

平成 21 年 6 月 9 日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2007 ～ 2008
課題番号：19791481
研究課題名 (和文)：ナノバブルを用いた腫瘍血管造影法による口腔癌所属リンパ節転移の診断法の開発
研究課題名 (英文)：Evaluation of regional lymph node metastasis of oral cancer with contrast enhanced high-frequency ultrasound using nanobubble
研究代表者：大木 宏介 (OHKI KOUSUKE)
東北大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：40431514

研究成果の概要：リンパ節転移モデル動物のリンパ節内の微小血管内を流れるナノバブルのエコー輝度から腫瘍新生微小血管の三次元構築画像を作成するシステムの開発を目的とした。その結果、ナノバブルと超音波を用いた画像診断システムを用いることにより数 mm レベルの腫瘍の微小新生小血管の二次元および三次元画像の構築が可能であった。従って、微小リンパ節転移や治療効果をリアルタイムかつ非侵襲的に観察することができる可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,300,000	0 円	2,300,000
2008 年度	900,000	270,000 円	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	270,000	3,470,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：臨床腫瘍学

1. 研究開始当初の背景

研究代表者は、これまで東北大学大学院医学研究科治療医工学講座分子デリバリーシステム研究分野と共同で、ナノバブルと超

音波を用いた画像診断に関する研究を行ってきたが、同研究室には、超音波三次元イメージング装置が設置されている。この超音波三次元イメージング装置に関しては、製造会

社との秘密保持契約により、超音波イメージング処理に関するソースコードの開示が認められている。また、現在、共同研究を進めている東北大学流体科学研究所の早瀬敏幸教授はスーパーコンピューターと超音波診断装置とを連動し、超音波場での流動場の解析を目指す数値コードを開発されておられるが、本研究への協力の了解が得られている。一方、我々は、Fas 遺伝子に機能的な欠損を有し、鼠径リンパ節が直径 10mm 程に腫脹する MRL/lpr マウスの尾静脈にナノバブルを注入すると、その直後には、超音波イメージング装置で鼠径リンパ節内の血管内を流れる一個一個のナノバブルの動きを画像として確認している。この腫脹したリンパ節に MRL 系マウス由来の腫瘍細胞を生着させれば、リンパ節転移モデルを作成することができる。なお、このマウスは我々が常に繁殖維持している。本研究は、以上の研究基盤の上に立って、転移リンパ節の微小血管をマイクロレベルの三次元画像として非侵襲的に構築し、リンパ節転移の早期診断への応用を検討するとともに、遠隔地医療への応用も視野に入れているという点で画期的な研究である。

2. 研究の目的

癌のリンパ節転移巣を病理組織学的に観察していると、腫瘍細胞周囲には腫瘍血管の増生が認められ、本来のリンパ節組織内の血管構築も腫瘍血管の増生に伴い、変化しているものと思われる。そこで、もしこのリンパ節内の微小血管の構築の変化を三次元画像として捉えることができれば、所属リンパ節転移の早期診断法として極めて有用であると考えられる。研究代表者はこれまで、ナノバブルと超音波の医療への応用を目指した東北大学大学院医工学研究科治療医工学講座分子デリバリーシステム研究分野との共

同研究に携わってきたが、この研究過程で、超音波イメージング装置 (最高周波数 80MHz) を用いることにより、血管内を流れる直径 400nm の一個一個のバブルの動きが可視化されることを見出した。本研究においては、ナノバブルと高周波超音波三次元イメージング装置をコンピューター回線でスーパーコンピューターと連結させ、リンパ節転移モデル動物のリンパ節内の微小血管内を流れるナノバブルのエコー輝度から微小血管の三次元構築画像を作成するシステムを開発し、所属リンパ節転移の早期診断法に応用することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 実験動物

本研究を遂行するためには、血管に注入したナノバブルを超音波イメージング装置で観察し易く、しかも飼育し易く多数使用可能なモデル動物が望まれる。これまで我々は、様々な疾患モデル動物を用いて、超音波分子導入実験を行ってきたが、上記の条件に合致すると思われるモデル動物は、MRL/lpr マウスで、対象臓器は鼠径リンパ節と思われた。このマウスは *Fas* 遺伝子の変異マウスで、4 か月齢位になると鼠径リンパ節が直径 10mm 程に腫脹する特徴を有し、共同研究者の東北大学病院の森士朗講師らが、自己免疫疾患の遺伝子解析のため、繁殖、維持してきたマウスである。これまで我々は、このマウスの尾静脈にナノバブルを注入すると、その直後には、超音波イメージング装置で鼠径リンパ節内の血管内を流れる一個一個のナノバブルの動きを画像として確認でき、超音波分子導入装置で超音波を照射すると、瞬時にナノバブルが画像上で消失することを確認している。

(2) ナノバブルの作成

リンパ節内の血管から漏出・滞留するナノバブルの時間応答性を見るために、直径が異なる二つの脂質ナノバブルを作成した。各組成と平均直径は Distearoyl-Phosphocholine (DPPC)+ 6%Distearoyl-Phosphoethanolamine (DSPE)-PEG-OMe (平均直径 170nm) および Distearoyl phosphatidylcholine (PC) -PEG (平均直径 400nm) である。ナノバブルはロータリーエバポレーターで作成した。

(3) エコー輝度情報の定量化

ナノバブルを静注し、血管から漏出・滞留するナノバブルを小型動物用超音波イメージング装置(最高周波数 80MHz)で取得し、ナノバブル直径、動注濃度の経過時間に対するエコーの輝度情報を定量化した。

(4) リンパ節転移モデルの作製

MRL/lpr マウスの鼠径リンパ節に MRL/lpr マウスに生着するルシフェラーゼを恒常的に発現する腫瘍細胞を接種し、リンパ節転移モデルを作製した。

(5) 転移リンパ節の病理組織標本作製

通法に従い、転移リンパ節の病理組織標本(HE染色)を作製し、病理組織学的に観察した。

(6) 転移リンパ節微小血管の三次元画像構築

高周波超音波三次元イメージング装置およびスーパーコンピューターを用いて、転移リンパ節の微小血管をマイクロレベルの三次元画像として構築し観察した。

(7) 転移リンパ節の病理組織学的所見とその微小血管三次元画像所見との比較検討

転移リンパ節の病理組織学的所見とその微小血管三次元画像とを比較検討し、画像の表現性および再現性の精度を評価した。

4. 研究成果

本研究で提唱したナノバブルと超音波を

用いた画像診断システムを用いることにより、数 mm レベルの腫瘍の腫瘍微小新生血管の二次元および三次元画像の構築が可能であり、この腫瘍血管の構築画像のパターンを解析することにより、本診断システムが、これまでの CT、MRI、あるいは PET 等では診断が困難であった口腔癌の微小リンパ節転移や局所再発の早期診断に有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Kumamoto H, Ohki K., Detection of Notch signaling molecules in ameloblastomas. J Oral Pathol Med. 37(4): 228-234, 2008 年. 査読 有.
2. 大木宏介 他、下顎骨に発生した平滑筋肉腫の 1 例. 東北大学歯学雑誌. 27(2):57-63, 2008 年. 査読 有.

[学会発表] (計 12 件)

1. 富田 典子、堀江 佐知子、大澤 ふき、陳 鋭、渡邊 夕紀子、森川 秀広、大木 宏介、森 士朗、小玉 哲也、高周波超音波イメージングシステムを用いた所属リンパ節転移画像診断システムの開発. 第 46 回 日本癌治療学会総会、2008 年 10 月 31 日、名古屋.
2. 富田 典子、堀江 佐知子、大澤 ふき、陳 鋭、渡邊 夕紀子、森川 秀広、大木 宏介、福本 学、森 士朗、小玉 哲也、高周波超音波を利用した新しいリンパ節内微小転移転診断システムの開発. 第 67 回 日本癌学会学術総会、2008 年 10 月 30 日、名古屋.

3. **大木 宏介**, 森 士朗, 宮下 仁, 川村 仁, 森川 秀広, ナノバブルと超音波を用いた腫瘍血管造影法による口腔癌診断システムモデルの開発. 第 53 回 (社) 日本口腔外科学会総会・学術大会、2008 年 10 月 20 日、徳島.
 4. 森 士朗, **大木 宏介**, 宮下 仁, 川村 仁, 森川 秀広, ナノバブルと超音波を用いた口腔癌の治療のための新しい画像診断・分子導入システム. 第 53 回 (社) 日本口腔外科学会総会・学術大会、2008 年 10 月 20 日、徳島.
 5. 宮下 仁, 森 士朗, **大木 宏介**, 川村 仁, 森川 秀広, ナノバブルと超音波を用いた抗癌剤および抗腫瘍分子の導入による新たな癌治療法の開発. 第 53 回 (社) 日本口腔外科学会総会・学術大会、2008 年 10 月 20 日、徳島.
 6. 宮下 仁, 森 士朗, 富田 典子, 堀江 佐知子, 渡邊 夕紀子, 陳 鋭, 大澤 ふき, 佐久間 基成, **大木 宏介**, 川村 仁, 森川 秀広, 小玉 哲也, ナノバブル超音波システムを用いた抗癌剤および抗腫瘍分子の導入による新たな癌治療法の開発. 第 32 回 日本頭頸部癌学会、2008 年 6 月 12 日、東京 (新宿).
 7. 森 士朗, 渡邊 夕紀子, 堀江 佐知子, 富田 典子, 陳 鋭, 大澤 ふき, 佐久間 基成, **大木 宏介**, 宮下 仁, 川村 仁, 森川 秀広, 小玉 哲也, 口腔癌の診断・治療のためのナノバブルと超音波を用いた画像診断・分子導入システムの開発. 第 32 回 日本頭頸部癌学会、2008 年 6 月 12 日、東京 (新宿).
 8. **大木 宏介**, 森 士朗, 堀江 佐知子, 富田 典子, 渡邊 夕紀子, 陳 鋭, 大澤 ふき, 佐久間 基成, 宮下 仁, 川村 仁, 森川 秀広, 小玉 哲也, ナノバブルを用いた腫瘍血管造影法による口腔癌早期診断システムモデルの開発. 第 32 回 日本頭頸部癌学会、2008 年 6 月 12 日、東京 (新宿).
 9. 堀江 佐知子, 富田 典子, 渡邊 夕紀子, 大澤 ふき, 佐久間 基成, 陳 鋭, 船本 健一, 福本 学, **大木 宏介**, 森 士朗, 早瀬敏幸, 小玉哲也. 高周波超音波画像診断によるシスプラチン(CDDP)の抗腫瘍効果の評価. 東北大学イノベーションフェア 2007 in 仙台、2007 年 10 月 5 日、仙台.
 10. 富田 典子, 堀江 佐知子, 渡邊 夕紀子, 大澤 ふき, 佐久間 基成, 陳 鋭, 船本 健一, 福本 学, **大木 宏介**, 森 士朗, 早瀬 敏幸, 小玉 哲也. ナノバブルと高周波超音波による腫瘍内血管の三次元画像の構築. 東北大学イノベーションフェア 2007 in 仙台、2007 年 10 月 5 日、仙台.
 11. 堀江 佐知子, 富田 典子, 渡邊 夕紀子, **大木 宏介**, 森川 秀広, 森 士朗, 小野 栄夫, 小玉 哲也. Evaluation of antitumor effects using high frequency ultrasound biomicroscopy. 第 66 回日本癌学会学術総会、2007 年 10 月 3-5 日、横浜.
 12. 富田 典子, 堀江 佐知子, 渡邊 夕紀子, 船本 健一, 早瀬 敏幸, **大木 宏介**, 森川 秀広, 小野 栄夫, 森 士朗, 小玉 哲也. ナノバブルと高周波超音波による腫瘍内血管の三次元画像の構築. 第 66 回日本癌学会学術総会、2007 年 10 月 3-5 日、横浜.
- [図書] (計 0 件)
 [産業財産権]
 ○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

研究者番号：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大木 宏介 (OHKI KOUSUKE)
東北大学・大学院歯学研究科・助教
(研究者番号：40431514)

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()