

博士論文

高温超伝導 SQUID を用いた磁気ナノ粒子の
磁気緩和ダイナミクス評価と応用探索

2025 年 3 月

山下 慶

岡山大学大学院ヘルスシステム統合科学研究科

概要

世界的に QOL(Quality Of Life)を向上させる取り組みが広がり、医療分野においても低侵襲治療検査・技術の開発を通じた QOL 向上が進められている。その中で非侵襲治療および検査技術に応用可能な医療材料として磁気ナノ粒子がある。磁気ナノ粒子は磁場に対して磁気ナノ粒子自体が回転することにより応答する **Brown** 緩和、および磁気ナノ粒子内部の磁気モーメントを回転させて応答する **Neel** 緩和を使って応答する特性がある。これらの磁気緩和ダイナミクスを活かして、体内の腫瘍を画像化する磁気粒子イメージングやバイオマーカーを定量計測する磁気免疫検査などが開発されてきた。しかし、磁気ナノ粒子が血液中に添加されると、凝集が生じ、これにより磁気緩和ダイナミクスが変化し、検査の精度及び感度が低下する課題があった。本論文では血清、血漿、全血液、塩化ナトリウム溶液、塩化カルシウム溶液、グリセリン溶液と様々な溶媒中の磁気緩和ダイナミクスを評価し、凝集による磁気緩和ダイナミクスの変化を明らかにするとともに、血液凝固検査への応用可能性を示した。

第 1 章では、低侵襲治療・検査技術を実現することが期待される機能性材料として磁気ナノ粒子があり、磁気ナノ粒子の磁気信号を用いた応用開発を進める中で、血液中において磁気ナノ粒子が凝集する現象により検査精度及び感度が悪化する課題があることを示した。

第 2 章では、本論文で用いる各種磁気センサの動作原理について述べた。また、測定対象である磁気ナノ粒子の磁気特性および磁気ナノ粒子の磁気信号を高精度に測定するために用いられる高調波測定の測定原理について述べた。

第 3 章では HTS-SQUID(High Temperature Superconductor - Superconducting Quantum Interference Device)交流磁化率測定装置を用い、血漿や全血液中の **Resovist®** の 3 次高調波信号の経時変化を測定した。その結果、血液中の **Resovist®** の 3 次高調波信号は時間とともに減少し、その経時変化は 2 つの指数関数の和として表されることを示唆した。

次に第 4 章では、磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性を用い、**Debye** モデルに基づいた溶媒粘度の解析を通して、磁気緩和ダイナミクスの評価手法を構築した。周波数特性の測定のため、入力と出力電圧の振幅比および位相差からサンプルの交流磁化率を測定するコイル交流磁化率測定装置を作製した。凝集による磁気緩和ダイナミクスの変化を明らかにするためには、**Brown** 緩和のみに依って応答する磁気ナノ粒子を選定する必要があることを示し、要件を満たす粒子として **BNF dextran** を選定した。さらに、**BNF dextran** の交流磁化率の虚部の周波数特性に対して **Debye** モデルに基づいた近似を行うことにより溶媒粘度、粒子径分布を解析する磁気緩和ダイナミクス評価手法を構築した。構築した評価手法の精度を検証するために、音叉振動式粘度計の測定値との相関をとることによって校正直線を作成し、それを基にグリセリン溶液の粘度推定した結果、500 μL のサンプル量で 8%以下の差で粘度測定が可能であることを示した。

最後に第 5,6 章において、血液凝固の有無が磁気ナノ粒子の磁気信号から判断できることを示した。はじめに、BNF dextran を凝固マーカーとし、構築した磁気緩和ダイナミクス評価手法を用いて、血液凝固と凝集による影響を分離して評価することにより、BNF dextran の凝集が血液凝固により阻害された可能性が示されるとともに、血漿量の減少によりその差は小さくなる傾向が示された。より少ない血漿量で検査するため、HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用い 3 次高調波測定を行ったところ、その現象は少なくとも 40 μL まで血漿を減少させた条件下においても観測できることが示された。

目次

1	序論.....	1
1.1	背景.....	1
1.2	研究目的.....	2
1.3	本論文の構成.....	3
2	磁気計測と磁気ナノ粒子の磁気特性.....	4
2.1	磁気センサ.....	4
2.2	dc-SQUID の原理.....	7
2.3	FLL 回路.....	10
2.4	ロックインアンプによる検出原理.....	13
2.5	磁場と磁性体.....	14
2.6	磁気ナノ粒子.....	17
3.	HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いた血液中の磁気ナノ粒子の磁気信号評価.....	23
3.1	HTS-SQUID 交流磁化率測定装置.....	23
3.2	サンプル調製と実験手順.....	26
3.3	音叉振動式粘度計による粘度測定.....	26
3.4	血液中の磁気ナノ粒子の磁気信号評価.....	28
3.5	まとめ.....	31
4.	磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性を利用した粘度測定システムの開発.....	32
4.1	コイル交流磁化率測定装置.....	32
4.2	粒子径分布を導入した Debye モデルに基づく解析モデル構築.....	35
4.3	交流磁化率の周波数特性を利用した粘度解析.....	38
4.4	粘度計測における開発した手法の現状と今後の展望.....	45
4.5	まとめ.....	48

5. 血液凝固機構と検査法.....	49
5.1 血液凝固機構	49
5.2 血液凝固検査法	51
6. 磁気ナノ粒子を用いた血液凝固検査	53
6.1 血液凝固による交流磁化率の周波数特性への影響評価.....	53
6.2 HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いた血液凝固の検出.....	58
6.3 まとめ	62
7. 総括	63
謝辞	65
参考文献	66
研究業績	73

1 序論

1.1 背景

世界的に QOL(Quality Of Life)という言葉が重要視され、生活の質を向上させる取り組みが広がっている。日本においても 2015 年に「保険医療 2035」と題した提言書が発表され、2035 年までの医療の将来像が提示された。この提言において、”疾病の治癒と生命維持を主目的とする「キュア中心」の時代から、慢性疾患や一定の支障を抱えても生活の質を維持・向上させ、身体的のみならず精神的・社会的な意味を含めた健康を保つことを目指す「ケア中心」の時代へ”という方向性が示され、医療現場でも QOL を重視する方向性が推進されている。医療業界が QOL 向上に貢献するための具体的な取り組みの 1 つとして、治療中および治療後の痛み、発熱・出血などを最小限に抑え、患者への負担を低減する低侵襲治療検査・技術の開発があげられる。代表例としては「ダヴィンチ」などの手術支援ロボットを用いた腹腔内手術によるがん切除がある。この技術により、従来はがんを切除するために 10 ~ 20 cm 程度の大きな傷が必要だった手術が、数 cm 程度の傷を数か所つけるのみで施術を可能となり、患者への負担が大幅に低減されている。手術支援ロボットを用いた手術は 2012 年の前立腺悪性腫瘍手術で初めて保険適用の対象となり、2022 年 4 月の診療報酬改定においても保険適用対象部位が拡大された。このことから、低侵襲治療技術が社会的にも必要とされていることがうかがえる。

このような低侵襲治療、検査を実現することを期待されている機能性材料として磁気ナノ粒子がある[1]。磁気ナノ粒子はナノサイズの主にマグネタイトなどの金属微粒子をポリマーコーティングした粒子であり臨床では、主にバイオマーカーを磁石で分離するための機能性材料として利用されている。ほかに日本では、MRI(Magnetic Resonance Imaging)の造影剤として Resovist®[2]、米国では鉄欠乏症の治療薬として Feraheme®が使用されてきた[3]。磁気ナノ粒子特有の超常磁性というランジュバン関数に基づいた非線形的な磁気特性が解明されるにつれ、低侵襲治療、画像診断、免疫検査など多岐にわたる応用方法が開発されてきた。例えば低侵襲治療への応用としては、抗体を修飾した磁気ナノ粒子をがん細胞と結合させ、交流磁場印加による緩和熱によってがん細胞を死滅させる磁気温熱療法(Hyperthermia)[4-6]、や薬剤を塗布した磁気ナノ粒子を磁石で必要な部位へ誘導するドラッグデリバリー(Drug delivery)がある[7-9]。特に、磁気温熱療法に関しては従来よりも低侵襲な治療法として研究が進められている。また画像診断法としては、磁気ナノ粒子特有の非線形的な磁気応答特性を利用し、3 次高調波信号を測定することで腫瘍と結合した磁気ナノ粒子を高精度に画像化する磁気粒子イメージング法(Magnetic Particle Imaging)の開発が進められている[10-12]。さらに免疫検査においては、従来の光学的手法である ELISA 法(Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)において必要だった未結合抗体の洗浄工程を不要にし、磁気ナノ粒子を検体へ混合させるだけで CRP(C-reactive protein)といったバイオマーカーを定量的に計測できる磁気免疫検査法が開発されてきた[13-15]。現在もこれらの磁気ナノ粒子の

医療応用に向けた研究は盛んにされており、一般社団法人電気学会のバイオ・医療分野における磁気関連技術に関する調査専門委員会によれば、磁気ナノ粒子の世界市場は 2030 年には 1 兆 2300 億円になることが示唆されている。

一般的に磁気ナノ粒子は印加された磁場に対して、コアとなる金属微粒子の磁気モーメントを回転させるか、磁気ナノ粒子全体を回転させることで応答する応答を持つ。このため、印加磁場が高周波になると、磁気ナノ粒子は交流磁場に追従できなくなり、磁気信号が低下するという挙動を示す。コアである金属微粒子の磁気モーメントが回転する動きを **Neel 緩和**、磁気ナノ粒子自身が回転する動きを **Brown 緩和** と呼び、これらの動きは金属微粒子の粒子体積、ポリマーコーティングを含めた磁気ナノ粒子全体の流体力学的体積にそれぞれ依存する。

先述した磁気温熱療法や磁気粒子イメージング法は **Neel 緩和**、磁気免疫検査法は **Brown 緩和** に基づいた現象が主に利用されている。しかし、これらの医療応用に向けた開発を行う上で血液に含まれる赤血球や白血球、脂質、ナトリウム、塩化物イオンなど多様な物質が共存する環境が課題となることがある。特に、磁気ナノ粒子はコロイド溶液であるため、血液等のイオンを含んだ溶液中に添加された場合、磁気ナノ粒子の表面の電荷が中和され、電気二重層によるクーロン力が弱まり、ファンデルワールス力が優勢となることによって、粒子同士が凝集する現象が生じる。この凝集現象は **Neel 緩和** を用いた応用例においては磁気緩和ダイナミクスが金属微粒子の粒子体積のみに依存するため、磁気双極子相互作用等が発生し、交流磁場印加による発熱量の変化が生じる[16]。一方で、**Brown 緩和** を用いた応用例においては、磁気緩和ダイナミクスが流体力学的体積に依存するため、凝集による流体力学的体積の増加が磁気信号の減少を引き起こし、バイオマーカーの検出精度及び感度ともに悪化する[17]。血液中において磁気ナノ粒子が凝集する問題への対策として胎牛血清を用いて血清タンパク質で磁気ナノ粒子表面を覆うことにより、凝集を防ぐ化学的なアプローチが組み込まれているが[18]、凝集による磁気ナノ粒子の磁気緩和ダイナミクスの変化について評価した論文は依然として限られている。これらの背景から凝集による磁気緩和ダイナミクス変化を評価し、その要因を取り除くことにより磁気免疫検査法をはじめとした応用例の感度、精度向上が見込まれる。

1.2 研究目的

そこで本論文では、血清、血漿、全血液、塩化ナトリウム(KCl)溶液、塩化カルシウム(CaCl₂)溶液、グリセリン溶液と様々な溶媒中の磁気ナノ粒子の緩和ダイナミクスを評価し、凝集による磁気緩和ダイナミクスの変化を明らかにした。磁気緩和ダイナミクスの評価には、3 次高調波信号、および交流磁化率の周波数特性を利用した。特に、交流磁化率の周波数特性を評価する際には、**Debye** モデルに基づき定量的に評価した。さらに、構築した磁気緩和ダイナミクス評価手法に基づき、凝集による磁気ナノ粒子の磁気緩和ダイナミクスの変化を評価したうえで、磁気ナノ粒子の応用先を模索した。

1.3 本論文の構成

第1章では、低侵襲治療・検査技術を実現することが期待される機能性材料として磁気ナノ粒子があり、磁気ナノ粒子の応用開発を進めるうえで、血液中において磁気ナノ粒子が凝集する現象が問題となることを示してきた。

第2章「磁気計測と磁気ナノ粒子の磁気特性」では、磁気計測に必要な磁気センサの概要および、検出対象である磁気ナノ粒子の磁気特性の概要について述べる。本論文において磁気センサとして利用した超伝導量子干渉素子(SQUID : Superconducting Quantum Interference Device)の動作原理および SQUID を磁気センサとして機能させるための FLL(Flux Locked Loop)回路の原理について述べる。また、特定周波数成分の信号を取り出すための計測機器として代表的であるロックインアンプの計測原理にも触れる。

第3章「HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いた血液中の磁気ナノ粒子の磁気信号評価」では、高温超伝導である HTS-SQUID および3次高調波測定を組み合わせることにより、高感度に磁気ナノ粒子の磁気信号を検出する HTS-SQUID 交流磁化率測定装置の構成について述べる。そして、溶媒としてグリセリン、NaCl、血清および全血液を用い、サンプル中の磁気ナノ粒子の3次高調波測定の経時変化を測定することによって、血液中の磁気ナノ粒子の磁気信号について評価する。

第4章「磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性を利用した粘度測定システムの開発」では磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性を用いて Debye モデルに基づいた溶媒粘度の解析を通し、磁気緩和ダイナミクスの評価手法を構築した。まず、開発したコイル交流磁化率測定装置の構成について述べ、得られた交流磁化率の周波数特性の結果を定量的に評価するため、Debye モデルに基づいて構築した解析モデルについて述べる。次に、音叉振動式粘度計を用いて、構築した磁気緩和ダイナミクス評価手法を基に開発された粘度測定法の精度を評価した結果を述べる。最後に開発した粘度測定法を含めた磁気ナノ粒子を用いた粘度計測における今後の展望について述べる。

第5章「血液凝固機構と検査法」では、人の止血機能の仕組みと、それを評価する血液凝固検査について述べることによって、本論文が構築した磁気緩和ダイナミクス評価手法を用いて血液凝固検査への応用可能性を示した理由を示す。

第6章「磁気ナノ粒子を用いた血液凝固検査」では、磁気ナノ粒子の磁気信号に基づいて血液凝固の有無を判断する血液凝固検査法について述べる。はじめに、第4章で開発したコイル交流磁化率測定装置および構築した磁気緩和ダイナミクス手法を用いて、血液凝固の有無における検体中の磁気ナノ粒子の磁気緩和ダイナミクスの変化を評価する。次に、HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いて、評価した血液凝固による磁気緩和ダイナミクス変化の再現性を確認するとともに、血液凝固の有無を検出するための最低必要血漿量を推定した。

第7章は本論文を総括する。

2 磁気計測と磁気ナノ粒子の磁気特性

2.1 磁気センサ

センサは，現代の多岐にわたる技術分野において様々な物理現象を電気信号へと評価できる形へと置換するための重要なデバイスである．測定対象物に合わせて超音波，電波，X線，レーザーなど多彩な検出機構によって精密な位置検出，速度測定，電流計測などに利用されている．その中でも非侵襲で社会構造基板物や人体の内部構造を計測できるものとして磁気センサが利用されている．

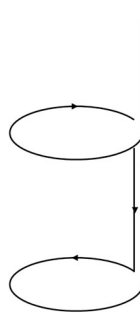


図 2.1.1 グラジオメータの形状

磁気センサにはソレノイドコイルや図 2.1.1 に示すソレノイドコイルを逆相に接続したグラジオメータといった巻き線型のコイルが広く用いられている．巻き線型コイルはファラデーの電磁誘導の法則に基づいて，高周波領域においては高い検出精度をもつ一方で，低周波領域においては $1/f$ ノイズの影響により感度が低下する欠点がある．また，小型化が難しいといった制約も抱えている．これらの理由からホールセンサ，MR(Magneto Resistive)センサ，フラックスゲートセンサといった磁気センサが利用されるようになってきている．さらに，超伝導を利用することにより極低温化でしか用いられないという制約はあるものの，最高感度をもつ超伝導量子干渉素子(SQUID)というセンサが利用される場合が増加している[19]．ホールセンサ，MR センサといった半導体磁気センサは，小型で高感度を特徴とするセンサであり，磁気センサ市場の 98%を占めている[20]．この中で特にホールセンサは約 10^{-5} から 1 T の範囲内と強度の強い磁場計測に適したセンサである．検出原理としては，磁場の方向と電流の流れる方向の両方に垂直な方向に電圧が生じるホール効果を利用しており，発生するホール電圧と印加磁場の線形対応から磁場を計測する．一方，MR センサは，磁場により抵抗値が変化する現象である磁気抵抗効果を利用したセンサであり，異方性磁気抵抗効果を利用した AMR (Anisotropic Magneto-Resistance Sensor)センサ[21]，巨大磁気抵抗効果を利用した GMR(Giant Magneto-Resistance Sensor)センサ[22]，トンネル磁気抵抗効果を利用した TMR(Tunnel Magneto-Resistance Sensor)センサの 3 種類に大別される[23]．AMR センサは磁気エンコーダ，GMR センサはハードディスクの磁気ヘッド，TMR センサは角度センサ等

に用いられている．これらの感度，分解能は表 2.1.1 に示す．特に TMR センサは磁気シールドなしで 1.0 pT の心磁場検出を達成した研究が報告されており，高感度化が進められている MR センサとなっている[24]．

表 2.1.1 磁気抵抗効果を利用した MR センサの感度，分解能

	Sensitivity (ppm/(A/m))	Resolution (nT/ $\sqrt{\text{Hz}}$)
AMR [21]	52.77	150
GMR [22]	85.45	2.7
TMR [23]	414.78	0.95

フラックスゲートセンサは励磁巻き線，軟磁性コア，検出巻き線の 3 つで構成されるコンパクトな構造をもつセンサである．このセンサは，シンプルでコンパクトでありながらオープンループ制御の場合は 0.75 pTrms/ $\sqrt{\text{Hz}}$ ，クローズドループ制御の場合は，1.5 pTrms/ $\sqrt{\text{Hz}}$ と心磁場を計測できる程度の分解能を達成したことが報告されている[25]．

SQUID は，超伝導リングの間にジョセフソン接合を挟み込むことによりジョセフソン効果を利用して微弱な磁場を測定する高感度な磁気センサである．ここで，ジョセフソン効果とは，2 つの超伝導の間に薄い絶縁膜をはさんで電流を流すときに臨界電流を超えると電圧が発生するという効果である．リング内の磁束は量子化されており，磁束は基本量子である

$\varphi_0 = \frac{ch}{2e} \cong 2 \times 10^{-7} \text{ gauss cm}^2$ (c : 真空中の光速， h : プランク定数， e : 電気素量) の整数倍

の値のみ読み取ることができる．SQUID は，この磁束の周期的な変化を利用して超伝導リングに流れる電流を測定する．

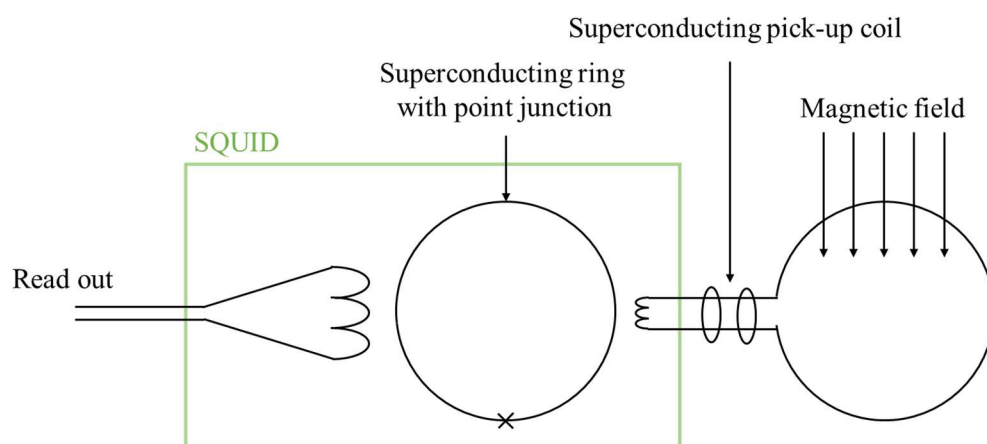


図 2.1.2 SQUID の概要図

図 2.1.2 に示す通り一般的に超伝導リングは高周波回路に誘導結合され、既知のバイアス磁場を提供し、検出器の出力として機能する[26]。磁場の変化はデジタル FLL(Flux Locked Loop)回路のように磁束の量子化の結果生じるピークを数えることにより測定することもできるが本論文では、1 つのピークにロックするためのフィードバックループを採用し、SQUID の ϕ -V 特性を線形化するアナログ FLL 回路を利用している[27]。

SQUID の種類としては、低温超伝導を用いた LTS-SQUID (Low Temperature Superconductor-SQUID)及び高温超伝導を用いた HTS-SQUID (High Temperature Superconductor-SQUID)及び、ジョセフソン接合を 1 つもつ rf-SQUID、2 つもつ dc-SQUID がある。LTS-SQUID は液体ヘリウムを用いるため、ランニングコストは高いが、HTS-SQUID よりも感度が高く、逆に HTS-SQUID は液体窒素により超伝導状態にすることが可能なため、ランニングコストは低くなるという特徴をもつ。rf-SQUID と dc-SQUID に関しては、rf-SQUID が dc-SQUID に比べて構造が簡単で外乱に強いという性質を持っていたが、感度は劣っていることおよび、ジョセフソン接合の作製技術も進歩し dc-SQUID の小型化も進んできたため、dc-SQUID が一般的に用いられている[28]。

これらの磁気センサを適切に用いるためには電場や磁場によるノイズ対策が必要な場合がある。ノイズ対策としてはケーブルにツイストケーブルや BNC ケーブルなどを使用することやノイズ発生源から距離を置くことも必要であるが、近傍界領域では磁場が距離の累乗に反比例して減衰する特性があるため、これに加えてシールドを施すことも多い。シールド方法はノイズの周波数特性や電場、磁場、電磁波の種類、ノイズを伝える形態によって静電シールド、磁気シールド、電磁誘導による磁気シールド、電磁波に対する電磁シールドと使い分ける必要がある。静電シールドはシールド対象を接地した導体で囲み込むことにより電場によるノイズ源を遮断する方法、磁気シールドはパーマロイといった透磁率の高い材料で必要な厚みを持たせて磁気抵抗を低くすることにより、磁場によるノイズを入りづらくするシールド方法、電磁誘導により磁気シールドはノイズ源との間に導体を挟み込むことにより磁場ノイズが印加されたとき、電磁誘導により誘起される渦電流により磁気ノイズを低減させる方法、電磁波に対する電磁シールドは、導電性のある材料で隙間なく覆い囲むことにより電磁波を遮断する方法を示す。

これらの 4 種類のシールド対策において電磁波に対する電磁シールドに該当する対策が広く行われているが、電磁誘導による静電シールドによるノイズ対策のみを行う場合は、シールド対象を隙間なく多い囲む必要がないため、ノイズ源に応じた対策を行うことによりコスト低減にもつながる。また、磁場ノイズに対して対策を行うことを考えた場合、磁気シールドに対する対策で一般的に用いられるパーマロイが高周波になるにつれて透磁率が低くなる周波数特性を持つため、電磁誘導による磁気シールドとの対策を併用してノイズ対策を行うことが必要な場合がある[29]。

2.2 dc-SQUID の原理

本論文では磁気ナノ粒子の 3 次高調波を測定するために dc-SQUID の構造をもつ HTS-SQUID を利用した HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いている．そのため，dc-SQUID の動作原理について説明する．

dc-SQUID の原理図において外部磁場を入れない場合を図 2.2.1(a)に外部磁場を入れた場合を図 2.2.1(b)に示す．ここで， I_r ， φ は外部からこの dc-SQUID へ流入する直流電流および印加する磁場である．また， I_{r1} ， θ_1 は左側のジョセフソン接合 1 の超伝導電流の位相差であり， I_{r2} ， θ_2 は右側のジョセフソン接合 2 の超伝導電流の位相差である．

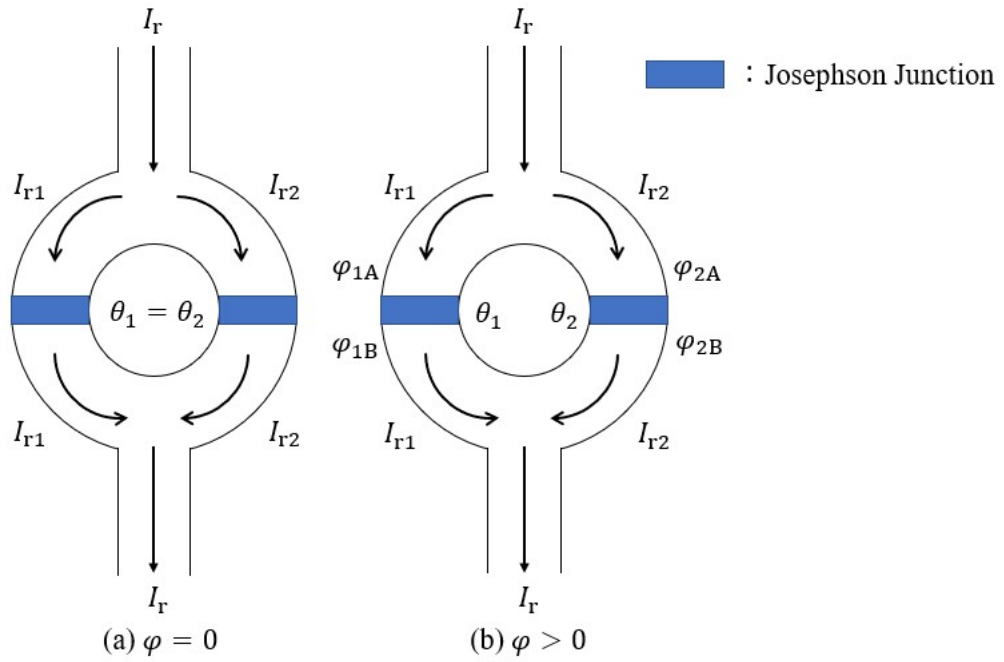


図 2.2.1 (a) 外部磁場無印加時, (b) 外部磁場印加時における dc-SQUID の原理図

まず，外部磁場を印加しない場合について考える．ここでジョセフソン接合を流れるジョセフソン電流 I はジョセフソン接合間の位相差を θ ，超伝導電流を I_c とした場合に次のように表される．

$$I = I_c \sin \theta \quad (2.2.1)$$

したがって，外部磁場を印加しない場合，二つの接合の性質が等しいと仮定したとき，超伝導電流は両方のジョセフソン接合を同じように流れるので次式が成立する．

$$I_{r1} = I_{r2} = I_{c1} \sin \theta_1 \quad (2.2.2)$$

$$I_r = I_{r1} + I_{r2} = 2I_{c1} \sin \theta_1 \quad (2.2.3)$$

ここで， I_{c1} はジョセフソン接合 1 の臨界電流である．したがって，(2.2.3)式よりジョセフソン接合に流れる電流が臨界電流以下の場合，電位差は生じることなく位相差に対して一定である．

次に、外部磁場を印加する場合について考える。超伝導電流は外部磁場によって影響を受けるため、ジョセフソン接合 1 に流れる電流 I_{r1} と接合 2 を流れる I_{r2} は実効的に変化する。また、ジョセフソン接合の両端の位相も変化するため接合 1 では φ_{1A} と φ_{1B} 、接合 2 では φ_{2A} と φ_{2B} になったと仮定すると接合 1, 2 における位相差 θ_1 , θ_2 は次式で表される。

$$\theta_1 = \varphi_{1B} - \varphi_{1A} \quad (2.2.4)$$

$$\theta_2 = \varphi_{2B} - \varphi_{2A} \quad (2.2.5)$$

また、超伝導電流 I_{r1} と I_{r2} は位相差 θ_1 , θ_2 を用いて示すと次式で表される。

$$I_{r1} = I_{c1} \sin \theta_1 \quad (2.2.6)$$

$$I_{r2} = I_{c2} \sin \theta_2 \quad (2.2.7)$$

I_{c2} はジョセフソン接合 2 の臨界電流である。したがって、(2.2.6), (2.2.7)式よりリングを通して外へ出力される超伝導電流 I_r は次式で表される。

$$I_r = I_{r1} + I_{r2} = I_{c1} \sin \theta_1 + I_{c2} \sin \theta_2 \quad (2.2.8)$$

ジョセフソン接合 1 と接合 2 が全く等しい性質を示すジョセフソン接合と仮定した場合、 I_{c1} と I_{c2} は等しいため(2.2.8)式は次式で表される。

$$I_r = I_{c1} (\sin \theta_1 + \sin \theta_2) = 2I_{c1} \sin \frac{\theta_1 + \theta_2}{2} \cos \frac{\theta_1 - \theta_2}{2} \quad (2.2.9)$$

式(2.2.9)より dc-SQUID から出力される超伝導電流 I_r は、二つの三角関数の積で表されているため二重に周期的な変化をする。ここでジョセフソン接合 1 と接合 2 の位相差は流れる電流値が最大値となるような位相差をとることができるため超伝導電流の最大値 I_{rmax} は、次式で表される。

$$I_{rmax} = 2I_{c1} \left| \cos \frac{\theta_1 - \theta_2}{2} \right| \quad (2.2.10)$$

したがって、(2.2.10)式より超伝導電流の最大値 I_{rmax} は、ジョセフソン接合の位相差の差である $\theta_1 - \theta_2$ に依存して変化することが分かる。

ここで、位相差の差である $\theta_1 - \theta_2$ を求めるため、磁束の量子化について考える。中心線の長さが s の超伝導リングで生じる磁束の量子化では次式が成立する。

$$2\pi n \hbar = \frac{m}{n_s} \oint J_s ds + 2q \oint \mathbf{A} ds \quad (2.2.11)$$

n は整数、 m は電子の質量、 n_s は電子対の密度、 J_s は超伝導電流、 q は電子の電荷、 $\mathbf{A}$ はベクトルポテンシャルを示している。

ここで、超伝導電流 J_s の寄与は無視できるとする。また、外部磁場による二つのジョセフソン接合の位相変化とベクトルポテンシャルを通しての位相変化のみを考え、両方の寄与を差し引いた成分が磁束の量子化を満たすとする。外部磁場による二つのジョセフソン接合の位相変化は

$$\hbar(\varphi_{1B} - \varphi_{1A}) - \hbar(\varphi_{2B} - \varphi_{2A}) \quad (2.2.12)$$

となる。次にベクトルポテンシャル $\mathbf{A}$ による位相変化はストークスの定理より

$$2q \oint \mathbf{A} d\mathbf{s} = 2q \int_S (\nabla \times \mathbf{A}) d\mathbf{S} = 2q \int_S \mathbf{B} d\mathbf{S} = 2q \quad (2.2.13)$$

となる．ここで， $\mathbf{B}$ は磁束密度， φ は外部磁場を示している．したがって，(2.2.12)式と(2.2.13)式より(2.2.11)式は次式の通り示される．

$$2\pi n \hbar = \hbar(\varphi_{1B} - \varphi_{1A}) - \hbar(\varphi_{2B} - \varphi_{2A}) - 2q\varphi \quad (2.2.14)$$

(2.2.4)式と(2.2.5)式より $\theta_1 - \theta_2$ は次式で表される．

$$\theta_1 - \theta_2 = \frac{2q}{\hbar} \varphi + 2\pi n \quad (2.2.15)$$

したがって，(2.2.15)式より dc-SQUID の最大出力電流 I_{rmax} は(2.2.10)式を用いて次式で示される．

$$I_{\text{rmax}} = 2I_{c1} \left| \cos \frac{\theta_1 - \theta_2}{2} \right| = 2I_{c1} \left| \cos \frac{\pi \varphi}{\varphi_0} \right| \quad (2.2.16)$$

磁束量子 $\varphi_0 = h/2q$ として磁束量子 φ_0 が使われている．(2.2.14)式より外部磁場と最大出力電流は図 2.2.2 に示すようになる．図 2.2.2 より外部磁場が磁束量子 φ_0 変わることにより最大出力電流は，周期的に変化することが考えられる．

次に，外部磁束の検出について説明する．外部磁束の検出では，ジョセフソン接合において直流電流の値が臨界電流の値を超えれば，接合の両端に電圧が発生する性質を利用して

いる．ここで，バイアス電流として臨界電流 I_c 以上の直流電流 I_1 を流す状態で外部磁束 φ_{ex} を変化させるときについて考える．この場合，図 2.2.3 に示すように $\varphi_{\text{ex}}/\varphi_0 = n$ の曲線を上限， $\varphi_{\text{ex}}/\varphi_0 = n + 1/2$ の曲線を下限として dc-SQUID の両端に周期的な電圧が発生する．このようにして得られる電圧の振幅を ΔV としたとき ΔV は次式で示される．

$$\Delta V \cong R_d \Delta I_{\text{max}} \quad (2.2.17)$$

ここで R_d は動作抵抗である[30]

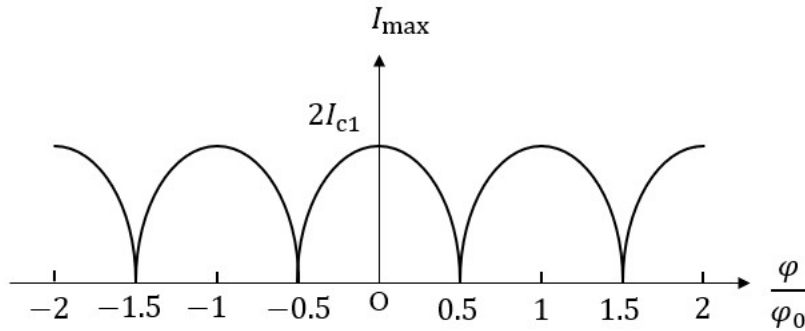


図 2.2.2 dc-SQUID を流れる最大電流の磁束依存特性

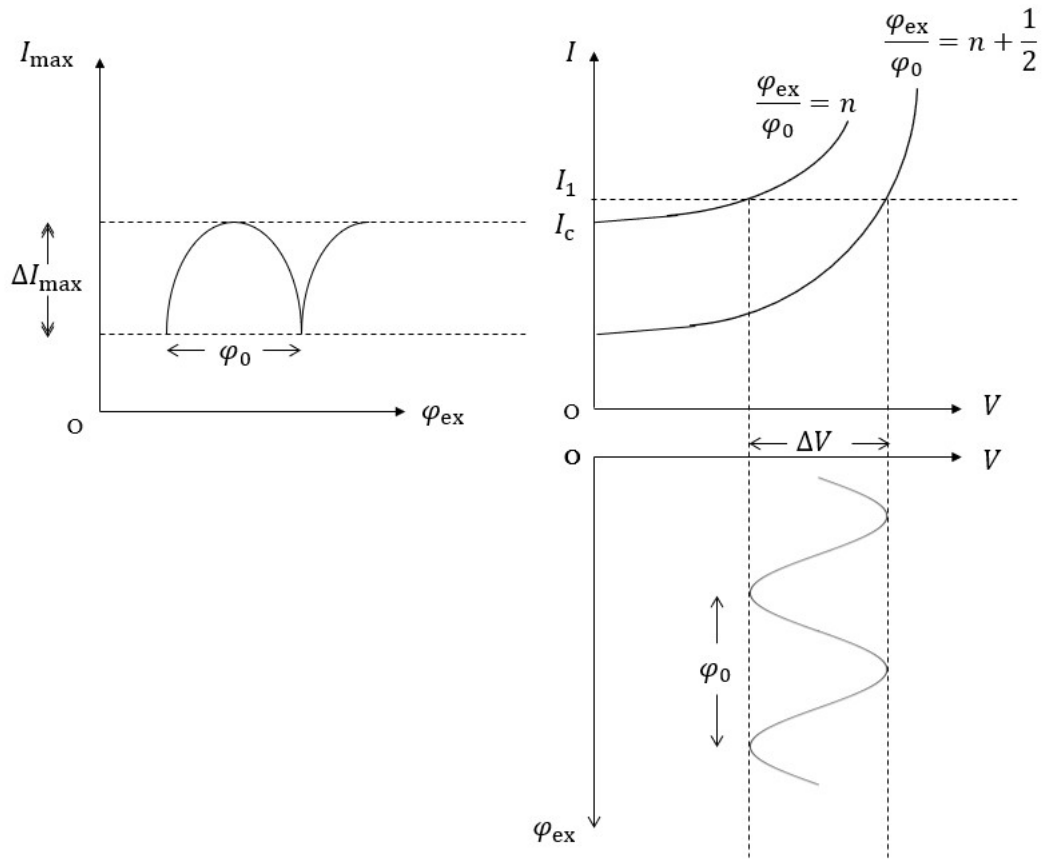


図 2.2.3 dc-SQUID の検出原理図

2.3 FLL 回路

式(2.2.15)に示したように SQUID から得られる電圧は非線形かつ周期的に変化するため SQUID は、非線形の伝達関数を備えた磁束/電圧コンバータであることがわかった。そこで、2.2 節でも示した通り FLL 回路を用いることによって線形的に変化させる必要がある。本論文では、フィードバック回路によって SQUID の ϕ - V 特性を線形化するアナログ回路を用いているためこれについて述べる。アナログ FLL 回路には、直接読み出し型と磁束変調読み出し型の 2 種類がある。磁束変調読み出し型は、直接読み出し型に比べて古く一般的に用いられているのに対し、直接読み出し型は、生体磁気計測回路を簡素化するために 1990 年代初頭に開発された。

まず、図 2.3.1 に ϕ - V 特性を図 2.3.2 に直接読み出し型の基本回路図を示す。図 2.3.1 のように直接読み出し型では、SQUID は最も ϕ - V 特性が急な領域である固定動作点 W において線形的に動作させる。また、直接読み出し型の回路については図 2.3.2 のとおり SQUID からの出力電圧と動作点の電圧の電圧差はプリアンプにより増幅された後、積分器により積分され、フィードバック抵抗と相互インダクタンスを介して SQUID にフィードバックされる。フィードバック抵抗の両端電圧は、線形化された出力信号となっている。FLL の伝達関数は、SQUID の動作点には依存せず、フィードバック抵抗と相互インダクタンスに依存す

る．直接読み出し型は，構造が簡素であるが SQUID によるノイズとプリアンプによる $1/f$ ノイズの影響を受けるという問題がある．

次に，図 2.3.3 に φ - V 特性を図 2.3.4 に磁束変調読み出し型の基本回路図を示す．磁束変調読み出し型では，図 2.3.3 に示すように磁束変調のため，通常 100 kHz から 500 kHz の周波数の方形波変調磁束 φ_{mod} が SQUID に適用され φ - V 特性に示す W^+ と W^- の間で動作点が周期的に切り替えられる．

ここで，SQUID に磁場が印加されていないときの交流電圧が 0 と仮定し，SQUID 内の磁場が増磁したときについて考える．このとき，SQUID の出力電圧は，図 2.3.3 に示すように変調磁束と位相ずれを起こした方形波 SQUID 電圧波形になる．同様に，SQUID 内の磁場が減磁したときについて考えたとき，SQUID の出力電圧は，変調磁束と同位相である方形波 SQUID 電圧波形になる．したがって，変調周波数により SQUID の出力電圧を同期的に検出することにより印加された磁束を検出する．

また，磁束変調読み出し型の回路については図 2.3.4 のとおり SQUID からの出力電圧を昇圧変圧器によって電圧を増幅させ，さらにプリアンプにより増幅された後，ロックインアンプにより変調周波数成分のみを取得する．ロックインアンプによって取得した変調周波数成分は積分器を通して積分されフィードバックコイルを通して SQUID にフィードバックされている．直接読み出し型と同様にフィードバック抵抗の両端の電圧が線形化された出力信号となっている．磁束変調読み出し型では，SQUID のノイズが最小値となるような動作点で線形的に動作させるためノイズの影響は直接読み出し型に比べて小さくなる．また，プリアンプの低周波ノイズに関しては SQUID に直流オフセットのみを生成し，変調周波数に交流成分を生成しないため磁束変調を行うことにより抑制される．

したがって，直接読み出し型に比べて精度の高い φ - V 特性を得ることができ，一般的に広く使用されている[31]．

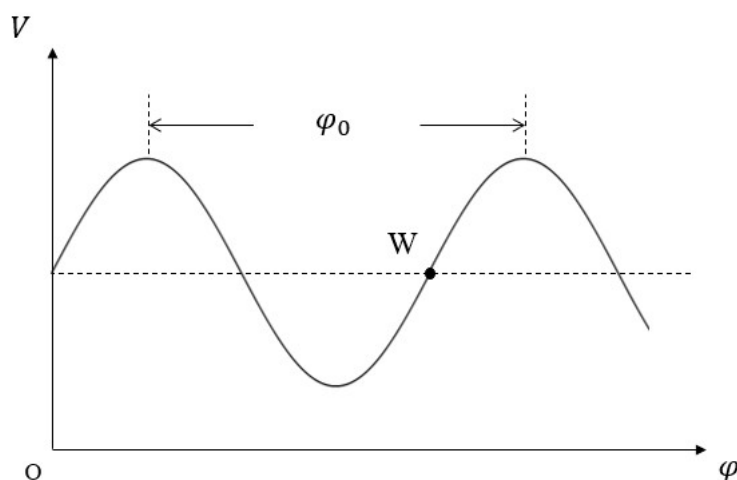


図 2.3.1 磁束読み出し型における φ - V 特性

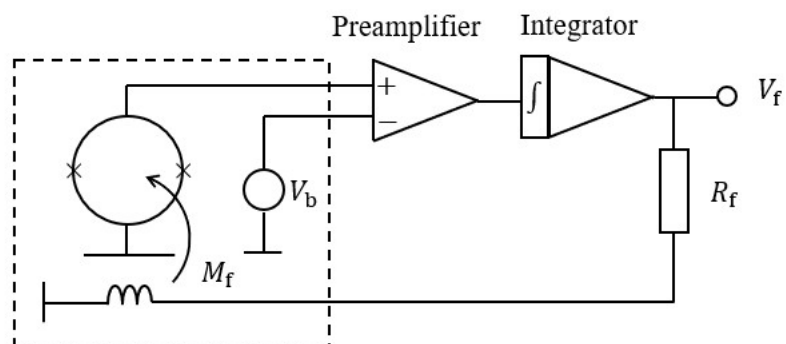


図 2.3.2 磁束読み出し型の回路図

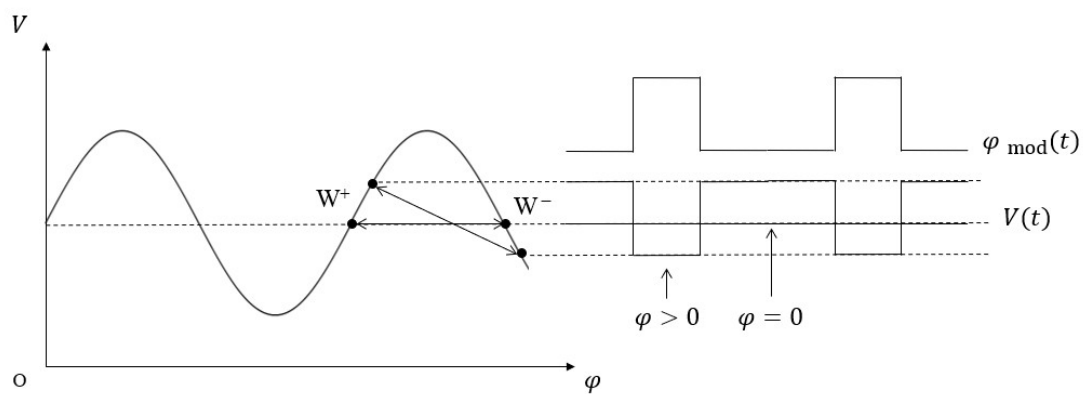


図 2.3.3 磁束変調型における φ - V 特性

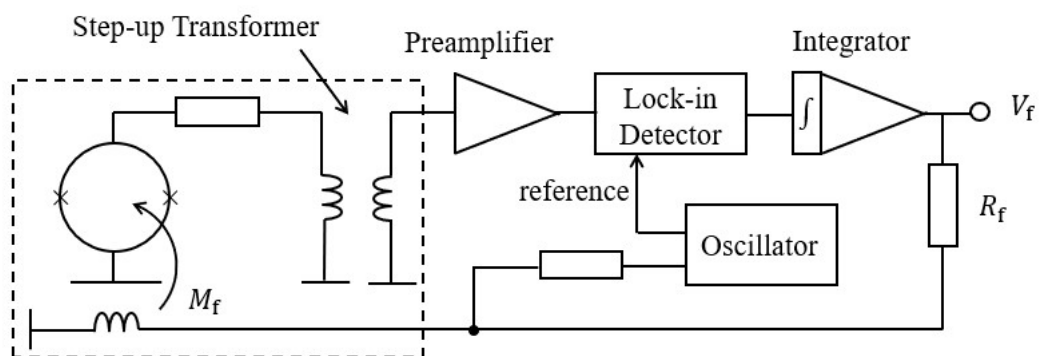


図 2.3.4 磁束変調型の回路図

2.4 ロックインアンプによる検出原理

本論文で開発したコイル交流磁化率測定装置において磁気信号を解析するためにロックインアンプを利用している。ロックインアンプとは雑音に埋もれた微小な信号を検出するために用いられてる。特定の周波数のみの信号を検出したい場合には、狭帯域のバンドパスフィルタを実装することも考えられるが、測定したい周波数を変更するたびに個別のフィルタを実装することは手間がかかることや極めて帯域幅が狭くて、安全なバンドパスフィルタを実現することは部品の温度依存性もあり困難であるという点から特定の周波数成分を検波したいときにロックインアンプが利用される。ロックインアンプの概要図を図 2.4.1 に示す。図 2.4.1 に示された通り、ロックインアンプは位相検波器(Phase Sensitive Detector)を用いて信号成分を直流成分に変換し、ローパスフィルタ(Low Pass Filter)を通すことによって直流成分を取り出すという仕組みとなっている。

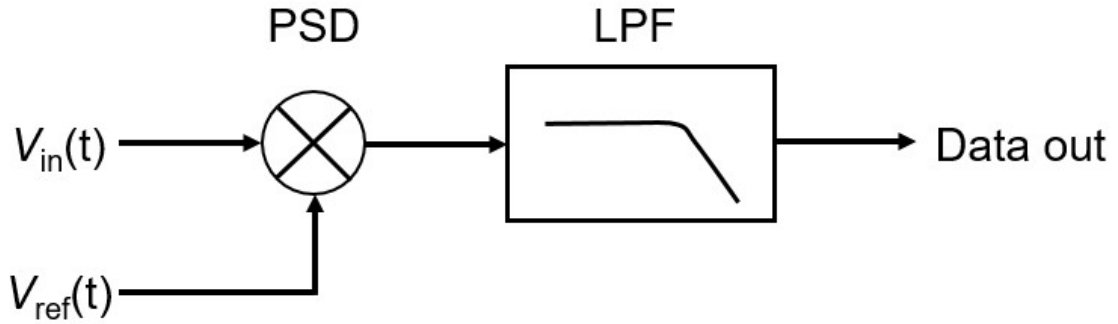


図 2.4.1 ロックインアンプの概要図

例えば、磁気信号を $V_{in}(t) = R\sin 2\pi f_{in}t$ 、参照信号として印加周波数成分と同じ周波数成分を持った $V_{ref}(t) = \sin 2\pi f_{in}t$ と位相差がない場合、位相検波器により掛け合わされると

$$V_{in}(t) \times V_{ref}(t) = R \sin(2\pi f_{in}t) \sin(2\pi f_{in}t) = \frac{R}{2} (\cos 0 - \cos(2\pi \cdot 2f_{in}t)) \quad (2.4.1)$$

の信号が出力される。式(2.4.1)より印加周波数 f_{in} の 2 次高調波成分 $2f_{in}$ をローパスフィルタにより取り除くことによって直流成分を取り出せることがわかる。したがって、ロックインアンプは等価帯域幅がローパスフィルタの遮断周波数の 2 倍であるバンドパスフィルタと等価であることがわかる。この遮断周波数の低いローパスフィルタは容易に作製できることから、バンドパスフィルタを製作する場合と比較しても非常に狭いフィルタが実現できる。

次に位相差がある場合、上記とは別に参照信号の位相を $\pi/2$ ずらした信号を掛け合わせ、2 つの結果から振幅 R 、位相差 θ を得る。磁気信号を $V_{in}(t) = R\sin(2\pi f_{in}t + \theta)$ とし、位相検波器によって $\sin 2\pi f_{in}t$ 及び $\cos 2\pi f_{in}t$ を掛け合わせた場合、

$$R\sin(2\pi f_{in}t + \theta) \times \sin 2\pi f_{in}t = \frac{R}{2} (\cos \theta - \cos(2\pi \cdot 2f_{in}t + \theta)),$$

$$R\sin(2\pi f_{\text{in}}t + \theta) \times \cos 2\pi f_{\text{in}}t = \frac{R}{2}(\sin\theta - \sin(2\pi \cdot 2f_{\text{in}}t + \theta)) \quad (2.4.2)$$

が得られる．これをローパスフィルタによって2次高調波成分 $2f_{\text{in}}$ を取り除くとそれぞれ実部成分 $X = R\cos\theta/2$ と虚部成分 $Y = R\sin\theta/2$ が得られるため，下式の通り，振幅 R と位相差 θ を解析できる．

$$R = 4\sqrt{X^2 + Y^2},$$

$$\theta = \tan^{-1}\frac{Y}{X} \quad (2.4.3)$$

製品によってはこの位相差 θ に任意のオフセットをのせることができる．位相差 $\theta = 0$ となるように調整して実部成分 X により信号の大きさを評価することにより絶対値 R で評価する場合よりも雑音のばらつきを $1/\sqrt{2}$ 倍にすることができるとされている．これは信号 X, Y 成分のノイズが平均0，分散 σ^2 の独立した同一分布（ホワイトノイズ）に従うとしたときに分散の加法性から絶対値 R の分散 $\sigma_R^2 = 2\sigma^2$ となり，実部部分のみで評価する場合と比較して標準偏差が $\sqrt{2}$ 倍されることに起因する．

2.5 磁場と磁性体

直線状の2本の平行する電線に電流が流れた場合，その間には電流の磁気作用により引力または斥力が発生する．ここで発生する力 F が電流間に働く遠隔作用とみたとき

$$F = k \frac{I_1 I_2}{l} \quad (2.5.1)$$

に従う． k は比例定数， I_1, I_2 は電線に流れる電流， l は電線間の距離を示している．ここで電流の単位1Aは $l = 1 \text{ m}$ とし，作用する大きさ $F = 2 \times 10^{-7} \text{ N/m}$ のときに流れる電流の大きさであるため比例定数の大きさ k は $2 \times 10^{-7} \text{ N/A}^2$ もしくは，真空透磁率 $\mu_0 = 2\pi k = 4\pi \times 10^{-7} \text{ N/A}^2$ を比例定数として用いることにより(2.5.1)式は下式になる．

$$F = \frac{\mu_0}{2\pi} \frac{I_1 I_2}{l} \quad (2.5.2)$$

ここで電流の磁気作用により発生する力 F を遠隔作用ではなく，電流 I_2 が発生させる場 B が電流 I_1 に流れる場に影響を与えた近接作用の力として表現すると式(2.5.2)は下記の通り分解できる．

$$F = I_1 B, B = \frac{\mu_0}{2\pi} \frac{I_2}{l} \quad (2.5.3)$$

この電流 I_2 が発生させる場 B を磁場といい，便宜的に磁束密度という名がつけられている．磁束密度 B の単位は電流 I_1 の大きさが1Aのときに作用する力 F が1Nとなるような大きさを1Tと定義されている．そして，磁束密度 B を真空透磁率 μ_0 で割り，人為的に作成したものが磁場の強さ $H \text{ (A/m)}$ と定義されている[32]．

磁場の中に物体を入れたとき，物体の中の磁気モーメントが整列することにより磁石の

ようなふるまいを持つ現象を磁化といい、磁化が発生する現象を磁気誘導と呼ぶ。この磁場に対する磁気モーメントの整列する方向を把握するために横軸に磁場 H 、縦軸を磁化 M とした磁化曲線が測定される。

$$M = \chi H \quad (2.5.4)$$

χ は磁化率といい、磁化率の大きさや磁場に対する応答方法により、図 2.5.1 に示す常磁性体、反磁性、強磁性体に大別される。

常磁性体とは、磁化の方向が磁場の方向と同じであり、 χ の値がガウス単位で $10^{-3} \sim 10^{-6}$ と小さい正の値をとるものをいう。物質としては、アルミニウム、チタンや酸素などが該当する。反磁性体とは、磁化の方向が磁場の方向と逆向きであり、 χ の値が 10^{-7} 程度と小さい負の値をとるものをいう。多くの物質が反磁性であり、代表的なものとして水、銅、銀などがある。

次に、強磁性体とは、常磁性体、反磁性体とは異なり磁化率の値は一定値ではなく、強磁性体の磁気特性によって磁化率は変化していく。強磁性体は図 2.5.1 に示したようにまず、磁化されていない強磁性体に磁場をかけていくと初期磁化曲線 OA に沿って磁化されていき、A 点でこれ以上磁化 M が増加しなくなる。この飽和した磁化の大きさを飽和磁化という。次に、減磁していくと初期磁化曲線には戻らず磁場がゼロのときの点 B においても磁化している状態となる。この状態を残留磁化という。さらに逆方向に磁場を増やしていくと磁化 M が 0 となる点 C があり、この磁場強度を保磁力という。さらに、逆向きの磁場を増加させていくと点 D で飽和する。引き続き、磁場を正の方向へ増加させていくと曲線 DA を通って点 A へ戻りループが完成する。このような現象をヒステリシス現象といい、点 ABCDEF で構成されるループをヒステリシスループと呼ぶ[33]。このヒステリシス現象は、強磁性体の磁区構造の変化によって起こる。磁気モーメントがそろっている微小領域を磁区、磁化方向の異なる隣の磁区との境界の部分を磁壁という。

強磁性体粒子は粒径が十分に小さいと単磁区になる。単磁区強磁性微粒子の磁化は、回転磁化により進行し、磁気異方性によるエネルギー障壁を乗り越えて反転するため一般的に大きな保磁力が生じる。

ここで、ストーナー・ウォルフアースモデルより磁場 H 中の単磁区粒子について考える。粒子の磁化しやすい方向から角度が θ の方向に磁場をかけ、粒子の磁化と磁場がなす角度を φ とすると系のエネルギー密度 E は次のようにして表される。

$$E = K \sin^2(\theta - \varphi) - \mu_0 H M_S \cos \varphi \quad (2.5.5)$$

K は異方性定数、 M_S は飽和磁化、 μ_0 は真空の透磁率である。粒子のエネルギー密度に $K \sin^2 \theta$ という項を含むと仮定する。このとき、 $\theta = 0$ または π でエネルギー密度は最小となる。体積 V の粒子では磁化を $\theta = 0$ から π へ、あるいは $\theta = \pi$ から 0 に反転させるのに活性化エネルギー $\Delta E = KV$ が必要であるが、 KV が熱エネルギー $k_B T$ (k_B はボルツマン定数) より小さい超微粒子では、熱揺らぎで磁化が容易に反転し、保磁力を失うことが分かる。

このような強磁性微粒子が分布し、それらが十分離れていて粒子間相互作用が無視できる

ような場合について考える． $k_B T$ が KV より非常に大きいとき 1 個の強磁性体粒子が巨大な磁気モーメントを持つ原子のようにふるまい常磁性的な性質を示す．この状態を超常磁性と呼ぶ．超常磁性体は，飽和磁化が小さくヒステリシスがみられないという特徴や飽和磁化は通常の強磁性体に比べて 4～5 桁大きいといった特徴もある．図 2.5.2 に超常磁性体の磁化曲線の概形図を示す[34, 35]．

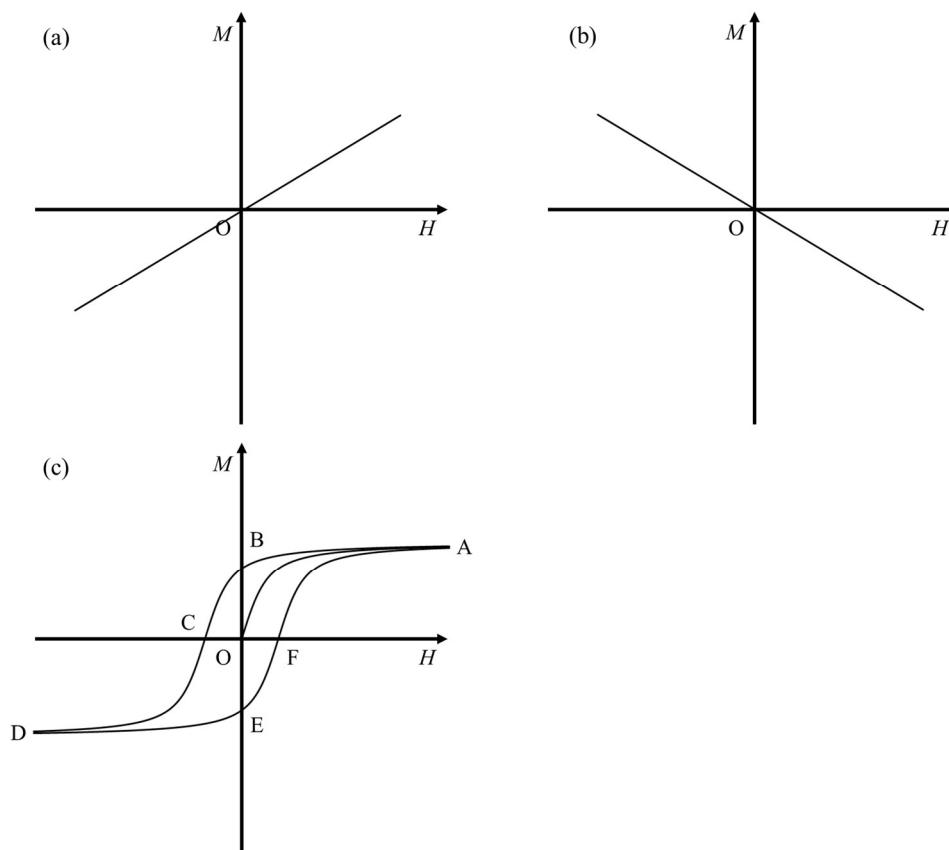


図 2.5.1 (a)常磁性体，(b)反磁性体，(c)強磁性体の磁化曲線

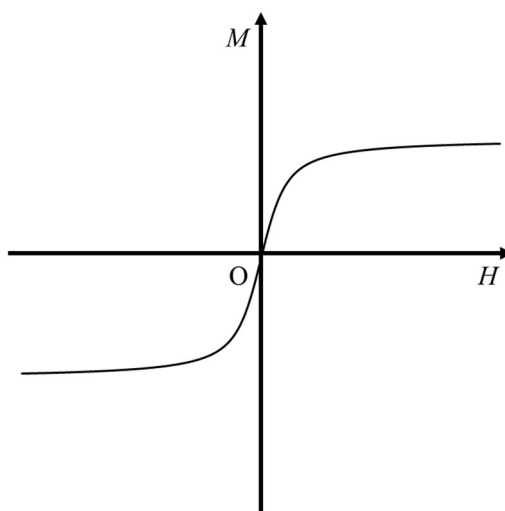


図 2.5.2 超常磁性体の磁化曲線

2.6 磁気ナノ粒子

磁気ナノ粒子(磁性ナノ粒子)は、一般的にナノサイズまで微粒子化した酸化鉄粒子をデキストラン、スターチなどのポリマーによってコーティングを施した粒子のことを指す。英語名は、Magnetic nanoparticles(MNPs)の他、酸化鉄ナノ粒子として Iron oxide nanoparticles(IONPs)[36]、超常磁性酸化鉄ナノ粒子として Superparamagnetic iron oxide nanoparticles(SPIONs)などがある[37]。1.1節にて示した Resovist[®]、Feraheme[®]の他にも Ocean NanoTech 社が市販する SHP や micromod 社が市販する BNF dextran, symonag[38]、日本では多摩川精機株式会社が市販する FG beads[®]など研究用に向けた様々な磁気ナノ粒子がある[39]。応用例としては水質改善などにも用いられているが[40]、コアの金属微粒子に酸化鉄粒子を利用することによって人体に無毒化が可能かつ資源として鉄は豊富に存在することから、医療にむけた応用が盛んにされている。磁気ナノ粒子の磁気モーメント m の大きさはコア粒子体積 V_c 、飽和磁化を M_s としたとき

$$m = M_s V_c \quad (2.6.1)$$

に従うとされている[41]。磁気モーメントが大きいほど磁気信号も大きくなるため、多くの用途では大きな磁気モーメントをもつことがよいと考えられるが、医療応用で用いる場合には磁気ナノ粒子の体内残留や毒性の影響についても考慮する必要がある。そのため、金属微粒子が酸化鉄(III)を主成分とする場合、室温で超常磁性の閾値である 10 nm から単一磁区の臨界サイズである約 70 nm の間が理想的なコア直径とされている[42]。

これらの磁気ナノ粒子が発する磁場によりイメージングやセンシングを行う場合、磁気ナノ粒子特有の磁気特性について把握する必要がある。磁気ナノ粒子の磁気特性について知るために、静的な磁場（直流磁場）を印加し、安定した状態を観測する直流磁化、動的な磁場（交流磁場）を印加し、交流磁化が測定される。

磁気ナノ粒子が磁場 $H(t) = H_0 \cos(2\pi f_{ac}t)$ で示される正弦波磁場にさらされるときを考えた場合、磁化 $M(t)$ は式(2.5.4)から次式のように示される。

$$M(t) = \chi H(t) = \chi H_0 \cos(2\pi f_{ac}t) = \chi H_0 \text{Re}[e^{j2\pi f_{ac}t}], \quad (2.6.2)$$

磁気ナノ粒子の磁化率 χ は Debye モデルに基づいて下式の通り説明されることが多い[43]。

$$\chi = \frac{\chi_0}{1 + j2\pi f_{ac}\tau_{eff}} \quad (2.6.3)$$

χ_0 は、初期磁化率といい(2.5.4)式で示した直流磁化曲線の原点付近の線形近似の傾きにより得るか[44]、後述する式(2.6.17)に示される直流磁化曲線から磁気モーメント m を解析し、サンプル中の磁気ナノ粒子の数密度 n を把握することにより真空の透磁率 μ_0 を用いて以下より導出できる[45, 46]。

$$\chi_0 = \frac{\mu_0 n m^2}{3k_B T} \quad (2.6.4)$$

また、 τ_{eff} は実効緩和時間といい磁気ナノ粒子が交流磁場に応答するための実効的な時間を表す。一般的に磁気ナノ粒子は磁場に対してコアの磁気モーメントを回転させて追従する

Neel 緩和, 磁気ナノ粒子自身が回転することにより追従する Brown 緩和を併行させて応答することから実効緩和時間 τ_{eff} は

$$\tau_{\text{eff}} = \frac{\tau_B \tau_N}{\tau_B + \tau_N} \quad (2.6.4)$$

で示され, Brown 緩和時間 τ_B , Neel 緩和時間 τ_N はそれぞれ

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{k_B T} \quad (2.6.5)$$

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{KV_c}{k_B T}\right) \quad (2.6.6)$$

と示される. ここで η は溶媒粘度, V_h はポリマーによるコーティングを含めた流体力学的体積, k_B はボルツマン定数, T は温度, τ_0 は通常 10^{-9} と仮定される固有緩和時間[47], K は磁気異方性定数を示す.

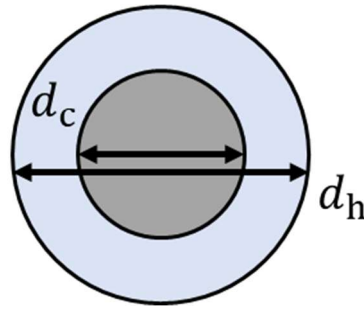


図 2.6.1 金属微粒子および磁気ナノ粒子の直径 $d_{c,h}$ の定義

磁気ナノ粒子およびコアの金属微粒子は粒子径分布をもつため, V_h 及び V_c は一意に定まらない. そのため, 図 2.6.1 に示す通り磁気ナノ粒子および金属微粒子を完全な球体と仮定したうえで, 各々下式による対数正規分布を仮定されることが多い[48-50].

$$V_{c,h} = \frac{\pi}{6} d_{c,h}^3, \quad f(d_{c,h}) = \frac{1}{\sqrt{2\pi} d_{c,h} \sigma_{c,h}} \exp\left[-\frac{(\ln(d_{c,h}) - \ln(m_{c,h}))^2}{2\sigma_{c,h}^2}\right] \quad (2.6.7)$$

$d_{c,h}$, $\sigma_{c,h}$, $m_{c,h}$ は金属微粒子および磁気ナノ粒子の直径, 標準偏差, 中央値を各々示している. サンプル全体としての交流磁化率は各々の金属微粒子および磁気ナノ粒子がもつ交流磁化率の総和として表現することができる. 式(2.6.3), (2.6.4), (2.6.7)を用いて, 磁気モーメント m が式(2.6.1)の通り, 金属微粒子の粒子体積 V_c に依存することに留意するとサンプルの交流磁化率 $\chi_{\text{all}}(f_{\text{ac}})$ は

$$\chi_{\text{all}}(f_{\text{ac}}) = \frac{\mu_0 n M_s^2 \pi^2}{108 k_B T} \int_0^\infty f(d_h) \int_0^\infty \frac{d_c^6 f(d_c)}{1 + j2\pi f_{\text{ac}} \tau_{\text{eff}}} dd_c dd_h + \chi_\infty \quad (2.6.8)$$

と示される[51]. χ_∞ は、緩和時間が $1 \mu\text{s}$ を大きく下回る磁気ナノ粒子においてナノ結晶のポテンシャルウェル内の寄与によって引き起こされる交流磁化率と同相成分の項とされている[52].

本論文では、対数正規分布を表すため便宜上、中央値および標準偏差を利用するが、正規分布のモーメント母関数を経由することにより対数正規分布の最頻値および平均値なども解析することができる. モーメント母関数は下式により定義される確率密度関数の性質を調べるための道具である[53, 54].

$$M_X(t) = E[e^{tX}] \quad (2.6.9)$$

$E[X]$ は確率変数 X の期待値をとる作業を示す. 確率変数 X において取りうる値を x としたとき, 連続確率密度関数 $p(x)$ の期待値は

$$E[X] = \int_{-\infty}^{\infty} xp(x)dx \quad (2.6.10)$$

と示される. 確率変数 Y が平均 μ , 分散 σ^2 の正規分布 $N(\mu, \sigma^2)$ に従うとした場合, 正規分布のモーメント母関数は次式により示される.

$$E[e^{tY}] = \int_{-\infty}^{\infty} y \cdot \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left(-\frac{(y-\mu)^2}{2\sigma^2}\right) dy = \exp\left(\mu t + \frac{1}{2}\sigma^2 t^2\right) \quad (2.6.11)$$

平均 μ , 分散 σ^2 の正規分布 $N(\mu, \sigma^2)$ に従う確率変数 Y に対して, $Y = \log X$ により定義される確率変数 X が対数正規分布 $\Lambda(\mu, \sigma^2)$ に従うと表記される. $X = e^Y$ の関係に留意すると

$$E[X^k] = E[e^{kY}] \quad (2.6.12)$$

と書けることから対数正規分布の k 次モーメントは式(2.6.11)により定義される正規分布のモーメント母関数において $t = k$ としたときに対応することがわかる. したがって, 対数正規分布の平均値 $E[X]$ はその1次モーメントを求める作業と一致するため

$$E[X] = E[e^Y] = \exp\left(\mu + \frac{1}{2}\sigma^2\right) \quad (2.6.13)$$

と示されることがわかる. 次に対数正規分布の中央値 m_d は

$$\int_0^m \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2 x}} \exp\left(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right) dx = \frac{1}{2} \quad (2.6.14)$$

を満たす x を求めればよく, $x = \exp(\mu)$ のとき式(2.6.14)を満たす結果が得られる. これは, 正規分布の対数を取るにより対数正規分布が構築されているため, 対数正規分布の中央値は正規分布の中央値と一致し, その正規分布の中央値は平均値と一致することから, 直感的に判断できる. 最頻値は対数正規分布の連続確率密度関数の微分 $p'(x) = 0$ を満たす x を求めればよく, $x = \exp(\mu - \sigma^2)$ のとき満たされる. $\exp(\mu - \sigma^2) < \exp(\mu) < \exp(\mu + \sigma^2/2)$ であることから対数正規分布は, 最頻値 < 中央値 < 平均値の関係をもつことがわかる.

また, 正規分布と異なる対数正規分布の特徴として再生性をもたないことがあげられる. 再生性とは $X_1 \sim N(\mu_1, \sigma_1^2), X_2 \sim N(\mu_2, \sigma_2^2)$ と独立して確率変数 X_1, X_2 が正規分布に従う場合, 確率変数の和の分布も $X_1 + X_2 \sim N(\mu_1 + \mu_2, \sigma_1^2 + \sigma_2^2)$ と正規分布に従うように, 同じ分布に

従う複数の独立な確率変数の和が元の確率分布と同じ分布に従う性質のことである．この要因は，対数正規分布がモーメント母関数をもたないことである．対数正規分布のモーメント母関数を考えたとき，次式で示される．

$$M_X(t) = E[e^{tX}] = \int_0^\infty e^{tx} \cdot \frac{1}{x\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left(-\frac{(\log x - \mu)^2}{2\sigma^2}\right) dx \quad (2.6.15)$$

ここで， $e^z = x$ として変数変換すると

$$\begin{aligned} M_X(t) &= \int_{-\infty}^\infty e^{te^z} \cdot \frac{1}{e^z\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left(-\frac{(z - \mu)^2}{2\sigma^2}\right) \cdot e^z dz \\ &= \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \int_{-\infty}^\infty \exp\left(te^z - \frac{(z - \mu)^2}{2\sigma^2}\right) dz \end{aligned} \quad (2.6.16)$$

が得られる． $z \rightarrow \infty$ としたとき，式(2.6.16)の第1項は指数関数的に増加するのに対し，第2項は2次関数に従って増加することから無限大に発散することがわかる．したがって，式(2.6.15)に示された対数正規分布のモーメント母関数は無限大に発散することから対数正規分布同士の和の分布は対数正規分布には従わないことが示された．

高精度に磁気ナノ粒子の磁気信号を検出するために，高調波測定を用いられることがある．この検出原理を確認するために，実効緩和時間に対して十分な時間，磁気ナノ粒子へ直流磁場 H_{dc} を印加する直流磁化特性について考える．この場合，磁気ナノ粒子の直流磁化率 χ_{dc} は図 2.5.2 に示した通り，ランジュバン関数 $L(l)$ にしたがった値を持つ[55]．

$$\chi_{dc} = L(l) = \coth(l) - \frac{1}{l} = \coth\left(\frac{mH_{dc}}{k_B T}\right) - \frac{k_B T}{mH_{dc}} \quad (2.6.17)$$

交流磁場振幅 H_{ac} ，周波数 f_{ac} の $\cos$ 波と直流磁場 H_{dc} を組み合わせた磁場 $H'(t) = (H_0 \cos(2\pi f_{ac}t) + H_{dc})$ を印加した場合，式(2.6.17)は以下のように書き換えられる．

$$\chi_{ac+dc} = \coth\left(\frac{m(H_0 \cos(2\pi f_{ac}t) + H_{dc})}{k_B T}\right) - \frac{k_B T}{m(H_0 \cos(2\pi f_{ac}t) + H_{dc})} \quad (2.6.18)$$

式(2.6.18)で得られた χ_{ac+dc} に対してフーリエ級数展開を行ったとき，周期 $1/f_{ac}$ の周期関数 $f(t)$ ，初期値 a_0 ，フーリエ係数 a_k および b_k は次式で示される．

$$\begin{aligned} f(t) &= \frac{a_0}{2} + \sum_{n=1}^\infty (a_n \cos(2\pi f_{ac}nt) + b_n \sin(2\pi f_{ac}nt)), \\ a_0 &= 2f_{ac} \int_0^{1/f_{ac}} L\left(\frac{m(H_0 \cos(2\pi f_{ac}t) + H_{dc})}{k_B T}\right) dt, \\ a_k &= 2f_{ac} \int_0^{1/f_{ac}} L\left(\frac{m(H_0 \cos(2\pi f_{ac}t) + H_{dc})}{k_B T}\right) \cos(2\pi f_{ac}kt) dt, \\ b_k &= 2f_{ac} \int_0^{1/f_{ac}} L\left(\frac{m(H_0 \cos(2\pi f_{ac}t) + H_{dc})}{k_B T}\right) \sin(2\pi f_{ac}kt) dt \end{aligned} \quad (2.6.19)$$

奇関数 $L(-x) = -L(x)$ であるランジュバン関数の引数に，偶関数 $H'(-t) = H'(t)$ である $\cos(2\pi f_{ac}t)$ が含まれることから合成ランジュバン関数 $L(H'(t))$ は， $L(-H'(t)) = L(H'(t))$ と偶

関数であることがわかる．よって，フーリエ係数 $b_k = 0$ となることから， k 次の複合磁化率強度 $a_k = \langle \chi_{ac+dc} \rangle_k$ は次式で示され，直流磁場 H_{dc} に対する特性は図 2.6.2 のとおりになる [56]．

$$\langle \chi_{ac+dc} \rangle_k = 2f_{ac} \int_0^{1/f_{ac}} L \left(\frac{m(H_0 \cos(2\pi f_{ac}t) + H_{dc})}{k_B T} \right) \cos(2\pi f_{ac}kt) dt \quad (2.6.20)$$

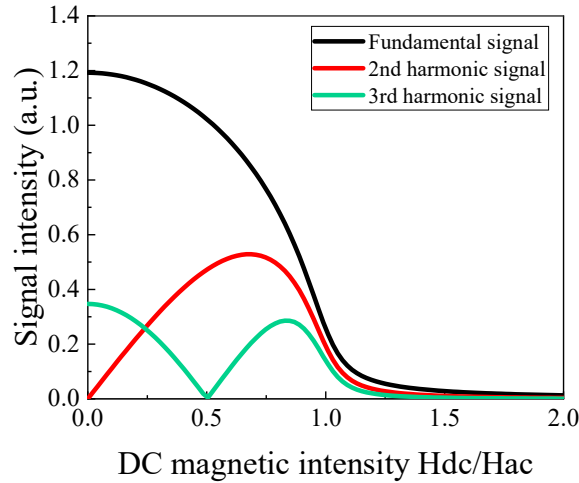


図 2.6.2 磁気ナノ粒子の磁化率の直流磁場依存性．温度 300K，磁気モーメント $m = 10^{-19}$ と仮定した．

図 2.6.3 のように基本波成分には溶媒やサンプルケース等の反磁性成分が含まれ，これらの成分を取り除いて磁気ナノ粒子のみの信号を検出するために，高調波測定が利用されている．図 2.6.2 より，3 次高調波信号は直流磁場 H_{dc} が 0 のとき最大値をもつことから，高調波測定において 3 次高調波測定が広く利用されている．

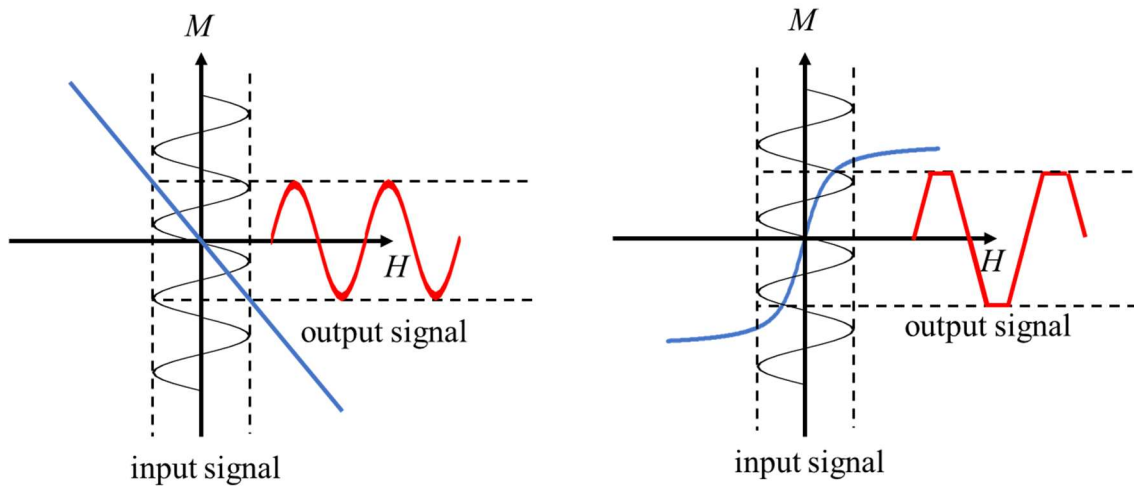


図 2.6.3 高調波測定の概要図

図 2.6.2 より直流磁場をのせることにより，2 次の複合磁化率強度 $\langle \chi_{ac+dc} \rangle_2$ は，3 次よりも高くなることからより高感度に検出できることがわかる．実際にこのことを利点とし，2 次高調波を用いた磁気粒子イメージング法[57]，ウイルス検出などに利用されている[58]．また，2 次高調波測定の特徴として直流磁場 H_{dc} が 0 のとき，磁気信号は 0 になる．これは，磁気ナノ粒子の磁気信号波形が周期の半分 $1/2f_{ac}$ ずらしたとき，信号波形の符号が反転する，半波対称性をもつことに起因する．簡単のため印加磁場 $H''(t)$ が奇関数となるような適当な時間を初期値とした場合，合成ランジュバン関数 $L(H''(t))$ は $L(-H''(t)) = -L(H''(t))$ と奇関数となることからフーリエ係数 a_k が 0 となり，以下の式が成り立つ．

$$f(t) = \sum_{k=1}^{\infty} b_k \sin(2\pi f_{ac} kt) \quad (2.6.21)$$

半周期後の波形 $-f(t + 1/2f_{ac})$ について考えると

$$-f\left(t + \frac{1}{2f_{ac}}\right) = -\sum_{k=1}^{\infty} a_k \sin\left(2\pi f_{ac} k\left(t + \frac{1}{2f_{ac}}\right)\right) = -\sum_{k=1}^{\infty} a_k \sin(2\pi f_{ac} kt + \pi k) \quad (2.6.22)$$

したがって，高調波次数 k が偶数のとき

$$-f(t + 1/2f_{ac}) = -f(t) \quad (2.6.23)$$

k が奇数のとき

$$-f(t + 1/2f_{ac}) = f(t) \quad (2.6.24)$$

が得られる．

式(2.6.21)～(2.6.24)より磁気ナノ粒子の磁気信号が直流磁場 $H_{dc} = 0$ のとき半波対称性をもつためには偶数次高調波の磁気信号が 0 になる必要があることがわかる．

3. HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いた血液中の磁気 ナノ粒子の磁気信号評価

1.1 節で示した凝集による測定精度，感度の悪化という問題に対し，凝集による磁気信号変化を評価し，実測値から差分することにより測定要因のみを評価すればよいことが考えられる．本章では，血液が磁気ナノ粒子の磁気信号へ及ぼす影響を評価するため，HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いて，2.6 節で述べた 3 次高調波測定により磁気ナノ粒子の磁気信号を測定した．3.1 節では HTS-SQUID 交流磁化率測定装置の概要，3.2 節では実験手順およびサンプルの詳細および調製方法について述べる．3.3 節では，Brown 緩和における溶媒粘度の影響を考慮し，調製した各サンプルの溶媒粘度を測定する．3.4 節では，各サンプル中における 3 次高調波信号の経時変化を測定し，血液中の磁気ナノ粒子の磁気信号について評価する．3.5 節では，本章を総括する．

3.1 HTS-SQUID 交流磁化率測定装置

磁気ナノ粒子の 3 次高調波を測定するため，図 3.1.1 に示す HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を利用した．図 3.1.1.(a)のとおり計測システムは主に電圧源，PC，印加および検出コイル， z 軸ステージ，HTS-SQUID モジュール，FLL 回路，ファンクションジェネレータ，マルチファンクションデバイスから構成されている．HTS-SQUID 交流磁化率測定装置は印加コイルによって周波数 1.06 kHz，強度 8 mTpp の磁場をサンプルへ印加し， z 軸ステージにより 4cm/s の速度で上下に運動させる．検出コイルからの磁気信号は，検出コイルに直列に接続された HTS-SQUID モジュール（SUSTERA）の入力コイルを介して，SQUID モジュールへ磁氣的に結合されている．HTS-SQUID で検出された信号は，FLL 回路を通し，マルチファンクションデバイスにより 3 次高調波信号を測定する仕組みとなっている．

印加コイルは長さ 100 mm，内径 21 mm，外形 28 mm，巻き数 430 回のソレノイドコイル，検出コイルは長さ 29 mm，内径 14 mm，外径 18 mm，巻き数 190 回のグラジオメータであり，図 3.1.1.(b)のとおり，これらは同軸上に配置されている．HTS-SQUID モジュールは HTS-SQUID チップ[59]，入力コイルチップ，およびヒーターで構成されており，Bi-2223 磁気シールドで覆われた構造を持つ[60]．マルチファンクションデバイスは，印加コイルの基本波信号の発生，HTS-SQUID への基本波信号成分の電氣的相殺，サンプルからの第 3 高調波信号のロックイン検波という 3 つの機能を持っている．図 3.1.2 にマルチファンクションデバイスの概要を示す．ノッチフィルターを利用することによって基本波電流に高調波成分が混入することを防いでいる．さらに，図 3.1.1.(a)に示したように検出コイルと HTS-SQUID の入力ラインの間に 5.6 μ F のチップコンデンサーを用いた共振回路を設置し，3.18 kHz の第 3 高調波信号を選択的に増幅している．本システムでは FLL 回路のコントローラーとして pcSQUID(PC-1000，STAR Cryoelectronics)を使用している[61]．

サンプルは、図 3.1.3 へ示す内径 1.8 mm、外径 3 mm、長さ 35 mm のパイレックスガラス製のサンプルケースを利用して測定した。図 3.1.4 に磁気ナノ粒子の典型的な測定波形結果を示す。z 軸ステージでサンプルが上下運動し、検出コイルがグラジオメータであることから取得波形には、2 つの波が生じた形を持つ。磁気信号のオフセットによる影響を除くため、式(3.1.1)に基づき、実部信号の peak-to-peak 値 V_{Re} 、虚部信号の peak-to-peak 値 V_{Im} の絶対値 R を計算した。本論文ではいずれの測定もノイズの影響を低減するため、各測定においてサンプルを検出コイル内で 5 往復運動させ、図 3.1.4 に示した波形を 10 回取得した。そして、取得した波形において式(3.1.1)に基づいて絶対値 R を解析し、その加算平均値を磁気信号評価に用いた。1 サンプルあたりの測定時間は 50 s である。

$$R = \sqrt{(V_{Re})^2 + (V_{Im})^2} \quad (3.1.1)$$

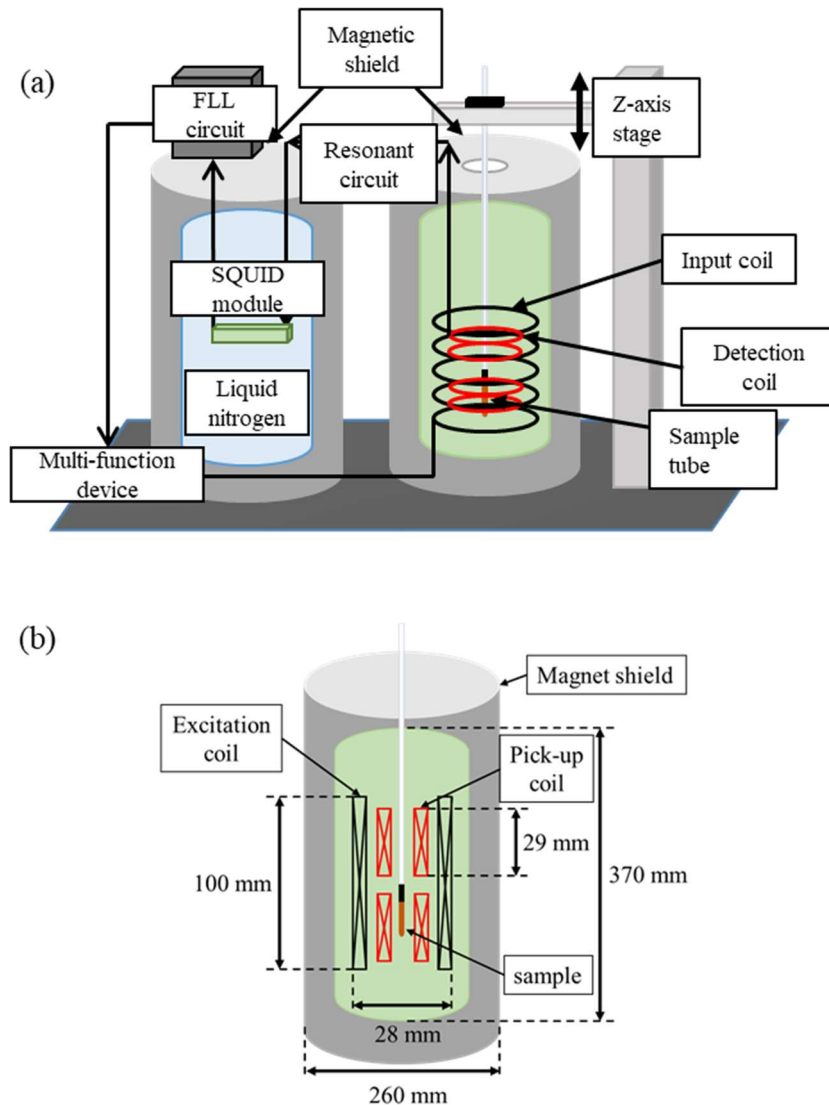


図 3.1.1 (a) HTS-SQUID 交流磁化率測定装置のシステム構成 (b)印加コイルおよび検出コイルの配置

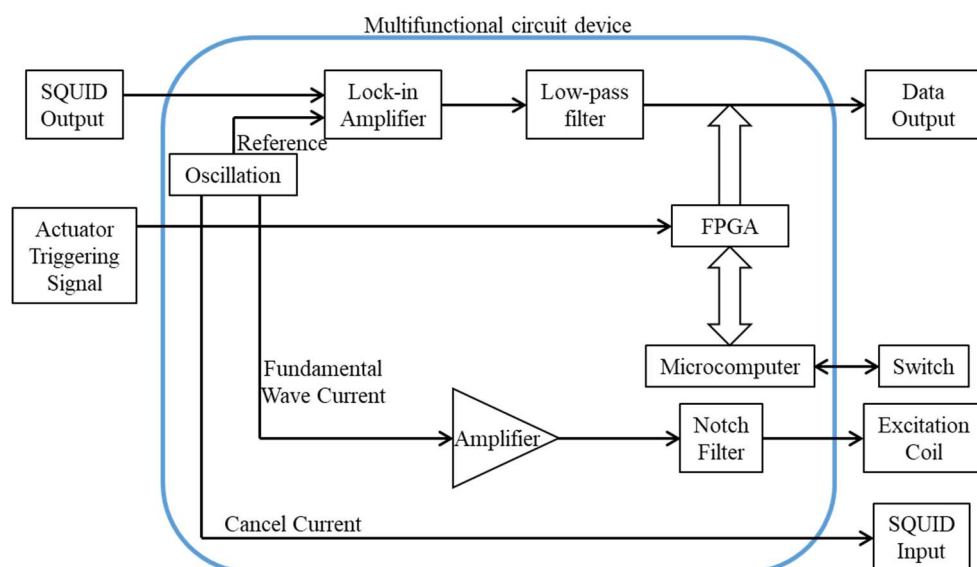


図 3.1.2 マルチファンクションデバイスの概要図

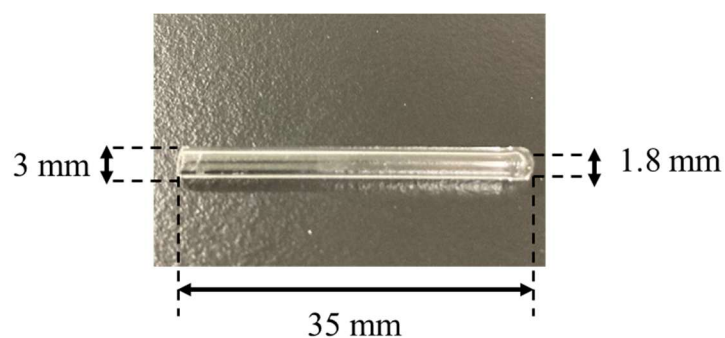


図 3.1.3 サンプルケース

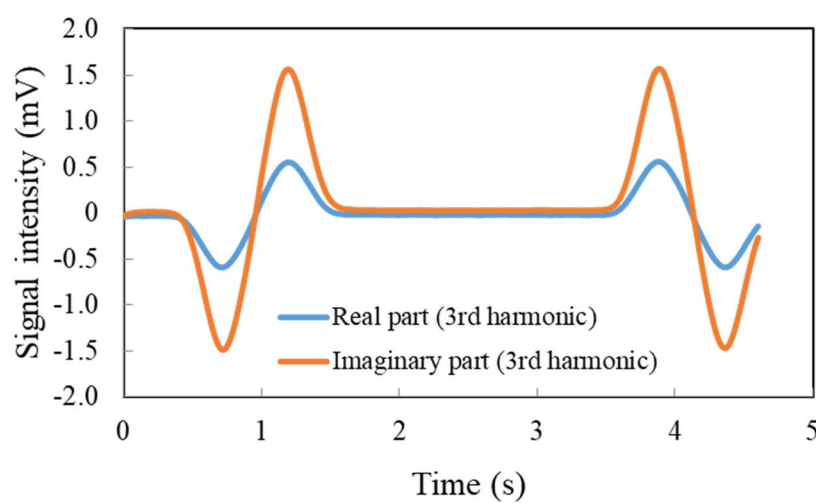


図 3.1.4 濃度 279 $\mu\text{g/mL}$, 容量 60 μL , 純水中の Resovist[®]における測定波形

3.2 サンプル調製と実験手順

HTS-SQUID 交流磁化率測定装置において HTS-SQUID モジュールは液体窒素により冷却されているため、電流による温度変化に起因する動作温度変化が及ぼす磁気信号のばらつきは無視できると考えられる。一方、検出コイルにはリッツ線で構成されたグラジオメータが用いられており、室温中で稼働していることから、動作温度変化による磁気信号のばらつきが懸念された。そこで、5 mg のフッ化マンガン(Sigma-Aldrich)を用いて磁気信号の経時変化を測定することにより動作温度によるばらつきの影響を評価した。

磁気ナノ粒子として Resovist[®]を利用した。Resovist[®]の典型的な実質コア直径 22.4 nm, 粒子直径を 62.5 nm とする粒子である[62]。この値を用いて、温度 300 K, 粘度 1 mPa・s, 磁気異方性定数を 6 kJ/m³ とし、式(2.6.4)～式(2.6.6)から実効緩和時間 τ_{eff} , Brown 緩和時間 τ_B および Neel 緩和時間 τ_N を計算したとき、 $\tau_{\text{eff}} = 2.99 \times 10^{-5}$, $\tau_B = 1.85 \times 10^{-4}$, $\tau_N = 3.57 \times 10^{-5}$ となり、Neel 緩和時間に実効緩和時間が近い値をもつことから多くの磁気ナノ粒子は Neel 緩和を支配的にしつつも、Neel 緩和と Brown 緩和を併行させて交流磁場へ応答していることが示唆される。

また、式(2.6.5)より Brown 緩和は溶媒粘度および流体力学的体積に依存するため、溶媒粘度の変化により磁気ナノ粒子の 3 次高調波信号も変化することが考えられた。この溶媒粘度の変化による影響を評価するために音叉型振動粘度計および密度計を利用して溶媒粘度を測定し、グリセリン溶液中の Resovist[®]の 3 次高調波信号の経時変化を測定した。次に、血液による凝集による影響を評価するため、生理食塩水として用いられる NaCl 水溶液、ヒト血清(Sigma-Aldrich)およびヘパリン Na 添加羊全血液(Japan Bio Serum)中の Resovist[®]の 3 次高調波信号の経時変化を測定した。いずれのサンプルにおいても Resovist[®]の鉄濃度 0.28 mg/mL, サンプル容量 60 μ L となるよう調製した。

3.3 音叉振動式粘度計による粘度測定

本論文では粘度を測定するために音叉振動式粘度計を用いた。後述する 4.4 節の通り、音叉振動式粘度計の音叉振動式粘度計は動作原理から密度と粘度の積の値が計測されるため、密度計を用いて密度を計測し、粘度解析を行った。サンプルには純水およびグリセリン濃度 3, 5, 10v/v%, NaCl 濃度 1, 3, 5w/v%, 血清, 全血濃度 5, 10, 20v/v%を用いた。各々のサンプルは合計 35 mL となるように調製され、音叉振動式粘度計は 35 mL, 密度計は音叉振動式粘度計で用いたサンプルのうち 5 mL を用いて計測した。音叉振動式粘度計による測定結果を表 3.3.1(a), 密度計による測定結果を表 3.3.1(b), 解析された粘度を図 3.3.1 へ示す。純水から各溶媒濃度 5 %までの粘度上昇は、グリセリンで 138%, NaCl で 120%, 全血で 117%, 血清で 107%とすべてのサンプルにおいて解析粘度は、溶媒濃度が高くなるにつれて高くなる傾向が得られた。

表 3.3.1(a) 音叉振動式粘度計, (b)密度計による測定結果

(a)

Viscosity $\times$ Density (mPa $\cdot$ s $\cdot$ g/mL)				
Concentration(%)	glycerol	NaCl	serum	whole blood
0			0.92	
1		0.98		
3	1.27	1.1		
5	1.63	1.13	0.99	1.08
10	2.72		1.08	1.11
20			1.16	1.37

(b)

Density (g/mL)				
Concentration(%)	glycerol	NaCl	serum	whole blood
0			0.9971	
1		1.004		
3	1.0016	1.0181		
5	1.0262	1.018	0.9979	0.9994
10	1.0551		0.9989	1.0019
20			1.0009	1.0069

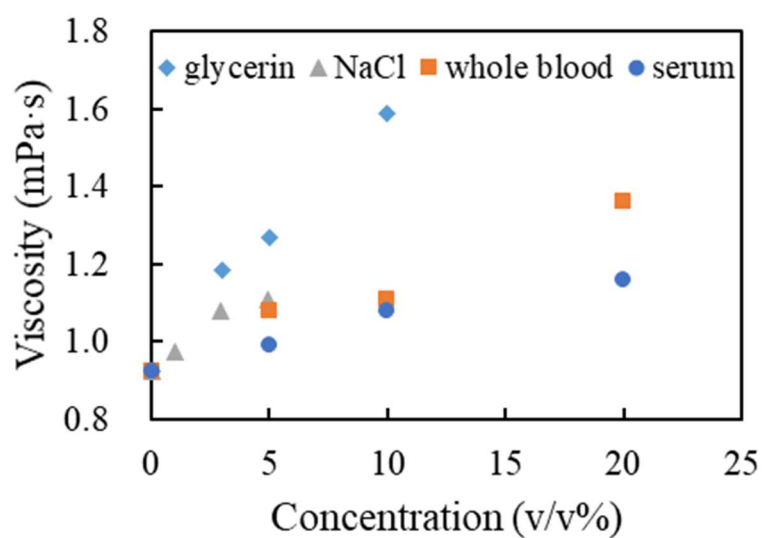


図 3.3.1 粘度における溶媒濃度依存性

3.4 血液中の磁気ナノ粒子の磁気信号評価

動作温度による HTS-SQUID 交流磁化率測定装置の磁気信号のばらつきを計測するため、図 3.4.1 に示すとおり、常磁性の磁化直線をもつフッ化マンガンを用いた。磁場印加を測定開始点として磁場印加から 80 分後まで 4 分間隔で磁気信号の経時変化を測定した。磁場印加直後における基本波信号の測定結果を図 3.4.2(a)、3 次高調波信号の測定結果を図 3.4.2(b)、式(3.1.1)により構成した基本波信号の経時変化を図 3.4.3 に示す。図 3.4.1 よりフッ化マンガンは常磁性をもつことから、磁場に対して線形応答することがわかる。したがって、図 3.4.2 に示す通り、基本波信号波形においてはグラジオメータを構成する各ソレノイドコイルをサンプルが通過したことによる波が 2 つ観測されたが、3 次高調波信号においては観測されなかった結果となった。図 3.4.3 より磁気信号の経時変化は $143 \pm 5.96 \mu\text{V}$ (平均値 $\pm$ 標準偏差) と後述する粘度および凝集による磁気信号変化と比較して無視できるほど小さい値となった。36 分後以降から 80 分後までの磁気信号の経時変化は $146 \pm 3.39 \mu\text{V}$ と標準偏差が小さくなる結果が得られたため、本論文において HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いる際には磁場印加から 40 分以上経過させたのち、測定を開始した。

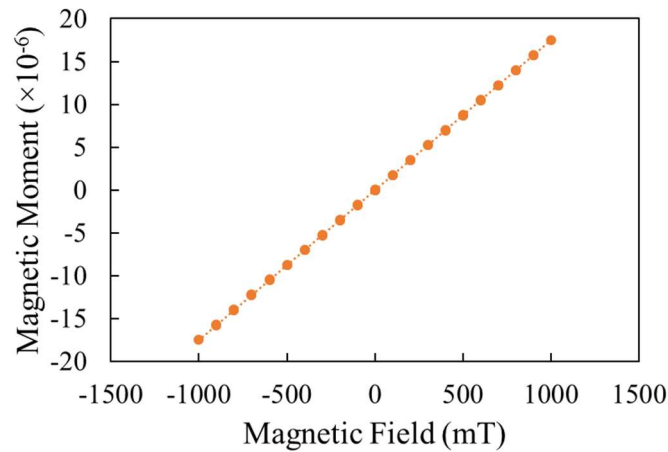


図 3.4.1 MPMS3(Quantum Design)により測定されたフッ化マンガンの直流磁化直線

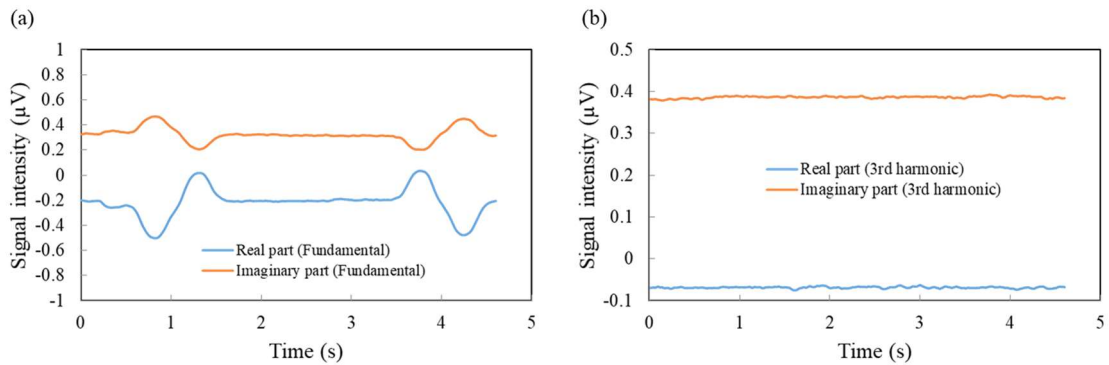


図 3.4.2 磁場印加直後におけるフッ化マンガンの(a)基本波信号、(b)3 次高調波信号波形

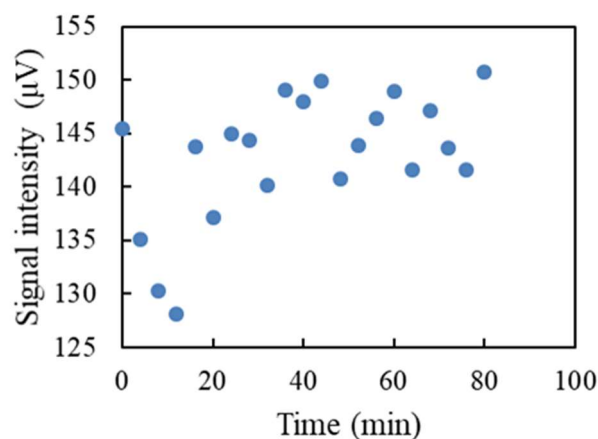


図 3.4.3 フッ化マンガンの基本波磁気信号の経時変化

溶媒粘度およびイオンによる凝集による Resovist[®]の磁気信号への影響を測定するため、グリセリン濃度 0, 3, 5, 10v/v%, NaCl 濃度 1, 3, 5w/v%, 血清, 全血液濃度 5, 10, 20v/v%のサンプル中の Resovist[®]の 3 次高調波信号の経時変化を測定した結果を図 3.4.4 へ示す. 測定開始時間は, サンプルを調製してから 3 分後に測定を開始し, 測定開始から 60 分経過するまでは 20 分, 60 分から 600 分後の間では 60 分間隔で磁気信号を取得した. いずれのサンプルにおいてもサンプル量 60 μ L の中に鉄濃度 0.28 mg/mL の Resovist[®]が添加されている.

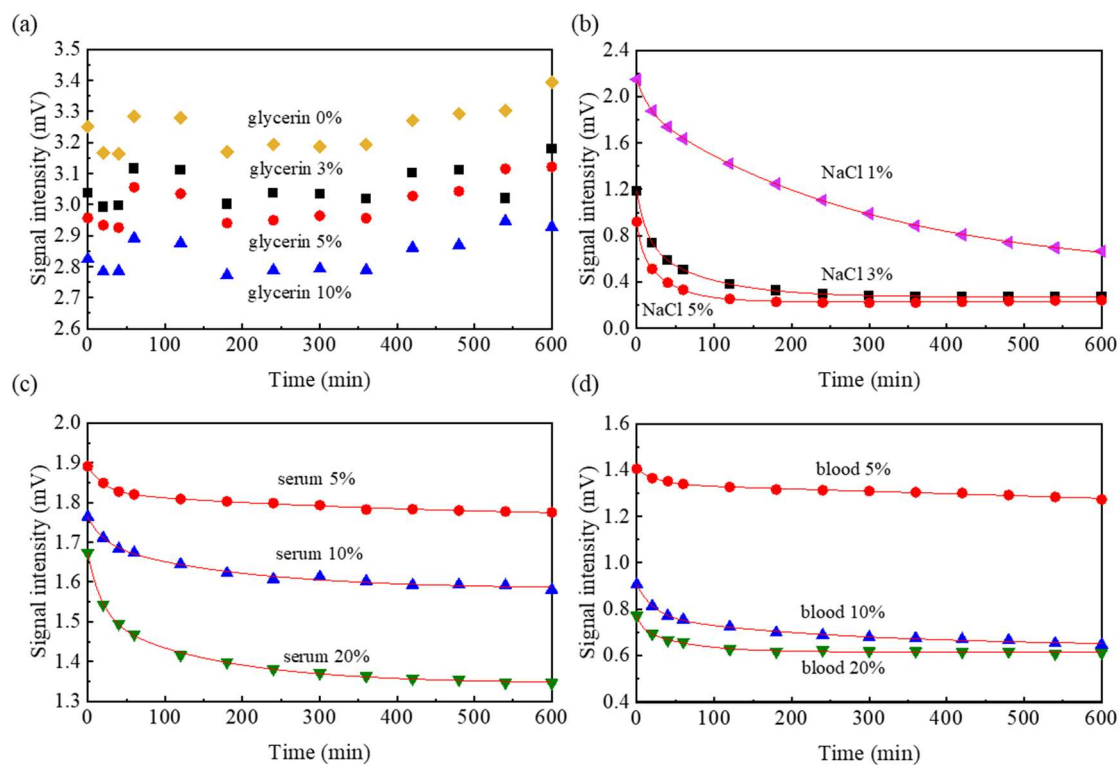


図 3.4.4 (a)グリセリン, (b)NaCl, (c)血清, (d)全血中の Resovist[®]の 3 次高調波信号の経時変化

図 3.3.1 および図 3.4.4(a)から溶媒粘度が増加するとともに磁気信号も低下する傾向がみられる一方で、測定時間に応じた磁気信号変化は見られなかった。式(2.6.5)より Brown 緩和時間は溶媒粘度と流体力学的体積に依存することから、溶媒粘度増加により磁気信号が減少したことが考えられた。一方で、測定時間に応じた磁気信号変化は見られなかったことから、時間経過による重力等に起因する凝集は発生しなかったことが考えられる。Resovist®のゼータ電位は-23.5 mV と測定されており[63]、コロイド溶液として安定していることが考えられているため、3 次高調波信号の経時変化からも Resovist®が安定していることを支持する結果が得られたことが考えられた。一方で、図 3.4.4(b)~(d)より溶媒にイオンが含まれている場合、図 3.3.1 よりグリセリンサンプルと比較して溶媒粘度は低いことが示されているが、3 次高調波信号の初期値は小さく、指数関数的に減少する傾向が見られた。指数関数的に減少する傾向を評価するために、式(3.4.2)に示される指数二重関数により近似を行い、得られた近似曲線を図 3.4.4, 時定数 τ_1 , τ_2 を図 3.4.5 へ示す。 $y(t)$ は磁気信号, t は測定時間, y_0 はオフセット, A_1 , A_2 は各々の指数関数における重みづけのための係数, τ_1 , τ_2 は時定数を示している。

$$y(t) = y_0 + A_1 \exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) + A_2 \exp\left(-\frac{t}{\tau_2}\right) \quad (3.4.1)$$

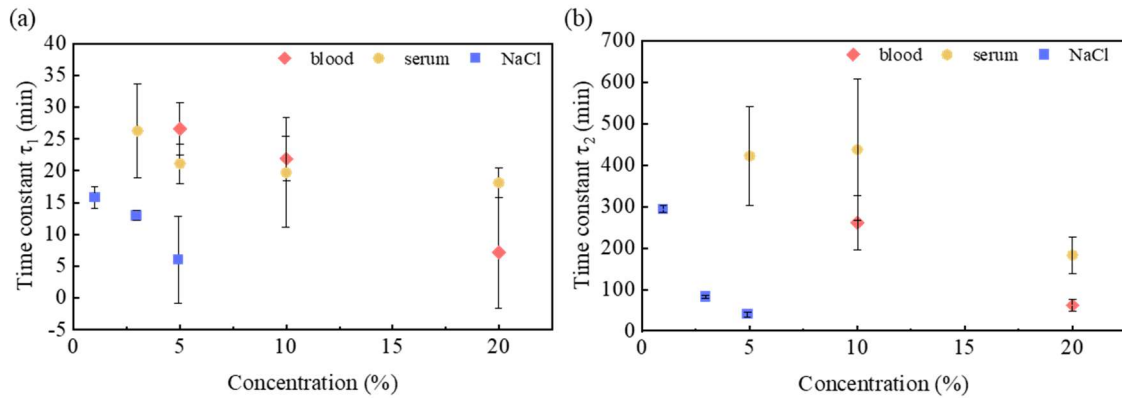


図 3.4.5 式(3.4.1)に示された指数二重関数により得られた(a)時定数 τ_1 および(b)時定数 τ_2

エラーバーは近似による標準誤差を示す。5%全血液サンプルについては、測定時間内に磁気信号が収束しなかったため、非常に大きな時定数 $\tau_2 = 1.87 \times 10^6 \pm 9.29 \times 10^6$ s が得られたが、他のサンプルに関しては2つの時定数が得られ、その大きさは溶媒濃度の増加に伴って減少する傾向が見られた。また、時定数の大きさは、NaCl サンプルが有意に小さく、血清および全血液サンプルは同程度であることがわかる。生理食塩水の NaCl 溶液濃度は 0.9w/v%であることを考慮すると、全血液および血清に含まれる NaCl 溶液濃度は各生体溶媒濃度 5, 10, 20v/v%の順に 0.045, 0.9, 0.18w/v%と考えられる。したがって、図 3.4.5 より NaCl 濃度が高いほど時定数の大きさは、小さくなることが示唆された[64]。指数関数的に減少し

た理由としては式(2.6.5)により Brown 緩和は流体力学的体積にも依存していることから溶媒に含まれるイオン濃度が増加するにつれて、中和により磁気ナノ粒子表面の電気二重層の厚さが減少し、磁気ナノ粒子同士が接近しやすくなることにより、ファンデルワールス力による引力が有意になっている経過を示したことが考えられる。しかし磁気信号が 0 には収束せずに、ある一定の値に各々収束する理由としては、Resovist®は交流磁場に対して Brown 緩和および Neel 緩和を重畳させて磁場へ応答する磁気緩和ダイナミクスを持つことから、凝集後も Neel 緩和により交流磁場へ応答していることに起因することが考えられた。したがって、図 3.4.4(b) ~ (d)における磁気信号の経時変化は、凝集する経過を示しており、2つの指数関数を用いて近似されたことから、いずれのサンプルにおいて少なくとも2種類の凝集メカニズムの影響を受け磁気信号が変化することが示唆された[65]。

3.5 まとめ

本章では、HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いて、4種類の溶媒中における磁気ナノ粒子の3次高調波信号の経時変化を測定し、血液が磁気ナノ粒子の磁気信号へ及ぼす影響を評価した。

- 磁気ナノ粒子としてMRI用肝臓造影剤として広く利用されている Resovist®を用い、溶媒粘度やサンプル中のイオンに起因する Resovist®の流体力学的体積増加の影響を評価するため、グリセリン、NaCl、血清、全血液中の3次高調波信号の経時変化を測定した。
- グリセリンサンプルでは、溶媒粘度の増加に伴って3次高調波信号の減少する一方で時間依存性は見られなかったため、Resovist®が安定して分散することが示された。
- イオンを含むNaCl、血清、全血液サンプルでは、3次高調波信号が測定時間の経過とともに減少し、その減少は2つの指数関数を重ね合わせた指数二重関数に従って減少することが示唆された。この減少速度は溶媒中のイオン濃度に依存すること、血液中の Resovist®の磁気信号は少なくとも2つの要因をうけて変化することが示唆された。

4. 磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性を利用した粘度測定システムの開発

第3章では、交流磁場に対して Neel 緩和および Brown 緩和を併行させて応答する磁気ナノ粒子である Resovist®を用い、その血液中における3次高調波信号の経時変化が、2つの指数関数の重ね合わせた形で示されることを示唆した。この変化は、サンプル中の磁気ナノ粒子の磁気緩和ダイナミクスの変化に基づいていることが考えられるが、その詳細な機構については明らかにされなかった。また、時定数が大きいことから血液中の磁気ナノ粒子の磁気信号を正確に評価するためには、サンプル調製から長時間待機する必要があることが示唆され、これは測定の長時間化にもつながるため、実用上課題が多い。

2.6節で示した通り、磁気ナノ粒子の交流磁化率は一般的に Debye モデルに基づいて説明され、凝集による磁気緩和ダイナミクスの変化は Brown 緩和時間の変化に基づいていることが考えられる。そこで本章では、磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性を用いて Debye モデルから溶媒粘度を定量的に解析することを通して、磁気ナノ粒子の磁気緩和ダイナミクスの評価手法を構築した。4.1節では、交流磁化率を測定するために作製したコイル交流磁化率測定装置の構造と仕様。4.2節では粘度測定を行うための磁気ナノ粒子の選定及び2.6節で述べた Debye モデルを用いた近似モデルの詳細を述べる。そして、4.3節では構築した磁気緩和ダイナミクス評価手法を基に開発された粘度測定法の精度を評価する。最後に、4.4節で他の粘度測定法と開発した粘度測定法を比較するとともに、磁気ナノ粒子を用いた粘度測定法における今後の展望を述べる。4.5節では、本章を総括する。

4.1 コイル交流磁化率測定装置

磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性を測定するために構成したコイル交流磁化率測定装置を図4.1.1に示す。ファンクションジェネレータを介して、定電流源として動作するバイポーラ電源へ印加波形を入力し、バイポーラ電源からはシャント抵抗と印加コイルが直列に接続されている。印加コイルは外径 33.5mm、内径 30.5mm のボビンを用いて直径 $\Phi 0.8\text{mm}$ の銅線を 74 回、整列巻きにより巻いたソレノイドコイル、検出コイルは外径 10mm、内径 8mm のボビンを用いて直径 $\Phi 0.2\text{mm}$ の銅線を 125 回、整列巻きにより巻いたコイルを逆相につなげたグラジオメータを利用し[18]、図 4.1.1(b)にみられるようにこれらは同軸上となるよう配置した。サンプルケースは、市販されている 500 μL の PCR チューブを用いた。入力回路に挿入された 0.1 Ω シャント抵抗間電圧を入力電圧、グラジオメータの起電力を出力電圧とし、入力電圧 V_{in} と出力電圧 V_{out} の振幅比および位相差からサンプルの交流磁化率を解析するゲイン・フェーズ法により交流磁化率を解析した。検出コイルにグラジオメータを用いたことから磁束密度強度 B_0 、周波数 f_{ac} 、時間 t とする印加磁場 $B(t) = B_0 \cos(2\pi f_{\text{ac}} t)$ が印加されたとき、ファラデーの電磁誘導の法則から検出コイルに発生する

起電力 V_{out} は下式のとおりになる．

$$V_d = -S \frac{dB(t)}{dt} = 2\pi B_0 S f_{\text{ac}} \sin(2\pi f_{\text{ac}} t) \quad (4.1.1)$$

ここで S はグラジオメータの断面積を示す．式(4.1.1)より同じ磁束密度強度 B_0 中においても，印加周波数 f_{ac} に比例して検出コイルの起電力 V_d は増加することがわかる．そのため，磁気ナノ粒子の交流磁化率 M_a を解析する際は，入力電圧 $V_{\text{in}} = V_1 e^{j\theta_1}$ ，出力電圧 $V_{\text{out}} = V_2 e^{j\theta_2}$ の比に対して印加周波数 f_{ac} を割った式(4.1.2)より解析した．

$$M_a = \frac{V_{\text{out}}}{V_{\text{in}} f_{\text{ac}}} = \frac{V_2}{V_1 f_{\text{ac}}} e^{j(\theta_2 - \theta_1)} \quad (4.1.2)$$

ここで， $V_{1,2}$ ， $\theta_{1,2}$ は入力，出力電圧の振幅および位相をそれぞれ示している．

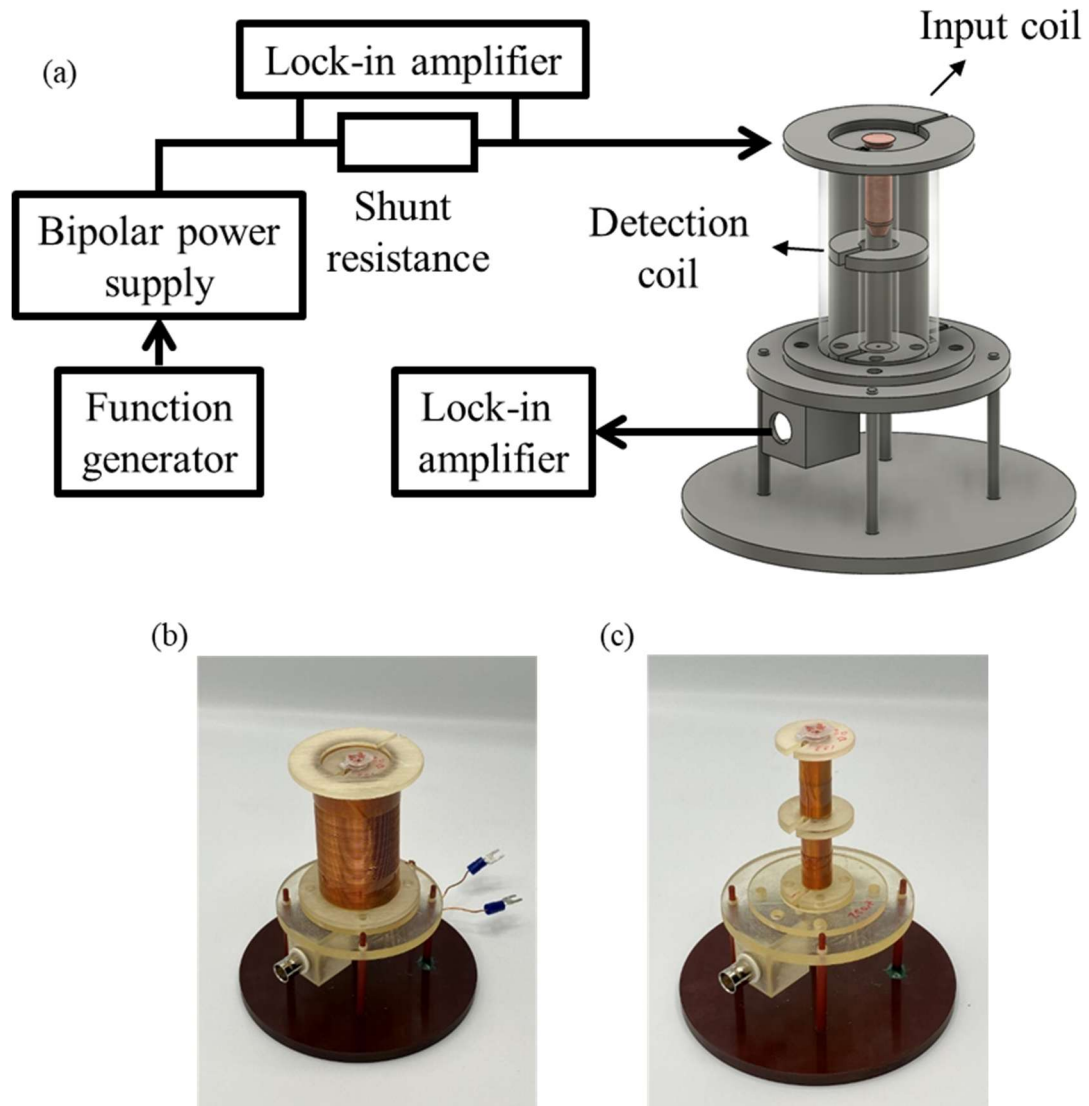


図 4.1.1 コイル交流磁化率測定装置の(a)システム構成，(b)印加コイル，(c)検出コイル

図 4.1.2 に周波数 5000 Hz においてファンクションジェネレータの電圧振幅を 0.1 ~ 0.8 V_{pp} の範囲内で変化させた場合における印加コイルの励磁磁場変化を計測した結果を示す。バイポーラ電源を定電流源として動作させていることから、ファンクションジェネレータの設定電圧 V の増加に伴って印加磁場強度 M も増加する傾向が得られた。線形近似を行ったところ近似式は

$$M = 13.34V - 0.03866 \quad (4.1.1)$$

が得られ、決定係数 $R^2 = 0.9999$ と線形関係を示した。

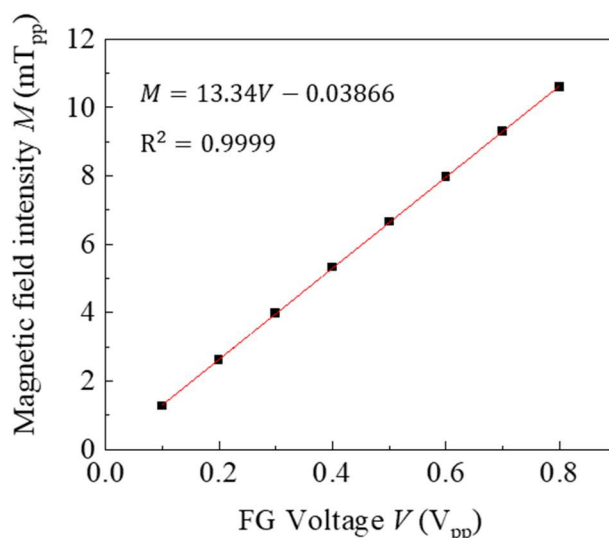


図 4.1.2 印加コイルの印加磁場強度。点は測定値，実線は式(4.1.1)により構成された近似直線を示す。

開発したコイル交流磁化率測定装置を用いた実験では以下の手順に従って測定した。測定プログラムは LabVIEW®を用いて作製した。

1. 手動でバイポーラ電源の電源を投入。各ロックインアンプのフィルタ機能を OFF，ダイナミックリザーブを Low，時定数を測定開始周波数の周期の 3 倍以上となるよう設定。
2. LabVIEW 上の制御ボタンを押し，測定開始。
3. ファンクションジェネレータへ指定した周波数，電圧振幅を自動入力。
4. 測定周波数 f_{ac} の条件に基づいて下記の通りの時間を待機した後，印加，検出ロックインアンプの時定数を測定周波数の周期の 3 倍以上を満たすように自動設定。
 $\bullet f_{ac} > 100 \text{ Hz} : 0.5 \text{ s}$ ， $\bullet 100 > f_{ac} > 60 \text{ Hz} : 2.0 \text{ s}$ ， $\bullet 30 > f_{ac} \text{ Hz} : 4.0 \text{ s}$
5. 検出ロックインアンプにおいて測定電圧のオーバーロードの有無を status 機能から自動確認。オーバーロードの場合，測定電圧レンジを 1 つ増加させ，再度 status を自動確認。
6. Status に異常がないことを自動確認後，測定周波数が 60 Hz 未満の場合は 2.0 s 待機。

7. 各ロックインアンプから 1.0 s 間隔で指定回数分，自動測定した後，指定回数分の測定データおよび加算平均した結果を出力し，指定した周波数範囲が終わるまで手順 4 へ戻る．

2.6 節で示したように，測定した交流磁化率の周波数特性は対数正規分布に基づくことが予測される．近似精度を高めるため，測定する周波数範囲内の周波数は対数スケールで等間隔となるよう，値を指定した．

4.2 粒子径分布を導入した Debye モデルに基づく解析モデル構築

Debye モデルから導かれる交流磁化率の式(2.6.3)を実部成分 χ' と虚部成分 χ'' へ分割したとき，次のように表すことができる．

$$\frac{\chi'}{\chi_0} = \frac{1}{1 + (2\pi f_{ac}\tau_{eff})^2} \quad (4.2.1)$$

$$\frac{\chi''}{\chi_0} = \frac{2\pi f_{ac}\tau_{eff}}{1 + (2\pi f_{ac}\tau_{eff})^2} \quad (4.2.2)$$

ここで式(4.2.2)に着目して， $2\pi f_{ac}\tau_{eff} = a$ とおき $f(a)$ の関数としてみると a で微分したとき

$$f'(a) = \frac{1 - a^2}{(1 + a^2)^2} \quad (4.2.3)$$

となることから $f'(a) = 0 \Leftrightarrow 1 - a^2 = 0$ ． $a > 0$ より，磁気ナノ粒子の交流磁化率の虚部の周波数特性のグラフには $2\pi f_{peak}\tau_{eff} = 1$ を満たす周波数 f_{peak} においてピークをとる特徴があることがわかる．具体例として温度 T 300 K，粘度 η 1 mPa・s，磁気ナノ粒子の流体力学的直径 d_h 60 nm，コア直径 d_c 55 nm，磁気異方性定数 K 6 kJ/m³における式(4.2.1)および式(4.2.2)のグラフを図 4.2.1 へ示す．ここで実効緩和時間 τ_{eff} ，Brown 緩和時間 τ_B および Neel 緩和時間 τ_N は各々， $\tau_{eff} = 1.64 \times 10^{-4}$ ， $\tau_B = 1.64 \times 10^{-4}$ ， $\tau_N = 6.77 \times 10^{45}$ である．図 4.2.1 より $2\pi f_{peak}\tau_{eff} = 1$ を満たす周波数 f_{peak} 971 Hz 付近で交流磁化率の実部と虚部は交点を持ち，虚部は最大値を示すことがわかる．

ポリマーコーティングの厚さを d_p とし，磁気ナノ粒子の流体力学的直径が $d_h = d_c + 2d_p$ を満たすとしたとき，コア直径 d_c が 20~30 nm，コーティング厚さ d_p が 10 nm における実効緩和時間 τ_{eff} ，Neel 緩和時間 τ_N ，Brown 緩和時間 τ_B の関係は図 4.2.2 のとおりになる．実効緩和時間は式(2.6.4)から Neel 緩和時間と Brown 緩和時間の並列接続の式で表されるため，図 4.2.2 で示されたように Neel 緩和時間および Brown 緩和時間のどちらかが非常に大きいとき，実効緩和時間は小さい方に近い値をとる特性をもつ．金属コア直径が大きい場合，Brown 緩和時間と比較して Neel 緩和時間は式(2.6.6)より指数的に増大し，非常に大きい値となり，実効緩和時間と Brown 緩和時間は近い値をもつ．

コア直径 d_c が十分に大きく，実効緩和時間が Brown 緩和時間と同じ値を持つとした場合， $2\pi f_{peak}\tau_B = 1$ を満たす周波数 f_{peak} において交流磁化率の虚部のグラフはピークをもつことがわかる．ここで式(2.6.5)から溶媒粘度 η は磁気ナノ粒子の流体力学的直径 d_h を用いて

$$\eta = \frac{k_B T}{\pi f_{\text{peak}} d_h} \quad (4.2.4)$$

から構成されることがわかる．2.6節に示したとおり，磁気ナノ粒子は粒子径分布を持つため，流体力学的直径 d_h は一意に定まらない．本論文では式(2.6.7)に示した対数正規分布 $f(d_h)$ を仮定し，積分を用いてサンプル全体としての交流磁化率を式(2.6.3)に基づいて示される各磁気ナノ粒子がもつ交流磁化率の総和として表現した下式を近似式として，交流磁化率の虚部の周波数特性 $\chi''(f_{\text{ac}})$ を近似した．交流磁化率の虚部を用いた理由は， χ_∞ の項の要因を除くためである．また，本論文の式(4.2.5)に基づいた近似にはいずれも Matlab®を利用した．

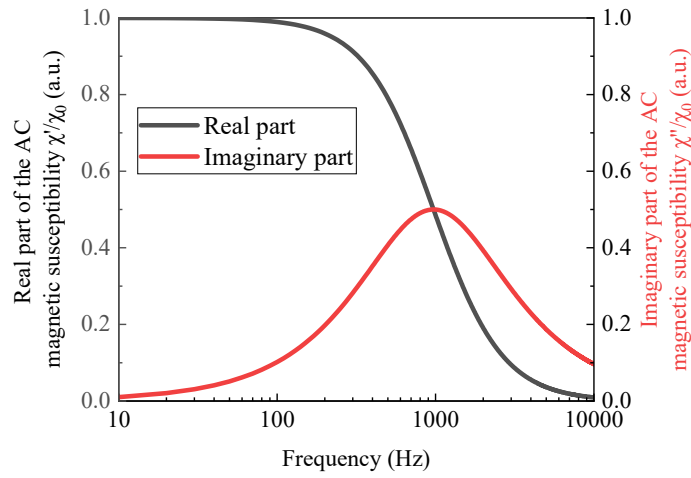


図 4.2.1 典型的な磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性のグラフ．黒線が実部，赤線が虚部を示す．

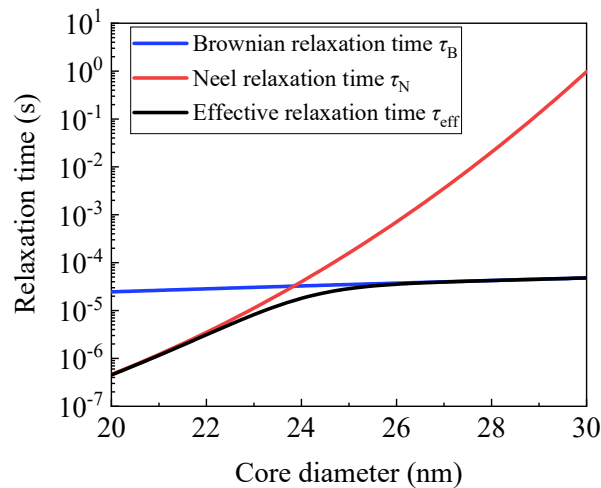


図 4.2.2 コア直径 d_c が 20 ～ 30 nm における Brown 緩和時間，Neel 緩和時間，実効緩和時間の関係．温度 $T = 297$ K，粘度 $\eta = 1$ mPa · s，磁気異方性定数 $K = 6$ kJ/m³ とした[47]．

$$f(d_h) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}d_h\sigma_h} \exp\left[-\frac{(\ln(d_h) - \ln(m_h))^2}{2\sigma_h^2}\right],$$

$$\chi''(f_{ac}) = \text{Im} \left[\int_0^\infty \frac{\chi_0}{1 + j2\pi f_{ac}\tau_B} f(d_h) dd_h + \chi_\infty \right] \quad (4.2.5)$$

式(4.2.5)を用いた近似により，磁気ナノ粒子径分布および溶媒粘度が解析できることが考えられる．図 4.2.3 に温度 300 K において粒子径分布の中央値 m_h 60 nm，標準偏差 σ_h 0.3，初期磁化率 χ_0 10^{-6} ，粘度 η 1 mPa・s，の場合をリファレンスとし，粒子径分布の中央値 m_h を 120 nm，粒子径分布の標準偏差 σ_h を 0.5，粘度 η を 2 mPa・s，初期磁化率 χ_0 を 5×10^{-7} と変更した 4 種類の場合において式(4.2.5)により構成される交流磁化率の虚部の周波数特性を各々示したグラフを図 4.2.3 へ示す．

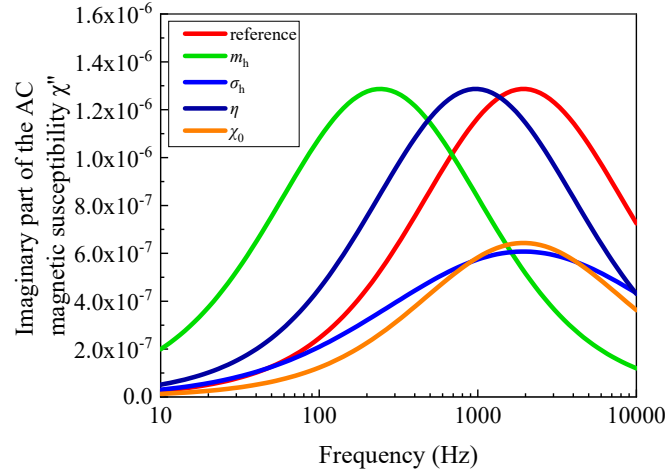


図 4.2.3 粒子径分布，粘度，初期磁化率変化による交流磁化率の虚部の周波数特性の変化．赤実線がリファレンスを示しており，緑：粒子径分布の中央値，青：粒子径分布の標準偏差，黒：粘度，橙：初期磁化率を変化させた場合を各々示す．

図 4.2.3 より粒子径分布の中央値および粘度が増加すると虚部のピークは低周波へ移行する傾向をもつことがわかる．また，初期磁化率の減少した場合，虚部のピーク時の大きさは減少し，標準偏差が増加し，粒子径分布がなだらかな裾を持った場合，交流磁化率の虚部の周波数特性も伴ってなだらかな裾を持つグラフへと変化することがわかる．この特性を利用して式(4.2.5)の近似に基づいて，粘度および粒子径分布の解析を行うことが可能であることが考えられる．しかし，式(2.6.5)から Brown 緩和時間は流体力学的体積と溶媒粘度の両方に比例するため，高精度に粒子径分布や粘度を解析するためには，どちらか一方のパラメータが既知である必要がある．

4.3 交流磁化率の周波数特性を利用した粘度解析

3.4 節において Resovist[®] の 3 次高調波信号は粘度依存性をもつことが示されたため、交流磁化率の周波数特性も粘度依存性をもつことが予測される。さらに式(4.2.4)から、交流磁化率の虚部の周波数特性のピーク時周波数の大きさ f_{peak} と溶媒粘度 η の関係は反比例であることが考えられる。そのため、第 3 章と同様に増粘剤としてグリセリンを用い、粘度増加による Resovist[®] の交流磁化率の虚部変化を計測した。開発したコイル交流磁化率測定装置を用いて印加磁場強度 4 mTpp, 周波数 30~10000 Hz の範囲内において指数的に等間隔に配置された周波数 50 点において、グリセリン濃度 0~50v/v%における Resovist[®] の粘度依存性を測定した結果を図 4.3.1(a)へ、溶媒粘度と相関を取った結果を図 4.3.1(b)へ示す。図 4.3.1(a)では、それぞれのサンプルにおいて得られた交流磁化率の虚部の最大値を用いて正規化した。サンプルは、Resovist[®] 原液を純水、各グリセリン濃度の溶液をサンプル内の Resovist[®] の鉄量は 558 μg , サンプル容量は 500 μL を満たすよう添加し、調製した。グリセリン溶液の粘度は、3.3 節で示した方法と同様に音叉振動式粘度計と密度計を用いて室温中にて測定した。その結果、各グリセリン濃度 0, 10, 20, 30, 40, 50v/v%の粘度はそれぞれ、0.93, 1.42, 2.25, 3.7, 6.16, 11.1 mPa $\cdot$ s となった。

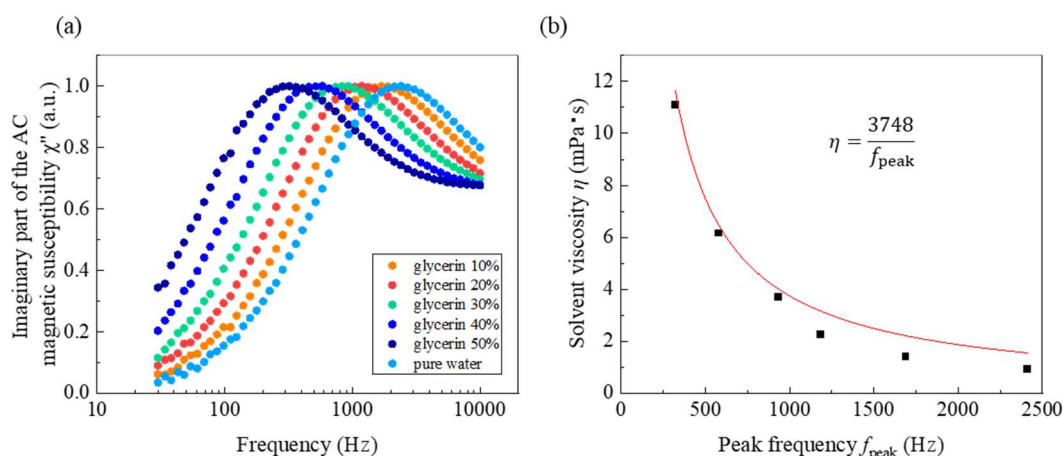


図 4.3.1 Resovist[®]における交流磁化率の(a)虚部及び(b)周波数ピークと溶媒粘度の依存性

まず、図 4.3.1(a)よりサンプルの溶媒粘度 η の増加に伴って、ピーク時の周波数 f_{peak} がグリセリン濃度 0, 10, 20, 30, 40, 50v/v% サンプルの順に、2411, 1689, 1184, 934, 581, 321 Hz と低周波へ推移したことが示された。また、10000 Hz 以降ではいずれのサンプルにおいても 0 以上の同じ値に収束するような傾向が得られた。この傾向を見せた要因として Brown 緩和および Neel 緩和を重畳させて交流磁場へ応答する Resovist[®] の磁気緩和ダイナミクスが考えられた。この傾向から Resovist[®] は式(4.2.5)を用いた対数正規分布を仮定した近似には不適切であることが考えられる。そのため、Resovist[®] と純水の混合溶液が純水と等しい 0.93 mPa $\cdot$ s, 温度 296K と仮定し、グリセリン濃度 0% サンプルのピーク周波数から Resovist[®] のコーティングを含まれた流体力学的直径 d_h を計算した結果、49.2 nm が得られた。この結果及び式

(4.2.4)を用いて反比例の近似を行ったところ、近似式

$$\eta = \frac{3748}{f_{\text{peak}}} \quad (4.3.1)$$

が得られた。ここで、測定値に占める近似値との残差の割合を求めたところ、グリセリン濃度 0 ~ 50v/v%の順に、それぞれ 5.19, 4.73, 8.46, 40.7, 56.3, 67.2%とピーク時周波数が高周波になるに伴い増加する傾向が確認された。この原因としては、Resovist®特有の磁気緩和ダイナミクスにより粒子径分布を考慮できなかった他にもおよびグリセリン溶液に Resovist®原液を添加したことによるサンプルの粘度変化が考えられた。

この結果から交流磁化率の周波数特性から高精度に粘度計測を行うためには、Brown 緩和および Neel 緩和を重畳させて交流磁場へ応答する磁気ナノ粒子ではなく、Brown 緩和を用いて交流磁場に応答する粒子を選定する必要があることが明らかとなった。そのため、Brown 緩和に基づいて交流磁場に応答する磁気ナノ粒子として BNF dextran(micromod, Germany)を用いた。テクニカルデータシートでは、デキストランコーティングを含めた磁気ナノ粒子直径は 100 nm, 鉄濃度は 15 mg/mL とされている。また、超遠心分析(Analytical UltraCentrifugation)による測定では、金属コア粒子直径が 44 ± 13 nm, 光子相関法(photon correlation spectroscopy)による測定では、BNF dextran 粒子の流体力学的直径が 96 ± 12 nm であることが報告されている[66]。報告された粒子径の平均値を用い、温度 294 K, 粘度 0.98 mPa・s, 磁気異方性定数を 6.051 kJ/m³ と仮定し、式(2.6.4)~ 式(2.6.6)から実効緩和時間 τ_{eff} , Brown 緩和時間 τ_B および Neel 緩和時間 τ_N を計算した。その結果、 $\tau_{\text{eff}} = 3.36 \times 10^{-4}$, $\tau_B = 3.36 \times 10^{-4}$, $\tau_N = 7.76 \times 10^{20}$ となり、Brown 緩和時間が実効緩和時間と等しい値をもち、Neel 緩和時間が非常に大きいことからほとんどの BNF dextran 粒子は Brown 緩和を介して交流磁場へ応答することが示唆された。

式(4.2.5)を用いた近似により溶媒粘度を測定するためには、粒子径分布に対して初期値を設定する必要がある。そのため、BNF dextran 原液 33 μL と純水 467 μL の混合液である純水サンプルの粘度を純水と同一であると仮定した場合の誤差を検討した。磁気ナノ粒子は金属微粒子が液体中に分散している系のため、サスペンションとみなし、サスペンションの液体の粘度 η_s は、アインシュタインの式から溶媒粘度 η_0 , 分散している固体粒子の体積分率 ϕ を用いて

$$\eta_s = \eta_0(1 + 2.5\phi) \quad (4.3.2)$$

と示される[67, 68]。テクニカルデータシートより BNF dextran の公称粒子濃度、密度、1 mg あたりの粒子数は 25 mg/mL, 3.2 g/ccm, 6.0×10^{11} である。したがって、体積分率 ϕ は

$$\phi = \frac{(25 \times 0.033)/3.2}{0.50} \cong 5.2 \times 10^{-4} \quad (4.3.3)$$

となる。これを式(4.3.2)へ代入すると $\eta_s = \eta_0(1 + 2.5 \times 5.2 \times 10^{-4}) \cong 1.0013\eta_0$ となり、純水の粘度 η_0 に対して 0.13%の微小な粘度増加が予測された。本実験では、この微小な粘度増加は無視できるとした。そのため、純水中の BNF dextran の交流磁化率の周波数特性を測定し、

BNF dextran と純水混合サンプルが純水と同じ粘度を持つと仮定したうえで、BNF dextran の粒子径分布を解析した。さらに、グリセリンサンプル中の BNF dextran の交流磁化率の周波数特性を解析する際には、純水サンプルにより得られた粒子径分布の中央値を近似の初期値として設定し、溶媒粘度を解析した。

純水の粘度を高める増粘剤としてグリセリンを用いた。以下に示す箇条書きの実験手順に基づき、磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性から溶媒粘度を解析し、音叉振動式粘度計および密度計で測定した測定粘度と比較することによって手法の精度を評価した。交流磁化率の周波数特性を測定する際にはグリセリン濃度 0, 7, 12, 17, 22, 31, 33, 43v/v%溶液 467 μ L に対し、BNF dextran 原液 33 μ L を添加した計 500 μ L のサンプルを用いた。また、いずれのサンプルにおいても BNF dextran の交流磁化率の周波数特性は、磁場強度 1 mTpp, 印加周波数 10 ~ 5000 Hz 中で対数的に 20 等分した周波数においてコイル交流磁化率測定装置を用いて測定した。点で示した測定結果は 10 回の加算平均値を示す。

1. 純水中の BNF dextran の交流磁化率の周波数特性を測定し、純水の粘度を仮定したうえで、式(4.2.5)を用いた近似により BNF dextran の粒子径分布を解析した。
2. グリセリン濃度 12, 22, 33, 43v/v%サンプル中の BNF dextran の交流磁化率の周波数特性を測定し、手順 1 で得られた粒子径分布を仮定したうえで、式(4.2.5)を用いた近似により解析粘度 η_a を算出した。
3. 音叉振動式粘度計および密度計によりグリセリン濃度 0, 10, 20, 30, 40v/v%溶液の粘度を測定し、横軸をグリセリン濃度、縦軸を測定粘度とする近似曲線を作製した。
4. 手順 3 で得られた近似曲線からグリセリン濃度 12, 22, 33, 43v/v%溶液の溶媒粘度 η_c を計算し、手順 2 で得られた解析粘度 η_a との相関をとり、校正直線を作成した。
5. グリセリン濃度 7, 17, 31v/v%サンプル中の BNF dextran の交流磁化率の周波数特性を測定し、解析により得られた溶媒粘度 η_a を用いて手順 4 により作成した校正直線からグリセリン溶液の溶媒粘度 η_a' 、音叉振動式粘度計および密度計を用いて得られた測定粘度 η_m を比較し、開発した手法の精度を評価した。

実験手順 1, 2 により得られたグリセリン濃度 0, 12, 22, 33, 43v/v%サンプル中の BNF dextran の交流磁化率の周波数特性の実部を図 4.3.2(a)、虚部を図 4.3.2(b)に示す。図 4.3.2(b)に示されたように、得られた交流磁化率の虚部の周波数特性を用いて式(4.2.5)による近似により得られた近似曲線を実線で示した。また、近似により得られた粒子径分布のグラフを図 4.3.3、粒子径分布の中央値、標準偏差および解析粘度 η_a の各パラメータを表 4.3.1 に示す。

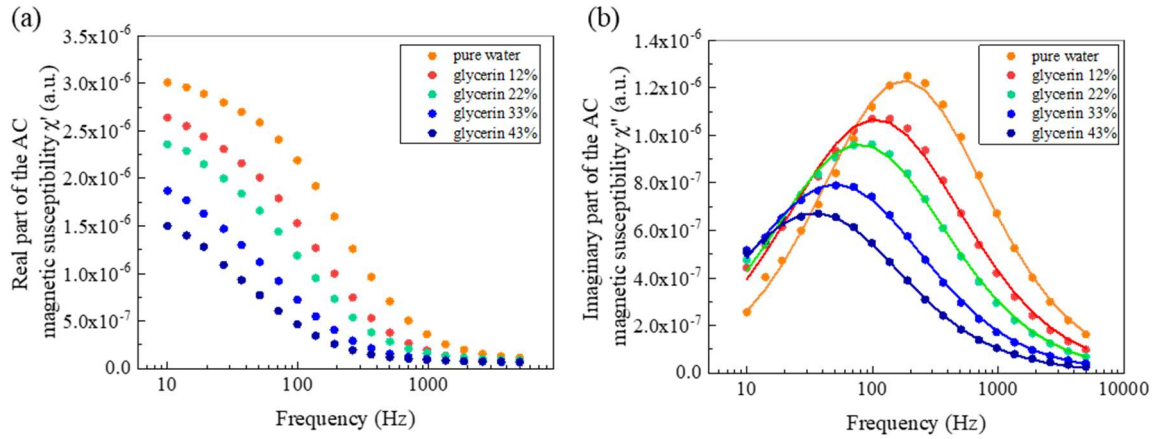


図 4.3.2 グリセリン溶液中の BNF dextran の交流磁化率の(a)実部, (b)虚部の周波数特性. 点は測定値, 実線は式(4.2.5)により構成された近似曲線を示す.

表 4.3.1 解析された粒子径分布の中央値 m_h および標準偏差 σ と解析粘度 η_a

	Median diameter m_h (nm)	Standard deviation σ	Viscosity η_a (mPa · s)
pure water	137	0.31	0.91
glycerin 12%	137	0.35	1.54
glycerin 22%	137	0.34	2.03
glycerin 33%	137	0.35	3.18
glycerin 43%	137	0.34	4.63

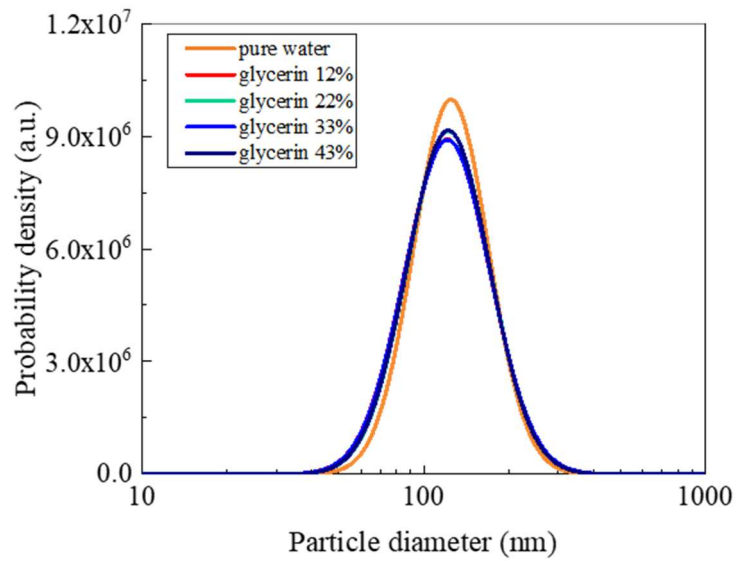


図 4.3.3 近似により構成された粒子径分布

図 4.3.2 よりグリセリン濃度が高くなるにつれて、BNF dextran の交流磁化率の実部，虚部ともに磁気信号が減少する結果が得られた．交流磁化率の大きさが減少した原因として，グリセリン濃度 0, 12, 22, 33, 43v/v% サンプルにおいて解析された初期磁化率 χ_0 が 3.21×10^{-6} , 2.93×10^{-6} , 2.61×10^{-6} , 2.18×10^{-6} , 1.82×10^{-6} と減少したこと．また，表 4.2.1, 図 4.2.2 に示されたように BNF dextran の粒子径分布の標準偏差が純水サンプルの場合が最小であるため，標準偏差減少に伴う粒子径分布の尖度の低下も要因として考えられた．

次に，手順 3 により音叉振動式粘度計および密度計を用いてグリセリン濃度 0, 10, 20, 30, 40v/v% 溶液を測定した結果を表 4.3.2 および図 4.3.4 に示す．サンプル温度を室温に保つため，いずれのサンプルも調製から一日静置したのち測定した．

表 4.3.2 音叉振動式粘度計および密度計による測定結果

Glycerin concentration (v/v%)	Viscosity x Density (mPa · s · g/mL)	Density (g/mL)
0	0.91	0.9969
10	1.43	1.026
20	2.35	1.0549
30	3.96	1.0836
40	6.85	1.1119

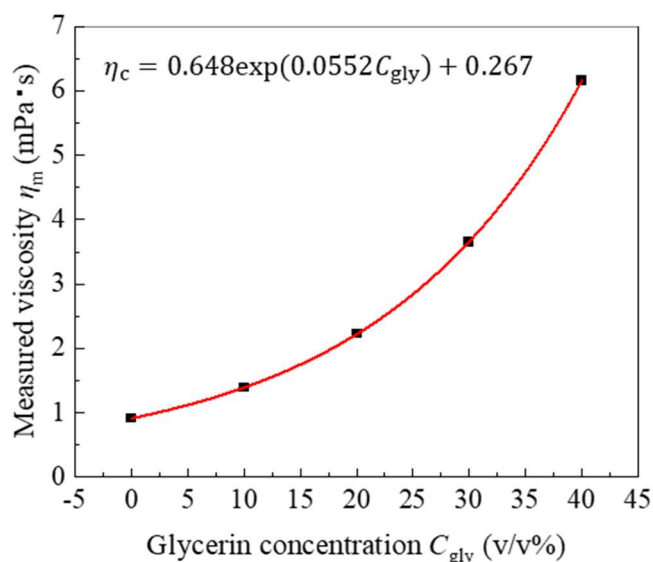


図 4.3.4 音叉振動式粘度計および密度計により構成された粘度曲線．点は測定値，実線は式 (4.3.4)により構成された近似曲線を示す．

表 3.3.2 および図 4.3.4 よりグリセリン濃度 C_{gly} に対して測定粘度は指数関数的に増加する傾向が得られた。そのため、指数関数を用いて近似したところ図 4.3.4 の赤実線に示されるように以下の式が得られた。

$$\eta_c = 0.648 \exp(0.0552C_{gly}) + 0.267 \quad (4.3.4)$$

式(4.3.4)を用いてグリセリン濃度 12, 22, 33, 43v/v%の粘度を算出したところ計算粘度 η_c は 0.912, 1.52, 2.45, 4.27, 7.23 mPa・s と得られた。

手順 4 に基づいて横軸に解析粘度 η_a 、縦軸に計算粘度 η_c をとった校正直線を図 4.3.5 へ示す。グリセリンサンプルにおける解析粘度 η_a は計算粘度 η_c と比較して、いずれも低い値を示した。また、図 4.3.5 の赤実線に示されたとおり、線形近似により

$$\eta_c = 1.72\eta_a - 0.953 \quad (4.3.5)$$

が得られ、決定係数 $R^2 = 0.991$ と線形関係を示した。グリセリン濃度 12, 22, 33, 43v/v%溶液と比較して、BNF dextran 原液の粘度は低いいため、解析粘度 η_a が計算粘度 η_c よりも低い結果となったことが考えられた。しかし、校正直線の R^2 値は 0.991 と強い線形関係を示したことから校正直線を用いたキャリブレーションにより、磁気ナノ粒子とグリセリン溶液の混合比率を一定に保つ条件下では、磁気ナノ粒子溶液とグリセリン溶液混合前のグリセリン溶液のみの粘度を推定できることが示唆された。

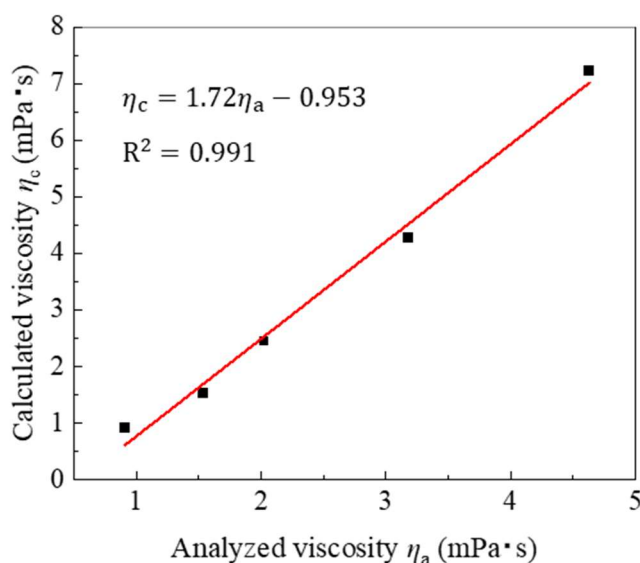


図 4.3.5 解析粘度 η_a と計算粘度 η_c の相関をとり作成された校正直線。点は測定値、実線は式(4.3.5)により構成された近似直線を示す。

図 4.3.5 に示された校正直線を用いた粘度推定の精度を評価するために、手順 5 に基づいてグリセリン濃度 7, 17, 31v/v%サンプル中の BNF dextran の交流磁化率の周波数特性を測定した。結果を図 4.3.6, また式(4.2.5)による近似により得られた粒子径分布の中央値、標準偏

差および解析粘度 η_a を表 4.2.3 へ示す.

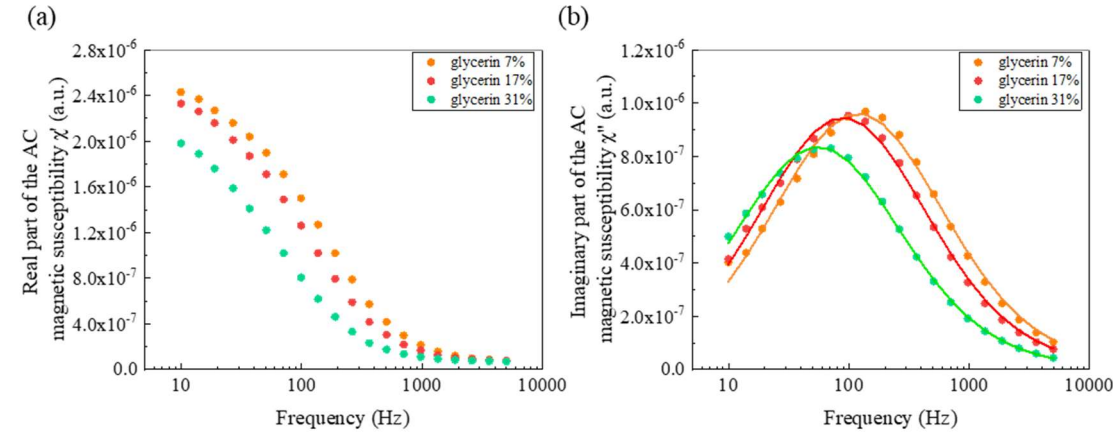


図 4.3.6 グリセリン溶液中の BNF dextran の交流磁化率の(a)実部, (b)虚部の周波数特性. 点は測定値, 実線は式(4.2.5)により構成された近似曲線を示す.

表 4.3.3 解析された粒子径分布の中央値 m_h および標準偏差 σ と解析粘度 η_a

	Median diameter m_h (nm)	Standard deviation σ	Viscosity η_a (mPa · s)
glycerin 7%	137	0.36	1.33
glycerin 17%	137	0.35	1.80
glycerin 31%	137	0.35	3.00

図 4.3.6 および表 4.3.3 よりグリセリン濃度 7, 17, 31v/v%サンプル中の BNF dextran においても測定手順 1, 2 で得られた結果と近い粒子径分布が解析された. また, グリセリン濃度 7, 17, 31v/v%サンプルにおいても解析された初期磁化率は χ_0 は, 2.67×10^{-6} , 2.60×10^{-6} , 2.28×10^{-6} と溶媒粘度増加に伴い, 減少する傾向を示した. グリセリン濃度 7, 17, 31v/v%溶液サンプルに対して, 表 4.3.3 により得られた解析粘度 η_a を用いて式(4.3.5)から得られた解析粘度 η_a' , 音叉振動式粘度計および密度計により得られた測定粘度 η_m を比較した結果を表 4.3.4 へ示す.

表 4.3.4 推定粘度 η_a' と測定粘度 η_m の比較

	Analyzed viscosity η_a' (mPa · s)	Measured viscosity η_m (mPa · s)	Difference (mPa · s)
glycerin 7%	1.33	1.24	0.0915
glycerin 17%	2.13	1.97	0.159
glycerin 31%	4.21	3.94	0.273

表 4.3.4 より音叉振動式粘度計および密度計から計算された粘度と校正直線により得られた粘度には $0.0915 \sim 0.273 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ の差がある結果となった。測定粘度 η_m を基準とした相対誤差は、グリセリン濃度 7, 17, 31v/v%溶液サンプルにおいて 7.38, 8.06, 6.93%となった。

4.4 粘度計測における開発した手法の現状と今後の展望

磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性を利用した粘度推定に関する他の研究として Dynamic Light Scattering(DLS)により得られた粒子径分布を基に、Debye モデルを適用し、SQUID を用いて計測された交流磁化率の周波数特性へ近似を行うことで、7%以内の誤差で鉱物油の粘度を測定した報告がある[69]。開発した手法では、DLS 測定による磁気ナノ粒子の粒子径分布の事前分布を用いず、純水サンプルの BNF dextran の交流磁化率の周波数特性から粒子径分布を推定し、交流磁化率の周波数特性の測定には SQUID ではなく、グラジオメータを利用した。また、本章で利用した音叉振動式粘度計には標準偏差で $\pm 3\%$ の誤差が含まれること考慮すると、得られた粘度計測の誤差は既存研究と比較しても妥当な誤差範囲内で溶媒粘度を定量的に評価されたことが考えられた。

2.6 節で示したように直流磁場が存在しない場合、磁気ナノ粒子は奇数次高調波が発生するため、粘度変化による高調波信号の変化を計測することによって、粘度を高精度に推定できることが考えられる。実際に、磁気ナノ粒子の 3 次高調波と 5 次高調波の比を用いることによって $0.05 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ の変化を計測できたことが報告されている[70]。交流磁化率の虚部の周波数特性から溶媒粘度を推定する手法が高調波信号から粘度推定を行う手法に対して持つ強みとしては、サンプル中の磁気ナノ粒子量の誤差による要因と溶媒粘度変化による要因が交絡しないことやサンプル粘度の他にも対数正規分布を仮定した粒子径分布の情報が得られることがあげられる。前者は、磁気ナノ粒子量によって交流磁化率の虚部のピーク時の周波数は変化しないことに起因する。高調波を利用したより高感度な粘度計測を行うためには、粘度変化による交流磁化率の変化が大きい周波数で測定しなければならないため、交流磁化率の周波数特性を測定することは高調波を利用した粘度計測を行うための前実験に位置づけられる。よって本章の研究は、高調波信号を利用した粘度測定の基盤技術にあたることが考えられる[71]。

次に、粘度計測において開発した手法と既存技術について比較する。JIS Z 8803「液体の粘度測定方法」にもある通り、粘度を測定するための粘度測定計としては、細管粘度計、落球粘度計、及び二重円筒形回転粘度計、単一円筒型回転粘度計、円すい—平板型回転粘度計が分類される回転粘度計、最後に本論文でも校正のために利用した音叉振動式粘度計が分類される振動粘度計の 4 種類に大別される。細管粘度計は、管内に液体が流れるとき、壁面との摩擦等などにより液体の圧力が低下する現象を利用したものである[72]。この方法は細管に一定量のサンプルを滴下し、管路内を移動するサンプルの平均速度 v 、圧力差 ΔP を測定し、式(4.4.1)に示すハーゲン・ポアズイユの式に基づいた式により粘度 η を計算する[73]。

$$\eta = \frac{d^2 \Delta P}{S v L} \quad (4.4.1)$$

ここで、 d は管路の深さ、 L は管路内の液中の長さ、 S は流路の形状に依る固有の定数を示す。

落球粘度計は直径 d の物体と溶媒の密度差 $\Delta\rho$ により発生する浮力により液体内の物体が浮上もしくは、沈降している場合において浮力が流体の粘性抵抗力が釣り合ったときにおける物体の速度（終端速度） U_∞ は、式(4.4.2)に示されるストークスの式より粘度 η に依存するという現象を利用したものである[74].

$$\eta = \frac{g d^2 \Delta \rho}{18 U_\infty} \quad (4.4.2)$$

ここで、 g は重力加速度を示す。この方法は、サンプル溶液を満たした円筒形の中心軸に球を自然落下させ、その落下速度を測定し粘度を計算する[75].

回転粘度計は、ニュートンの法則に従って粘度は単位面積当たりの力（応力）に対してせん断速度または、角速度で割った値と定義されることを利用したものである。この方法は、サンプル中に一定の角速度 ω で回転する円筒や円錐状の回転子を浸し、流体の抵抗力によって生じるトルク T を測定し、式(4.4.3)に基づいて粘度 η を計算する[76].

$$\eta = \frac{T}{K \omega} \quad (4.4.3)$$

ここで、 K は回転子に用いる形状に依る定数である。

最後に、振動粘度計は粘度 η 、密度 ρ を持つ液体サンプル中に周波数 f で振動する振動子を浸したとき、そのばねは式(4.4.4)に基づいた機械インピーダンス R_z をもつことを利用したものである。

$$\eta = \frac{R_z^2}{A^2 \pi f \rho} \quad (4.4.4)$$

ここで、 A は液体中の振動子の平面寸法を示す。この方法は、回転粘度計と同様にサンプル中に振動子を浸して測定するが、回転粘度計は振動子が一定の振幅を維持するために必要な力を測定し、サンプルの粘度と密度の積を計算する[77].

市販されているこれらの計測器が要求するサンプル量は通常 mL オーダーであることが多い。本論文では、500 μ L という低容量のサンプル量で粘度を定量評価できることを示したため、低容量での粘度測定が可能になるという点で優位性をもつことが期待される。しかし、グリセリン溶液以外の粘度測定を行うためには、4.3 節にて考慮した磁気ナノ粒子とサンプルの混合によるサンプルの粘度特性変化を考慮する他、さらに大きく 3 つのことが課題になることが考えられる。1 つ目は、イオンを含むサンプル中における磁気ナノ粒子の凝集する点である。第 3 章で示したように磁気ナノ粒子はイオンとの相互作用によって凝集し磁気信号が時間的に変化する。そのため、第 6 章でも述べるように測定対象サンプルと磁気ナノ粒子を混合してから磁気信号を計測するまでの時間を統一する必要がある。2 つ目は、サンプル中の磁気ナノ粒子の割合が高くなると、MR 流体(Magnetorheological Fluid)の特性が

現れ、磁場印加によりサンプルの粘度が変化することが懸念される点である。そのため、SQUID 等の高感度磁気センサを用いて、溶媒粘度の測定用マーカーとして使う磁気ナノ粒子の量を適切に減らす必要がある。3つ目は、Brown 緩和が粒子体積ではなく、流体力学的体積に依存する点である。開発した手法においてグリセリンサンプルの粘度測定では、純水サンプルで得られた流体力学的直径の粒子径分布を基に解析を行ったが、これはグリセリン溶液中においても純水中においても BNF dextran は同じ流体力学的直径の粒子径分布を持つという仮定に基づいている。しかしながら、ストークス・アインシュタインの式から流体力学的直径 a は、流体中においてブラウン運動により粒子が広がる尺度を示す拡散係数 D を用いて式(4.4.5)のように示される[78].

$$a = \frac{k_B T}{6\pi\eta D} \quad (4.4.5)$$

式(4.4.5)からわかるように流体力学的直径は拡散係数および粘度に依存する。実際に、グリセリン溶液および生細胞下における磁気ナノ粒子の流体力学的直径は増加することが報告されている[79, 80]。よって、上記の仮定は理論的には誤っていることが考えられるが、4.3節で示したように音叉振動式粘度計の測定値と相関を取ることで、その誤差は軽減されたことが予測される。以上の課題を解決することで、本論文で提案した粘度測定手法は、グリセリン溶液以外の粘度測定にも応用できる可能性が高まる。

また、現時点で開発した手法では、せん断速度を変更し、粘度測定を行うことができないため、流動曲線の測定は難しい。このため、現状では細管粘度計や落球粘度計と同様の用途に限定されることが予測される。しかし、磁気ナノ粒子を用いた粘度測定法は、交流磁場に対する磁気ナノ粒子の物理的な回転動作を原理としているため、磁気ナノ粒子へ回転磁場を印加し、磁気ナノ粒子の磁気信号における回転磁場の角速度 ω との相関を計測することにより、流動曲線の測定が可能になることが考えられる。強度 R 、角速度 ω の回転磁場の生成には、互いに直交した2軸のヘルムホルツコイルを用い、片方に交流磁場 $R\sin\omega t$ 、もう片方には交流磁場 $R\cos\omega t$ を印加することが有効であることが考えられる[81]。また流動曲線の測定においては、磁気ナノ粒子の交流磁化率の大きさは一定であることが望ましいため、印加周波数の周期は磁気ナノ粒子の実効緩和時間と比較して十分に大きい値である必要があることが考えられる。そのため、本論文で用いた最低周波数である 10 Hz よりも低い低周波における測定も可能であるほうが、優位に働くことが予測される。このことから、検出機構として高周波帯で感度の高いソレノイドコイルよりも TMR センサ等の MR センサを用いたほうが効果的であることが考えられる。これらの技術的課題を克服することができれば、磁気ナノ粒子を用いる新たな手法により、回転粘度計と比較してより少量のサンプルで流動曲線を測定できることが期待される。

4.5 まとめ

本章では、磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性を用いて Debye モデルに基づいた溶媒粘度解析を行うことを通して、磁気緩和ダイナミクスの評価手法を構築した。

- 磁気ナノ粒子の交流磁化率を測定するために、2つのロックインアンプを用いて入力電圧と出力電圧の振幅比と位相差からサンプルの交流磁化率を測定するコイル交流磁化率測定装置を開発した。
- 交流磁化率の周波数特性の虚部から溶媒粘度を定量的に評価するため、磁気ナノ粒子の粒子径分布が対数正規分布に従うこと、磁気ナノ粒子が Brown 緩和によって交流磁場に応答することの2つの条件を仮定し、Debye モデルに基づいた磁気緩和ダイナミクス評価手法を構築した。
- Resovist®を磁気ナノ粒子として利用した場合、Brown 緩和および Neel 緩和を重畳させて交流磁場へ応答する磁気緩和ダイナミクスが示され、構築したモデルには不適合であることが明らかになった。そのため、交流磁化率の周波数特性の虚部のピーク周波数が粘度に依存することを利用し、溶媒粘度を計算したところピーク時周波数が高周波になるに伴って、測定粘度との残差が増加する傾向が確認された。
- 構築したモデルに適合する磁気ナノ粒子として BNF dextran を選定した粘度測定法を開発した。グリセリン 7, 17, 31v/v%の溶媒粘度を推定したところ音叉振動式粘度計および密度計で得られた測定粘度との差は測定粘度を基準として各々7.38, 8.06, 6.93%となった。この結果は既存研究と比較しても妥当な誤差範囲内で溶媒粘度を定量的に評価できることが示された。また、今後の展望として回転粘度計と比較してより少量のサンプルで流動曲線を測定できることが期待された。

5. 血液凝固機構と検査法

第4章で構築した磁気緩和ダイナミクス手法を用いることにより、500 μL 程度の低容量で実施可能かつ従来の音叉振動式粘度計値と比較して8%以内の差で粘度解析が可能であることが示された。これにより、第4章で開発した簡易的な粘度計測手法は血液や体液の粘度から生体情報を得る検査において応用できることが期待される。この条件を満たす検査として本論文では血液凝固検査に着目した。本章では、その理由を示すため血液凝固の仕組みおよびその検査法の概要について述べる。

5.1 血液凝固機構

人間の止血機能は、一次止血と二次止血の2段階で構成される。一次止血とは血小板の凝集により傷口をふさぐ一連の現象である。はじめに、血管が損傷し出血が始まると、損傷部位の近くに存在する von Willebrand 因子が受容体 (GPIb/IX) と結合し、血小板が損傷部位表面に表面に集まる。そして、集まった血小板同士が血小板表面にあるフィブリノゲンの受容体(GPIIb/IIIa)とフィブリノゲンを介し、凝集することによって一次血栓が形成される。一次止血の障害として von Willebrand 因子が正常に機能しないフォン・ヴィレブランド病がある。血液凝固異常症全国調査（令和5年度報告書）によると患者数は1665人である。

表 5.1.1 血液凝固因子一覧

Number	Name
I	Fibrinogen
II	Prothrombin
III	Tissue Factor
IV	Calcium Ion (Ca^{2+})
V	Proaccelerin
VI	-
VII	Proconvertin
VIII	Antihemophilic Factor (AHF)
IX	Christmas Factor
X	Stuart-Prower Factor
XI	Plasma Thromboplastin Antecedent (PTA)
XII	Hageman Factor
XIII	Fibrin-Stabilizing Factor (FSF)

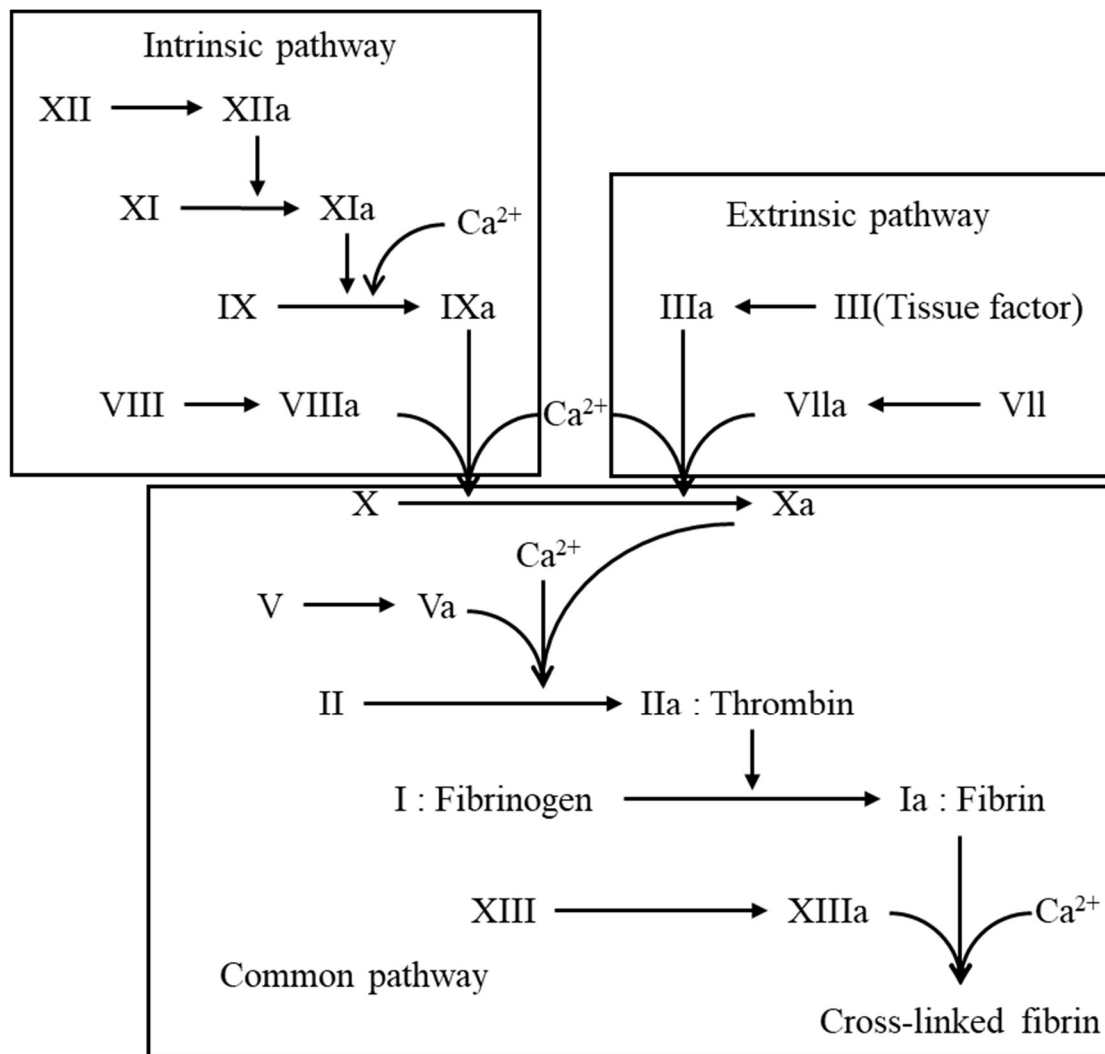


図 5.1.1 カスケード理論[82]

次に、血小板のみの止血では脆弱なため、表 5.1.1 に示す 12 種類の凝固因子が連鎖的な化学反応を引き起こし、フィブリノゲンを架橋フィブリンへと変換することで、傷口をより強固にふさぐ二次止血が発生する。凝固因子には表 5.1.1 にあげた、第 I ~ XIII 凝固因子があり、第 VI 凝固因子は欠番である。二次止血は、未活性状態の凝固因子が図 5.1.1 に示すように連鎖的に活性化され、最終的にフィブリノゲンを架橋フィブリンへと変換する反応であり、この一連の反応はカスケード理論とよばれている。第 V 凝固因子および第 VIII 凝固因子に酵素活性はなく、凝固反応を促進する因子として働いている。

また、これらの反応系のうち血中の因子だけで凝固が起こる系を内因系(Intrinsic pathway)、血中以外の凝固因子も関与する系を外因系(Extrinsic pathway)という。生成された架橋フィブリンは網目状になっており、この網目構造が一次血栓の表面を覆うことによって強固な二次血栓が形成され、止血は完了する。いずれかの凝固因子が 60%より大きく欠乏すると二次止血に障害が発生し、血液が凝固しにくくなる。このような症状は血友病と呼ばれ、特に

正常状態と比較して、第 VIII 凝固因子が 40%以下である場合を血友病 A、第 IX 凝固因子が 40%以下である場合を血友病 B と診断される。血液凝固異常症全国調査（令和 5 年度報告書）によると各々の患者数は 5869, 1318 人である。また、血友病には重症度があり、凝固因子が 1%未満、1%以上 5%未満、5%以上 40%未満の順に重症、中等症、軽症と診断される[83, 84].

5.2 血液凝固検査法

血液検査には末梢血液一般検査、白血球分類・血液像検査、血球算定検査など様々な種類があるが、血液検査のうち、止血機能を評価するための検査が血液凝固検査である。5.1 節に示した血友病の診断以外にも手術前の止血機能のスクリーニング検査や脳卒中や心筋梗塞など血栓症の治療に使用する抗凝固薬のモニタリングとしても利用されている。

血液凝固検査は、血漿と試薬を混合し、血漿の粘度が増加して固まる瞬間を観察していた。現在は、測定技術が発達し、機械的に凝固の瞬間を計測する凝固時間法が開発されている。また、5.1 節で述べた凝固制御因子を個別評価するため、検査対象物質の活性を比色測定で評価する合成基質法、抗原抗体反応を用いて免疫学的に検査対象物質の量を評価する免疫学的方法がある。止血機能のスクリーニング検査の代表的な検査項目として、凝固時間法により測定されるプロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)がある。PT 時間は、外因系凝固因子のスクリーニング検査や抗凝固薬の一つであるワルファリンを用いた療法の指標として、APTT 時間は内因系凝固因子のスクリーニング検査および同じく抗凝固薬の 1 つであるヘパリンを用いた療法の指標として用いられている。

図 5.1.1 に示すように、血液はカルシウムイオンが存在すると凝固するため、凝固を防止する目的で脱カルシウム作用のあるクエン酸ナトリウムをクエン酸ナトリウム：血液 = 1 : 9 の割合で添加した後、遠心分離により得られた血漿を試薬として用いる。その後、クエン酸ナトリウム処理を行った血漿に対して、数十 mM 程度の CaCl_2 溶液を添加して凝固を誘発し、フィブリン析出までの時間を計測する。この際、一般的に 100 μL の血漿が検体として用いられる。この一連の流れが凝固時間法の基本測定法となる。ここで基本測定法により得られる時間をカルシウム再加時間、基本測定に対してさらに APTT 試薬を添加することによって得られる時間が APTT 時間、PT 試薬を添加することによって得られる時間が PT 時間である。基準値は各病院によって異なるが一例としては、それぞれ 90 ~180 s, 11 ~ 13 s, 26.9 ~38.1 s となっている[85, 86].

図 5.1.2 に示すように血漿が凝固するとフィブリンの形成により白く濁り、粘度が増加する。このフィブリン形成による血漿の物理的特性の変化を測定することによって、凝固時間法を機械的に計測する手法として光学的手法と力学的手法に大別される。光学的手法は、サンプルにレーザーを照射し、凝固による散乱光の増加や透過光の減少から血漿の濁度増加を計測する。光学的手法は濁度変化を計測するため、血液中の脂質による白く濁る乳び、や赤血球が破裂することにより赤く濁る溶血の影響を受ける欠点がある。代表的な計測装置

としてはCA-1500(シスメックス株式会社)等があげられる[87].

他の光学的手法としては、ドライヘマトロジー法(DRIHEMATO[®]) があげられる. この方法は、血漿と常磁性をもつ磁性粒子を混合し、交流磁場中での磁性粒子の動きが血液凝固により減衰する現象を、散乱光の強度変化から定量的に評価する方法である[88]. この方法を利用した装置としてはCOAG2N(エイアンドディー株式会社)があげられる.

一方で、力学的手法はサンプルにスチールボールやピンをいれ、凝固によるスチールボールおよびピンの動きの減衰から血漿の粘度増加を計測する. スチールボールをサンプル中にいれ、サンプルごと回転させ測定する機器としてはAmelung(Heinrich Amelung GmbH)[89], ピンをサンプルに浸して測定する機器としては、TEG[®](Haemoscope Corporation), ROTEM[®](シスメックス株式会社)があげられる[90]. 力学的手法は、粘度変化を計測するため光学的手法とは異なり乳び、溶血の影響をうけず、遠心分離前の全血液の状態でも測定できるという利点がある[91].

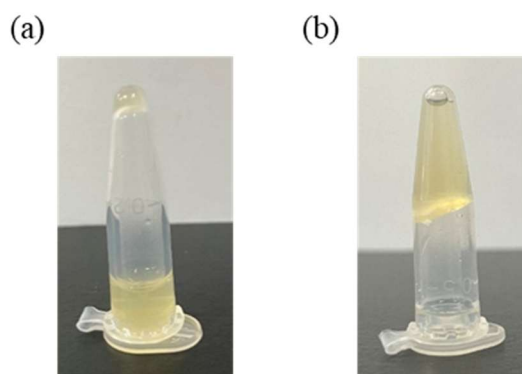


図 5.1.2 CaCl_2 溶液添加による血漿の凝固. (a)が添加前, (b)が添加後を示す.

6. 磁気ナノ粒子を用いた血液凝固検査

第 5 章では、血液凝固検査は凝固による血漿の粘度や濁度などの物理的特性の変化に基づいていることを述べた。本章では、第 4 章で構築した磁気緩和ダイナミクスの評価手法を用いて、磁気ナノ粒子の磁気信号から血漿の粘度変化を計測し、血液凝固の検出が可能であることを示すことを目的とした。しかし、第 3 章で述べた通り、Brown 緩和は粘度および流体力学的体積に依存しており、血液中のイオンによる磁気ナノ粒子の凝集が血漿粘度の変化測定に影響を与える懸念がある。そこで 6.1 節では、4 種類の溶媒中で磁気ナノ粒子の周波数特性を測定し、血液凝固が磁気ナノ粒子の磁気緩和ダイナミクスへ与える影響を凝集と凝固の影響に分けて評価した。6.2 節では、第 3 章で用いた HTS-SQUID 交流磁化率測定装置による 3 次高調波測定を通じて、評価した現象の再現性を確認するとともに、血液凝固を検出するために必要な血漿量の削減を目指した。6.3 節では本章を総括する。

6.1 血液凝固による交流磁化率の周波数特性への影響評価

血液凝固検査を行うためには、クエン酸ナトリウムを添加した血漿に CaCl_2 溶液を添加することにより生じる血漿の粘度増加を磁気ナノ粒子の磁気信号から評価する必要がある。ここで磁気ナノ粒子を血液凝固検査へ利用することを考えたとき、磁気ナノ粒子は、凝固剤として添加した CaCl_2 溶液による凝集、血漿に含まれているイオンによる凝集、血液凝固により生じる粘度増加の 3 つの影響を受け磁気信号を変化させることが予測される。したがって、血液凝固を計測するためには、 CaCl_2 溶液および血漿によって発生する磁気ナノ粒子の凝集が及ぼす磁気信号変化を分離する必要がある。そこで本節では、表 6.1.1 に示す通り溶媒が純水、 CaCl_2 溶液(CaCl_2 サンプル)、正常血漿と CaCl_2 溶液混合溶媒(正常血漿サンプル)、第 VIII 凝固因子欠乏血漿と CaCl_2 溶液混合溶媒(欠乏血漿サンプル)の 4 種類の溶媒中の BNF dextran の交流磁化率の周波数特性を測定し、イオンによる凝集の影響と凝固の影響を個別に評価した。欠乏血漿サンプルでは、凝固因子の欠乏により血液凝固は発生しない。そのため、各サンプルにおける凝固、凝集の有無は表 6.1.2 のとおりになる。本論文では表 6.1.2 に従って、純水サンプルと CaCl_2 サンプルを比較することにより CaCl_2 溶液による磁気ナノ粒子の凝集、 CaCl_2 サンプルと正常血漿サンプルを比較することにより血漿による磁気ナノ粒子の凝集による影響、正常血漿サンプルと欠乏血漿サンプルを比較することにより血液凝固による粘度変化の影響が個別に評価されるものとした。

本章においても Brown 緩和を用いて交流磁場に応答する磁気ナノ粒子として BNF dextran を利用した。表 6.1.1 に示す通りサンプルは、BNF dextran 鉄量 495 μg 、 CaCl_2 溶液濃度 45mM、サンプル容量 200 μL となるように調製した。正常血漿と第 VIII 凝固因子欠乏血漿には、George King Bio-Medical 社製を用いた。純水サンプルはサンプル調製直後に測定し、 CaCl_2 サンプル、正常血漿サンプル、欠乏血漿サンプルは 10 分静置後、測定を開始した。図 6.1.2 に 4.1 節で示したコイル交流磁化率測定装置を用いて磁場強度 1 mTpp、周波数 10 ~ 5000Hz

の範囲で BNF dextran の交流磁化率を測定した結果を示す．また，図 6.1.3(b)に示された交流磁化率の虚部の周波数特性に対して式(4.2.5)を用いた近似を行い，得られた粒子径分布の中央値および標準偏差を表 6.1.3 に，解析された粒子径分布を図 6.1.3 に示す．近似にあたり，純水および CaCl_2 サンプルは純水の粘度，欠乏血漿サンプルは血漿の粘度を仮定した [92]．

表 6.1.1：調製条件．BNF dextran 鉄量 495 μg ， CaCl_2 溶液終濃度 45mM とした．

	Pure water	CaCl_2	Plasma	Deficient plasma
BNF dextran	33	33	33	33
Pure water	167	149	0	0
500mM CaCl_2	0	18	18	18
Factor Assay Control Plasma	0	0	149	0
Factor VIII Deficient with Inhibitor Plasma	0	0	0	149
Total volume (μL)	200	200	200	200

表 6.1.2：各サンプルにおける凝集(aggregation)，凝固(coagulation)の有無

	Pure water	CaCl_2	Plasma	Deficient plasma
aggregation				
	By CaCl_2	×	○	○
aggregation				
	By plasma	×	○	○
coagulation	×	×	○	×

図 6.1.2 より交流磁化率の実部および虚部は純水， CaCl_2 サンプル，正常血漿サンプル，欠乏血漿サンプルの順に減少した．また，虚部のピーク時周波数 f_{peak} は，190, 137, 99, 27 Hz の順になった．図 6.1.3 および表 6.1.3 から BNF dextran は CaCl_2 溶液および血漿の添加により，対数正規分布の粒子径分布を保ちながらも分布の裾が広げる形で凝集したことが示唆された．一方で，4.2 節で示したように Brown 緩和が支配的な磁気ナノ粒子において交流磁化率の周波数特性のグラフは $2\pi f_{\text{peak}}\tau_B = 1$ を満たすピーク周波数 f_{peak} でピークを示す．正常血漿サンプルのピーク周波数は欠乏血漿サンプルと CaCl_2 サンプルの中間に位置していること．正常血漿サンプルでは血液凝固により欠乏血漿と比較して粘度が高いことの 2 つの理由から，正常血漿サンプル中の BNF dextran の粒子径は欠乏血漿サンプルよりも小さく，その粒子径分布の中央値は 204 nm よりも小さいことが考えられる．したがって，血液凝固に起因する粘度増加により血漿による BNF dextran の凝集が妨げられていることが示唆された．

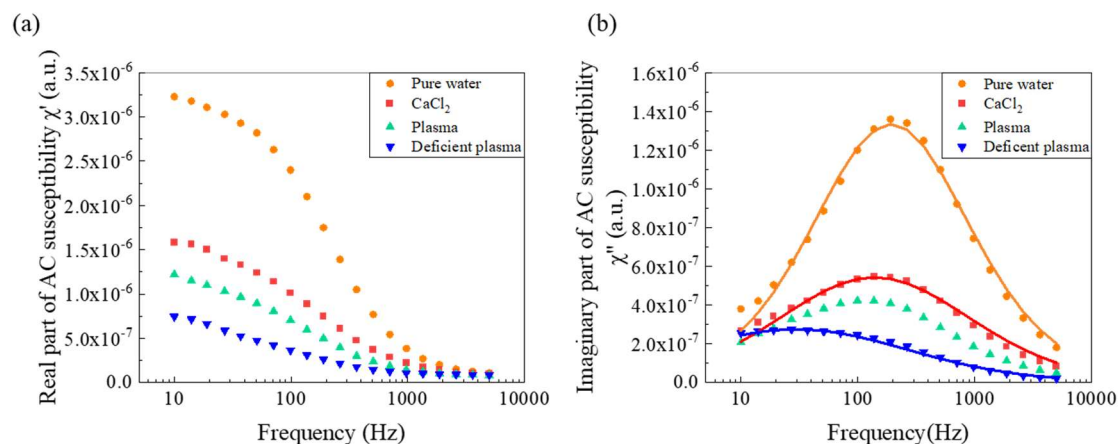


図 6.1.2 BNF dextran の交流磁化率の周波数特性. (a)は実部, (b)は虚部を示し, 点は測定値, 実線は式(4.2.5)により構成された近似曲線を示す.

表 6.1.3 血漿量 149 μL における解析された粒子径分布の中央値 m_h および標準偏差 σ と仮定された粘度 η

	Median diameter $m_h(\text{nm})$	Standard deviation σ	Viscosity η (mPa $\cdot$ s)
Pure water	134	0.31	0.91
CaCl ₂	155	0.46	0.91
Deficient plasma	204	0.59	1.6

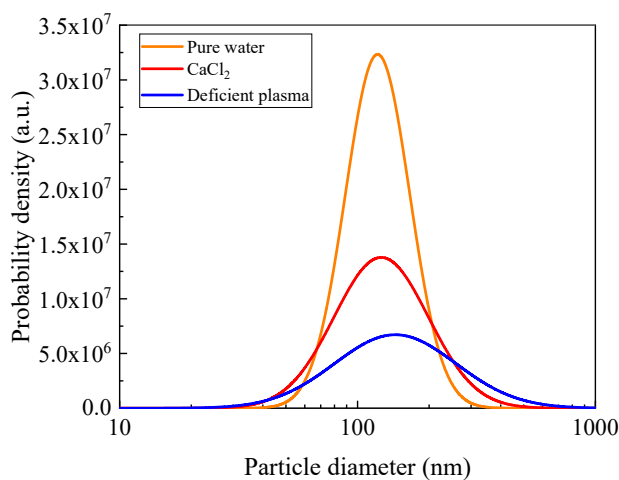


図 6.1.3 式(4.2.5)を用いた近似により得られた粒子径分布

血液凝固による粘度増加が BNF dextran の凝集を妨害していると仮定した場合、血漿量が減少するにつれて、正常血漿サンプルと欠乏血漿サンプルの交流磁化率の差は小さくなることが予測される．そこで、表 6.1.4 に示すように、BNF dextran 鉄量 495 μg 、 CaCl_2 溶液濃度 45 mM を保ちつつ、血漿量 149 μL から 100 μL へ減少させて同様の実験を行った．得られた BNF dextran の交流磁化率の周波数特性を図 6.1.4．また、式(4.2.5)を用いた近似により得られた粒子径分布の中央値および標準偏差を表 6.1.5、解析された粒子径分布を図 6.1.5 に示す．

表 6.1.4 血漿量 100 μL としたサンプル条件

	Pure water	CaCl_2	Plasma	Deficient plasma
BNF dextran	33	33	33	33
Pure water	113.2	100	0	0
500mM CaCl_2	0	13.2	13.2	13.2
Factor Assay Control Plasma	0	0	100	0
Factor VIII Deficient with Inhibitor Plasma	0	0	0	100
Total volume (μL)	146.2	146.2	146.2	146.2

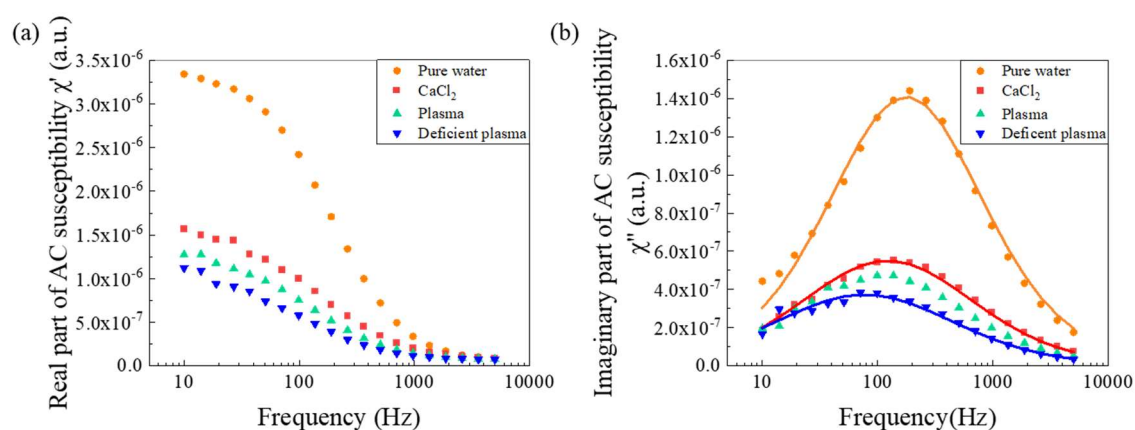


図 6.1.4 血漿量 100 μL における BNF dextran の交流磁化率の周波数特性．(a)は実部，(b)は虚部を示し、点は測定値、実線は式(4.2.5)により構成された近似曲線を示す．

表 6.1.5 血漿量 100 μL における解析された粒子径分布の中央値 m_h および標準偏差 σ と仮定された粘度 η

	Median diameter m_h (nm)	Standard deviation σ	Viscosity η (mPa $\cdot$ s)
Pure water	137	0.31	0.91
CaCl ₂	155	0.39	0.91
Deficient plasma	150	0.42	1.6

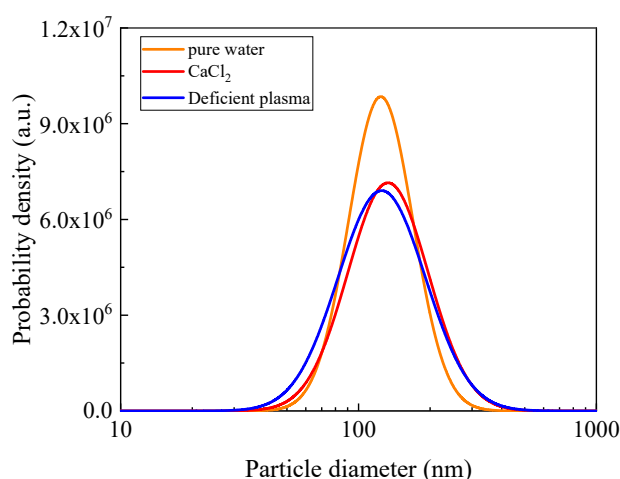


図 6.1.5 式(4.2.5)を用いた近似により得られた粒子径分布

図 6.1.4 より図 6.1.2 と同様に交流磁化率の実部, 虚部の大きさの順は純水, CaCl₂ サンプル, 正常血漿サンプル, 欠乏血漿サンプルの順となり, 虚部のピーク時周波数 f_{peak} はそれぞれ 190, 137, 99, 71 Hz となった. 純水サンプル, CaCl₂ サンプル, 正常血漿サンプルではサンプル量が 53.8 μL 減少したが, 虚部のピーク周波数に変化は見られなかった. 一方で欠乏血漿サンプルは虚部のピーク周波数が 27 Hz から 71 Hz へと上昇するとともに, 交流磁化率の実部, 虚部の大きさは増加する傾向が得られた. これらの結果から血漿量の減少に伴い, 欠乏血漿サンプルの交流磁化率の虚部のピークが高周波へ移行することが明らかとなった.

添加する血漿量が減少した場合, 血漿添加に起因する BNF dextran の凝集およびサンプル溶媒粘度の増加という 2 つの影響が弱まり, 正常, 欠乏血漿の両サンプルにおいて虚部のピークは高周波へ移行することが予測される. しかし, 図 6.1.4 からは欠乏血漿サンプルが正常血漿サンプルに近づく形で交流磁化率を変化させたことが確認された. この結果から, 欠乏血漿サンプルに関しては, 添加血漿量が減少することによって血漿添加に起因する BNF dextran の凝集およびサンプル溶媒粘度の増加という 2 つの影響が減衰し, 虚部のピークを

高周波へ移行させた一方で、正常血漿サンプルにおいては添加血漿量減少による 2 つの要因の減衰と平衡するように血液凝固によって溶媒粘度が増加したことが考えられた。

また、表 6.1.5 および図 6.1.5 により示された式(4.2.5)を用いた近似結果からは、欠乏血漿サンプル中の BNF dextran の粒子径分布の中央値が CaCl_2 サンプルと比較して小さいことが示されている。血漿には多くのイオンが含まれており[93]、欠乏血漿サンプルでは CaCl_2 サンプルと比較して多くのイオンが BNF dextran の表面電荷を遮蔽し、凝集を促進することが考えられる。そのため、近似から得られたパラメータは実際のパラメータと乖離している可能性がある。この乖離の原因として BNF dextran および CaCl_2 溶液を添加により血漿濃度に対して溶媒粘度も指数関数的に減少し、溶媒粘度が $1.6 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ と仮定できないほど低下したためと考えられた。

6.2 HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いた血液凝固の検出

6.1 節の結果から血液凝固によって血漿による BNF dextran の凝集が抑制されることを示唆するとともに、血漿量が減少するに伴い、正常血漿サンプルと欠乏血漿サンプルの交流磁化率は近づく傾向があることを明らかにした。しかし、血漿量 $100 \mu\text{L}$ のとき正常血漿サンプルと欠乏血漿サンプルの差は小さく、近似結果も乖離していることが示唆されたことから $100\mu\text{L}$ 未満の血漿量では、コイル交流磁化率測定装置を用いて BNF dextran の磁気信号による血液凝固の検出は困難であることが懸念された。そのため、必要血漿量および血液凝固のマーカーとして用いる BNF dextran の必要量を減少させることを目的として、第 3 章で用いた HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いて 3 次高調波を測定することにより、溶媒の影響を除いた BNF dextran のみの磁気信号を計測した。

磁気ナノ粒子は、交流磁化率が減少するにともない、式(2.6.2)に基づいて磁化率が減少した結果、3 次高調波信号は減少する。したがって、血液凝固により血漿による BNF dextran の凝集が阻害されていた場合、6.1 節で得られた交流磁化率と同様の 3 次高調波信号の強弱関係が得られることが予測される。このことを検証するため、表 6.2.1 に示す純水、 CaCl_2 サンプル、正常血漿サンプル、欠乏血漿サンプル中の BNF dextran の 3 次高調波信号を計測した。表 6.2.1 に示されたサンプルのうち、 $50 \mu\text{L}$ を図 3.1.3 に示したサンプルケースへ注入し、測定した。各溶媒条件において 3 回測定した結果を図 6.2.1 に示す。

図 6.2.1.より各溶媒条件における信号は純水、 CaCl_2 サンプル、正常血漿サンプル、欠乏血漿サンプルの順に 1010 ± 46.7 , 476 ± 8.73 , 177 ± 3.71 , $133 \pm 3.87 \mu\text{V}$ (平均値 $\pm$ 標準偏差)となった。変動係数はそれぞれ、4.62%, 1.83%, 2.10%, 2.91%であった。3 次高調波信号においても 6.1 節で得られた交流磁化率の強弱関係と同様の関係が得られたことから、血漿による BNF dextran の凝集が血液凝固により阻害される現象の再現性が確認された。

表 6.2.1 サンプル量 50 μL におけるサンプル調製. 測定サンプルは調製したサンプルから 50 μL を用いて測定された.

	Pure water	CaCl_2	Plasma	Deficient plasma
BNF dextran	4	4	4	4
Pure water	96	87	0	0
500mM CaCl_2	0	9	9	9
Factor Assay Control Plasma	0	0	87	0
Factor VIII Deficient with Inhibitor Plasma	0	0	0	87
Total volume (μL)	100	100	100	100

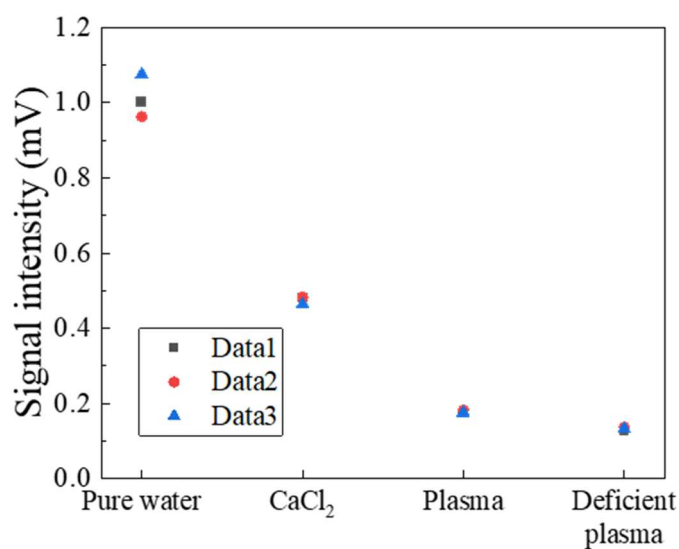


図 6.2.1 サンプル量 50 μL における BNF dextran の 3 次高調波信号

次に, HTS-SQUID 交流磁化率計を用いた血液凝固検査の最低必要血漿量を推測するために表 6.2.2 に示すようにサンプル内の CaCl_2 溶液終濃度を 45 mM と一定に保ちつつ, サンプル量を 50 μL から 20, 40 μL と減少させ, BNF dextran の 3 次高調波信号を測定した. サンプル量 40, 20 μL の場合において, それぞれ表 6.2.2(a), (b)に示すとおり調製されたサンプルから 40, 20 μL をサンプルケースへ注入し, 注入完了後, 10 分後に測定を開始した. サンプル量が 40, 20 μL において各々の測定結果を図 6.2.2(a)および(b)へ示す. 各溶媒条件におけるサンプルサイズはいずれも 3 とした.

図 6.2.2 において各溶媒条件における 3 次高調波信号は純水, CaCl_2 サンプル, 正常血漿サンプル, 欠乏血漿サンプルの順に (a) 1370 ± 38.4 , 597 ± 9.77 , 249 ± 6.57 , $196 \pm 5.05 \mu\text{V}$. (b) 1390 ± 108 , 519 ± 5.96 , 202 ± 12.4 , $188 \pm 33.2 \mu\text{V}$ となった. 変動係数はそれぞれ, (a) 2.80, 1.64, 2.64, 2.58%. (b) 7.77, 1.15, 6.14, 17.7%であった.

純水サンプルにおいてサンプル量が 40, 20 μL の場合ともにサンプル量が 50 μL の場合よりも大きい値が得られた. この原因としては, サンプル量 50, 40, 20 μL 中における BNF dextran の鉄量が 30, 49.6, 45.5 μg と変化していることによるものと考えられた.

ここで, 正常血漿サンプルと欠乏血漿サンプルの差について考えるために, それらの差の分布について考える. 3.1 節より HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を利用した各データの値は 10 回の加算平均値を示す. この加算平均値の平均値を μ , 標準偏差を σ としたとき, 中心極限定理から 10 回の加算平均値の分布 $\bar{X}_n$ はサンプル数 n を十分大きくした場合

$$\sqrt{n}(\bar{X}_n - \mu) \sim N(0, \sigma^2) \quad (6.2.1)$$

と漸近的に正規分布 $N(\mu, \sigma^2/n)$ に近づく性質をもつ. そのため, 正常血漿サンプル, 欠乏血漿サンプルから得られた測定値が平均値, 分散を $\mu_{p,d}$, $\sigma_{p,d}^2$ とする正規分布に独立して従うとした場合, 2.6 節に示した正規分布の再生性及び分散の加法性に基いて正常血漿サンプル, 欠乏血漿サンプルの差の分布は正規分布 $N(\mu_p - \mu_d, \sigma_p^2 + \sigma_d^2)$ に従う [94]. このことから, 正常血漿サンプルと欠乏血漿サンプルの差はサンプル量 50, 40, 20 μL の順に 44 ± 5.36 , 53 ± 8.29 , $14 \pm 35.4 \mu\text{V}$ となった. 変動係数は 12.2, 15.6, 253% となり, サンプル量 50, 40 μL のときは同程度の磁気信号差が得られたが, サンプル量が 20 μL の場合は差が計測されていないことが示唆された.

6.1 節で示したコイル交流磁化率測定装置において血漿量を減少させた際に, 欠乏血漿サンプルが正常血漿サンプルに近づく形で交流磁化率を変化させたことが確認された. この傾向は図 6.2.2 においても再現されたことがわかる. よって, 血漿量の減少によって正常血漿サンプルと欠乏血漿サンプルの交流磁化率の差が減少し, それに起因して 3 次高調波の差も減少したことが示唆された.

したがって図 6.2.1, 図 6.2.2 より, 開発した HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いた血液凝固検査において, 血液凝固の検出マーカーとして利用する BNF dextran の量を 4 μL に固定した場合, 必要血漿量は少なくとも 40 μL まで減少できることが示された.

表 6.2.2 サンプル量(a)40, (b)20 μL におけるサンプル調製. 調製したサンプルのうち(a)40, (b)20 μL が測定に用いられた.

(a)	Pure water	CaCl_2	Plasma	Deficient plasma
BNF dextran	4	4	4	4
Pure water	44.4	40	0	0
500mM CaCl_2	0	4.4	4.4	4.4
Factor Assay Control Plasma	0	0	40	0
Factor VIII Deficient with Inhibitor Plasma	0	0	0	40
Total volume (μL)	48.4	48.4	48.4	48.4

(b)	Pure water	CaCl_2	Plasma	Deficient plasma
BNF dextran	4	4	4	4
Pure water	22.4	20	0	0
500mM CaCl_2	0	2.4	2.4	2.4
Factor Assay Control Plasma	0	0	20	0
Factor VIII Deficient with Inhibitor Plasma	0	0	0	20
Total volume (μL)	26.4	26.4	26.4	26.4

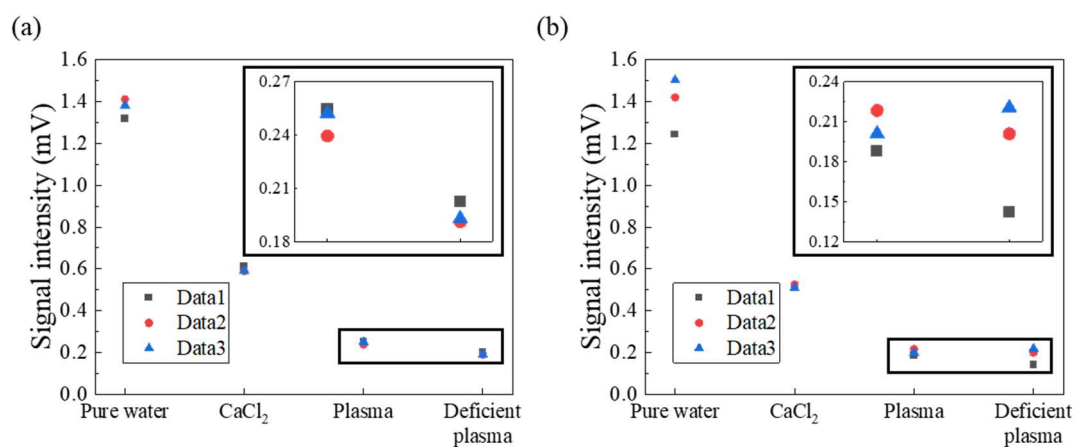


図 6.2.2 サンプル量(a)40, (b)20 μL における BNF dextran の 3 次高調波信号

6.3 まとめ

本章では、磁気ナノ粒子の磁気信号から血漿の粘度変化を計測し、血液凝固の検出が可能であることを示すことを目的とした。

第 1 節では、第 4 章で開発したコイル交流磁化率測定装置および構築した磁気緩和ダイナミクスの評価手法を用いて、凝固による交流磁化率の周波数特性の変化を評価した。

- 血漿および CaCl_2 に含まれるイオンに起因する BNF dextran の凝集，および血液凝固による血漿粘度の増加の影響を区別するため，純水， CaCl_2 溶液，正常血漿と CaCl_2 溶液混合溶媒，第 VIII 凝固因子欠乏血漿と CaCl_2 溶液混合溶媒の 4 種類の溶媒中の BNF dextran の周波数特性を測定した。
- その結果，交流磁化率の大きさは溶媒が純水 > CaCl_2 溶液 > 正常血漿と CaCl_2 溶液 > 第 VIII 凝固因子欠乏血漿と CaCl_2 溶液の順に従い，血液凝固に起因する粘度増加により血漿による BNF dextran の凝集が妨げられていることが示唆された。また，血漿量を減少させると，血液凝固の有無による交流磁化率の差も小さくなることが示された。

第 2 節では，より少量の血漿，BNF dextran を用いて磁気信号から血液凝固の有無を検出するため，第 3 章で用いた HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いた場合の必要血漿量の下限を評価した。

- 3 次高調波の大きさも交流磁化率の大きさと同様の順序に従い，血液凝固による BNF dextran の凝集が妨げられるという現象の再現性が確認された。
- 血液凝固の検出マーカーとして利用する BNF dextran の量を $4\ \mu\text{L}$ に固定した場合，必要血漿量は少なくとも $40\ \mu\text{L}$ まで削減可能であることが示された。

7. 総括

本論文では、非侵襲治療および検査技術への応用が期待されている磁気ナノ粒子に着目し、3次高調波信号及び交流磁化率の周波数特性の測定を通して、磁気ナノ粒子の磁気緩和ダイナミクスを評価した。その結果、磁気ナノ粒子の凝集が血液凝固により阻害される現象を見出し、血液凝固検査への応用可能性を示した論文である。

第2章では本論文で用いる SQUID を含めた各種磁気センサの基礎原理について述べるとともに、測定対象である磁気ナノ粒子の磁気特性および磁気ナノ粒子の磁気信号を高精度に測定するために用いられる高調波測定の原理について述べた。

第3章では、医療現場で利用されている代表的な磁気ナノ粒子である Resovist®を用いて、血清、全血液、NaCl 溶液、グリセリン溶液中の磁気信号の経時変化を計測し、血液が Resovist®の磁気緩和特性へ及ぼす影響を評価した。はじめに、測定装置として用いた HTS-SQUID 交流磁化率測定装置の動作温度によるばらつきが標準偏差で $3.39 \mu\text{V}$ と凝集による磁気信号変化と比較して無視できる程度に小さいことを示した後、凝集による磁気信号の経時変化は、2つの指数関数の和として表現されることを示唆した。これにより、血液中の Resovist®の磁気信号はサンプルに含まれるイオンにより生じる磁気ナノ粒子の凝集によって時間に依存して減少することを示すとともに、その経時変化は少なくとも2つのメカニズムの影響を受けて変化することを明らかにした。

第4章では、磁気ナノ粒子の交流磁化率の周波数特性を用いて Debye モデルに基づいた溶媒粘度の解析を通し、磁気緩和ダイナミクスの評価手法を構築した。はじめに、印加コイルにソレノイドコイル、検出コイルにグラジオメータを利用し、入力回路に挟んだシャント抵抗間電圧と検出コイルに発生する起電圧の振幅比および位相差からサンプルの交流磁化率を計測するコイル交流磁化率測定装置を開発した。第3章で利用した Resovist®を用いて交流磁化率の周波数特性を測定したところ、Brown 緩和時間変化による磁気緩和ダイナミクスの変化を検出するためには、Brown 緩和および Neel 緩和を重畳させて交流磁場へ応答する磁気ナノ粒子ではなく、Brown 緩和のみによって交流磁場へ応答する粒子を選定する必要性が示された。そのため、磁気ナノ粒子内部の酸化鉄粒子の直径が十分に大きいことにより Neel 緩和時間が Brown 緩和時間と比較して非常に大きいことが考えられた BNF dextran を磁気ナノ粒子として選定し、BNF dextran の交流磁化率の周波数特性の虚部に対して Debye モデルに基づいた近似を行うことにより溶媒粘度、粒子径分布を解析する磁気緩和ダイナミクス評価手法を構築した。グリセリン濃度 7, 17, 31%において開発した手法による推定粘度値と音叉振動式粘度計および密度計を用いた測定値と比較したところ、その差は音叉振動式粘度計による粘度測定値を基準として 7.38, 8.06, 6.93%となった。この結果から構築した磁気緩和ダイナミクス手法を用いることにより $500 \mu\text{L}$ というマイクロオーダーのサンプル量を用いて妥当な誤差範囲内で粘度計測されたことが考えられた。さらに構築した手法は、磁気ナノ粒子の高調波信号測定により高精度な粘度測定法を実現するための基礎実験

として有用であることを示すとともに、磁気ナノ粒子を用いた粘度測定法の今後の展望について流動曲線を測定できる可能性があることも述べた。

第5章では、第4章で構築した BNF dextran を利用した磁気緩和ダイナミクスの評価手法が血液凝固検査へ応用できることを示すため、カスケード理論として知られている血液凝固の仕組み、および血液凝固検査法の測定原理は血漿へ CaCl_2 溶液添加することにより発生する粘度および濁度といった血漿の物理的特性の変化を計測することに基づいていることを述べた。

第6章では、第3章で利用した HTS-SQUID 交流磁化率測定装置および第4章で開発したコイル交流磁化率測定装置および構築した磁気緩和ダイナミクス手法を用い、凝固と凝集の影響を分離して評価したうえで、磁気ナノ粒子の応用先として血液凝固検査があることを示した。凝固と凝集の影響を分離して評価するために、溶媒として純水、 CaCl_2 溶液、 CaCl_2 溶液と正常血漿、 CaCl_2 溶液と第 VIII 凝固因子欠乏血漿の4種類のサンプルを用いた対照実験を実施し、各々のサンプルに対して構築した磁気緩和ダイナミクス評価手法を用いて評価したところ、血漿や血漿の凝固剤として利用する CaCl_2 溶液に含まれるイオンにより発生する BNF dextran の凝集が血液凝固により阻害される現象が示された。また、血漿量を $100\ \mu\text{L}$ へ減少させると血液凝固の有無による差は小さくなる傾向が得られた。そのため、より低容量の血漿、BNF dextran を用いて血液凝固の有無を判別するために、HTS-SQUID 交流磁化率測定装置を用いた3次高調波測定を行ったところ、サンプル間における3次高調波の磁気信号強度の関係は交流磁化率のものと一致する結果が得られた。この結果から、血液凝固が血漿中の BNF dextran の凝集を阻害するという現象の再現性を示されるとともに、その現象は少なくとも $40\ \mu\text{L}$ まで血漿を減少させた場合においても観測できることを示した。

血液などの夾雑物質や色素を多く含む溶液中では、DLS などの光学的手法によって磁気ナノ粒子の物理的特性を評価することは従来困難であるとされてきた。しかし、本論文で構築した磁気緩和ダイナミクス評価手法を用いることにより、夾雑物質を多く含む血漿中でも磁気ナノ粒子の凝集が阻害される現象を把握できることを示した。このように、磁気ナノ粒子の磁気緩和ダイナミクスを定量的に評価できることは、磁気ナノ粒子イメージング法や磁気免疫検査法など、磁気信号を利用した幅広い計測技術の高度化に寄与すると期待される。また、4.4 節で示した粘度測定技術は、流動曲線の測定にも応用可能であることを示唆した。これが実現すれば、食料品のテクスチャ評価、塗料の塗布性能評価、化粧品の一貫性評価、潤滑油の劣化評価など、これまで主に用いられてきた医療分野の枠組みを超え様々な分野へ展開することが見込まれる。加えて、磁気ナノ粒子を用いた手法は従来よりも少ないサンプル量で測定できることを4.3 節および6.2 節で示唆してきた。したがって、磁気ナノ粒子を使ったセンシング技術を開発することで、従来の手法に比べて必要なサンプル量を大幅に削減し、一度に検査可能なサンプル数を拡大でき、より厳密かつ効率的な評価が可能となる。その結果、品質管理および開発製品の評価コストの低減に加え、製品の品質向上にも寄与することが期待される。

謝辞

研究の遂行にあたり，研究室配属からご指導ご鞭撻を賜りました方々に深く感謝申し上げます。はじめに，この研究に取り組む機会をいただいた岡山大学名誉教授・塚田啓二先生へ心よりお礼申し上げます。博士前期課程から指導教官を引き継いでくださった岡山大学教授・紀和利彦先生へ心よりお礼申し上げます。博士後期課程への進学も快く承諾いただき，本論文を形成する血液凝固検査法へ着手するきっかけや研究へのアドバイスなどいただき大変お世話になりました。同准教授・王璵先生に心よりお礼申し上げます。論文の指導などサポートしていただき，ありがとうございました。同志社大学准教授・堺健司先生に心よりお礼申し上げます。研究室配属から博士後期課程 1 年までの間，大変お世話になりました。奈良県立医科大学教授・粕田省吾先生に心よりお礼申し上げます。希少な法医学の観点からご意見をいただき大変勉強になりました。副指導教官を担当していただきました同研究科，医用情報ネットワーク学研究室教授・横平徳美先生に心よりお礼申し上げます。中間審査において外部審査を務めていただいた理化学研究所，大谷知行様に心よりお礼申し上げます。また，公益財団法人大本育英会様から 3 年間，および JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム JPMJSP2126 から 2 年間多額の奨学金を賜り，本研究の遂行に専念することができました。心から感謝申し上げます。そしてこの博士研究の間，私の研究や個人の成長に寄与してくださった全ての方々へ深く感謝の意を表します。

参考文献

- [1] 中川 貴, 清野 智史, 山本 孝夫, 阿部 正紀, "磁性ビーズのバイオメディカル応用," 低温工学, vol. 45, no. 10, pp. 436-443, 2010, doi: 10.2221/jcsj.45.436.
- [2] P. Reimer and T. Balzer, "Ferucarbotran (Resovist): a new clinically approved RES-specific contrast agent for contrast-enhanced MRI of the liver: properties, clinical development, and applications," *Eur. Radiol.*, vol. 13, no. 6, pp. 1266-1276, 2003.
- [3] J. W. M. Bulte, "Superparamagnetic iron oxides as MPI tracers: A primer and review of early applications," *Adv. Drug Del. Rev.*, vol. 138, pp. 293-301, 2019, doi: 10.1016/j.addr.2018.12.007.
- [4] K. Enpuku and T. Yoshida, "Expression for hysteresis loss of immobilized magnetic nanoparticles in a wide range of particle parameters and excitation conditions: Parameter optimization for hyperthermia application," *AIP Adv.*, vol. 11, no. 12, 2021, doi: 10.1063/5.0076534.
- [5] R. Hergt *et al.*, "Maghemite nanoparticles with very high AC-losses for application in RF-magnetic hyperthermia," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 270, no. 3, pp. 345-357, 2004.
- [6] C. L. Dennis *et al.*, "Internal Magnetic Structure of Nanoparticles Dominates Time-Dependent Relaxation Processes in a Magnetic Field," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 25, no. 27, pp. 4300-4311, 2015, doi: <https://doi.org/10.1002/adfm.201500405>.
- [7] T. Neuberger, B. Schöpf, H. Hofmann, M. Hofmann, and B. Von Rechenberg, "Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: possibilities and limitations of a new drug delivery system," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 293, no. 1, pp. 483-496, 2005.
- [8] V. V. Mody, A. Cox, S. Shah, A. Singh, W. Bevins, and H. Parihar, "Magnetic nanoparticle drug delivery systems for targeting tumor," *Applied Nanoscience*, vol. 4, no. 4, pp. 385-392, 2014/04/01 2014, doi: 10.1007/s13204-013-0216-y.
- [9] H. Lee, D.-i. Kim, S.-h. Kwon, and S. Park, "Magnetically Actuated Drug Delivery Helical Microrobot with Magnetic Nanoparticle Retrieval Ability," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 13, no. 17, pp. 19633-19647, 2021/05/05 2021, doi: 10.1021/acsami.1c01742.
- [10] S. Bai *et al.*, "High-Resolution Enlarged Open-Bore Narrowband Magnetic Particle Imaging Based on Double-Layer Linear Scanning Structure," *IEEE Trans. Magn.*, vol. 59, no. 11, pp. 1-5, 2023, doi: 10.1109/TMAG.2023.3285847.
- [11] Z. W. Tay *et al.*, "Magnetic Particle Imaging-Guided Heating in Vivo Using Gradient Fields for Arbitrary Localization of Magnetic Hyperthermia Therapy," *ACS Nano*, vol. 12, no. 4, pp. 3699-3713, 2018/04/24 2018, doi: 10.1021/acsnano.8b00893.
- [12] D. Eberbeck, C. L. Dennis, N. F. Huls, K. L. Krycka, C. Gruttner, and F. Westphal, "Multicore Magnetic Nanoparticles for Magnetic Particle Imaging," *IEEE Trans. Magn.*, vol. 49, no. 1, pp. 269-274, 2013, doi: 10.1109/tmag.2012.2226438.
- [13] K. Enpuku *et al.*, "Wash-free detection of C-reactive protein based on third-harmonic signal

- measurement of magnetic markers," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 57, no. 9, p. 090309, 2018, doi: 10.7567/jjap.57.090309.
- [14] J.-J. Chieh *et al.*, "Eight-channel AC magnetosusceptometer of magnetic nanoparticles for high-throughput and ultra-high-sensitivity immunoassay," *Sensors*, vol. 18, no. 4, p. 1043, 2018.
 - [15] F. Ludwig, E. Heim, D. Menzel, and M. Schilling, "Investigation of superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles by fluxgate magnetorelaxometry for use in magnetic relaxation immunoassays," *J. Appl. Phys.*, vol. 99, no. 8, p. 08P106, 2006.
 - [16] J. G. Ovejero, D. Cabrera, J. Carrey, T. Valdivielso, G. Salas, and F. J. Teran, "Effects of inter-and intra-aggregate magnetic dipolar interactions on the magnetic heating efficiency of iron oxide nanoparticles," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 18, no. 16, pp. 10954-10963, 2016.
 - [17] K. Jinno *et al.*, "Magnetic characterization change by solvents of magnetic nanoparticles in liquid-phase magnetic immunoassay," *AIP Adv.*, vol. 9, no. 12, p. 125317, 2019.
 - [18] H. T. R. Wiogo, M. Lim, V. Bulmus, J. Yun, and R. Amal, "Stabilization of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles in Biological Media by Fetal Bovine Serum (FBS)," *Langmuir*, vol. 27, no. 2, pp. 843-850, 2011, doi: 10.1021/la104278m.
 - [19] H. Kikuchi, "Applications of Higher Sensitive Magnetic Field Sensors on Nondestructive Testing and Evaluation," *IEEE Transactions on Fundamentals and Materials*, vol. 137, no. 8, pp. 470-475, 2017, doi: 10.1541/ieejfms.137.470.
 - [20] M. A. Khan, J. Sun, B. Li, A. Przybysz, and J. Kosel, "Magnetic sensors-A review and recent technologies," *Eng. Res. Express*, vol. 3, no. 2, p. 022005, 2021/06/15 2021, doi: 10.1088/2631-8695/ac0838.
 - [21] Z. Wang *et al.*, "Highly Sensitive Flexible Magnetic Sensor Based on Anisotropic Magnetoresistance Effect," *Adv. Mater.*, vol. 28, no. 42, pp. 9370-9377, 2016, doi: 10.1002/adma.201602910.
 - [22] A. Guedes *et al.*, "Towards picoTesla Magnetic Field Detection Using a GMR-MEMS Hybrid Device," *IEEE Trans. Magn.*, vol. 48, no. 11, pp. 4115-4118, 2012, doi: 10.1109/tmag.2012.2203297.
 - [23] D. Mazumdar, X. Liu, B. D. Schrag, W. Shen, M. Carter, and G. Xiao, "Thermal stability, sensitivity, and noise characteristics of MgO-based magnetic tunnel junctions (invited)," *J. Appl. Phys.*, vol. 101, no. 9, p. 09B502, 2007, doi: 10.1063/1.2710953.
 - [24] K. Kurashima *et al.*, "Development of Magnetocardiograph without Magnetically Shielded Room Using High-Detectivity TMR Sensors," *Sensors*, vol. 23, no. 2, p. 646, 2023, doi: 10.3390/s23020646.
 - [25] M. Janosek, M. Butta, M. Dressler, E. Saunderson, D. Novotny, and C. Fourie, "1-pT Noise Fluxgate Magnetometer for Geomagnetic Measurements and Unshielded Magnetocardiography," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 69, no. 5, pp. 2552-2560, 2020, doi: 10.1109/TIM.2019.2949205.

- [26] A. Edelstein, "Advances in magnetometry," *Journal of Physics*, Volume 19, Issue 16, 165217, 2007.
- [27] "アナログフィードバックを併用したデジタル FLL 回路の開発," *Journal of the Magnetics Society of Japan*, Volume 32, Issue 2-1, pp92-96, 2008.
- [28] R. Kleiner, D. Koelle, F. Ludwig, and J. Clarke, "Superconducting quantum interference devices: State of the art and applications," *Proc. IEEE*, vol. 92, no. 10, pp. 1534-1548, 2004, doi: 10.1109/JPROC.2004.833655.
- [29] 斉藤 成一, "電子機器・装置のノイズ対策入門 : グラウンド/シールド設計徹底理解", オーム社, 2020.
- [30] 岸野正剛, "超伝導エレクトロニクスの物理", 丸善株式会社, 1993.
- [31] D. Drung, "High-Tc and low-Tc dc SQUID electronics," *Supercond. Sci. Technol.*, vol. 16, no. 12, pp. 1320-1336, Oct 2003.
- [32] 砂川重信, "電磁気学の考え方", 岩波書店, 1993.
- [33] 梶谷剛, "電磁気学," 実教出版, 2007.
- [34] 志賀正幸, "磁性入門 - スピンから磁石まで -", 内田老鶴圃, 2007.
- [35] 中村裕之, "固体の物性 初めて学ぶ磁性物理", 内田老鶴圃, 2015
- [36] N. Ajinkya, X. Yu, P. Kaithal, H. Luo, P. Somani, and S. Ramakrishna, "Magnetic Iron Oxide Nanoparticle (IONP) Synthesis to Applications: Present and Future," *Materials*, vol. 13, no. 20, p. 4644, 2020. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/1996-1944/13/20/4644>.
- [37] K. Riahi, M. M. van de Loosdrecht, L. Alic, and B. ten Haken, "Assessment of differential magnetic susceptibility in nanoparticles: Effects of changes in viscosity and immobilisation," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 514, p. 167238, 2020.
- [38] M. M. Saari *et al.*, "Properties of single-and multi-core magnetic nanoparticles assessed by magnetic susceptibility measurements," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 528, p. 167812, 2021.
- [39] M. Abe *et al.*, "Preparation and medical application of magnetic beads conjugated with bioactive molecules," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 321, no. 7, pp. 645-649, 2009/04/01/ 2009, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2008.11.086>.
- [40] P. Punia *et al.*, "Recent advances in synthesis, characterization, and applications of nanoparticles for contaminated water treatment- A review," *Ceram. Int.*, vol. 47, no. 2, pp. 1526-1550, 2021/01/15/ 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.09.050>.
- [41] T. Sasayama, T. Yoshida, M. M. Saari, and K. Enpuku, "Comparison of volume distribution of magnetic nanoparticles obtained from M-H curve with a mixture of log-normal distributions," *J. Appl. Phys.*, vol. 117, no. 17, 2015, doi: 10.1063/1.4919268.
- [42] M. Colombo *et al.*, "Biological applications of magnetic nanoparticles," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 41, no. 11, p. 4306, 2012, doi: 10.1039/c2cs15337h.
- [43] R. E. Rosensweig, "Heating magnetic fluid with alternating magnetic field," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 252, pp. 370-374, 2002.

- [44] F. Ludwig, C. Balceris, C. Jonasson, and C. Johansson, "Analysis of ac susceptibility spectra for the characterization of magnetic nanoparticles," *IEEE Trans. Magn.*, vol. 53, no. 11, pp. 1-4, 2017.
- [45] J. Van Rijssel, B. W. M. Kuipers, and B. H. Ern , "Non-regularized inversion method from light scattering applied to ferrofluid magnetization curves for magnetic size distribution analysis," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 353, pp. 110-115, 2014.
- [46] M. M. Saari, K. Sakai, T. Kiwa, T. Sasayama, T. Yoshida, and K. Tsukada, "Characterization of the magnetic moment distribution in low-concentration solutions of iron oxide nanoparticles by a high-Tc superconducting quantum interference device magnetometer," *J. Appl. Phys.*, vol. 117, no. 17, p. 17B321, 2015, doi: 10.1063/1.4919043.
- [47] K. Enpuku, T. Sasayama, and T. Yoshida, "Estimation of magnetic moment and anisotropy energy of magnetic markers for biosensing application," *J. Appl. Phys.*, vol. 119, no. 18, 2016, doi: 10.1063/1.4948951.
- [48] K. Murase, R. Song, and S. Hiratsuka, "Magnetic particle imaging of blood coagulation," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 104, no. 25, p. 252409, 2014, doi: 10.1063/1.4885146.
- [49] M. M. Saari *et al.*, "Influence of Viscosity on Dynamic Magnetization of Thermally Blocked Iron Oxide Nanoparticles Characterized by a Sensitive AC Magnetometer," *J. Supercond. Nov. Magn.*, vol. 32, no. 9, pp. 2765-2772, 2019/09/01 2019, doi: 10.1007/s10948-019-5031-6.
- [50] P. Bender *et al.*, "Distribution functions of magnetic nanoparticles determined by a numerical inversion method," *New Journal of Physics*, vol. 19, no. 7, p. 073012, 2017/07/10 2017, doi: 10.1088/1367-2630/aa73b4.
- [51] S. H. Chung *et al.*, "Biological sensing with magnetic nanoparticles using Brownian relaxation," *J. Appl. Phys.*, vol. 97, no. 10, 2005.
- [52] S. Bogren *et al.*, "Classification of Magnetic Nanoparticle Systems--Synthesis, Standardization and Analysis Methods in the NanoMag Project," (in eng), *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 16, no. 9, pp. 20308-25, Aug 27 2015, doi: 10.3390/ijms160920308.
- [53] 日本統計学会, 統計学実践ワークブック : 日本統計学会公式認定統計検定準 1 級対応. 学術図書出版社, 2020.
- [54] 久保川 達也, 現代数理統計学の基礎,. 共立出版, 2017.
- [55] M. M. Saari, K. Sakai, T. Kiwa, and K. Tsukada, "A sensitive magnetometer utilizing high-Tc SQUID for magnetic property characterization," *Microsystem Technologies*, vol. 27, no. 9, pp. 3413-3420, 2021, doi: 10.1007/s00542-020-05198-6.
- [56] T. Yoshida, K. Ogawa, T. Tsubaki, N. B. Othman, and K. Enpuku, "Detection of Magnetic Nanoparticles Using the Second-Harmonic Signal," *IEEE Trans. Magn.*, vol. 47, no. 10, pp. 2863-2866, 2011, doi: 10.1109/tmag.2011.2157805.
- [57] S. Tanaka, H. Murata, T. Oishi, T. Suzuki, and Y. Zhang, "2D magnetic nanoparticle imaging using magnetization response second harmonic," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 383, pp. 170-174, 2015.

- [58] R. Hirota *et al.*, "Rapid virus detection using magnetic second harmonics of superparamagnetic iron oxide nanoparticles," *AIP Adv.*, vol. 13, no. 2, 2023, doi: 10.1063/9.0000483.
- [59] S. Adachi *et al.*, "Preparation of multilayer films for integrated high-Tc SQUIDs with ramp-edge Josephson junctions," *Physica C*, vol. 468, no. 15-20, pp. 1936-1941, 2008.
- [60] A. Tsukamoto, S. Adachi, Y. Oshikubo, K. Tanabe, and K. Enpuku, "Development of a HTS SQUID module for use with an external pickup coil," *Supercond. Sci. Technol.*, vol. 26, no. 1, p. 015013, 2012.
- [61] T. Mizoguchi *et al.*, "Highly sensitive third-harmonic detection method of magnetic nanoparticles using an AC susceptibility measurement system for liquid-phase assay," *IEEE Trans. Appl. Supercond.*, vol. 26, no. 5, pp. 1-4, 2016.
- [62] T. Yoshida, T. Nakamura, O. Higashi, and K. Enpuku, "Magnetic fractionation and characterization of magnetic nanoparticles for magnetic particle imaging," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 57, no. 8, p. 080302, 2018, doi: 10.7567/jjap.57.080302.
- [63] K. Tsunashima *et al.*, "Laser monitoring of dynamic behavior of magnetic nanoparticles in magnetic field gradient," *AIP Adv.*, vol. 10, no. 1, p. 015025, 2020, doi: 10.1063/1.5130167.
- [64] E. M. Hotze, T. Phenrat, and G. V. Lowry, "Nanoparticle Aggregation: Challenges to Understanding Transport and Reactivity in the Environment," *J. Environ. Qual.*, vol. 39, no. 6, pp. 1909-1924, 2010, doi: 10.2134/jeq2009.0462.
- [65] K. Yamashita *et al.*, "Aggregation of Magnetic Nanoparticles in Biological Solvents Evaluated by HTS-SQUID Magnetic Immunoassay System," *IEEE Trans. Appl. Supercond.*, vol. 33, no. 5, pp. 1-5, 2023, doi: 10.1109/tasc.2023.3239830.
- [66] C. L. Dennis *et al.*, "Nearly complete regression of tumors via collective behavior of magnetic nanoparticles in hyperthermia," *Nanotechnology*, vol. 20, no. 39, p. 395103, 2009.
- [67] A. Einstein, "Eine neue Bestimmung der Moleküldimensionen," *Annalen der Physik*, vol. 324, no. 2, pp. 289-306, 1906, doi: <https://doi.org/10.1002/andp.19063240204>.
- [68] 深堀美英, "ゴムのカーボンブラック補強解明の新展開 (上)," *日本ゴム協会誌*, vol. 83, no. 6, pp. 174-181, 2010.
- [69] V. L. Calero-DdelC, D. I. Santiago-Quíñonez, and C. Rinaldi, "Quantitative nanoscale viscosity measurements using magnetic nanoparticles and SQUID AC susceptibility measurements," *Soft Matter*, 10.1039/C0SM00902D vol. 7, no. 9, pp. 4497-4503, 2011, doi: 10.1039/C0SM00902D.
- [70] A. M. Rauwerdink and J. B. Weaver, "Viscous effects on nanoparticle magnetization harmonics," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 322, no. 6, pp. 609-613, 2010.
- [71] K. Yamashita, K. Naito, R. Korenaga, J. Wang, and T. Kiwa, "Development of Viscosity Measurement System Utilizing the Frequency Characteristics of Magnetic Nanoparticles," *Proceeding of 2024 IEEE Asia-Pacific Conference on Applied Electromagnetics*, Malaysia, 2024(In press).

- [72] N. Srivastava and M. A. Burns, "Analysis of Non-Newtonian Liquids Using a Microfluidic Capillary Viscometer," *Anal. Chem.*, vol. 78, no. 5, pp. 1690-1696, 2006/03/01 2006, doi: 10.1021/ac0518046.
- [73] N. Srivastava, R. D. Davenport, and M. A. Burns, "Nanoliter Viscometer for Analyzing Blood Plasma and Other Liquid Samples," *Anal. Chem.*, vol. 77, no. 2, pp. 383-392, 2005/01/01 2005, doi: 10.1021/ac0494681.
- [74] A. W. Ashley, M. Mookherjee, M. Xu, T. Yu, G. Manthilake, and Y. Wang, "Viscosity Measurements at High Pressures: A Critical Appraisal of Corrections to Stokes' Law," *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*, vol. 129, no. 5, p. e2023JB028489, 2024, doi: <https://doi.org/10.1029/2023JB028489>.
- [75] 倉野 恭充, 吉田 清, "落球式高圧粘度計の試作と性能評価," 計測自動制御学会論文集, vol. 28, no. 9, pp. 1023-1028, 1992, doi: 10.9746/sicetr1965.28.1023.
- [76] 上田 隆, "測定から読み解くレオロジーの基礎知識", 日刊工業新聞社
- [77] N. Izumo and A. Koiwai, "Technological background and latest market requirements concerning "static viscosity" measurement with a tuning-fork vibration viscometer," 2009, pp. 1-4.
- [78] J. T. Edward, "Molecular volumes and the Stokes-Einstein equation," *J. Chem. Educ.*, vol. 47, no. 4, p. 261, 1970/04/01 1970, doi: 10.1021/ed047p261.
- [79] A. Santana-Otero, A. Harper, N. Telling, D. Ortega, and D. Cabrera, "Magnetic coagulometry: towards a new nanotechnological tool for ex vivo monitoring coagulation in human whole blood," *Nanoscale*, 10.1039/D3NR02593D vol. 16, no. 7, pp. 3534-3548, 2024, doi: 10.1039/D3NR02593D.
- [80] D. Cabrera *et al.*, "Dynamical Magnetic Response of Iron Oxide Nanoparticles Inside Live Cells," *ACS Nano*, vol. 12, no. 3, pp. 2741-2752, 2018/03/27 2018, doi: 10.1021/acsnano.7b08995.
- [81] J. Dieckhoff, M. Schilling, and F. Ludwig, "Fluxgate based detection of magnetic nanoparticle dynamics in a rotating magnetic field," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 99, no. 11, 2011.
- [82] S. Palta, R. Saroa, and A. Palta, "Overview of the coagulation system," *Indian J. Anaesth.*, vol. 58, no. 5, pp. 515-523, 2014, doi: 10.4103/0019-5049.144643.
- [83] 藤川 和, 加藤 久, "血液凝固のしくみ," 化学と生物, vol. 12, no. 6, pp. 364-372, 1974, doi: 10.1271/kagakutoseibutsu1962.12.364.
- [84] 檀 和夫, "止血異常の概観 - 血液学の立場から -, " 日本臨床麻酔学会誌, vol. 26, no. 1, pp. 108-114, 2006, doi: 10.2199/jjsca.26.108.
- [85] 山口 航, 宜保 明李, 眞鍋 紀子, "カルシウム再加時間における容易なフィブリン検出法," 臨床検査学教育: 日本臨床検査学教育学会機関誌, vol. 12, no. 1, pp. 7-11, 2020
- [86] 大久保 進之介, 鳥越 佳子, 青江 伯規, 三宅 雅之, 糸島 浩一, 岡田 健, 藤井 伸治, 嶋田 明, "術前 APTT 測定による軽症血友病患者のスクリーニング検査," 医学検査, vol. 68, no. 3, pp. 559-563, 2019-07 2019, doi: 10.14932/jamt.18-120.

- [87] C. Fenger-Eriksen, G. W. Moore, S. Rangarajan, J. Ingerslev, and B. Sørensen, "Fibrinogen estimates are influenced by methods of measurement and hemodilution with colloid plasma expanders," *Transfusion*, vol. 50, no. 12, pp. 2571-2576, 2010, doi: 10.1111/j.1537-2995.2010.02752.x.
- [88] S. Ogawa *et al.*, "Fibrinogen Measurements in Plasma and Whole Blood: A Performance Evaluation Study of the Dry-Hematology System," *Anesth. Analg.*, vol. 120, no. 1, pp. 18-25, 2015, doi: 10.1213/ane.0000000000000448.
- [89] C. Bédard, A. Lanevski-Pietersma, and M. Dunn, "Evaluation of coagulation markers in the plasma of healthy cats and cats with asymptomatic hypertrophic cardiomyopathy," *Vet. Clin. Pathol.*, vol. 36, no. 2, pp. 167-172, 2007, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2007.tb00203.x>.
- [90] R. J. Luddington, "Thrombelastography/thromboelastometry," *Clin. Lab. Haematol.*, vol. 27, no. 2, pp. 81-90, Apr 2005, doi: 10.1111/j.1365-2257.2005.00681.x.
- [91] 日本検査血液学会, スタンダード検査血液学 第4版, 医歯薬出版, 2021
- [92] M. A. Haidekker *et al.*, "A novel approach to blood plasma viscosity measurement using fluorescent molecular rotors," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, vol. 282, no. 5, pp. H1609-H1614, 2002, doi: 10.1152/ajpheart.00712.2001.
- [93] N. Nezafati, F. Moztaezadeh, and S. Hesarakhi, "Surface reactivity and in vitro biological evaluation of sol gel derived silver/calcium silicophosphate bioactive glass," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, vol. 17, no. 4, pp. 746-754, 2012.
- [94] 栗原 伸一, "入門統計学：検定から多変量解析・実験計画法・ベイズ統計学まで", 第2版, オーム社, 2021

研究業績

<査読有 論文・Proceedings>

- (1). Kei Yamashita, Kosuke Naito, Jin Wang, Shogo Kasuda, Toshihiko Kiwa, “Coagulation testing method using magnetic nanoparticles”, Japanese Journal of Applied Physics (2025)
- (2). Kei Yamashita, Kosuke Naito, Rikuya Korenaga, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Development of Viscosity Measurement System Utilizing the Frequency Characteristics of Magnetic Nanoparticles”, Proceedings of Asia-Pacific Conference on Applied Electromagnetics, IEEE Xplore Digital Library (2024)
- (3). Rikuya Korenaga, Kei Yamashita, Kosuke Naito, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Development of an AC Magnetic Characterization System and Its Application to Magnetic Immunoassay”, Proceedings of Asia-Pacific Conference on Applied Electromagnetics, IEEE Xplore Digital Library (2024)
- (4). Rikako Ogawa, Kei Yamashita, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Precise Cancellation of Magnetic Signal Using a Movable Ferromagnetic Rod for Magnetic Nanoparticles Measurements”, Proceedings of Asia-Pacific Conference on Applied Electromagnetics, IEEE Xplore Digital Library (2024)
- (5). Shu Asayama, Sakuya Kako, Kei Yamashita, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Measuring Biotin Concentrations for Quantitative Magnetic Immunoassay Using a Femtosecond Laser”, Proceedings of Asia-Pacific Conference on Applied Electromagnetics, IEEE Xplore Digital Library (2024)
- (6). Kei Yamashita, Kouhei Kishimoto, Hiroto Huroda, Jin Wang, Kenji Sakai, Mohd Mawardi Saari, and Toshihiko Kiwa, “Aggregation of Magnetic Nanoparticles in Biological Solvents Evaluated by HTS-SQUID Magnetic Immunoassay System”, IEEE Transactions on Applied Superconductivity Vol.33, No.5, 1600405 (2023).
- (7). Kouhei Kishimoto, Hiroto Kuroda, Misaki Tsubota, Kei Yamashita, Jin Wang, Kenji Sakai, Mohd Mawardi Saari, and Toshihiko Kiwa, “Dispersion of Fe₃O₄ Nanoparticle Beads Driven by Femtosecond Laser Pulses for Quantitative Magnetic Immunoassay Measurements”, ACS Applied Nano Materials, Vol. 5, No. 11, pp. 17258-17263 (2022)

<査読無 学会誌・Proceedings>

- (1). 山下 慶, 朝山 柊, 守屋 列神, 山本 泰起, 王 璿, 紀和 利彦, “HTS-SQUID を用いた磁気ナノ粒子による生体溶媒の粘度計測”, 信学技報, Vol.123, No.153, pp.11-16 (2023).

<国際学会発表>

- (1). Kei Yamashita, Kosuke Naito, Rikuya Korenaga, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Development of Viscosity Measurement System Utilizing the Frequency Characteristics of Magnetic Nanoparticles”, 2024 IEEE Asia-Pacific Conference on Applied Electromagnetics, Langkawi (2024)
- (2). Rikuya Korenaga, Kei Yamashita, Kosuke Naito, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Development of an

- AC Magnetic Characterization System and Its Application to Magnetic Immunoassay”, 2024 IEEE Asia-Pacific Conference on Applied Electromagnetics, Langkawi (2024)
- (3). Rikako Ogawa, **Kei Yamashita**, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Precise Cancellation of Magnetic Signal Using a Movable Ferromagnetic Rod for Magnetic Nanoparticles Measurements”, 2024 IEEE Asia-Pacific Conference on Applied Electromagnetics, Langkawi (2024)
 - (4). Shu Asayama, Sakuya Kako, **Kei Yamashita**, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Measuring Biotin Concentrations for Quantitative Magnetic Immunoassay Using a Femtosecond Laser”, 2024 IEEE Asia-Pacific Conference on Applied Electromagnetics, Langkawi (2024)
 - (5). Shu Asayama, Sakuya Kako, Kei Yamashita, Jin Wang, and Toshihiko Kiwa, “Measuring Biotin Concentrations for Quantitative Magnetic Immunoassay Using a Femtosecond Laser”, Opto-X-Nano2024, Okayama (2024)
 - (6). Rikuya Korenaga, **Kei Yamashita**, Kosuke Naito, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Development of compact measurement system evaluating frequency properties of magnetic nanoparticles and its application to magnetic immunoassay”, Opto-X-Nano2024, Okayama (2024)
 - (7). Kosuke Naito, **Kei Yamashita**, Rikuya Korenaga, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Development of coagulation measurement system using frequency characteristics of magnetic nanoparticles, Opto-X-Nano2024, Okayama (2024)
 - (8). Sakuya Kako, Shu Asayama Taiki Yamamoto, **Kei Yamashita**, Jin Wang Toshihiko, Kiwa, “Development of magnetic nanoparticles dispersion method using femtosecond laser for HTS-SQUID magnetic immunoassay”, Opto-X-Nano2024, Okayama (2024)
 - (9). **Kei Yamashita**, Rekka Moriya, Taiki Yamamoto, Shu Asayama, Rikuya Korenaga, Kanako Ogawa, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Viscosity dependence of magnetic signal of magnetic nanoparticles in ionic solution using HTS-SQUID AC magnetic measurement system”, The 36th International Symposium on Superconductivity, Wellington (2023)
 - (10). Taiki Yamamoto, Sakuya Kako, Shu Asayama, **Kei Yamashita**, Jin Wang, Toshihiko Kiwa, “Effect of surfactant on dispersion of magnetic nanoparticles driven by femtosecond laser pulses evaluated by an HTS-SQUID system”, The 36th International Symposium on Superconductivity, Wellington (2023)
 - (11). Rekka Moriya, Taiki Yamamoto, **Kei Yamashita**, Jin Wang, Kenji Sakai, Toshihiko Kiwa, “Highly sensitive AC magnetic characterization system for magnetic nanoparticles”, 2023 International Symposium on Superconductivity, Taiwan (2023)
 - (12). **Kei Yamashita**, Kouhei Kishimoto, Hiroto Kuroda, Jin Wang, Kenji Sakai, Mohd Mawardi Saari, Toshihiko Kiwa, “Aggregation of magnetic nanoparticles in biological samples evaluated by HTS-SQUID magnetic immunoassay system”, The 11th East Asia Symposium on Superconductor Electronics, Okayama (2023)
 - (13). Taiki Yamamoto, Kouhei Kishimoto, Hiroto Kuroda, Rekka Moriya, **Kei Yamashita**, Jin Wang, Kenji Sakai, Toshihiko Kiwa, “Dispersion method of magnetic nanoparticles by femtosecond laser pulses

for quantitative magnetic immune assay using HTS-SQUID”, The 11th East Asia Symposium on Superconductor Electronics, Okayama (2023)

- (14). Rekka Moriya, Taiki Yamamoto, Hiroto Kuroda, Kouhei Kishimoto, **Kei Yamashita**, Jin Wang, Kenji Sakai, Toshihiko Kiwa, “Development of a sensitive evaluation system for AC magnetization characteristics of magnetic nanoparticles using HTS-SQUID”, The 11th East Asia Symposium on Superconductor Electronics, Okayama (2023)
- (15). **Kei Yamashita**, Kouhei Kishimoto, Hiroto Kuroda, Jin Wang, Kenji Sakai, Mohd Mawardi Saari, Toshihiko Kiwa, “Aggregation of magnetic nanoparticles in biological samples evaluated by HTS-SQUID magnetic immunoassay system”, The Applied Superconductivity Conference 2022, Hawaii (2022)
- (16). Kouhei Kishimoto, Taiki Yamamoto, Hiroto Kuroda, **Kei Yamashita**, Jin Wang, Kenji Sakai, Mohd Mawardi Saari and Toshihiko Kiwa, “Magnetic immunoassay system using HTS-SQUID combined with the femtosecond laser for quantitative evaluation of biomaterials”, The Applied Superconductivity Conference 2022, Hawaii (2022)
- (17). Taiki Yamamoto, Kouhei Kishimoto, Hiroto Kuroda, Rekka Moriya, **Kei Yamashita**, Jin wang, Kenji Sakai, Toshihiko Kiwa, “Dispersion method of magnetic nanoparticles by femtosecond laser pulses for quantitative magnetic immune assay using HTS-SQUID”, The 35th International Symposium on Superconductivity, Nagoya (2022)
- (18). Hiroto Kuroda, Rekka Moriya, Taiki Yamamoto, Kouhei Kishimoto, **Kei Yamashita**, Jin Wang, Kenji Sakai, and Toshihiko Kiwa, “Development of differential magnetic measurement system for fast and high precision evaluation of frequency characteristics of magnetic nanoparticles”, 2022 International Symposium on Novel and Sustainable Technology, Taiwan (2022)
- (19). Kouhei Kishimoto, Taiki Yamamoto, Hiroto Kuroda, Misaki Tsubota, **Kei Yamashita**, Jin Wang, Kenji Sakai, Toshihiko Kiwa “Development of dispersion method of magnetic nanoparticles by femtosecond laser pulses for quantitative magnetic immune assay using HTS-SQUID”, International Symposium on Superconductivity, online (2021)
- (20). Bunta Hiramatsu, Misaki Tsubota, **Kei Yamashita**, Kenji Sakai, Kiwa Toshihiko, Keiji Tsukada, “Effect of dissolution of sodium chloride and potassium chloride on magnetic properties”, International symposium on novel and sustainable technology (2020)

＜国内学会発表＞

- (1). 伊永 陸哉, **山下 慶**, 王 璿, 紀和 利彦, “小型の磁気ナノ粒子周波数特性評価装置の開発と磁気免疫検査法への応用”, 2024 年度 応用物理・物理系学会 中国四国支部 合同学術講演会, 徳島(2024)
- (2). 内藤 光輔, **山下 慶**, 伊永 陸哉, 王 璿, 紀和 利彦, “磁気ナノ粒子周波数解析を用いた血液凝固評価システムの開発”, 第 48 回日本磁気学会学術講演会, 秋田(2024)

- (3). 加古 朔也, 朝山 柊, 山本 泰起, 山下 慶, 王 璿, 紀和 利彦, “HTS-SQUID 磁気免疫計測のためのフェムト秒レーザーを用いた磁気ナノ粒子分散法の開発(III)”, 第 71 回応用物理学会春季学術講演会, 東京(2024)
- (4). 朝山 柊, 加古 朔也, 山本 泰起, 山下 慶, 王 璿, 紀和 利彦, “フェムト秒レーザーを用いた磁気ナノ粒子分散の溶媒による影響の評価”, レーザー学会若手学術交流研究会 2023, 大阪(2023)
- (5). 山下 慶, 朝山 柊, 守屋 列神, 山本 泰起, 王 璿, 紀和 利彦, “HTS-SQUID を用いた磁気ナノ粒子による生体溶媒の粘度計測”, 超伝導エレクトロニクス研究会 (8 月研究会), オンライン(2023)
- (6). 朝山 柊, 加古朔也, 山本泰起, 山下 慶, 王 璿, 紀和 利彦, “フェムト秒レーザーを用いた磁気ナノ粒子分散法の開発”, 第 47 回日本磁気学会学術講演会, 大阪(2023)
- (7). 黒田 滉人, 守屋 列神, 山本 泰起, 岸本 航平, 山下 慶, 王 璿, 堺 健司, 紀和 利彦, “HTS-SQUID を用いた超高感度な磁気ナノ粒子の交流磁化特性評価装置の開発”, 2022 年度秋季第 104 回 低温工学・超電導学会研究発表会, 岐阜(2022)
- (8). 黒田 滉人, 守屋 列神, 山本 泰起, 岸本 航平, 山下 慶, 王 璿, 堺 健司, 紀和 利彦, “磁気ナノ粒子用周波数特性評価装置の高感度化”, 第 73 回電気・情報関連学会中国支部連合大会, オンライン(2022)
- (9). 守屋 列神, 山本 泰起, 黒田 滉人, 岸本 航平, 山下 慶, 王 璿, 堺 健司, 紀和 利彦, “磁気ナノ粒子用周波数特性評価装置の高感度化”, 第 73 回電気・情報関連学会中国支部連合大会, オンライン(2022)
- (10). 山本 泰起, 守屋 列神, 岸本 航平, 黒田 滉人, 山下 慶, 王 璿, 堺 健司, 紀和 利彦, “HTS-SQUID 磁気免疫計測のためのフェムト秒レーザーを用いた磁気ナノ粒子分散法の開発(II)”, 第 83 回応用物理学会秋季学術講演会, 宮城(2022)
- (11). 山下 慶, 坪田 美咲, 岸本 航平, 黒田 滉人, 王 璿, 堺 健司, 紀和 利彦, “HTS-SQUID 磁気免疫検査装置による血中磁気ナノ粒子の磁気特性評価”, 第 69 回応用物理学会春季学術講演会, 東京(2022)
- (12). 黒田 滉人, 岸本 航平, 坪田 美咲, 山下 慶, 王 璿, 堺 健司, 紀和 利彦, “差分型磁気計測装置の開発と磁気ナノ粒子の周波数特性評価”, 第 72 回電気・情報関連学会中国支部連合大会, オンライン(2021)
- (13). 岸本 航平, 黒田 滉人, 坪田 美咲, 山下 慶, 王 璿, 堺 健司, 紀和 利彦, “HTS-SQUID 磁気免疫計測のためのフェムト秒レーザーを用いた磁気ナノ粒子分散法の開発”, 第 82 回応用物理学会秋季学術講演会, オンライン(2021)
- (14). 坪田 美咲, 山下 慶, 岸本 航平, 黒田 滉人, 王 璿, 堺 健司, 紀和 利彦, “液体腫瘍細胞検出のための磁気免疫検査法の開発”, 第 45 回日本磁気学会学術講演会, オンライン(2021)
- (15). 山下 慶, 平松 文太, 堺 健司, 紀和 利彦, 塚田 啓二, “電解質による水の磁気特性変化”, 令和 3 年電気学会全国大会, オンライン(2021)

- (16). 平松 文太, 山下 慶, 神野 克也, 綱島 健太, 藤元 佳与, 堺 健司, 紀和 利彦, 塚田 啓二,
“磁気ナノ粒子の固相/液相変化による周波数磁場応答特性変化”, 令和 2 年電気学会全国大会, 東京(2020)
- (17). 山下 慶, 平松 文太, 神野 克也, 綱島 健太, 藤元 佳与, 堺 健司, 紀和 利彦, 塚田 啓二,
Mohd Mawardi Bin Saari, “血清濃度変化による磁気ナノ粒子の磁気特性の影響”, 令和 2 年電気学会全国大会, 東京(2020)