

## 2025 年度 医療技術研究開発助成 成果報告書 [萌芽・探索型]

所 属 北陸先端科学技術大学院大学

氏 名 高橋 麻里

### [研究テーマ]

磁気粒子分光法を用いた高感度・同時多項目イムノアッセイシステムの構築

### [分野]

- ① 日常生活における健康無関心層の疾病予防、重症化予防に資する医療機器
- ② 予後改善につながる診断の一層の早期化に資する医療機器
- ③ 臨床的なアウトカムの最大化に資する個別化医療に向けた診断と治療が一体化した医療機器
- ④ 高齢者等の身体機能の補完・向上に関する医療機器
- ⑤ 医療従事者の業務の効率化・負担軽減に資する医療機器
- ⑥ 次世代の医療機器開発・生産に資する要素技術・部品・部材の開発、製造基盤

### 1. 背景と目的

磁気粒子分光法(MPS)は、簡便に高感度なバイオセンシングが可能のため、近年イムノアッセイへの応用が期待されている(*ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2021**, 13, 7966)。イムノアッセイは、サイトカイン、タンパク質、アレルゲンなどの検出を行う技術で、医療診断を含む幅広い分野で普及している。様々なアッセイがあるが、簡便性、迅速性、コスト、感度、精度といった面で各々一長一短がある。酵素結合免疫測定法(ELISA)、電気化学発光イムノアッセイ(ECL)、フローサイトメトリーを用いたイムノアッセイは感度が高く同時多項目検出が可能のため、良く利用されているが、プロトコルが煩雑である上、判定結果が出るまで長時間かかるので、簡便性・迅速性に難がある。Singulex 社が開発した1分子カウント(SMC)技術は超高感度であるが、同時多項目検出はできず、プロトコルも煩雑である。一方、ラテラルフローイムノアッセイ(LFIA)は ELISA、ECL、SMC に比べ感度が落ちるが、簡便性・迅速性が高く安価であるため汎用されている。そこで本研究は、LFIA の迅速性・簡便性と ELISA の高感度・同時多項目検出能を併せ持つ、次世代の MPS イムノアッセイシステムを創製することを最終目的とした。同時多項目検出を行うためには、複数種類の磁性体ナノ粒子をプローブとして用いなければならない。MPS のプローブとして、超常磁性体微粒子が複合化したマルチコア粒子(Multi core particles: MCPs)は高い高調波信号強度を示すことが知られている。研究の第一段階として、高い信号強度を示す MCPs を複数種類用意する必要がある。しかし、MCP の構造を規定するパラメータには 1 次粒子径、2 次粒子径、1 次粒子間距離など複数あり、これら構造パラメータの幅広い範囲で MPS の信号強度との相関を包括的に調べた研究は報告されていない。そこで本研究では、同時多項目イムノアッセイに向けた MCPs の設計指針を得るために、1 次粒子径と 2 次粒子径を変更しながら合成した MCPs の構造と MPSs の高調波信号強度との相関関係を調べた。

## 2. 研究方法

既報のソルボサーマル法(*J. Mol. Liq.*, 2019, 281, 315)を改良して合成時の試薬量を調整することで、14種類の1次粒子径と2次粒子径が異なる酸化鉄MCPsを合成した。合成したMCPsの1次粒子径はX線結晶回折( $D_{XRD}$ )により、2次粒子径は透過型電子顕微鏡( $D_{TEM}$ )により評価した。MCPsのFe濃度は吸光度を利用した検量線と熱重量分析の結果から求めた。比較対象として、この分野でのゴールドスタンダードである Resovist<sup>®</sup>を使用した。MPS測定はMCPsとResovist<sup>®</sup>の鉄濃度が $1.6 \text{ mg}_{\text{Fe}}/\text{mL}$ となるように超純水で希釈調整し、交流磁場強度20 mT、周波数20 kHzの条件で行った。得られたMCPsの第3次高調波信号強度をResovist<sup>®</sup>の値で規格化( $I_3$ )し、構造との相関を調べた。また、同じ濃度で調整したMCPsに対して磁気緩和測定を行った。磁気緩和測定では20 mTの直流磁場を印加し、得られた磁化のステップ応答を解析することで、各MCPsの磁気緩和時間分布を調べた。

## 3. 研究成果及び考察

合成した14種類のMCPsの $D_{XRD}$ は9.5~17.4 nm、 $D_{TEM}$ は49.2~169.3nmの範囲であった。MPSの結果から得られた $I_3$ を $D_{XRD}$ と $D_{TEM}$ の相図上へバブルプロットし、図1aに示した。赤色はResovist<sup>®</sup>より信号強度が高く、青色は低いことを示し、プロットの大きさは強度を示す。この図からは、 $I_3$ が $D_{XRD}$ 及び $D_{TEM}$ とどのような相関があるのか読み取ることができない。そこで、次に単一のMCPを構成する1次粒子数( $N$ )と相関がないかを調べたところ、図1bの両対数プロットが示す通り、 $I_3$ は $N^{-1/3}$ に比例し、スケーリング則が成立することが分かった。図1cは $I_3$ を縦軸に $N^{-1/3}$ を横軸にプロットした図である。 $N > \sim 300$ 以上では、 $N$ の減少に伴い $I_3$ の線形的な増加を確認し、スケーリング則が成り立つことを確認したが、 $N < \sim 100$ では $I_3$ の値が線形関係から逸脱し、厳密にはスケーリング則から外れ始めていることが分かった。ここで、 $I_3$ と $N^{-1/3}$ の線形関係が成り立つ領域( $N > \sim 300$ )のMCPsをポリコアとよび、線形関係から逸脱する領域( $N < \sim 100$ )のMCPsをオリゴコアとよぶことにする。 $I_3$ と $N$ の間に相関関係があることが明らかとなったが、その物理的な意味を調べるために、MPSにおいて重要な磁気緩和について調べた。

磁気緩和測定では直流磁場を印加するため、数種類のMCPs試料において測定中に凝集が確認された。測定に成功したMCPsの典型的な緩和分布を図1dに示した。直流磁場を印加した際のMCPsの磁気緩和には、図1eに示すような3つの緩和機構が存在すると考えられる。1つ目は、MCPsを構成する1次粒子の磁気モーメントがランダムな状態から配向する過程で、ここでは速いネール緩和( $\tau_{\text{fast}}$ )とよぶ。2つ目は、1次粒子の磁気モーメントが揃い始めることで、1個のMCPs内で磁気モーメントが生じ、これが(1次粒子の磁気モーメントが協同で)動くことで生じる緩和である。これを $\tau_{\text{fast}}$ と区別するために、遅いネール緩和( $\tau_{\text{mid}}$ )とよぶ。3つ目は、MCPsの回転を伴うブラウン緩和( $\tau_{\text{slow}}$ )である。実際に、これらの緩和時間を1次粒子と2次粒子の体積( $V_{XRD}$ および $V_{TEM}$ )から計算し、緩和時間の分布と比較することで、それぞれの分布の同定に成功した。MPS測定では20 kHzの交流磁場を印加しており、その周期や交流磁化曲線が保磁力を有することを考えると、MPS測定で支配的な緩和は $\tau_{\text{mid}}$ となる。そこで各MCPsの $\tau_{\text{mid}}$ に着目することにした。測定に成功したMCPsにおいて $\tau_{\text{mid}}$ と $V_{TEM}$ の関係を調べたところ指数関数の関係があり、これを近似式で表した。この近似式を用いて、全14種類のMCPsの $\tau_{\text{mid}}$ を計算した( $\tau_{\text{mid,cal}}$ )。MCPsでは1次粒子同士が磁気双極子相互作用を及ぼしながら緩和する。これは多

体問題であるため古典的な理論ではこれ以上の解釈は難しい。従って、本研究では MCPs の緩和の議論を更に発展させるために平均場理論の適用を考えた。Landi は高濃度で互いに磁気双極子相互作用を及ぼす超常磁性体酸化鉄ナノ粒子のネール緩和時間を平均場理論を用いて解析的に求めた (*J. Appl. Phys.*, **2013**, 113, 163908; *Phys. Rev. B*, **2014**, 89, 014403)。本研究では Landi の結果を参考に、MCPs の  $\tau_{mid\_cal}$  を記述することで、最終的に MCPs を構成する 1 次粒子の磁気モーメント ( $\mu$ ) を求めた。そして、興味深いことに、 $N > \sim 100$  までは、 $\mu$  も  $N^{-1/3}$  に比例するスケーリング則を示した (図 1f)。単一粒子の場合は、磁気モーメントは粒径依存性があるのに対し、オリゴコア領域を経てポリコア領域では  $\mu$  は  $N$  の増加に伴い  $N^{-1/3}$  に比例して減少する。スケーリング則についてまとめると、ポリコア領域では  $I_3 \propto \mu \propto N^{-1/3}$  という関係があることが明らかとなった。オリゴコア領域では  $D_{XRD}$  と  $N$  に依存して  $\mu$  が変化し、 $N$  が小さくなるにつれ最終的に単一粒子の磁気モーメントへ収束すると考えられる。

これらの結果を踏まえて、MPS で強い信号強度を得るためには、ポリコアからオリゴコア領域にかけた遷移領域もしくはオリゴコア領域内の MCPs をプローブとして用いればいいことが分かった。

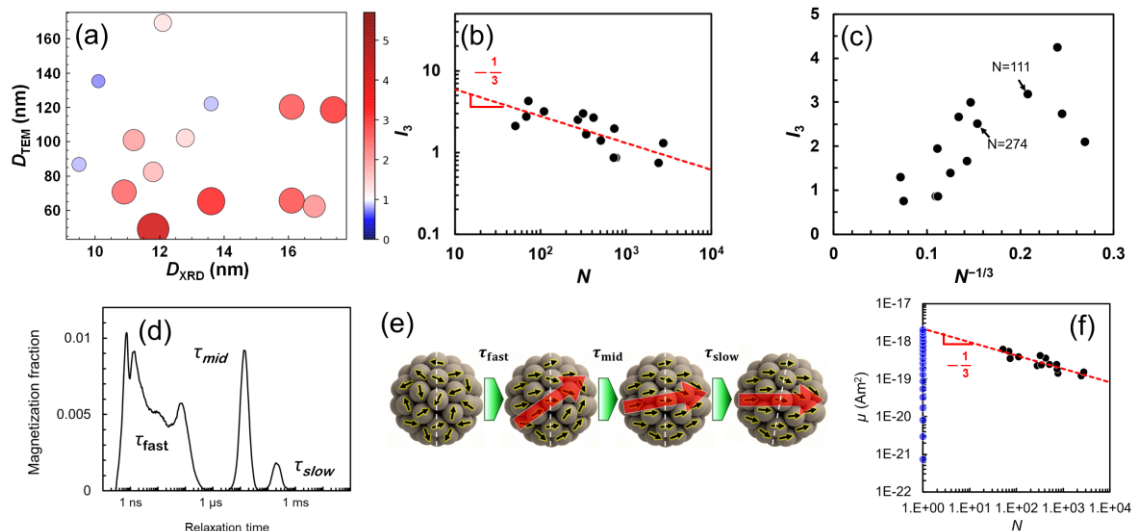


図 1 (a)  $I_3$  のバブルプロット。(b)  $I_3$  と  $N$  の両対数プロット。(c)  $I_3$  と  $N^{-1/3}$  の関係。(d) 典型的な磁気緩和測定結果。(e) 直流磁場化での磁気緩和の模式図。(f)  $\mu$  と  $N$  の両対数プロット。青丸は経験式から求めた孤立粒子の磁気モーメントで下から 2 nm 刻みで 20 nm までを掲載 (*Sci. Rep.*, **2016**, 6, 22467; *Nanoscale*, **2011**, 3, 225)。

#### 4. まとめ

本研究では MPS を用いた高感度・同時多項目イムノアッセイシステムの開発を目標に、複数種類の MCPs プローブを選定するために必要な設計指針を、1 次粒子径  $D_{XRD}$  と 2 次粒子径  $D_{TEM}$  を変えた MCPs を評価することで得た。その結果、MCPs を構成する 1 次粒子数  $N$  が 100 より大きい領域 (ポリコア領域) では、 $I_3 \propto \mu \propto N^{-1/3}$  のスケーリング則が確認された。MPS の検出感度を上げるためには、 $N$  が 100 以下に存在するオリゴコア領域もしくはオリゴコアからポリコアへの遷移領域の MCPs が必要となる。今後は、これらの知見を活かして 3 種類の磁気特性が異なるプローブを選定しイムノアッセイの評価へと繋げていく。

5. 倫理面への配慮

該当なし

6. 研究業績

- I. Mari Takahashi, Sakuya Shimizu, Haruki Goto, Satoshi Ota, Takashi Yoshida, Shinya Maenosono, “Comprehensive understanding of the correlation between structure and harmonic properties of multicore superparamagnetic particles” *Nanoscale*, **2026**, Advance Article, DOI: 10.1039/D5NR04869A
- II. 特許出願  
発明の名称: 超常磁性粒子を製造する方法および超常磁性粒子の性質を予測する方法  
発明者: 高橋 麻里, 清水 咲弥, 前之園 信也  
出願日: 令和7年9月12日  
出願番号: 特願 2025-152839
- III. 高橋 麻里, 清水 咲弥, 後藤 春樹, 大多 哲史, 吉田 敬, 前之園 信也, “磁気粒子イメージングに向けたマルチコア超常磁性粒子の構造と高調波特性との相関に関する包括的理解”, 日本化学会第 106 春季年会, コロイド・界面化学, 2026 年 3 月 17 日～20 日(日本大学理工学部, 船橋キャンパス, 千葉)
- IV. 高橋 麻里, 清水 咲弥, 吉田 敬, 前之園 信也, “高調波磁化特性に優れた医療応用超常磁性ナノクラスターの創製”, 第 49 回日本磁気学会学術講演会, 磁気粒子イメージングおよび磁性ナノ粒子を用いた医療イメージングの最新動向, 2025 年 9 月 16～19 日(愛媛大学, 城北キャンパス, 愛媛)

## 助成期間終了後の開発構想

これまでに MPS プローブとしての MCPs の有用性と強い高調波信号を示すための構造の設計指針が得られた。今後は、実際に 3 種類の磁気特性が異なる粒子を調整する。具体的には高い高調波信号を示す異なるモルフォロジーの MCPs や異種材料で作製した MCPs をプローブとして用いる。これらに対し抗体修飾を行い、MPS で抗原を検出できるか調べる。3 種類の抗原モデルタンパク質には、比較的安価でバイオ分野で一般的なタンパク質であるウシ血清アルブミン、アビジン、緑色蛍光タンパク質を選択する。モデルタンパク質のポリクローナル抗体 (pAb) やビオチンを選定した 3 種類の粒子表面に修飾する。更にミクロンサイズのポリマービーズにも pAb をそれぞれ修飾する。粒子はサンドイッチ法で抗原を介してポリマービーズと結合し、ブラウン緩和が阻害されるので、これを MPS で検出する。また、これまで MPS 装置は九州大学の装置をお借りしていたが、今後は本学にも導入し研究を加速させる。九州大学では引き続き装置の改良を行い、三重コイル駆動型 MPS 装置 (静磁場用、低周波用、高周波用の 3 つの励起コイルを有する) の開発を行う。三重コイル駆動型 MPS により、3 種類のプローブの磁気特性の差をより鋭敏に検出することが可能となり、同時多項目イムノアッセイシステムの構築を目指す。