

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23750078

研究課題名（和文） 腹腔手術ナビゲーション型デュアルモーダルマーカールの開発

研究課題名（英文） Dual Tissue Marker for Laparoscopic Treatment Navigation

研究代表者

豊田 太郎 (TOYOTA Taro)

東京大学・大学院総合文化研究科・准教授

研究者番号：80422377

研究成果の概要（和文）： 腹腔鏡下における消化管内腫瘍の切除手術において、臓器外部から観察可能な組織マーキング法の開発が現在求められている。本研究では、生体透過性の高い近赤外領域に極大蛍光波長をもつインドシアニングリーンおよびX線CT造影剤の候補となるヨード系油性造影剤リピオドールを用いた高定着性の組織マーカーとして、これらの造影剤を含むポリマーベシクル凝集体の創成を目指した。本研究で合成されたポリマーベシクル凝集体をブタの胃の内壁に局所注射し、径21～31mmのスポットが近赤外蛍光カメラ撮影およびX線CT撮影の双方で観察されたことから、上記の目的を達成することができた。

研究成果の概要（英文）： The aim of this study is to develop a tissue marker for laparoscopic treatment navigation. We focused on using two types of electromagnetic waves, that is, near infrared light and X ray, for imaging the marker. X-ray imaging, such as X-ray computed tomography (X-ray CT), is already available in hospitals and clinics. Near infrared fluorescence imaging has drawn much attention because the imaging apparatus is not huge and has potential to be installed into endoscopy devices. For both X-ray CT and near infrared fluorescence imaging, we prepared lipid aggregates which have several compartments, encapsulating an X-ray adsorption agent (lipiodol®) and a near infrared fluorescent probe (indocyanine green), by using amphiphilic food additives. We observed the lipid aggregate which was injected into the inner muscle of a pig stomach through a capillary equipped with the endoscopic device under X-ray CT and near infrared fluorescence imaging apparatus and the spot of the lipid aggregate was not blurred in the range of the diameter of 21 – 31 mm.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：分析化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：組織マーカー，近赤外蛍光イメージング，X線CT，ジャイアントベシクル，内視鏡

1. 研究開始当初の背景

消化管の内部を覆う粘膜は腫瘍が発生しやすく、近年の日本人の癌死亡率でも胃癌や

大腸癌が上位を占める。癌治療には早期発見・治療が、患者の生活能力(QOL)を極力維持する点でも重要であり、日本国政府が推

進する医療政策の一つとして重要視される。中でも、内視鏡検査による早期癌の発見及び治療は近年、内視鏡の高性能化や医師の医療技術の向上により、一般の病院でも普及している。早期癌の中でも粘膜下層へ進展が及ぶものについては、手術による治療が必要である。従来、術前の内視鏡検査や X 線透視検査・X 線 CT 検査で描出される病巣の位置と、実際の手術の際に臓器外側からの観察により推定される病巣位置にはズレが生じることが多く、特に病巣径の小さな早期癌の場合はこのズレが治療上大きな問題となる。そこで内視鏡検査時に病巣周囲に金属クリップなどを留置し、手術時の切除の指標とすることが多い。しかしながら近年、早期癌の治療手段として広く普及した腹腔鏡治療においては、このクリップも手で触れることができなくなり、病巣の過大な切除につながる人が多い。

ゆえに本研究では病巣の境界の正確な位置の把握に有用な内視鏡、病巣の臓器中の相対的位置関係の把握に有用な X 線透視検査、術前シミュレーションに有用な X 線 CT 検査、そして術中の腹腔鏡による視認に統一的に利用可能なマーカーを開発し、精度の高いナビゲーション法の開発を目指す。これには、生体組織透過性の高い電磁波を用いる必要があるため、X線領域と近赤外線領域を利用する。しかし、X線造影剤や近赤外線蛍光色素の溶液は、消化管の粘膜下層に打ち込んでも組織液により拡散してしまうため、位置を特定する精度が金属クリップより劣る。そこで、生体親和性の高い袋状分子集合体であるジャイアントベシクル (図 1) にこれらのプ

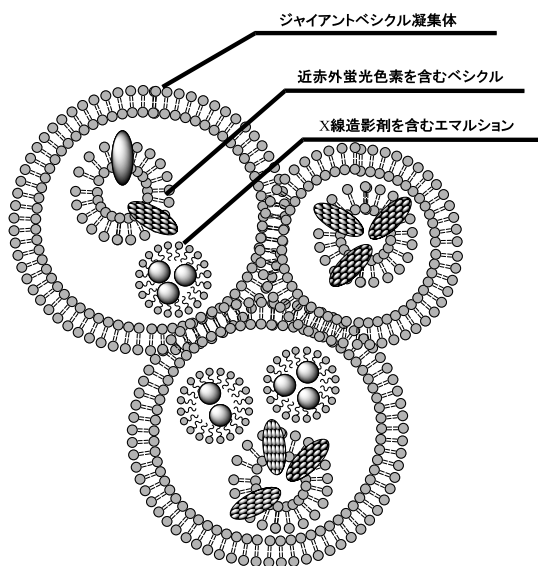


図 1 本研究で取り組んだ組織マーカーの概要図

ローブ分子を取り込ませ、ジャイアントベシクルを凝集させた状態でマーカーとして用いることに着目し、脂溶性の近赤外蛍光色素と X 線造影剤をともに組み込んだ低拡散性・低侵襲性の脂質複合型組織マーカーの創成を研究目的とする。

2. 研究の目的

本研究の目的は、脂溶性の近赤外蛍光色素と X 線造影剤をともに組み込んだ低拡散性・低侵襲性の脂質複合型組織マーカーの創成である。

3. 研究の方法

本組織マーカーは図 1 に示すように、近赤外蛍光色素を含む脂質分子集合体であるベシクルと、脂溶性 X 線造影剤を含むエマルジョンを高分子でできたジャイアントベシクルに同時に封入したものである。これによって、互いに干渉しやすい近赤外蛍光色素と脂溶性 X 線造影剤とをそれぞれ安定化した状態で同一の組織マーカーに包埋することができる。

まず、近赤外蛍光色素であるインドシアニングリーンを卵黄レシチンとともに水に分散させ、インドシアニンググリーン含有ベシクル分散液を作製する。一方、脂溶性 X 線造影剤であるリピオドール®を卵黄レシチンとともに水に分散させることで、水中油滴エマルジョンを作製する。

次に、ポリグリセリンポリリシノレートと呼ばれる両親媒性の高分子を溶解したサメ油由来スクアレンにインドシアニンググリーン含有ベシクル分散液およびリピオドールの水中油滴エマルジョンを分散して、油中水滴エマルジョンを得た後、水相にこの油中水滴エマルジョンを重層して遠心分離を行った。この操作によって、図 2 に示すようにポリマーベシクル凝集体を作製することができる。以上の操作によって得られたジャイアントベシクル凝集体を分け取り、再度水相に分散させることで、組織マーカーとした。

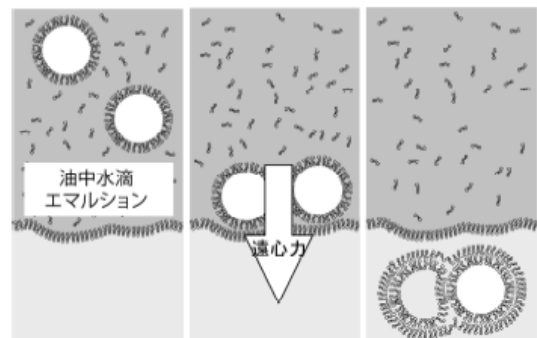


図 2 遠心分離によるポリマーベシクル凝集体の作製の模式図

4. 研究成果

インドシアニングリーン含有ベシクル分散液を近赤外蛍光カメラで観測することで、卵黄レシチンの濃度およびインドシアニングリーン濃度による分散液の蛍光強度の比較を行い、蛍光強度が最大になる濃度を決定した(図3)。一方で、リピオドールの水中近赤外蛍光色素の蛍光強度油滴エマルジョンについても、X線CTを用いることで、アーティファクトが出にくくも明るく造影される最適条件であるCT値 = 200 ~ 500 となる組成を決定した。上記での組成でのベシクル分散液と水中油滴エマルジョンを用いて組織マーカーを作製し、試験管に入れたまま近赤外蛍光カメラおよびX線CTで観測すると、この組織マーカーの分散液はどちらの観測手法でも高輝度を与えることが確認された。

次に、ブタ胃切片の内壁の粘膜下層に本組織マーカーをシリンジで打ち込み、その外側から近赤外蛍光カメラおよびX線CTで観測することで、打ち込み量に対するマーカーのじみみを測定した。すると、打ち込み量が300 μ L のときに、蛍光強度を保持しつつじみを抑制できることがわかった(図4)。

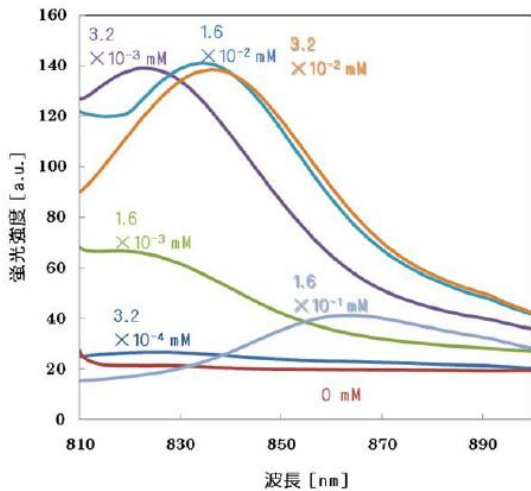


図3 インドシアニンググリーン含有ベシクル分散液の蛍光スペクトルのインドシアニンググリーン濃度依存性。

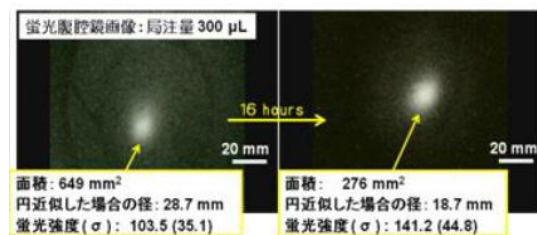


図4 ブタ胃切片に打ち込んだ組織マーカーのスポットの蛍光像とその時間変化。

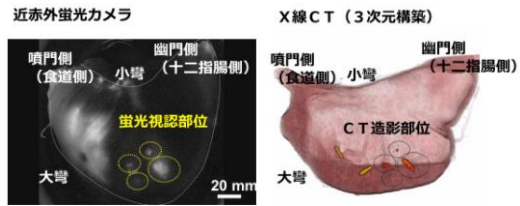


図5 ブタ胃内壁に打ち込んだ組織マーカーの近赤外蛍光カメラ像およびX線CT像。

さらに、本組織マーカーを麻酔をかけたブタの胃袋の粘膜下層へ300 μ Lだけ打ち込んだところ、ブタが一度覚醒した後12時間後に切除して近赤外蛍光カメラおよびX線CTで観測しても、打ち込んだ箇所を21~31mmのスポットとして造影でき、同一のままであることがわかった(図5)。

尚、本研究に関わる研究代表者および実験に関わる研究協力者は、所属する研究機関が実施する動物実験研究者の講習会を規定にあるとおり受講し、研究機関の定める動物実験のルールを遵守した上で実験を行った。

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0件)
該当なし

〔学会発表〕(計2件)

- ① 畑山博哉, 豊田太郎, 林 秀樹, 藤浪真紀, ジャイアントベシクル凝集体を用いた医療用蛍光組織マーカー, 第23回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 2011年6月10日, 千葉大学.
- ② 豊田太郎, 畑山博哉, 林 秀樹, 藤浪真紀, ジャイアントベシクル凝集体を用いたX線・近赤外蛍光デュアル組織マーカー, 日本分析化学会第60年会, 2011年9月14日, 名古屋大学.

〔図書〕(計1件)

- (1) 林 秀樹, 田村 裕, 豊田太郎, 真殿智行, 大内友貴, 後藤翔一, 松原久裕, 近赤外蛍光プローブを用いた消化管腫瘍に対する手術ナビゲーションの開発, 映像情報 Medical, vol.44, 503-509 (2012).

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称: 医療用組織マーカー及びその製造方法
発明者: 林 秀樹, 豊田太郎, 畑山博哉, 藤浪真紀

権利者：同上
種類：特許
番号：特願 2011-130901, PCT/JP2012/064235
出願年月日：2012年5月31日
国内外の別：国内およびPCT出願済

○取得状況（計0件）
該当なし

〔その他〕
ホームページ等
http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/toyota_lab/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊田太郎 (TOYOTA TARO)
東京大学・大学院総合文化研究科・准教授
研究者番号：80422377