

2007 | 2036A

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

ナノバブルと超音波を用いた
高周波超音波三次元画像診断・分子導入システムの開発

平成19年度 総括研究報告書

主任研究者 小玉 哲也

平成20年(2008年) 4月

目 次

I. 総括研究報告

ナノバブルと超音波を用いた高周波超音波三次元 画像診断・分子デリバリーシステムの開発 -----	1
---	---

II. 分担研究報告

1. 阻害剤の細胞膜への導入に関する分子動力学シ ミュレーション -----	8
2. 臨床試験導入用動物実験モデル(所属リンパ節の転 移)作成および前臨床試験評価に関する研究 -----	12
3. 臨床試験導入用動物実験モデル(肝原発がん・肝転 移がん)作成および前臨床試験評価に関する研究 -----	22

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	34
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	38
-----------------------	----

総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

平成19年度 総括研究報告書

ナノバブルと超音波を用いた高周波超音波三次元画像診断

・分子デリバリーシステムの開発

課題番号：H19-ナノ-一般-010

主任研究者 小玉 哲也 東北大学先進医工学研究機構

研究要旨：本研究では，ナノバブルと高周波超音波を用いて，三次元画像診断・分子導入システムを開発することを目的とする。EPR効果で腫瘍新生血管から流出・貯留可能な直径200nm以下のナノバブルを作成することができた。臨床試験導入用動物実験モデルとして肝転移モデル，および所属リンパ節転移モデルの作成をおこなった。また，腫瘍血管内を流れるバブルの輝度情報を利用した血管抽出法の開発と超音波トリガー法を開発した。がん細胞内への阻害剤導入の導入機序の解明を目指して，非定常・非平衡分子動力学シミュレーションをおこない，膜構造変化と分子導入との関係を明らかにした。

分担研究者

小野栄夫	東北大学大学院医学系研究科・教授
福本 学	東北大学加齢医学研究所・教授
森 士朗	東北大学病院・講師
松村保広	国立がんセンター東病院・部長
藤川重雄	北海道大学大学院工学研究科・教授

A. 研究目的

本研究では，超音波造影性薬剤封入型ナノバブルと超音波を用いて，がんの微小血管に特徴的な血管周囲へ

のバブルの溢出・貯留効果をバブルの軌跡として捉えて三次元画像を構築し，その構築画像の特徴からがんの診断をおこない，同時に輝度の集積

部への超音波照射によりバブルを破裂させ、封入された抗腫瘍分子をがん組織に導入可能な高周波超音波三次元画像診断・分子導入システムを開発する。

B. 研究方法

1. 音響性ナノバブルの作成：エバポレータでリポゾーム粒子を作製後、 C_3F_8 存在下で超音波を作用させて、内部にガスと液体が封入された音響性ナノバブルを作成する。

2. 臨床試験導入用動物実験モデルの作製

(肝原発がんおよび転移性肝がん・所属リンパ節転移がん)

2.1. 肝転移モデル：マウス脾臓にルシフェラーゼ発現性腫瘍を移植し、1週間後に脾臓を摘出する。

2.2. 所属リンパ節転移モデル：MRL/MpJ-*lpr/lpr*マウスのリンパ節にルシフェラーゼ発現性腫瘍を移植する。

3. がんの早期診断法の開発：マウス尾静脈にナノバブルを注射し、腫瘍内血管を流れるバブルを高周波超音波で探知し、大型計算機で輝度情報を処理することで、腫瘍新生血管の抽出を目指す。つぎに、がんの特徴的な形状や血管密度を評価し、がんの早期診断を開発する。

4. 分子導入法システムの開発：腫瘍血管内を流れるバブルの輝度値をトリガー信号にして超音波照射が可能な超音波システムを開発する。

5. 分子導入機序の解明：微細気泡から放射される衝撃波によるがん細胞内

への阻害剤の導入機構を、非定常・非平衡分子動力学シミュレーションによって、分子レベルで解明する。

(倫理面への配慮)

動物実験は、各施設の動物倫理委員会の了承を得て実施する。

C. 研究結果

1. 音響性ナノバブルの作成

直径が200nm以下の音響性リポゾームの開発に成功した。in vivoでの寿命は5分程度であった。

2. 臨床試験導入用動物実験モデルの作製

2.1. 肝転移モデル

腫瘍細胞を脾臓に移植し、門脈経由で形成された肝転移モデル系の確立の可能性が示唆された。肝臓以外の臓器にもがんの転移が観察され、手技改善の必要性も示唆された。

2.2. 所属リンパ節転移系

MRL/MpJ-*lpr/lpr*マウスのリンパ節に腫瘍を移植することで転移モデル系作製の可能性が示唆された。

3. がんの早期診断法の開発

腫瘍血管内を流れるバブルの輝度情報から血管を抽出することができた。これをもとに、上記で開発した血管抽出ソフトで単位面積当たりのリンパ節内の血管密度を評価した場合に、正常では25%、腫瘍移植細胞では35%であった。今後、血管密度だけでなく、血管形状やEPR効果を考慮したがん診断法の開発を進める。

4. 分子導入法システムの開発

バブル輝度で超音波が照射できるシステムを開発することができた。1回の超音波照射で腫瘍内のバブルを破壊することができた。バブル破壊後に、再度、バブルが腫瘍内に循環してくることはなかった。

5. 分子導入機序の解明

入射角が異なる衝撃波による膜構造変化について解析した。膜に斜めに作用した衝撃波の、膜に垂直方向の運動量成分のみが膜を通して輸送された。この結果は、膜に対する衝撃波の作用が細胞質のがん細胞核に向かうジェットを誘起する可能性を示唆するものである。

D. 考察

本研究では、肝転移モデルでは、マウスが死にやすく、かつ肝臓以外の部位にも腫瘍が観察された。これは、おそらく2度開腹手術をおこなうこと、および移植や脾臓摘出時にがん細胞が漏れたためだと考えられる。脾臓摘出時にレーザーメス等で止血することで、この種の腫瘍細胞の漏出は防げるものと推測される。ナノバブルと高周波超音波を使用した血管抽出法では、二次元描写は比較的容易であった。三次元表記では、プローブ走査法を自動化することで、精度の高い三次元画像の抽出が可能になるものと考えられる。

E. 結論

本研究では、液体とガスの封入が可能な直径200nm以下のバブルを作成す

ることができた。臨床試験導入用動物実験モデルとして肝転移モデル、および所属リンパ節転移モデルを作成した。腫瘍内血管内を流れるバブルの輝度情報を利用した血管抽出法の開発と超音波トリガー法を開発することができた。また、分子導入機序の解明を目指して、非定常・非平衡分子動力学シミュレーションをおこなない、衝撃波による直接的作用を受けた側の分子は衝撃波の入射角に敏感に反応して、直接的作用を受けない側の分子は入射角に鈍感であることがわかった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

別紙参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 小玉哲也, 森士朗. 超音波発生用プローブ. PCT国際特許出願. 2007年4月10日

別紙

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Koshiyama K, Kodama T, Yano T, Fujikawa S.	Molecular dynamics simulation of structural changes of lipid bilayers induced by shock waves: Effects of incident angles	Biochimica et Biophysica Acta- Biomembrane			2008 (in press).
Takahashi M, Kido K, Aoi A, Furukawa H, Ono M, Kodama T.	Spinal gene transfer using ultrasound and microbubbles	Journal of Controlled Release	117	267-272	2007
Aoi A, Watanabe Y, Takahashi M, Mori S, Vassaux G, Kodama T.	Herpes simplex virus thymidine kinase-mediated suicide gene therapy using nano/microbubbles	Ultrasound in Medicine and Biology	34	425-434	2008
小玉 哲也	ナノ・マイクロバブルと 超音波を用いた分子導 入システムの開発とが ん治療への応用	日本機械学会 誌	111	51-54	2008.1

国際会議での発表

発表者氏名	論文タイトル名	学会・研究会 名	巻号	ページ	開催日	開催地
Kodama T, Tomita Y, Aoi A, Koshiyama K, Yano T, Fujikawa S.	Interaction of shock waves generated by cavitation bubbles with cell membranes during sonoporation.	The 1st International Colloquium on Dynamics, Physics and Chemistry of Bubbles and Gas-Liquid	ICBB2007	7	2007.9.25- 28	Niseko, Japan
Koshiyama K, Kodama T, Yano T, Fujikawa S.	Molecular mechanisms of cavitation-induced cell membrane permeabilization.	The 1st International Colloquium on Dynamics, Physics and Chemistry of Bubbles and Gas-Liquid	ICBB2007	8	2007.9.25- 28	Niseko, Japan

Horie S, Tomita N, Watanabe Y, Osawa F, Sakuma M, Cehn R, Funamoto K, Fukumoto M, Oki K, Mori S, Hayase T, Kodama T.	High frequency ultrasound for analysis of antitumor effects.	SMIT 2007			2007.11.20-22	Sendai
Tomita N, Horie S, Watanabe Y, Funamoto K, Hayase T, Oki K, Morikawa H, Ono M, Mori S, Kodama T.	Three-dimensional image of intratumoral neovascular constructed with high-frequency contrast-enhanced micro-ultrasound.	SMIT 2007			2007.11.20-22	Sendai
Koshiyama K, Kodama T, Yano T, Fujikawa S.	Molecular-scale lipid bilayer response to shock wave: molecular dynamics simulations.	APCOM'07 in conjunction with EPMESC XI,	ABSTRACTS of APCOM'07 in conjunction with EPMESC XI,	437	2007.12.3-6	Kyoto

国内会議での発表

発表者氏名	論文タイトル名	学会・研究会名	巻号	ページ	開催日	開催地
小玉哲也, 青井あつ子, 渡邊夕紀子, 森川広秀, 森士朗.	ソノポレーションによるシスプラチンの導入	第46回日本生体医工学会大会	第46回日本生体医工学会大会第45巻特別号プログラム・抄録集	180	2007.4.25-27	仙台
小玉哲也	バブルの医工学	平成19年度山形大学工学部機械システム工学科動機付けのために初年次導入教育講演会.			2007.5.12	山形
小玉哲也, 青井あつ子, 渡邊夕紀子, 堀江佐知子, 富田典子, 小野栄夫, 森士朗.	ソノポレーションによる遺伝子導入効率: 気泡特性に対する検討.	日本超音波医学会第80回学術集会	日本超音波医学会第80回学術集会プログラム・講演抄録集	295	2007.5.18-20	鹿児島

小玉哲也.	ナノバブルと超音波を用いたドラッグおよび核酸デリバリーシステムの開発	第6回国際バイオE X P O & 国際バイオフォーラム			2007.6.20-22	東京
小玉哲也	ナノバブルと超音波を用いたがん治療法の開発.	日本混相流学会年会講演会 2007および第26回混相流シンポジウム	日本学術会議第26回混相流シンポジウム講演資料集.	10-14	2007.6.22-24	札幌
小玉哲也.	ナノバブルと超音波を用いたドラッグおよび核酸デリバリーシステムの開発と応用.	次世代医療システム産業化フォーラム2007.			2007.6.26	大阪
越山頭一郎・小玉哲也・矢野 猛・藤川重雄	超音波による分子の細胞膜通過機構：分子動力学シミュレーション	日本機械学会2007年度年次大会	日本機械学会2007年度年次大会講演論文集 Vol.2	153-154	2007.9.9-12	大阪
富田典子, 渡邊夕紀子, 堀江佐知子, 小野栄夫, 森士朗, 小玉哲也.	シスプラチンを使った抗腫瘍効果：高周波超音波による定量化.	日本機械学会2008年度年次大会	日本機械学会2007年度年次大会講演論文集 Vol.2	155-156	2007.9.9-12	大阪
堀江佐知子, 富田典子, 渡邊夕紀子, 大木宏介, 森川秀広, 森士朗, 小野栄夫, 小玉哲也.	Evaluation of antitumor effects using high frequency ultrasound biomicroscopy.	第66回日本癌学会学術総会	第66回日本癌学会学術総会誌	352	2007.10.3-5	横浜
富田典子, 堀江佐知子, 渡邊夕紀子, 船本健一, 早瀬敏幸, 大木宏介, 森川秀広, 小野栄夫, 森士朗, 小玉哲也.	Construction of three-dimensional image of intratumoral vessel using high-frequency contrast-enhanced micro-ultrasound.	第66回日本癌学会学術総会	第66回日本癌学会学術総会誌	353	2007.10.3-5	横浜
富田典子, 堀江佐知子, 渡邊夕紀子, 大澤ふき, 佐久間基成, 陳銳, 船本健一, 福本学, 大木宏介, 森士朗, 早瀬敏幸, 小玉哲也.	ナノバブルと高周波超音波による腫瘍内血管の三次元画像の構築.	東北大学イノベーション2007 in 仙台.			2007.10.5	仙台

堀江佐知子,富田典子,渡邊夕紀子,大澤ふき,佐久間基成,陳銳,船本健一,福本学,大木宏介,森士朗,早瀬敏幸,小玉哲也.	高周波超音波画像診断によるシスプラチン(CDDP)の抗腫瘍効果の評価	東北大学イノベーションフェア2007 in 仙台.			2007.10.5	仙台
福士敏也, 木島悠, 富田幸雄, 小玉哲也.	超音波キャビテーションの発生に及ぼす発振周波数の影響.	日本産業技術教育学会北海道支部会第21回大会	日本産業技術教育学会北海道支部会第21回大会講演要旨集	B-4,21	2007.10.13	札幌
小玉哲也.	ナノバブルと超音波を用いた高周波超音波三次元画像診断・分子導入システムの開発	ナノバイオテクノロジー一連携群成果報告会・ナノバイオテクノロジーが拓くイノベーションの世界			2007.12.5	東京
小玉哲也.	がん遺伝子治療を目指した非侵襲組織標的性分子導入法の開発と応用	TUBERO終了シンポジウム.			2008.2.8	仙台
小玉哲也.	ナノバブルと超音波を用いた高周波超音波三次元画像診断・分子導入システムの開発.	平成19年度厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業.医療機器開発推進研究ナノメディシン研究成果発表会			2008.2.27	東京
小玉哲也.	高周波超音波を用いたシスプラチン誘導抗腫瘍効果の定量化.	日本生体医工学会分子デリバリーME研究会第9回報告会			2008.3.15	福岡
富田典子, 堀江佐知子, 渡邊夕紀子, 大澤ふき, 佐久間基成, 大木宏介, 森川秀広, 森士朗, 小野栄夫, 小玉哲也.	高解像度超音波イメージングシステムを用いたシスプラチンによる抗腫瘍効果の定量化	東北地方会第35回学術集会			2008.3.23.	仙台

分 担 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
分担研究報告書

阻害剤の細胞膜への導入に関する分子動力学シミュレーション

分担研究者 藤川 重雄 北海道大学大学院工学研究科・教授

研究要旨

本研究は、細胞膜の基本構造である脂質二重層膜の動的構造変化に及ぼす衝撃波の入射角の影響について、非定常・非平衡分子動力学法に基づき分子レベルで調べたものである。衝撃波による直接的作用を受けた側の分子は衝撃波の入射角に敏感に反応して、膜面上の分子の横方向移動と傾きが大きくなること、直接的作用を受けない側の分子は入射角に鈍感であることがわかった。その結果、膜に斜めに作用した衝撃波の、膜に垂直方向の運動量成分のみが膜を通して輸送された。以上の結果は、膜に対する衝撃波の作用が細胞質のがん細胞核に向かうジェットを誘起する可能性を示唆するものである。

A. 研究目的

本研究は、微細気泡から放射される衝撃波によるがん細胞内への阻害剤の導入機構を、非定常・非平衡分子動力学シミュレーションによって、分子レベルで解明することを目的とてなされたものである。本研究では特に、入射角が異なる衝撃波による膜構造変化について解析した。

B. 研究方法

細胞膜の基本構造である脂質二重層膜を、脂質分子(DPPC)と水分子を用いて分子動力学法によってコンピュータ上に作成し、この膜にある入射角で任意の強さの平面衝撃波を作用させた場合に、膜が動的に変形する機構および阻害剤（水分

子で模擬）の導入プロセスをスーパーコンピュータにより分子レベルで解析した。解析ソフトには AMBER99 を用いた。

（倫理面への配慮）コンピュータ解析であるため特別な配慮はしなかった。

C. 研究結果

衝撃波の入射角は、本研究で調べた時間スケール、衝撃波の強さの条件においては、水分子の導入に関してはほとんど影響を与えないことがわかった。衝撃波による直接的作用を受けた側の層の脂質分子は、衝撃波の入射角に敏感に反応して、横方向への移動が増加し、また傾きが大きくなった。一方、直接的作用を受けない側の層の分子は入射角に鈍感であ

ることがわかった。これらの二重層膜の層間の脂質分子の運動、構造変化の違いは、結果として膜に斜めに作用した衝撃波のうち、膜に垂直方向の運動量成分のみが膜を通して輸送されることにつながることがわかった。

D. 考察

今、細胞を球状と仮定し、その細胞に平面衝撃波が作用した状況を考えると、この細胞表面においては、様々な入射角で衝撃波が作用していることとなる。本研究結果より、膜に斜めに作用した衝撃波のうち、膜に垂直方向の運動量成分のみが膜を通して輸送され、またその大きさはいたるところで異なっていることがわかる。このような膜垂直方向の運動量輸送の違いは、細胞質内にジェットのような流れを誘起する。これは、微細気泡を使った分子導入法において、分子導入後に、細胞質内へ一様に分子が分布しているという実験結果を説明できる機構であると考えられる。

E. 結論

衝撃波による細胞膜構造変化に関して、衝撃波入射角の影響を調べるために分子動力学シミュレーションを行った。このシミュレーションから、衝撃波による直接的作用を受けた側の分子は衝撃波の入射角に敏感に反応して、直接的作用を受けない側の分子は入射角に鈍感であることがわかった。その結果、膜に斜めに作用した衝撃波の、膜に垂直方向の運動量成分のみが膜を通して輸送されることを明らかにした。これらの結果より、微細気泡を用いた分子導入の実験結果を説明することができた。

F. 健康危険情報
特になし

G. 研究発表
別紙参照

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Koshiyama K, Kodama T, Yano T, Fujikawa S.	Molecular dynamics simulation of structural changes of lipid bilayers induced by shock waves: Effects of incident angles	Biochimica et Biophysica Acta- Biomembrane			2008 (in press)

国際会議での発表

発表者氏名	論文タイトル名	学会・研究会名	巻号	ページ	開催日	開催地
Kodama T, Tomita Y, Aoi A, Koshiyama K, Yano T, Fujikawa S.	Molecular mechanisms of cavitation-induced cell membrane permeabilization	Proceedings of the 1 st International Colloquium on Dynamics, Physics and Chemistry of Bubbles and Gas-Liquid Boundaries	ICBB2007	8	2007. 9. 25-28	Niseko, Hokkai do
Koshiyama K, Kodama T, Yano T, Fujikawa S, ,	Molecular mechanisms of cavitation-induced cell membrane permeabilization	Proceedings of the 1 st International Colloquium on Dynamics, Physics and Chemistry of Bubbles and Gas-Liquid Boundaries	ICBB2007	7	2007. 9. 25-28	Niseko, Hokkai do
Koshiyama K, Kodama T, Yano T, Fujikawa S.	Molecular-scale lipid bilayer response to shock wave: molecular dynamics simulations.	Third Asian-Pacific Congress on Computational Mechanics (APCOM'07) and the Eleventh International Conference on the Enhancement and Promotion of Computational Methods in Engineering and Science (EPMESC XI).	ABSTRAC TS of APCOM'07 in conjunction with EPMESC XI,	437	2007.12. 3-6	Kyoto

国内会議での発表

発表者氏名	論文タイトル名	学会・研究会名	巻号	ページ	開催日	開催地
越山顕一郎・小玉哲也・矢野猛・藤川重雄.	超音波による分子の細胞膜通過機構：分子動力学シミュレーション	日本機械学会 2007年度年次大会	日本機械学会 2007年度年次大会 講演論文集		2007.10. 13	大阪

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
分担研究報告書

臨床試験導入用動物実験モデル（所属リンパ節の転移）の作製および
前臨床評価に関する研究

分担研究者 森 士朗 東北大学病院・講師
分担研究者 小野栄夫 東北大学大学院医学系研究科・教授
分担研究者 松村保広 国立がんセンター東病院・部長
主任研究者 小玉哲也 東北大学先進医工学研究機構・准教授

研究要旨

Luciferase遺伝子が恒常的に発現したMRL/Tn-*gld/gld*マウス由来のMRL/N-1細胞を用いて臨床試験導入用リンパ節転移モデルの確立を目指した。本研究において、リンパ節腫脹をきたすMRL/MpJ-*lpr/lpr*マウスの鼠径リンパ節に、MRL/N-1細胞を 1×10^5 個を接種したところ、9日後には他のリンパ節への転移を認めた。このリンパ節転移モデルを対象として検討したところ、音響性ナノバブルと高周波超音波（中心周波数40MHz）イメージングシステムを使用することでリンパ節内に形成された腫瘍の可視化と転移リンパ節内血管構造の抽出および血管密度の定量化をおこなうことが可能になった。

A. 研究目的

悪性腫瘍の診断において、原発巣のみならずリンパ節転移や遠隔転移を正しく診断することは治療方針の決定において非常に重要である。本年度は、臨床試験導入用マウスリンパ節転移モデル系を確立すること、および音響性ナノバブルと超音波を利用して腫瘍性リンパ節に特徴的な二次元および三次元の血管構造を構築し、リンパ節転移の早期診断を可能とする画像診断システムを樹立することを目的とする。

B. 研究方法

リンパ節転移モデルの作成

ヒトのリンパ節とほぼ同等の大きさ（約1cm）にリンパ節が腫脹するMRL/MpJ-*lpr/lpr*マウスの鼠径リンパ節にLuciferase (Luc)発現性マウス細胞株MRL/N-1-Lucを接種した。*in vivo*ルミネッセンスイメージングシステム（IVIS、Xenogen社製）を用いて移植腫瘍細胞の生着の有無の確認、および、屠殺後の肉眼および組織標本の観察によって最適な移植条件を検討した。

音響性ナノバブルの作成

エバポレータでリポゾーム粒子を作製後、 C_3F_8 存在下で超音波を作用させて、内部にガスと液体が封入された音響性ナノバブルを作成した。

転移リンパ節の同定と新生血管抽出

マウス尾静脈にナノバブルを注射し、腫瘍内血管を流れるバブルを高周波超音波で探知し、大型計算機で輝度情報を処理することで、転移リンパ節内の血管を流れるバブルの輝度情報を処理し、二次元・三次元の画像を構築した。この構築画像から転移リンパ節に特徴的な微小血管の構造や血管密度を評価した。

(倫理面への配慮)

本研究はマウスへの移植実験であり、可及的に苦痛のないよう配慮した。各研究機関の実験動物研究指診に基づいた実験である。

C. 研究結果

リンパ節転移モデルの作成

鼠径リンパ節に腫瘍細胞の接種をおこない、 1×10^5 個の細胞接種では6日後に、 5×10^4 個～ 1×10^4 個の細胞では、9日後に腋窩リンパ節にルシフェラーゼ発現が確認された(図1)。屠殺後、両リンパ節の発光を *ex vivo* で解析し、転移が確認された。

音響性ナノバブルの作成

作成した音響性ナノバブルを透過型電子顕微鏡により観察し、内部にガ

スが封入されていることを確認した。ナノバブルの *in vivo*での寿命は5分程度であった。

転移リンパ節の同定と新生血管抽出

ナノバブルを注射し、IVISで観察された腫瘍部を超音波プローブで観察した。リンパ節血管内を流れるバブルの輝度情報から二次元および三次元の血管像を抽出することができた。特に毎秒300枚のスライスを200枚以上重ね、呼吸による体動をキャンセルするプログラムを併用することによって良好な結果が得られた。リンパ節内血管密度は正常リンパ節では25%、腫瘍移植細胞では35%であり、腫瘍性リンパ節内にて血管密度の上昇が認められた(図2)。また転移リンパ節内における血管構造を抽出することにより、超音波画像でエコーが得られない腫瘍性ネクロシス領域をさらに明瞭に判別することができた(図3)。

D. 考察

本研究で樹立されたリンパ節転移モデルを対象として検討したところ、音響性ナノバブルと高周波超音波(中心周波数40MHz)イメージングシステムを使用することでリンパ節内に形成された腫瘍の可視化と転移リンパ節内血管構造の抽出および血管密度の定量化をおこなうことが可能になった。この転移モデルにおいては、ヒトと同等の大きさのリンパ節を対象にしていることから、本研究で確立されたノウハウは、今後の臨床応用に向

けた研究の基盤となるものである。

E. 結論

本研究においては臨床試験導入用マウスリンパ節転移モデルを作成した。リンパ節内血管を流れるバブルの輝度情報を利用した血管抽出法から、腫瘍体積の増加にともない血管密度が増加することが示唆された。また転移リンパ節内における血管構造を抽出することで、腫瘍性ネクロシス領域をさらに明瞭に判別することができた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

別紙参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 小玉哲也, 森士朗. 超音波発生用プローブ. PCT国際特許出願. 2007年4月10日

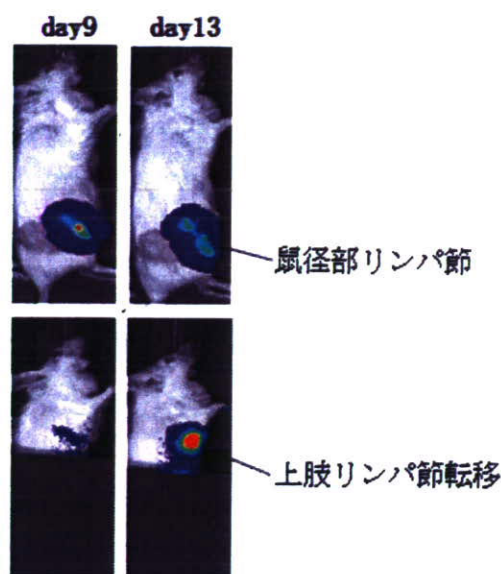


図1 ルシフェラーゼ発光強度変化の解析

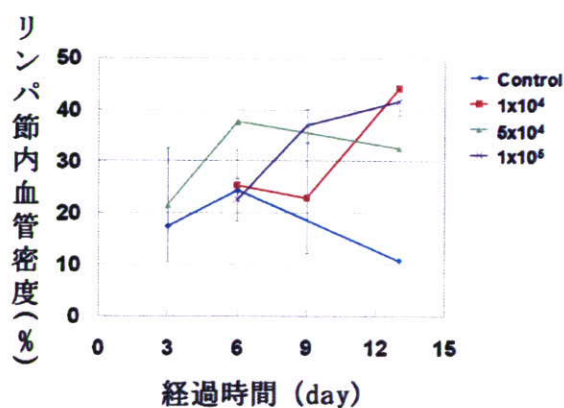


図2 リンパ節血管密度の経時的変化

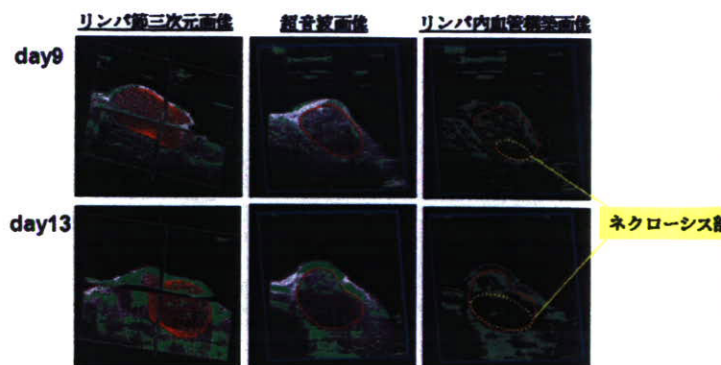


図3 高周波超音波による転移リンパ節の三次元画像とリンパ内血管画像

別紙

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Zhang MC, Mori S, Date F, Furukawa H, Ono M.	A non-MHC locus determines tissue-specificity in the pathogenic process underlying synovial proliferation in a mouse arthropathy model.	Ann Rheum Dis.	66	242-5	2007
Ono M, Nose M.	Persistent expression of an unproductive immunoglobulin heavy chain allele with DH-JH- κ configuration in peripheral tissues.	APMIS	115	1350-6	2007
Kaneko I, Hishinuma T, Suzuki K, Owada Y, Kitanaka N, Kondo H, Goto J, Furukawa H, Ono M.	Prostaglandin F(2alpha) regulates cytokine responses of mast cells through the receptors for prostaglandin E.	Biochem Biophys Res Commun			(in press)
Koshiyama K, Kodama T, Yano T, Fujikawa S.	Molecular dynamics simulation of structural changes of lipid bilayers induced by shock waves: Effects of incident angles	Biochemical and Biophysical Acta-Biomembrane			2008 (in press).
Hamaguchi., K, Kato., Y, Matsumura., et al.	A Phase I and Pharmacokinetic Study of NK105, a Paclitaxel-incorporating Micellar Nanoparticle Formulation.	Brit J Cancer.	97	170-176	2007
M, Sumitomo., Y, Matsumura., et al.	Novel SN-38-incorporated polymeric micelles, NK012, strongly suppresses renal cancer progression.	Cancer Res.	122	2148-2153	2008
Y, Saito., Y, Matsumura., et al.	Enhanced distribution of NK012 and prolonged sustained-release of SN-38 within tumors are the key strategic point for a hypovascular tumor.	Can Scienc e.			2008(in press)

Misu N, Zhang MC, Mori S, Miyazaki T, Furukawa H, Sasaki T, Nose M, Ono M.	Autosomal loci associated with sex-related difference in the development of autoimmune phenotypes in a lupus model.	Eur J Immunol	37	2787-96	2007
T, Nakajima, Y, Matsumura, et al.	Synergistic antitumor activity of the novel SN-38 incorporating polymeric micelles, NK012, combined with 5-fluorouracil in a mouse model of colorectal cancer, as compared with that of irinotecan plus 5-fluorouracil.	Int J Cancer			(in press)
S, Yajima, Y Matsumura. et al.	Expression profiling of fecal colonocytes for RNA-based screening of colorectal cancer.	Int J Oncol	31(5)	1029-37	2007
Takahashi M, Kido K, Aoi A, Furukawa H, Ono M, Kodama T.	Spinal gene transfer using ultrasound and microbubbles	Journal of Controlled Release	117	267-272	2007
Y, Matsumura.	Preclinical and clinical studies of anticancer drug-incorporated polymeric micelles.	J Drug Targeting	15(7-8)	507-517	2007
K, Maekawa, Y, Matsumura, et al.	Genetic variations and haplotype structures of the DPYD gene encoding dihydropyrimidine dehydrogenase in Japanese and their ethnic differences.	J Hum Genet	52	804-819	2007
Abdelwahab SA, Owada Y, Kitanaka N, Adida A, Sakagami H, Ono M, Watanabe M, Spener F, Kondo H.	Enhanced expression of adipocyte-type fatty acid binding protein in murine lymphocytes in response to dexamethasone treatment.	Mol Cell Biochem.	299	99-107	2007
Nakamura K, Hirai H, Torashima T, Miyazaki T, Tsurui H, Xiu Y, Ohtsuji M, Lin QS, Tsukamoto K, Nishimura H, Ono M, Watanabe M, Hirose S.	CD3 and immunoglobulin G Fc receptor regulate cerebellar functions.	Mol Cell Biol	27	5128-34	2007