

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20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小玉 哲也

平成21（2009）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
小玉 哲也	
II. 分担研究報告	
1. 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	17
小野 栄夫	
2. ナノバブルと超音波を用いた転移性肝がんの 早期診断システムの開発	21
福本 学	
3. 高周波超音波イメージングシステムを用いた リンパ節転移画像診断システムの開発	33
森 士朗	
4. 臨床試験導入用動物実験モデル（肝原発がん および転移性がん）の作製及び前臨床評価	47
松村 保広	
5. DDS用微細球殻気泡の基本物理特性と気泡分散液 での超音波減衰に関する研究	49
藤川 重雄	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	51
IV. 研究成果の刊行物・別刷	57

總 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20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 東北大学大学院医工学研究科

研究要旨：リンパ節転移マウスモデルの作製に成功し、超音波画像解析装置と大型計算機と連動させることで、三次元血管構築画像を抽出するという独自の画像解析システムを開発した。一方、超音波とナノバブルを使用した分子導入法で、固形腫瘍への薬剤導入をおこない、本分子導入法の抗腫瘍効果を実証した。長期的に発現可能な長期発現性プラスミドDNAの開発に成功し、本分子導入法で問題とされる一過性の遺伝子発現性を克服することができた。走査型電子顕微鏡観察から、本研究で開発したナノバブルは、内部にガスと液体が封入された音響性ナノバブルであることを実証した。効果的な気泡崩壊を誘導するために、気泡を分散させた水中での超音波の透過、反射等の計算が可能な、線形解析および非線形解析を進めた。以上の成果より、平成20年10月より「頭頸部癌症例の不顕性リンパ節転移検出」に関し、東北大学病院の倫理委員会の承認を得て臨床試験を開始し、三次元の血管抽出データからリンパ節転移の早期診断の有効性を検討している。

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。

まず、臨床試験導入用リンパ節転移モデル・肝転移モデルを作製し、三次元画像診断法を開発する。本分子導入法の抗腫瘍効果を実証するために、抗腫瘍分子を固形腫瘍に導入し、その治療効果を実証した。一過性の遺伝子発現性特性を改善するために長期発現性プラスミドDNAを開発する。高い分子導入効率を目指すために音響理論から、超音波場でのナノバブルの動特性を解明した。ナノバブルの形態は走査型電子顕微鏡で観察した。平成20年10月より「頭頸部癌症例の不顕性リンパ節転移検出」に関し、東北大学病院の倫理委員会の承認を得て臨床試験を開始し、前臨床試験の成果を実証している。

B. 研究方法

1. 音響性ナノバブルの作製

平成19年度に開発した作製法にしたがい、内部にガスと液体が封入された音響性ナノバブルを作製し、走査型電子顕微鏡で形態を観察する。

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

マウス脾臓にルシフェラーゼ発現性腫瘍 (EMT6-Luc, Colon26-Luc)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MRL-KM-Luc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。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. 長期発現性プラスミドDNAの開発 ルシフェラーゼ遺伝子を組入れた長期発現性プラスミドを合成する。

5. 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。

6. 分子導入機序の解明

殻付微細気泡の形状、径分布等の基本物理特性を明らかにし、これらの特性と吸収との関係を解明した。また、分子動力学シミュレーションにより、バブルバブル崩壊で発生する衝撃圧の作用にとまなう細胞膜変形を解析した。

(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。臨床試験は、東北大学大学院医学系研究科第1倫理委員会および第2倫理委員会です了承を得る。

C. 研究結果および考察

1. 音響性ナノバブルの形態学観察

平均直径が200nm音響性リポソームを走査型電子顕微鏡で観察し、ガスと液体が封入されていることを明らかにした。本実験で開発に成功したナノバブルはドラッグキャリア型音響性ナノバブルであることを示した。

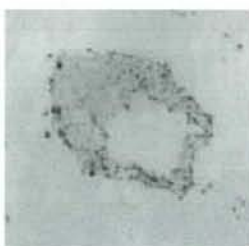


図1. ナノバブル.走査型顕微鏡観察で内部に液体とガスが封入されていることを確認。

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した。転移の移動をインドシアニン・グリーン (ICG)で観察した。

2.2. 所属リンパ節転移モデル

MRL/MpJ-*lpr/lpr*マウスの鼠径リンパ節に腫瘍を移植し、腋窩リンパ節に転移可能なリンパ節転移モデルの開発に成功した。

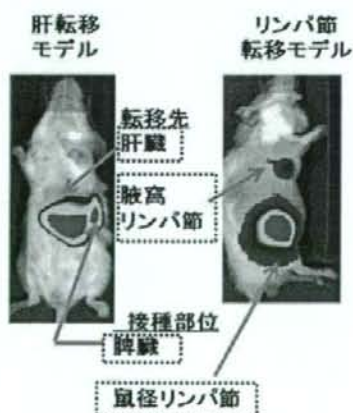


図2. 臨床試験導入用動物実験モデルの作製

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。

4. 分子導入法システムの評価

低出力超音波 (US) とマイクロバブル (MB) を使用した分子導入法による抗腫瘍効果を検討した。HT29-Luc ヒト結腸癌ルシフェラーゼ発現性細胞で作製したマウス固形腫瘍の治療効果を生体発光イメージング法で解析した。図3 は、細胞移植後11日目での

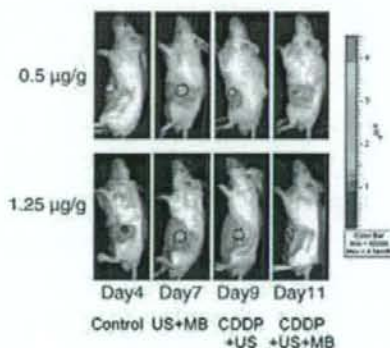


図3. 生体発光イメージング法。

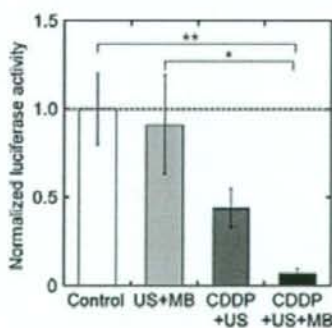


図4. 抗腫瘍効果の検討。US : 超音波, MB : ナノマイクロバブル, CDDP : シスプラチン

抗腫瘍効果を、コントロール群で無次元化したものである。USとMBを組み合わせることで、外来分子を効率よく腫瘍細胞内に導入し、抗腫瘍効果を得ることができる(図4)。将来的には局所療法として有効な膀胱がん、肝がん、卵巣がんに応用可能であると考えられる。

5. 長期発現性プラスミドDNAの開発 ルシフェラーゼ発現

ルシフェラーゼ遺伝子を組入れた長期発現性プラスミドDNAを作製した。マウス骨格筋に導入し、発現時間を100日以上持続することを生体発光イメージング法で確認した。

6. 分子導入機序の解明

超音波とナノ・マイクロバブル(NMB)

を併用した分子導入法では、超音波の作用で崩壊するキャピテーション気泡からの衝撃波が、細胞膜の構造変化を誘導し、外来分子が細胞内に導入されるものと考えられる。本研究では、細胞膜を脂質二重膜としてモデル化し、この膜に対する衝撃波の入射角度が脂質二重膜の構造変化に与える影響を調べた。脂質の頭部と尾部の横変位は、衝撃波が入射する二重層の上流層側内で観察され、下流層側には観察されないこと、この結果、斜め衝撃波の脂質に対する運動量の垂直成分のみが、下流層側の脂質の構造変化に関与することが示された(図5)。また、本研究では、ナノスケールの殻付微細気泡を通過した超音波は特定の周波数において減衰をとまなうことを明らかにした。

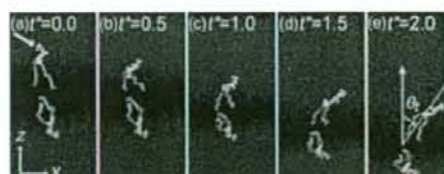


図5. 斜め衝撃波の作用にとまなう脂質分子の構造変化。二重膜を構成する上流側の一つの分子を黄色で描写。赤は脂質二重膜構造の外側に配置された水分子を示す。



図6. 頭頸部癌症例の不顕性リンパ節転移検出

7. 臨床試験

平成20年10月より「頭頸部癌症例の不顕性リンパ節転移検出」に関し、東北大学病院の倫理委員会の承認を得て臨床試験を開始した。三次元の血管抽出データからリンパ節転移の早期診断を実施し、前臨床試験の結果の有効性を評価している(図6)。

D. 結論

ドラッグキャリアと音響性の機能をもつ音響性ナノバブルを開発することに成功した。臨床導入用転移マウスモデルの作製に成功した。このマウスを使用した前臨床試験で平成20年10月より「頭頸部癌症例の不顕性リンパ節転移検出」に関し、東北大学病院の倫理委員会の承認を得て臨床試験を開始し、三次元の血管抽出データからリンパ節転移の早期診断の実用性の検討を開始した。臨床試験の成果を精査し、早期がん診断法の開発を目指す。また、基礎実験として、理論解析および理論解析を実施し、ナノバブルと超音波を使用した分子導入機序を明らかにした。

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. 熊谷啓之, 小玉哲也. 医薬組成物.
特願 2008-208041. 2008年8月12日

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
Suzuki R, Oda Y, Utoguchi N, Namai E, Taira Y, Okada N, Kadowaki N, Kodama T, Tachibana K, Maruyama K.	A novel strategy utilizing ultrasound for antigen delivery in dendritic cell-based cancer immunotherapy.	Journal of Controlled Release.	133	198-205	2009
Kodama T, Tomita Y, Watanabe Y, Koshiyama K, Yano T, Fujikawa S.	Cavitation bubbles mediated molecular delivery during sonoporation.	Journal of Biomechanical Science and Engineering	4	124-140	2009
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 (BBA) - Biomembranes.	1778(6)	1423-1428	2008
Watanabe Y, Aoi A, Horie S, Tomita N, Mori S, Morikawa H, Matsuura Y, Vassaux G, Kodama T.	Low-intensity ultrasound and microbubbles enhance the antitumor effect of cisplatin.	Cancer Science.	99(12)	2525-2531	2008

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
Ishii K, Funaki Y, Kikuch Y, Yamazaki H, Matsuyama S, Terakawa A, Fujiwara M, Iwata R, Kodama T, Watanabe Y, Tanizaki N, Amano D, Yamaguchi T.	FDG imaging of 1mm tumor with an ultras resolution animal PET.	The Fifth IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI'08)			May 14-17, 2008.	Paris, France
Tomita Y, Inaba T, Uchikoshi R, Kodama T.	Peeling off effect and damage pit formation by ultrasonic cavitation.	The International Conference on Hydraulic Machinery and Equipments			October 16-17, 2008.	Timisoara, Romania,
Horie S, Watanabe Y, hen R, Tomita N, Oosawa F, Fujisawa S, Ono M, Fukumoto M, Mori S, Matsumura Y, Kodama T.	Bladder cancer therapy using nanobubbles and two different intensities of ultrasound.	The 2008 Nanomedicine Conference.	Program	p5.	19-24 September 2008.	Hotel Eden Roc, Sant Feliu de Guixols, Spain.
Chen R, Chiba M, Watanabe Y, Horie S, Tomita N, Fukumoto M, Nori S, Kodama T.	Local gene delivery system of nano/microbubbles-enhanced ultrasound aimed for treatment of gingival tumor.	2008 International Conference on Frontiers of Dental and Craniofacial Research.	Program pp	96-97.	November 1-3, 2008.	Beijing International Convention Center (BICC), Beijing, China,

Tomita N, Horie S, Oosawa F, Rui C, Watanabe Y, Morikawa H, Ohki K, Fukumoto M, Mori S, Kodama T.	Development of diagnostic imaging system for regional lymph node micrometastasis with high-frequency ultrasound.	2008 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS).	Abstract Book	p388.	November 2-5, 2008.	Beijing International Convention Center (BICC), Beijing, China.
Chen R, Tomita N, Baba T, Oosawa F, Watanabe Y, Horie S, Mori S, Fukumoto M, Kodama T.	Contrast-Enhanced High-Frequency Ultrasound Imaging of Liver Metastases in preclinical models.	2008 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS).	Abstract Book	p391.	November 2-5, 2008.	Beijing International Convention Center (BICC), Beijing, China.

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, 渡邊夕紀子, 堀江佐知子, 富田典子, 大澤ふき, 佐久間基成, 陳鋭, 大木宏介, 森川秀広, 森士朗, 小野栄夫.	高周波超音波イメージングシステムによるシスプラチン抗腫瘍効果の定量化.	第46回日本生体医工学会大会.	プログラム・抄録集	277頁.	2008年05月08日-10日	神戸国際会議場.
宮下仁, 森士朗, 富田典子, 堀江佐知子, 渡邊夕紀子, 陳鋭, 大澤ふき, 佐久間基成, 大木宏介, 川村仁, 森川秀広, 小玉哲也.	ナノバブル超音波システムを用いた抗癌剤および抗腫瘍分子導入による新たな癌治療法の開発.	第32回日本頭頸部癌学会/第29回頭頸部手術技研究会.	34巻2号	148頁.	2008年6月11日-13日	ハイアットリージェンシー東京.
森士朗, 渡邊夕紀子, 堀江佐知子, 富田典子, 陳鋭, 大澤ふき, 佐久間基成, 大木宏介, 宮下仁, 川村仁, 森川秀広, 小玉哲也.	口腔癌の診断・治療のためのナノバブルと超音波を用いた画像診断・分子導入システムの開発.	第32回日本頭頸部癌学会/第29回頭頸部手術技研究会.	頭頸部癌2008年34巻2号	165頁.	2008年6月11日-13日	ハイアットリージェンシー東京.
木宏介, 森士朗, 堀江佐知子, 富田典子, 渡邊夕紀子, 陳鋭, 大澤ふき, 佐久間基成, 宮下仁, 川村仁, 森川秀広, 小玉哲也.	ナノバブルを用いた腫瘍血管造影法による口腔癌早期診断システムモデルの開発.	第32回日本頭頸部癌学会/第29回頭頸部手術技研究会.	頭頸部癌2008年34巻2号	165頁.	2008年6月11日-13日	ハイアットリージェンシー東京.
渡邊夕紀子, 堀江佐知子, 富田典子, 大澤ふき, 陳鋭, 船木善仁, 菊池洋平, 山崎浩道, 石井慶造, 森士朗, 小玉哲也.	マウス骨格筋でのNa/I symporter (NIS) 遺伝子発現の可視化.	日本機械学会2008年度年次大会.	講演論文集Vol.2.	23-24頁.	2008年08月03日~07日	横浜国立大学.

陳銳, 千葉美麗, 渡邊夕紀子, 堀江佐知子, 富田典子, 林治秀福本学, 森士朗小玉哲也.	歯周組織への遺伝子導入を目指した新しい非ウイルス法の開発.	日本実験力学会 2008年度 年次講演 会 講演論 文集.		52-53 頁.	2008年 6月30日 -7月2日	北海道 大学学 術交流 会館.
原田 千明, 藤原 綾二, 江本 佑貴, 小玉 哲也, 杉山 友康.	ソノポレーション法を用いたプラナリアへの高分子物質導入法.	日本生物工学会年 会.			2008年8 月27日 ~29日	東北学 院大学 土樋キ ャンパ ス.
渡邊夕紀子, 堀江佐知子, 富田典子, 大澤ふき, 森士朗, 小玉哲也.	ナノ・マイクロバブルと超音波によるシスプラチンの抗腫瘍効果の増強.	日本超音波医学会 第36回東 北地方会 学術集会.	プログラ ム抄録集	5頁.	2008年 9月21日	山形テ ルサ.
小玉哲也.	がんの早期診断と治療を目指したナノバブルと超音波を用いた分子デリバリーシステムの開発.	東北大学 イノベー ションフ ェア2008 in 仙台.			2008年9 月30日	仙台国 際セン ター.
富田典子, 堀江佐知子, 大澤ふき, 李麗, 渡邊夕紀子, 陳銳, 大木宏介, 森川秀広, 福本学, 森士朗, 小玉哲也.	高周波超音波を利用した腫瘍性リンパ節内血管構築による早期診断法の開発.	東北大学 イノベー ションフ ェア2008 in 仙台.			2008年9 月30日	仙台国 際セン ター.
堀江佐知子, 渡邊夕紀子, 陳銳, 富田典子, 大澤ふき, 小野栄夫, 藤澤優, 森士朗, 福本学, 松村保広, 小玉哲也.	膀胱がん治療のための分子デリバリーシステムの開発.	東北大学 イノベー ションフ ェア2008 in 仙台.			2008年9 月30日	仙台国 際セン ター.

渡邊 夕紀子, 堀江 佐知子, 富田 典子, 大澤 ふき, 陳 銳, 船木 善仁, 菊地 洋平, 酒卷 学, 山崎 浩道, 石井 慶造, 森 士朗, 小野栄夫, 小玉哲也.	各種疾患モデルマウス前脛骨筋におけるNIS遺伝子発現のPETによる可視化.	東北大学イノベーションフェア2008 in 仙台.			2008年9月30日.	仙台国際センター.
大木宏介, 森士朗, 宮下仁, 川村仁, 森川秀広.	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.	第53回日本口腔外科学会総会.	日本口腔外科学会雑誌54号	139頁.	2008年10月20日-21日	アステイトくしま.
宮下仁, 森士朗, 大木宏介, 森川秀広.	ナノバブルと超音波を用いた抗癌剤および抗腫瘍分子導入による新たな癌治療法の開発.	第53回日本口腔外科学会総会.	日本口腔外科学会雑誌54号	140頁.	2008年10月20日-21日	アステイトくしま.
陳銳, 富田典子, 馬場泰輔, 大澤ふき, 渡邊夕紀子, 堀江佐知子, 森士朗, 福本学, 小玉哲也.	ナノバブルを用いた肝転移診断に関する三次元高周波超音波イメージング.	第67回日本癌学会学術総会.	Proceedings	p313.	2008年10月28日~30日	名古屋国際会議場.
堀江佐知子, 渡邊夕紀子, 陳銳, 富田典子, 大澤ふき, 小野栄夫, 福本学, 藤澤優, 松村保広, 森士朗, 小玉哲也.	膀胱がん治療のための新しい薬剤到達法の開発.	第67回日本癌学会学術総会.	Proceedings	p315.	2008年10月28日~30日	名古屋国際会議場.
藤澤優, 鈴木亮, 丸山一雄, 小玉哲也, 安永正浩, 松村保広.	表在性膀胱がんに対する膀胱内注入遺伝子治療.	第67回日本癌学会学術総会.	Proceedings	p356.	2008年10月28日~30日	名古屋国際会議場.

渡邊夕紀子, 堀江佐知子, 富田典子, 陳銳, 大澤ふき, 船木善仁, 菊池洋平, 山崎浩道, 石井慶造, 小野栄夫, 福本学, 森士朗, 小玉哲也.	癌疼痛緩和およびPETによるイメージング.	第67回日本癌学会学術総会.	Proceedings	p388.	2008年10月28日~30日	名古屋国際会議場.
富田典子, 堀江佐知子, 大澤ふき, 陳銳, 渡邊夕紀子, 森川秀広, 大木宏介, 福本学, 森士朗, 小玉哲也.	高周波超音波を利用した新しいリンパ節内微小転移診断システムの開発.	第67回日本癌学会学術総会.	Proceedings	p495.	2008年10月28日~30日	名古屋国際会議場.
堀江佐知子, 渡邊夕紀子, 陳銳, 富田典子, 大澤ふき, 小野栄夫, 福本学, 藤澤優, 松村保広, 森士朗, 小玉哲也.	ナノバブルと超音波を用いた膀胱がんへの遺伝子導入法の開発.	第46回日本癌治療学会総会.	日本癌治療学会誌第43巻第1回	113頁.	2008年10月30日-11月1日	名古屋国際会議場.
渡邊夕紀子, 堀江佐知子, 富田典子, 大澤ふき, 船木善仁, 菊池洋平, 酒巻学, 山崎浩道, 石井慶造, 森士朗, 小玉哲也.	半導体PETによるSodium iodide Symporter (NIS) 遺伝子発現の可視化: ナノバブルと超音波を利用した遺伝子導入法.	第29回サイクロトロン共同利用実験研究報告会28頁.			2008年11月17-18日	東北大学 サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター.
李麗, 富田典子, 森士朗, 大澤ふき, 堀江佐知子, 渡邊夕紀子, 陳銳, 阪本真弥, 高橋昭喜, 小玉哲也.	高周波超音波を用いたリンパ節早期転移の画像診断システムの開発.	第42回日本生体医工学会東北支部大会.	講演論文集.	34頁.	2008年12月13日	東北大学 青葉記念会館.
李麗, 富田典子, 森士朗, 大澤ふき, 堀江佐知子, 陳銳, 渡邊夕紀子, 阪本真弥, 高橋昭喜, 小玉哲也.	ナノバブルを用いたリンパ節転移診断に関する三次元高周波超音波イメージング法の開発.	日本機械学会第21回バイオエンジニアリング講演会.	講演論文集	71-72頁.	2009年1月23日-24日	札幌コンベンションセンター.

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.	第3回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による社会への貢献.		6頁.	平成2009年1月28日(水)	日本科学未来館 東京 お台場.
小玉哲也.	ナノバブルと超音波を利用した診断・治療システムの開発.	第11回癌治療増感研究シンポジウム:がん根絶の戦術は?	抄録集	48頁.	2008年2月14-15日	奈良市 猿沢荘.
李麗,堀江佐知子, 陳銳,渡辺夕紀子, 阪本真弥, 高橋昭喜,森士朗,小玉哲也.	リンパ節転移早期診断に関する三次元高周波超音波イメージング.			1頁.		
堀江佐知子,渡辺夕紀子,陳銳,李麗, 森士朗,小玉哲也.	表在性膀胱がんに対する新しい遺伝子治療法の開発.	日本超音波医学会東北地方会 第37回学術集会.	プログラム・抄録集	5頁.	成21年3月15日(日)	仙台市 情報・産業プラザ(アエル5階).



優秀演題

東北大学大学院医工学研究科

富田典子殿

演題名：高周波超音波イメージング
システムを用いた所属リンパ節
転移画像診断システムの開発

貴殿は第46回日本癌治療学会総会に
おいて優秀演題に選ばれました
ここに本会を代表しこれを賞します

2008年10月31日

第46回日本癌治療学会
会長 平川弘



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

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

研究分担者 小野栄夫 東北大学大学院医学系研究科病理形態学分野 教授

研究要旨：超音波造影性薬剤封入型ナノバブルと超音波を用いて、バブルの軌跡から三次元画像を構築し、がんの診断技術開発を行うとともに、ナノバブルの超音波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するシステムを開発することを研究の目的とした。本研究の病理組織学的検討により、がん転移の新たな経路の描出が可能となった。今後は、がん転移の予防の視点から本研究を発展させたい。

A. 研究目的

超音波造影性薬剤封入型ナノバブルを用いて、腫瘍組織の三次元画像解析とがん組織特異的な抗腫瘍分子の導入システムを開発する研究において、病理学的評価を行う。

B. 研究方法

マウスリンパ節に腫瘍細胞を移植したリンパ節転移モデル、皮下移植モデルを作製し、薬剤内包性ナノバブルによる治療効果を病理組織学的に評価した。抗 CD31 抗体を用いた免疫染色により、がん浸潤にともなう血管新生を評価した。

（倫理面への配慮）

動物実験は、東北大学動物実験指針に則ったプロトコールで実施された。

C. 研究結果

1. リンパ節転移モデル：マウスリンパ節転移モデルを用いた実験より、そけい部から腋窩リンパ節に向けた一方向性の経リンパ管転移経路の存在が明らかとなった。また、ナノバブルによる描出では、そけい部から腹腔臓器（肝臓など）への広がりも示唆された。

2. 血管新生を評価：マウスのパラフィン包埋組織を用いて、抗 CD31 抗体を用いた免疫染色による新生血管の定量系を構築した。（現在、定量を実施中である。）

D. 考察

リンパ節転移モデルから、リンパ節間の一方向

性の連絡経路が存在することは興味深い。このような経路を明らかにすることは、がんの広がり方をよく理解し、さらには、がん転移に対して経路特異的かつ予防的な治療を可能にする。またここでこそ、ナノバブルの造影特性と内包薬剤放出の標的性が活かされるだろう。

E. 結論

本研究では、ナノバブルの特性である組織造形とがん標的性についての実用性を、実験動物モデルを用いて検証した。がん転移予防治療の可能性が新たに示唆された。

F. 健康危機情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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* 367:590-6 (2008).
2. Mori S, Tanda N, Ito MR, Oishi H, Tsubaki T, Komori H, Zhang MC, Ono M, Nishimura M, Nose M. Novel recombinant congenic mouse strain developing arthritis with enthesopathy. *Pathol Int* 58:407-14 (2008).
3. Chen S, Ndhlovu LC, Takahashi T, Takeda K, Ikarashi Y, Kikuchi T, Murata K, Pandolfi PP,

- Riccardi C, Ono M, Sugamura K, Ishii N. Co-inhibitory roles for glucocorticoid-induced TNF receptor in CD1d-dependent natural killer T cells. *Eur J Immunol*, 2008 Jul 15. [Epub ahead of print].
4. Zhang MC, Furukawa H, Tokunaka K, Saiga K, Date F, Owada Y, Nose M, Ono M. Mast cell hyperplasia in the skin of Dsg4-deficient hypotrichosis mice, which are long-living mutants of lupus-prone mice. *Immunogenetics* 60:599-607 (2008).
5. Yamamoto N, Kaneko I, Motohashi K, Sakagami H, Adachi Y, Tokuda N, Sawada T, Furukawa H, Ueyama Y, Fukunaga K, Ono M, Kondo H, Owada Y. Fatty acid-binding protein regulates LPS-induced TNF-alpha production in mast cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 79:21-6 (2008).
6. Tamai K, Toyoshima M, Tanaka N, Yamamoto N, Owada Y, Kiyonari H, Murata K, Ueno Y, Ono M, Shimosegawa T, Yaegashi N, Watanabe M, Sugamura K. Loss of hrs in the central nervous system causes accumulation of ubiquitinated proteins and neurodegeneration. *Am J Pathol*. 173(6):1806-17 (2008).
7. Furukawa H, Kitazawa H, Kaneko I, Matsubara M, Nose M, Ono M. Role of 2B4-mediated signals in the pathogenesis of a murine hepatitis model independent of Fas and Valpha14 NKT cells. *Immunology*. 2008 Sep 16. [Epub ahead of print]
8. Yamashita M, Iwama N, Date F, Chiba R, Ebina M, Miki H, Yamauchi K, Sawai T, Nose M, Sato S, Takahashi T, Ono M. Characterization of lymphangiogenesis in various stages of idiopathic diffuse alveolar damage. *Hum Pathol* (2009) Jan 2. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

該当なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

- 該当事項なし。
2. 実用新案登録
該当事項なし。
3. その他
該当事項なし。