

平成 30 年 5 月 27 日現在

機関番号：11301
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2016～2017
 課題番号：16K15816
 研究課題名(和文) 口腔癌リンパ節転移に対する抗癌剤封入ナノ粒子のリンパ行性投与による治療法の開発

 研究課題名(英文) Treatment for lymph node metastasis of oral cancer by using lymphatic administration of anticancer agent-encapsulated liposomes

 研究代表者
 森 士朗 (Mori, Shiro)

 東北大学・大学病院・講師

 研究者番号：80230069
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：口腔癌の所属リンパ節(LN)転移の低侵襲治療法を開発するために、リンパネットワークの上流のLNを薬剤投与部位としたリンパ行性癌化学療法を検討した。本研究では実験動物としてLN腫脹マウスであるMXH10/Mo/lprを用いた。このマウスの腸骨下LNに癌細胞を注入すると、その下流にある固有腋窩LNに転移することが明らかになっている。本研究の結果、LNへの薬剤投与速度が速い場合、下流のLNへの薬剤送達が十分為されないこと、粒径が大きい抗癌剤封入ナノ粒子がLN内の貯留性に優れること、抗癌剤封入ナノ粒子を転移LNに注入した後に超音波照射すると抗癌剤の薬剤送達性の向上がみられることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In order to develop a minimally invasive treatment for lymph node(LN) metastasis of oral cancer, a lymphogenous anticancer drug administration method using a LN upstream in the lymph network as a drug administration site was examined. In this study, MXH10 / Mo / lpr which is a lymph node swollen mouse was used as an experimental animal. When tumor cells are injected into the subiliac LN(SiLN) of this mouse, it has been known that the metastatic lesion is induced in the proper axillary LN which is a downstream LN of the SiLN. As a result of this study, the following was clarified; when drug administration rate to LN was fast, drug delivery to the downstream LN was not sufficiently done; anticancer agent-encapsulated liposomes having large particle size showed prolonged retention in the target LN; and drug delivery performance of anticancer drugs was improved by ultrasonic irradiation after injecting the anticancer agent-encapsulated liposomes into the metastatic LN.

研究分野：口腔外科学

キーワード：リンパ節転移 リンパ行性癌化学療法 リンパ節転移モデル 抗癌剤封入ナノ粒子 リンパ節介在血行性転移 超音波 薬剤送達 MXH10/Mo/lpr

1. 研究開始当初の背景

我々は、ヒトのリンパ節と同等の大きさにリンパ節が腫脹する近交系マウスとこのマウスに生着するルシフェラーゼ発現腫瘍細胞株を樹立し、移植した腫瘍細胞の動態や転移・増殖の過程をリアルタイムで観察できるリンパ節転移モデルを開発した(PLoS One 2013, Cancer Res 2013, J Immunol Methods 2013)。また、このマウスのリンパ・血管ネットワークを解剖学的に詳細に検討し、腫瘍細胞の動態を解析することによりリンパ行性のリンパ節転移と並行して転移リンパ節を起点として遠隔転移病巣が形成されるリンパ節介在性血行性転移という新たな転移メカニズムを見出した。さらに、リンパ行性の薬剤投与が、転移リンパ節の低侵襲・根治的治療として有望であり、臨床的にも技術的に可能であることを示してきた(Ultrasonnd Med Biol 2014, Ultrasonnd Med Biol 2015, J Immunol Meth 2015, Plos One 2015, Biomed Opt Express 2015, J Cancer 2015)。

2. 研究の目的

口腔癌の所属リンパ節転移に対する根治的治療には、頸部郭清術等の侵襲性の高い治療が必要である。しかし、人口の高齢化に伴い全身状態が転移リンパ節に対する治療に耐えられず、根治的治療を断念せざるを得ない症例に遭遇する機会が増加している。従って、低侵襲の転移リンパ節の治療法の開発は喫緊の課題である。本研究の目的は、我々が開発したヒトと同等の大きさのリンパ節を有し、リンパ節転移および肺転移の形成過程をタイムゼロからリアルタイムで解析できるリンパ節転移モデルを用いて、口腔癌リンパ節転移に対する抗癌剤封入ナノ粒子のリンパ行性投与による低侵襲の転移リンパ節の治療法を開発することである。

3. 研究の方法

本研究では、実験動物としてリンパ節腫脹自然発症マウスである MXH10/Mo/lpr マウス(J Immunol Methods 2013)を用いた。また、腫瘍細胞には、生体発光画像解析装置を用いてリアルタイムで腫瘍細胞の動態を観察するためにルシフェラーゼ発現細胞である KM-Luc/GFP 細胞(マウス悪性線維性組織球腫瘍細胞)および FM3A-Luc 細胞(マウス乳癌細胞)(Cancer Res 2013, J Immunol Methods 2013)を用いていた。このマウスにおいては、腫瘍細胞を腸骨下リンパ節(SiLN)に注入すると、SiLN の下流のリンパ節である固有腋窩リンパ節(PALN)に転移し、その後、PALN を切除すると肺転移が活性化されることが、これまでの我々の研究により明らかになっている。リンパ行性の抗癌剤投与方法の検討においては、リンパ内皮細胞や血管内皮細胞に結合する性質を有するトマトレクチンを蛍光色素で標識し、注入速度を変えて SiLN に注入し、PALN での蛍光色素の分布を蛍光顕微鏡で観察し、

画像解析した。さらに、 C_3F_8 ガス封入ナノ・マイクロバブルおよび粒径の異なる ICG 封入ナノ粒子を作製し、高周波超音波画像解析装置、生体発光画像解析装置、および蛍光実体顕微鏡を用いて生体内のナノ粒子の動態をリアルタイムで解析した。リンパ節転移および肺転移の治療実験においては、抗癌剤封入ナノ粒子としてドキシソルピシン封入リポソーム(DOX-LP)を作製し、転移モデルリンパ節にリンパ行性に DOX-LP とナノ・マイクロバブルを投与し、超音波照射併用による抗腫瘍効果について上記画像解析装置を用いて解析し、病理組織学的にも抗腫瘍効果を検証した。

4. 研究成果

リンパ行性薬剤投与における投与速度の検討においては、リンパ節への薬剤投与速度が速い場合、下流のリンパ節への薬剤送達が十分為されないことが明らかとなった。

転移リンパ節内のナノ粒子封入薬剤の貯留時間の検討に関しては、ICG を封入したナノ粒子を PALN に注入し、生体発光画像解析装置を用いて貯留時間を検討した。その結果、粒径が大きい抗癌剤封入ナノ粒子がリンパ節内貯留性に優れることが明らかになった。

薬剤送達性を高めるナノ・マイクロバブル併用超音波照射システムの開発に関しては、抗癌剤封入ナノ粒子を転移リンパ節に注入した後に超音波照射することにより、抗癌剤の薬剤送達性が向上し、リンパ節転移のみならず肺転移病巣の形成の抑制効果も確認できた。この肺転移の抑制効果の機序は現在のところ不明であり現在検討中である。

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9件)

1. Tomoki Ouchi, Ariunbuyan Sukhbaatar, Sachiko Horie, Maya Sakamoto, Kiyoto Shiga, Shiro Mori, Tetsuya Kodama. Superselective drug delivery using doxorubicin-encapsulated liposomes and ultrasound in a mouse model of lung metastasis activation. *Ultrasound in Medicine and Biology*. In press. (査読有)
2. Fujii H, Horie S, Takeda K, Mori S, Kodama T. Optimal range of injection rates for a lymphatic drug delivery system. *Journal of Biophotonics*. 2018; doi: 10.1002/jbio.201700401(査読有)
3. Tada A, Horie S, Mori S, Kodama T. Therapeutic effect of cisplatin given with a lymphatic drug delivery system on false-negative metastatic lymph nodes. *Cancer Sci*. 2017 Nov; 108(11):2115-2121. ePub-PMID:28846190(査読有)
4. Adewale O. Oladipo1, Oluwatobi S. Oluwafemi, Sandile P. Songca, Ariunbuyan Sukhbaatar, Shiro Mori, Junnosuke Okajima,

- Atsuki Komiya, Shigenao Maruyama, Tetsuya Kodama. A novel treatment for metastatic lymph nodes using lymphatic delivery and photothermal therapy. *Sci Rep*. 2017; 7: 45459. doi: 10.1038/srep45459. PMID: 28368042 (査読有)
5. Mikada M, Ariunbuyan S, Miura Y, Horie S, Sakamoto M, Mori S, Kodama T. Evaluation of the enhanced permeability and retention effect in the early stages of lymph node metastasis. *Cancer Sci*. 2017.108(5):846-852. ePub-PMID:28211204(査読有)
 6. Kazu Takeda, Shiro Mori, Tetsuya Kodama. Study of fluid dynamics reveals direct communications between lymphatic vessels and venous blood vessels at lymph nodes of mice. *J Immunol Methods*. 2017. pii: S0022-1759(16)30297-6. doi: 10.1016/j.jim.2017.02.008. (査読有)
 7. Sato T, Takemura T, Ouchia T, Mori S, Sakamoto M, Arai Y, Kodama T. Monitoring of blood vessel density using contrast-enhanced high frequency ultrasound may facilitate early diagnosis of lymph node metastasis. *Journal of Cancer*. 2017. 8(5): 704-715. doi: 10.7150/jca.18027. eCollection 2017. (査読有)
 8. Matsuki D, Oladipo A, Horie S, Okajima J, Komiya A, Oluwafemi O, Maruyama S, Mori S, Kodama T. Treatment of tumor in lymph nodes using near-infrared laser light-activated thermosensitive liposome-encapsulated doxorubicin and gold nanorods. *Journal of Biophotonics*. 2017. doi: 10.1002/jbio.201600241. (査読有)
 9. Kodama T, Matsuki D, Tada A, Takeda K, Mori S. New concept for the prevention and treatment of metastatic lymph nodes using chemotherapy administered via the lymphatic network. *Scientific Reports* 2016; 6:32506. ePub-PMID:27581921 (査読有)
- [学会発表](計 48件)
1. S Ariunbuyan, Takahashi T, Mori S, Kodama T. Activation of metastatic cells in the lung by dissection of lymph nodes. International Symposium for Multimodal Research and Education in IOHS-Liaison 2018, Jan 13-14, 2018, Tohoku University, Sendai, Japan.
 2. Fujii H, Horie S, Mori S, Kodama T. Therapeutic potentials of the lymphatic drug delivery system with 5-FU for the treatment of metastatic lymph nodes. International Symposium for Multimodal Research and Education in IOHS-Liaison 2018, Jan 13-14, 2018, Tohoku University, Sendai, Japan.
 3. 武田航, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. 解剖学的に基づいたリンパ節転移に関する研究. 日本機化学会バイオエンジニアリング講演会, 2017年12月14日-16日, 京都大学(京都市)
 4. Takeda K, Horie S, Mori S, Kodama T. Flow Dynamics Based on Anatomical Characteristics of Lymph Node. Birateral Programs between South Africa and Japan, 14th International Conference on Flow Dynamics, Nov 1-3, 2017, Sendai International Center, Sendai, Japan.
 5. Fujii H, Horie S, Mori S, Kodama T. Anti-tumor effects of 5-FU with lymphatic drug delivery system in a metastatic lymph node mouse model. Birateral Programs between South Africa and Japan, 14th International Conference on Flow Dynamics, Nov 1-3, 2017, Sendai International Center, Sendai, Japan.
 6. Kikuchi R, Horie S, Mori S, Kodama T. Oxygen Partial Pressure in False-negative N0 Lymph Nodes. 14th International Conference on Flow Dynamics, Program: 22, Nov 1-3, 2017, Sendai International Center, Sendai, Japan.
 7. Iwamura R, Horie S, Mori S, Kodama T. A Development of an Early Stage Diagnosis For Lymph Node Metastasis Using Lymphangiography. 14th International Conference on Flow Dynamics, Nov 1-3, 2017, Sendai International Center, Sendai, Japan.
 8. 小玉哲也, 堀江佐知子, 森 士朗. 偽陰性 N0 リンパ節に対するリンパ行性薬剤送達法の基礎理論と治療評価. 第 55 回日本癌治療学会学術集会, 2017年10月20日-22日, パシフィコ横浜(横浜市)
 9. 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. がんリンパ節郭清による肺転移誘導マウスモデルの作製. 第 55 回日本癌治療学会学術集会, 2017年10月20日-22日(パシフィコ横浜(横浜市))
 10. 岩村 亮, 森 士朗, 阪本真弥, 小玉哲也. マイクロ CT と高周波超音波を用いたリンパ造影によるリンパ節転移の新たな診断手法の開発. 第 76 回日本癌学会 2017年9月28日-30日, パシフィコ横浜(横浜市)
 11. 武田 航, 藤井穂乃香, 阪本真弥, 森 士朗, 小玉哲也. 転移リンパ節の解剖学的な背景に関する研究. 第 76 回日本癌学会 2017年9月28日-30日, パシフィコ横浜(横浜市)
 12. 堀江佐知子, 森菜緒子, 志賀清人, 森 士朗, 小玉哲也. リンパ行性薬剤送達法によるがん治療. 第 76 回日本癌学会学術総会, 2017年9月28日-30日, パシフィコ横浜(横浜市)
 13. 藤井穂乃香, 武田航, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. リンパ行性薬剤送達法を利用した 5-FU による転移リンパ節治療. 第 76 回日本癌学会学術総会, 2017年9月28日-30日, パシフィコ横浜(横浜市)

- ログラム集 75 頁, 2017 年 9 月 28 日-30 日, パシフィコ横浜 (横浜市)
14. 菊池凌平, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. 転移偽陰性リンパ節における酸素分圧の評価. 第 76 回日本癌学会学術総会, 2017 年 9 月 28 日-30 日, パシフィコ横浜 (横浜市)
 15. Takeda K, Horie S, Mori S, Kodama T. The Study of flow dynamics in lymphatic system. World Molecular Imaging Congress 2017 (WMIC 2017), Sep 13-16, 2017, Washington State Convention Center, Philadelphia, USA.
 16. Kikuchi R, Horie S, Mori S, Kodama T. Oxygen state in fase-negative N0 lymph node mouse model. The 12th International Workshop on Biomaterials in Interface Science, Aug 4-5, 2017, Hoteru Hananoyu, Akiu Onsen, Sendai, Japan.
 17. Fujii H, Horie S, Mori S, Kodama T. Lymphatic drug delivery system with 5-FU for metastatic lymph nodes. The 12th International Workshop on Biomaterials in Interface Science, Aug 4-5, 2017, Hoteru Hananoyu, Akiu Onsen, Sendai, Japan.
 18. Lily A. David, Horie S, Mori S, Kodama T. The effects of cis-diaminedichloroplatinum (II) (CDDP), injected intravenously in MXH10/Mo-*lpr/lpr* mice, on lymph nodes. The 12th International Workshop on Biomaterials in Interface Science, Aug 4-5, 2017, Hoteru Hananoyu, Akiu Onsen, Sendai, Japan.
 19. Takeda K, Horie S, Mori S, Kodama T. New insights on Lymph node metastasis : the benefit of using our mouse model in cancer metastasis. 3rd Annual Data Science in Life Science and Engineering Collaboration and Symposium, Aug 3-4, 2017, Case Western Reserve University, Cleveland, USA.
 20. Takeda K, Horie S, Mori S, Kodama T. The study of flow dynamics in lymphatic system. 3rd Annual Data Science in Life Science and Engineering Collaboration and Symposium, Aug 3-4, 2017, Case Western Reserve University, Cleveland, USA.
 21. 武田航, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. リンパ節転移モデルマウスを用いた転移リンパ節の解剖学的特徴の検討, 第 26 回日本がん転移学会学術集会・総会, 2017 年 7 月 27 日-28 日, 大阪国際会議場 (大阪市)
 22. 武田航, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. 解剖学的特徴に基づいたリンパ行性薬剤送達法の開発. 第 33 回日本 DDS 学会学術集会, 2017 年 7 月 6 日-7 日, 京都市勤業館みやこめっせ (京都市)
 23. 藤井穂乃香, 岡田裕貴, 武田航, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. 転移リンパ節に対するリンパ行性薬剤送達法の有効性に関する研究. 第 33 回日本 DDS 学会学術集会, 2017 年 7 月 6 日-7 日, 京都市勤業館みやこめっせ (京都市)
 24. 大内友貴, 森 士朗, 小玉哲也. リンパ節切除にともなう郭清域外リンパ節ならびに肺での転移性腫瘍細胞の治療を目指す新たなリンパ行性薬剤送達法の開発. 第 33 回日本 DDS 学会学術集会, 2017 年 7 月 6 日-7 日, 京都市勤業館みやこめっせ (京都市)
 25. 菊池凌平, 堀江佐知子, 阪本真弥, 森菜緒子, 森 士朗, 小玉哲也. 転移偽陰性リンパ節に対する MRI・超音波画像診断による腫瘍検出能の評価. 第 56 回日本生体医工学会, 2017 年 5 月 3 日-5 日, 東北大学キャンパス星陵オーデトリウム (仙台市)
 26. Ariunbuyan S, Horie S, Takahashi T, Mori S, Kodama T. Induction of the EPR effect in a mouse model of lung metastasis. 第 56 回日本生体医工学会大会 (JSMBE56, 2017), 2017 年 5 月 3 日-5 日, 東北大学キャンパス星陵オーデトリウム (仙台市)
 27. 石川朝生, 岩村亮, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. 転移偽陰性リンパ節に対するマイクロ CT 画像診断を用いた血管構造解析. 第 56 回日本生体医工学会大会 (JSMBE56, 2017), 2017 年 5 月 3 日-5 日, 東北大学キャンパス星陵オーデトリウム (仙台市)
 28. 藤井穂乃香, 岡田裕貴, 多田明日香, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. リンパ行性薬剤送達法に対するフルオロウラシル投与の有効性に関する研究. 日本超音波医学会第 53 回東北地方会学術集会, 2017 年 3 月 12 日, 仙台情報・産業プラザ (仙台市)
 29. 岩村亮, 加藤茂樹, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. 造影高周波超音波と造影マイクロ CT 画像を用いた超早期転移リンパ節診断法の開発. 日本超音波医学会第 53 回東北地方会学術集会, 2017 年 3 月 12 日, 仙台情報・産業プラザ (仙台市)
 30. 藤井穂乃香, 岡田裕貴, 多田明日香, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. リンパ行性薬剤送達法に対するフルオロウラシル投与の有効性に関する研究. 日本超音波医学会第 53 回東北地方会学術集会, 2017 年 3 月 12 日, 仙台情報・産業プラザ (仙台市)
 31. Ariunbuyan S, Horie S, Takahashi T, Mori S, Kodama T. Acceptance of systemic chemotherapy at lung metastasis (Evaluation of the EPR effect in the lung metastasis), The 2017 Japan-NIH Joint Symposium, Feb 15-17, 2017, Seiryō Auditorium, Sendai, Japan.
 32. 岡田裕貴, 藤井穂乃香, 多田明日香, 堀江佐知子, 森 士朗, 小玉哲也. リンパ

- 行性薬剤送達法の転移リンパ節に対する抗腫瘍効果の評価．日本機械学会 第 29 回バイオエンジニアリング講演会，2017 年 1 月 19 日-20 日，ウインクあいち（名古屋市）
33. 藤井穂乃香，岡田裕貴，多田明日香，堀江佐知子，森 士朗，小玉哲也．リンパネットワークを利用した転移リンパ節治療法の開発．日本機械学会 第 29 回バイオエンジニアリング講演会，2017 年 1 月 19 日-20 日，ウインクあいち（名古屋市）
34. 菊池凌平，堀江佐知子，阪本真弥，森菜緒子，森 士朗，小玉哲也．MRI を用いた転移リンパ節に対する評価法の検討．日本機械学会 第 29 回バイオエンジニアリング講演会，2017 年 1 月 19 日-20 日，ウインクあいち（名古屋市）
35. 岩村亮，堀江佐知子，森 士朗，小玉哲也．リンパ造影を用いた新たなリンパ節転移診断手法の開発に関する研究．日本機械学会 第 29 回バイオエンジニアリング講演会，2017 年 1 月 19 日-20 日，ウインクあいち（名古屋市）
36. 石川朝生，岩村亮，堀江佐知子，森 士朗，小玉哲也．マイクロ CT を用いた転移リンパ節リングエンハンスメント形成に関する研究．日本機械学会 第 29 回バイオエンジニアリング講演会，2017 年 1 月 19 日-20 日，ウインクあいち（名古屋市）
37. 武田航，森 士朗，小玉哲也．転移リンパ節モデルにおけるリンパ節内圧についての検証．日本機械学会 第 27 回バイオフロンティア講演会，2016 年 10 月 22 日-23 日，北海道大学工学部(札幌市)
38. Iwamura R, Mori S, Kodama T. The Novel Diagnosis Method for Lymph Node Metastasis by Lymphangiography.13th International Conference on Flow Dynamics, Proceedings: 288, Oct 10-12, 2016, Sendai International Center, Japan.
39. Takeda K, Mori S, Kodama T. The Novel Evaluation Methods for Metastatic Lymph Node using Intranodal Pressure.13th International Conference on Flow Dynamics, Proceedings: 290, Oct 10-12, 2016, Sendai International Center, Japan.
40. 武田航，森 士朗，小玉哲也．転移リンパ節モデルにおけるリンパ節内圧についての検証.日本機械学会 第 27 回バイオフロンティア講演会，2016 年 10 月 22 日-23 日（北海道大学工学部，札幌市）
41. Ariunbuyan S, Horie S, Mori S, Kodama T. Enhanced permeability and retention (EPR) effect in early stage of lung metastasis. 第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 6 日-8 日（パシフィコ横浜，横浜市）
42. 武田航，多田明日香，吉羽正太，堀江佐知子，森 士朗，小玉哲也．リンパ節内圧を用いたリンパ節転移の新規診断方法．第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 6 日-8 日（パシフィコ横浜，横浜市）
43. 岩村亮，森 士朗，小玉哲也．リンパ造影を用いたリンパ節転移の新たな診断法の開発 第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 6 日-8 日(パシフィコ横浜，横浜市)
44. Yves J. Siril, Horie S, Mori S, Kodama T. Observation of tumor progression in metastatic lymph nodes.第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 6 日-8 日（パシフィコ横浜，横浜市）
45. 藤井穂乃香，岡田裕貴，多田明日香，堀江佐知子，森 士朗，小玉哲也．転移リンパ節に対するリンパ行性薬剤送達法を用いた時間依存型抗がん剤の治療効果の検討 第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 6 日-8 日(パシフィコ横浜，横浜市)
46. 吉羽正太，武田航，多田明日香，堀江佐知子，森 士朗，小玉哲也．超音波とナノ・マイクロバブルを用いたリンパ行性薬剤送達法の評価．第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 6 日-8 日（パシフィコ横浜，横浜市）
47. 多田明日香，堀江佐知子，森 士朗，小玉哲也．転移リンパ節に対するリンパネットワークを用いた薬剤送達法の開発に関する研究．第 75 回日本癌学会学術総会頁，2016 年 10 月 6 日-8 日（パシフィコ横浜，横浜市）
48. 岡田裕貴，藤井穂乃香，多田明日香，堀江佐知子，森 士朗，小玉哲也．リンパ節転移モデルマウスにおけるドキソルビシンを用いたリンパ行性薬剤送達法の評価．第 75 回日本癌学会学術総会，2016 年 10 月 6 日-8 日(パシフィコ横浜，横浜市)

6．研究組織

(1)研究代表者

森 士朗（MORI, Shiro）
 東北大学・大学病院・講師
 研究者番号：80230069

(2)連携研究者

小玉 哲也（KODAMA, Tetsuya）
 東北大学・医工学研究科・教授
 研究者番号：40271986