegawa K., Ueda T., Nakagawa
T., Handa H.: Anticancer
sentinel-lymph-node mapping by sonic
waves generated by magnetic beads
under ac magnetic field; InterMag
Conference 2009, May 6, 2009,
Sacramento, CA, USA

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

- ・(2009 年度) 阿部 正紀 (ABE MASANORI)
東京工業大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：70016624
- ・(2009 ~ 2011 年度)
松下 伸広 (MATSUSHITA NOBUHIRO)
東京工業大学・応用セラミックス研究所・
准教授
研究者番号：90229469

(2) 研究分担者

- ・半田 宏 (HANDA HIROSHI)
東京工業大学・ソリューション研究機構・
教授
研究者番号：80107432
- ・上田 智章 (50456258)
東京工業大学・ソリューション研究機構・
特任教授
研究者番号：50456258
- ・北本 仁孝 (KITAMOTO YOSHITAKA)
東京工業大学・総合理工学研究科・准教授
研究者番号：10272676
- ・小川 誠 (OGAWA MAKOTO)
秋田大学・医学部・教授
研究者番号：20112774
- ・南谷 佳弘 (MINAMIYA YOSHIHIRO)
秋田大学・医学部・准教授
研究者番号：30239321