

緩衝溶液中の磁気ナノ粒子の磁気特性評価とイメージングへの応用

Evaluation of magnetic properties of magnetic nanoparticles in buffer solution for Magnetic Particle Imaging

野村航大^{a)†}・山内一輝^{a)}・鷲野将臣^{a)}・松田哲也^{a)}・岡田泰行^{a)}・進泰彰^{a)}
清野智史^{b)}・中川貴^{b)}・紀和利彦^{c)}・殿岡俊^{a)}^{a)} 三菱電機株式会社先端技術総合研究所, 兵庫県尼崎市塚口本町 8-1-1 (〒661-8661)^{b)} 大阪大学工学研究科, 大阪府吹田市山田丘 2-1 (〒565-0871)^{c)} 岡山大学学術研究院ヘルスシステム統合科学学域, 岡山県岡山市北区津島中 1-1-1 (〒700-0082)K. Nomura^{a)†}, K. Yamauchi^{a)}, M. Washino^{a)}, T. Matsuda^{a)}, Y. Okada^{a)},
Y. Susumu^{a)}, S. Seino^{b)}, T. Nakagawa^{b)}, T. Kiwa^{c)}, and S. Tonooka^{a)}^{a)} Mitsubishi Electric Corp., 8-1-1 Tsukaguchi-Honmachi, Amagasaki, Hyogo 661-8661, Japan^{b)} Osaka University, 2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan^{c)} Okayama University, 1-1-1 Tsushima-naka, Okayama Kita-ku, Okayama 700-0082, Japan

Magnetic Particle Imaging (MPI) is an imaging modality that directly detects the nonlinear response of magnetic nanoparticles (MNPs). Spatial encoding is realized by saturating MNPs almost everywhere except in the vicinity of a special point called the field free point (FFP) using a static magnetic field. Recently, it has been shown that the sensitivity of MPI can be significantly improved using a simultaneous encoding scheme by scanning with a field free line (FFL) instead of FFP. The MPI with FFL device was developed using a neodymium magnet and an iron yoke to image the object with small amount of magnetic nanoparticle such as in biological systems. The magnetization response of magnetic nanoparticles in biological systems was studied using the developed MPI device. We developed the imaging system that can evaluate the magnetic signal and relaxation time of magnetic moments which is reflected by core and hydrodynamic size of MNPs. We found that iron concentration changes the MNP size, and then the relaxation time is varied.

Key words: magnetic particle imaging, magnetic nano particles, Brownian relaxation, Neel relaxation

1. はじめに

超常磁性を有する磁気ナノ粒子をトレーサーとして体内に注入し、外部から磁気ナノ粒子の交流磁化信号をすることで、がんなどの疾病領域をイメージングする磁気粒子イメージング (Magnetic particle imaging; MPI) が医療画像診断技術として注目されている¹⁾。MPIは機能的な画像を取得できる点でも注目されているが、機能的画像診断の代表的なモダリティである陽電子放出断層撮影 (Positron Emission Tomography; PET) とは異なり放射線被ばくがないため、PET に代わる非侵襲な機能画像診断装置として期待されている。機能画像診断はがんや認知症などの診断だけでなく、生体機能や薬剤動態の解明にも用いることが期待され、近年では、MPIの実用化に向けて溶液中の磁性ナノ粒子の交流磁化特性などの動的特性についても精力的に研究されている²⁾。例えば、生体内のように塩濃度が異なる環境に磁気ナノ粒子が存在する場合、磁気ナノ粒子の凝集状態が変化し、磁化応答における信号強度および緩和時間が変化することが報告されている²⁾。

我々の研究グループでは生体内の病態に特異的に結合する機能的磁気ナノ粒子と、機能的磁気ナノ粒子を用いたイメージング装置の開発に取り組んでおり生体中の磁気粒子状態毎に信号弁別する手法についても検討している。本稿では開発した生体イメージング用の MPI 装置の概要、および開発した MPI 装置を用いて生体内

における磁気ナノ粒子の磁化応答の挙動について、緩衝溶液中の磁気ナノ粒子を用いて検証した結果、および磁気ナノ粒子の緩和時間差を用いたイメージング手法について開発した結果を詳述する。

2. 磁気粒子イメージング (MPI)

2.1 Field free line MPI

MPI 装置は、ゼロ磁場を有する静磁場領域を生成する勾配磁場源 (永久磁石やコイル)、交流磁場を印加する励磁コイルから構成される。勾配磁場中のゼロ磁場近傍に磁気ナノ粒子が存在する場合は、印加した交流磁場により磁気ナノ粒子の磁化が変動するため受信コイルに誘導起電力が生じるため信号が検出される¹⁾。磁気ナノ粒子が勾配磁場中の有磁場領域に存在する場合は、磁気ナノ粒子の磁化が静磁場により飽和するため磁気ナノ粒子からの信号は検出されなくなる¹⁾。この現象を利用し、ゼロ磁場を有する静磁場領域を走査すれば、磁気ナノ粒子の 3 次元分布を画像化できることになる¹⁾。磁性ナノ粒子からの信号は、印加する交流磁場の基本波だけでなく、磁化率曲線の非線形性に伴い、奇数次の高調波信号が得られる⁴⁾。印加する交流磁場の大きさが数十 mT であるのに対して、検出する磁化信号は、pT レベルの磁場強度である。磁気ナノ粒子からの磁化信号と励磁場の分離を容易にするため、ロックインアンプを用いて同期検波によって高調波信号を検出する手法が用いられる⁵⁾。

Corresponding author: K. Nomura

(e-mail: Nomura.Kota@cw.MitsubishiElectric.co.jp).

本研究で用いる MPI 装置の概観図とシステムダイアグラムを Fig. 1 に示す。本装置はコの字型の鉄心と永久磁石を組み合わせたマグネットを対向配置することによりライン上のゼロ磁場領域を形成する Field free Line (FFL) 方式を採用している。FFL 方式は点状のゼロ磁場領域を形成する Field free point (FFP) 方式と比較して、信号取得領域が広く、検出される信号強度が高い。我々の研究グループは、磁気ナノ粒子量が少ない対象物（例えば珪藻などの磁気粒子の移行が困難なターゲット）のイメージングを目的とするため、FFL 方式を選定した。励磁コイルと受信コイルを一体としたコイルシステムとサンプル（マウス等）を同時に並進、サンプルのみを回転走査することで投影データを取得し横断像を再構成する。勾配磁場強度は対向するマグネット間距離を変えることにより 1~4 T/m に連続的に可変できる。励磁コイルにより励磁される交流磁場は周波数が 500 Hz 時に振幅は約 30 mT-p である。また、開発した MPI 装置はロックインアンプを用いて、励磁コイルの通電電流を参照して、計測される MPI 信号の位相差を算出することができる。位相差情報は計測機器の時定数や磁気ナノ粒子の緩和時間によって決まるため、位相差を用いることで磁気ナノ粒子の緩和時間変化を評価することやノイズとの弁別を行うことができる。

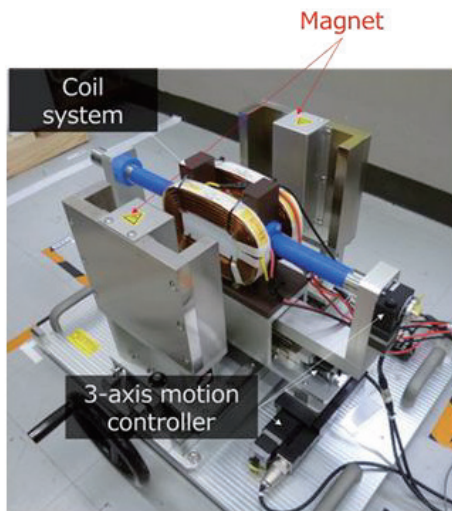


Fig. 1 Picture and Illustration of developed system.

2.2 磁気粒子特性と MPI 信号の比較

磁気ナノ粒子に交流磁場を印加した時の磁化応答は、粒子内での磁気モーメントの回転によるネール磁気緩和 (τ_N) と溶液中での粒子自身の回転によるブラウン磁気緩和 (τ_B) で決定される⁶⁾。磁気緩和時間 (τ_E) は、前述の2種類の緩和時間より以下の式で表すことができる^{6),7)}。

$$\tau_N = \tau_0 \exp(\pi K d_c^3 / 6k_B T). \quad (1)$$

$$\tau_B = \pi \eta d_H^3 / 2k_B T. \quad (2)$$

$$\tau_E = \tau_N \tau_B / (\tau_N + \tau_B). \quad (3)$$

ここで、 d_c 、 d_H はそれぞれ磁気ナノ粒子のコア粒径および流体力学的粒径、 η は溶媒の粘度、 K は磁気異方性エネルギー一定数、 k_B はボルツマン定数、 T は絶対温度を表す。MPI 装置が検出する高調波信号は、粒子状態の同じ、すなわち d_c 、 d_H が同じ場合、緩和時間が等しいことから開発した MPI 装置が算出する信号位相に変化は生じない。一方、MPI 装置が検出する高調波信号強度は、磁気粒子の磁化総量に比例することが報告されている⁵⁾。

磁気分離により収集された磁化応答性の高い成分は、鉄量あたりの磁化が高くなることが報告されている⁷⁾。開発した MPI 装置の性能評価を行うために Fig. 2 に示す永久磁石を用いた簡易な磁気分離手法にて Ferucarbotran (名糖産業) を磁気的に分離し、永久磁石に集まった磁場応答性の高い成分を抽出した磁気ナノ粒子を Ferucarbotran_Magnetic (FcM)、上澄み成分を Ferucarbotran_Negative fraction (FcN) と示す。磁気分離によって得られた FcM、FcN の直流磁化率測定結果を Fig. 3 示す。比較対象として、磁気特性が Ferucarbotran とほぼ同等である Resovist[®] の直流磁化率測定結果も Fig. 3 に併記した。開発した MPI 装置を用いて、FcM、FcN、Resovist[®] の MPI 信号を取得し、信号強度と位相について評価を行った。3 次高調波の信号強度を Fig. 4、位相を Fig. 5 に示す。FcM の MPI シグナル値は Resovist[®] の約 1.9 倍を示し、磁化応答性の向上により MPI 信号強度も増加することを確認できた。MPI 信号取得時に励磁した交流磁場強度における磁化と 3 次高調波信号の関係を Fig. 6 に示す。鉄量あたりの磁化量に対して MPI 信号も線形に増大していることが確認された。一方で、位相は各サンプルに有意な差は見られなかったことから磁気分離によって弁別される粒子の粒径にも有意な差は見られないと考えられる。

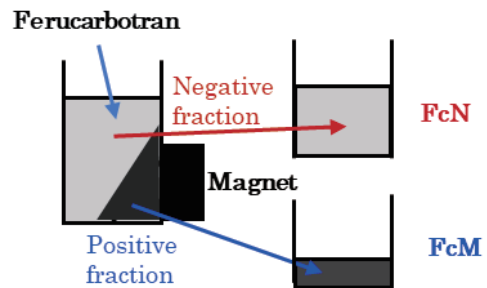


Fig. 2 Schematic figure of the preparation of magnetically fractionated MNPs from Ferucarbotran.

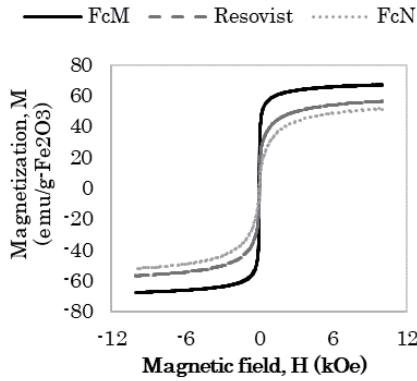


Fig. 3 Static M-H curves of Resovist® and magnetically fractionated MNPs from Ferucarbotran (FcM, FcN).

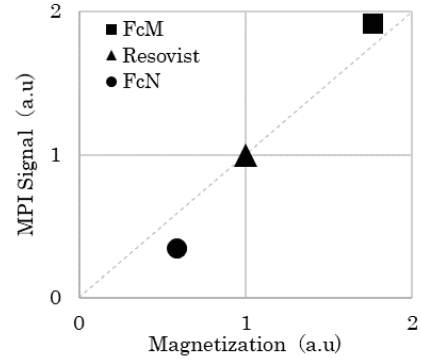


Fig. 6 Relationship between MPI signal and magnetization.

3. 生体内磁気ナノ粒子の MPI 信号

生体内に存在する磁気ナノ粒子を対象とした磁気ナノ粒子イメージングを行うため、系内の塩濃度が磁気ナノ粒子の磁化応答に及ぼす影響を評価することとした。

生体内の塩濃度状態を模擬するため、ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水(Merck 製 PBS Buffer 溶液)を用いて FcM を希釈したサンプルを作成し MPI 信号を取得した。生体内の塩濃度と同程度を模擬した条件として 10 倍濃度の PBS Buffer 溶液と FcM との体積比を 1:9 で混合したサンプル (BUFFER 1) と、塩濃度が過剰な場合を模擬した条件として体積比を 5:5 で混合したサンプル (BUFFER 5) を作成した。作成した磁気ナノ粒子サンプルの外観写真を Fig. 7 に示す。FcM は磁気ナノ粒子が分散しており沈殿等は見られないが、PBS Buffer 容器にて希釈したサンプルは磁気ナノ粒子の凝集が生じ沈殿している様子が確認できた。MPI 信号と信号位相を計測して信号強度と緩和時間の評価を行う。開発した MPI 装置が算出する信号の位相差は、計測機器の時定数による影響を含むため緩和時間の絶対値を評価することは困難であるが、磁気ナノ粒子サンプルごとの位相差を評価することで緩和時間の変動を評価することができる。

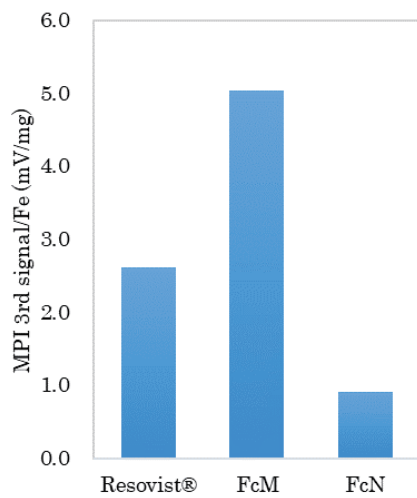


Fig. 4 Measurement results of the 3rd harmonic signal intensity.

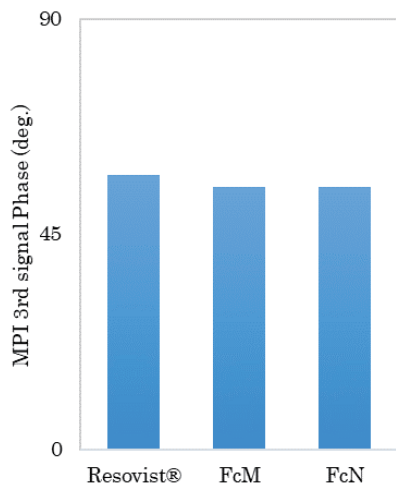


Fig. 5 Measurement result of the phase of the 3rd harmonic signal.

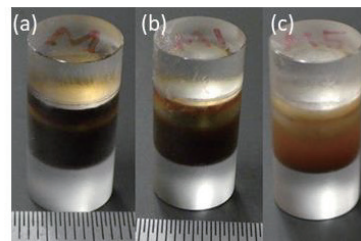


Fig. 7 Magnetic particle sample. (a) Ferucarbotran Magnetic (FcM) is a magnetic nanoparticle obtained by magnetically separating Ferucarbotran and extracting components with high magnetic field response collected in a permanent magnet. (b) Sample (BUFFER 1) in which the volume ratio of FcM to 10 times the concentration of PBS Buffer solution was mixed at 1: 9 under conditions simulating the same level of salt concentration biological systems. (c) Sample (BUFFER 5) was mixed at a volume ratio of 5: 5 under simulated conditions for salt concentration excessive.

4. 信号強度と緩和時間の評価

各サンプルの高次高調波信号計測結果を Fig. 8, 3 次高調波の位相算出結果を Fig. 9 に示す。PBS Buffer の添加により生じた磁気ナノ粒子の凝集状態変化とともに MPI 信号強度が減衰していることが Fig.8 より確認できる。一方で、FcM の位相を基準として、BUFFER 1 は早くなり、BUFFER 5 は遅延していることが Fig. 9 より確認できる。ロックインアンプを用いた位相計測は、磁気粒子からの信号応答以外にも計測系の信号伝搬特性の影響も重畳する。そのため磁気粒子の緩和時間に起因する位相変化のみを絶対値として評価することは難しい⁹⁾。一方で、計測系の構成を変えることなく異なる磁気粒子の信号を比較する場合、位相の変化は磁気粒子の緩和時間に起因する位相差のみを抽出することができるため位相差と検出周波数から相対評価することが可能となる。FcM を基準とした場合、FcM と測定サンプルの緩和時間差 $\Delta \tau_e$ は以下の式を用いて算出できる。

$$\Delta \tau_e = (\theta_{\text{sample}} - \theta_{\text{FcM}}) / (360 f i) \quad (4)$$

θ_{sample} , θ_{FcM} は各サンプルの信号位相、 f 、 i は高調波の周波数を示す。ここで測定される位相差は 360° の周期条件にて表現されるため 1 周期以上の緩和時間差が生じた場合は適切に評価することができない。MPI で一般的に用いられる周波数 25kHz の 3 次高調波を用いる場合、1 周期は $13 \mu\text{sec}$ と磁気粒子緩和時間と漸近しており評価が難しい。一方で本装置は約 500Hz の励磁場を用いることから、3 次高調波の 1 周期が $600 \mu\text{sec}$ 以上と磁気粒子の緩和時間より十分長い。そのため位相差による緩和時間差の評価が可能となる。

緩和時間差 $\Delta \tau_e$ と磁気粒子径の関係性を評価するため、各サンプルの d_H を DLS (Dynamic Light Scattering) により測定した。BUFFER 5 は磁気粒子の沈降が生じたため d_H を測定できなかった。FcM は Fig.3 に示す M-H curves から d_c の粒径分布を算出し、ピークとなる粒径を表記する⁹⁾。BUFFER 1 と FcM の位相差から得られた緩和時間差から BUFFER 1 の d_c 算出した。各サンプルの d_c , d_H , $\Delta \tau_e$ を Table 1 に示す。サンプルの目視結果から磁気ナノ粒子の凝集が生じていることは明らかであり、 d_H が大きくなることと合致する。BUFFER 1 と BUFFER 5 において緩和時間差の符号が反転している。すなわち FcM よりも緩和時間が BUFFER 1 は早く、BUFFER 5 は緩和時間が遅い。BUFFER 1 の磁気粒子は d_c が小さくなり τ_e が短くなることによってネール緩和が支配的となり τ_e も短くなったと考えられる。一方で BUFFER 5 は磁気粒子の沈降が激しくなったことから d_H が大きくなっていることは明らかであることと、緩和時間が長くなることから d_c は BUFFER 1 よりも大きくなりブラウン緩和が支配的になることが想定される。溶媒のイオン状態によって d_c , d_H の状態が変化し緩和時間の変化が生じて MPI 信号強度と位相に変化が生じることを確認した。

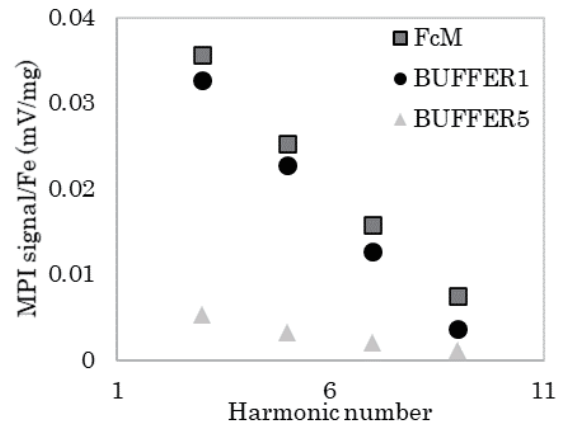


Fig. 8 Strength of harmonic MPI signal intensity under an ac excitation field with frequency $f = 461 \text{ Hz}$.

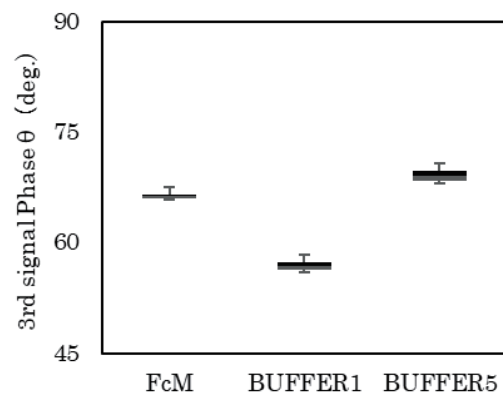


Fig. 9 Relationship between aggregation state of MNPs and phase of 3rd harmonic signal under an ac excitation field with frequency $f = 461 \text{ Hz}$.

Table 1 Result of particle size estimated from relaxation time difference estimated from phase difference.

Sample	d_H (nm)	d_c (nm)	$\Delta \tau_e$ (μsec)
FcM	54	24	-
BUFFER 1	95	21	-19.0
BUFFER 5	N.A.	-	+5.43

5. 緩和時間差を用いたイメージング手法の検討

FcM と BUFFER 1 の MPI 信号検出時のリサージュ曲線と 2 つのサンプルをイメージングした結果を Fig.10 に示す。磁気ナノ粒子を生体等に投与した場合、塩濃度の変化に伴う粒子径変化によって緩和時間の差が生じることが確認できた。また生体イメージングにおいては、目標となる病態に磁気ナノ粒子を結合もしくは集積させるため、生体組織内に浮遊している磁気ナノ粒子とは緩和時間の変化が生じることが想定される。磁気ナノ粒子の緩和時間変化を位相差として検出することによって目的とする磁気ナノ粒子を

弁別する手法について検証した. FcMと BUFFER1の MPI 信号検出時のリサージュ曲線を Fig.10 に示す. MPI 信号検出時のリサージュ曲線から抽出目標となる磁気ナノ粒子の信号のみが実部信号に残るよう回転角を算出する. イメージングに用いる測定データにリサージュ曲線から求めた回転角を用いて rotation を行い, 実部信号のみを用いて画像再構成を行うことで磁気ナノ粒子の弁別を実施した. -66° , -58° の回転角で rotation を行い画像再構成した結果を Fig. 11, Fig. 12 に示す. 目標とする磁気ナノ粒子の MPI 信号の位相差, すなわち緩和時間を取得することによって状態の異なる磁気ナノ粒子を弁別してイメージングすることができることが Fig. 11, Fig. 12 より確認できる.

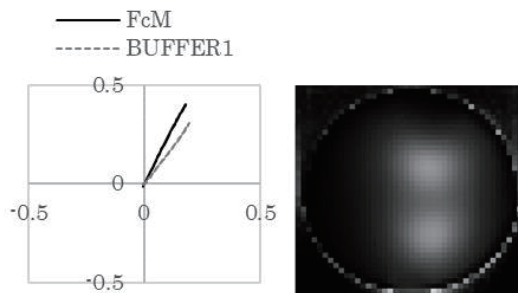


Fig. 10 Lissajous curves and imaging results using absolute value of 3rd harmonic signal.

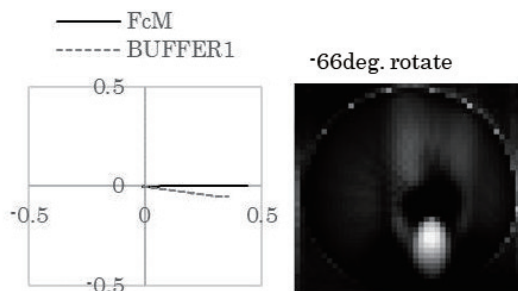


Fig. 11 Lissajous curves and imaging results using real part signal after rotation processing (rotation angle = -66°).

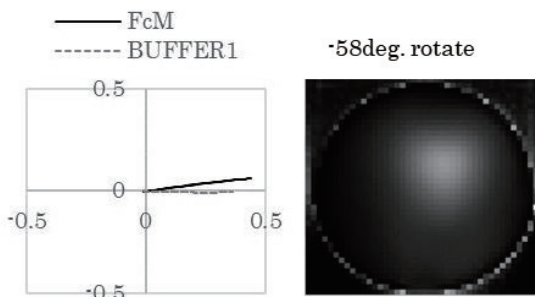


Fig. 12 Lissajous curves and imaging results using real part signal after rotation processing (rotation angle = -58°).

6. 結論

本研究では, 生体内の病態に結合する磁気ナノ粒子のイメージングを目指し, 生体内の磁気ナノ粒子状態変化に伴う交流磁化応答の挙動について評価した. 粒子状態変化を交流磁化の信号強度だけでなく緩和時間変化を位相差として評価を行った. 今回用いた磁気ナノ粒子は, PBS Buffer の添加によりイオン濃度が変化した場合, 流体力学的粒径およびコア粒径の変化を生じることにより磁気信号と信号位相差が変化することを確認した. さらにその条件下で, 位相差を信号処理に用いることにより磁気ナノ粒子の粒子状態毎にイメージング結果を画像再構成し弁別する手法に関して検討した. 磁気ナノ粒子ごとの測定結果から PBS Buffer の添加前後の信号の位相差を算出し, 取得したイメージング用の 2 次元データに位相差を用いた rotation 処理を行うことによりサンプル毎にイメージング結果を弁別表示できることを確認できた.

生体イメージングを目的とした場合, 目標とした病態に結合するプローブを有する磁気ナノ粒子の病態への結合状態によって緩和時間に変化が生じると考えられ, 位相差による信号処理を用いることで, 検出すべき病態結合している磁気ナノ粒子のみの信号を抽出可能であると考えられる.

謝辞 本研究は国立研究開発法人日本医療研究開発機構医療分野研究成果展開事業 先端計測分析技術・機器開発プログラム (課題番号 21hm0102073) の支援を受けて行われた. 付記して謝意を表す.

References

- 1) Gleich.B, Weizenecker J: *Nature*, **435**, 1214-1217(2005).
- 2) K.Jinno, T.Kiwa et.al: *AIP Advances*, **9**, 125317 (2019).
- 3) T.Yoshida, S.Bai, A.Hirokawa, K.Tanabe, K.Enpuku: *J. Magn. Magn. Mat.*, **380**, 105(2015).
- 4) R. M. Ferguson, K. R. Minard, and K. M. Krishnan,R: *J. Magn. Magn. Mater*, **321**, 10 (2009).
- 5) K.Murase, S.Hiratsuka, R.Song, and Y.Takeuchi: *Jpn. J. Appl. Phys.*, **53**, 067001(2014).
- 6) W.F. Brown, Jr.: *Phys. Rev.*, **130**, 1677 (1963).
- 7) T.Yoshida, T.Nakamura, O.Higashi, and K.Enpuku: *Jpn. J. Appl. Phys.*, **57**, 080302(2018).
- 8) Kazunori Umeo: *Rev. High Press. Sci. Technol.*, **25**, 4, 283-291 (2015).

2021年11月4日受理, 2022年5月13日採録