

MR センサを用いた免疫検査法の高感度化

野口 晃平、吉田 敬、圓福 敬二
(九州大学大学院システム情報科学府)

Improvement in Immunoassay using Magneto-Resistive Sensor
Kohei Noguchi, Takashi Yoshida, Keiji Enpuku
(Kyushu University)

はじめに

血液中に存在する疾患由来の蛋白質や病原菌等を検出する手段として免疫検査が広く用いられている。迅速・高感度な免疫検査として、磁気マーカーを用いた液相免疫検査法の研究開発が行われている。筆者らはこれまでに、MR 磁気センサと磁気マーカーのブラウン磁気緩和を利用した測定システムを開発し、結合マーカーと未結合マーカーの分離のための洗浄工程が不要な液相免疫検査を行ってきた。本手法では結合マーカーから磁気信号を得るため、磁気マーカーに強い励起磁界を複数回印加している。しかしながら、励起磁界の印加は未結合マーカーの凝集を引き起こしてブランクシグナルを増大させるため、検出感度の悪化の原因となっていた。今回、励起磁界を印加した後に分散処理を行うことによって凝集体を再分散させる方法を開発した。これにより凝集を低減した検出が可能になる。

実験方法

磁気マーカーを結合するための抗原抗体反応を、1.5mTの磁界を印加しながら反応させた。反応後に強い励起磁界(40mT)を k 回印加し磁気モーメントの向きを揃えた。Fig. 1 に励起磁界を印加したときの模式図を示す。励起磁界の印加により未結合マーカーの凝集体が形成されている。その後、サンプル溶液をボルテックスミキシングにより振動攪拌した。これにより結合力の弱い凝集体は再分散することが期待できる。この分散処理の後に、弱い測定磁界(1mT)を印加しながら測定回数 $N=72$ 回で測定を行った。

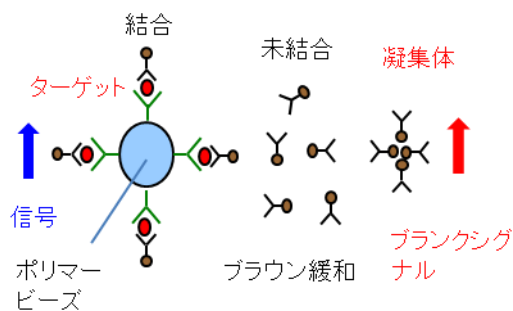


Fig.1 Magnetic markers after the excitation field is applied.

実験結果

強い励起磁界を印加後にそのまま測定を行う従来法と、印加後に分散処理を行う新外部励起システムでの実験結果を Fig. 2 に示す。図に示す様に、 $N_p=0$ の時のブランクシグナルは分散処理を行うことによって減少できている。このことは、凝集体の結合力は強くない、ボルテックスミキシングによる振動攪拌が再分散に有効であることを示している。検出の感度は、結合マーカーからの信号とブランクシグナルの比により決まるため、新システムでは従来法よりも高い感度で検出を行えていることを実証している。

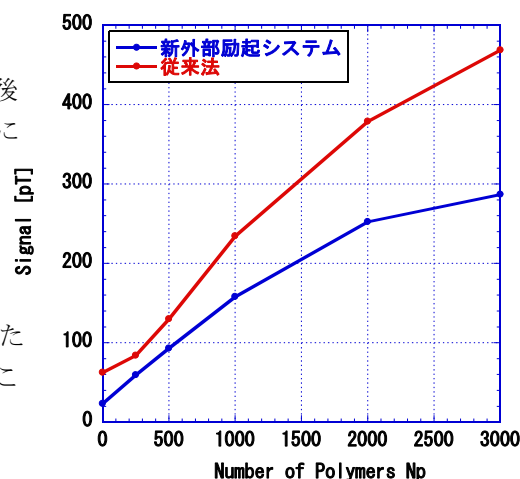


Fig.2 Detection of biotin coated polymer beads. Relationship between the number of polymer beads, N_p , and the detected signal.

まとめ

強い励起磁界を印加後に、ボルテックスミキシングによる振動攪拌を用いて分散処理を行う方法の有効性を調べた。この新しい手法によって、ブランクシグナルを半分以下に低減させることが出来た。今後は更に少ないビオチンの検出を検証する予定である。

磁性粒子の磁化応答信号を用いたイオン濃度測定

小田翔也、スコ・バグース・トリスナント、北本仁孝
(東京工業大学)

Study of ion concentration measurement by detecting response from magnetic particle

Shoya Oda, Suko Bagus Trisnanto, Yoshitaka Kitamoto
(Tokyo Institute of Technology)

緒言

体内の体液中には様々なイオンが溶けている。例えば Na, Cl, K イオン等が存在する。イオンは体液の循環や神経の伝達に作用している。これらのイオンのバランスは適度に保たれているが、腎臓に疾患がある場合などはイオン濃度が定常値からずれる。そのため体液のイオン濃度を測定することで疾患の有無を検査することができる。

多くの場合イオン濃度は電極を用いて測定される。よって測定対象との接触が避けられない。蛍光を用いた方法も存在するが、蛍光が十分透過できるという必要がある。一方、磁気的な方法であれば、非接触かつ光学的に不透過な物質を挟んだ場合でも測定できる利点がある。しかし、これまでに磁気的な方法を用いてイオン濃度を測定した報告は存在しない。そのため今回は磁性粒子のブラウン緩和に着目し、NaCl 濃度と磁気応答信号との関係から、イオン濃度により磁性粒子の振舞がどのように変化するかを調べた結果を報告する。

実験方法

磁性粒子を励磁するためにソレノイドコイルを使用した。印加する磁場強度は 240 G_{p-p}、測定周波数は 510 Hz から 2010 Hz までとした。また磁場検出のために、もう一つのソレノイドコイルを用いた。測定用コイルは励磁用コイルの内側に設置した。磁性流体はカプセル状の容器に内包し、カプセルは測定用コイルの内部に設置した。磁性流体中に含まれる磁性粒子は酸化鉄粒子（平均直径約 13 nm）を使用した。

実験結果

Fig. 1 に動的光散乱法による磁性粒子の流体力学的径の評価結果を示した。NaCl 濃度が増えるに従って、径の大きさが増大している。3 wt%では粒子が沈殿したため、粒子が NaCl 濃度の増加により凝集を起こしていることがわかった。Fig. 2 には 2 wt%までの濃度の範囲で各周波数にて磁性粒子からの応答信号に含まれる高調波信号を測定した結果を示す。第7次高調波を第3次高調波にて規格化し、その基本周波数に対する依存性を示す。周波数が高くなるとともに、値が小さくなっていることがわかる。これは粒子の磁化応答がより高周波の励磁信号に追従出来なくなっていることを示唆している。さらに NaCl 濃度で比較すると、濃度が高くなるに従って値が小さくなっている。よって NaCl 濃度が高くなるとともに流体力学的粒子径が増大したことによる粒子のブラウン緩和の応答の差が、高調波信号を用いることによって検出できたと考えられる。

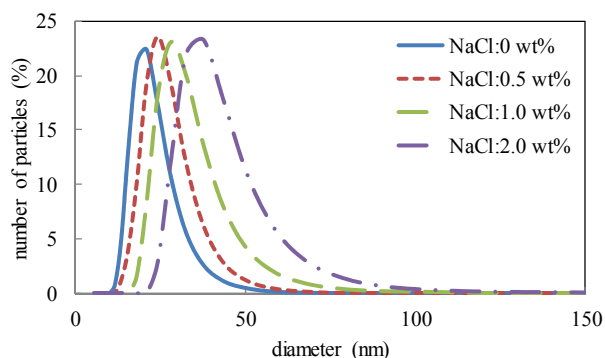


Fig. 1 Hydrodynamic diameter of magnetic particle

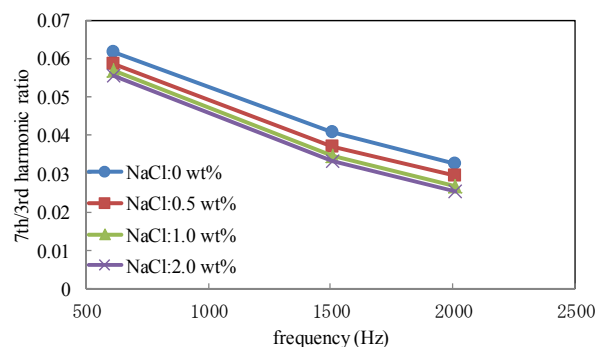


Fig. 2 Dependence of harmonic signal ratio of magnetic particle on NaCl concentration

電氣的走査法を用いた磁気粒子イメージングシステムの開発

田邊 一博*, 白石, 山本 和志, 笹山 瑛由, 吉田 敬, 圓福 敬二
九州大学システム情報科学府

Magnetic Particle Imaging using Electric Scanning of FFP

Kazuhiro Tanabe, Shi Bai, Kazushi Yamamoto, Teruyoshi Sasayama, Takashi Yoshida, Keiji Enpuku
Kyushu Univ.

1. はじめに

磁気マーカーを体内に注入し、磁気マーカーからの磁気信号を検出することにより、癌等の疾病領域を高感度・高分解能に画像化する断層撮影技術は MPI (磁気粒子イメージング) と呼ばれており、医療診断において注目されている。本研究では、センチネルリンパ節生検への応用を想定した MPI システムの開発を行っている。FFP(Field Free Point) を含む傾斜磁界を用いることで空間分解能の改善を行うが、FFP の位置を電氣的に走査させることでイメージングを行い、深さ 30 mm の位置にある重さ 100 μg の磁気ナノ粒子の検出に成功したので、以下に報告する。

2. 磁気粒子イメージング

本システムでは、交流励起磁界 1 mT (周波数 22.75 kHz) をサンプル (Resovist; 100 μg を直径 2 mm ϕ の容器に入れたもの) に印加し、サンプルから発生する第三高調波を測定して画像化している。磁気ナノ粒子は、交流励起磁界に直流磁界が重畳されたとき、粒子の磁化飽和によりその応答信号は抑制されるという特徴を持つ。このため、直流磁界がゼロとなる点 (FFP) を持つ直流傾斜磁界を用いることで、FFP 上にある粒子からのみ信号を得ることができ、空間分解能の改善につながる。今回製作した傾斜磁界コイルを Fig. 1 に示す。傾斜磁界コイルは 9 \times 9 cm の正方形コイル (銅線径 1mm、巻数 200) 四つから成り、巻き方向をそれぞれ黒の矢印方向とすることで中心 ($x=y=0$) において FFP が発生する。

実際の応用に際して、患者や MPI 装置を機械的に走査してマッピングを行うことは効率的ではない。そこで FFP を電氣的に走査する方法を開発した。これによるメリットは MPI 装置の簡易化のみならず、測定時間の短縮による患者の負担軽減や加算平均によるイメージング結果の精度向上が考えられる。FFP の電氣的走査用のシフトコイル (銅線径 1 mm、巻数 88) を Fig. 1 の赤線、青線に示す。シフトコイルは傾斜磁界コイルの外周に巻いてあり、それぞれに電流 I_{shift} 、 I'_{shift} を印加することにより、FFP を走査することができる。

今回、傾斜磁界コイルに 10 A、シフトコイルに 18 A_{p-p} の三角波 (周波数 2 Hz) と $I_{\text{dc}} = 9 \text{ A}$ を印加することにより、32 mm 四方の範囲で FFP を走査し、そのときのサンプルからの信号磁界をマッピングした (Fig. 2)。得られた電圧マップ図の信号の半値幅は x, y 両方向ともおおよそ同じ値を示し、予想通りの値を得ることができた。

3. まとめ

磁気粒子イメージングにおいて FFP を電氣的に走査するシステムを開発した。FFP の電氣的走査により測定時間の短縮とそれに伴う加算平均の導入により SN 比の向上を図ることができた。

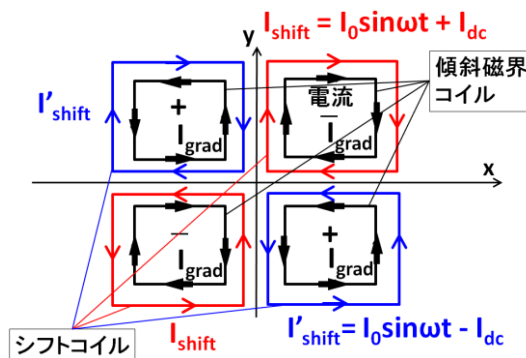


Fig.1 Schematic of gradient coil and shift coil

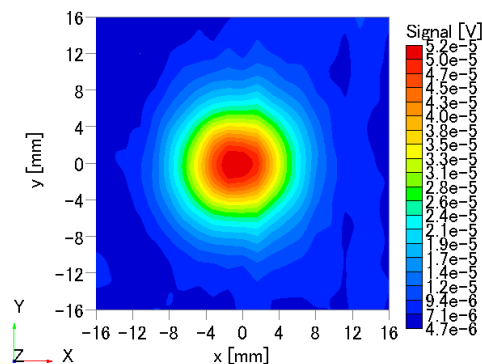


Fig. 2 Contour map of the magnetic field using electrical scanning system. The gradient field is 0.4mT/cm.

第三高調波磁化信号を用いた 三次元磁気粒子イメージングシステムの開発

辻村 尚貴、吉田 敬、圓福 敬二
(九州大学)

Development of a three-dimensional magnetic particle imaging system using third harmonic signal
Naotaka Tsujimura, Takashi Yoshida, Keiji Enpuku
(Kyushu University)

はじめに

磁気ナノ粒子を高分子で被覆し、その表面に検査試薬や薬剤等を結合したものは磁気マーカーと呼ばれており様々な医療応用が期待されている。その中で、磁気ナノ粒子からの磁化信号を検出することによって磁気ナノ粒子の位置を特定する、磁気粒子イメージングというものがあり、体内医療診断において注目されている^{1),2)}。本研究では、磁気ナノ粒子サンプルをxyz方向に走査し、磁気ナノ粒子からの非線形磁化応答による第三高調波信号を検出することで磁気ナノ粒子の位置の特定を行った。また、直流傾斜磁界を印加することで、より高空間分解能な三次元磁気粒子イメージングシステムの開発を目指した。

実験

交流励起コイルにより磁気ナノ粒子に交流磁界 (2.8 mT rms, 2.99 kHz) を印加し磁化させる。磁気ナノ粒子からの磁化信号を検出コイルで検出し、ロックインアンプを用いて第三高調波信号の抽出を行う。第三高調波を測定することで、励起磁界の影響を避けることができ、磁化応答信号を高感度に検出することができる。また、直流励起コイルにより直流傾斜磁界を印加する。直流励起が大きい領域では、飽和磁化に近づくため高調波信号が抑制されるため、直流傾斜磁場を用いることで高空間分解能化が可能となる。

Fig1.のように 50 μg (Fe)磁気ナノ粒子サンプル (Resovist, FUJIFILM RI Pharma) 二つをxyz方向に30mmの対角線上に離して置き、サンプルを三次元に走査した。次に、サンプルを走査することで得られた第三高調波信号マップを非負最小二乗法(NNLS)³⁾を用いて画像処理を行い、高空間分解能な三次元の磁気ナノ粒子の濃度分布図を作成した。

実験結果

NNLS法を用いて変換した磁気ナノ粒子の空間的な濃度分布図をFig.2に示す。z=15mm、z=-15mmにおいて濃度分布のピーク値が現れていることがわかる。サンプルが存在しない、z=0平面では、濃度分布が0となっている。これらの方法を用いることで、三次元にサンプルの位置を特定することに成功した。

参考文献

- 1) B.Gleich and J. Weizenecker, *Nature*, vol.435, pp.1214-1217.2005
- 2) 吉田、小川、椿、円福：電気学会マグネティックス研究会 MAG-10-163,MBE-10-164,2010
- 3) Jos van Rijssel, Bonny W.M. Kuipers, Ben H. Ern , *J. of Magn. Mater.* 353 (2014) 110-115

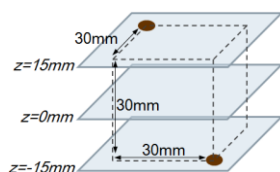


Fig.1 Two Magnetic nanoparticles separated by $\Delta x = \Delta y = \Delta z = 30$ mm.

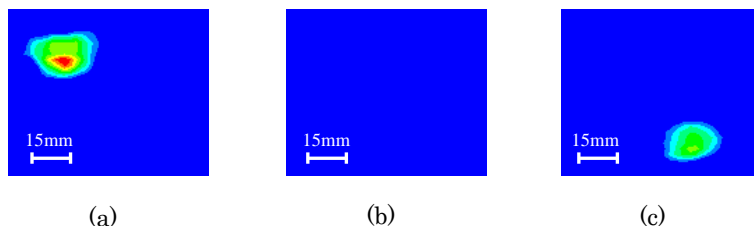


Fig.2 Contour map of the MNP distribution in three dimensions at (a) z = 15 mm plane (b) z = 0 mm plane, and (c) z = -15mm plane.

血中滞留の長い磁性ナノ粒子の MPI 高調波信号成分の評価

大多哲史 竹田遼二 山田努 竹村泰司
(横浜国立大学)

Evaluation in harmonic signal of blood-pooling magnetic nanoparticles for magnetic particle imaging

S. Ota, R. Takeda, T. Yamada, Y. Takemura

Yokohama National University

はじめに

磁性ナノ粒子の信号を観測することで診断を行う磁気粒子イメージング(MPI)が磁気共鳴画像法(MRI)に代わる技術として注目を集めている¹⁾。本研究では、コア粒径の異なる酸化鉄ナノ粒子の交流磁化測定を行い、高調波信号の検出を行った。MPIにおける応用を目的とした粒子について、信号強度のコア粒径依存²⁾や Langevin 関数を用いた数値計算と実験値の比較³⁾が行われている。

実験方法・結果

コア粒径が 4, 5, 8 nm のカルボキシメチル - ジエチルアミノエチルデキストラン修飾のマグヘマイト粒子について最大磁場 4, 8 kA/m、周波数 1-100 kHz の条件で交流磁化測定を行った。測定は粒子を水中に分散させた液中試料および寒天により固定した固定試料について行った。また本粒子は血中のアルブミンと結合するため貪食細胞に認識されにくく、血中における滞在時間が長いことが *in vivo* 実験により示されている⁴⁾。

Fig. 1 (a)は、各粒子を寒天よりの固定した試料の第三高調波強度の周波数依存を表している。最もコア粒径の大きな 8 nm の粒子の第三高調波強度が大きいことが確認された。また直流ヒステリシスループにおいて保磁力が微小であったため本粒子は超常磁性であると確認した。Fig 1 (b)は、基本波に対する第三高調波強度の割合を表している。液中試料の結果など詳細は当日発表する。

謝辞：

測定に使用した磁性ナノ粒子は、名糖産業株式会社より提供いただきました。ここに深謝申し上げます。

参考文献

- 1) B. Gleich, J. Weizenecker: *Nature*, 435, 1214 (2005).
- 2) 廣川愛生, 白石, 田邊一博, 吉田敬, 圓福敬二: 第 38 回日本磁気学会学術講演会, 2pF-10, 横浜, 2014 年 9 月.
- 3) A. Tomitaka, R. M. Ferguson, A. P. Khandhar, S. J. Kemp, S. Ota, K. Nakamura, Y. Takemura, K. M. Krishnan: *IEEE MAGN*, 51, #6100504 (2015).
- 4) N. Nitta, K. Tsuchiya, A. Sonoda, S. Ota, N. Ushio, M. Takahashi, K. Murata, S. Nohara: *Jpn. J. Radiol.*, 30, 832 (2012).

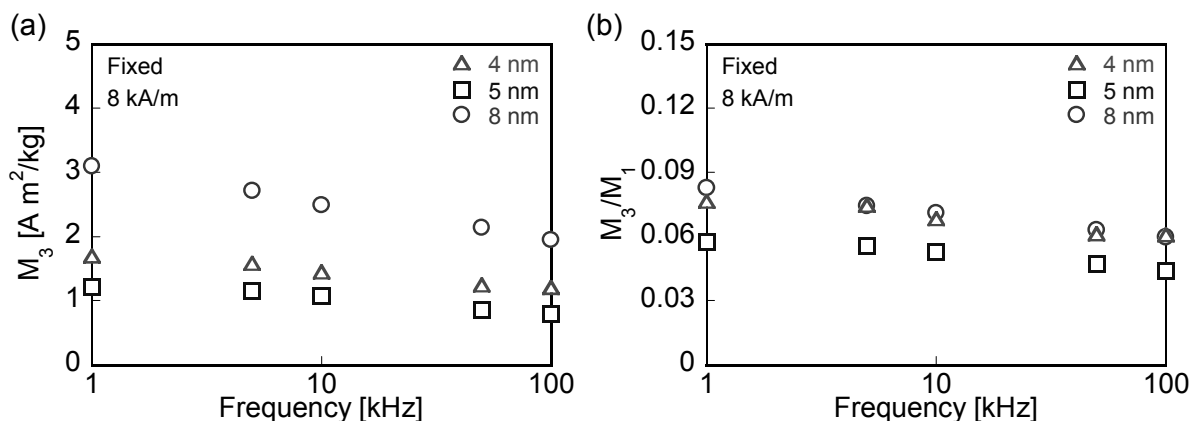


Fig. 1

(a) 第三高調波強度

(b) 第三高調波の基本波に対する信号強度の割合

交流磁場印加により磁性流体から発生する励磁音響波の 発音遅延時間に関する基礎研究

石田巖, 中川貴, 清野智史, 山本孝夫
(大阪大学)

Study on sound generation delay time of sonic wave emission from magnetic fluid
stimulated by alternating magnetic field application

I. Ishida, T. Nakagawa, S. Seino, T. A. Yamamoto,
(Osaka University)

1. 研究背景

交流磁場を印加することで、磁性流体から磁場の2倍の周波数を持つ音波（励磁音響波）が誘起されるといふ現象“励磁音響効果”が2008年に報告された¹⁾。励磁音響波は励磁してから音波が検出されるまでに非常に長い遅れ（遅延時間）が生じることが明らかになっている。実験に用いている媒質であるポリアクリルアミドゲル中の音波伝搬距離に対して遅延時間をプロットすると直線関係が得られる²⁾。この直線を伝搬距離ゼロに外挿しても時間軸切片がゼロにならないことから、磁場印加から音波の発生までの間にも遅延（発音遅延時間）が存在することが示されるが、発音遅延時間を直接測定しその本質の解明に取り組んだ研究はない。本研究では、励磁音響波を音波伝搬距離ゼロで直接測定できるように実験を工夫し、発音の遅延の存在確認と磁場周波数に対する依存性の評価を行った。

2. 実験

励磁音響波を検出するための実験系は以下の通りである。市販の磁性流体 M300(シグマハイケミカル社製)を濃度 20 wt.%に希釈したものを励磁音響波発生源とした。この磁性流体をアクリルで作製した一辺 20 mm、厚さ 1 mm の直方体形の凹みに滴下し、厚さ 0.01 mm の塩化ビニル樹脂製のフィルムで上面を閉じたものを測定試料とした。この測定試料をコイル中心上に磁性流体が位置するように固定し、コイルに正弦波交流電流を流すことで交流磁場を印加した。印加磁場強度は 42 Oe で固定し、周波数は 300、400、500、600 Hz とした。発生した励磁音響波をマイクロフォンによって電気信号として検出し、アンプを用いて増幅し、デジタルオシロスコープによって PC に取り込んだ。この実験系を用いて発音遅延時間の直接測定を行った。

3. 実験結果

図 1 に、磁場周波数 600Hz における磁場信号と音波信号の波形を示す。音波信号波形はマイクロフォンのプローブ長 110 mm 中の伝搬時間を差し引いて補正してある。この結果から、音波伝搬距離がゼロでも遅延が生じており発音に遅延があることが確かめられた。また、表 1 に磁場周波数を変化させた場合の発音遅延時間の値を示す通り、発音遅延時間には磁場周波数への依存性が見られない。

表 1. 各周波数における発音遅延時間

| | 300 Hz | 400 Hz | 500 Hz | 600 Hz |
|-------------|--------|--------|--------|--------|
| 発音遅延時間 (ms) | 0.20 | 0.21 | 0.18 | 0.19 |

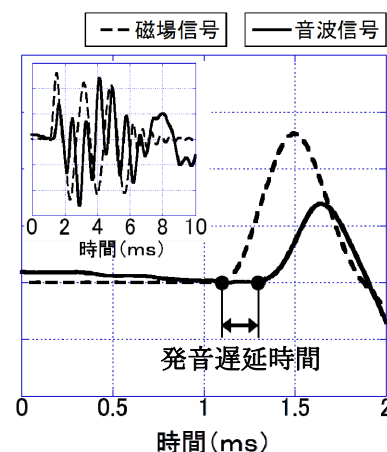


図 1. 磁場・音波信号波形
(磁場周波数 600Hz)

参考文献

- 1) 掛川健司 ほか, 第 32 回日本磁気学会学術講演会概要集 (2008) 12pC-10
- 2) M.Tano et al., *Mater. Lett.* Vol.98, pp51-54, 2013.

内部に金ナノ粒子を担持した中空酸化鉄微粒子の合成とその評価

菅健斗, 清野智史, 中川貴, 山本孝夫
(大阪大学)

Synthesis and characterization of hollow iron-oxide particles modified inside with gold nanoparticles.

K. Suga, S. Seino, T. Nakagawa, T. A. Yamamoto (Osaka University)

1. 研究背景

近年, 磁性を有する中空微粒子 (Magnetic Hollow Fine Particles: MHFPs) は, 機能性分子を含む溶液を内包することが可能であり, また磁気誘導が可能であることから薬剤輸送システムへの応用等が期待されている. 本研究では MHFPs の内部に金ナノ粒子を担持し, MHFPs 内部を機能化することに注目した. MHFPs 内部に金ナノ粒子を担持することで, 金表面にチオール基 (-SH) やメチルスルフィド基 (-S-CH₃) を介し, 特定生体分子を選択的に固定化し MHFPs 内部の機能化が可能となれば, 効率的に機能性分子の輸送が可能となるキャリアとしての応用が期待される. 今回, 内部に金ナノ粒子を担持した磁性中空微粒子の合成法と材料解析結果について報告する.

2. 実験

粒子表面がアミノ基 (NH₂) で修飾された粒径 300 nm の SiO₂ 微粒子 (Sicastar®) 26 mg をテンプレートとした. 電子線還元法⁽¹⁾により, SiO₂ 微粒子表面に Au ナノ粒子の担持処理を行った. その後, フェライトめっき法⁽²⁾により, Au 担持 SiO₂ 粒子の表面に酸化鉄被覆を施した. 合成された粒子を, 1.0 mM の NaOH 水溶液に浸潤することで SiO₂ を溶解し, 内部に Au 粒子が担持した中空酸化鉄微粒子を得た. 得られた粒子形態を電子顕微鏡 (TEM, SEM) によって観察した. 組成と結晶構造についてはプラズマ発光分光分析, X 線回折により評価した. また, 磁気特性の評価も行った.

3. 結果と考察

Fig. 1 に TEM および SEM による形態観察を行った画像を示す. 電子線還元法により, SiO₂ 粒子表面に粒径約 6 nm の Au 粒子が担持していることが確認された (Fig. 1(a)). フェライトめっき後には, Au/SiO₂ 表面に粒径約 50 nm の酸化鉄粒子が被覆していることが確認された (Fig. 1(b)). SiO₂ の溶解処理により中空構造が得られており, また内部に Au 粒子が存在することも確認された (Fig. 1(c)). X 線回折結果と ICP 結果も併せて, 内部に Au 粒子が担持した中空磁性酸化鉄微粒子の生成を確認した.

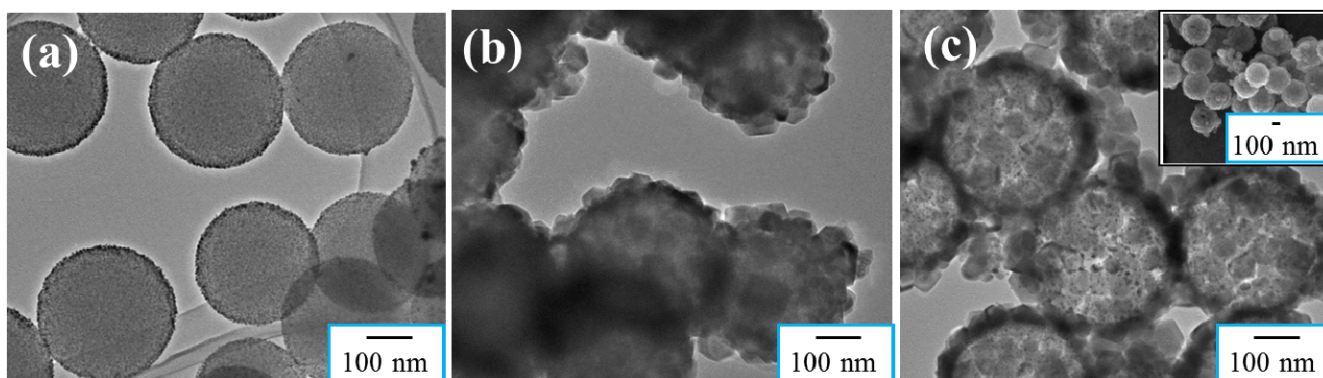


Fig.1 TEM images of synthesized particles. (a) SiO₂/Au, (b) SiO₂/Au/Fe₃O₄, and (c) hollow iron-oxide particles modified inside with gold nanoparticles.

Inset in (c) gives SEM image of hollow iron-oxide particles modified inside with gold nanoparticles.

参考文献

- 1) S. Seino, *et al.*, J of Nanoparticle Res 10, (2008) 1071-1076.
- 2) M.Tada, *et al.*, J. Magn. Mater. 321(2009) 1414-1416.