

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：22604

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791320

研究課題名(和文)多機能分子プローブの開発による術前・術中センチネルリンパ節同定検査の統合

研究課題名(英文) Integration of preoperative and intraoperative sentinel lymph node mapping by developing multimodal probe

研究代表者

井上 一雅 (Inoue, Kazumasa)

首都大学東京・人間健康科学研究科・助教

研究者番号：20508105

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：放射性同位元素と近赤外線蛍光色素を組み合わせたセンチネルリンパ節(SN)検索用マルチモダルプローブの開発を進めている。その中で、分子プローブの体内動態に関する検討を行うための小動物3次元イメージングシステムの構築を目指した。小動物用SPECT/CT装置および近赤外光断層イメージング装置に互換性のある共通ベッドを開発することにより、マウスモデルにおける^{99m}TcとICGの体内動態を3次元で可視化するイメージングシステムの構築できた。

研究成果の概要(英文)：Multimodal probe which combines radionuclide and near-infrared fluorescent dye for the sentinel lymph node mapping has been studied. In this study, a three-dimensional imaging system dedicated for small animal were studied to evaluate the biodistribution of multimodal probe. As a result, the biodistribution of the radioisotope and the ICG on the sentinel lymph node model of mice could be visualized by the developed three-dimensional imaging system.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 放射線科学

キーワード：多機能分子プローブ 近赤外光イメージング 核医学イメージング センチネルリンパ節

1. 研究開始当初の背景

これまでのセンチネルリンパ節の同定方法は、放射性同位元素を用いた RI 法と色素を用いた色素法がそれぞれ術前および術中に併用されてきた。RI 法では 90%以上の高い同定率が得られているが、色素法では血液や炭粉沈着が存在する場合にセンチネルリンパ節の同定が困難となるため同定率が 65%程度と振るわない。そのため、近年では生体の放つ自己蛍光が無く、高い信号強度を得ることが可能である近赤外光 (700 ~ 900nm 波長) を用いた検討が実施されている。研究開始当初では、乳癌、消化器系癌および泌尿器系癌に対してインドシアニングリーン (ICG; 800nm 波長) を用いた臨床応用の可能性について報告されていた。

ICG は、1958 年にアメリカ食品医薬品局により承認された安全性の高い蛍光色素であり、量子収率 (励起光を蛍光の変換効率) が優れているが、蛍光収率 (蛍光の放出割合) が低いため、同定率が 75%程度と RI 法には及ばない。同定率が低い原因としては、蛍光色素の分子量が 1000Da 以下、大きさが 1~2nm 程度、表面電荷も -1 から -3 (pH 7.4) と小さく、リンパ節への移行速度が非常に速いためしばしばセンチネルリンパ節の同定が困難な場合が生じるためである。また、それに伴う薬剤の複数回にわたる追加投与を余儀なくされる。そのため、高い同定率を担保するために RI 法と併用して施行されることが多いが、同じセンチネルリンパ節の同定を目的として 2 つの検査が施行されるため、薬剤投与回数の増加や流入リンパ節の相違といった問題も懸念されている。このような問題を解決するべく、これまでに放射性同位元素と蛍光色素や蛍光標識した抗体などを混合投与した検討が数多く報告されている。センチネルリンパ節の同定を目的とした検査に対しても、^{99m}Tc-sulfur colloid および ICG の混合投与した検討がこれまでに実施されたが、ICG の信号強度が単独投与と比較して 1/10 まで低下を示し、問題解決には至らなかった。

2. 研究の目的

上記のような学術的背景の中で、蛍光色素を用いたセンチネルリンパ節の同定率の向上および懸念されている薬剤の投与回数の増加や流入リンパ節の相違に関する問題に対処するために、放射性同位元素および蛍光色素で標識された多機能分子プローブの開発およびその多機能分子プローブの挙動を評価するための小動物 SPECT/CT 画像と近赤外光断層画像を融合させる技術検討を行った。

3. 研究の方法

(1) SPECT/CT および近赤外光断層画像の融合技術の検討と至適撮像条件の検討

放射性同位元素および蛍光色素で標識された多機能分子プローブのセンチネルリンパ節の同定率の検証および多機能分子プローブの最適化を図るためには、SPECT/CT および蛍光断層画像を融合させるための技術検討が必要である。加えて、多機能分子プローブを用いたセンチネルリンパ節イメージングに特化した至適撮像条件の検討が 3 つの異なるモダリティにおいて必要である。

小動物用 SPECT/CT 装置 (NanoSPECT/CT, Bioscan, USA) における至適撮像条件では、使用するピンホールコリメータの孔径に依存して得られる空間分解能、感度および画像化に必要な放射能濃度が異なる。そこで、センチネルリンパ節を模した直径 1~2mm の点線源を使用して、使用するピンホールコリメータの最適化を行った。近赤外光断層撮像装置 (Clairvivo OPT, 島津製作所, 京都) については、蛍光平面画像を 3 次元化することによる ICG の集積部位の位置ずれ評価、3 次元画像再構成条件である閾値と反復計算回数最適化を行い、マウスのセンチネルリンパ節の描出に特化した至適撮像条件および至適画像再構成条件の検討を行った。

独立したイメージング装置で得られた画像を正確に融合する場合、小動物の装置間移動に伴う体動の影響を防止するための工夫が必要である。そこで、この問題を解決するために、個々の装置に互換性があり、体動による位置ずれを防止することが可能な小動物用の共通寝台の開発を行った。開発では、両者の装置に互換性があり、小動物用のガス麻酔のためのアダプターに適應する設計、蛍光イメージングに考慮した蛍光の表面反射が軽減される素材とした。

(2) 多機能分子プローブの開発

センチネルリンパ節の描出において、高い同定率を得るには、薬剤の高い標識率、適度な分子量と大きさ、高い量子効率と蛍光収率などを有する多機能分子プローブが求められる。これまでにリン脂質の 2 重膜でおおわれたリポソームに ICG を封入することで、ICG の凝集が低下し、量子収率および蛍光収率が向上することが報告されている。また、リポソームの粒子径を変化させることで移行速度の調節も行うことが可能である。これらの理由から、リポソームに In-111 と ICG を同時封入した多機能分子プローブを作成し、マウスに投与された分子プローブの挙動および特性評価を SPECT/CT 画像および近赤外光画像を解析することにより評価した。

4. 研究成果

(1) SPECT/CT および近赤外光断層画像の融合技術の検討と至適撮像条件の検討

至適撮像条件の検討

小動物用 SPECT/CT 装置 : 直径 1~2mm のセンチネルリンパ節を模擬したファントムを用いて、孔径が 1.4 mm と 2.5 mm のピンホールコリメータを用いて検討を行った。得られる分解能および感度は、孔径 1.4 mm (FOV:30 mm) で 1.0mm および 1918 cps/MBq、孔径 2.5 mm (FOV:60mm) で 1.9mm および 2010 cps/MBq であった。孔径 2.5 mm のマルチピンホールコリメータを使用することにより余裕を持った撮像視野を確保することができるが、孔径 1.4 mm と比較して分解能の劣化および感度の大幅な改善が望めないため、センチネルリンパ節の描出を目的とした場合、孔径 1.4 mm のピンホールコリメータを使用することが望ましいと判断した。さらに、実際のマウスのセンチネルリンパ節のイメージングを模擬した実験系での検討では、Tc-99m 点線源を用いたファントム実験からセンチネルリンパ節描出に必要な放射能濃度の下限値は 20 kBq であった(図 1)。

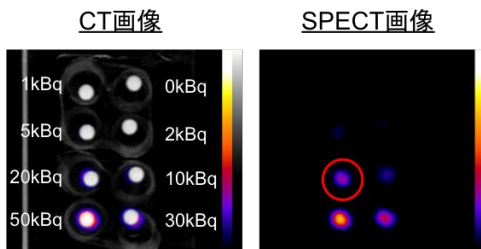


図 1 ^{99m}Tc 点線源ファントムを用いたセンチネルリンパ節描出に必要な下限放射能濃度の検討。

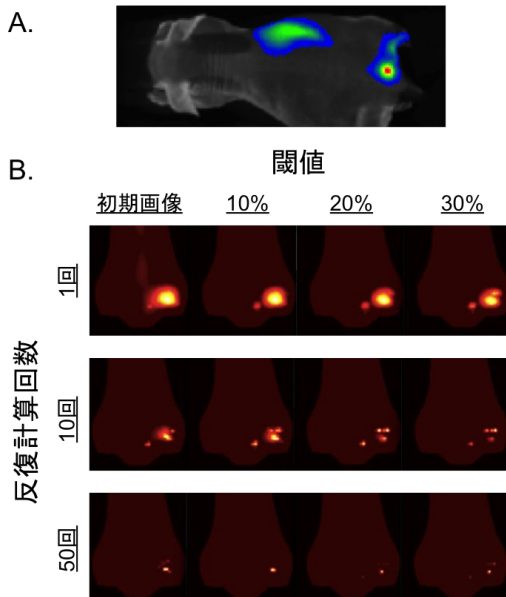


図 2 蛍光平面画像 (A) と異なる再構成パラメータを用いて画像再構成した近赤外光断層画像 (B)。画像は、ICG をマウスの尾静脈から投与して膝下センチネルリンパ節を撮影して得た画像の代表例。

近赤外線蛍光イメージング装置における最適化では、蛍光平面画像を 3 次元化する上での再構成パラメータである閾値と反復計算回数を変化させて至適画像再構成条件を検討した結果、閾値 10~20%、反復計算回数 10 回がマウスのセンチネルリンパ節における集積を適切に描出することが可能な条件であった (図 2)。

共通ベッドの開発

SPECT/CT 画像および近赤外光断層画像の画像重ね合わせを検討するために、両装置に互換性のある共通ベッドの開発を行った。通常、蛍光平面画像を単独で撮影する際は平板の上にマウスを固定して撮影を実施していたが、SPECT/CT 装置の互換性を考慮したとき、SPECT 撮像視野に制限があることから直径 28 mm の半円筒型の共通ベッドを開発する必要があった。そこで、蛍光の表面反射を軽減可能なアクリル素材を用いて図 3 に示す共通ベッドを開発した。共通ベッドには、小動物イメージングに必要なガス麻酔アダプターに直接設置できる構造とした。この共通ベッドを使用することにより、装置間の小動物を移動させることなく両者の画像取得が可能となった。これにより、画像の重ね合わせをする際に問題となるモダリティ間のマウス設置位置の差異を軽減することが可能となった。

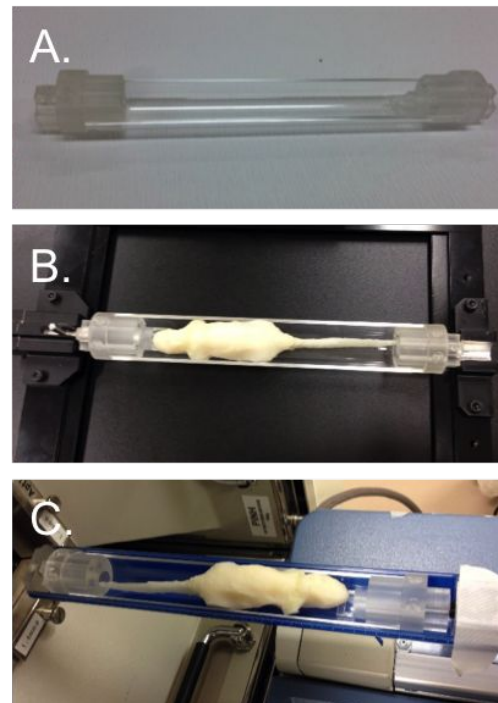


図 3 共通ベッドの形状 (A)、蛍光イメージング装置 (B) および SPECT/CT 装置 (C) における装置互換性

開発した共通ベッドを用いて、3 次元画像融合技術の検討を行った。両者の画像重ね合わせを行う場合、両画像に共通した外部基点マーカーを設置する必要がある。そこで、

Tc-99m および ICG を封入した基点マーカーを小動物の体表に設置して至適撮像条件下で撮像を行った。得られた画像は、DICOM 形式に変換して画像解析ソフトウェア (Invivo scope, Bioscan, USA) を用いて画像の重ね合わせを行った。今後、外部基点マーカーの設置位置、個数、形状および中に封入する Tc-99m および ICG の濃度に関する詳細な検討が必要ではあるが、マウスの舌下に位置するセンチネルリンパ節の描出を目的としたイメージングにおいて良好な結果を得ることができた (図 4)。

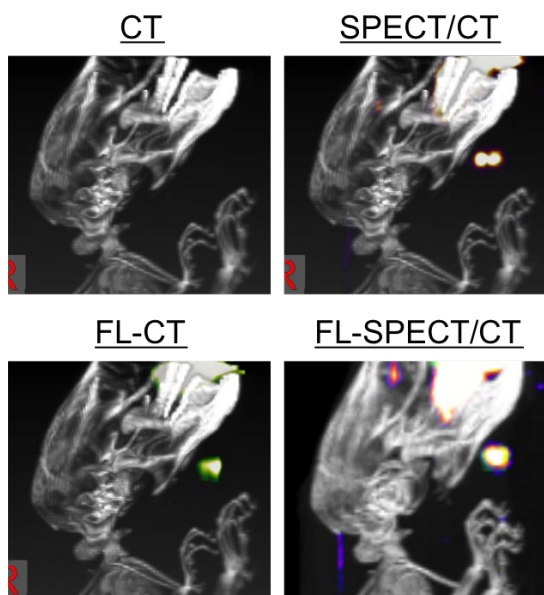


図 4 SPECT/CT 画像 (A) 近赤外光断層画像 (B) および 3 次元融合画像 (C) の代表例。

(2) 多機能分子プローブの開発

リポソーム内に放射性同位元素である In-111 および蛍光色素である ICG を封入した多機能分子プローブを開発した。マウス膝下のセンチネルリンパ節の描出を目的としたイメージングにおいては、SPECT 画像および近赤外光画像において描出が可能であったが (図 5) ICG 単独投与と比較した場合、センチネルリンパ節への移行速度が遅くなる傾向にあった。今後、リポソームの粒子径と移行速度との関係について検討して問題を改善する必要性が示唆された。

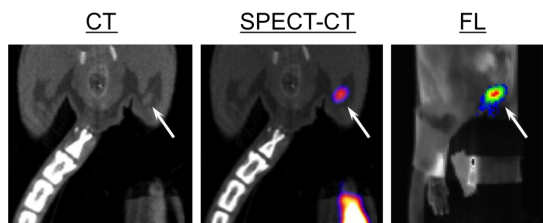


図 5 多機能分子プローブ投与 16 時間後に得られた SPECT 画像 (A) と蛍光平面画像 (B) の代表例。

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 3 件)

(1) 井上一雅, 福土政広: がん治療における低酸素イメージングの現状, 放射線生物学研究 2013, 48(4):364-374. 査読有

(2) Inoue K, Kurosawa H, Tanaka T, Fukushi M, Moriyama N, Fujii H. Optimization of injection dose based on noise equivalent count rate using an anthropomorphic pelvis phantom in three-dimensional ^{18}F -FDG PET/CT. Radiological Physics and Technology 2012, 5(2):115-22. 査読有

(3) Fujii H, Yamaguchi M, Inoue K, Mutou Y, Ueda M, Saji H, Kondoh K, Moriyama N, Umeda IO. In Vivo Visualization of Heterogeneous Intratumoral Distribution of Hypoxia-Inducible Factor-1 - Activity by the Fusion of High-Resolution SPECT and Morphological Imaging Tests. Journal of Biomedicine and Biotechnology 2012, Article ID 262741, 6 pages. 査読有

〔学会発表〕(計 7 件)

(1) 井上一雅, 梅田泉, 福土政広, 藤井博史: I-125 標識化合物を用いたマウス高画質 in vivo SPECT イメージング, 第 53 回日本核医学学会総会, 2013 年 11 月 8 日, 福岡県.

(2) 加藤誠二, 関本道治, 関根芳晴, 竹内幸浩, 西田克次, 福田実, 矢野敬一, 井上一雅, 福土政広: ^{18}F -FDG-PET/CT における画質評価指標の検討, 第 33 回日本核医学技術学会総会学術大会, 2013 年 11 月 8 日, 福岡県.

(3) Inoue K, Umeda IO, Fukushi M, Fujii H: In vivo high quality SPECT imaging of mouse brains using I-125 labeled compounds, European Association of Nuclear Medicine, 2013 年 11 月 8 日, Lyon (France).

(4) 依田隆史, 井上一雅, 福土政広: SPECT/PET 兼用装置を用いた基本性能評価. 第 67 回日本医学放射線学会東京部会春期学術大会, 2013 年 5 月 18 日, 東京都.

(5) 加藤誠二, 関本道治, 関根芳晴, 西田克次, 福田実, 矢野敬一, 井上一雅, 福土政広: ^{18}F -FDG-PET/CT における画質評価法の検討, 第 67 回日本医学放射線学会東京部会春期学術大会, 2013 年 5 月 18 日, 東京都.

(6) 井上一雅: The usefulness of fully three-dimensional OSEM algorithm on lymph node metastases from lung cancer with ^{18}F -FDG PET/CT, 第 69 回日本放射線技術学会

総会学術大会 ,2013 年 4 月 14 日 ,神奈川県 .

(7) Inoue K, Gibbs-Strauss S, Liu F, Lee JH, Xie Y, Ashitate Y, Fukushi M, Fujii H, Choi HS, Frangioni JV: European Association of Nuclear Medicine, 2012 年 10 月 29 日 , Milan (Italy).

〔図書〕(計 4 件)

(1) 志田晃一、横田繁昭、門前暁、加藤真介、井上一雅；メジカルビュー社，第 2 種放射線取扱主任者マスター・ノート、2014:165-247 .

(2) 飯森隆生、井上一雅、北村秀秋、光野譲、津田啓介、波平康彰、三本拓也：ピラールプレス，これだけは習得しよう核医学検査、2013:27-49 .

(3) 井上一雅 他：医用放射線辞典第 5 版、共立出版、2013:総ページ数 765 ページ .

(4) 野口実穂、加藤洋、門間正彦、久保直樹、細田正洋、中谷儀一郎、谷内文也、小笠原克彦、寺下貴美、長島宏幸、菊池明奏、福土政広、佐々木浩二、渡部晴之、佐藤斎、井上一雅：メジカルビュー社，診療放射線技師ポケット・レビュー帳 2nd edition、2012: 407-422.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

井上 一雅 (INOUE, Kazumasa)

首都大学東京・人間健康科学研究科・助教

研究者番号：20508105