

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23591663

研究課題名(和文) インドシアニングリーン - 金ナノ粒子結合体を用いた腫瘍および脈管病変の診断治療技術

研究課題名(英文) Combination of indocyanine green and gold nano-particles for diagnosis and treatment of tumors and vascular abnormality

研究代表者

東 隆一 (Azuma, Ryuichi)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究・病院・講師)

研究者番号：00531112

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ラットの背部皮膚と皮筋を対象として、インドシアニングリーン静注後近赤外レーザーを照射(プレ照射)し、局所の血管透過性を亢進させた状態で金ナノロッドを静注して近赤外レーザーを再度照射(本照射)することにより、皮膚皮下組織を効率的に傷害できることを確認した。これはEPR効果により、金ナノロッドが組織中に高濃度に貯留したためと考えられる。その作用は体表に近いほど大きく、組織の血流量にはさほど左右されないため、血流量の少ない組織に対するドラッグデリバリーシステムに利用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Infrared laser irradiation after intravenous administration of indocyanine green increases vascular permeability at skin and dermo-muscular layer of rats. Subsequently induced intravenous gold nano-rods and infrared laser irradiation effectively injure skin and subcutaneous tissue. This indicates that GNRs would be highly concentrated in the tissue by EPR effect. The effect exerts intensely at superficial layer of the skin and is unaffected by blood flow. Thus, this method could be available for drug delivery system on tissues which have poor blood flow.

研究分野：形成外科学

キーワード：インドシアニンググリーン 金ナノロッド 近赤外レーザー

## 1. 研究開始当初の背景

皮膚軟部組織病変のうち、血管腫やケロイド等に代表される血管豊富な病変には、ヘモグロビン吸収波長(580nm)前後を励起するレーザー照射治療が有効とされている。この治療はその作用原理より、組織選択性は高いものの、当該波長光の深達長程度(～1mm)のごく浅いところまでしか治療できない。加えて、脈管系疾患であるがリンパ管腫のように赤血球ヘモグロビンを含まない病変には、同波長のレーザー照射は無効である。レーザー治療、放射線治療いずれかにおいて、効率良く選択的に病変部位のエネルギー吸収を増大させる方法が開発されれば、より深い皮膚軟部組織病変を治療できると期待される。

近年 800nm 前後の光に吸収域を持つインドシアニングリーン(Indocyanine green: ICG)を用いる、いわゆる ICG 近赤外蛍光造影が、血流やリンパ管流を診断するのに利用されている。また、ナノテクノロジーの急速な進歩にともなって、ナノサイズ(数 nm ~ 百数十 nm)金粒子(Gold nanoparticle: GNP)を利用したユニークな研究報告がでてきている。GNP は、プラスモン共鳴による特異な光吸収スペクトラムを呈するが、この光吸収は、GNP の形状、大きさ、粒子内部構造などによって大きく変化するので、レーザー治療の増強剤として適したものを自由に作成することができる。また、放射線治療の増強剤としての作用も報告されている。

## 2. 研究の目的

ICG と GNP はその物理的性質により、血管腫やケロイド等の血管豊富な病変に効率よく集積させられる可能性が高い。ICG の蛍光性や GNP の光吸収特性を利用した診断法やドラッグデリバリーシステムの開発、選択的な組織破壊方法の確立を目指す。

## 3. 研究の方法

### (1) ICG 及び GNR の光増感能の検証

既に近赤外蛍光造影剤として臨床使用されている ICG は 800nm 付近に吸収極大があるため、797nm に吸収極大を持つ棍棒状の金粒子(Gold nanorod: GNR)を作成し、実験動物(ニワトリ鶏冠)に投与し、近赤外レーザー照射を行い、局所温度上昇や組織障害について調べた。

### (2) 2段階照射法による組織障害の検証

ラット皮下血管及び皮下組織、皮筋を対象とし、ICG 静注後、低エネルギーレーザー照射を行い、局所血管透過性を亢進させ、その後 GNR 静注後本照射を行うことにより、効率的に組織障害をもたらすことが出来るかを検証した。

## 4. 研究成果

(1)ニワトリ鶏冠に 800nm の CW レーザーを 40W/cm<sup>2</sup> で照射すると 30 秒で約 8 度の表面温度上昇が見られ、その後定常状態になるが、GNR を 7.5μmol/kg 静脈内投与した後に同条件でレーザー照射すると 1 秒で 9 度の温度上昇が見られた。また、ラット大腿動静脈に 800nm の CW レーザーを 40W/cm<sup>2</sup> を皮膚表面から照射しても変化を生じないが、GNR を 7.5μmol/kg 静注した後に同条件でレーザー照射すると 0.2-0.4 秒で血管の閉塞を生じた。これらより GNR の組織中濃度が 40-400μmol/L あると上記条件のレーザー照射で有効な組織障害がもたらされることが分かった。

(2)ラットの背部皮筋を対象として、ICG を臨床使用量である 1mg/Kg を静脈内投与後 800nm の CW レーザーを 1-2 秒プレ照射し、局所の血管透過性を亢進させた状態で GNR を静脈内投与して同条件で本照射した(2段階照射)。このプロトコールによって、GNR の組織中濃度を高めて(EPR 効果によると推察できる)、深部組織を効率的に障害できることを確認した(図 1,2)。

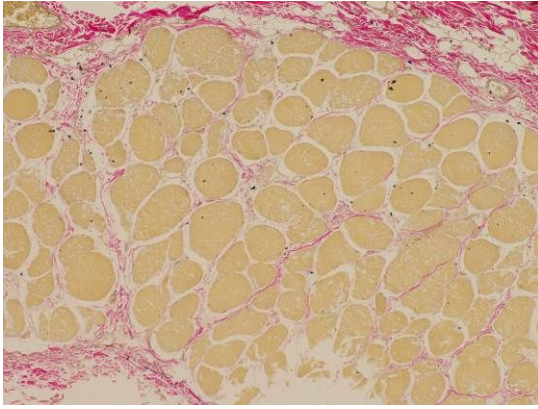


図1 ラット皮筋の変性が認められる  
(EVG染色 100倍)

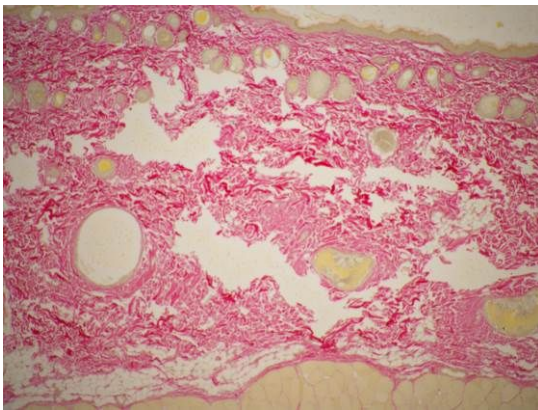


図2 ラット真皮コラーゲンの断裂、血管閉塞を認める(同上)

しかし、本照射において深部に傷害をもたらす、かつ表皮に傷害を与えないレーザー照射条件は、室温や実験動物の体温や毛などにより大きく異なることがわかった。

本研究を通じて、ICG 静注後の近赤外レーザー照射により局所の血管透過性が亢進し、引き続き投与される薬剤の局所濃度を上昇させられることわかった。また、その効果は体表に近いほど大きく、組織の血流量にはさほど左右されないため、血流量の少ない組織に対するドラッグデリバリーシステムに利用できる可能性が示唆された。

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 5件)

Nagata Tetsuji, Azuma Ryuichi, Morimoto Yuji, et al.

Improved technique for evaluating oral free flaps by pinprick testing assisted by indocyanine green near-infrared fluorescence angiography.

J Craniomaxillofac Surg. 42(7): 2014, 1112-1116

Tsujimoto Hironori, Morimoto Yuji, et al. Photodynamic therapy using nanoparticle loaded with indocyanine green for experimental peritoneal dissemination of gastric cancer. Cancer science, 105(12), 2014, 1626-1630.

Sumi Yuki, Azuma Ryuichi, et al.

Effective wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats by adipose-derived stromal cell

transplantation in plasma-gel containing fragmin/protamine microparticles. Ann Plast Surg 72(1), 2014, 113-120

Tsujimoto Hironori, Morimoto Yuji, et al. Theranostic Photosensitive Nanoparticles for Lymph Node Metastasis of Gastric Cancer. Ann Surg Oncol 2015:1-6.

守本祐司, 辻本広紀, 小関英一. 光を使ったがんの診断・治療. O plus E, 2015

〔学会発表〕(計 3件)

東 隆一, 清澤 智晴, 他、ICG 蛍光造影法による腸管の血流評価、日本形成外科学会, 2015.04

高林 勇気, 東 隆一, 清澤 智晴, 他、分層採皮創ラットでのフラグミンプロタミン微粒子含有 PRP の創傷治癒促進効果の検

証とその臨床応用に向けて

日本臨床皮膚外科学会, 2015.02

東 隆一, 清澤 智晴, 他、インドシアニン  
グリーン血管造影法を用いた穿通枝皮弁の  
デザイン

日本形成外科学会総会, 2013.04

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

東 隆一 (AZUMA, Ryuichi)

防衛医科大学校病院・講師

研究者番号: 00531112

### (2)研究分担者

清澤 智晴 (KIYOSAWA, Tomoharu)

防衛医科大学校病院・准教授

研究者番号: 90221217

守本 祐司 (MORIMOTO, Yuji)

防衛医科大学校医学科専門課程・准教授

研究者番号: 10449069

### (3)連携研究者

なし