

THE REPORT OF STUDY RESULT BY SUBSIDY
助成研究成果報告書

2016
平成28年度



Magnetic Health Science Foundation
公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団

助成研究成果 報告書

平成28年度

(研究期間：平成29年4月1日～平成30年3月31日)



目 次

巻頭言	1
	理事長 小谷 誠
I. 基礎研究	
I-1. 磁気駆動による血管内皮細胞力学応答機構の解明	3
	北海道大学大学院 工学研究院 大橋 俊朗
I-2. 微量生体分子計測のための機能性フッ素MRI造影剤の開発	5
	京都大学大学院 工学研究科 田中 一生
I-3. 超低磁場MRI計測のための光ポンピング原子磁気センサの時間安定性向上	8
	京都大学大学院 工学研究科 笈田 武範
I-4. 磁気アルキメデス効果を利用し培養神経細胞で大脳皮質層構造を織る	11
	東京工業大学 工学院 榛葉 健太
II. 応用研究	
II-1. 癌撲滅を目的とする電磁界共振モード加温装置における磁性体ナノ粒子併用時の 加温特性	13
	八戸工業高等専門学校 井関 祐也
II-2. マイクロ磁性ワイヤを用いたウェアラブル脳磁場計測デバイス開発	17
	名古屋大学大学院 工学研究科 内山 剛
II-3. 磁気トレーサー粒子を用いたがん転移診断における複数トレーサー併用法の原理実証	19
	東京大学大学院 農学生命科学研究科 佐伯 亘平
III. 指定テーマ研究	
III-1. 脳梗塞モデルにおける経頭蓋磁気刺激を使用した脳内回路の解明	22
	大阪大学大学院 医学系研究科 眞野 智生
III-2. 高感度体表面心磁図を用いた非侵襲的な心室性期外収縮の起源同定	25
	国立研究開発法人 国立循環器病研究センター 心臓血管内科・不整脈科 井上 優子
III-3. 過冷却状態において変動磁場印加が生体・臓器にもたらす作用メカニズムの解明	28
	愛知医科大学 医学部解剖学講座 内藤 宗和

巻 頭 言

公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団

理事長 小 谷 誠

今から45年程前に私は米国のマサチューセッツ工科大学 (MIT)に留学して、人間の身体から発生する微弱な磁気を計測して、病気の診断に役立てようとする研究を2年間行い、帰国後も生体磁気計測の研究を続けてきた。

人間の心臓や脳からは微弱な磁気が発生していることは以前から推定されていたが、この微弱な磁気を計測できる磁束計がなかった。ところが、1970年代に超伝導技術を応用した超高感度のSQUID磁束計が米国立研究とMITの共同研究で開発された。

MITではこのSQUID磁束計を用いて、心臓からの磁気の計測に成功し、更に心臓磁気の千分の1程度の脳からの磁気計測に挑戦している頃、私はMITに留学した。

私がMITに留学した頃、MITの研究所では大変なことが起っていた。それは、米国の著名な医師が、「MITのグループは心臓や脳の神経活動に伴って発生する磁気を計測していると言っているが、それは間違いである。彼らの計測している磁気は血液の中の鉄分が地磁気を乱している磁気を計測しているのにすぎない」と批判された。その結果、MITの生体磁気計測の研究への米国の公的研究費は大幅に削減されていた。

私は、この医師の意見は理にかなっていると思って、十数名の血液を採取してSQUID磁束で計測したが、血液は全く磁性がないことがわかった。

その理由は、鉄自体は常に磁性を持っているが、鉄が酸素と結合する仕方によって強い磁性を持ったり、全く磁性を持たなくなる。血液中の鉄は全く磁性を持たないように酸素を結合しているのである。

人間の祖先がこの世に登場し、立って歩き、言葉を交わすようになったのは、今から200万年程前と云われている。この間に、地磁気の大きさと方向が10回ほど変わっている。このように地磁気の大きさや方向が大きく変わる環境の中で人間は進化してきたので、地磁気の影響はあまり受けないように人体はできている。

ところが、人間が電気を使うようになったのは、僅か200年ほど前からである。そのため、人体は電気に対しては防衛能力が進化しておらず、大変敏感に反応する。例えば、心臓の表面に数ボルトの電圧を加えると心臓は正常に働かなくなる。ところが、外部から磁気を加えて心臓を止めることは大変困難である。

このような人体の特徴から電気治療器は即効性があるが、取り扱いを間違えると大変危険である。それに対して、磁気治療器は危険ではないが、時間をかけてじっくり治療する必要性があると思われる。

本財団は生体磁気現象を通して国民の医療と健康に貢献することを目的として、学術研究を助成し、講演会を開催するなど、社会に向けた活動をしている。しかし、磁気的作用は、基礎的現象から始まり、体内の複雑な相互作用への関与を通して生じるものであり、短期間の実験試行ではなく、長期間腰を落ち着けて追求して初めて明らかにされることが多い。

いっぽう昨今の学界においては、短期間に成果を挙げ、学位や業績に結びつけようとする雰囲気強く、原因結果の関係が明白な現象や、客観的に説明できる現象に関心が集中するよう見受けられる。これに対して本財団は、性急に成果を求めようとするよりも、長期間にわたる努力を覚悟して特定の問題に取り組む学究の徒を支援したいと考えている。

この報告書は、平成28年度に助成した研究の報告書を、原文のままにまとめたものである。基礎面から実際の応用にいたる広い範囲の研究が含まれているが、いずれもこの領域に新しい道を拓くことを目指している。この報告書が契機になって、志を同じくする研究者の間に連絡が始まり、磁気健康科学の発展に貢献することを期待している。

磁気駆動による血管内皮細胞力学応答機構の解明

大橋 俊朗

北海道大学大学院工学研究院, 〒060-8628 北海道札幌市北区北 13 条西 8 丁目

Abstract

It is known that cells can modulate their morphology and functions according to mechanical environment. This is due to the fact that cells can sense mechanical forces and convert them into biochemical signals, which is called mechanotransduction. Since cell mechanotransduction is closely related to not only tissue physiology but also tissue pathology it is important to understand the underlying mechanism. This study aims to try to more understand mechanosensing mechanisms in sheared endothelial cells by using magnetic nanobeads.

Keywords: Magnetic nanobeads, Endothelial cells, Remodeling, Mechanotransduction, Fluid flow

1. はじめに

血管内皮細胞は、血流により細胞表面に負荷される流れせん断応力と脈動による繰り返し引張り負荷を受ける。これらの力学的刺激に応答し、血管内皮細胞は細胞骨格を再構築して血流方向に細長く配向する¹⁾。内皮細胞の力学刺激応答機構として、細胞膜上に SA チャネルやインテグリンなど力学的刺激により影響を受ける部位がいくつか発見されているが、どのような過程を経て細胞が応答しているのかは未だ完全に解明されていない。

そこで本研究では、血管内皮細胞のリモデリング機構の解明のため、磁気ビーズとネオジウム磁石を用いて、磁場により血管内皮細胞の内部へ直接力学的負荷を与えることができる実験系を確立し、内皮細胞の力学応答機構の解明を検討することを目的とする。

2. 実験方法

本研究では、細胞に取り込ませた磁気ナノビーズに磁力を負荷するためハルバツハ配列磁石を構築した (図 1)。一辺が 30 mm の立方体で、表

面磁束密度 521 mT のネオジウム磁石 (マグファイブ, 日本) を 10 個用いた。構築したハルバツハ配列の間に掛かる磁場を有限要素解析ソフト ANSYS Mechanical Multiphysics R17.0 (Cybernet, 日本) を用いて解析した。磁束密度は、磁石表面が一番強く 760.52 mT で、磁石から離れるほど弱くなり最小値は 147.65 mT であった。磁場勾配を求めたところ、ディッシュの端から約 4 mm の区間が最も強く平均 53.85 T/m であった。本実験で使用した磁気ナノビーズは、直径が約 25 nm の Fe₃O₄ 粒子の集合体であり、単位質量あたりの

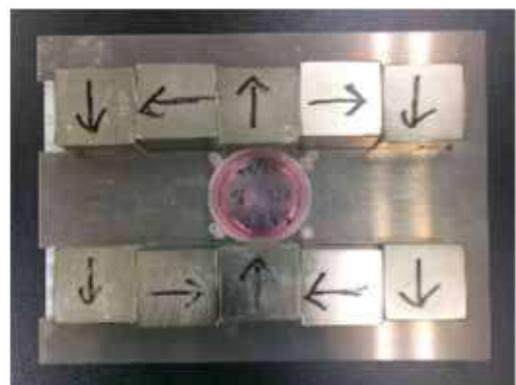


図 1 ハルバツハ配列磁石と細胞培養。

磁気モーメントは $51 \text{ A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}$ である。

ウシ大動脈内皮細胞 (Bovine Aortic Endothelial Cells : BAECs) (Cell Application, Inc. USA) の培養には 10% の FBS を添加した DMEM 培地を用い、 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ の環境下で培養した。BAEC をコンフルエント状態まで培養したディッシュを用意した。磁気ナノビーズを取り込ませるため、磁気ビーズ懸濁液 $50 \mu\text{l}$ を滴下し、インキュベータで 24 時間培養した。細胞の形態変化の計測には Shape Index と配向角を用いた。

3. 結果

磁気ナノビーズを導入した細胞の実験前後の位相差顕微鏡画像を図 2 に示す。画像からは明確な細胞の配向は確認できなかった。磁気ナノビーズは黒い点として、細胞に導入されていることが確認できるが、拡散されず細胞より大きいクラスターを形成しているところも多くみられた。

SI および配向角の変化を計測した。磁気ビーズを導入せず磁場のみを負荷した場合 (コントロール)、Shape Index は 0.60 ± 0.17 から 0.68 ± 0.17 となり少しだけ増加した。配向角は $42.2 \pm 26.7^\circ$ から $42.2 \pm 26.7^\circ$ となり全く変化は見られなかった。磁気ビーズを導入し磁場を負荷した場合、Shape Index は 0.60 ± 0.15 から 0.63 ± 0.15 となりわずかにだけ増加した。配向角は $46.7 \pm 27.6^\circ$ から $46.9 \pm 26.4^\circ$ となりほとんど変化は見られなかった。細胞に磁気ナノビーズを導入しなかった場合と比べても有意な変化は見られなかった。

4. 考察

計算により磁気ナノビーズには平均 2.89 nN が負荷されていた。血管内皮細胞への流れ負荷実験によると、この磁力の大きさは細胞が形態変化を示すには十分な力の大きさであると考えられる。細胞の形態変化が明確に得られなかった原因として磁気ビーズが細胞に十分に導入されなかった可能性が考えられる。実験後トリプシンを加え浮遊させた細胞を観察したところ、磁気ナノビーズが取り込まれていない細胞が多く見つかった。そこで磁気ナノビーズが確実に取り込まれた細胞のみを目視にて選択して再び Shape Index および配向角を求めた。実験前の SI は 0.65 ± 0.18 、配

向角は $51.6 \pm 28.4^\circ$ 、実験後の SI は 0.60 ± 0.16 、配向角は $38.8 \pm 26.5^\circ$ と求められた。実験前後で SI は 0.05 減少し、配向角は 12.8° 減少した。すなわち、磁気ナノビーズが取り込まれた細胞のみを選択した場合、SI および配向角の減少が確認されたことから、細胞へ確実に磁気ビーズを取り込ませることができれば、より有意な結果が得られる可能性があると考えられる。

謝辞

この研究の一部は公益財団法人磁気健康科学研究振興財団平成 28 年度 (第 23 回) 研究助成の補助を受けて実施したものである。本論文の内容は 2018 年 3 月 5 日に札幌で開催された「日本機械学会北海道学生会第 47 回学生員卒業研究発表講演会」で報告したものである。

参考文献

- 1) Levesque, M. J., & Nerem, R. M., The elongation and orientation of cultured endothelial cells in response to shear stress. *Journal of Biomechanical Engineering*, 107(4), 341-347, 1985.

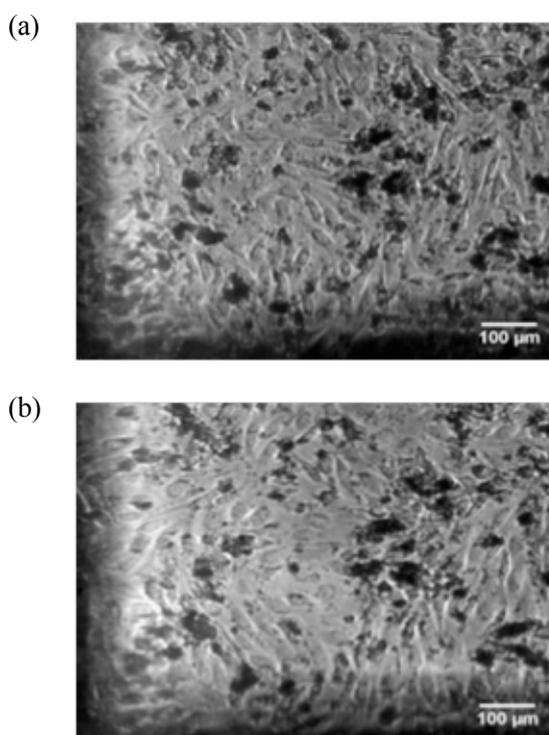


図 2 磁場を負荷した内皮細胞の形態. (a)磁場負荷前および(b)負荷後.

微量生体分子計測のための機能性フッ素 MRI 造影剤の開発

Development of highly-sensitive ^{19}F MR probes for detecting the trace amounts of bio-active molecules

田中一生

Kazuo Tanaka

京都大学大学院工学研究科, 〒615-8510 京都市西京区京都大学桂

Graduate School of Engineering, Kyoto University

Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8510, Japan

Abstract

The development of ^{19}F MR probes for detecting trace amounts of bio-significant molecules is reported. In order to improve sensitivity 1000-times larger than those of conventional MR probes, we sought to develop the target-selective assembly with paramagnetic hybrid molecules. Finally, we successfully established the detection system with ultra-sensitive ^{19}F MR probes which are capable of quantitative detection of drugs and small biomolecules.

Keywords: ^{19}F NMR, probe, amine

1. 目的

生体内の物質輸送や反応を計測することは基礎研究から疾病原因の解明, 臨床診断など, 生物学上様々な有用な情報を与えてくれる. 特に, 生体反応に応答して物性を変える分子はプローブとして標的の反応の分子レベルの情報を与えてくれる. また, 新しい測定原理でシグナルの増減を示す物質は, 今までとは切り口の異なる情報を与えてくれると期待される. したがって, 新規の概念に基づく分子プローブの開発は重要性が高い. これらの概念の元, これまでに様々な種類の生体反応計測のためのプローブが作成されて来っており, 多様な標的のイメージング化が可能となってきた.

^{19}F NMR は, 天然では他の同位体が存在せず, 測定感度は ^1H NMR の約 80% と, 多核 NMR としては高感度という利点を持つ. また細胞等の生体内条件での測定に用いる場合, 周辺にフッ素原子がほとんど存在しないことから, バックグラウンドノイズが低い. さらに, ^{19}F MRI では造影剤上

のフッ素原子核を直接測定するため, 強度の数量化が容易である. これらの長所から, 近年, フッ素原子を含有した化合物をイメージングプローブとして用いて撮像を行う ^{19}F MRI が注目を集めている.

上述の様に機能性フッ素化合物を信号源として用いた ^{19}F NMR による生体情報の計測は, 様々な利点を有しており, 実際に我々はこれまでに様々な生体反応や微小環境変化などを追跡するプローブを開発してきた¹⁻⁸⁾. そこで, 次にシグナル伝達物質や生理活性小分子の検出に応用することで, それらの存在のみならず, 体内での分布状況, 濃度, 産出・代謝速度など, より詳細な情報をリアルタイムに長期間検出することが想定されるが, これらの標的となる分子は濃度が低いことから, 従来の ^{19}F MR プローブにより検出は困難であることが予想される. そこで本研究では, ^{19}F MR プローブの高感度化と, それらを用いた生体内での微量分子の検出, さらに, 微細な環境変化の追跡を行うことを目的とし, 研究を

進めた。

2. 方法

これらをシグナル源として、微量しか存在しない物質の検出を行うための設計原理について述べる。具体的には、標的となる一つの分子にプローブを集合させることで、常磁性緩和促進(PRE)という常磁性物質が集合することで磁性を強め合う効果を利用し、標的分子が低濃度であっても検出可能な方法を考案した。

POSS⁹⁾はシリカの疎水性に起因して、様々な常磁性金属錯体と疎水性相互作用により吸着することができる。この状態をプローブとしてみなす(図1)。プローブは常磁性錯体を有するが、磁性が弱いために ¹⁹F NMR シグナルには影響しない。ここに標的となる分子を添加すると、金属錯体に結合する。その結果、プローブの疎水性が上がり、凝集が起こる。その結果、PRE が起こり、集合体全体の ¹⁹F NMR 信号が低下することが想定され、この減少により標的の存在を検知できると考えられる。

3. 結果

この手法の有効性を示すために、実験を行った。まず、F-POSS¹⁰⁾と Ni が配位したオクタエチルポルフィリン (NiPor) を添加し、プローブを調製した。実験は、F-POSS のみ、及び F-POSS と NiPor の混合物での ¹⁹F NMR 測定を行い、溶液中に添加したトリフルオロメタンスルホン酸ナトリウム (CF₃SO₃Na) の積分値を基準として比較を行った。F-POSS と NiPor の混合物に対し、Ni 部位に配位することが知られている分子として、Ethylenediamine (EDA) を添加すると、¹⁹F の信号強度が大きく減少した。また、アルキル鎖長を 2 から 6 と増加させ、¹⁹F の信号強度の変化を観測した(図2)。その結果、EDA を添加すると 8% までピーク強度の減少がみられたのに対し、HDA を添加すると、89% までのピーク減少を示した。

さらに、この方法に基づいて、生理活性を有するアミン類の検出を行った(図3)。これまでと同様に POSS の複合体にアミン類を添加し、¹⁹F NMR スペクトルを測定し、強度比を比較した。特に、これらのアミン類が血中で効果を示す 10 μM で

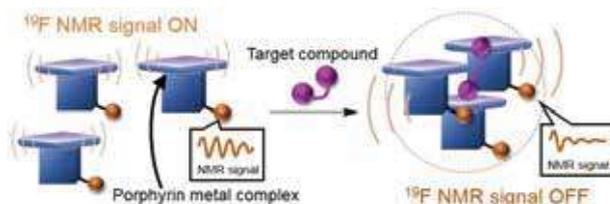


図1. 検出方法の概念図。

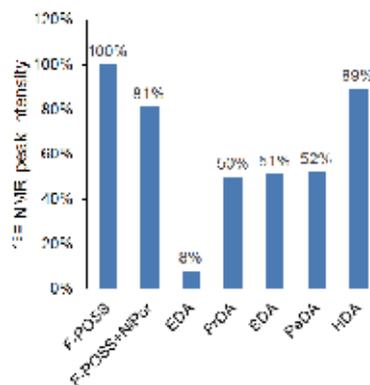


図2. 様々なジアミン類の検出。

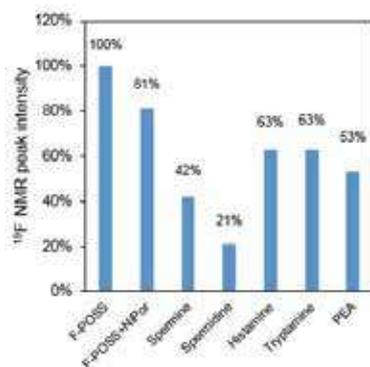


図3. 様々な生理活性アミン類の検出。

実験を行った。その結果、図に示すようにアミン添加でシグナル強度の有意な減少が確認された。また、流体力学半径の増加から、凝集形成が示された。以上の結果は、想定したスキームにより微量の生理活性物質を血中の有効濃度で検出できたことを示している。

4. 考察

合成した水溶性フッ素化 POSS に錯体を吸着させ、種々の生理活性アミン類を添加したところ、期待通りに凝集体を形成しフッ素 NMR 信号の減少が見られた。最終的に一般的な既存のフッ素 NMR プローブより 1000 倍程度感度を向上することに成功し、幻覚作用を持つ分子を血中での活性

濃度でも検出することができた。また、本研究テーマを進めるうちに、温度変化にもシグナル強度の変化が見られた。これは、ガンの温熱療法時における発熱効率の調節や、さらには MRI の装置内部での副反応としての発熱の検知などに応用できることが考えられる。現在、より詳細なデータを取得しているが、これらは本研究目標が達成できたことを意味しており、さらなる高機能性プローブ開発につながる材料を得ることができたといえる。以上のことから、十二分に本研究助成より成果を出せたといえる。

謝辞

この研究は公益財団法人磁気健康科学研究振興財団の助成により行われた。

参考文献

- 1) Tanaka, K.; Chujo, Y. Chemicals-Inspired Biomaterials; Developing Biomaterials Inspired by Material Science Based on POSS. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **2013**, *86*, 1231–1239.
- 2) Tanaka, K.; Kitamura, N.; Naka, K.; Chujo, Y. Multi-Modal ^{19}F NMR Probe Using Perfluorinated Cubic Silsesquioxane-Coated Silica Nanoparticles for Monitoring Enzymatic Activity. *Chem. Commun.* **2008**, 6176–6178.
- 3) Tanaka, K.; Inafuku, K.; Chujo, Y. Ratiometric Multimodal Chemosensors Based on Cubic Silsesquioxanes for Monitoring Solvent Polarity. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 10029–10033.
- 4) Improving Proton Relaxivity of Dendritic MRI Contrast Agents by Rigid Silsesquioxane Core
Tanaka, K.; Kitamura, N.; Naka, K.; Morita, M.; Inubushi, T.; Chujo, M.; Nagao, M.; Chujo, Y. *Polym. J.* **2009**, *41*, 287–292.
- 5) Tanaka, K.; Kitamura, N.; Takahashi, Y.; Chujo, Y. Reversible Signal Regulation System of ^{19}F NMR by Redox Reactions Using a Metal Complex as a Switching Module. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 3818–3823.
- 6) Tanaka, K.; Kitamura, N.; Chujo, Y. Bi-Modal Quantitative Monitoring for Enzymatic Activity with Simultaneous Signal Increases in ^{19}F NMR and

Fluorescence Using Silica Nanoparticle-Based Molecular Probes. *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 1484–1490.

7) Tanaka, K.; Kitamura, N.; Chujo, Y. Heavy Metal-Free ^{19}F NMR Probes for Quantitative Measurements of Glutathione Reductase Activity Using Silica Nanoparticles as a Signal Quencher. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 96–100.

8) Kitamura, N.; Hiraoka, T.; Tanaka, K.; Chujo, Y. Reduced Glutathione-Resisting ^{19}F NMR Sensors for Detecting HNO. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 4668–4674.

9) Tanaka, K.; Chujo, Y. Advanced Functional Materials Based on Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane (POSS). *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 1733–1746.

10) Narikiyo, H.; Kakuta, T.; Matsuyama, H.; Gon, M.; Tanaka, K.; Chujo, Y. Development of the Optical Sensor for Discriminating Isomers of Fatty Acids Based on Emissive Network Polymers Composed of Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 3431–3436.

超低磁場 MRI 計測のための光ポンピング原子磁気センサの 時間安定性向上

Improvement of long-term stability of an optically pumped atomic magnetometer
for MR signal measurement in ultra-low field MRI

笈田武範

Takenori Oida

京都大学大学院工学研究科電気工学専攻, 〒615-8510 京都府京都市西京区京都大学桂
Graduate School of Engineering, Kyoto University
Kyotodaigaku-katsura, Nishikyo-ku, Kyoto, Kyoto 615-8510 Japan

Abstract

Recently, optically pumped atomic magnetometer (OPAM) has been attracted attentions as a high sensitive magnetic sensor in low frequency range, which is used in biomagnetic measurements and ultra-low field MRI. Since OPAM is also sensitive to magnetic noises, it is important for improving the stability of magnetic measurements with an OPAM to reduce magnetic noises with frequencies other than the frequency of the signal. In this study, we proposed the feedback noise reduction with a frequency selection circuit. In addition, it was confirmed that the effectiveness of the proposed method by measuring reference signals.

Keywords: optically pumped atomic magnetometer, feedback noise reduction, frequency selection

1. 目的

光ポンピング原子磁気センサ (optically pumped atomic magnetometer : OPAM)^{1),2)}は, 低周波数領域でも高い感度を有する磁気センサであり, 生体磁気計測や超低磁場 MRI 計測への応用が期待される磁気センシング技術である. 一方, 生体磁気計測や超低磁場 MRI 計測では, その信号対雑音比 (signal-to-noise ratio : SNR) の向上を目的に数秒から数分の磁気信号計測を行うことがある. OPAM は, アルカリ金属原子の電子スピンの磁気共鳴現象を用いて計測を行う特性から, 感度領域に残存する磁場の低減や磁気共鳴現象の共鳴周波数の調整が, OPAM の磁気信号計測の安定性や感度の向上に対して重要な要素となる. 本研究では, kHz 帯の磁気信号計測における OPAM の時間

安定性の向上, つまり低周波磁気ノイズの抑制を目指す. また, 提案手法を用いた OPAM による参照磁場計測からノイズレベルを評価することによって, 提案手法の有効性を確認する.

2. 方法

本研究では, ポンプ・プローブ直交型 OPAM³⁾の応答に対する周波数選択と磁気信号フィードバックを用いた時間安定性の向上について検討を行う. 提案手法を用いた OPAM による磁気信号計測のブロック図を図 1 に示す. 図 1 のように OPAM の応答をフィードバックしたときの磁気信号 $S(\omega)$ に対する OPAM の出力電圧 $O(\omega)$ は

$$O(\omega) = \frac{M(\omega)}{1 + M(\omega)F(\omega)} S(\omega) \quad (1)$$

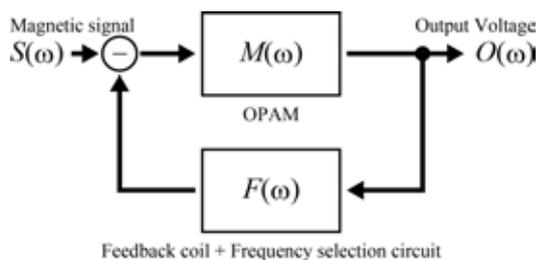


図 1：提案手法を用いた OPAM による磁気信号計測のブロック図.

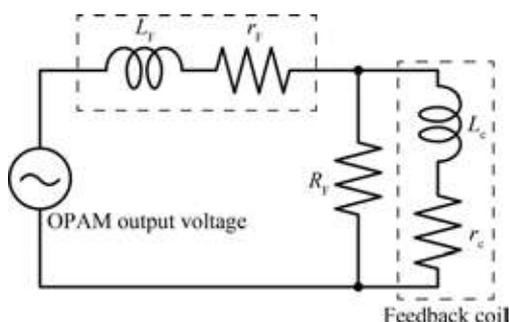


図 2：周波数選択回路の回路図.

と表される．ここで、 $M(\omega)$ は OPAM の周波数応答特性であり、振動磁場に対しては、

$$M(\omega) = A \left\{ \frac{(\omega - \omega_0) + i\Delta\omega}{(\omega - \omega_0)^2 + (\Delta\omega)^2} - \frac{(\omega + \omega_0) + i\Delta\omega}{(\omega + \omega_0)^2 + (\Delta\omega)^2} \right\} \quad (2)$$

の周波数応答特性を持つ．また、 $F(\omega)$ は周波数選択回路とフィードバックコイルの周波数特性である．提案手法では、磁気信号 $S(\omega)$ が OPAM に入力された際に出力される出力電圧 $O(\omega)$ に起因する電流を、周波数選択回路（低域通過フィルタ）を通してフィードバックコイルに供給し、低周波数領域の磁気ノイズを抑制する．

本研究で用いた周波数選択回路の回路図を図 2 に示す．本回路により、低周波数の磁気ノイズを選択的に低減し、低周波ノイズに起因する OPAM の安定性低下を抑制する．

最後に、上記提案手法の有効性を確認するため、参照磁場計測を行い、そのノイズレベルを評価する．計測には、モジュール化した OPAM³⁾を用い、環境磁気ノイズの影響を抑制するため、磁気シールド内で参照磁場信号の計測を行った、OPAM の共鳴周波数を 10 kHz に調整し、振幅 9.27 pT、周波数 9.2, 9.4, ..., 11.0 kHz の周波数を持つ正弦

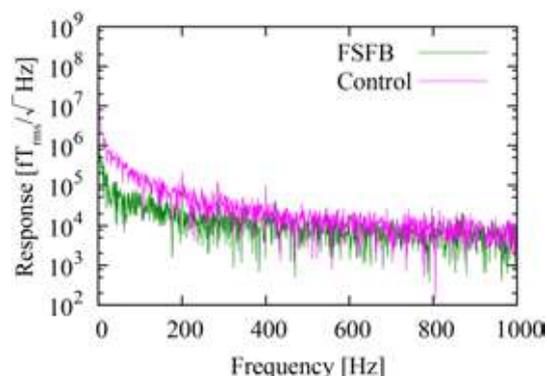


図 3：提案手法を適用時（FSFB）、非適用時（Control）の低周波数領域の周波数応答の一例.

波を重ね合わせた参照信号を印加し、1 s 計測した．また、周波数選択磁気信号フィードバックの（以下、FSFB）適用・非適用を切り替えて、OPAM 上記計測を 6 s 間隔で 100 回（10 分間）行った．さらに、計測データに対して、FFT により周波数解析を行い、FSFB 非適用のデータには式 (2) のモデルで、FSFB 適用のデータには式 (1)、式 (2) と回路素子特性をまとめたモデルでモデルフィッティングを行い、磁束密度換算の周波数応答を算出した．最後に、9900~9997 Hz および 10003~10100 Hz の周波数応答の平均値をノイズレベルとし、大きなノイズが観測される 1~100 Hz の周波数応答の平均値を低周波数領域のノイズレベルとし、安定性の評価に用いる．

3. 結果

最初に、周波数選択磁気信号フィードバック適用時（FSFB）、非適用時（Control）の 2 通りの参照磁場計測時の 1 kHz 以下の周波数応答を図 3 に示す．図 3 から 400 Hz 以上では、ほぼ差の無い結果になっている一方、100 Hz 以下では周波数選択磁気信号フィードバックを適用した計測結果において応答、つまりはノイズレベルの低下が確認できる．

一方、周波数選択磁気信号フィードバック適用時および非適用時の参照磁場計測の 5~15 kHz の周波数応答の一例を図 4 (a) および (b) に示す．図 4 から、周波数選択磁気信号フィードバック適用時に OPAM の共鳴周波数が調整した 10 kHz から離調しており、その離調に伴う 10 kHz 付近のノイズレベルの劣化が確認できる．

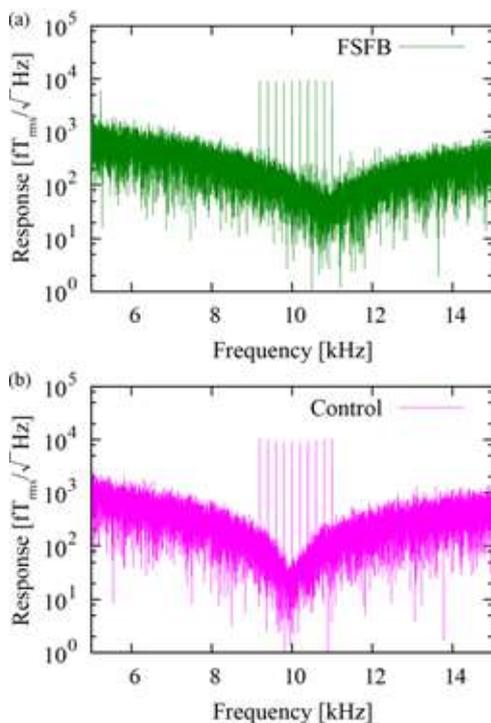


図 4：提案手法適用時 (a)，非適用時 (b) の共鳴周波数付近の周波数応答の一例。

次に、100 Hz 以下および 10 kHz 近傍のノイズレベルの時間変化を図 5 および図 6 に示す。図 5 より、提案手法により 100 Hz 以下のノイズレベルが非適用時の 50%以下に低下し、分散も小さくなっていることが分かる。一方、図 6 より、提案手法適用時に約 50 fT_{ms}/\sqrt{Hz} の劣化が確認できる。これは、図 4 の周波数シフトに起因する部分が大い。

4. 考察

図 3，図 5 の結果は、低周波数領域を選択的にフィードバックしたことによりノイズの影響を抑制できていることを示唆しており、提案手法が低周波数のノイズの抑制に有効である事が確認できる。一方、本研究の周波数選択磁気信号フィードバックでは周波数選択回路において直流成分を除外していないため、直流成分もフィードバックされる。この直流成分のフィードバックにより図 4，図 6 の結果のように OPAM の共鳴周波数シフトが起こり、共鳴周波数付近のノイズレベルが劣化したと考えられる。

本研究では、OPAM を用いた kHz 帯の磁気信号計測における時間安定性向上を目指し、周波数選

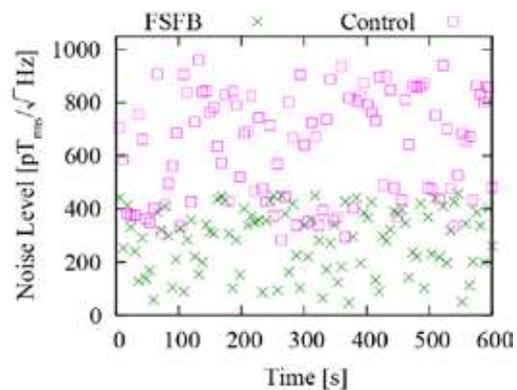


図 5：100 Hz 以下のノイズレベルの時間変化。

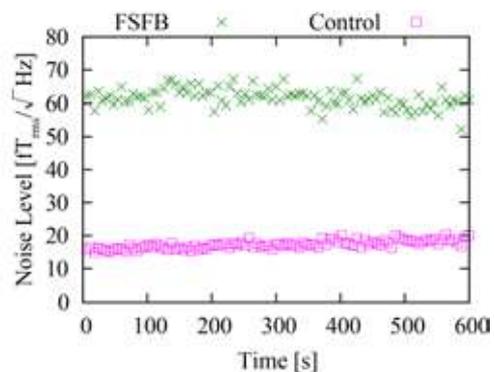


図 6：10 kHz 近傍のノイズレベルの時間変化。

択磁気信号フィードバックを用いた低周波数領域の磁気ノイズ抑制を確認できたが、今後の課題として直流成分への対応なども必要であった。

謝辞

この研究は公益財団法人磁気健康科学研究振興財団の補助を受けて実施したものである。

本論文の内容の一部は 3 月 13 日～3 月 14 日に機械振興会館で開催された『電子情報通信学会 ME とバイオサイバネティクス研究会』で報告したものである。

参考文献

- 1) Kominis IK et al. : A subfemtotesla multichannel atomic magnetometer. *Nature* 422 596–599 (2003).
- 2) Savukov IM et al. : MRI with an atomic magnetometer suitable for practical imaging applications, *Journal of Magnetic Resonance*, 199(2) 188–191 (2009).
- 3) 鎌田啓吾 他：生体磁気計測を目指した超高感度光ポンピング原子磁気センサの開発 電子情報通信学会技術研究報告 110(52) 13–18 (2010).

磁気アルキメデス効果を利用し 培養神経細胞で大脳皮質構造を織る

In vitro formation of cortical layered structure using magneto-Archimedes effect

榛葉健太
Kenta Shimba

東京工業大学工学院, 〒152-8552 東京都目黒区大岡山 2-12-1-I3-20
Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Technology
I3-20, 2-12-1 Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8552 Japan

Abstract

For better understanding of corticogenesis process, we aim to develop a novel patterning technique with Magneto-Archimedes effect. With this method, migration directions of neural cells are controlled in any direction, at any time. First, particles with similar dimension to neural cell was moved by the Magneto-Archimedes effect, and the behavior was evaluated with fluorescent imaging. Next, toxicity of the paramagnetic solvent was measured by live-dead assay. Finally, migration of neural cells was monitored under a magnetic force control.

Keywords: cortex, magneto-Archimedes effect, cell patterning

1. 目的

大脳皮質は認知や思考をつかさどる部位であり、その理解は神経科学において重要である。大脳皮質は神経発生において2種類の細胞が異なる方向に移動することで形成される。形成過程の異常が疾患を引き起こす可能性があるため(文献1)、その理解は重要な課題である。本研究では、大脳皮質の構造を培養皿内に再現することを目指し、その基盤技術の開発を行った。細胞を2方向に移動させる必要性から、新しい細胞パターンニング技術が必要であると考え、磁気アルキメデス効果を利用することとした。磁気アルキメデス効果とは、磁気勾配を有する磁場において、常磁性体のガス・液体中の弱い反磁性体には磁場に対し反発力が働くという現象である。つまり、培養液に常磁性体を混ぜることで、細胞をレベルフリーで移動できることが期待される。以上より、磁気を利用した細胞移動制御技術の開発を目的とした。

2. 方法

常磁性培養液により細胞サイズの粒子を移動可能であることを確認するため、40 mM の gadolinium-diethylenetriamine pentaacetic acid (Gd-DTPA)を溶かした培養液(文献2)に直径 10-14 μm の蛍光粒子を入れ、540 mT のネオジウム磁石を用いて磁力を印加した。次に、上磁性培養液の細胞に対する毒性を評価するため、40 mM Gd-DTPA を添加した培養液でラット大脳皮質の神経細胞を培養し、死細胞の割合を算出した。生細胞および死細胞は、それぞれ Calcein AM および Propidium iodide を用いて標識した。最後に、細胞移動を評価するため、常磁性培養液でラット大脳皮質の神経細胞を培養し、磁力を印加した状態でタイムラプス撮影を行った。

3. 結果

取得した画像から投影画像を作成し、縦軸が経

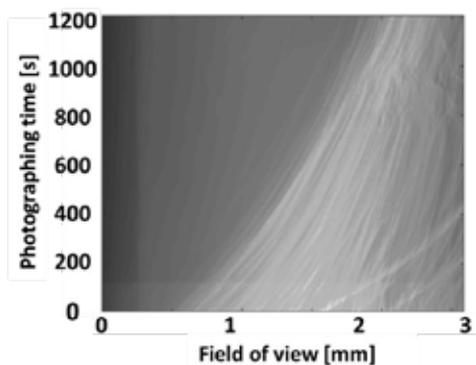


図1 磁力による蛍光粒子の移動.

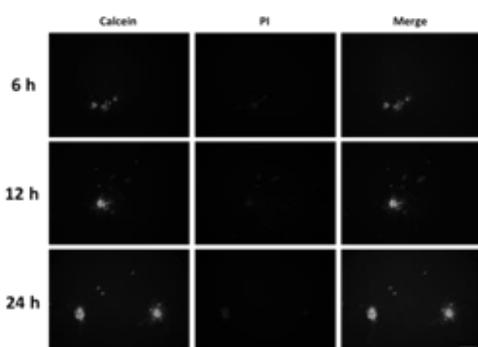


図2 Gd-DTPA 溶液内での細胞の生存.

過時間となるように積層した. 結果を図1に示す. 輝度が高い部分が, 蛍光粒子の存在部位を示す. 図より, 時間の経過につれて高輝度領域が右方向に移動した様子が観察される. したがって, 磁力の印加により細胞サイズの蛍光粒子を移動できることが示唆された.

常磁性培養液中で大脳皮質神経細胞を培養し, 細胞の生存率を評価した. 結果を図2に示す. 図より, 最も生存率が低くなることが予想された, 40 mM Gd-DTPA に24時間暴露した条件においても細胞の生存が確認された. また, 各条件で生存率を算出しても, 条件間で明確な違いは見られなかった. したがって, 常磁性培養液は細胞に顕著な毒性を与えないことが示唆された.

細胞の移動をタイムラプス撮影によって作製した移動の軌跡から評価した. 図3に8個の細胞の移動の軌跡を15分間隔でプロットした結果を示す. 細胞はいずれも神経突起に沿った動きを示し, 往復もしくは一方への移動を示した. 2個のみが印加方向へ移動した. したがって, 今回の条件では移動方向を制御するためには力が足りない

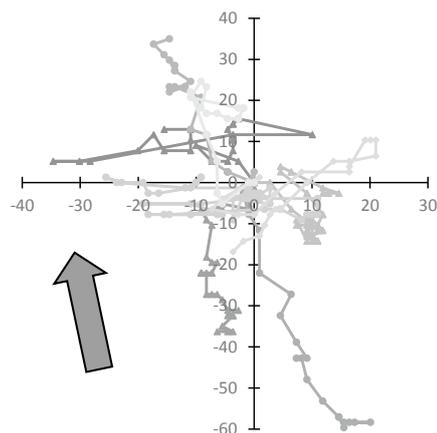


図3 細胞の移動. 矢印は磁力の方向を示す

かったことが示唆された.

4. 考察

本条件では, 細胞の移動方向は変化しなかった. 理由として, 力が小さいことが挙げられる. 蛍光粒子は溶液中に浮遊していたが, 細胞は底面に接着しており, それぞれの動きやすさには違いがあったと考えられる. 今後は溶かす Gd-DTPA の濃度の上昇や, 磁石の配置の工夫により急峻な磁気勾配を生み出す方法を検討する必要がある.

本研究では, 磁気アルキメデス効果を利用した細胞移動制御技術の開発を目的として実験を行った. 細胞の移動制御にはいたらなかったものの, 細胞サイズの粒子に力をかけることが可能であり, 細胞に対する毒性が低いことを示したことから, 本手法の有効性を示した.

謝辞

この研究は磁気健康科学研究振興財団の補助を受けて実施したものである.

本論文の内容は3月20日に東京で開催された『電気学会 医用・生体工学研究会』で報告したものである.

参考文献

- 1) 高橋幸男, 津留陽, 水口雅: 「大脳皮質の形成障害の分類と発生機序」, 脳と発達, Vol. 28, No.1, pp. 14-22 (1996).
- 2) Akiyama Y., and Morishima K., "Label-free cell aggregate formation based on the magneto-Archimedes effect," Applied Physics Letters, 98 (16), 163702 (2011).

癌撲滅を目的とする電磁界共振モード加温装置における

磁性体ナノ粒子併用時の加温特性

Temperature Properties of Resonant Cavity Applicator for Malignant Tumor with Magnetic Nanoparticles

井関祐也*, 加藤和夫**, 高橋謙治***

Yuya Iseki*, Kazuo Kato**, Kenji Takahashi***

*八戸工業高等専門学校, 〒039-1192 青森県八戸市大字田面木字上野平 16-1

**明治大学理工学部, 〒214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田 1-1-1

***国際医療福祉大学医学部, 〒324-8501 栃木県大田原市北金丸 2600-1

*National Institute of Technology, Hachinohe College

16-1 Uwanotai Tamonoki, Hachinohe, Aomori 039-1192 Japan

**Department of Mechanical Engineering, Meiji University

1-1-1 Higashimita, Tama-ku, Kawasaki, Kanagawa 214-8571 Japan

***Department of Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences,

International University of Health and Welfare

537-3 Iguchi Nasushiobara, Tochigi 329-2763 Japan

Abstract

This paper described temperature properties of the developed resonant cavity applicator with magnetic nanoparticles. We have been proposed the resonant cavity applicator which could heat deep area of patient body without physical contact. In this paper, first, we described the principle of our heating applicator. Second, we described temperature properties of the RF capacity applicator with magnetic nanoparticles. From these results it was confirmed that magnetic nanoparticles did not have influence for temperature properties of the RF capacity applicator.

Keywords: resonant cavity applicator, RF capacity applicator, magnetic nanoparticles

1. 目的

癌温熱療法（ハイパーサーミア）は癌細胞が熱に弱く 42 ± 0.5 °C程度で死滅する臨床事実に基づいている¹⁾。この加温原理には、誘導加温と誘電加温とがあるが、いずれも一長一短があり、癌のみを局所的かつ安全に加温可能な装置の創出が俟たれている。

このような背景から、我々は全く新たな発想の下、電磁界共振モードを加温エネルギー源に応用した「空洞共振器加温装置」を提案している^{2,3)}。図1は本加温装置の概略図である。空洞共振器内

部に共振周波数に応じて発生する電磁界共振モードを用いて患者に非接触状態で癌を加温可能である。さらに我々は、超音波画像による温度計測手法を既に確立しており、加温中の患者体内の温度計測が可能であることを確認済みである^{4,5)}。

本研究では、ハイパーサーミア治療時に、磁性体ナノ粒子を併用した際の影響について検討する。具体的には、誘電加温の影響が空洞共振器加温装置よりも、より顕著に現れるRF誘電加温装置を用いた加温実験からこの影響について考察する。具体的には、磁性体ナノ粒子を「加温性

能の向上」および「温度計測精度の向上」の観点から考察する。

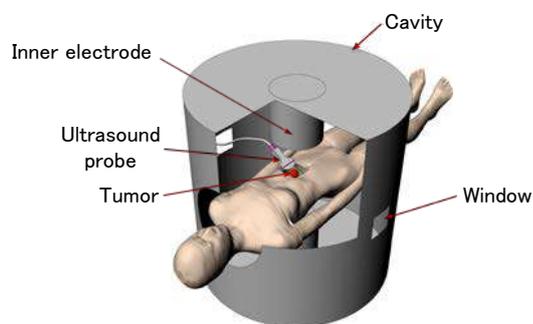


図1 空洞共振器加熱装置の概略

2. 方法

実験に用いた磁性体ナノ粒子は、EMG607（株式会社フェローテック）である。磁性体ナノ粒子は、寒天ファントムに混ぜ込み実験に使用した。

生体擬似寒天ファントムはいずれも一辺 30 mm の立方体形状である。実験では、磁性体ナノ粒子未混入、寒天ファントムへ混入する磁性体の濃度を 20 mg/cm^3 、 40 mg/cm^3 、 60 mg/cm^3 と 3 種類の濃度を作製した。まず、作製した磁性体混入ファントムの誘電率および導電率を計測し、磁性体混入濃度が電気的パラメータに及ぼす影響について把握した。次に図 2 に示した、RF 加熱装置を用いた加熱実験を実施した。具体的には、磁性体未混入ファントムと磁性体混入ファントムを並列あるいは直列に配置し、温度分布の影響について検討した。最後に、図 3 に示した超音波画像による温度計測のための熱定数把握実験（水槽実験）を実施し、磁性体ナノ粒子を混入することによる影響を温度分布計測の観点から検討した。具体的には、恒温水槽内部に寒天ファントムを設置し、寒天ファントムの温度上昇と超音波画像の変位量との関係から温度計測時のキャリブレーション定数 k を把握する実験を施した^{4,5)}。

3. 結果

測定した電気伝導率および比誘電率は、磁性体ナノ粒子の濃度が高くなると、電気伝導率および比誘電率が減少していることがわかった。

図 4 は RF 容量結合型加熱装置において、磁性体混入ファントムと磁性体未混入ファントムと

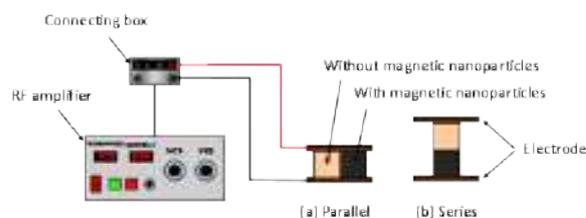


図2 RF 加熱装置を用いた加熱実験

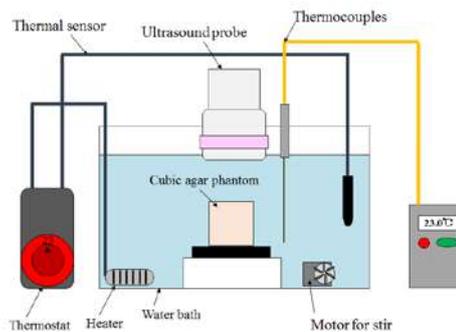


図3 熱定数把握実験の概略

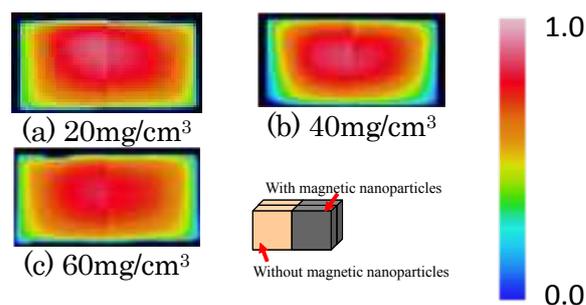


図4 RF 加熱装置の結果（並列配置）

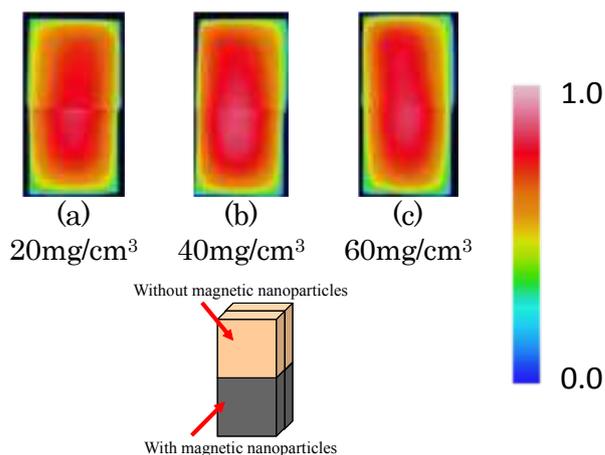


図5 RF 加熱装置の結果（直列配置）

を並列に配置した場合のサーモ画像である。加熱時間 30 分、加熱電力 20 W である。図 4(a)~(c) より、磁性体ナノ粒子の濃度に関わらず、ホットスポットが左側(磁性体未混入側)に集中していることが確認できる。

図5はRF容量結合型加温装置において、直列に配置した場合のサーモ画像である。図5(a)~(c)より、磁性体ナノ粒子の濃度に関わらず、ホットスポットが下側(磁性体粒子混入側)に集中していることが確認できる。

図6は水槽実験において撮像した超音波画像とそのヒストグラムである。図6(a)および図6(b)より、磁性体何の粒子を混入した場合の方が未混入の場合よりもヒストグラムが中央に集中しており、両者コントラストが明瞭に異なっていることが分かる。

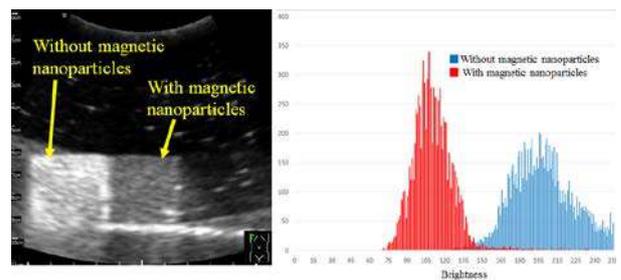
図7は水槽実験より計測した熱定数kの比較である。解析条件は同一である。磁性体混入、未混入に関わらず熱定数kはおおよそ2.4であり、ほとんど差がないことが分かった。

4. 考察

磁性体混入ファントムの電気パラメータは、磁性体ナノ粒子の濃度が高くなるほど電気伝導率および比誘電率が低下することを確認した。RF容量結合型加温装置における誘電加温では、並列配置の場合には低導電率側の加温が顕著となり、直列配置の場合には行動伝率側の加温が顕著となることが電磁気学的に示されている⁹⁾。これを踏まえて、図4および図5の結果を見ると、誘電加温の理論どおりの結果となっていることがわかる。したがってRF容量結合型加温装置の場合には磁性体ナノ粒子による誘導加温の影響よりも、誘電加温の影響の方が支配的であることが実験的に示された。

図6(b)のヒストグラムの比較より、磁性体何の粒子を混入した場合の方が未混入の場合よりもヒストグラムが中央に集中しており、両者は異なった分布を示した。したがって、磁性体ナノ粒子を投与することにより、造影効果が期待できることを確認した。一方、図7から、磁性体ナノ粒子混入の有無による、超音波画像による温度計測への影響は少ないことがわかる。すなわち、超音波による温度計測精度に影響を与えず、造影効果が現れることを実験的に示した。

これらの結果より、誘電加温において磁性体ナノ粒子を併用することによる温度分布への影響は少なく、また、超音波画像による温度計測の観



(a) Ultrasound image (b) Histogram of phantoms
図6 磁性体混入の有無による視認性の比較

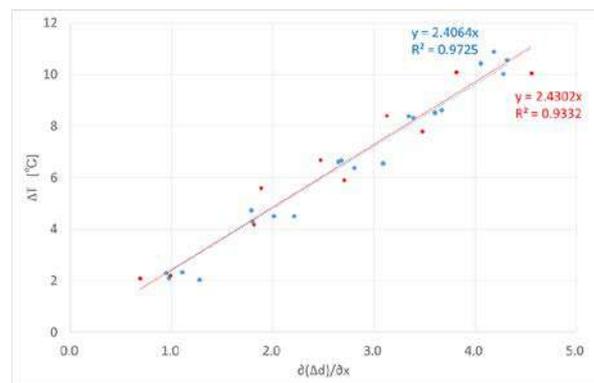


図7 磁性体混入の有無による熱定数kの比較

点からも影響が少ないことを確認した。しかしながら、磁性体ナノ粒子を投与する場所によってホットスポットが変化することから、この性質を利用して癌周辺にホットスポットを制御できる可能性のあることを実験的に示した。

謝辞

この研究は公益財団法人磁気健康科学研究振興財団の補助を受けて実施したものである。

発表

本論文の内容の一部は、愛媛県新居浜で開催された『日本設計工学会 2017 年度秋季大会研究発表講演会』で報告したものである。

参考文献

- 1) 日本ハイパーサーミア学会編、ハイパーサーミアがん温熱療法ガイドブック、2008年。
- 2) Kato K. et.al. Design and construction of resonant cavity applicator for deep tumor hyperthermia treatment without contact: Part 1: Analysis of temperature distribution computer simulations. J

Jpn Soc Des Eng, 39: 37-43, 2004. (Japanese)

- 3) Iseki Y. et.al.: A New Heating Control Method for Effective Hyperthermia Treatment of a Brain Tumor Using the Resonant Cavity Applicator with a Segmented Dielectric Bolus, *Thermal Med*, 30: 41-53, 2014.
- 4) Iseki Y. et.al: Development of Ultrasound-Guided Resonant Cavity Applicator System. – Non-invasive Measurement of Temperature Distributions-, *Thermal Med*, 31: 13-26, 2015.
- 5) Iseki Y. et.al: Non-Invasive Measurement of Temperature Distributions During Hyperthermia Treatments using Ultrasound B-mode Images, *Thermal Med*, 32: 17-30, 2016.
- 6) Kato K., Sato K., Matsuda J., Saitoh Y.: Analysis of RF Capacitive Heating by Computer Simulation, *Jpn. J. Hyperthermic Oncol*, 8: 29-43, 1992.

マイクロ磁性ワイヤを用いたウェアラブル

脳磁場計測デバイス開発

Development of wearable brain magnetic field measurement device using micro magnetic wire

内山 剛

Tsuyoshi Uchiyama

名古屋大学 大学院 工学研究科, 〒464-8603, 名古屋市千種区不老町 1

Graduate School of engineering, Nagoya University

1 Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603 Japan

Abstract

Magnetoencephalogram (MEG) is a non-invasive technique for mapping and evaluating the functional activity of brain. Unlike EEG, MEG measures the magnetic field produced by the ionic current of activated neurons. In this study, based on the features of MI sensor using micro magnetic wires, we expect to develop a novel tool to measure and detect the magnetic activity of the brain, which could be used without magnetic shielding room and no need for cooling. To achieve this goal, we build the wearable brain magnetic field measurement system using highly sensitive MI sensor and measure some brain activities.

Keywords: Magnetoencephalogram, MI sensor, Brain activity

1. 目的

「医療機器として脳の神経活動を記録・評価ための計測機器は脳波計と脳磁計に限られている。現在利用されている脳磁計測用のセンサの主要構造である超電導量子干渉素子 (SQUID) の動作には 100~200L/週の液体ヘリウムが必要であり (年間 2,500~3,000 万円), 機器の維持費の問題から普及していない。また、機器は大型となり脳周囲に配置するセンサ密度にも限界がある (16~20cm²に 1 センサ)。脳波および SQUID 式脳磁計の欠点を解決する脳活動計測機器すなわち液体ヘリウムが不要で空間的解像度高い非侵襲的脳神経活動の記録装置の技術開発は、この 30 年余り待望されている。現在、トンネル磁気抵抗 (TMR)

素子や光ポンピング磁気センサなど異なったタイプの磁気センサも開発されつつあるが、実用的に十分な特性は得られていない。本提案は、非接触で脳神経活動が計測可能な高感度の磁性マイクロワイヤを用いた高感度センサ (MI センサ¹⁾) をウェアラブル脳磁計として用いることで、①液体ヘリウム不要、②小型化、③検査者の人的負担の著減、を実現する医療機器の開発を目的とする。将来的には、ベッドサイドや救急医療における脳活動ポータブル計測、といった従来の脳波計や脳磁計では困難な状況での脳神経活動の評価が期待できる。

2. 方法

本研究で開発した、脳磁場検出用のセンサは磁界アモルファスワイヤの磁気インピーダンス素子を利用したセンサシステムである。MI 素子を用いた磁界検出プローブは、インピーダンス変化を直接捉えるのではなく、コイルにアモルファスワイヤを貫通させ、パルス電流によって変化するアモルファスワイヤ表面の磁気モーメントのワイヤ軸方向成分をコイルの起電力として計測する。これにより、アモルファスワイヤ軸方向のみの磁界成分を選択的に計測することができる。本研究では、携帯電話の電子コンパスに利用されている、CMOS-MI センサ回路を改良して、回路ノイズを従来の 1/50 まで低減した。試作回路を図 1 に示す。また、試作ウェアラブル脳磁計測センサを用いた誘発性脳磁場評価システムを図 2 に示す。

3. 結果

図 3 は本研究で試作したウェアラブル脳磁場計測用マルチチャネルシステムを使用して、Pz, P3 および P4 の位置の周りで測定された、視覚刺激による、平均 P300 脳磁場の波形である。上の 3 つの波形は、独自に開発した、リアルタイム p300 処理モジュールに基づいており、下の波形はデジタルフィルタと FastICA による信号処理を施した結果である。

以上の結果から、Pz と P4 のすべての波形は同様の特性を示しているが、P3 では、デジタルフィルタと FastICA (左下) で処理された波形のピークの値がリアルタイム P300 モジュールで処理された波形のピーク値よりも小さくなった。

4. 考察

P300 は、通常、意思決定の過程で引き出される ERF (事象関連磁界) の重要な要素である。P300 の信号は、刺激の開始後約 250~400ms の潜時を有する²⁾ ことが知られている。本研究で試作開発されたウェアラブル脳磁場計測デバイスによる同時 3ch 計測により、P300 の信号の検出について有用な知見を得たと考えられる。

謝辞

この研究は公益財団法人磁気健康科学研究振興

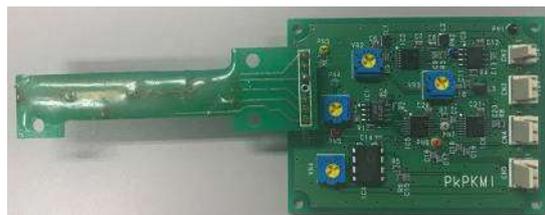


図 1 試作磁気センサモジュール

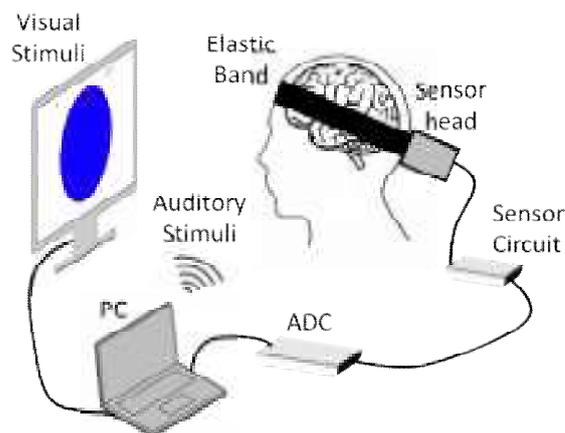


図 2 ウェアラブル脳磁場計測デバイスによる誘発性脳磁場評価システム

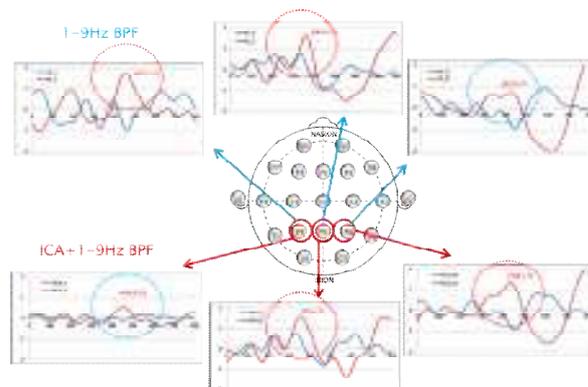


図 3 ウェアラブル脳磁場計測デバイスによる P300 信号の同時 3ch 測定

財団の助成を得ておこなったものである。

参考文献

- 1) L. V. Panina and K. Mohri, "Magneto-Impedance Effect in Amorphous Wires", Appl. Phys. Lett. 65, 1189-1191 (1994).
- 2) Mecklinger, B. Maess, B. Opitz, E. Pfeifer, D. Cheyne, and H. Weinberg, "A MEG analysis of the P300 in visual discrimination tasks," Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. 108, 45-56 (1998).

磁気トレーサー粒子を用いたがん転移診断における 複数トレーサー併用法の原理実証

Combined use of magnetic and other tracers for diagnosis of cancer metastasis

佐伯亘平*, 桑波田晃弘**, 日下部守昭*
Kohei Saeki*, Akihiro Kuwahata, and Moriaki Kusakabe**

*東京大学大学院 農学生命科学研究科, 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

**東京大学大学院 工学系研究科, 〒113-0032 東京都文京区弥生 2-11-16

*Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo
1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657 Japan

**Graduate School of Engineering, The University of Tokyo
2-11-16 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032 Japan

Abstract

Recent studies have shown the efficacy of magnetic tracer for identifying the lymph node involved in breast cancer metastasis. The combined use of magnetic and other tracers, such as fluorescent dye, is effective for improving the detection rate of lymph nodes. However, pharmacokinetics in the case of combined use remains to be understood. In this study, we perform animal experiments to investigate the detection rate and accumulation of tracers in the lymph node. The results provide a basis for establishing the combined technique for identifying lymph nodes.

Keywords: sentinel lymph node biopsy, combined technique, magnetic nanoparticles, fluorescence dye, dilutional effect

1. 目的

がんの転移を診断するために、手術中にリンパ節を同定・摘出し、病理検査をする必要がある。現在、放射性同位体ならびに色素をトレーサーとして併用した信頼性の高い手法によって、リンパ節を同定できるが、被曝や小型医療施設での実施が困難などの問題がある。したがって、近年では、放射性同位体の代替として、磁気ナノ粒子をトレーサーとして用いた新手法の研究開発が進んでいる。¹⁻³⁾

本研究は、磁気トレーサーと蛍光色素トレーサーを併用した場合において、トレーサーの体内動態の変化やトレーサー同士の相互干渉の影響がないこと、ならびに併用法によってリンパ節の同

定が可能であることを、マウス動物実験によって原理実証する。⁴⁾

2. 方法

SLC/ICR マウス (8-9 週齢, メス) 48 匹を 8 Groups (Table 1 参照) に分けて、東京大学動物実験倫理委員会の承認 (KA16-4) のもとに実験を実施した。

単独法 (Groups 5, 6, and 7) として、磁気トレーサー (Resovist® or Sienna+®: 磁気ナノ粒子, 粒径約 60 nm) をマウスの後肢に 5 μ L, または ICG (indocyanine green, 近赤外線蛍光色素) を 5 μ L 投与した。SQUID 磁化測定装置 (MPMS-5S) を用いた磁気計測によって、摘出したリンパ節内に蓄積される鉄量を評価した。リンパ節からの蛍光

強度の観測・評価には近赤外線カメラ (PDE camera: UI-3240CP-NIR-DL) を用いた。

併用法 (Groups 1, 2, and 1') においては, 磁気トレーサー5 μL の投与に加えて, ICG を 5 μL 投与し, リンパ節内の鉄量ならびにリンパ節からの蛍光強度を観測 (Figs. 1(A) and (B)) ならびに評価した. 磁気トレーサーの希釈効果を検証するために, 磁気トレーサー5 μL を生理食塩水 5 μL で希釈した実験を実施した (Groups 3 and 4). また, 併用法におけるトレーサー同士の相互干渉の影響を検証するため, 液中粒径ならびに表面電荷計測装置 (ELSZ-2) を用いて各トレーサーの粒子径ならびに表面電荷を計測した.

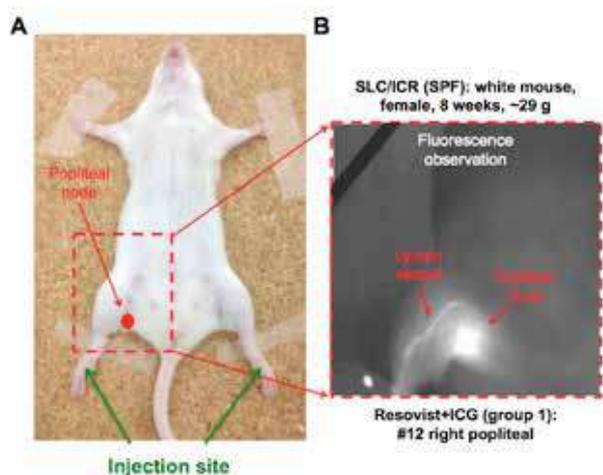


Figure 1. (A) Location of the injection site and right popliteal node. (B) Transcutaneous fluorescence visible using a near-infrared camera after ICG administration.⁴⁾

3.結果

各 Group において, リンパ節からの蛍光強度ならびにリンパ節に取り込まれた鉄量を Fig. 2 に示す (詳細は Table 1). また, Table 2 は各 Group 間で比較した p 値を示す. 蛍光色素を用いた Group 1, 1', 2, 7 における平均蛍光強度はそれぞれ, 29,430, 33,354, 36,869, 23,987 (Group 1 と 7 の $p=0.25$, Group 1' と 7 の $p=0.11$, Group 2 と 7 の $p=0.13$) であった. また, Figures 2(B) and (C) に示すように, 各グループにおける, リンパ節に取り込まれた平均鉄量 [10^{-7} g] は, 7.36, 13.0, 20.3, 11.3, 7.44, 11.4, 14.1 (Group 1 と 5 の $p=0.48$, Group 2 と 6 の $p=0.25$, Group 3 と 5 の $p=0.005$, Group 4 と 6

の $p=0.49$, Group 1' と 5 の $p=0.003$, Group 1' と 1 の $p=0.07$) であった.

また, 全ての Group において, 膝窩リンパ節 (popliteal nodes) への各トレーサーの到達を確認した.

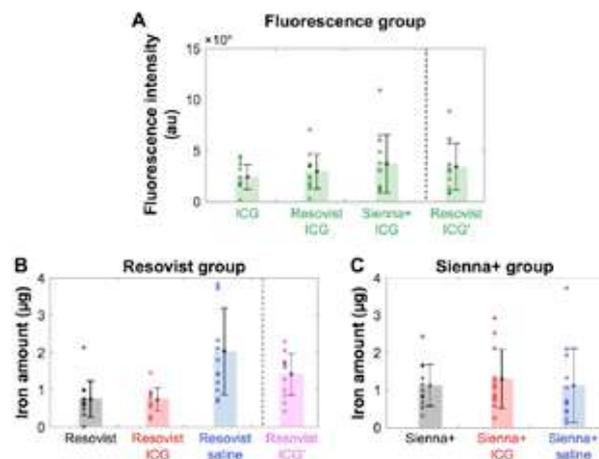


Figure 2. (A) Fluorescence intensity from the popliteal nodes. (B) and (C) Iron amount evaluated by SQUID measurements.⁴⁾

Table 1. Injection tracer(s), mean iron content, and fluorescent intensity in each group.⁴⁾

Group	Tracer(s)	Iron content (10^{-7} g)	Fluorescence intensity (au)
1	Resovist (5 μL) and ICG (5 μL)	7.36	29,430
2	Sienna+ (5 μL) and ICG (5 μL)	13.0	36,869
3	Resovist (5 μL) and saline (5 μL)	20.3	–
4	Sienna+ (5 μL) and saline (5 μL)	11.3	–
5	Resovist (5 μL)	7.44	–
6	Sienna+ (5 μL)	11.4	–
7	ICG (5 μL)	–	23,987
1'	Resovist (5 μL) and ICG' (5 μL) ^a	14.1	33,354

Table 2. P -values calculated from unpaired t -tests.⁴⁾

Groups	P -value
Resovist, ICG/Resovist	0.48 ^a
Sienna+, ICG/Sienna+	0.25 ^a
Resovist/Sienna+	0.03 ^{a,b}
Diluted Resovist/Resovist	0.005 ^{a,c}
Diluted Sienna+/Sienna+	0.49 ^a
Resovist, ICG/ICG	0.25 ^a
Sienna+, ICG/ICG	0.13 ^a
Resovist, ICG'/ICG	0.11 ^b
Resovist, ICG'/Resovist	0.003 ^{a,c}
Resovist, ICG'/diluted Resovist	0.07 ^a

4. 考察

磁気トレーサーを用いた新しいリンパ節同定の手法は、がんの転移を診断するための放射性同位体を用いた手法の代替として、研究開発が進んでいる。本研究では、さらに同定率を向上させるために、磁気トレーサーと蛍光色素トレーサーを併用した新手法が有用であることを検証した。

蛍光強度の評価において、各 Group 間におけるリンパ節からの蛍光強度に大きな差異はなく ($p>0.05$)、磁気トレーサーと併用した場合でも、蛍光トレーサーは有用であることを明らかとした。磁気トレーサーの取り込み量にも大きな差異はなかった (Group 1' と 3 を除いて $p>0.05$)。また、蛍光強度と鉄量には相関 (スピアマン相関係数 $R\sim 0.40$) があることを明らかとした。また、各トレーサーにおいて、液中粒径 (68.5~78.8 nm) ならびに表面電荷 (-51.8~-36.0 mV) にも大きな差異はなく、トレーサー同士の相互干渉はないと考える。しかしながら、Resovist を生理食塩水で希釈した場合 (Groups 1' と 3) にのみ、磁気トレーサーの取り込み量が増加している。今後、浸透圧の影響などを検証し、明らかにする予定である。

本研究によって、磁気トレーサーと蛍光色素トレーサーの併用法を用いてリンパ節を同定することが可能であることを実証した。

謝辞

この研究は磁気健康科学研究振興財団の補助を受けて実施したものである。

本論文の内容は 9 月 19 日~22 日に九州大学、伊都キャンパスで開催された『第 41 回日本磁気学会学術講演会』で報告したものである。

本論文の内容は『Combined use of fluorescence with a magnetic tracer and dilution effect upon sentinel node localization in a murine model』として *International Journal of Nanomedicine* **13**, 2427-2433 (2018) に出版したものである。

参考文献

- 1) David N. Krag *et al.* : *Surg Oncol.* **2**, 335 (1993).
- 2) Masaki Sekino *et al.* : *Scientific Reports* **8**, 1195 (2018).
- 3) Akihiro Kuwahata *et al.* : *AIP advances* **7**, 056720 (2017).
- 4) Akihiro Kuwahata *et al.* : *International of Journal of Nanomedicine* **13**, 2427 (2018).

脳梗塞モデルにおける経頭蓋磁気刺激を使用した脳内回路の解明

The optimal parameter of rtms in poststroke hemiplegia

眞野智生*

Tomoo Mano*

*大阪大学大学院医学系研究科, 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2

*Department of Neuromodulation and Neurosurgery, Center of Medical Innovation and Translational Research Osaka University Graduate School of Medicine
2-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871 Japan

Abstract

The previous study reported the effects of transcranial magnetism stimulation (rTMS) therapy for motor deficits in stroke patients, the mechanisms remain unclear, particularly regarding which part of the brain is the optimum site for stimulation. By using a model rat with cerebral ischemic infarction, we show that high-frequency rTMS application for the affected side and that low-frequency rTMS application for the normal side. We not only verify the therapy's efficacy upon motor function, but also identify products of metabolism by using mass spectrometry imaging and analyzing nerve fiber with MRI tractography. Ultimately, our results show promise for the further elucidation of mechanisms in the brain.

Keywords: rTMS, rehabilitation, tractography

1. 目的

脳血管障害は要介護の原因疾患の上位を占めており、片麻痺回復への新たなリハビリテーション療法が必要とされている。脳卒中後の機能回復は、神経の可塑的变化により、脳内に新しい神経ネットワークを作ること、残存した正常組織が働くことで機能回復するとされているが、そのメカニズムは未知である。機能回復促進を科学的方法に基づくニューロリハビリテーションがあるが、その実現化として期待が大きいのが、rTMS療法であり、rTMS療法の一般臨床応用が期待されている¹⁾。

rTMSは、急激な磁場の変化によって弱い電流を脳内に誘起させることで、脳内のニューロンを興奮させる非侵襲的な方法である。脳神経単位の活動を修飾することが可能とされており、脳活動

を賦活し、脳の機能的結合を再構築する新たな治療法として注目されている。脳梗塞患者へのrTMS療法の効果に関連する報告は多数あり、メタアナリシスもされており、有効性が支持されている²⁾。我々の研究室でも、脳梗塞後片麻痺患者に対するrTMS療法の機能回復も報告している³⁾。しかし、rTMS刺激のパラメーターも確立したものではなく、患側への高頻度刺激（興奮性に働く）がよいのか、健常側への低頻度刺激（抑制系に働く）がよいのかも報告により異なる。

臨床的には、rTMSの効能は一過性に留まらないことを多く経験している。基礎研究では、抑制系シナプスの可塑性⁴⁾、錐体細胞の再生も報告されている⁵⁾。rTMS療法は、臨床研究や基礎研究が双方からエビデンスを積み重ねてきているが、実際の機能回復メカニズムにはまだまだ不明な

点が多く、説明が必要である。

2. 方法

一時的中大脳動脈閉塞脳梗塞モデルラット（穿通枝梗塞モデル）を作製し、患側高頻度 rTMS 群と健常側低頻度 rTMS 群に分けて検討する。運動機能変化を評価するとともに、7テスラ MRI のトラクトグラフィーを用いて、生体内の脳内神経線維を評価する。断頭後にサンプルを作製し組織学的変化を観察する。

【ラット一時的中大脳動脈閉塞モデルの作製】

脳梗塞ラットの作製は、確立された手法に基づいて行う。麻酔下に Wistar rat の内頸動脈を露出し nylon 糸を挿入、中大脳動脈を 6 時間のみ閉塞して、穿通枝領域の脳梗塞モデルを作製する。

【ラットへの rTMS 療法の実施】

ラット用 8 の字コイルによる rTMS を施行する。刺激パラメーターの確立のため、単発の磁気刺激を健常側の脳半球に行い、下肢の筋電図 (EMG) を計測し、安静時運動閾値の刺激強度を電気生理学的指標として記録し、各個体で一定基準を満たした再現性の高い刺激条件を確立する。

【MRI 撮影：生体内神経線維の解析】

MRI 撮影は、7テスラ MRI にて施行する。

【試料切片の調製と準備：肉眼的観察】

全例断頭し、試料切片を作製する。

3. 結果

一時的中大脳動脈閉塞脳梗塞モデルラット 12 頭の作製を行い、1 頭を 24 時間後にラットを断頭し、脳梗塞を組織学的に確認できた。

呼吸状態が悪かった 1 頭を除いた 10 頭を対象とし、全頭で片側の不全麻痺を確認した。患側高頻度 rTMS 群 5 頭と健常側低頻度 rTMS 群 5 頭に分けて介入を行った。

運動機能評価では旋回運動測定装置 Roro-Rod を使用し、脳梗塞作製後 2 日後から 5 日後まで連日測定を行ったが、2 群間で有意差は認めなかった。しかし、4 日間の合計旋回数においては、高頻度刺激群は低頻度刺激群に比べて有意差はないものの、多い傾向にあった。

脳梗塞後の 5-7 日目に MRI 撮影を行い、トラクトグラフィーによる解析を施行した。MRI 撮影の麻酔により高頻度群 1 例が脱落、トラクトグラフ

ィーを作成できたのは、高頻度刺激群 4 頭と低頻度刺激群 4 頭であった。錐体路繊維の径は、高頻度刺激群が低頻度刺激群に比べ、有意に太くなっていた。

8 頭すべて断頭したところ、脳梗塞の面積においては、2 群間で差は認めなかった。

4. 考察

脳梗塞モデルに対して、患側への高頻度刺激と健常側への低頻度刺激を運動機能評価のみでなく、MRI のトラクトグラフィーを持って、錐体路も評価した研究である。本研究からは、急性期脳梗塞への rTMS としては、患側への高頻度刺激の方が有用であることが示唆された。しかし、サンプル数も少なく、脳梗塞の組織的影響や急性期における自然回復の影響も十分に考えられ、サンプル数を増やした検討が必要である。また、臨床応用で用いられる慢性期脳梗塞モデルに対する介入も必要と考えられた。

謝辞

この研究は公益財団法人磁気健康科学研究振興財団の補助を受けて実施したものである。

参考文献

- 1) Yokoe M, Mano T, Maruo T, Hosomi K, Shimokawa T, Kishima H, Oshino S, Morris S, Kageyama Y, Goto Y, Shimizu T, Mochizuki H, Yoshimine T, Saitoh Y. The optimal stimulation site for high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in Parkinson's disease: A double-blind crossover pilot study. *J Clin Neurosci*. 2018 Jan;47:72-78.
- 2) Wheaton LA, Villagra F, Hanley DF, Macko RF, Forrester LW. Reliability of TMS motor evoked potentials in quadriceps of subjects with chronic hemiparesis after stroke. *J Neurol Sci*. 2009 Jan 15;276(1-2):115-7.
- 3) Hosomi K, Morris S, Sakamoto T, Taguchi J, Maruo T, Kageyama Y, Kinoshita Y, Goto Y, Shimokawa T, Koyama T, Saitoh Y. Daily Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation for Poststroke Upper Limb Paresis in the Subacute Period. *J Stroke Cerebrovasc*

Dis. 2016 Jul;25(7):1655-1664.

4) Lenz M, Galanis C, Müller-Dahlhaus F, Opitz A, Wierenga CJ, Szabó G, Ziemann U, Deller T, Funke K, Vlachos A. Repetitive magnetic stimulation induces plasticity of inhibitory synapses. *Nat Commun.* 2016 Jan 8;7:10020.

5) Tang AD, Hong I, Boddington LJ, Garrett AR,

Etherington S, Reynolds JN, Rodger J. Low-intensity repetitive magnetic stimulation lowers action potential threshold and increases spike firing in layer 5 pyramidal neurons in vitro. *Neuroscience.* 2016 Oct 29;335:64-71.

高感度体表面心磁図を用いた 非侵襲的な心室性期外収縮の起源同定

Non-invasive Localization of the Origin of Premature Ventricular Contractions Using Magnetocardiographic Approach

井上 優子
Yuko Inoue

国立研究開発法人 国立循環器病研究センター 心臓血管内科・不整脈科
〒565-8565 大阪府吹田市藤白台 5-7-1
Department of Cardiovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center
5-7-1 Fujishiro-dai, Suita, Osaka 565-8565, Japan

Abstract

BACKGROUND: Although several reports address characteristic 12-lead electrocardiographic findings of outflow tract premature ventricular complex (PVC), the accuracy of electrocardiogram-based algorithms to predict the PVC origin is sometimes limited.

OBJECTIVE: To localize the precise origin of PVC, we assessed 3-directional recordings on magnetocardiography (MCG) with high spatio-temporal resolution (64 channels).

METHODS: This study comprised 19 patients with PVCs as the target of catheter ablation. We recorded MCG during PVC and repeated from 3 directions in the supine, prone, and lateral views at a sampling interval of 1 ms. The origin of PVC was defined by catheter ablation procedure and divided into 2 groups (right ventricular outflow tract; RVOT [n=14] and left ventricular outflow tract; LVOT [n=5]). We evaluated the distribution of current flow of 3-D maps on MCG during PVC and the time delays of the PVC onsets in the 3 directions to differentiate RVOT-PVC vs. LVOT-PVC.

RESULTS: In the patients with RVOT-PVCs, supine view showed significantly earlier onset of current than lateral view (RVOT vs. LVOT; 36 ± 6 vs. 15 ± 11 ms, $p<0.00$) and prone view (23 ± 5 vs. 15 ± 3 ms, $p<0.001$) compared with the patients with LVOT-PVCs. The patients with RVOT-PVCs had more left ward current at the end of PVCs.

CONCLUSION: MCG appeared to precisely differentiate RVOT-PVC and LVOT-PVC. Further investigation is required to validate the clinical value of this technique.

Keywords: magnetocardiography, premature ventricular complex, origin

1. 目的(PURPOSE)

特発性の心室性不整脈は、心筋梗塞や心筋症など器質的心疾患のない症例においても認められ、

心臓突然死につながる可能性もある。根治療法としてカテーテル焼灼術が有効である。カテーテル術前に左室もしくは右室のどちらが起源か、その

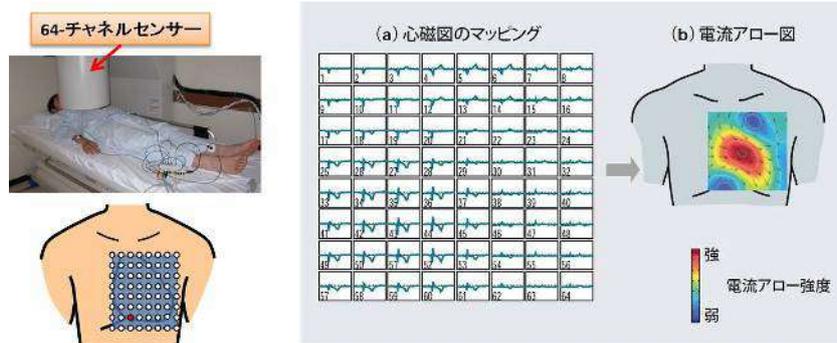


図1:心磁図検査の実際と得られる波形

起源を推測することは、焼灼成功率の向上、術時間の短縮や合併症の減少の観点から大変重要である。

12 誘導心電図を用いて心室期外収縮(PVC: premature ventricular contraction)の発生部位同定が試みられてきたが、その精度はいまだ十分なものとは言えない。心電図は簡便で非侵襲的な計測法であり、広く不整脈の診断に用いられている。胸部誘導では、前胸部の心電情報が6ヶ所記録され、局所の病態が把握できるが、空間的把握が難しい。

一方心磁図は、心臓の各部位から自然に発生する微弱な磁場を64チャンネルの超伝導磁気センサーを用いて1/1000~1/2000秒の高速で測定する。また、磁場に関する透磁率は生体内でほぼ一定であり、磁場は骨や筋肉、脂肪、体液などで乱れることがないため、1次電流の情報を高い精度で着衣のまま非接触で測定可能である。そのため心磁図では心臓内の電流と電位との関係をより正確に計測することが可能と考えられている。

本研究では、時間・空間分解能に優れた64チ

ャンネル心磁計を用いて正面、背面、左側面の3方向から心磁図波形を記録し、PVC時の心臓内の興奮伝導の変化を非侵襲かつ定量的に測定することにより、PVCの起源部位を正確に評価できるかどうか検討を行う。

2. 方法(METHOD)

対象:基礎心疾患のない有症候性のPVCに対するカテーテルアブレーション前に、64チャンネル心磁計(日立, MC-6400)を用いて三方向の心磁図検査を行った患者19名。心室性期外収縮はカテーテルアブレーションの所見より、右室流出路(RVOT, n=14)および左室流出路(LVOT, n=5)起源の2群に分類した。なお、金属や磁性体が体内にある患者は除外した。

心磁図検査(図1):検査は磁気シールドルーム内で行い、3方向(正面、左側面、背面)から記録した。64個の高感度磁気センサーを17.5×17.5cmの範囲に2.5cm間隔で縦8列、横8列に均等に配列し、心臓全体を覆い、各々の領域の磁場を計測し心磁

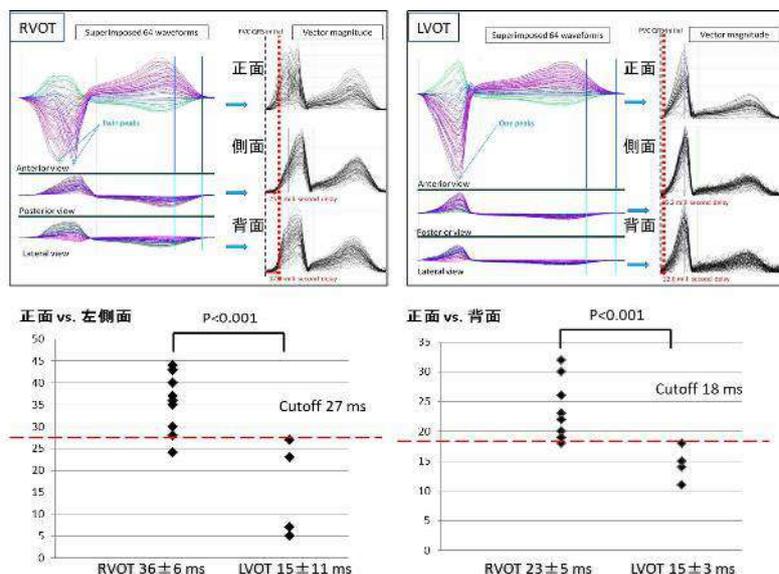


図2:PVCのQRS初期の電流アローの出現

図のマッピング波形を得た(図 1 (a)). ノイズ除去のため 30 秒間の PVC の加算平均を行い, 心電図上の PVC の QRS 各時相にて 3 方向における電流アロー図(図 1(b))を作成し, どのように心臓内を興奮伝播するか視覚化した.

解析方法: RVOT および LVOT 起源の 2 群間で, 下記を比較検討し, 流出路起源の PVC の発生部位を同定することができるかを検討した.

(1)PVC 時の QRS 電流のアロー出現時間の 3 方向における差(正面 vs.側面, 正面 vs.背面)

(2)PVC の QRS 電流開始および終わりの部位

3. 結果(RESULTS)

(1)PVC 時の QRS 電流のアロー出現時間の 3 方向における差(図 2):

正面 vs.側面では, RVOT 群は LVOT 群と比較し, 正面像での QRS の出現が有意に早期であった(RVOT 36±6 vs. LVOT 15±11 msec, $p<0.001$, cutoff 27 msec). 正面 vs.背面では, RVOT 群は LVOT 群と比較し, 正面像での QRS の出現が有意に早期であった(RVOT 23±5 vs. LVOT 15±3 msec, $p<0.001$, cutoff 18 msec).

(2)PVC の QRS 電流開始および終わりの部位(図 3):

心磁図正面像における, PVC の QRS 電流の開始および終焉における「部位・方向」を図 3 に示す. PVC 開始部位は RVOT 群で心右上部に, LVOT 群で心左上部に集中していたが, 一部重複するものもあった(図 3 左). また PVC の終わりの部位は RVOT 群で左下部に左下向き, LVOT 群で右下部に集中する傾向があったが, これに関しても一部重複するものがあった(図 3 右).

4. 考察(DISCUSSION)

今回の研究では, MCG の磁場時間波形表示および電流アロー表示を用いることにより, 流出路起源の PVC の発生部位を分離, 同定することができた. RVOT-PVC では LVOT-PVC と比較して正面像にて早期に QRS 電流が見られたが, その理由として解剖学的に PVC 起源が体表面前面に近いことに由来していると考えられた. また QRS 終わりの部位も鑑別に有用と推測されたことが今回新たな発見であった.

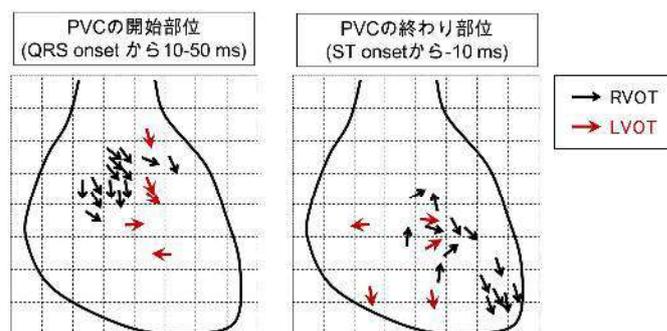


図3:PVCの心磁図電流アロー図(正面像のみ)

カテーテルアブレーション術前に PVC 同定可能となれば, 術時間の短縮や合併症の減少と焼灼成功率の向上の点で大変重要である. 今回は RVOT および LVOT に限定し検討を行ったが, 今後他の部位から発生する心筋症や陳旧性心筋梗塞に合併する心室頻拍などにも応用可能と考えられ, 突然死の予防など先制医療として有用である.

我々は心磁図を用いた新しい非侵襲的な診断方法が, 様々な不整脈や心不全などの循環器疾患の病態や予後予測に有用であることを報告してきた¹²⁾. 心臓から得られる磁気の変化は心臓の異常な電気活動をよく反映し, 心臓の病気を正確に診断できるのではないかと期待される.

謝辞

この研究は磁気健康科学研究振興財団の補助を受けて実施したものである.

参考文献

- 1) Kimura Y, et al: Circ J. 2017;82(1):78-86.
- 2) Kawakami S, et al: Circ J. 2016;81(1):44-51.

過冷却状態において変動磁場印加が

生体・臓器にもたらす作用メカニズムの解明

Effect of a magnetic field on biological tissue under supercooled conditions

内藤宗和

Munekazu Naito

愛知医科大学医学部解剖学講座, 〒480-1195 愛知県長久手市岩作雁又 1 - 1

Department of Anatomy, Aichi Medical University

Abstract

Under subzero degree conditions, free water contained in biological cells tends to freeze and then most living things die due to low temperatures. We have examined the effect of a variable magnetic field on *Drosophila* under supercooled conditions (a state in which freezing is not caused even below the freezing point). The aim of this study is the evaluation of effect of magnetic field on biological tissue in vitro state under supercooled conditions using cultured cardiac myocyte. The result indicates a possibility that the magnetic field can reduce cell damage caused due to low temperatures in living things.

Keywords: magnetic field, supercooled, cultured cardiac myocyte

1. はじめに

通常、水は 0°C で液体から固体へ凝固する。しかし、プログラムフリーザーを使用して水温を徐々に下げると、0°C を下回っても液体から固体へ相変化が起こらない過冷却状態が起こる。我々は過去に、プログラムフリーザーを用いて過冷却状態を引き起こすと同時に、変動磁場を印加することで、冷却保存時における磁場の生体への影響を調査してきた。その結果、0.5mT の変動磁場を印加した過冷却状態では、ショウジョウバエを -2°C で 12 時間、-4°C で 6 時間、-6°C で 1 時間保存した後、それらが優位に生き残ることを明らかにした¹⁾。しかしながら、その作用メカニズムは未だ不明である。

生体組織の過冷却保存に関する研究に関して、Monzen らは 100Volt および 500Volt の電圧を加えた過冷却状態 -4°C で心臓、肝臓および腎臓を保存すると、移植後の臓器の質が向上することを明らかにした²⁾。また、Okamoto らは、3000volt の電

圧を加えた過冷却状態 -2°C で肺を保存すると、4°C で保存するよりも再灌流障害が明らかに減少するとしている³⁾。これらの研究により、生体組織の保存において過冷却状態は非常に有効であることが示唆されており、前述した変動磁場と組み合わせることで、全く新たな生体組織保存法の確立が期待できるといえる。本研究では基礎研究として、過冷却状態における変動磁場の作用メカニズムを明らかにするために、ラット心筋細胞を用いた *in vitro* 試験を行い、変動磁場印加の有無によるミトコンドリア活性の評価を行った。

2. 方法

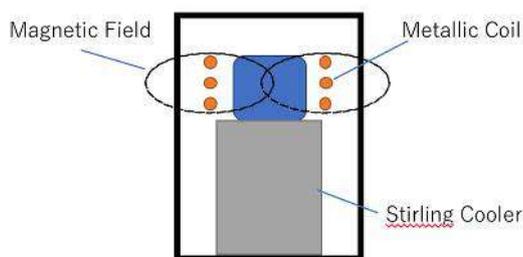
ここではラット心臓由来 H9c2 株化細胞を用いて過冷却下変動磁場印加の有無による細胞増殖能変化を評価する。H9c2 細胞の培養には、ウシ胎児血清を 10% 含む高グルコース型 Dullbecco's modified Eagle's medium (DMEM 培地) を用いた。実験に使用する細胞は 3cm シャーレで培養し、

100%confluence となった時点で接着したままプログラムフリーズおよび変動磁場印加を行った。図1に用いたプログラムフリーザーの概要図を示す。冷却速度を1°C/min, 過冷却維持温度を-6°Cに設定し, 変動磁場の周波数および磁束密度はそれぞれ30Hz, 0.5mTとした。

3. 結果

図2に過冷却下における磁場印加の有無による細胞の接着様相を示す。細胞は室温(22°C)で復温した後, DAPI(DNAに対して結合する蛍光色素の一種)染色しており, 陽性(生細胞)を白色で表示している。図2(a)に示す細胞は磁場印加を行っておらず, プログラムフリーズのみを行った群(control群, n=12)の一例であり, 図2(b)に示す細胞はプログラムフリーズと同時に磁場を印加した群(実験群, n=12)の一例である。control群では死細胞(図中の黒色)が占める領域が点在しており, 明らかに過冷却による低温障害を受けていることがみてとれる。control群に対して磁場を印加した群では, 過冷却状態においても死細胞が増加しておらず, 細胞生存率が向上していることがわかる。

次に, control群と実験群において細胞の生存率を定量するために, MTTアッセイを行った。MTTは, 生細胞のミトコンドリアにおいて開裂し, ホルマザン(晴青色)を生成する。このホルマザンを吸光度計により計測することで, ミトコンドリア酵素活性を評価できる。図3に両群の生存率を示す。変動磁場を印加した群においては, control群と比べて細胞生存率が有意に向上しており, 変動磁場による生体組織への保護効果が示せたといえる。



System of program freezer using magnetic field

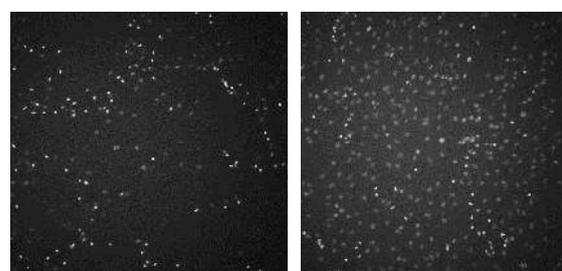
図1 冷凍機における変動磁場印加システム

4. 考察

本研究では *in vitro* 試験によって, 変動磁場の作用メカニズムの解明に迫った。今後は, 保存後の細胞についてメタボローム解析を行い, 変動する代謝経路を明らかにすることで, さらなるメカニズムの解明を目指す予定である。またショウジョウバエのみならず, ラットの細胞レベルにおいても, 過冷却保存時の低温障害を改善・回避できることが示唆されたことから, 今後様々な臓器への応用が期待される。

参考文献

- 1) M., Naito, et al.: Effect of a Magnetic Field on Drosophila under Supercooled Conditions, PLOS ONE, 7, (2012).
- 2) K., Monzen, et al.: The use of a supercooling refrigerator improves the preservation of organ grafts. BiochemBiophys Res Commun 18, (2005).
- 3) T., Okamoto, et al.: Successful sub-zero non-freezing preservation of rat lungs at 22 degrees C utilizing a new supercooling technology. J Heart Lung Transplant. 27, (2008).



(a) control (b) with magnetic field

図2 DAPI染色による細胞生存率の評価

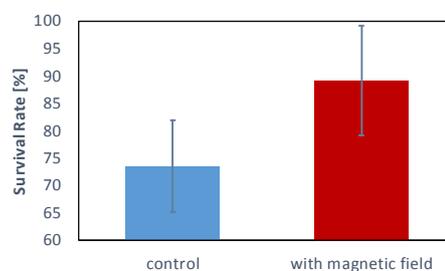


図3 MTTアッセイによる生細胞率評価

平成29年度 研究助成テーマ

平成29年度は、以下のように、基礎2名・応用8名・テーマ指定2名の研究に対し助成が決定いたしました。

I. 基礎研究

I-1. 磁気力制御による新生血管閉塞療法の開発

大阪大学大学院 工学研究科 環境・エネルギー工学専攻／秋山 庸子

I-2. 光と磁場の同時暴露が麹菌の産生する酵素活性へ及ぼす効果の研究

広島大学大学院 理学研究科／藤原 好恒

II. 応用研究

II-1. 脳卒中後の肩関節亜脱臼と運動機能に対する磁気刺激の効果

藤田保健衛生大学 医療科学部／藤村 健太

II-2. 磁気誘導全消化管カプセル内視鏡の開発

藤田保健衛生大学 消化管内科／大宮 直木

II-3. 新たなパルス波形を用いた経頭蓋磁気刺激が健常者および神経疾患患者の運動機能に与える影響

東京大学医学部附属病院 神経内科／代田 悠一郎

II-4. 核磁気共鳴画像法 (MRI)による肺癌・悪性胸膜中皮腫の診断と治療効果判定、およびその分子生物学的病態の解明

金沢医科大学 呼吸器外科学／薄田 勝男

II-5. 脳磁図を用いたパーキンソン病の非運動症状の基盤となる神経回路網の解明

大阪大学大学院 医学研究科 脳神経外科学講座／田中 将貴

II-6. アイコンタクト可能な対面インタフェースを備えたDual脳磁計の構築

北海道大学大学院 医学研究院 児童思春期精神医学分野／柳生 一自

II-7. 発達障害の社会性の障害に対する経頭蓋磁気刺激法の開発

昭和大学 発達障害医療研究所／藤野 純也

II-8. 皮膚から得られる生態情報の磁気センシング

東京工業大学大学院 物質科学創造専攻／北本 仁孝

III. 指定テーマ研究

III-1. 頭頂連合野に対する静磁場刺激による半側空間無視症状の改善効果を検討する

広島大学大学院 医歯薬保健学研究科 感覚運動神経科学教室／桐本 光

III-2. 反復磁気刺激法を応用した本態性高血圧予防法および治療法の開発

国士舘大学 体育学部 スポーツ医科学科・救急システム研究科／羽田 克彦

なお、所属は研究助成決定当時のものです。

助 成 研 究 成 果 報 告 書
平成28年度

発 行 日 平成30年9月5日
発 行 所 公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団
 福岡県福岡市中央区天神1-13-17
 TEL 092-724-3605
 FAX 092-724-3690
印 刷 三栄印刷株式会社

より明瞭なカラーデータの図表をご希望の方はサイト(<http://www.maghealth.or.jp/>)に掲載しておりますのでご覧下さい。



この印刷物は、環境に配慮した
ベジタブルインクを使用しています。