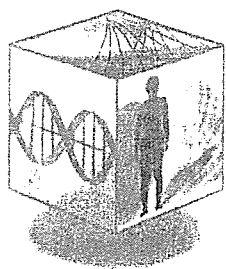


---

里見	進	東北大学大学院医学系研究科外科病態学講座先進外科学分野 教授
唐澤	克之	東京都立駒込病院放射線診療科 部長
岡本	雅彦	虎の門病院放射線科
吉田	大作	東京都立駒込病院放射線診療科
阿部	由直	弘前大学医学部放射線医学教室 教授
青木	昌彦	弘前大学医学部放射線医学教室 助教授
近藤	英宏	弘前大学医学部放射線医学教室
小川	芳弘	東北大学病院放射線治療科 助教授
戸板	孝文	琉球大学大学院医学研究科放射線医学分野 助教授
長井	裕	琉球大学医学部附属病院周産母子センター 講師
末藤	大明	久留米大学医学部放射線医学教室
早瀬	尚文	久留米大学医学部放射線医学教室 教授

(執筆順)



# 3. 手術と放射線

.....

大内憲明, 武田元博, 石田孝宣

## 1 はじめに



がんに対する治療は、病変が切除可能と判断されれば、原則的に外科手術が第一選択とされてきた。しかし、手術法は従来の画一的な定型的根治手術または拡大手術ではなく、臓器温存、機能温存を目的とした縮小手術へと大きく変わりつつある。最近は特に、患者の quality of life (QOL) 向上・テイラーメイド医療の観点からの確な広がり診断に基づく手術侵襲の最小化 minimum invasive surgery が図られるとともに、放射線治療の適応が拡大しつつある。

がんの制御を目的とした治療法は全身療法 systemic therapy と局所療法 loco-regional therapy に分けられる。点滴静注による化学療法（抗がん薬療法）が全身への治療法であるのに対して、手術療法と放射線療法は局所の治療法と位置づけられる。すなわち、我々はがんの局所制御を目的として、手術と放射線それぞれの利点・欠点を正しく理解しながら、がんに対する最適な治療法を確立すべきである。

かつて、ほとんどのがん患者に対して、単一の診療科あるいは一人の医師が一貫して治療にあたるのが当たり前のように行われてきた。しかし、各種のがんに対してそれぞれ異なる専門知識ならびに治療技術が要求される現代においては、診療科の枠を越えて連携しなければ最適ながん治療は不可能になりつつある。最近では、医師のみでなく、看護師、薬剤師、臨床心理士なども含めた「チーム医療体制」づくりが重要視されている。このようながん治療における大きな変遷の中で、外科、放射線科といった「縄張りの」思考は時代遅れといわざるを得ない。外科医、放射線科医は個々のプロフェッショナリズムを高めながらも、互いの弱点を補うべく、密に連携し合うことで、初めて最適ながん治療が可能となり、また、そのような診療体制ががん患者にとって最も望ましいものと思われる。

本項では、がんに対する手術療法と放射線療法について概説し、将来のがん治療を展望する。各種がんにおける手術療法と放射線療法の成績比較については、各論に記載されるのでそれぞれ参照されたい。

## 2 がんに対する手術



がんに対する外科療法は、治癒が期待できる唯一の手段として発展してきたが、最近進歩しつつある放射線療法、化学療法によっても完全治癒が可能ながん腫も認められるようになった。また、手術で得られる完全治癒もがんの進行度によっては自ずと限界があり、手術に化学療法や放射線療法を組み合わせることで、手術単独より治療成績も向上している。

一方、内視鏡やロボット工学などの科学技術や分子生物学の進歩は外科の分野にも応用され、手術術式およびその選択に変革をもたらしており、手術療法は、今、従来の画一的なものから、患者およびがんの病態に基づいて、複数の治療法のなかから最も適した術式を選択する個別化の時代に入っている。

### a) 根治手術

がん組織が完全に摘出された場合が根治手術 radical surgery, radical operation で、治癒が期待できる場合を治癒切除 curative resection という。根治手術は原発腫瘍を含めてその周囲組織を広範に切除し、併せて領域リンパ節を郭清する術式で、各臓器個別に定型的な術式が確立されている（定型的根治手術、標準治療）。乳がんでは、1894年に Halsted が乳房、胸筋、腋窩リンパ節を摘出する定型的乳房切除術により、術後3年再発率が6%に抑えられることを報告し<sup>1)</sup>、以来、この方法は乳がんの標準術式としてほぼ1世紀にわたって世界中で行われてきた。

隣接臓器を含めた広範な切除や遠位所属リンパ節を郭清する場合を拡大根治手術というが、乳がんにおいても予後向上を求めてリンパ節郭清範囲は鎖骨上、胸骨傍へと拡大した歴史がある。しかし、ランダム化比較試験により乳がんの拡大郭清術は予後を向上させなかったことから<sup>2)</sup>、現在ではこの術式が選択されることはほとんどない。

根治度は、術中所見と摘出標本所見からみた手術的根治度 surgical curability と病理所見を加味した総合的根治度 comprehensive curability により評価する。例えば、進行度Ⅲまでの症例で、郭清したリンパ節番号 (D-number), 転移リンパ節番号 (N-number) を根治度 A, 遠隔転移あるいは確実にがんの遺残がある場合を根治度 C, その中間を根治度 B という。

### b) 縮小手術

がん検診の普及、画像診断法の進歩などにより早期がん症例が増加し、臨床病理学的所見の詳細な検討と予後調査などから、根治性の高い早期がん症例の診断が可能となった。早期がん症例に対しては、従来の画一的な定型的根治手術ではなく、臓器・機能の温存および QOL 向上を目的とした縮小手術 less invasive surgery が個々の患者の病態に合わせて採用されている。例えば、乳がんに対する乳房温存術、胃がんに対する幽門輪温存手術、直腸がんに対する肛門括約筋温存手術および自律神経温存術などである。また、腹腔鏡による腸管部分切除や胸腔鏡による肺部分切除などの内視鏡下手術も縮小手術として盛んに採用されて

いる。

### c) 姑息的手術

がんの進展状況から根治手術が不可能な場合、または患者の全身状態が不良で、侵襲の大きな根治手術に耐え難いと判断される場合は、がんの根治を目的とせず、腸管の通過障害の改善や出血防止などの症状改善を目的として姑息手術 palliative surgery が行われる場合がある。

## 3 がんに対する放射線治療



放射線治療は単独で行われる場合と、手術療法や化学療法と併用される場合がある。

### a) 放射線単独療法

現在、放射線治療が手術に優先して単独に行われるのは次のような場合とされるが、今後、臨床試験の結果次第では放射線単独療法が増えてくるものと思われる。

- ①手術による治療と同程度か、それ以上の生存率効果が期待できる腫瘍
- ②手術による根治性は期待できるが、術後機能障害や美容上の不利益が大きいと判断されるもので、放射線感受性のある腫瘍
- ③技術的または解剖学的にがん病巣の切除が不可能、または患者の全身状態が悪く手術が実施できない場合

放射線の高い治療効果が期待できる腫瘍としては、精上皮腫、悪性リンパ腫、胚芽腫、髄芽腫、肺小細胞がん、小児腫瘍などがあり、中程度の効果が期待できる腫瘍は、扁平上皮がん（喉頭がん、上・中咽頭がん、口腔内がん、食道がん、肛門管がん、肺がん、子宮頸がん）、移行上皮がん（膀胱がん、尿管がん）、腺がん（乳がん、前立腺がん）、基底細胞がん、肝細胞がん、下垂体腺腫であり、あまり期待できない腫瘍としては、腺がん（胃がん、膵がん、胆嚢・胆管がん、肺がん、直腸がん、卵巣がん、子宮がん）、髄膜腫、聴神経腫瘍などであり、ほとんど期待できない腫瘍としては、腎細胞がん、唾液腺腫瘍、悪性黒色種、骨肉腫、軟部組織腫瘍、甲状腺がんがある（表1）。

表1 放射線感受性からみた腫瘍の分類

放射線感受性	腫瘍性疾患
高い	精上皮腫、悪性リンパ腫、胚芽腫、髄芽腫、肺小細胞がん、小児腫瘍
中程度	扁平上皮がん（喉頭がん、上・中咽頭がん、口腔内がん、食道がん、肛門管がん、肺がん、子宮頸がん）、移行上皮がん（膀胱がん、尿管がん）、腺がん（乳がん、前立腺がん）、基底細胞がん、肝細胞がん、下垂体腺腫
少し低い	腺がん（胃がん、膵がん、胆嚢・胆管がん、肺がん、直腸がん、卵巣がん、子宮がん）、髄膜腫、聴神経腫瘍、星細胞腫
低い	甲状腺がん、腎細胞がん、唾液腺腫瘍、悪性黒色種、骨肉腫、軟部組織腫瘍

## b) 手術との併用療法

手術と放射線照射の時間的關係から、術前照射、術中照射、術後照射の併用療法がある。

### 1) 術前照射

原発腫瘍そのものを縮小させるか、またはがんの転移を抑制することによって、成績の向上を図るもので、喉頭がん、舌がん、食道がんで行われることが多い。手術の困難な局所進行がんには照射し、縮小を待って手術を行う場合や、機能温存を目的に行う場合がある。

### 2) 術中照射

開腹、開胸時に腫瘍を露出し、高線量の放射線を照射することで、治療効果を上げようとするもので、膵がん、胆道がんなどで試みられている。周辺正常組織の放射線被曝を低減させる目的もあるが、明らかな治療効果はまだ得られていない。

### 3) 術後照射

手術後、残存病巣に対する治療目的で照射する場合と、治癒切除であってもがん遺残の可能性のある病巣・領域リンパ節に対して予防的に照射する場合がある。乳がんに対する乳房温存療法では、数多くの臨床試験が実施され、手術と放射線治療がそれぞれ必須のものとして組み合わされてきた<sup>34)</sup>。

## 4 がん治療法の選択——手術と放射線



放射線療法を同じ局所療法である手術と比較した場合、以下の利点が挙げられる。臓器の機能および形態の温存に優れていること、メスの届かない部位にも照射が可能であること、身体的負担（侵襲）が少ないこと、などである。わが国でも最近、EBMに基づいた治療法の評価が浸透しつつあるが、がんに対する放射線療法は対象臓器とがんの進行度によっては、手術療法に勝るとも劣らない成績が示されつつある。21世紀の超高齢化社会を迎えて、年々増加するがんに対して、高齢者にも優しく、QOLを損ねない医療である放射線療法は単独で、または minimum invasive surgery と相携えてますます普及するものと予想される。

しかし、放射線療法のみでは、細胞の制御が困難、または不可能であるがんも多く存在する。細胞または組織学的要因によりがん病巣の放射線感受性が低下すること、あるいは標的とするがんの周囲組織（正常臓器）がより放射線感受性が高い場合は十分な線量を照射できないことがある。後者は過少照射となり、治療は不完全なものとなる。

放射線療法では、がんの根治性を高めることと、被曝による有害反応をおさえること、すなわち、過少・過剰いずれの照射でもない、適正な照射法を各種のがんに対して確立されるべきであり、手術療法との連携もきめ細かく検討されるべきであると考えられる。

一方、放射線療法の新たなアプローチとして、多分割照射法、定位放射線照射 stereotactic irradiation、強度変調放射線治療 intensity modulated radiation therapy (IMRT)、陽子線および重粒子線治療が普及しつつある。なかでも、重粒子線治療は、線量

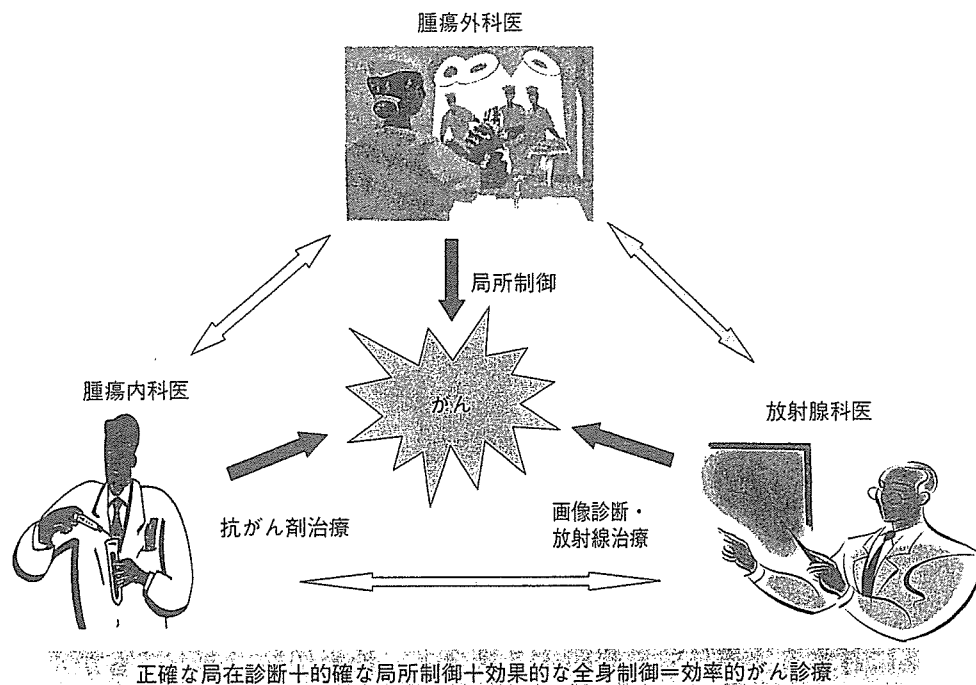


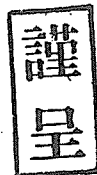
図1 分野融合総合がん診療(チーム医療)

分布特性に優れ、また腫瘍の酸素濃度に影響を受けないため、放射線感受性の低いがんにも効果が期待されている<sup>5)</sup>。このような新たな放射線療法は早期がんの治療を一変させてしまうほどのポテンシャルを有すると思われるが、わが国においてがんの死亡率を確実に低減させるには、効率的な治療法をあまねく均てん化させる必要がある。また、わが国の経済規模に応じた医療でなくてはならない。すなわち、新たな治療法の導入にあたっては、各治療法の有効性評価とともに、費用効果、リスク効果を検証することが必須である。そのための臨床試験の適正な実施とその評価を急ぐべきである。このような評価なくして、すなわち、当該治療法を進めるに足る科学的根拠を示さないまま、高額医療を推進すべきではないと考える。

手術と放射線療法は決して対立するものではなく、互いの利点を生かし、欠点を補い合う相補性 complementary を有すると思われることから、外科医、放射線科医(さらには腫瘍内科医)が密に連携も合うことで、最適ながん治療が可能となろう。早期がんの診療は、正確な局在診断に基づいた局所制御、さらには転移・再発防止のための抗癌剤治療(全身制御)により、効率的になる。これからは、外科医、放射線科医の枠を越えた分野融合総合がん診療、すなわちチーム医療の実践が具現化されなければならない(図1)。がん患者からみれば、このように専門医が互いに協力し合う診療体制こそが最も望ましい医療であると思われる。

## ● 文献

- 1) Halsted WS : The results of operations for cure of cancer of the breast performed at Johns Hopkins Hospital. Ann Surg 1894 ; 20 : 497-555.
- 2) Veronesi U, Valagussa P : Inefficacy of internal mammary node dissection in breast cancer surgery. Cancer 1981 ; 47 : 170-176.
- 3) Fisher B, Anderson S, Redmond CK et al : Reanalysis and results after 12 years of follow-up in a randomized clinical trial comparing total mastectomy with lumpectomy with or without irradiation in the treatment of breast cancer. N Eng J Med 1995 ; 333 : 1456-1461.
- 4) Veronesi U, Salvadori B, Luini A et al : Breast conservation is a safe method in patients with small cancer of the breast. Long-term results of three randomized trials on 1,973 patients. Eur J Cancer 1995 ; 31A : 1574-1579.
- 5) 村田 啓 : 重粒子線治療の現状—放射線医学総合研究所の炭素イオン線臨床試験を中心にして—. 実験医学 2000 ; 19 : 212-218.



早期のがん治療法の選択 —放射線治療— 定価(本体7,600円+税)

2006年10月20日 第1版第1刷発行

---

編者 やま だ しょう ご  
山田章吾

---

発行者 川井弘光

---

発行所 金原出版株式会社

〒113-8687 東京都文京区湯島2-31-14

電話 編集 \_\_\_\_\_ (03) 3811-7162

営業 \_\_\_\_\_ (03) 3811-7184

FAX \_\_\_\_\_ (03) 3813-0288

振替口座 \_\_\_\_\_ 00120-4-151494

©2006

検印省略

Printed in Japan

<http://www.kanehara-shuppan.co.jp/>

ISBN4-307-07078-X

印刷・製本／(株)真興社

小社は捺印または貼付紙をもって定価を変更致しません  
乱丁、落丁のものはお買上げ書店または小社にてお取り替え致します

**JCLS** < (株)日本著作出版権管理システム委託出版物 >

本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。  
本書の複製権・翻訳権・上映権・譲渡権・公衆送信権（送信可能化権を含む）は金原出版株式会社が保有します。  
複写される場合は、その都度事前に(株)日本著作出版権管理システム（電話 03-3817-5670, FAX03-3815-8199）の許諾を得てください。

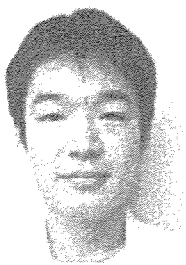


## 解説

# 蛍光ナノ粒子による癌センチネルリンパ節検出とナノ医療の展望

New Detective Method for Sentinel Node by Nano-Sized Fluorescent Particles and View for Nano-Medicine

## 執筆者プロフィール



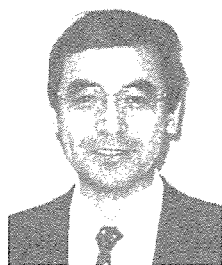
中島 護雄  
Morio NAKAJIMA

1998年北海道大学医学部卒業, 2005年東北大学大学院医学研究科卒業, 医学博士  
◎研究・専門テーマは腫瘍学, 乳腺・内分泌外科  
◎東北大学 医学部 腫瘍外科学分野  
(〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 1-1/  
E-mail: morio@mail.tains.tohoku.ac.jp)



武田 元博  
Motohiro TAKEDA

1987年東北大学医学部卒業, 2001年東北大学病院助手, 2005年より現職  
◎研究・専門テーマは乳腺外科, ナノテクノロジーの医療応用  
◎東北大学助教授 大学院工学研究科 バイオロボティクス専攻 大学院医学系研究科 腫瘍外科学分野  
(〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 1-1/  
E-mail: motot@d1.dion.ne.jp)



大内 憲明  
Noriaki OHUCHI

1978年東北大学医学部卒業, 1984年東北大学大学院医学研究科卒業, 医学博士. 1984~86年米国国立がん研究所 (NCI) 研究員, 1999年東北大学医学部教授, 2001年第1回朝日がん大賞を受賞  
◎研究・専門テーマは腫瘍学, 乳腺・内分泌外科, 分子生物学, がん疫学, ナノメディスン  
◎東北大学教授 大学院医学系研究科 外科病態学講座 腫瘍外科学分野  
(〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1/  
E-mail: noriakio@mail.tains.tohoku.ac.jp)

## 概要

医療の低侵襲化に伴い, 癌センチネルリンパ節 (SN) の概念に基づいて転移のないリンパ節郭清は省略する方向にある. 我々はサイズの均一な蛍光ナノビーズを用いた SN 検出法を考案した. ナノ医療の展望について述べる.

## 1. はじめに

ナノテクノロジーは分子レベルの制御技術であり, この技術で作製される機能性パーティクルは, とくに医療分野において応用できる可能性を秘めている.

癌の手術において, 臨床的に転移を認めない場合でも所属リンパ節を予防的, 系統的に郭清することが従来標準とされてきたが, 医療の低侵襲化に伴い, 転移のないリンパ節の郭清は不必要と考えられ, センチネルリンパ節 (SN) の概念に基づいたリンパ節郭清を省略した低侵襲の手術が求められている. その検出にはラジオアイソトープ (RI) 法と色素法があるが, 前者は放射線取扱に対する規制により利用できる施設の制限, 後者は客観的評価が困難, 低い検出感度, 体外診断における不利などそれぞれ短所がある. それらを補うべく, 我々は光学的計測の非侵襲性に着目し, 新たな簡便な検出法としてサイズの均一な蛍光ビーズを用いた SN 生検を考案し動物実験を通して検討したデータを紹介する.

## 2. 蛍光ナノ粒子による癌センチネルリンパ節検出

光学的測定を行う際, 測定対象となる生体組織の自家蛍光, 組織内における光の吸収・散乱などが大きな障壁となってくる. そのため, 効率の良い測定をするには適切な波長領域の光を用いることが必要となってくる.

我々は, 異なる波長および粒径を有するナノサイズ蛍光

表1 ナノ粒子サイズと蛍光波長

(a)

粒子径	計匹数 (枝数)	造影された 枝数	造影陽性率	造影される までの 平均時間 (分)	標準 誤差	標準 偏差	平均値
20nm	13 (22)	10	45%	2.5	0.6	1.8	2
40nm	40 (72)	50	69%	4.6	0.9	7.0	3
100nm	5 (10)	2	20%	56	54	76	56
200nm	10 (18)	7	39%	127	20	53	135

(b)

蛍光波長 励起/発光	計匹数 (枝数)	造影された 枝数	造影陽性率	造影される までの 平均時間 (分)	標準 誤差	標準 偏差	平均値
Yellow-green 505/515	5 (10)	3	30%	13	5.4	9.3	10
Dark red 660/680	19 (31)	24	77%	6.0	1.8	8.8	2.5
Infrared 715/755	16 (31)	23	74%	2.1	0.3	1.4	2

ポリスチレンビーズと量子ドットを組み合わせ、シリカコーティングを施した上で、センチネルリンパ節の検出法を開発し、最適な波長および粒径を決定した(表1)。異なる波長(蛍光波長: 515~755nm)・粒径(20~200nm)の蛍光ポリスチレンビーズ(FluoSpheres<sup>®</sup>)、および量子ドット(Quantum dot<sup>®</sup>)、さらに、生体に対する安全性確保のためシリカコーティングを施したビーズをトレーサとして用いた。ラットの後肢足背に皮下注射後、膝窩、鼠径部を中心にレーザー励起光を当てて視覚的に描出させたSNの蛍光を適切なバンドパスフィルタ、CCDカメラを通して経時的に観察・記録した。その後、SNを摘出し、蛍光の確認、組織学的観察を行った。新しい蛍光マーカである量子ドット(Quantum dot<sup>®</sup>)を用い、従来の蛍光ビーズとの検出感度の比較、また、シリカコーティングビーズも試験した(図1)。

蛍光ビーズをトレーサとして用いたSNの検出は可能であり、蛍光造影されたリンパ節を摘出して蛍光顕微鏡で観察すると、蛍光ビーズが辺縁洞に取り込まれているのが確認できた。鼠径リンパ節を対象に行った実験では、ビーズの粒径によりSNの検出陽性率および蛍光造影されてくるまでの時間は異なった。20nmのビーズでは陽性率は45%で、注射後平均2.5分でリンパ系が造影された。40nmでは陽性率は69%、平均4.6分、100nmでは陽性率20%、平均56分、200nmでは陽性率39%、平均127分であった。粒径に関しては、検出陽性率、造影されるまでに要する時間において40nmが最適であった。20nmのビーズと比較しても有意に高率であった( $p=0.040$ )。波長に関しては、最適な粒径である40nmにおいてYellow-green(励起波

長505nm/蛍光波長515nm)、Dark red(660/680)、Infrared(715/755)の3種類で検討を行った。それぞれの検出陽性率は、30%、77%、74%であり、Yellow-greenと比較してDark red、Infraredでは有意に高率であった(それぞれ、 $p=0.005$ ,  $p=0.011$ )。Dark redとInfraredの間には差は認めなかったが、スペクトル解析により、SN比(signal-to-noise ratio)を考慮するとInfraredのほうがDark redよりも測定上有利であることを確認した。鼠径リンパ節よりも深部に位置している膝窩リンパ節を対象として、FluoSpheres<sup>®</sup>とQuantum dot<sup>®</sup>を比較した実験では、検出陽性率がそれぞれ17%、83%であり、Quantum dot<sup>®</sup>が有意に高率であり( $p=0.0002$ )、組織深部における蛍光検出に関してQuantum dot<sup>®</sup>が有効であることが示された。シリカコーティングビーズを用いた実験でも同様にリンパ系が造影されたが、検出陽性率は低かった。

生体内に投与された微粒子のリンパ系への移行を関連付ける要因はさまざまであるが、物理的要因としての粒径は大きな要因の一つである。最適な粒径を用いることにより、SNが標識されるまでの時間や標識され続ける時間を把握することができ、実際の手術に際しては非常に有効となる。光学的測定においては生体組織における散乱、吸光、自家蛍光に干渉されにくい波長領域の光を用いる必要がある。近赤外領域(650~1100nm)はヘモグロビンや水などの強い吸光物質やNADH、FADなどの生体内物質の自家蛍光の干渉が少なく測定上有利である。しかしながら、体組織深部の目的物に対する検出の困難さは大きな課題であり、今後、Quantum dot<sup>®</sup>に代表される半導体ナノ粒子を用いた蛍光強度の強いビーズの応用や短パルス光源を用

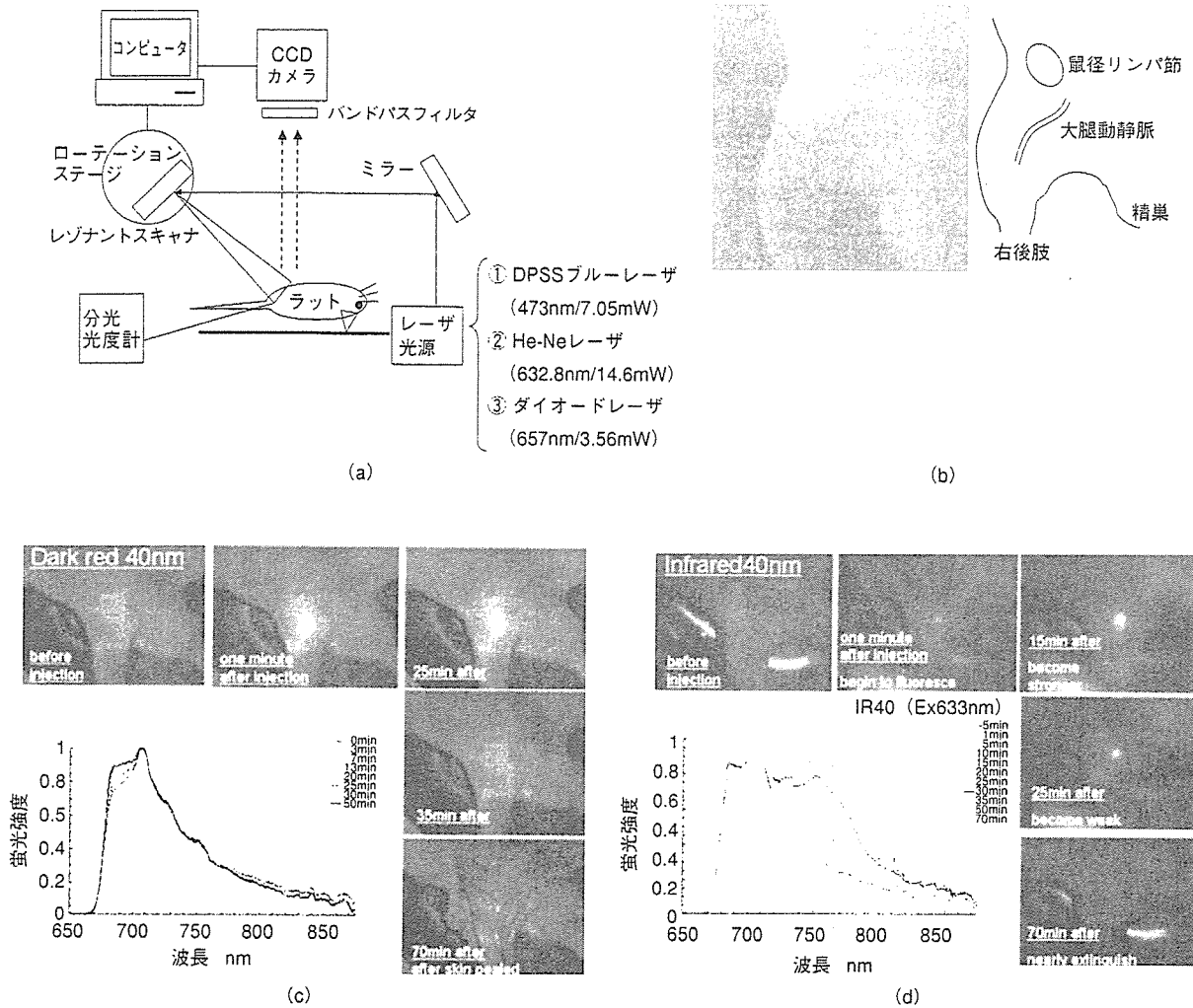


図1 ラットを用いたナノ蛍光粒子によるセンチネルリンパ節イメージング

いた時間分解分光法による分析検出装置の改良が必要である。

### 3. ナノ医療の展望

今回の実験を通し、新たなトレーサとして大きさの均一な蛍光ビーズを用いた方法はSNを検出する上で有効であることが確認できた。また、ビーズの生体安全性確保のためのシリコーティングビーズの応用はフォトニック微粒子を利用したナノ医療分野に大きく貢献するものと思われる。

半導体ナノ粒子を初めとした新規ナノ材料は、従来のマイクロメートルサイズの材料が皮膚、粘膜、血管壁などにあるナノメートルサイズの間隙を通過することができないのに対し、これらの間隙を通過することができる。さらに、腎から尿中へ排出することができる大きさなので、体外への排出問題についても従来の物質より制御しやすいと考えられている。こういった材料に対して体内の特定の部位や組織への特異的集積性といった情報、あるいは物質に薬効・磁性といった機能を与えることにより、医療分野においてもナノテクノロジー材料は既存の診断・治療の概念

を大きく変化させる可能性を秘めている。

### 4. まとめ

近年、医療の低侵襲化に伴い、センチネルリンパ節の概念に基づいた癌の手術が広まりつつある。ここでは、工學技術の医療応用の例として、癌のセンチネルリンパ節を、光学計測の非侵襲性に着目して検出する方法を紹介したが、フォトニック微粒子を利用したナノ医療の実現に大きく貢献するものと思われる。

(原稿受付 2005年9月16日)

#### ●文献

- (1) Nakajima, M., Takeda, M., Kobayashi, M., Suzuki, S. and Ohuchi, N., Nano-sized Fluorescent Particle as a New Tracer for Sentinel Node Detection: An Experimental Model for Decision of Appropriate Size and Wavelength, *Cancer Science*, 96-6(2005), 353-356.
- (2) 大内憲明・武田元博・川添良幸・佐竹正延・粕谷厚生, クラスター利用ナノ医療, *ナノ学会会報*, 1-2(2003), 101-105.

# 新規ナノサイズヨウ化銀ビーズを用いた造影効果と X線センチネルリンパ節生検への応用

桜井 遊<sup>1)</sup>・武田 元博<sup>1),2)</sup>・小林 芳男<sup>3)</sup>・中島 護雄<sup>1)</sup>  
 亀井 尚<sup>1)</sup>・粕谷 厚生<sup>3)</sup>・川添 良幸<sup>4)</sup>・大内 憲明<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東北大学医学系研究科腫瘍外科学分野 <sup>2)</sup> 同工学研究科化学工学専攻

<sup>3)</sup> 同学際科学国際高等研究センター <sup>4)</sup> 同金属材料研究所

## 要 旨

研究の背景；現在X線撮影での造影剤として様々なものが使用されており、血管撮影などに役立っている。しかし、副作用や、欠点も認められており、それらを補う造影剤の研究が行われている。今回新規ナノサイズヨウ化銀ビーズ (AgI) を用い、造影剤としての効果とセンチネルリンパ節生検への応用を検討したので報告する。

材料と方法；我々が独自に開発した径40-80nmのビーズ懸濁液を実験に用いた。シリカコーティングをヨウ化銀超微粒子を生体に対して無害化する目的で行っている。ウサギ耳静脈よりAgIを投与し、CTにて経時的に撮影を行い、造影効果と体内動態を観察した。同様に手背および足背部にAgIを皮下注射し、腋窩および膝窩リンパ節の造影効果を検討した。

結果と考察；今回用いたAgIはCT撮影で十分に肝や脾およびセンチネルリンパ節の造影効果を確認でき、センチネルリンパ節生検では最適な粒径を選択することで臨床利用できることが示唆された。本法によるセンチネルリンパ節生検は、RI法と異なり施設による制限を受けず、X線撮影装置があればほとんどすべての施設で実行可能である。また従来問題となっているヨードアレルギーに対してもシリカコーティングすることで無害化が可能と思われた。今後さらに安全性についても検討を重ね、臨床使用に耐えうる検査法として確立したい。

## 背景と目的

現在X線撮影での造影剤として様々なものが使用されており、血管撮影や尿路造影などに役立っている。しかし、造影剤の使用による副作用や、欠点も少なからず認められており、それらを克服した造影剤の研究が行われている。今回新規ナノサイズヨウ化銀ビーズ (AgI) を用いて、その造影剤としての効果とセンチネルリンパ節生検への応用を検討したので報告する。従来の造影剤；X線撮影において、現在一般的に使用されている造影剤は、電子密度が高い原子を含んでおり、X線吸収・散乱を増大させることで造影作用を持つ。これらには硫酸バリウム、ヨード系造影剤などがある。血管造影に主に用いられるヨード系造影剤にはイオン型 (Fig. 1) と非イオン型 (Fig. 2) があり、前者はNaOHと反応してイオン化し、後者は水素結合することで水溶性となる。しかしながら、これらにはTable. 3に示されるような副作用が問題となっている。

現在がん手術において不要なリンパ節郭清の省略を目的として、色素法やRI法が主に行われているが、手技上の問題や種々の制限がある (Table. 4)。また近年、エックス線を用いたセンチネルリンパ節生検が開発されつつあり、今回これらの欠点を補うためにAgIビーズを用いたエックス線センチネルリンパ節生検をウサギ及びラットに対して投与し実験を行った (Fig. 5)

連絡先：東北大学医学部腫瘍外科 桜井 遊  
 〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1  
 Tel: 022-717-7214 Fax: 022-717-7217  
 E-mail: DZF13663@nifty.ne.jp

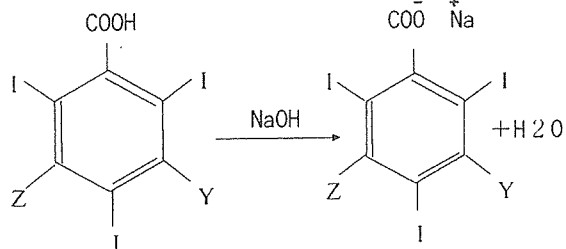


Fig. 1 イオン性造影剤  
(アンギオグラフィン、ウログラフィン等)

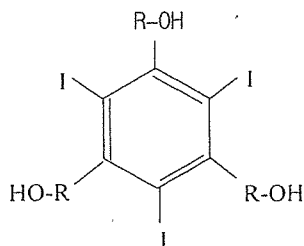


Fig. 2 非イオン性造影剤  
(イオパミロン、オムニパーク等)

Table. 3 ヨード系造影剤の副作用の頻度

	イオン性造影剤	非イオン性造影剤
軽度の症状 皮膚搔痒感、発疹、吐気、 血圧低下、喘息発作など	12.66%	3.13%
重度の症状 ショック、気道浮腫など	0.22%	0.04%

Table. 4 従来法の利点と欠点

	色素法	RI法
利点	簡便	術前診断可 (体外診断可)
	安価	感度が比較的良好
	低侵襲	リンパ流の同定が可能
欠点	手技の熟練必要	法的許可必要
	術前診断不可 (体外診断不可)	高価
		被曝



Fig. 5 ウサギの膝窩リンパ節が色素で染色されているのが観察される

### 材料と方法

#### 1. 新規造影剤の作成

重篤な副作用の原因はほとんどがヨードへのアレルギー反応であり、これらのアレルギーを克服しうる新規造影剤の開発を目的として、今回シランカップリング法にてシリカでコーティングを施したAgIビーズのコロイド溶液を作製した (Fig. 6)。銀コロイドの材料として過塩素酸銀 (AgClO<sub>4</sub>) を用い、ヨウ素源としてはヨウ化カリウム (KI) を使用した。シランカップリング剤：3-mercaptopropyltrimetoxysilane (MPS) を安定剤としてシリカ原料である Tetraethylortsilicate (TEOS) を加え、塩基性の触媒であるジメチルアミン (DMA) を反応させることでシリカコーティングを可能にした。

#### 2. 血管造影試験

ウサギの耳静脈より AgI ビーズ (径約 30-70nm、2% w/vol 懸濁液 1ml) を投与し (Fig. 7)、投与前・投与 5 分後・投与 30 分後をそれぞれ X 線 CT で撮影し観察した。撮影には X 線ヘリカル CT (Asteion®東芝製) を使用し、3mm 間隔で行った。

#### 3. センチネルリンパ節 (SLN)

同様に SLN の造影を確認するために、ラット及びウサギの足背に AgI ビーズを皮下投与し、2mm (ラット)、3mm (ウサギ) 間隔で CT 撮影を行い経時的に観察した。

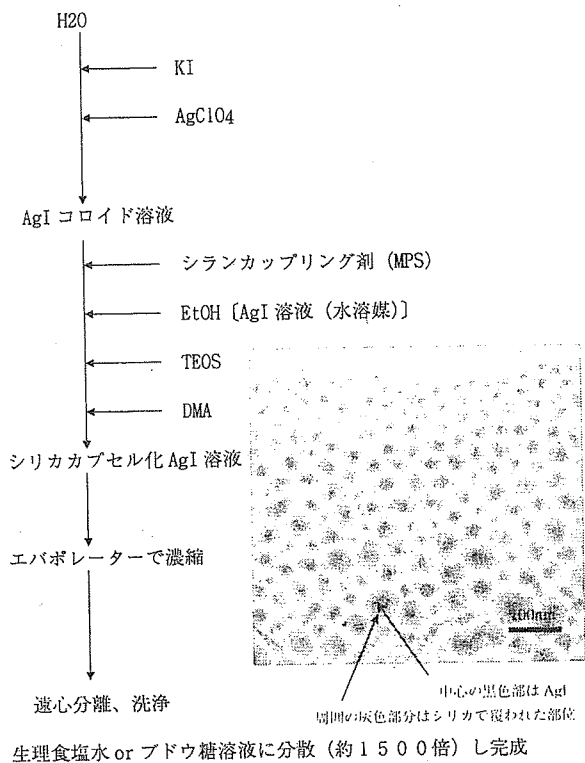


Fig. 6 ナノサイズヨウ化銀ビーズの作製手順とTEM画像

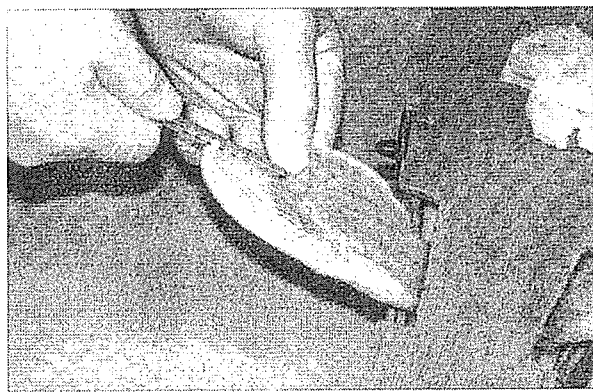


Fig. 7 ウサギの耳静脈よりAgIを注入している。ウサギは図の箱のような密閉された空間に入れると、微動だにしない性質を持っているため無麻酔で処置が可能である。

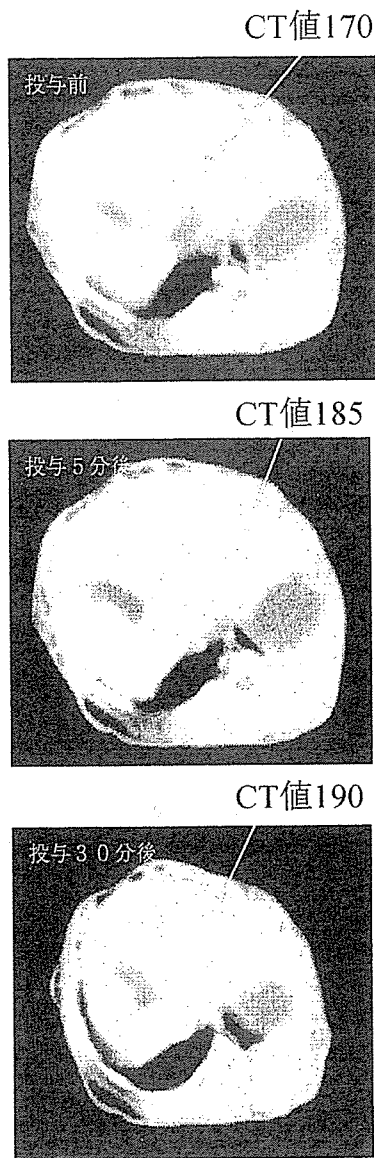


Fig. 8 肝臓のAgIによる造影

### 結果

Fig. 8-10に示すように肝臓、腎臓において、わずかではあるがCT値の上昇を認め、造影効果が確認された。腎臓については、皮質と腎杯の両方の造影効果が、脾臓に関しては明らかな造影効果が認められた。いずれの造影効果も時間の経過とともに増強していた。センチネルリンパ節においても、ラットの単径部リンパ節、ウサギの膝窩リンパ節のCT値上昇を認めた。造影効果は30分を過ぎても持続した (Fig. 11・12)

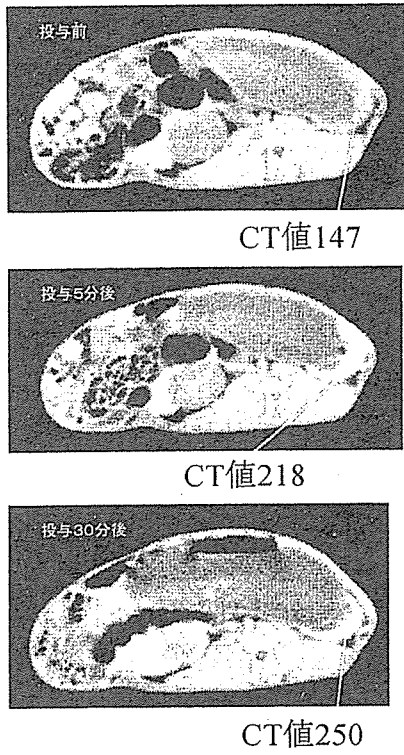


Fig. 9 脾臓のAgIによる造影

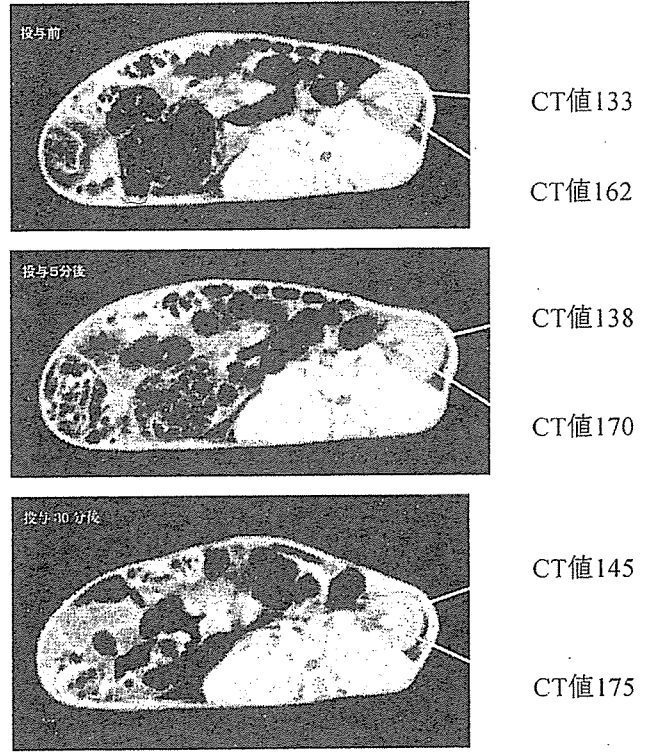


Fig. 10 腎臓のAgIによる造影。皮質・腎杯ともに造影されている

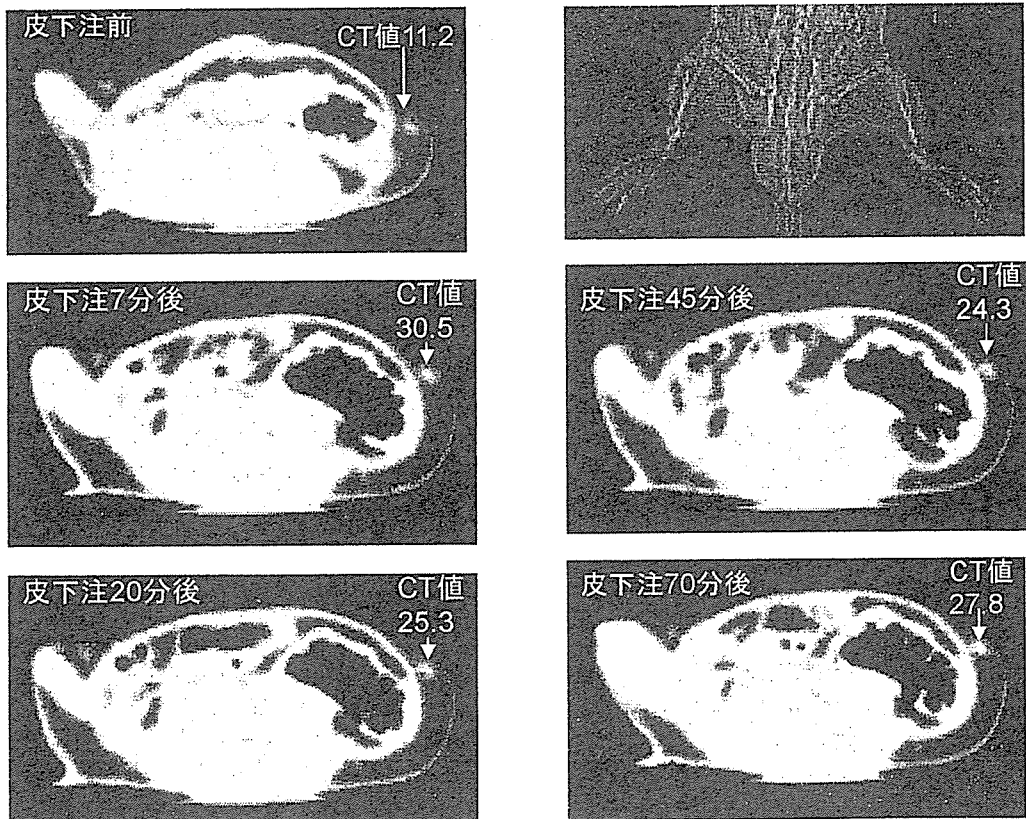


Fig. 11 ラット鼠径部リンパ節の造影図

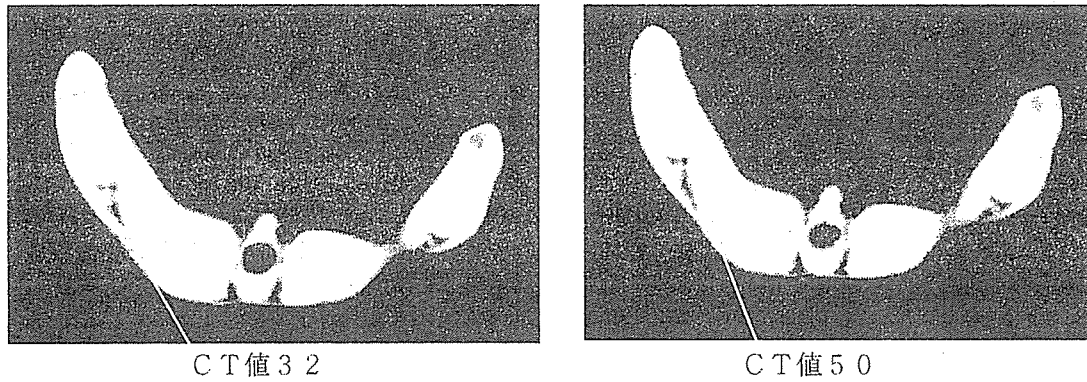


Fig. 12 ウサギの膝窩リンパ節の造影

考 察

- ・脾臓が強く造影され、凝集によってトラップされたと考えられたが、腎臓の髓質の造影が認められた事から腎排泄も行われていると考えられ、今後粒径や表面性状の工夫により改良が期待される。
- ・これまでわれわれは蛍光ナノ粒子を用いたセンチネルリンパ節生検の研究を行っており、その結果 (Table. 13) によるとリンパ節へ集積する最適な蛍光ナノ粒子の径は40nmであることが分かっているが、今回CT値の上昇は認めたものの十分な造影効果が得られなかった原因として、使用したAgIの粒径が30-70nmの範囲で少なからずばらつきが認められるためと考えられた。今後さらなる検討を加え、造影剤の濃度を増す、および粒径をさらに正確にそろえることでより強い造影効果が得られるものと思われた。
- ・今回の実験を通じてはAgIによると思われる実験動物の死亡は認められなかったが、今後さらに急性毒性、慢性毒性、さらに全身投与時の体内動態、排泄経路の検討を行う予定である。

文 献

[1] Kobayashi, Y. et al: Silica-coating of AgI semiconductor nanoparticles, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 251, 197-201, 2004

[2] Kobayashi, Y. et al: Silica-coating of fluorescent polystyrene microspheres by a seeded polymerization technique and their photo-bleaching property. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 242, 47-52, 2004

[3] Nakajima, M. et al: Nano-sized fluorescent particles as new tracers for sentinel node detection: experimental model for decision of appropriate size and wavelenght. *Cancer Sci.* 96 (6): 353-356, 2005

[4] Kobayashi, Y. et al: Silica-coating of fluorescent polystyrene microspheres by a modified Stober method and their stability against photo-bleaching. *e-Polymers*, no. 052: 1-8, 2005

粒径 (nm)	ソケイ数	リンパ節数	リンパ節 (%)	染色されるまでの平均時間 (分)
20	13 (22)	1	55	4.3
40	40 (72)	49	68	4.7
100	5 (10)	2	20	56
200	10 (18)	7	39	127

Table. 13 蛍光ナノ粒子の最適な粒径の検討



# <概論> ナノテクノロジーの がん医療への期待

大内憲明

がんは、我が国において1981年に初めて死亡原因の第1位となった。以来25年が経過した現在、がんによる死亡は全死因の30%を超え、なお増加し続けている。国民の命を脅かす最大の原因となっているがんに対して、われわれはどう立ち向かうべきか？

一方、近年、超微細レベルでの制御技術による新たな物質の創生が注目されている。これは、従来のサイズを小さくする技術ではなく、原子・分子の特性を基礎とし、それらを組み上げることによって、超高密度デバイスを実現する技術である。この技術はナノテクノロジーと呼ばれ、科学技術に革命をもたらしつつあり、将来飛躍的な発展が期待される超高度医療技術実現の切り札となる可能性を有している。

2006年6月16日に「がん対策基本法」が国会で成立し、2007年4月から発効する。この法律は、がんが国民の生命および健康にとって重大な問題となっている現状に鑑み、がん対策の一層の充実を図るため策定されたものである。基本理念として、「がんに関する専門的、学際的又は総合的な研究を推進するとともに、がんの予防、診断、治療等に係る技術の向上その他の研究等の成果を普及し、活用し、及び発展させること」と定めている。1983年以来、がんの本態解明をめざした基礎研究や、その臨床応用をめざした対がん10カ年総合戦略などが策定されてきたが、現実にはがん死亡率は減少していない。逆に乳がんや肺がんなどは増加の一途を辿っている。がん対策基本法はこのような状況を打開するためにわが国で初めて成立した法律であり、

国や都道府県にがん対策基本計画の策定を義務づけていることに大きな意義がある。

基本理念のなかに謳われているがんに関する「学際的な研究」とは何か？ 第三章「基本的施策」の第三節「研究の推進等」の中で、「がんの本態解明、革新的ながんの予防、診断及び治療に関する方法の開発」というのがあり、ここに、新たな研究として注目されているナノメディシンが位置づけられよう。ナノメディシンはナノテクノロジーなどの先端的理工学技術を医学・医療への応用を可能とするものであるが、その実現には、医学のみならず理学、工学、薬学など異分野の研究者の参加が不可欠である。ナノメディシンは、バイオを専門とする者がそれぞれの専門的スキル・プロフェッショナルリズムを高めながら、互いに協同・連携して進める学際的または異分野融合研究によって初めて推進されるといえる。

ナノテクノロジーに関する研究は技術立国日本のなかで大きな基盤となりつつあり、その情報は多くのWebサイトに掲載されている。文部科学省や厚生労働省の競争的研究資金のなかにも、ナノメディシンに関する研究課題が増加している。なかでもがんの診断と治療へ向けた新たな技術開発としては、厚生労働省が2002年度から開始した萌芽的先端医療技術推進研究事業（ナノメディシン分野）が注目される。ナノメディシン分野におけるがん関連の研究としては、①超微細画像技術（ナノレベルイメージング）の医療への応用、②微小医療機器操作技術の開発、③薬物伝達システム（ドラッグデリバリーシステム）、および④疾患の超早期診断・治療シ

表 平成 18 年度厚生労働省萌芽の先端医療技術推進研究事業（ナノメディシン分野）採択課題  
（交付額一千万円以上）

研究者	所属	職名	採択課題
坂 幸人	国立国際医療センター研究所難治性疾患研究部	部長	標的ペプチド付加型感温性ナノミセル及び高周波焦点照射による局所 DDS の開発
○垣添忠生	国立がんセンター	総長	微細針子・カテーテルとその操作技術の開発
源間信弘	東芝研究開発センター事業開発室	技監	テラレーメイド医療用全自動 DNA チップ診断機器の開発
○近藤昭彦	神戸大学工学部	教授	ピンポイントデリバリー用バイオナノキャリアの開発とがん遺伝子治療への応用
杉町 勝	国立循環器病センター研究所循環動態機能部	部長	ナノテクノロジーによる機能的・構造的体代替デバイスの開発
谷 俊一	高知大学医学部	教授	重度の起立性低血圧による寝たきりを防止するバイオニック血圧制御装置の要素技術の開発及びその臨床応用
中谷和彦	大阪大学産薬科学研究所機能分子科学研究部門	教授	ミスマッチ塩基対結合リガンド固定化 SNP 検出デバイスに関する研究
長谷川慈重	(財)医療機器センター	理事長	ナノメディシンの実用化基盤データベース開発及び評価に関する研究
堀池靖浩	物質・材料研究機構生体材料研究センター	フェロー	ドライ比色法による微量血液分析在宅診断チップ
盛 英三	国立循環器病センター研究所心臓生理学	部長	ナノレベルイメージングによる分子の機能および構造解析
山本健二	国立国際医療センター研究所	副所長	半導体などナノ粒子による DDS
西條芳文	東北大学加齢医学研究所	助教授	生体内超音波ナノ・イメージング法の開発
伊藤嘉浩	理化学研究所・伊藤ナノ医工学研究室	主任研究員	免疫疾患診断用プロテイン・チップの開発
岡田泰生	鹿児島大学大学院理工学研究科	教授	シュガーチップを用いた検査・診断技術の開発
○松村保広	国立がんセンター研究所支所がん治療開発部	部長	超音波を利用した siRNA 内包バブルリソソームのがん局所療法臨床試験導入
千葉 勉	京都大学大学院医学研究科	教授	腸粘膜 M 細胞を標的としたドラッグデリバリー・システムの開発
○神保孝一	札幌医科大学医学部	教授	メラノーマ標的ナノ微粒子 (NP/CAP/ML) によるメラノーマ温熱免疫療法の開発
○佐治英郎	京都大学薬学研究所	教授	がんの超早期診断・治療のための高感度分子イメージングプローブの開発
○大川 清	東京慈恵会医科大学 生物学講座第一	教授	ラベル化造影剤を用いた超音波によるがんの超早期診断システムの研究開発
○藤原俊義	岡山大学付属病院 遺伝子・細胞治療センター	助教授	がん特異的増殖機能を有するウイルス製剤と高感度 GFP 蛍光検出装置を用いた体外超早期がん診断および体内微小リンパ節転移診断システムに関する研究
○飯田秀博	国立循環器病センター研究所先進医工学センター	部長	MRI と核医学手法の正確な重ね合わせ技術に基づく癌の新しい分子イメージング診断法
○藤林康久	福井大学高エネルギー医学研究センター	教授	新規 $\gamma$ ・ $\beta$ 線核種によるがん診断・治療の開発研究
○大内憲明	東北大学大学院医学系研究科	教授	生体超微細 1 分子可視化技術によるナノ DDS とがん標的治療
志村まり	国立国際医療センター研究所難治性疾患研究部	室長	細胞内元素アレイ解析の臨床応用に向けた基盤研究
神谷厚範	国立循環器病センター研究所循環動態機能部	室員	難治性循環器疾患を克服する超小型ナノ神経センサー兼刺激治療装置の開発
○横山昌幸	(財)神奈川科学技術アカデミー高分子ナノメディカル	プロジェクトリーダー	がん診断・治療両用高分子ミセルターゲティングシステム
○松井秀樹	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞生理学	教授	蛋白質セラピー法とバイオナノカプセルによる持続性脳腫瘍治療薬の開発
内田哲也	国立感染症研究所血液・安全性研究部	主任研究員	細胞性免疫誘導能を持つペプチド結合リソソームを応用したウイルスワクチンの創製
谷内一彦	東北大学大学院医学系研究科	教授	PET を用いた多施設共同臨床試験によるアルツハイマー病の超早期診断法の確立と普及

(○は、がんに関する研究課題を示す)

システムに関する研究が企画された。特に④では、がんの超早期診断をめざして、抗体・リガンドの利用などにより正常細胞と病的細胞の分子レベルの差違から疾患の超早期診断・治療を行うシステム開発に関する研究が展開されている。表に 2006 年度厚生労働省萌芽の先端医療技術推進研究事業（ナノメディシン分野）採択課題一覧を示した。

がんの画像診断は、従来の臓器レベルの形態的診断から分子レベルの機能的診断へと大きく変貌しつつある。この流れをさらに加速化すると期待されるのが、近年のナノテクノロジーの

進歩である。本年度の第 65 回日本癌学会学術総会では、ナノテクノロジーのがんへの応用をテーマとした発表が多く見られた。なかでも、シンポジウム「がん領域における分子イメージングの現状と今後の発展」では、蛍光プローブを利用した 1 分子可視化技術や分子イメージング、量子ドットやベシクルあるいはクラスターを利用したドラッグデリバリー、基板表面のナノ加工による新規バイオチップやバイオセンサーの創成、ナノレベルの空間分解能のスペクトロスコピーによる診断・治療など、物質科学技術を基盤にした新たな医療に関する発表がなされた。

このように、ナノメディシンは従来の医療を変えるポテンシャルを有しており、がんの研究にも大きな影響を与えられと考えられる。

#### 今後は

ナノメディシンは今後のがん医療を大きく変える可能性をもっている。現在もスーパーコンピュータによる分子設計で新たな性質をもったナノ粒子が次々と出現しつつあり、腫瘍親和性の高い抗体やペプチドと結合した機能性マーカー・担体を用いたイメージングが実現しつつあ

る。ナノテクノロジーは急速に発展しつつあるが、特に医療への応用に際しては体内動態、毒性などを把握する必要があり、安全性の確保が必須である。このためには安全性試験の確立のほか、根本的な問題としてナノクラスター合成のための化学合成技術の醸成が不可欠である。しかしゲノム科学の研究がそうであったように、これら諸問題を乗り越えて大きく進歩し、これまでにない分子レベルでのがんの診断と治療を実現して、必ずや我が国におけるがん克服に貢献することを期待したい。



#### 大内憲明 (Noriaki Ohuchi)

東北大学大学院医学系研究科外科病態学講座腫瘍外科学分野教授。

1978年3月東北大学医学部卒業。1984年3月東北大学大学院医学研究科卒業（医学博士）。1984年9月米国国立がん研究所（NCI, NIH）研究員。1988年7月東北大学医学部外科学第二講座助手。1995年11月東北大学医学部外科学第二講座講師。1999年9月東北大学教授：東北大学大学院医学系研究科外科病態学講座腫瘍外科学分野。2002年11月東北大学病院副院長（～2004年11月）。2001年朝日がん大賞を受賞。

専門領域：腫瘍外科学、乳腺・内分泌外科、分子生物学、がん疫学、ナノメディシン

# 蛍光性量子ドットによるがん細胞の 単一分子ナノイメージング

樋口秀男, 渡邊朋信, 李松花, 多田寛, 大内憲明

ナノサイエンスの分野では、ナノ材料、マイクロマシン、ナノバイオロジーなどの研究や応用が盛んである。最近ではさらに、ナノサイエンスで発展した技術を医学に応用すべく、改良と開発が急ピッチで進んでいる。なかでも、生体分子のイメージングは身体の機能や病巣を検出するためには欠かせない技術である。ここでは、細胞内やマウス内でのタンパク質1分子の運動や機能を量子ドットを用いてナノイメージングした研究を紹介する。細胞内やマウス内の1分子機能を観ることによって、将来われわれの病気を分子レベルで観て、治す技術へと発展することが期待される。

## 1. ナノサイエンスの進展

10年ほど前から、日本を含めた世界の先進国で、ナノサイエンスの発展に力が注がれている。それは、ナノサイエンスが新しい研究と産業を生み出すポテンシャルが高いからである。近年では、ナノサイエンスで発展したナノテクノロジーとナノバイオロジーを医学への応用をめざしたナノ医学分野が世界各地で産声を上げている。まず初めに、現在研究が精力的に進められているナノ医学を分野別に概説する。

### (1) ナノ機械工学

小さな電子機械を診断や治療に使う。例として、マイクロセンサー、マイクロ内視鏡など。サイズはまだナノメートル (< 100 nm) にはなっていないが、半導体で培われたマクロ加工技術の導入により、100 nm 以下の部品が近い将来使われるだろう。ただし、ナノスケールになると慣性は無視できるほど小さくなるのに対して、摩擦や粘性が支配的になるので新しい動作原理を必要とする。生物に動作原理のヒントがあるものと思われる。

### (2) ナノ材料工学

ナノ粒子やナノ合成分子を医学へ利用する。バイオの世界ではすでにさまざまな方面で利用されている。無機ナノ材料では、田中耕一氏がノーベル賞対象となる実験において、(生体)高

分子を質量分析機にかけるときに、コバルトナノ粒子が利用された。また、抗体を付けた磁性ナノ粒子を細胞と反応させて、磁石にて目的の細胞を分けることや、MRI (核磁気共鳴イメージング) の画像を強調するために磁性ナノ粒子が利用されている。有機ナノ材料として、ドラッグデリバリーに利用される高分子からなるナノ粒子に薬を混ぜて、目的の場所と適切な時間に薬を放出できるように設計する。

### (3) ナノ生体工学

生体分子を遺伝子工学やタンパク質工学の技術を利用して、目的の機能をもたせる。例えば、人間のタンパク質を抗原とする抗体はウサギやネズミなどで作ることが可能である。しかし、このネズミなどで作られた抗体を、人間に利用すると免疫反応により、排除されてしまう。そこで、タンパク質工学の技術を利用してネズミ抗体のほとんどの部位を人間の抗体に置き換えることによって、人間に利用することが可能となった。最近の分子的治療の先端を行く方法である。

以上のような研究が世界的に進められている。われわれが現在進めている研究は、がんの分子イメージングと分子標的治療薬のドラッグデリバリーである。がん医療の分野では早期発見とがん細胞のみの除去が夢である。そこで、独自に開発した高感度顕微鏡で生体内の分子をイメ