

機関番号：27102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21792026

研究課題名(和文) 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

研究課題名(英文)

Development of the oral cancer diagnosis system model by the tumor angiography using the nanobubble and ultrasound

研究代表者

岩永 賢二郎 (IWANAGA KENJIRO)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：20448484

研究成果の概要(和文)：

口腔癌の診断・治療に応用可能な新規ナノバブルを用いて口腔癌を早期に、また腫瘍深度を診断できるシステムを開発する。舌癌ラットモデルを作製した。ナノバブル投与後、超音波モニタリング下に腫瘍の範囲を確認し、腫瘍の最深部から5 mm下方にマーカースとして留置針の針先を固定後、その留置針をガイドとして客観的に腫瘍を切除した。その後、腫瘍の浸潤発育先端を確認し、腫瘍の深達距離および切除クリアランスの確認を行った。超音波診断による深達度と病理組織標本での深達度を比較したところ、両者はよく関連していた。

研究成果の概要(英文)：

We develop the system which can diagnose a tumor depth using the new nanobubble which is applicable for a diagnosis, treatment of oral cancer. We made 4-Nitroquinoline 1-Oxide-induced tongue cancer rat model. Under ultrasonographic monitoring, elastic needles with a metal core were introduced to mark a deep surgical margin of 5 mm from the deepest tumor invasion front. Surgical resection was carried out using elastic needle as the deepest surgical clearance mark. The resected specimen was immediately immersed in gelatin solution maintaining its original shape and orientation, and refrigerated to solidify. Ultrasonographic observations of the gelatin embedded specimens were performed to confirm the surgical clearance. Immediate surgical clearance of the resected specimens could be easily verified intraoperatively. Further, sonographic marking showed a good correlation with the histological margins.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21年度	1,100,000	330,000	1,430,000
22年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：腫瘍，口腔癌診断，ナノバブル，超音波

1. 研究開始当初の背景

口腔癌の治療成績の向上に早期診断は不

可欠な要素であり、とくに所属リンパ節転移や局所再発の早期診断には日々の癌治療に

において大変苦慮するところである。所属リンパ節転移や局所再発の画像診断としては、現在、X線 CT・MRI・PET・超音波検査などが有効な手段として常用されている。しかし、微小な転移巣の診断は、結局のところ摘出組織標本の病理組織学的診断に委ねざるを得ないのが現状である。微小な転移巣や局所再発の早期診断法の開発が望まれる。

リポソームに超音波造影ガスを封入した 1 μm 以下のナノバブルは、超音波造影剤として機能するのでバブルの軌跡から腫瘍内新生血管の構築が可能である。さらに、その内部に薬剤や遺伝子などを封入することができ、超音波照射によるバブルの圧壊で生じるジェット流により細胞に一過性の小孔が生じ、細胞内に薬剤や遺伝子が導入されるターゲット型 DDS として使われている。またポリエチレングリコール (PEG) 修飾リポソームを用いて標的細胞表面に過剰発現している受容体を認識する抗体を付与することもできる。

2. 研究の目的

本申請では、ナノバブルを超音波造影剤として用いることにより、口腔癌リンパ節転移や局所再発を早期に診断するシステムを開発する。

3. 研究の方法

まず、口腔扁平上皮癌の治療のために、超音波発振装置とナノバブルを用いたソノポレーション法を検討した。扁平上皮癌細胞の表面に過剰発現している上皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor : EGFR) に着目し、そのリガンドである抗 EGFR 抗体を介した導入法の開発を試みた。

次に、超音波または超音波造影剤を用い、腫瘍病巣の可視化を図り、病巣範囲を評価した。

4. 研究成果

DNA-ナノバブル-抗 EGFR 抗体混合溶液を作成し、*in vitro* の実験系で EGFR 保有ヒト癌細胞ならびに、EGFR 非保有細胞への遺伝子導入をおこなったところ、EGFR が高発現しているヒト扁平上皮癌細胞で明らかな導入効果の増強が認められた。次にヒト歯肉扁平上皮癌 (Ca9-22 細胞) をヌードマウスに接種し担癌マウスを作成した。腫瘍支配動脈にナノバブルと Bleomycin を投与し、投与と同時に癌組織に超音波を照射したところ、抗腫瘍効果を確認した。

また、舌癌の深部切除マージンの決定法の開発として、4-Nitroquinoline 1-Oxide 誘発舌癌ラットモデルを作製した。ナノバブル投与後、超音波モニタリング下に腫瘍の範囲を確認し、腫瘍の最深部から 5 mm 下方にマーカーとして留置針の針先を固定後、その留置針をガイドとして客観的に腫瘍を切除した。

その後、腫瘍の浸潤発育先端を確認し、腫瘍の深達距離および切除クリアランスの確認を行った。超音波診断による深達度と病理組織標本での深達度を比較したところ、両者はよく相関していた。

次に臨床への応用を考え、ヒトでの臨床試験を行った。日本で認可されているナノバブルはない為、超音波単独で行った。超音波モニタリング下に腫瘍範囲を確認し、腫瘍の最深部から 10mm 下方にマーカーとした留置針の針先を固定後、その留置針をガイドとして腫瘍を切除した。その後、腫瘍の浸潤発育先端を確認し、腫瘍の深達距離および切除クリアランスの確認を行った。超音波診断による深達度と病理組織標本での深達度を比較したところ、両者はよく相関していた。

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. M. Kodama., A. Khanal, M. Habu, K. Iwanaga, I. Yoshioka, T. Tanaka., Y. Morimoto., K. Tominaga. Ultrasonography for Intraoperative Determination of Tumor Thickness and Resection Margin in Tongue Carcinomas. J Oral Maxillo fac Surg. Aug; 68(8): 1746-52. 2010
2. Hironobu Maeda, Kazuhiro Tominaga, Kenjiro Iwanaga, Fuminori Nagao, Manabu Habu, Toshiyuki Tsujisawa, Yuji Seta, Kuniaki Toyoshima, Jin-ichi Fukuda, Tatsuji Nishihara. Targeted drug delivery system for oral cancer therapy using sonoporation. Journal of Oral Pathology and Medicine. J Oral Pathol Med. Aug;38(7):572-9. 2009.

[学会発表] (計 8 件)

1. Kenjiro Iwanaga¹, Osamu Takahashi¹, Toshinori Okinaga², Michinao Kawano¹, Wataru Ariyoshi², Tatsuji Nishihara², Kazuhiro Tominaga¹. Effects of ultrasound and EDBL on cytotoxicity in Ca9-2. 第 58 回 JADR, 北九州, 11 月, 2010.
2. 岩永賢二郎 高橋理 西原達次 富永和宏: 口腔扁平上皮癌細胞株におけるドキシソルビシン含有バブルリポソームと超音波との併用による致死活性効果について. 22 年度 第 1 回日本超音波分子診断治療研究会 8 月 札幌 2010.
3. 岩永賢二郎: 超音波を用いた遺伝子・薬剤導入法とその医療応用について. ニューセラミックス懇話会 バイオ関連セラミックス分科会第 29 回研究会 大阪

島津製作所 関西支社 5月28日
2010

4. 岩永賢二郎：ナノ・マイクロバブルと超音波を用いた遺伝子・薬剤導入法と顎顔面口腔領域への応用. 第8回日本超音波治療研究会シンポジウム 11月28日 東京2009.
5. K.Iwanaga, K.Tominaga, O.Takahashi, M.Kawano, T.Nishihara. Development of gene and drug delivery system using nano-microbubbles and ultrasound and its application in oral and maxillofacial field. The Second Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technolog. 13 November, 2009.
6. O. Takahashi, K.Iwanaga, M.Habu, I.Yoshioka, T.Nishihara, K. Tominaga. A new treatment strategy for oral cancer using sonoporation. The 48th Congress of the Korean Association of Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgeons, Seoul,30 Oct,2009.
7. 河野 通直、岩永 賢二郎、辻澤 利行、西原 達次. ソノポレーション法を応用した骨芽細胞の分化誘導 第51回歯科基礎医学会学術大会・総会 新潟 2009年9月10日
8. 岩永賢二郎, 土生学, 吉岡泉, 富永和宏. ナノバブルと超音波を用いた遺伝子導入による顎関節炎の次世代治療法の開発 第22回日本顎関節症学会 東京 2009/07/25

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩永 賢二郎 (IWANAGA KENJIRO)
九州歯科大学・歯学部・助教
研究者番号：20448484

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし