

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：24403

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23710133

研究課題名(和文) 生体ステルス性金磁性複合ナノ粒子のMRI造影剤への応用

研究課題名(英文) Application of biogenic stealthy gold/magnetic composite nanoparticle to MRI contrast agent

研究代表者

木下 卓也 (Kinoshita, Takuya)

大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90453141

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：生体内での分散性・ステルス性および腫瘍標的指向性生体分子の結合性を有する磁性複合ナノ粒子を合成した。共沈法により合成した粒径10nm程度の磁性酸化鉄ナノ粒子(マグネタイト)を複合粒子の核とし、分散性・ステルス性を付与するために高分子ポリエチレングリコール(PEG)を、生体分子の結合性を付与するために金をそれぞれ表面に付着させた。また、がん治療にも応用できるLa-Sr-Mn系酸化物磁性微粒子の合成に成功した。この粒子は交流磁場中で発熱し、さらに粒子自身が発熱温度を制御できることから、ハイパーサーミア(がん温熱療法)への応用が期待できることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Magnetic composite nanoparticles with in vivo dispersibility, stealthy and capacity to bind a targeting biomolecule have been synthesized. Magnetic iron oxide nanoparticles synthesized by co-precipitation method were utilized as a core of composite particle. Polyethylene glycol or gold was bound on the surface of iron oxide. Magnetic La-Sr-Mn oxide fine particles were synthesized for cancer treatment. These particles generated heat in the AC magnetic field, and particle temperature increased quickly with time, attaining constant values.

研究分野：機能性ナノ粒子材料の合成

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学・ナノ材料、ナノバイオサイエンス

キーワード：磁性ナノ粒子 MRI造影剤 PEG 噴霧熱分解法 ハイパーサーミア

1. 研究開始当初の背景

近年、肝腫瘍に対する画像診断法として、超常磁性酸化鉄 (superparamagnetic iron oxide: SPIO) 造影剤 (Feridex, Resovist) を用いた MRI 検査が臨床応用されている。これらは、細網内皮系、とくに肝臓のクッパー細胞によって SPIO 粒子が取り込まれる性質を利用したものである。取り込まれた SPIO 粒子によって T2*緩和時間が短縮され、T2 強調像においてコントラストが鮮明になる。しかし、肝臓以外の細胞には取り込まれないので、他の腫瘍には利用することができない。肝臓以外の腫瘍に対して SPIO 造影剤を応用するには、肝臓を代表とする細網内皮系に認識されない、いわゆるステルス性と、他の腫瘍細胞への標的指向性 (ターゲティング機能) を併せ持つ必要がある。一方、金ナノ粒子は、メルカプト基やスルフィド基などの硫黄原子を介して、タンパク質や核酸などの生体分子を簡単かつ強固に結合させることができ、また凝集状態によってコロイド溶液の色調が変化する特徴を持つため、バイオ分野で脚光を浴びている。

我々は酸化鉄ナノ粒子を分散させた金イオン溶液に放射線を照射することで、酸化鉄表面に数 nm の金粒子を担持させる技術を、開発した。金と酸化鉄が複合化したナノ粒子から成るこの磁性粒子によれば、粒子とタンパク質・核酸などの生体分子を水溶液中で混合するだけで磁性粒子上への固定が可能となる。すでに、種々の生体分子を水中でこの粒子に吸着させ、磁気により誘導・分離できることを報告した。申請者はこの粒子を様々な応用に対応させるため、それぞれの用途に応じた粒径に制御された金磁性複合ナノ粒子の合成を行った。水溶性高分子であるポリビニルアルコール (PVA) 水溶液中で二価と三価の鉄イオンを共沈させることで、実験パラメータにより様々な粒径に制御された酸化鉄ナノ粒子の合成に成功している。さらに、酸化鉄粒子表面に放射線を用いて金を析出担持して複合ナノ粒子を合成し、生体分子の吸着性能を評価したところ、以前の粒子と同程度の吸着活性を保っていることを確認した。

これまで、酸化鉄合成時、放射線による金担持時、共に PVA を粒径制御剤として用いてきたが、洗浄を施しても粒子表面に PVA が残留することがわかっている。ただし、金への生体分子の結合は阻害されていない。PVA は生体に対し毒性がほとんどないが、細網内皮系などの免疫組織に異物として認識され体内から排除されてしまう。MRI 造影剤としてこの金磁性複合ナノ粒子を用いるならば、従来の SPIO 造影剤と同様に肝腫瘍以外に利用することはできない。

2. 研究の目的

本研究では分散性・ステルス性を付与するために高分子ポリエチレングリコール (PEG)

を、生体分子の結合性を付与するために金をそれぞれ表面に付着させた複合ナノ粒子の合成を試みた。また、がん治療にも応用できる La-Sr-Mn 系酸化物磁性微粒子の合成を試みた。

3. 研究の方法

(1) 磁性酸化鉄ナノ粒子の合成

Fe^{2+} と Fe^{3+} の塩化鉄水溶液に、PVA もしくは PEG を溶解し、アンモニア水溶液を添加して共沈法により酸化鉄ナノ粒子を調製した。

(2) PEG 被覆複合ナノ粒子の合成

PEG 被覆された磁性複合ナノ粒子を合成するために、噴霧乾燥法を用いた。酸化鉄ナノ粒子分散液に PEG を溶解し 300°C で噴霧乾燥した。

(3) 金被覆複合ナノ粒子の合成

酸化鉄ナノ粒子分散液に塩化金酸を加えこれを噴霧してミスト化し、350°C の反応管に送り噴霧熱分解/乾燥した。

(4) ハイパーサーミア用微粒子の合成

室温付近にキュリー温度を持つ磁性体 $La_{0.75}Sr_{0.25}MnO_3$ 微粒子の合成を行った。硝酸ランタン、硝酸ストロンチウム、硝酸マンガンの混合水溶液を 800-1200°C で噴霧熱分解した。

4. 研究成果

(1) PEG 被覆複合ナノ粒子

図 1 に PEG 被覆粒子の TEM 像を示す。微細な酸化鉄ナノ粒子が PEG とともに凝集体粒子を形成している。粒径は 200-300 nm 程度である。(a)(b)を見ると PEG の原料濃度 0.4% では粒子表面に凹凸があり、4.0% では滑らかになっていることがわかる。これは PEG 濃度を上げることで PEG による被覆

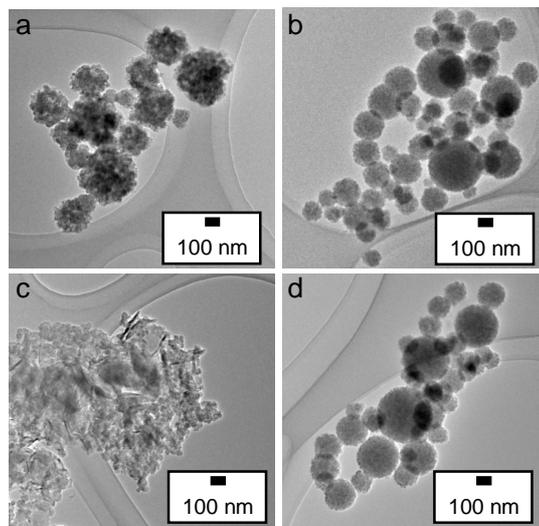


図 1 PEG 被覆粒子の TEM 像
(a)(c) PEG 原料濃度 0.4%、(b)(d)4.0%
(c)(d)40°C の水中で 48 時間後

性が高まったことによると考えられる。(c)(d)にはこれらの粒子を水中に分散し40°Cで48時間置いた後のTEM像を示す。PEG0.4%では粒子の構造が崩れているのに対し、4.0%では構造を維持しており水中での安定性が高いことがわかった。また、この粒子をFTIRで評価したところ、PEGが含まれていることを確認した。

(2) 金被覆複合ナノ粒子

図2に合成粒子のTEM像を示す。反応温度、酸化鉄濃度はそれぞれ350°C、0.1 g/Lで、(a)は金濃度1.0 g/L、(b)は金濃度0.1 g/Lである。(a)から100-200 nmの酸化鉄粒子(凝集体)の表面に数十 nmの黒い斑点状の金粒子が担持していることがわかる。また、(b)から金の濃度を増加させることで、金ナノ粒子の担持量が増え、酸化鉄表面をほぼ覆いつくしていることがわかる。金が粒子内部でなく表面に存在していることから、噴霧熱分解時の生成過程では、ミストから水が蒸発していくと同時にミスト表面近傍で金粒子が析出し、その後コアとなる酸化鉄凝集体の表面に担持したと考えられる。

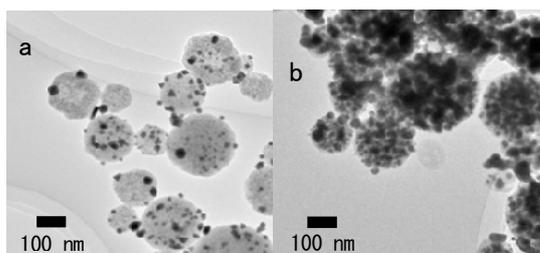


図2 金被覆粒子のTEM像
金の原料濃度 (a)0.1 g/L、(b)1.0 g/L

図3に合成粒子のSQUID磁力計による磁化測定の結果を示す。合成粒子はいずれの条件においても、ヒステリシスをもたないことから、超常磁性を示すことがわかった。超常磁性ナノ粒子は高温になると粒成長し特性を失うことがあるが、今回の合成過程では10 nmの酸化鉄の超常磁性の特性を保持できることがわかった。また、飽和磁化の値が金濃度

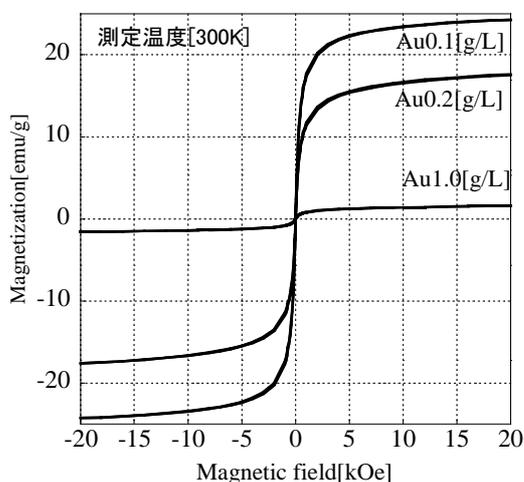


図3 金被覆粒子の磁化曲線

の増加に伴って低くなるのは、磁性相である酸化鉄の含有率が低くなり、磁的に希薄になったためである。

(3) ハイパーサーミア用微粒子

ハイパーサーミア用微粒子として $\text{La}_{0.75}\text{Sr}_{0.25}\text{MnO}_3$ 微粒子を合成した。交流磁場中での発熱特性を調べるために、40 Oe, 1 MHzの交流磁場を印加し、粒子の温度を測定した。図4に粒子温度の経時変化を示す。磁場を印加すると温度が上昇し、2分ほどで一定温度になっており、キュリー温度により発熱温度が制御されていることがわかった。また合成温度 T_s により発熱温度を制御できることがわかった。

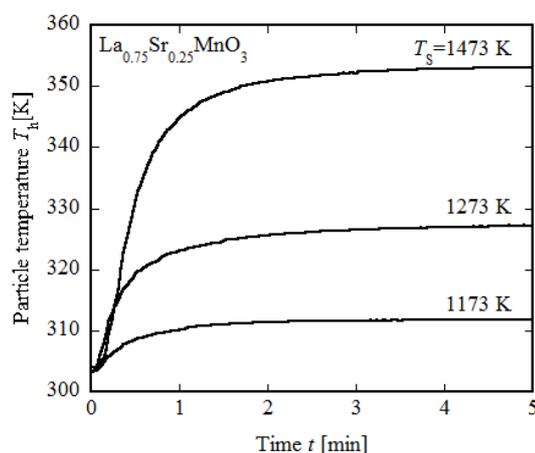


図4 交流磁場中での粒子温度の経時変化

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

① Takuya Kinoshita, Takamitsu Furuyabu, and Motoaki Adachi, Synthesis of $\text{La}_{0.75}\text{Sr}_{0.25}\text{MnO}_3$ fine particles for self-controlled magnetic heating hyperthermia by ultrasonic spray pyrolysis, Japanese Journal of Applied Physics, (in press)

② Shuji Watanabe, Takuya Kinoshita, Motoaki Adachi, Synthesis of gold/iron-oxide composite nanoparticles by ultrasonic spray pyrolysis for magnetic separation of biomolecules, Proceeding of 19th Regional Symposium on Chemical Engineering, (2012) D50-1-4, 査読有

③ Takamitsu Furuyabu, Ayako Yasuda, Takuya Kinoshita, Motoaki Adachi, Synthesis of perovskite manganite magnetic fine particles by ultrasonic spray pyrolysis for self-controlled magnetic hyperthermia, Proceeding of 19th Regional Symposium on Chemical Engineering, (2012) A55-1-4, 査読有

④ Hiroyuki Shirai, Takuya Kinoshita, Motoaki Adachi, Synthesis of cobalt nanoparticle and fabrication of magnetoresistance devices by ion-assisted aerosol generation method, *Aerosol Science and Technology* 45 (2011) 1240-1244, 査読有

DOI:10.1080/02786826.2011.588729

[学会発表] (計18件)

① 木下卓也, 古藪孝充, 足立元明, 噴霧熱分解法による磁性微粒子の合成とがん温熱療法への応用化学工学会第45回秋季大会, 2013年9月16-18日, 岡山

② 矢部奈生子, 木下卓也, 足立元明, 生体内利用に向けたPEG/酸化鉄ナノ粒子の合成, 第30回エアロゾル科学・技術研究討論会, 2013年8月27-29日, 京都

③ 貴志暢大, 木下卓也, 足立元明, 噴霧熱分解法による磁気ハイパーサーミア粒子の粒径制御, 第30回エアロゾル科学・技術研究討論会, 2013年8月27-29日, 京都

④ T. Furuyabu, A. Yasuda, T. Kinoshita, M. Adachi, Synthesis of perovskite manganite magnetic fine particles by ultrasonic spray pyrolysis for self-controlled magnetic hyperthermia, 19th Regional Symposium on Chemical Engineering (RSCE 2012), 2012年11月7-8日, バリ, インドネシア

⑤ S. Watanabe, T. Kinoshita, M. Adachi, Synthesis of gold/iron-oxide composite nanoparticles by ultrasonic spray pyrolysis for magnetic separation of biomolecules, 19th Regional Symposium on Chemical Engineering (RSCE 2012), 2012年11月7-8日, バリ, インドネシア

⑥ 古藪孝充, 保田亜矢子, 木下卓也, 足立元明, 磁気ハイパーサーミアに向けた温度自己制御型磁性微粒子の開発, 化学工学会第44回秋季大会, 2012年9月19-21日, 仙台

⑦ 古藪孝充, 保田亜矢子, 木下卓也, 足立元明, 噴霧熱分解合成磁性粒子が開く新しい癌温熱療法, 第29回エアロゾル科学・技術研究討論会, 2012年8月28-30日, 北九州

⑧ 古藪孝充, 保田亜矢子, 木下卓也, 足立元明, 温度自己制御型ハイパーサーミア用微粒子の合成, 第29回エアロゾル科学・技術研究討論会, 2012年8月28-30日, 北九州

⑨ T. Kinoshita, T. Furuyabu, A. Yasuda, M. Adachi, Synthesis of $\text{La}_{0.75}\text{Sr}_{0.25}\text{MnO}_3$ Fine

Particles for Magnetic Hyperthermia by Ultrasonic Spray Pyrolysis, 9th International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers, 2012年9月22-26日, ミネアポリス, アメリカ

⑩ 木下卓也, 古藪孝充, 保田亜矢子, 足立元明, 温度自己制御型ハイパーサーミア用微粒子の開発, 化学工学会第77年会, 2012年3月16日, 東京

⑪ M. Nama, T. Kinoshita, M. Adachi, Synthesis of gold/iron-oxide composite nanoparticles by liquid laser ablation for biomedical applications, 6th Asia Pacific Chemical Reaction Engineering Symposium (APCRE2011), 2011年9月20日, 北京, 中国

⑫ T. Tani, S. Watanabe, T. Kinoshita, M. Adachi, Synthesis of gold/iron-oxide composite nanoparticles and adsorption of bovine serum albumin on particle surface, 6th Asia Pacific Chemical Reaction Engineering Symposium (APCRE2011), 2011年9月20日, 北京, 中国

⑬ 谷俊之, 渡邊周二, 木下卓也, 足立元明, 金/酸化鉄磁性複合ナノ粒子へのBSAたんぱく質の吸着量の評価, 化学工学会第43回秋季大会, 2011年9月14日, 名古屋

⑭ 渡邊周二, 谷俊之, 木下卓也, 足立元明, バイオ分野での応用に向けた金酸化鉄複合ナノ粒子の合成, 化学工学会第43回秋季大会, 2011年9月14日, 名古屋

⑮ 名間瑞樹, 木下卓也, 足立元明, 液相レーザーアブレーションによる金/酸化鉄磁性複合ナノ粒子の合成, 化学工学会第43回秋季大会, 2011年9月14日, 名古屋

⑯ 古藪孝充, 木下卓也, 足立元明, 超音波噴霧熱分解法によって合成したLaSrMn系酸化物微粒子の交流磁場中での発熱特性の評価, 化学工学会第43回秋季大会, 2011年9月14日, 名古屋

⑰ 古藪孝充, 木下卓也, 足立元明, 超音波噴霧熱分解法による磁気ハイパーサーミア用LaSrMn系酸化物微粒子の合成, 第28回エアロゾル科学・技術研究討論会, 2011年8月29日, 堺

⑱ 渡邊周二, 谷俊之, 木下卓也, 足立元明, 超音波噴霧熱分解法による金酸化鉄複合ナノ粒子の合成, 第28回エアロゾル科学・技術研究討論会, 2011年8月29日, 堺

[図書] (計1件)

① M. Adachi and T. Kinoshita, Springer, Generation of Nanoparticles and Its Applications, Nanodroplets, 2013 年, 1-24

[その他]

ホームページ等

<http://www.chemeng.osakafu-u.ac.jp/group7/indexJ.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木下 卓也 (KINOSHITA, Takuya)

大阪府立大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：90453141