

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月28日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890020

研究課題名（和文）新規の有機性蛍光粒子を用いたセンチネルリンパ節の迅速3次元診断法の開発

研究課題名（英文）Development of rapid sentinel lymph node diagnosis with fluorescent nano-particles.

研究代表者

日景 允 (HIKAGE MAKOTO)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：70579747

研究成果の概要（和文）：

本研究では新規の有機性蛍光ナノ粒子および3次元蛍光画像解析装置を用いた病理組織診断法を利用し、がん治療において高精度な微小がん転移診断を可能とするセンチネルリンパ節診断法の開発を目的とした。本研究において、新規蛍光ナノ粒子の開発を行い、新たに作製した担癌モデルマウスでセンチネルリンパ節の診断・解析を行った。その結果、これら新規蛍光ナノ粒子がセンチネルリンパ節の検出およびリンパ節内での転移がん細胞集積部位の同定に有用であることが予備的なデータから示された。現在、がん細胞検出の感度増強および定量性強化について検討を行なっている。

研究成果の概要（英文）：

To develop new sentinel lymph node diagnostic methods with high accuracy, we here developed new fluorescent nano-particles and injected these particles into the tumor-bearing mice. The results preliminary showed that the diagnosis of lymph node metastasis with this new fluorescent nano-particles is used for visualization of a high-risk area in the sentinel lymph node for lymph node metastasis. Now, I am trying the enhancement of fluorescent sensitivity and quantitativity for sentinel lymph node diagnosis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,230,000	369,000	1,599,000
2011年度	1,130,000	339,000	1,469,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,360,000	708,000	3,068,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：センチネルリンパ節

1. 研究開始当初の背景

センチネルリンパ節は各臓器から最初にリンパ流を受けるリンパ節と定義されており、がん手術においてはこの部位に転移がなければ系統的リンパ節郭清が不要であるとされる(センチネルリンパ節理論)。このセンチネルリンパ節への転移の有無を診断することによりがん治療の個別化が可能であり、患者個々に必要最小限の侵襲で治療を行うことが可能となる。センチネルリンパ節理論は乳腺・皮膚などの体表がんの治療では広く認容されている。しかし、体腔深部の組織・臓器(消化器等)においては、色素やラジオアイソトープコロイドといったリンパ節トレーサーでは、移行性の問題や感度不足のためリンパ節検出が困難であり、実用的な臨床応用が進んでいない。またリンパ節生検全般に関して、手術中の迅速病理診断における微小転移見逃しの危険性が指摘されており、異なった切り口からの方策が期待されている。

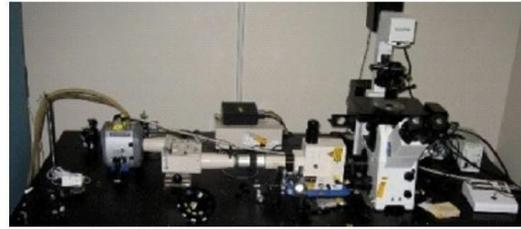
2. 研究の目的

本研究では、高精度な蛍光解析法をセンチネルリンパ節診断に応用し、外科手術時のセンチネルリンパ節検出率の向上、および病理診断時の微小がん転移診断率の向上を図ることを目的とした。

3. 研究の方法

センチネルリンパ節検出のための蛍光リンパ節トレーサーとして、量子ドットに匹敵する光学特性を持ち、生体適合性に優れると考えられる有機系蛍光ナノ粒子を開発し、*in vivo* 蛍光イメージングを利用したセンチネルリンパ節検出を行う(図1)。摘出後のリンパ節標本に対し、ピブラトーム切片の *ex vivo* 蛍光イメージングを応用した3次元評価によるリンパ節組織診断を行う。

これらの研究を担癌動物モデルで評価する。



蛍光ナノイメージング装置

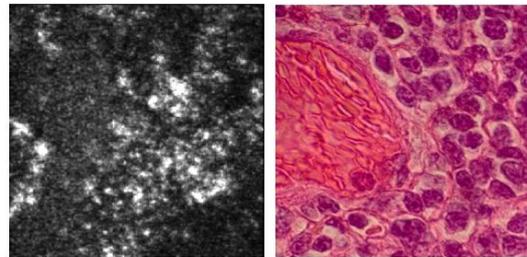


図1 高精度な蛍光解析法。
蛍光ナノイメージングで粒子の可視化を行い、同視野の形態情報と統合して高度な解析を実現する。

4. 研究成果

我々が研究開発した生体適合性に優れた新規蛍光ナノ粒子および3次元蛍光画像解析装置を用いた病理組織診断手法を利用し、がん治療の実臨床での迅速病理診断における微小がん転移診断精度向上を視野に入れた研究を行った。リンパ節転移を伴った担癌モデルマウスを作製・使用し、量子ドットおよび新規蛍光ナノ粒子をトレーサーとしてセンチネルリンパ節生検を施行、検出・摘出したセンチネルリンパ節に対し蛍光3次元分布評価も含めた病理組織診断を施行し転移がん細胞分布とトレーサー分布の相関を検討した。また担癌モデルマウスの系統的リンパ節廓清を施行し、センチネルリンパ節を含めた全リンパ節における転移がん細胞の組織破壊と蛍光トレーサー分布の相関を検討した。

その結果、リンパ節トレーサーとして生体投与した新規蛍光ナノ粒子はこれまで我々が示してきたように量子ドットとほぼ同様のセンチネルリンパ節検出率を有することが示された。また、2光子顕微鏡(図2)による3次元的蛍光分布評価法を用いた摘出リンパ節の予備的な検討ではセンチネルリンパ節内の転移がん細胞巣と蛍光ナノ粒子の集積率との相関の可能性が示された。現在、がん細胞検出における感度増強および定量性強化について検討を行なっている。また、今後、蛍光材料の安全性の確立・確認が得られ次第、人体応用を視野に入れたさらなる研究推進を行う予定である。



図2 2光子顕微鏡の外観図。

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1件)

- ① Hikage M, Gonda K, Takeda M, Kamei T, Kobayashi M, Kumasaka M, Watanabe M, Satomi S, Ohuchi N. Single particle imaging of the sentinel lymph node with endoscopically injected nanoparticles. *Nanotechnology* 21: 185103(8pp), (2010.) 査読有り

[学会発表] (計4件)

- ① Gonda K, Hikage M, Hamada Y, Nakagawa T, Ohuchi N. Development of Imaging System for Advanced Nanomedicine. 5th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2012), March15-17,2012, Nagoya
- ② Gonda K, Hikage M, Hamada Y, Takeda M, Higuchi H, Ohuchi N. Quantitative analysis of mechanism of cancer metastasis using *in vivo* nano-imaging with quantum dots. 4th International Symposium on Nanomedicine. November 29-December 1, 2010, Okazaki.
- ③ Hikage M, Gonda K, Takeda M, Kamei T, Kobayashi M, Kumasaka M, Niizuma N, Miyata G, Ohuchi N. Nano-imaging of sentinel lymph node with endoscopically injected quantum dots. The 7th International Sentinel Node Society Meeting. November 18-20, 2010, Yokohama.
- ④ Takeda M, Hikage M, Gonda K, Ohuchi N. Precise sentinel node imaging by fluorescent nanoparticles in laparoscopic surgery. 6th World Congress of Biomechanics and 14th International Conference on Biomedical Engineering. August 3-4, 2010, Singapore.

[図書] (計3件)

- ① 日景允, 権田幸祐, 武田元博, 亀井尚, 小林正樹, 熊坂増高, 濱中洋平, 濱田庸, 中川智彦, 宮田剛, 大内憲明。「量子ドットを用いたリンパネットワークの微細構造イメージング」ナノ学会会報 第9巻第1号 13-17(2010), 学進出版
- ② 日景允, 権田幸祐, 武田元博, 亀井尚, 大内憲明。「Fluorescent sentinel lymph node biopsy under endoscopic surgery using nano-objects」東北医学会雑誌 122:91-94 (2010), 佐々木出版

- ③ 武田元博, 日景允, 権田幸祐, 叢莉蔓, 大内憲明。「蛍光ナノトレーサーを用いたセンチネルリンパ節生検」 SURGERY FRONTIER Vol.17 No.2 33-36 (2010), メディカルレビュー社

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.tohoku.ac.jp/org/contribute/107/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日景 允 (HIKAGE MAKOTO)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号 : 70579747