

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-524904

(P2012-524904A)

(43) 公表日 平成24年10月18日 (2012. 10. 18)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
G O 1 N 21/64 (2006.01)	G O 1 N 21/64 F	2 G O 4 3
A 6 1 B 19/00 (2006.01)	A 6 1 B 19/00 5 O 1	
A 6 1 B 10/00 (2006.01)	A 6 1 B 10/00 E	
	A 6 1 B 10/00 T	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 33 頁)

(21) 出願番号	特願2012-507346 (P2012-507346)	(71) 出願人	506051429
(86) (22) 出願日	平成22年4月21日 (2010. 4. 21)		ユニバーシティ オブ ユタ リサーチ
(85) 翻訳文提出日	平成23年12月20日 (2011. 12. 20)		ファウンデーション
(86) 国際出願番号	PCT/US2010/031882		アメリカ合衆国 ユタ 8 4 1 0 8, ソ
(87) 国際公開番号	W02010/123981		ルトレークシティ, アラバマ ドライ
(87) 国際公開日	平成22年10月28日 (2010. 10. 28)		ブ 6 1 5, スイート 3 1 0
(31) 優先権主張番号	61/171, 414	(74) 代理人	100081422
(32) 優先日	平成21年4月21日 (2009. 4. 21)		弁理士 田中 光雄
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100084146
			弁理士 山崎 宏
		(74) 代理人	100156122
			弁理士 佐藤 剛
		(74) 代理人	100165892
			弁理士 坂田 啓司

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 手術時イメージングまたはセンチネルリンパ節バイオプシー用の発光ダイ

(57) 【要約】

本発明は、概略、外科イメージングに有用なシステムとして蛍光ダイの分野に関する。より詳しくは、本発明は、光源からの光で蛍光性、りん光性または発光性分子を励起し、蛍光性、りん光性または発光性分子から発光される蛍光、りん光、または発光の相対強度を検出するシステム、方法およびキットに関する。そのようなシステムは、ガン手術およびバイオプシーなどのさまざまな外科技術のためのマッピング剤として適用することができる。

【選択図】 なし

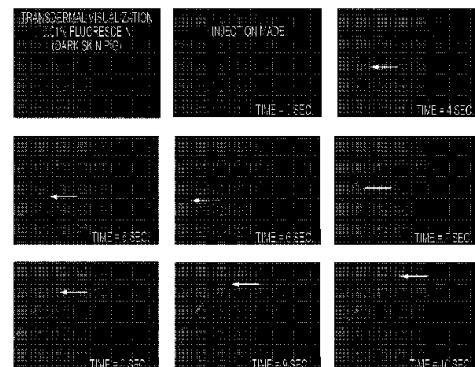


FIG. 8

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

哺乳類における動脈、静脈またはリンパ組織を可視化するためのシステムであって、
約0.00001% (w/v)から約1.0% (w/v)までの濃度の蛍光性、りん光性または発光性ダイ
の希釈溶液；

ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせる発光性成分；および
発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する選択的な波長フィルターを含
み、ダイの蛍光、りん光、および発光に対して透明である手術用メガネ、
を含むシステム。

【請求項 2】

ダイの濃度が、約0.0001% (w/v)から約0.1% (w/v)までまたは約0.001% (w/v)から約0.0
1% (w/v)までである、請求項 1 のシステム。

【請求項 3】

発光性成分が、レーザー、レーザーダイオード、発光ダイオード (LED)、有機発光ダイ
オード、光ファイバー光源、発光ガス放電およびホットフィラメントランプよりなる群か
ら選択される光源である、請求項 1 または 2 のシステム。

【請求項 4】

発光性成分が、単一LEDまたはLEDのアレイであり、ここに、任意で、LEDは青色LEDであ
って、430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する、請求項 3 のシステム。

【請求項 5】

選択的波長フィルターがノッチフィルター、任意で、ホログラフィーノッチフィルター
であり、任意で、波長430 nmおよび490 nmの間の波長を有する光をフィルターにより除去
するのに特異的である、請求項 1 ~ 4 いずれかのシステム。

【請求項 6】

手術用メガネのレンズが特定波長フィルターを含むか、または、手術用メガネが跳ね上
げ式特定波長フィルターを含む、請求項 5 のシステム。

【請求項 7】

発光性成分からの光をフィルターするための光フィルターをさらに含む、請求項 1 ~ 6
いずれかのシステム。

【請求項 8】

蛍光ダイがフルオレッセインである、請求項 1 ~ 7 いずれかのシステム。

【請求項 9】

哺乳類に溶液を投与し、発光性成分および手術用メガネを用いて組織を可視化する方
法を説明するインストラクションをさらに含む、請求項 1 ~ 8 いずれかのシステム。

【請求項 10】

センチネルリンパ節バイオプシー術中に哺乳類の組織における発光性物質を検出するシ
ステムであって、

430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する単一青色発光ダイオード (LED)または
430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する青色発光ダイオード (LED)のアレイ；

約0.001% (w/v)から約0.01% (w/v)までまたは0.01% (w/v)の濃度を有する、等張(0.9
% w/v)食塩水に溶解したフルオレッセインの溶液；および、

430 nmおよび490 nmの間の波長を有する発光性成分からの刺激光の波長をフィルター
で除去する選択的な波長フィルターを含み、フルオレッセインの蛍光に対して透明である
手術用メガネ、
を含むシステム。

【請求項 11】

LEDまたはLEDのアレイに適合したWratten #47フィルターをさらに含む、請求項 10 の
システム。

【請求項 12】

哺乳類にフルオレッセイン溶液を投与し、LEDまたはLEDのアレイおよび手術用メガネを

10

20

30

40

50

用いて組織を可視化する方法を説明するインストラクションをさらに含む、請求項 10 または 11 のシステム。

【請求項 13】

哺乳類の組織における発光性物質の位置を検出する方法であって、

生体適合溶媒に溶解した約0.00001% (w/v) から約1.0% (w/v) までの濃度の蛍光性、りん光性、または発光性ダイの溶液を組織に投与すること；

発光性成分から発光された光で組織を照射し、ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせること；および

ダイの蛍光、りん光または発光に基づき組織内のダイの位置を検出すること；を含む方法。

10

【請求項 14】

検出が、発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する選択的な波長フィルターを含む手術用メガネを用いて行われ、ここに、メガネは、ダイの蛍光、りん光、および発光に対して透明である、請求項 13 の方法。

【請求項 15】

ダイの濃度が、約0.0001% (w/v) から約0.1% (w/v) までまたは約0.001% (w/v) から約0.01% (w/v) までである、請求項 13 または 14 の方法。

【請求項 16】

発光性成分が、レーザー、レーザーダイオード、発光ダイオード (LED)、有機発光ダイオード、光ファイバー光源、発光ガス放電およびホットフィラメントランプよりなる群から選択される光源である、請求項 13 ~ 15 いずれかの方法。

20

【請求項 17】

発光性成分が、単一LEDまたはLEDのアレイ、任意で、LEDが青色LEDであり、任意で、青色LEDが、430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する、請求項 16 の方法。

【請求項 18】

選択的波長フィルターがノッチフィルター、任意でホログラフィーノッチフィルターであり、任意で、430 nmおよび490 nmの間の波長を有する光をフィルターで除去するのに特異的である、請求項 13 ~ 17 いずれかの方法。

【請求項 19】

手術用メガネのレンズが特定波長フィルターを含むか、または、手術用メガネが跳ね上げ式特定波長フィルターを含む、請求項 48 の方法。

30

【請求項 20】

蛍光ダイがフルオレッセインである、請求項 13 ~ 19 いずれかの方法。

【請求項 21】

発光性物質が、ガン性、新生物、形成異常または過形成の組織に優先的に局在する、請求項 13 ~ 20 いずれかの方法。

【請求項 22】

発光性物質が、非ガン性、非新生物、非形成異常または非過形成の組織に優先的に局在する、請求項 13 ~ 20 いずれかの方法。

40

【請求項 23】

発光性成分に選択的に結合するように構成されたプローブをさらに含み、ここに、そのプローブは、携帯式プローブ、指先装着プローブ、サージカルルーペ、内視鏡、膀胱鏡 (cytroscope)、腎盂尿管鏡、気管支鏡、喉頭鏡、耳鏡、関節鏡、腹腔鏡 (laparoscope)、結腸用内視鏡および胃腸用内視鏡よりなる群から選択される、請求項 13 ~ 22 いずれかの方法。

【請求項 24】

哺乳類に外科手術を行うことをさらに含む。請求項 21 の方法。

【請求項 25】

外科手術が、リンパマッピングまたはセンチネルリンパ節位置決定よりなる群から選択

50

され；かつ、新生物（ガン）、メラノーマ、基底細胞カルシノーマおよび鱗状細胞 カルシノーマ、乳房、食道、胃、脾臓、結腸、小腸、肺、肛門または直腸、子宮、前立腺、陰茎、精巣、頭頸部ならびに軟組織の肉腫を持つ哺乳類の外科医治療に採用される、請求項 24 の方法。

【請求項 26】

哺乳類の組織が管腔である、請求項 13 ~ 23 いずれかの方法。

【請求項 27】

管腔が、瘻管、輸精管、胆嚢管および総胆管よりなる群から選択される、請求項 26 の方法。

【請求項 28】

哺乳類の乳ガンおよびメラノーマ手術においてセンチネルリンパ節（SLN）バイオプシーを行う方法であって、

生体適合溶媒に溶解した約0.00001% (w/v) から約1.0% (w/v) までの濃度の蛍光ダイの溶液を組織に投与すること；

組織を発光性成分から発光された光で照射し、ダイを刺激して、蛍光を生じさせること；

ダイの蛍光に基づき、組織内のダイの位置を検出すること；および

ガンまたはメラノーマを除去する腫瘍切除を行うこと

を含む方法。

【請求項 29】

検出が、発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する選択的な波長フィルターを含む手術用メガネを用いて行われ、ここに、メガネは、ダイの蛍光に対して透明である、請求項 28 の方法。

【請求項 30】

ダイの濃度が、約0.0001% (w/v) から約0.1% (w/v) までまたは約0.001% (w/v) から約0.01% (w/v) までである、請求項 28 または 29 の方法。

【請求項 31】

発光性成分が、レーザー、レーザーダイオード、発光ダイオード（LED）、有機発光ダイオード、光ファイバー光源、発光ガス放電およびホットフィラメントランプよりなる群から選択される光源である、請求項 28 ~ 30 いずれかの方法。

【請求項 32】

発光性成分が、単一LEDまたはLEDのアレイ、任意で、LEDが青色LEDであり、任意で、青色LEDが、430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する、請求項 31 の方法。

【請求項 33】

選択的波長フィルターがノッチフィルター、任意でホログラフィーノッチフィルターであり、任意で、430 nmおよび490 nmの間の波長を有する光をフィルターで除去するのに特異的である、請求項 28 ~ 32 いずれかの方法。

【請求項 34】

手術用メガネのレンズが特定波長フィルターを含むか、または、手術用メガネが跳ね上げ式特定波長フィルターを含む、請求項 33 の方法。

【請求項 35】

蛍光ダイがフルオレッセインである、請求項 28 ~ 34 いずれかの方法

。

【請求項 36】

哺乳類における動脈、静脈またはリンパ組織を可視化するためのキットであって、

約0.00001% (w/v) から約1.0% (w/v) までの濃度の蛍光性、りん光性または発光性ダイの希釈溶液；

ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせる発光性成分；

発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する選択的な波長フィルターを含み、ダイの蛍光、りん光、および発光に対して透明である手術用メガネ；および

10

20

30

40

50

哺乳類に溶液を投与し、発光性成分および手術用メガネを用いて組織を可視化する方法を説明するインストラクション、を含むシステム。

【請求項 37】

ダイの濃度が、約0.0001% (w/v)から約0.1% (w/v)までまたは約0.001% (w/v)から約0.01% (w/v)までである、請求項 36 のキット。

【請求項 38】

発光性成分が、レーザー、レーザーダイオード、発光ダイオード (LED)、有機発光ダイオード、光ファイバー光源、発光ガス放電およびホットフィラメントランプよりなる群から選択される光源である、請求項 36 または 37 のキット。

10

【請求項 39】

発光性成分が、単一LEDまたはLEDのアレイ、任意で、LEDが青色LEDであり、任意で、青色LEDが、430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する、請求項 38 のキット。

【請求項 40】

選択的波長フィルターがノッチフィルター、任意でホログラフィーノッチフィルターであり、任意で、430 nmおよび490 nmの間の波長を有する光をフィルターで除去するのに特異的である、請求項 36 ~ 39 いずれかのキット。

【請求項 41】

手術用メガネのレンズが特定波長フィルターを含むか、または、手術用メガネが跳ね上げ式特定波長フィルターを含む、請求項 40 のキット。

20

【請求項 42】

発光性成分からの光をフィルターする光フィルターをさらに含む、請求項 36 ~ 41 いずれかのキット。

【請求項 43】

蛍光ダイがフルオレッセインである、請求項 36 ~ 42 いずれかのキット。

【請求項 44】

組織を可視化することが、センチネルリンパ節バイオプシー術である、請求項 36 ~ 43 いずれかのキット。

【請求項 45】

センチネルリンパ節バイオプシー術中に哺乳類の組織における発光性物質を検出するキットであって、

30

430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する単一青色発光ダイオード (LED)または430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する青色発光ダイオード (LED)のアレイ；

約0.001% (w/v)から約0.01% (w/v)までまたは約0.01% (w/v)の濃度を有する、等張(0.9% w/v)食塩水に溶解したフルオレッセインの溶液；

430 nmおよび490 nmの間の波長を有する発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する選択的な波長フィルターを含み、フルオレッセインの蛍光に対して透明である手術用メガネ；および

哺乳類に溶液を投与し、LEDまたはLEDのアレイおよび手術用メガネを用いて組織を可視化する方法を説明するインストラクション、を含むキット。

40

【請求項 46】

LEDまたは LEDのアレイに適合したWratten #47フィルターをさらに含む、請求項 45 のキット。

【請求項 47】

外科手術中に哺乳類の組織における発光性物質を検出するキットであって、

430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する単一青色発光ダイオード (LED)または430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する青色発光ダイオード (LED)のアレイ；

約 0.001% (w/v)から約0.01% (w/v)までまたは約0.01% (w/v)の濃度を有する、等張(0.9% w/v)食塩水に溶解したフルオレッセインの溶液；

50

430 nmおよび490 nmの間の波長を有する発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する選択的な波長フィルターを含み、フルオレッセインの蛍光に対して透明である手術用メガネ；および

哺乳類に溶液を投与し、LEDまたはLEDのアレイおよび手術用メガネを用いて組織を可視化する方法を説明するインストラクション、を含むキット。

【請求項 4 8】

LEDまたはLEDのアレイに適したWratten #47フィルターをさらに含む、請求項 4 7 のキット。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2009年4月21に出願され、出典明示して本明細書の一部とみなされる米国仮出願第61/171,414号を基礎とする優先権を主張する。

【背景技術】

【0002】

本発明の背景

本発明は、概略、外科イメージングに有用なシステムとして蛍光ダイの分野に関する。より詳しくは、本発明は、光源からの光で蛍光性、りん光性または発光性分子を励起し、蛍光性、りん光性または発光性分子から発光される蛍光、りん光、または発光の相対強度を検出するシステム、方法およびキットに関する。そのようなシステムは、ガン手術およびバイオプシーなどのさまざまな外科技術のためのマッピング剤として適用することができる。

20

【0003】

ここで用いられる刊行物その他の文献は、本発明の背景を明らかにするか、または、実施に関するさらなる詳細を提供し、それらは、出典明示して本明細書の一部とみなされる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

30

【0004】

腫瘍マイクロマージン可視化の重要性

【0005】

腫瘍の外科的減量は、多くのタイプのガンのもっともありふれた一次処置である。最も一般的には、外科医は、術中、腫瘍組織と健康組織との間の境界を画定するために、レントゲン写真を用いて配置された定位器ワイヤーまたは手による触診を用いる。病理医による腫瘍体積の迅速な低温組織分析でさえも、25-40%の組織温存乳ガン乳腺腫瘍摘出術において、さらなる組織除去のための反復手術が必要である。

【0006】

手術中SLNバイオプシー

40

【0007】

センチネルリンパ節 (SLN) バイオプシーは、現在、メラノーマ処理におけるケアの標準であり、それは、即座に、治療的乳がん手術におけるケアの標準になりつつある。この十分に確立された手法は、2つの近年の大きな国家登録された研究、ザ・ナショナル・サージカル・アジュバンド・ブレスト・プロジェクト B - 32 (the National Surgical Adjuvant Breast Project B-32) (NSABP) および米国外科学会試験 Z - 001 (the American College of Surgeons Trial Z-001) に基づく。両試験は、手術可能な乳ガンのある女性の腋窩節排液におけるSLNコンセプトを評価した。腋窩節の状態の予想に対するSLN手順の正確性を、標準腋窩郭清後にSLNバイオプシーを受けた対照群の対象で測定した。結果は、経験上、外科医は95-98%の患者でSLNの位置を見つけ、SLNが認識された患者の90-95%に

50

において、腋窩節を正確に予測することを示した。合わせて、これらの研究は10,000人を超える患者を登録し、追跡データはまだ完成していないが、その手順自体、SLNバイオペシーは、世界中で乳房外科医に認められつつある。毎年186,000人の新たな乳ガン患者にとって、原発性腫瘍を除去し、関連リンパ節の状態を決定する多数の手術が重要である。

【0008】

乳ガン患者のSLNバイオペシーは、メラノーマを持つ患者を治療するために開発された2つの技術の組合せを用いる。2つの剤を用いてSLNを見つける。Lymphazurin^Rは、乳房腫瘍周辺すなわち乳輪空間に注射後リンパ本幹に急速に拡散する青色ダイである。皮膚切開をした後、外科医はリンパ本幹中に青色ダイを見ることができ、青色を追跡してSLNにたどり着き、それによって、センチネル節とみなされる青いリンパ節を見つける。青色のLymphazurin^Rダイは手術創のいたるところにまで拡散し、郭清およびSLN認識を困難にする。これは、特に、リンパ管を切断すると真実である。放射性マーカーは、しばしば、青色ダイと組み合わせて用いられ、SLNの認識を援助する。平均粒子サイズが100nmのテクネチウム-99m-標識硫黄コロイド (^{99m}Tc)の溶液は、放射線薬剤師によって調製される。硫黄コロイド^{99m}Tcを手術の2～24時間前に腫瘍の周囲に注射する。携帯型γ線検出器を用いて、手術野内の放射性節を見つける。放射性節は必ずしも青くなく、青色の節は必ずしも放射性ではない。さらに、単一腋窩は、しばしば、いくつかのSLNを含有し；患者あたり2.4放射性および/または青色節である。これは、SLNを通過するマーカーによって引き起こされるか、または、様々なリンパ本幹が様々なリンパ節に流れ込むからであろう。

【0009】

メラノーマ手術におけるリンパマッピングの重要性

【0010】

限局型原発性メラノーマを持つ患者において、所属リンパ節の管理は議論的である。原発性メラノーマの除去の時点での選択的リンパ節郭清は多数に好まれてきた。選択的リンパ節郭清の支持者は、メラノーマが原発部位から所属リンパ節へ、そして全身へと順番に広がるという仮説についてのかれらの見解に依拠してきた。

【0011】

かくして、リンパ節腫瘍沈着の早期除去は、次なる全身性播種性転移を防止するであろう。例えば、Balch et al. ("A multifactorial analysis of melanoma: III. Prognostic factors in melanoma patients with lymph node metastases (stage II)." *Annals Surgery* (1981), 193(3):377-88); Callery et al. ("Factors prognostic for survival in patients with malignant melanoma spread to the regional lymph nodes." *Annals Surgery* (1982), 196(1):69-75); Cohen, et al. ("Prognostic factors in patients undergoing lymphadenectomy for malignant melanoma." *Annals Surgery* (1977), 186(5):635-42); Gupta, T. ("Results of treatment of 269 patients with primary cutaneous melanoma: a five-year prospective study." *Annals Surgery* (1977), 186(2):201-9); Morton, et al. ("Improved long-term survival after lymphadenectomy of melanoma metastatic to regional nodes. Analysis of prognostic factors in 1134 patients from the John Wayne Cancer Clinic." *Annals Surgery* (1991), 214(4):491-9; discussion 9-501); Reintgen, et al. ("Efficacy of elective lymph node dissection in patients with intermediate thickness primary melanoma." *Annals Surgery* 1983, 198(3):379-85); および Roses, et al. ("Prognosis of patients with pathologic stage II cutaneous malignant melanoma." *Annals Surgery* (1985), 201(1):103-7)を参照せよ。

【0012】

選択的リンパ節摘出の4つの前向き無作為化試験がこの仮説を調べた。例えば、Balch, et al. ("Long-term results of a multi-institutional randomized trial comparing prognostic factors and surgical results for intermediate thickness melanomas (1.0 to 4.0 mm). Intergroup Melanoma Surgical Trial." *Annals Surgical Oncology* (2000), 7(2):87-97); Cascinelli, et al. ("Immediate or delayed dissection of regional nodes in patients with melanoma of the trunk: a randomised trial. WHO Melan

oma Programme." Lancet (1998), 351(9105):793-6); Sim, et al. ("Lymphadenectomy in the management of stage I malignant melanoma: a prospective randomized study." Mayo Clinic Proceedings (1986), 61(9):697-705); および Veronesi, et al. ("Inefficacy of immediate node dissection in stage 1 melanoma of the limbs." The New England Journal Medicine (1977), 297(12):627-30)を参照せよ。

【 0 0 1 3 】

これらの試験のすべてにおいて、選択的リンパ節摘出は有意な生存利益をもたらさなかった。これらの試験のうちの一つ (Balch, et al., 2000) において、下位グループ解析は、選択的リンパ節摘出が、60歳未満の患者、特に、非潰瘍化原発性メラノーマおよび1-2mm厚のメラノーマを持つ者に利益をもたらすことを示した。これらの結果に基づき、ステージIおよびIIメラノーマを持つ患者に対して、選択的リンパ節摘出は提言されず、このことが、所属リンパ節のより精選された評価およびセンチネルリンパ節バイオプシー (SLNB) 技術の開発をもたらした。

【 0 0 1 4 】

センチネルリンパ節 (SLN) コンセプトは、原発性メラノーマ由来の腫瘍細胞がリンパ系を通り所属リンパ節へと順番に転移し、リンパ系のマッピングが転移腫瘍細胞を受容する最初の、すなわち、「センチネル」リンパ節を認識できるという仮説に基づく。このセンチネルリンパ節は、所属リンパ節流域の他のいずれの節より前に転移にかかわるようになり、かかわったら、全所属リンパ節流域の病理状態を反映する。Morton et al. ("Technical details of intra-operative lymphatic mapping for early stage melanoma." Archives Surgery (1992), 127(4):392-9)を参照せよ。その研究は、ステージIメラノーマを持つ患者におけるSLNコンセプトの最初の評価を詳説した。233人の患者における237リンパ節流域のこの研究において、SLNはその時の82%が認識され、99%の患者において、所属リンパ節流域の病理状態を予測した。センチネル節に腫瘍がなければ、残りの節は、解剖領域に腫瘍がないとして、除去されない。臨床学的に、このことは重要である。なぜならば、正常リンパ節の除去によって得られる生存利益はなく、リンパ節摘出は、常に、四肢の感覚異常と浮腫の可能性を持ち込むからである。SLNバイオプシーは、患者ケアの進歩と考えられる。なぜなら、それは、リンパ節摘出から利益を得るであろう節転移を持つ患者のみを選択するからである。その予備実験以来、実質的な進行があり、リンパマッピングおよびSLNBのための技術の向上および標準化がなされた。

【 0 0 1 5 】

外科医がリンパ節における転移疾患を認識する能力の向上は、例えば、健康組織を温存し、除去する腋窩リンパ節の数を最小限にすることによって外科治療を進歩させる。これは、患者の生活の質を向上し、罹患率および長期死亡率を向上する。リンパ節に広がったガン細胞の正確な認識は、罹患した管および節のみの除去しつつ、健康腋窩節を残すことを可能にする。すべての腋窩リンパ節および管のいいかげんな除去は、局所浮腫および増大した罹患率をもたらす。転移性ガン細胞を含有する腋窩リンパ節および管の非除去は、低減した生存率および増大した長期死亡率をもたらす。

【 0 0 1 6 】

1%イソスルフアンブルー (Lymphazurin^R)のような生体青色ダイの使用は、その導入以来、リンパマッピングおよびSLNBの一部であった。手術の時点で、3-5mlの生体青色ダイを無傷原発性メラノーマまたは腫瘍バイオプシー部位の辺縁に皮内注射する。ダイは急速にリンパ系へと拡散し、輸入リンパ本幹によってSLNまで運ばれる。切開を流れ出るリンパ節流域の上に行い、青色輸入リンパ管チャネルを追跡して、最初の流れ出るリンパ節、センチネルリンパ節にたどり着く。生体青色ダイの使用で、SLNはおよそ87%の症例で認識できる。Gershenwald, et al. ("Improved sentinel lymph node localization in patients with primary melanoma with the use of radio-labeled colloid." Surgery (1998), 124(2):203-10)を参照せよ。これは、13%の患者をSLN評価から利益を得られないものとして取り残す。Gershenwaldらは、テクネチウム-99m標識硫黄コロイドを生体青色ダイと組み合わせたとき、SLN認識が87%から99%に向上することを実証した。

【 0 0 1 7 】

SLNの検出率を増大するために、2つのさらなる技術が普通用いられる：a)テクネチウム-99m標識硫黄コロイドまたはヒトアルブミン放射能トレーサーを用いてよりよくリンパ排水を描き出し、複数の排水流域を認識する手術前リンパシンチグラフィー；例えば、Esner, et al. ("Standardized probe-directed sentinel node dissection in melanoma." *Surgery* (2000), 127(1):26-31) および Pijpers, et al. ("Sentinel node biopsy in melanoma patients: dynamic lymphoscintigraphy followed by intra-operative gamma probe and vital dye guidance." *World Journal Surgery* (1997), 21(8):788-92; discussion 93)を参照せよ；およびb) SLNをよりよく局在化させるための携帯式γ線検出器の手術中使用。近年、生体青色ダイ技術と放射能トレーサーとの組合わせの使用が、99%の症例までSLNを認識する。例えば、Gershenwald, et al. (1998); Morton, et al. ("Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group." *Annals Surgery* (1999), 230(4):453-63; discussion 63-5); および Thompson, et al. ("Location of sentinel lymph nodes in patients with cutaneous melanoma: new insights into lymphatic anatomy." *Journal American College of Surgeons* (1999), 189(2):195-204)を参照せよ。これらの発見に基づき、ほとんどの臨床医は、いまや、原発性メラノーマを持つ患者におけるSLN局在化のための「黄金標準」と考えられる、組合せ療法アプローチを推奨する。テクネチウム-99m標識硫黄コロイドはより強い検出能力を付加するが、これを単独で用いた公式な研究は報告されていない。非公式な観察によれば、青くない節における放射能を、放射性でない青い節よりも多く見つけ出す。しかしながら、繰り返すが、理想状態は、2つのトレーサーを同時に用いることである。

10

20

【 0 0 1 8 】

1%イソスルファン生体青色ダイは、放射能トレーサーと組み合わせたとき、SLNの検出を増大するが、いくつかの欠点をする。一つ目は、ダイが手術創全体に拡散し、郭清およびSLN認識を困難にすることである。このことは、特に、輸入リンパ管チャネルが切断されたかどうかにかかわる。二つ目は、1%イソスルファンブルーダイが、リンパマッピングおよびSLNBを受けている患者の0.1-2%において、アナフィラキシー様反応すなわち生命に脅威を及ぼすアナフィラキシーショックと関連していることである。例えば、Cimmino, et al. ("Allergic reactions to isosulfan blue during sentinel node biopsy--a common event." *Surgery* (2001), 130(3):439-42); Komenaka, et al. ("Allergic reactions to isosulfan blue in sentinel lymph node mapping." *The Breast Journal* (2005), 11(1):70-2); Leong, et al. ("Adverse reactions to isosulfan blue during selective sentinel lymph node dissection in melanoma." *Annals Surgical Oncology* (2000), 7(5):361-6); Montgomery, et al. ("Isosulfan blue dye reactions during sentinel lymph node mapping for breast cancer." *Anesthesia Analgesia* (2002), 95(2):385-8, table of contents); Raut, et al. ("Incidence of anaphylactoid reactions to isosulfan blue dye during breast carcinoma lymphatic mapping in patients treated with preoperative prophylaxis: results of a surgical prospective clinical practice protocol." *Cancer* (2005), 104(4):692-9); および Wilke, et al. ("Surgical complications associated with sentinel lymph node biopsy: results from a prospective international cooperative group trial." *Annals Surgical Oncology* (2006), 13(4):491-500).を参照せよ。三つ目は、近年の1%イソスルファンブルー不足が、その化合物が患者および臨床医の手に届きにくくしたことである。Lymphazurinは、2001年以来周期的に不足し、2006年8月以来入手できなくなり厳しく配給されるようになり、2008年4月にふたたび市販されるようになった。

30

40

【 0 0 1 9 】

フルオレッセイン

【 0 0 2 0 】

50

フルオレッセインは、化学式 $C_{20}H_{12}O_5$ を有する橙赤色粉状化合物であり、それはアルカリ溶液中で強い緑黄色蛍光を示す。それは、診断目的で、数十年も手術や医薬に広く用いられてきた。局所フルオレッセインは、眼科学では、角膜病変の評価にルーチ的に用いられている。例えば、Kim J. ("The use of vital dyes in corneal disease." *Current Opinion Ophthalmology* (2000), 11(4):241-7)を参照せよ。静脈内フルオレッセインは、血管外科では、注入固定法を評価するために用いられている。例えば、Lund, et al. ("Video fluorescein imaging of the skin: description of an overiewing technique for functional evaluation of regional cutaneous blood perfusion in occlusive arterial disease of the limbs." *Clinical Physiology* (Oxford, England) (1997), 17(6):619-33)を参照せよ；ならびに、皮膚およびメラノーマ手術における皮弁の生存能力の評価について、例えば、Casanova, et al. ("Clinical evaluation of flap viability with a dermal surface fluorometer." *Annals Plastic Surgery* (1988), 20(2):112-6) および Kreidstein, et al. ("Serial fluorometric assessments of skin perfusion in isolated perfused human skin flaps." *British Journal Plastic Surgery* (1995), 48(5):288-93)を参照せよ。皮内フルオレッセイン注射は、足のリンパ管を認識するために用いられ、リンパ管造影を容易にする。例えば、Cooper, et al. ("Fluorescein labeling of lymphatic vessels for lymphangiography." *Radiology* (1988), 167(2):559-60)を参照せよ。この研究は、10% フルオレッセインを1:1で1% リドカイン塩酸塩と混合して用いることの安全性と効力の双方を見るようにデザインされた。Cooperらは、1,047人の患者におけるフルオレッセインの皮内注射に副作用がないことを報告した。Danら ("1% lymphazurin vs. 10% fluorescein for sentinel node mapping in colorectal tumors." *Archives Surgery* (2004), 139(11):1180-4.)は、120人の結腸ガンの患者にフルオレッセインの腸壁内注射を用いて、結腸ガンの患者におけるリンパ管のマッピングを行った。フルオレッセインは、97%の患者において、センチネルリンパ節を認識でき、120人の患者のうち誰も、副作用を被らなかった。現在、USPフルオレッセインナトリウムの10%溶液を手術中の手順に用いて、静動脈吻合開存性を確認している。それは、形成および再建外科手術における微小血管の灌流を確認するのにも使われる。これは、皮弁全体を摘出し、移植しなければならないときに、特に重要である。

【0021】

低濃度のマッピング剤を利用する新たなリンパマッピングおよび SLN認識技術の開発が非常に必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0022】

発明の概要

本発明は、概略、外科イメージングに有用なシステムとして蛍光ダイの分野に関する。より詳しくは、本発明は、蛍光性、りん光性または発光性分子を光源からの光で励起し、かつ、蛍光性、りん光性、または発光性分子から発光される蛍光、りん光、または発光の相対強度を検出するためのシステム、方法およびキットに関する。そのようなシステムは、ガン手術およびバイオプシーなどの様々な外科技術のためのマッピング剤として適用することができる。

【0023】

かくして、ひとつの局面において、本発明は、ヒトを含む哺乳類における、動脈、静脈またはリンパ組織を可視化するためのシステムを提供する。この局面によれば、このシステムは、約0.00001% (w/v)から約1.0% (w/v)までの濃度の蛍光性、りん光性、または発光性ダイの希釈溶液を含む。このシステムは、ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせる発光性成分も含む。このシステムは、さらに、発光性成分から刺激性光の波長をフィルターで除去する特異的（または選択的）な波長フィルターを含む手術用メガネを含む。手術用メガネは、蛍光、りん光、および発光が生じる波長範囲にて透明である。ひとつの具体例において、希釈溶液は、生体適合溶媒中のダイの安定化溶液である。もうひとつの具体例において、ダイの濃度は、約0.0001% (w/v)から約0.1% (w/v)までである。

さらなる具体例において、ダイの濃度は、0.001% (w/v) から約0.01% (w/v) までである。ひとつの具体例において、このシステムは、さらに、発光性成分からの光をフィルターで除去するための光フィルターを含む。もうひとつの具体例において、蛍光ダイはフルオレッセインである。

【0024】

ひとつの具体例において、発光性成分は、レーザー、レーザーダイオード、発光ダイオード (LED)、有機発光ダイオード、光ファイバー光源、発光ガス放電およびホットフィラメントランプよりなる群から選択される光源である。もうひとつの具体例において、発光性成分は、単一LEDまたはLEDのアレイである。さらなる具体例において、LEDは青色LEDである。さらなる具体例において、青色LEDは、430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する。

10

【0025】

ひとつの具体例において、手術用メガネのレンズは、特定波長フィルターを含む。もうひとつの具体例において、手術用メガネは跳ね上げ式特定波長フィルターを含む。さらなる具体例において、手術用メガネはレンズ上の搭載された特定波長フィルターを有する。さらなる具体例において、特定波長フィルターはノッチフィルターである。もうひとつの具体例において、ノッチフィルターは、ホログラフィーノッチフィルターである。ひとつの具体例において、ノッチフィルターは、波長430 nmおよび490 nmの間の波長を有する光をフィルターにより除去するのに特異的である。もうひとつの具体例において、手術用メガネは、520 nm付近の波長にて透明である。ひとつの具体例において、発光性成分からの光をフィルターするためのフィルターは、発光性成分に適したWratten #47フィルターである。

20

【0026】

第2の局面において、本発明は、ヒトを含む哺乳類の組織における発光性物質の位置を検出する方法を提供する。この局面によれば、この方法は、約0.00001% (w/v) から約1.0% (w/v) までの濃度の蛍光性、りん光性、または発光性ダイのような発光性物質の希釈溶液を組織に投与することを含む。この方法は、組織を発光性成分から発光された光で照射し、ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせることも含む。この方法は、さらに、ダイの蛍光に基づき組織内のダイの位置を検出することを含む。ひとつの具体例において、希釈溶液は上記したものである。

30

【0027】

ひとつの具体例において、発光性成分は、さらに、光フィルター発光性成分からの光をフィルターするための光フィルターを含む。もうひとつの具体例において、発光性成分は、上記した光源である。ひとつの具体例において、発光性成分は、さらに、それに選択的に結合するように構成されたプローブを含む。もうひとつの具体例において、そのプローブは、携帯式プローブ、指先装着プローブ、サージカルルーペ、内視鏡、膀胱鏡 (cytoscope)、腎盂尿管鏡、気管支鏡、喉頭鏡、耳鏡、関節鏡、腹腔鏡 (laparoscope)、結腸用内視鏡または胃腸用内視鏡であってよい。

【0028】

ひとつの具体例において、検出は、発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する特異的な波長フィルターを含む手術用メガネを用いて行われる。この手術用メガネは、蛍光、りん光、および発光が生じる波長範囲にて透明である。もうひとつの具体例において、メガネおよび特定波長フィルターは上記したものである。ひとつの具体例において、発光性物質は、ガン性、新生物、形成異常または過形成の組織に優先的に局在する。もうひとつの具体例において、発光性物質は、非ガン性、非新生物、非形成異常または非過形成の組織に優先的に局在する。

40

【0029】

ひとつの具体例において、この方法は、さらに、哺乳類に外科手術を施すことを含む。もうひとつの具体例において、外科手術は、リンパマッピングまたはセンチネルリンパ節位置決定である。さらなる具体例において、この方法は、新生物 (ガン)、メラノーマ、

50

基底細胞カルシノーマおよび鱗状細胞カルシノーマ、乳房、食道、胃、膵臓、結腸、小腸、肺、肛門もしくは直腸、子宮、前立腺、陰茎、精巣、頭頸部ならびに軟組織の肉腫を持つ哺乳類の外科治療に適用される。ひとつの具体例において、哺乳類の組織は、管腔である。もうひとつの具体例において、管腔は、瘻管、輸精管、胆嚢管および総胆管よりなる群から選択される。

【0030】

第3の局面において、本発明は、哺乳類の乳ガンおよびメラノーマ手術においてセンチネルリンパ節 (SLN) バイオプシーを行う方法を提供する。この局面によれば、この方法は、約0.00001% (w/v) から約1.0% (w/v) までの濃度の蛍光性、りん光性または発光性ダイの希釈溶液を組織に投与することを含む。この方法は、組織を発光性成分から発光された光で照射し、ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせることも含む。この方法は、さらに、ダイの蛍光、りん光または発光に基づき、組織内のダイの位置を検出することを含む。この方法は、乳ガンまたはメラノーマを除去する腫瘍切除を行うことも含む。ひとつの具体例において、希釈溶液上記したものである。ひとつの具体例において、発光性成分は、さらに、発光性成分からの光をフィルターする光フィルターを含む。もうひとつの具体例において、発光性成分は、上記した光源である。ひとつの具体例において、発光性成分は、さらに、それに選択的に結合するように構成されたプローブを含む。もうひとつの具体例において、プローブは、上記したものである。ひとつの具体例において、検出は、発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する特異的な波長フィルターを含む手術用メガネを用いて行われる。手術用メガネは、蛍光、りん光、および発光が生じる波長範囲にて透明である。もうひとつの具体例において、メガネおよび特定波長フィルターは上記したものである。

10

20

【0031】

第4の局面において、本発明は、外科手術中に、ヒトを含む哺乳類において発光性物質を検出するためのキットを提供する。この局面によれば、このキットは、約0.00001% (w/v) から約1.0% (w/v) までの濃度の蛍光性、りん光性または発光性ダイの希釈溶液を含む。キットは、ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせる発光性成分も含む。このキットは、さらに、哺乳類に溶液を投与し、発光性成分を用いて組織を可視化する方法を説明するインストラクションを含む。ひとつの具体例において、キットは、発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する特異的な波長フィルターを含む手術用メガネも含んでもよい。手術用メガネは、蛍光、りん光、および発光が生じる波長範囲にて透明である。もうひとつの具体例において、希釈溶液は上記したものである。ひとつの具体例において、発光性成分は、さらに、発光性成分からの光をフィルターする光フィルターを含む。もうひとつの具体例において、発光性成分は、上記した光源である。さらなる具体例において、メガネおよび特定波長フィルターは上記したものである。

30

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】図1は、本発明の特徴を内包し、ホログラフィーノッチフィルターを含有する改良型Stryker 内視鏡カプラーを示す具体例を描写する。

【図2】図2は、本発明の特徴を内包し、照射ヘッド中の7つのLuxeon LED (各々、3 W) のヘキサゴンアレイを示す具体例を描写する。Wratten #47フィルターは、この絵のために外してある。

40

【図3】図3は、本発明の特徴を内包し、完全外科用光スタンドを示す具体例を描写する。ひとつの具体例において、照射ヘッドは、フレキシブルコイルコード付きの電源に連結されているスライド式ヘッドに搭載される。スライド式レールおよびヘッドは、研究している動物 (すなわち患者) に合わせて上げ下げできる。すべての電気用取り付け部品は病院級である。

【図4】図4は、本発明の特徴を内包し、LED配置およびポリマー製光学レンズを示す具体例を描写する。左から右: (a) 一番左は、Philips Luxeonからの最新世代のハイパワーLED、「Rebel」シリーズLEDであり、鉛筆のとがっていない方の先端の上部に小さな黄

50

色の物体として示されている。「Rebel」シリーズLEDは、Luxeon「Star」(左から2番目)ほどのパワーを発生するが、あまり精密ではない熱管理を必要とする。(b)左から2番目は、Luxeon「Star」であり、3 Wおよび5 Wパッケージとして入手できるハイパワーLEDである。このモデルは、精密な熱管理が必要であり、絶縁されたヒートシンクに搭載しなければならない。(c)左から3番目は、7つのLuxeon「Star」3 W LEDのアレイを絶縁されたメタルコア印刷基板に搭載したものである。各LEDは個別の光学レンズに適合する。(d)一番右は、メタルコア印刷基板上に搭載された7つの個別のハイパワーLEDからの出力を集光するプラスチック製集光レンズである。このプラスチック製集光レンズを用いて、7つのLEDからの出力を最小限の侵襲性内視鏡アプローチ用のデュアル波長照射器から液体光ガイドに集光して可視化する。

10

【図5】図5は、本発明の特徴を内包し、ブタの皮を通過して見えるリンパ管中のフルオレッセインを示す具体例を描写する。USPフルオレッセイン(0.01%)は、皮下注射後ブタの皮を通して容易にみることができ、センチネルリンパ節バイオプシー術に用いられるであろう。最適濃度のフルオレッセイン(ひとつの具体例において、Akorn, Inc.から販売される市販のUSP調製物よりも1,000倍以上希釈されている。)および可視化用の最適化青色光LEDアレイは皮膚を切開してセンチネルリンパ節にアクセスする前に、フルオレッセインを見えるようにする。この絵において、フルオレッセインは、8インチ路を4分以内に移動する。フルオレッセインの移動は、目でリアルタイムに追跡することができ、外科医を切除ためのセンチネルリンパ節に向かせる。

【図6】図6は、本発明の特徴を内包し、皮膚を開いた後のリンパ管中のフルオレッセインを示す具体例を描写する。リンパ管中のフルオレッセインは、明らかに、外科医を、節組織流域に流れ込む最初のリンパ節であるセンチネルリンパ節に導く。

20

【図7】図7は、本発明の特徴を内包し、蛍光リンパ管の末端にて皮膚を開いたとき、センチネルリンパ節が明るく輝いていることを示す具体例を描写する。リンパ本幹中の蛍光は、この実施例では、外科医を直接センチネルリンパ節に導く。乳ガン手術に適用するとき、このリンパ節は、病理医によるガンの詳細な調査のために、除去され、提供される。市販の10%USPフルオレッセインナトリウムの1,000倍希釈を用い、480 nm青色光による経皮照射とオレンジガラスを通しての可視化と合わせれば、手術室を暗くしなくても、リンパ管中のフルオレッセインの流れを見ることができる。図8に示されるフレームは、40 kgの褐色ブタのリンパ管を移動するフルオレッセインの時間経過を図示する。フルオレッセインは、リンパ管を通過して急速に移動する。たったの10秒後、リンパ管を通過して移動したフルオレッセインは、皮膚を通して見ると、止まったように見える。リンパ管は、このポイントで皮膚から潜り込み、節のクラスターにあるセンチネルリンパ節で終端する。この技術によるセンチネルリンパ節の位置決定の方法は速く(皮下注射から10~30秒)、可視化剤の手術前注射を必要としない。

30

【図8】図8は、本発明の特徴を内包し、リンパ管中のフルオレッセイン移動の時間経過を示す具体例を描写する。0.01%フルオレッセインの急速移動は、40 kgの褐色ブタのリンパ管で観察できる。フルオレッセインは、手術創を作らなくても皮膚を通して観察できる。10秒フレーム中の矢印は、センチネルリンパ節の位置を示し、このポイントの直下の組織の切開によって証明された。

40

【図9】図9は、ノッチフィルターをレンズとして有する一対の手術用メガネを示す。ノッチフィルターは、430 nmおよび490 nmの間の波長を有する光に特異的である。

【図10】図10は、鼠径部切開を示し、0.01%フルオレッセインでのリンバマッピングがセンチネルリンパ節を認識している。

【図11】図11は、0.01%フルオレッセインが刺激されて、リンバ本幹が蛍光発光しているのが見えていることを示す。LymphazurinTM(リンバ本幹の暗めの中心部分)は、リンバ本幹のフルオレッセインと共に位置決定する。蛍光リンバ本幹は、無傷の皮膚を通して、切開の右側に見える。

【発明を実施するための形態】

【0033】

50

定義

【0034】

ここで用いるとき、特記ない限り、以下の定義が適用される。

【0035】

「哺乳類」は、ヒト、ネコ、イヌ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ウシなどの家畜、および牧畜動物、ならびに、ペット動物を含む哺乳類として分類されるいかなる動物をもいう。特に好ましい哺乳類はヒトである。

【0036】

「患者」または「対象」は、ヒトおよび非ヒト動物をいい、特に、哺乳類である。

【0037】

「医薬上許容される塩」は、ダイのような化合物の医薬上許容される塩をいい、その塩は、当該分野で周知のさまざまな有機および無機の対イオンから誘導され、例示のみであるが、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウム、テトラアルキルアンモニウムなど；分子が塩基性官能基を含有するとき、塩酸塩、臭化水素酸塩、酒石酸塩、メシラート、酢酸塩、マレイン酸塩、シュウ酸塩などの有機 または無機 酸の塩を含む。

【0038】

ここで用いるとき、用語「疾患」および「不調」は、交換可能に用いることができ、または、特定の病気または不調が既知の病原体を有さず（それで、原因究明ができていない）、したがって、疾患としてではなく、多少の症状が臨床医に認識されている望ましくない状態または症候群として理解されているにすぎない点で異なるかもしれない。

【0039】

ここで用いるとき、用語「蛍光」は、分子または原子の励起電子一重項状態からの光子の放出をいう。

【0040】

ここで用いるとき、用語「りん光」は、分子または原子の励起電子三重項状態からの光子の放出をいう。

【0041】

ここで用いるとき、用語「発光」は、分子または原子の励起電子状態からの光子の放出をいう。

【0042】

本発明は、概略、外科イメージングに有用なシステムとして、蛍光性、りん光性または発光性ダイの分野に関する。より詳しくは、本発明は、蛍光性、りん光性または発光性分子を光源からの光で励起し、かつ、蛍光性、りん光性または発光性分子から発光される蛍光、りん光、または発光の相対強度を検出するためのシステム、方法およびキットに関する。そのようなシステムは、ガン手術およびバイオブシーのようなさまざまな外科技術用のマッピング剤として適用することができる。

【0043】

本発明に用いることができる適当な 蛍光性化合物（ダイ）は、限定されないが、コバラフルオロ、フルオレッセイン、フルオレッセイン-5-EXスクシンイミジルエステル（FSE）、メトキシクマリン、ナフトフルオレッセイン、BODIPY 493/503、BODIPY FL、BODIPY R6G、BODIPY 530/550、BODIPY TMR、BODIPY 564/570、BODIPY 576/589、BODIPY 581/591、BODIPY TR、カスケードブルー、ダンシル、ジアルキルアミノクマリン、4',5'-ジクロロ-2',7'-ジメチルオキシフルオレッセイン、2',7'-ジクロロフルオレッセイン、エオシン、エオシンF3S、エリスロシン、ヒドロキシクマリン、リサミンローダミンB、NBD、オレゴングリーン488、オレゴングリーン500、オレゴングリーン514、PyMPO、ピレン、ローダミン6G、ローダミングリーン、ローダミンレッド、ローダミン123、ロドールグリーン、2',4',5',7'-テトラブromoフルフォンフルオレッセイン、テトラメチルローダミン（TMR）、テキサスレッド、X-ローダミン、Cy2ダイ、Cy3ダイ、Cy5ダイ、Cy5.5ダイ、Cy7ダイ、ICグリーン、リボフラビン、ランタニドイオンに結合するキレート部分または量子ドット構

10

20

30

40

50

造を含む。本発明に用いることができる適当なりん光性化合物(ダイ)は、限定されないが、エオシンY、プラチナオクタエチルポルフィリン (PtOEP)、プラチナオクタエチルポルフィリンケトン (PtOEPK)、プラチナテトラキス(ペンタフルオロフェニル)ポルフィリン (PtTFPP)、パラジウムオクタエチルポルフィリン (PdOEP)、パラジウムオクタエチルポルフィリンケトン (PdOEPK)、パラジウムテトラキス(ペンタフルオロフェニル)ポルフィリン (PdTFPP)およびRu (dpp) 3Cl₂ (dpp + 4,7-ジフェニル-1,10-フェナントロリン)を含む。

【0044】

以下、明細書では、用語「蛍光性化合物」または「蛍光ダイ」または「蛍光」を用いて本発明を説明する。しかしながら、りん光性化合物すなわちダイまたは発光性化合物すなわちダイは、蛍光性化合物すなわちダイの代わりに使用でき、りん光または発光は、蛍光の代わりに使用できると理解される。さらに、発光性物質(すなわち、蛍光ダイ)としてのフルオレッセインの使用は例示目的であり、制限する意図はない。特別の発光性成分およびディテクター(例えば、特定波長フィルター付きの手術用メガネ)に関する特定の説明は、フルオレッセインに関してなされている。当業者は、本発明のシステム、方法およびキットの使用のために選ばれた蛍光性、りん光性または発光性ダイに基づき、発光性成分およびディテクターを選択すると理解される。

10

【0045】

本発明は、概略、外科イメージングに有用なシステム、方法およびキットとして、蛍光ダイの分野に関する。そのようなシステム、方法およびキットは、ガン手術およびバイオペシーのようなさまざまな外科技術用のマッピング剤として適用することができる。好ましい具体例において、本発明は、乳ガンおよびメラノーマ手術における腫瘍切除およびセンチネルリンパ節バイオペシー用の現在利用されているダイマーカーに対する優れた代替物として、フルオレッセインまたは同様の光活性分子の高度希釈溶液に関する。したがって、本発明は、患者および患者の血管系および組織において光活性化合物をマッピングし、可視化するシステム、方法およびキットを提供する。本発明は、さらに、外科手術中に患者または患者において発光性物質を検出するためのシステム、方法およびキットを提供する。このシステム、方法およびキットは、ここに記載するリンバマッピングおよびセンチネルリンパ節バイオペシーに用いることができる。

20

【0046】

かくして、ひとつの局面において、本発明は、ヒトを含む哺乳類における動脈、静脈またはリンパ組織を可視化するためのシステムを提供する。この局面によれば、このシステムは、約0.00001% (w/v)から約1.0% (w/v)までの濃度の蛍光性、りん光性または発光性ダイの希釈溶液を含む。このシステムは、ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせる発光性成分も含む。このシステムは、さらに、発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する特異的な波長フィルターを含む手術用メガネを含む。手術用メガネは、蛍光、りん光、および発光が生じる波長範囲にて透明である。ひとつの具体例において、希釈溶液は、生体適合溶媒中のダイの安定化溶液である。もうひとつの具体例において、ダイの濃度は、約0.0001% (w/v)から約0.1% (w/v)までである。さらなる具体例において、ダイの濃度は、約0.001% (w/v)から約0.01% (w/v)までである。ひとつの具体例において、このシステムは、さらに、発光性成分からの光をフィルターする光フィルターを含む。もうひとつの具体例において、蛍光ダイはフルオレッセインである。

30

40

【0047】

ひとつの具体例において、発光性成分は、レーザー、レーザーダイオード、光ダイオード(LED)、有機発光ダイオード、光ファイバー光源、発光ガス放電およびホットフィラメントランプよりなる群から選択される光源である。もうひとつの具体例において、発光性成分は単一LEDまたはLEDのアレイである。さらなる具体例において、LEDは青色LEDである。さらなる具体例において、青色LEDは430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する。

【0048】

ひとつの具体例において、手術用メガネのレンズは、特定波長フィルターを含む。もう

50

ひとつの具体例において、手術用メガネは跳ね上げ式特定波長フィルターを含む。さらなる具体例において、手術用メガネは、レンズ上に搭載された特定波長フィルターを有する。さらなる具体例において、特定波長フィルターはノッチフィルターである。もうひとつの具体例において、ノッチフィルターはホログラフィーノッチフィルターである。ひとつの具体例において、ノッチフィルターは、430 nmおよび490 nmの間の波長を有する光をフィルターで除去する特異的なものである。もうひとつの具体例において、手術用メガネは520 nm付近の波長にて透明である。もうひとつの具体例において、発光性成分からの光をフィルターするフィルターは発光性成分に適したWratten #47フィルターである。

【0049】

第2の局面において、本発明は、ヒトを含む哺乳類の組織中の発光性物質の位置を検出する方法を提供する。この局面によれば、この方法は、約0.00001% (w/v)から約1.0% (w/v)までの濃度の蛍光性、りん光性、または発光性ダイのような発光性物質の希釈溶液を組織に投与することを含む。この方法は、組織を発光性成分から発光された光で照射し、ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせることも含む。この方法は、さらに、ダイの蛍光に基づき組織内のダイの位置を検出することを含む。ひとつの具体例において、希釈溶液は上記したものである。

【0050】

ひとつの具体例において、発光性成分は、さらに、光フィルター発光性成分からの光をフィルターするための光フィルターを含む。もうひとつの具体例において、発光性成分は、上記した光源である。ひとつの具体例において、発光性成分は、さらに、それに選択的に結合するように構成されたプローブを含む。もうひとつの具体例において、そのプローブは、携帯式プローブ、指先装着プローブ、サージカルルーペ、内視鏡、膀胱鏡 (cytoscope)、腎盂尿管鏡、気管支鏡、喉頭鏡、耳鏡、関節鏡、腹腔鏡 (laparoscope)、結腸用内視鏡または胃腸用内視鏡であってよい。

【0051】

ひとつの具体例において、検出は、発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する特異的な波長フィルターを含む手術用メガネを用いて行われる。この手術用メガネは、蛍光、りん光、および発光が生じる波長範囲にて透明である。もうひとつの具体例において、メガネおよび特定波長フィルターは上記したものである。ひとつの具体例において、発光性物質は、ガン性、新生物、形成異常または過形成の組織に優先的に局在する。もうひとつの具体例において、発光性物質は、非ガン性、非新生物、非形成異常 または非過形成の組織に優先的に局在する。

【0052】

ひとつの具体例において、この方法は、さらに、哺乳類に外科手術を施すことを含む。もうひとつの具体例において、外科手術は、リンパマッピングまたはセンチネルリンパ節位置決定である。さらなる具体例において、この方法は、新生物 (ガン)、メラノーマ、基底細胞カルシノーマおよび鱗状細胞カルシノーマ、乳房、食道、胃、脾臓、結腸、小腸、肺、肛門もしくは直腸、子宮、前立腺、陰茎、精巣、頭または首ならびに軟組織の肉腫を持つ哺乳類の外科治療に適用される。ひとつの具体例において、哺乳類の組織は、管腔である。もうひとつの具体例において、管腔は、瘻管、輸精管、胆嚢管および総胆管よりなる群から選択される。

【0053】

ひとつの具体例において、ある蛍光性化合物およびそれらの組成物は、ここで提供される方法に採用することができる。光は、適当なフィラメント付きのアークランプ、熱フィラメントエミッタ、レーザー、発光ダイオード、または光ファイバー光源で供給することができる。ここに記載した本方法により採用することができる特定の蛍光性化合物および光源は、米国特許第6,905,884号ならびに米国特許出願公開第2004/0082863および2007/0269837号に記載され、とりわけ、それぞれの開示は、出展明示してそれらの全体が本明細書に含まれるものとみなされる。

【0054】

第3の局面において、本発明は、哺乳類の乳ガンおよびメラノーマ手術においてセンチネルリンパ節 (SLN) バイオプシーを行う方法を提供する。この局面によれば、この方法は、約0.00001% (w/v) から約1.0% (w/v) までの濃度の蛍光性、りん光性または発光性ダイの希釈溶液を組織に投与することを含む。この方法は、組織を発光性成分から発光された光で照射し、ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせることも含む。この方法は、さらに、ダイの蛍光、りん光または発光に基づき、組織内のダイの位置を検出することを含む。この方法は、乳ガンまたはメラノーマを除去する腫瘍切除を行うことも含む。ひとつの具体例において、希釈溶液は上記したものである。ひとつの具体例において、発光性成分は、さらに、発光性成分からの光をフィルターする光フィルターを含む。もうひとつの具体例において、発光性成分は、上記した光源である。ひとつの具体例において、発光性成分は、さらに、それに選択的に結合するように構成されたプローブを含む。もうひとつの具体例において、プローブは、上記したものである。ひとつの具体例において、検出は、発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する特異的な波長フィルターを含む手術用メガネを用いて行われる。手術用メガネは、蛍光、りん光、および発光が生じる波長範囲にて透明である。もうひとつの具体例において、メガネおよび特定波長フィルターは上記したものである。

10

【0055】

第4の局面において、本発明は、外科手術中に、ヒトを含む哺乳類において発光性物質を検出するためのキットを提供する。この局面によれば、このキットは、約0.00001% (w/v) から約1.0% (w/v) までの濃度の蛍光性、りん光性または発光性ダイの希釈溶液を含む。キットは、ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせる発光性成分も含む。このキットは、さらに、哺乳類に溶液を投与し、発光性成分を用いて組織を可視化する方法を説明するインストラクションを含む。ひとつの具体例において、キットは、発光性成分からの刺激光の波長をフィルターで除去する特異的な波長フィルターを含む手術用メガネも含んでもよい。手術用メガネは、蛍光、りん光、および発光が生じる波長範囲にて透明である。もうひとつの具体例において、希釈溶液は上記したものである。ひとつの具体例において、発光性成分は、さらに、発光性成分からの光をフィルターする光フィルターを含む。もうひとつの具体例において、発光性成分は、上記した光源である。さらなる具体例において、メガネおよび特定波長フィルターは上記したものである。

20

【0056】

上記の具体例に加えて、本発明のもうひとつの具体例は、哺乳類における動脈、静脈またはリンパ組織を可視化するためのシステムを提供し：0.01% (w/v) 以下の濃度にて生体適合溶媒に溶解した蛍光性、りん光性または発光性ダイの安定化溶液；ダイを刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせる発光性成分；および哺乳類にダイを投与し、発光性成分を用いて哺乳類におけるリンパ組織を可視化する方法を説明するインストラクションを含む。さらなる具体例において、センチネルリンパ節バイオプシー中に哺乳類の組織における発光性物質を検出するシステムを提供し：430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を有する青色発光ダイオード (LED) のアレイ；そのアレイに適したWratten #47フィルター；0.01% (w/v) の濃度を有する、等張 (0.9% w/v) 食塩水に溶解したフルオレッセインの溶液；および、その溶液を哺乳類に投与し、LEDを用いて組織を可視化する方法を説明するインストラクションを含む。

30

40

【0057】

上記の具体例に加えて、本発明のもうひとつの具体例は、外科手術中に哺乳類において発光性物質を検出するためのキットを提供し、430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を持つ青色発光ダイオード (LED) のアレイ；そのアレイに適したWratten #47フィルター；特定波長フィルター付きのメガネ；0.01% (w/v) の濃度を有する、等張 (0.9% w/v) 食塩水に溶解したフルオレッセインの溶液；および、そのフルオレッセイン溶液を哺乳類に投与し、LEDを用いて、その哺乳類における動脈、静脈またはリンパ組織を可視化する方法を説明するインストラクションを含む。

【0058】

50

上記の具体例に加えて、本発明のもうひとつの具体例は、哺乳類の組織における発光性物質の位置を検出する方法を提供し、その方法は、0.01% (w/v)以下の濃度にて生体適合溶媒に溶解した蛍光第の安定化溶液を組織に投与すること；その組織を発光性成分から発光された光で照射すること；および、ダイの蛍光に基づいて組織内のダイの位置を検出することを含む。

【0059】

もうひとつの具体例において、本願の可視化方法を用いて、哺乳類における様々な組織または管腔の状態を可視化することができる。ひとつの局面において、ここに開示する方法を瘻孔造影法に用いることができ、ダイを瘻孔の外口などに注入し、続いて、瘻管を可視化して状態を確認し、瘻管を閉塞または封鎖する。そのような手順を用いて、瘻孔の一次開口または複数の瘻孔を認識し、二次管または見つけられなかった一次管開口を認識することができる。もうひとつの局面において、この手順を用いて、卵管結紮術または精管切除術の成功を確認することもできる。もうひとつの局面において、この手順を、腹腔、卵巢、その管の外部および子宮の直接または間接可視化のために腹腔鏡術と組み合わせて、または、その代わりに用いることができる。もうひとつの局面において、可視化手順を用いて、胆嚢管または総胆管の状態、閉塞の有無の確認を支援することもできる。さらに、この手順を用いて、胆嚢管を2三箇所クリップし、クリップ間で切断し、取り出すべき胆嚢を遊離させる胆嚢摘出術の成功または完了を確認することができる。

【0060】

特別の局面において、この方法は、検出リンパ節中の蛍光（ガン標的または非標的）の検出を提供する。もうひとつの局面において、上記の装置を用いてサンプル中の蛍光性物質の位置を検出する方法が提供される。サンプルは生体組織であって、蛍光性物質はガン性、新生物、形成異常または過形成の組織に優先的に局在するであろう。蛍光性物質は、取り囲まれまたは構造的に統合された非ガン性、非新生物、非形成異常、または非過形成の組織に局在化するであろう。さらにもうひとつの局面において、上記の装置を用いて、サンプル中の蛍光性物質を除去する方法が提供される。サンプルは生体組織であって、蛍光性物質は、ガン性、新生物、形成異常または過形成の組織に優先的に局在するであろう。蛍光性物質は、非ガン性、非新生物、非形成異常または非過形成の組織に優先的に局在するであろう。もうひとつの局面において、上記の装置を用いて非サンプル中の蛍光性物質を除去する方法が提供される。サンプルは生体組織であって、蛍光性物質は、ガン性、新生物、形成異常または過形成の組織に優先的に局在するであろう。蛍光性物質は、取り囲まれまたは構造的に統合された非ガン性、非新生物、非形成異常または非過形成の組織に優先的に局在するであろう。さらにもうひとつの局面において、対象からガン性、新生物、形成異常または過形成の組織を除去する方法が提供され、その方法は、ガン性、新生物、形成異常または過形成の組織に優先的に局在する蛍光ダイをその対象に投与し；その対象における相対蛍光強度のレベルを検出し；ついで、その組織をレーザー切除することを含み、ここに、相対蛍光強度は蛍光ダイの優先的局在化を示している。ひとつの局面において、サンプルまたはサンプルの一部の除去または破壊は、限定されないが、電気焼灼器すなわちメス、および超音波カッターすなわちアブレータを含む。

【0061】

蛍光ダイとしてのフルオレッセイン

【0062】

ここに開示されるように、フルオレッセイン組成物を、イソスルファンブルーダイの代わりに用いることができる。フルオレッセインを皮膚の下に注射すると、それは、急速に局在所リンパ節に取り込まれ、そして、光源で活性化されるとそれは蛍光を生じる。蛍光信号に特異的な保護メガネを用いて、節を容易に見つけて、除去する。フルオレッセインの安全プロファイは、何年にもわたって文書化されているように多数の医学手順に用いられて、とても寛大に扱うことができる物質であることを示す。典型的な安全予防策は、静脈内に輸送された10% (w/v)フルオレッセイン溶液について書かれている。本願の組成物の差別化要因は、市販の溶液の濃度のたった1:1,000,000から1:10までである0.00001% (w

10

20

30

40

50

/v)および1% (w/v)の間で、フルオレッセインの高度希釈溶液を用いることである。好ましい具体例において、0.0001% (w/v)および0.1% (w/v)の間のフルオレッセインを用いる。より好ましい具体例において、0.001% (w/v)および0.01% (w/v)の間のフルオレッセインを用いる。そうなので、列記したいかなる副作用反応も、フルオレッセインの10%溶液の静脈内使用について報告されている程度において著しく少なくわずかである。

【0063】

本願のひとつの局面は、フルオレッセイン組成物が水、食塩水または生体適合溶媒中のフルオレッセインの溶液から調製することができることを規定する。フルオレッセイン（遊離酸形態として）は、いずれかの生体適合塩基（もっとも普通には、 Na^+ 、 K^+ ）の使用により生体適合pHに滴定できる。本願の特別の局面は、注射されるべきフルオレッセイン水溶液の濃度が、最適イメージを作成するためには、5% (w/v)より低いことを規定する。もうひとつの局面において、フルオレッセインの濃度は、1% (w/v)より低く、かつ、 1×10^{-5} % (w/v)より高い。もうひとつの局面において、希釈フルオレッセインはいかなる様式でも注射でき、皮下、経皮、筋肉内、静脈内および髄腔内を（排除しないが）含む。

10

【0064】

もうひとつの局面において、フルオレッセインは、230 nmから1,500 nmまでの光を発光するいかなる光源でも刺激することができる。波長の上限は多光子励起の使用を含む。ひとつの局面において、フルオレッセインの励起のための光源は、400 nmおよび510 nmの間の光を発光する。光源は、コヒーレントおよび非コヒーレント照射を生じ得る。好ましい光源は、430 nmおよび490 nmの間のピーク発光を持つ発光ダイオードである。例として、ここに開示する希釈フルオレッセインは、リンバマッピングおよび/またはセンチネルリンパ節位置決定を必要とするいかなる医療術にも用いることができ、新生物（ガン）、メラノーマ、基底細胞カルシノーマおよび鱗状細胞カルシノーマを持つ患者または患畜を含む。本発明のさらなる例として、リンバ管およびリンバ節の位置決定は、乳房、皮膚（メラノーマ）、骨、結合組織、消化器官（食道、胃、小腸、大腸、直腸、結腸、肝臓）、膵臓、結腸、小腸、肺、肛門または直腸、子宮、前立腺、婦人科（卵巣、前立腺、子宮、子宮頸管、外陰部）、泌尿器（膀胱、腎臓）、陰茎、精巣、頭頸部（唇、舌、口、咽頭）、眼、脳および中枢神経系、内分泌腺（甲状腺）、リンバ組織、および軟組織の肉腫を（排除しないが）含むガンを持つ患者または患畜のいずれかに利益をもたらすであろう。

20

【0065】

ここに開示される本方法のさらなる例として、本願の希釈フルオレッセイン組成物は、を含む他の医療術に用いることができる。限定されないが、1) 身体部分の再接合、再建手術における虚血腸管および筋肉皮弁の微小血管灌流の評価；2) 限定されないが、食道、胆管を含むすべての部位の外科接合、およびすべての下前部接合の完全性のテスト；3) 胃腸管の潜在性穿孔のテスト；4) 血管接合の完全性のテスト；5) 腹腔鏡胆嚢摘除中の総胆管の認識；6) 骨盤手術中の尿管の認識；7) 輸精管の再接合の開存の評価；8) 卵管の開存の評価；9) 手術中に損傷したであろう神経の認識；10) 脊髄周囲の硬膜嚢における欠陥を検出するための背部手術中の脳脊髄液の可視化；11) 治療的自家血パッチのための脊椎穿刺からの硬膜における漏出の位置への施術者の導き；および12) 乳房インプラントその他の再建装置を膨らまして、インプラントの漏出を検出するのに用いる液の添加を含む。

30

40

【0066】

内視鏡部品を用いないフルオレッセインの最小限侵襲性可視化の選択

【0067】

本願の具体例の例は、サンプル中の発光性物質の存在および位置を検出する方法を提供する。ひとつの局面において、発光性物質を刺激して蛍光、りん光、または発光を生じさせる適切な波長の光は、サンプルの適当な部分に向けられる。そのサンプルの部分から発光される蛍光、りん光または発光は、もしあれば、収集され、蛍光、りん光または発光の強度を用いて、その方法の施術者に聴覚的および視覚的手がかりを与える。このように、施術者は、発光性物質を含有するか、または、含有しないサンプルの部分を識別できる。

50

【0068】

この方法のさらなる例において、サンプルは生体組織を含むことができる。さらなる例において、蛍光発色団は、ガン性、新生物、形成異常または過形成の組織に優先的に局在する。かくして、本願の方法の一つの例の実施は、施術者が正常な組織とガン性、新生物、形成異常または過形成の組織とを識別できるようにする。本出願人らは、リンパ管中のフルオレッセインも経皮的に可視化することができる条件を見つけ出し、センチネルリンパ節の位置は、組織内で、リンパ管が皮膚から潜り込み、フルオレッセインが表面から消滅した点の直下に見つけ出せる。この技術は、センチネルリンパ節の位置を正確に認識することによるSLNバイオプシーアプローチの侵襲性を低減する。

【0069】

照射および可視化部品

【0070】

発光性物質から発光される蛍光、りん光または発光を刺激できる光の周波数を与える限り、いかなるタイプの発光性成分も用いることができると、当業者は理解するであろう。本発明の使用に適当な発光性成分の例は、限定されないが、レーザー、レーザーダイオード、発光ダイオード、有機発光ダイオード、光ファイバー光源、発光ガス放電、ホットフィラメントランプその他同様の光源を含む。ひとつの特別な局面において、この方法は、発光ダイオードまたはレーザーダイオードの使用を提供する。ひとつの具体例において、発光性成分は、フラッシュ光、他の携帯式独立電源光源または、光源を含む電源ボックスにより電力供給されるペン型装置であり得る。そのような発光性成分は、単一LEDまたはLEDのアレイを含有することができる。殺菌の間に、その他の光源は壊れることが分かっている。フラッシュ光その他の発光性成分は使い捨てであり得る。

【0071】

切り替え可能なデュアル光源を、本発明のシステムおよび方法に用い得る。ひとつの具体例において、デュアル光源は、ポリメチルメタクリレートポリマー製光学集光レンズに結合した7つのLEDのヘキサゴンマトリックスとして開発されてきた。例えば、白色光源も、より親しみやすいフルカラー表示を可能にする。そのようなフルカラー表示は、宿主中の原子配向およびビデオモニター上の表示に有用である。発光性成分および白色光源の双方を含むデュアル光源を用いて、蛍光表示用の非白色光と従来表示用の白色光との急速切り替えの簡単なメカニズムが提供される。そのような切り替えは、例えば、音声スイッチング、機械操作スイッチ（例えば、フットペダル）、光学操作スイッチ、または電気操作スイッチのようないずれかのメカニズムによって達成することができる。例えば、市販の光ファイバーデュアルランプキセノン光源を、青色ダイオードレーザーのあるランプのひとつを置き換えて変更することができる。もうひとつの変形は、2つの内部光源（ひとつは白色で、ひとつは非白色）および、2つの光源を切り替えるための機械的または電気機械的制御下にあるミラーまたはプリズムを含む装置であり得る。

【0072】

本願のさらなる具体例において、複数のシステムの局在化ディテクターを合わせることができ、可視光波長における放射を感知するディテクターまたは、ガンマ放射もしくは音波のような他の局在化技術を含む。代表的な具体例は、蛍光ディテクターと放射ディテクターとの組合せ、または、蛍光ディテクターと超音波変換器との組合せを含む。あるいは、ディテクターは、既知の周波数で強度変化する光を検出することによって変調光信号上にロックできるものである。同様の具体例は当業者によって理解されるであろう。

【0073】

さらに当業者によって理解されるように、いずれかのタイプの光フィルターを用いて、フィルターが、それを通過する光の一部を除去、障害、吸収、反射または偏向する能力を有するようにすることができる。本願の使用に適当なフィルターの例は、限定されないが、ノッチフィルター、ホログラフィーノッチフィルター、ロングパスフィルター、ショートパスフィルター、干渉フィルター、吸収型NDフィルター、反射型NDフィルター、赤外フィルター、プリズム、格子およびミラーを含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 7 4 】

本願による具体例の例は、サンプル中の発光性物質の存在および位置を検出する方法を含む。発光性物質を刺激して、蛍光、りん光または発光を生じさせる適切な波長の光をサンプルの特定部分に向ける。サンプルのその部分から発光される蛍光、りん光、または発光は、もしあれば、収集され、蛍光、りん光、または発光の強度を用いて、その方法の施術者に聴覚的および視覚的手がかりを与える。このように、その方法の施術者は発光性物質を含有するか、または、含有しないサンプルの部分で識別できる。本発明による方法のさらなる例において、サンプルは生体組織を含むことができる。さらにさらなる具体例において、蛍光発色団は、ガン性、新生物、形成異常または過形成の組織に優先的に局在する。かくして、本発明による方法のひとつの例の実施は、施術者が正常組織とガン性、新生物、形成異常または過形成の組織とを識別できるようにする。

10

【 0 0 7 5 】

具体例のさらなる例は、サンプル由来の発光性物質または非発光性物質を除去する方法を含む。発光性物質を刺激して蛍光、りん光、または発光を生じさせる適切な波長の光をサンプルの特定部分に向ける。サンプルのその部分から発光される蛍光、りん光、または発光は、もしあれば、収集され、蛍光、りん光、または発光の強度を用いて、もし所定のユーザーが規定したかまたは確定した閾値を超えれば、蛍光発光するサンプルの部分で切除または破壊するレーザーその他の装置を作動させる。このように、その方法の施術者は発光性物質を含有するか、または、含有しないサンプルの部分で識別でき、蛍光、りん光、または発光の閾値レベルを発光するかしないか、オペレーターの希望に依存して、サンプルの部分で切除または破壊できる。本発明による方法のさらなる例において、サンプルは生体組織を含むことができる。さらにさらなる具体例において、蛍光発色団は、ガン性、新生物、形成異常または過形成の組織に優先的に局在するであろう。かくして、ひとつの具体例において、この方法は、施術者が、正常組織とガン性、新生物、形成異常または過形成の組織とを識別し、所望するように、ガン性、新生物、形成異常または過形成の組織の部分または実質的に全てを選択的に除去または破壊できるようにする。

20

【 0 0 7 6 】

さらなる具体例において、ここに記載する蛍光システムは、蛍光出力がレーザーのような光エネルギーの切除源の点火をトリガーするより大きなシステムの部分として組み合わせることができる。光エネルギーで治療されるヒト悪性腫瘍（光力学治療）に関して、光によって破壊される組織中に濃縮する発色団は刺激されたとき蛍光発光し、破壊エネルギー源（超音波、ガンマナイフまたは光）を起動する。皮膚の入れ墨の削除に関して、発色団を破壊すべき入れ墨顔料を含有するセルに入れ、所望の蛍光出力に対して適当な増大する波長を発生させ、ついで、入れ墨の顔料が蛍光、りん光を発光し、あるいは、光スペクトルにおいてどれかの形態のエネルギーを発するとき、レーザーエネルギーを負荷することによって、同様のメカニズムを採用することができる。

30

【 0 0 7 7 】

キット

【 0 0 7 8 】

ここに記載するように、化合物、または投薬量の化合物を含む医薬組成物の投与用にキットも提供される。キットは、その化合物の使用の適当なパッケージおよび/またはインストラクションをさらに含むことができる。キットは、蛍光性化合物その他の成分を送る手段およびここに記載する装置も含む。

40

【 0 0 7 9 】

さらに、本発明の化合物は、キットの形態で組み合わせることができる。キットは、投与のために組成物を調剤するための化合物および剤を提供する。組成物は、乾燥もしくは凍結乾燥形態、または溶液、特に滅菌溶液の形態であり得る。組成物が乾燥形態の場合、剤は、液体製剤を調剤するために医薬上許容される希釈剤を含むことができる。キットは、組成物を投与するため、または、懸濁させるための装置を含有することができ、限定されないが、シリンジ、ピペット、経皮パッチまたは吸入剤を含む。シリンジは、例えば、

50

中心で曲がっていてもよい 30 ゲージ針を含むことができる。30 ゲージ針を用いるとフルオレッsein 組成物が広がりにくいことが見出された。針の曲がり、皮内で、かつ、皮膚と平行に蛍光組成物を送る助けとなるのが、特に、メラノーマに関連する方法の使用について、見出された。針の曲がり、その領域が汚染されるのを防ぐことも助ける。キットは、用いる蛍光ダイに特異的な波長フィルターを有する手術用メガネを含有することもできる。手術用メガネは処方箋要でも処方性不要でもいい。波長フィルターは、メガネのレンズとしてホログラフィーノッチフィルターであり得る。図 9 は、ノッチフィルターをレンズとして有する一対の手術用メガネを示す。キットは、組成物の調剤および投与、ならびに組成物の副作用、その他の関連情報についての適当なインストラクションを含むことができる。インストラクションは、いずれかの適当なフォーマットであってよく、限定されないが、印刷物、ビデオテープ、コンピュータ読み取り可能ディスクまたは光ディスク、およびそれらの組合せを含む。

10

【0080】

ひとつの具体例において、本発明の複数の化合物から選択される化合物、パッケージ、および使用のインストラクションを含むキットが提供される。もうひとつの具体例において、化合物または、本発明の複数の化合物から選択される化合物および少なくともひとつの医薬上許容される賦形剤、希釈剤、保存剤、安定剤、またはそれらの混合物を含む組成物を含む医薬製剤、パッケージおよび使用のインストラクションを含むキットが提供される。

20

【0081】

医薬組成物

【0082】

ここに記載する化合物（またはそれらの塩）を含む医薬組成物は、従来の混合、溶解、造粒、ドラジメイキング、湿式粉碎、乳化、カプセル化、トラッピングまたは凍結乾燥法の手段によって製造できる。組成物は、化合物の上記したように使用できる製剤への加工を容易にする 1 以上の生理学上許容される担体、希釈剤、賦形剤または補剤を用いて従来のやり方で配合できる。そのような製剤は、光化学的分解または空気酸化を含む要因に対する増強された保護を提供するように調剤することもできる。

【0083】

蛍光性化合物は、ここに記載するように、そのまま、または、水和物、溶媒和物もしくは医薬上許容される塩の形態で、医薬組成物に配合することができる。典型的に、そのような塩は、対応する遊離酸および塩基よりも水溶液中でより可溶するが、対応遊離酸および塩基よりも低い溶解性を有する塩も形成することができる。

30

【0084】

ひとつの具体例において、ここに記載されるように、本発明の複数の化合物から選択される化合物、および少なくともひとつの医薬上許容される賦形剤、希釈剤、保存剤、安定剤またはそれらの混合物を含む医薬製剤が提供される。かくして、特別の具体例において、蛍光性化合物（および、（様々な形態で）化合物を含む医薬組成物を含む、ここに記載される様々な形態）を、ここに記載する方法において、ヒトを含む動物対象に使用できる。この方法は、概略、ここに記載する方法に対して有効な、一定量の本発明の化合物、またはそれらの塩もしくは水和物を対象に投与することを含む。ひとつの具体例において、対象は、限定されないが、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、げっ歯類または霊長類を含む非ヒト哺乳類である。もうひとつの具体例において、対象はヒトである。

40

【0085】

本願の化合物および組成物は、当該分野で知られている、通例のガン検診、検出、予測、予後判定、観察またはキャラクタリゼーション方法にしたがって、投与できる。例えば、それら化合物および組成物は、静脈内、髄腔内、腫瘍内、筋肉内、リンパ内、または経口投与できる。典型的に、一定量の本願の化合物または組成物を、医薬上許容される担体と混合することができる。担体は、投与にとって望ましい製剤の形態、例えば、経口、非蛍光（例えば、筋肉内、腹腔内、静脈内、ICV、嚢内の注入もしくは点滴、皮下注射、

50

またはインプラント)、および硬膜外に依存して、様々な形態で用いることができる。組成物は抗酸化剤、安定化剤、保存剤などをさらに含有することができる。技術およびプロトコルの例は、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Ed. D.B. Troy, Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, 2006に見出すことができ、それらの開示は、出典明示により、その全体が本明細書に含まれるとみなされる。

【0086】

有用な注射可能な製剤は、水中の、化合物および組成物の滅菌懸濁液、溶液またはエマルジョンを含む。組成物は、懸濁化剤、安定化剤、および/または分散剤のような製剤化剤を含有することもできる。注射用製剤は、単位用量形態、例えば、アンプルまたは多数用量容器で提示され、保存剤が添加されていてもいい。注射可能製剤は、使用前に、限定されないが、滅菌発熱性物質フリー水、バッファー、およびデキストロース溶液を含む適当なビヒクルで復元する粉末形態で提供され得る。この目的のため、組成物は、凍結乾燥、のようないずれかの分野公知技術によって乾燥し、次いで、使用前に復元することができる。

10

【0087】

医薬組成物は、滅菌注射可能な水性または油性懸濁液の形態であり得る。この懸濁液は、上記したそれらの適当な分散または湿潤剤および懸濁化剤を用いて、公知技術により調剤できる。滅菌注射可能製剤は、非毒性非経口的に許容される希釈剤または溶媒中の滅菌注射可能溶液または懸濁液であってもよい。採用できるこれらの許容されるビヒクルおよび溶媒は水、リンガー溶液、および等張塩化ナトリウム溶液である。

20

【0088】

眼投与に関して、蛍光性化合物は、目への投与に適当な溶液、エマルジョン、懸濁液などとして調剤できる。目に化合物を投与するために適当な様々なビヒクルは当該分野で知られている。特定の非制限的な例示は、米国特許第6,261,547号；米国特許第6,197,934号；米国特許第6,056,950号；米国特許第5,800,807号；米国特許第5,776,445号；米国特許第5,698,219号；米国特許第5,521,222号；米国特許第5,403,841号；米国特許第5,077,033号；米国特許第4,882,150号；および米国特許第4,738,851号に記載されている。

【0089】

蛍光リンパマッピングの利点

【0090】

本発明は、以下の理由：1)リンパ解剖を定め、SLNを認識するのに、より小さな切開しか必要とない；2)SLNは、より正確に重なった組織の層を通して認識でき、それによって、手術時間を削減する(現行のSLN認識法は、青色ダイをみるたのに完全な郭清を要求し、放射能の不正確な測定に依存する。)；3)イオン化照射の必要性が排除できる；4)Lymphazurin^Rの注射によって引き起こされる1%の可能性の生命に脅威を与えるアナフィラキシー事故を回避できる；5)フルオレッセインは、すでに、広く頒布され、外科医になじみがあり、結腸ガン患者のリンパマッピングに用いられている；および6)フルオレッセインは、Lymphazurin^Rと比べると比較的安価である(Lymphazurin^Rのみで治療に\$108かかり、それに対して、フルオレッセインは\$2.10である)、から、フルオレッセイン(蛍光リンパマッピング)の手術中使用がSLNバイオブシー術を向上し、治療成績を向上することを実証する。

30

40

【0091】

本発明によるリンパマッピング、SLN認識、および究極的には腫瘍マージン認識の適用は、USPフルオレッセインのmm単位以下の精度の敏感な検出のためのさらに汎用的な適用を提供する。

【0092】

ブタの後肢に皮内注射されたCy5-コバラミンバイオコンジュゲートが鼠径部センチネルリンパ節を認識できることは、すでに示されている。McGreevy, et al. ("Minimally invasive lymphatic mapping using fluorescently labeled vitamin B12." The Journal of surgical research (2003), 111(1):38-44)を参照せよ。ここに示されるように、ブタの

50

肢に皮内注射されたフルオレッセインは、センチネルリンパ節も認識できる。さらに、1% イソスルファンブルーを、フルオレッセインと同じ場所に注射すると、2つの検出技術が、輸入リンパおよびセンチネルリンパ節に、同じ位置付けをした。フルオレッセインからの蛍光信号は、1%イソスルファンブルーと比較して、輸入リンパおよびセンチネルリンパ節の向上した検出を提供する。しかも、フルオレッセイン蛍光は、経皮的に明確に見ることができ、皮膚切開を行う前にセンチネルリンパ節の向上した位置付けを可能にする。この経皮蛍光は、センチネルリンパ節検出における放射線トレーサーの排除を可能にするかもしれない。

【0093】

希釈フルオレッセイン製剤の重要な利点

10

【0094】

ここに示されるように、ブタで得られたデータは、0.01%フルオレッセインナトリウム（非経口投与用にパックされた市販の10% USP フルオレッセインナトリウムの1,000倍希釈）が、無希釈10% USPフルオレッセインナトリウムよりも、明るく蛍光発光することを示す。10%フルオレッセインは、暗橙色を有し、十分に高い光学濃度を有していて、溶液上に衝突するほぼすべての光子が溶液光路の最初の数ミクロンで吸収されてしまう。高蛍光性かつ濃色ダイに固有の光物理特性は自己消光であり、励起電子状態にあるダイ分子が別のダイ分子と共鳴エネルギー移動し、内部転換により最終的に励起エネルギーが消失する。これらの特性は、励起と発光極大との間で小から中程度のストークスシフトを示すほぼすべての蛍光ダイに存在する。

20

【0095】

本発明は、ヒトを含む哺乳類に多くの利益を与える。対象、例えば、皮膚ガンの対象は、メラノーマ、基底細胞カルシノーマ、および鱗状細胞カルシノーマの患者を含み、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。乳ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。食道ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。胃ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。膵臓ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。結腸ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。小腸ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。肺ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。肛門または直腸ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。子宮ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。前立腺ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。陰茎ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。精巣ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。頭頸部ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。軟組織の肉腫ガンの対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を知ることから利益を得る。さらに、施術者がリンパ解剖の位置を知る必要のあるいずれの医療使用の対象は、リンパ管およびリンパ節の位置を認識するための希釈フルオレッセインの使用から利益を得る。注入および可視化は、手術室内、クリニック内、手術前室内、または他のいずれの適当なセット内で実行できる。

30

40

【0096】

好ましい蛍光ダイ、すなわちフルオレッセインは、さらなる利点を提供する。例えば、フルオレッセインを用いて、身体部分の再接合、再建手術における虚血腸管および筋肉皮弁の微小血管灌流を評価できる。フルオレッセインを用いて、限定されないが、食道、胆管を含むすべての部位の外科接合、およびすべての下前部接合の完全性をテストできる。フルオレッセインを用いて、胃腸管の潜在性穿孔をテストできる。フルオレッセインを用いて、血管接合の完全性をテストできる。フルオレッセインを用いて、腹腔鏡胆嚢摘除中の総胆管を認識できる。フルオレッセインを用いて、骨盤手術中の尿管を認識できる。フルオレッセインを用いて、輸精管の再接合の開存を評価できる。フルオレッセインを用いて、蛍光剤を神経に結合させることによって、手術中に損傷したであろう神経を認識でき

50

る。フルオレッセインを用いて、脊髄周囲の硬膜嚢における欠陥を検出するための背部手術中の脳脊髄液を可視化できる。フルオレッセインを用いて、治療的自家血パッチのための脊椎穿刺からの硬膜における漏れの位置への施術者を導ける。フルオレッセインは、乳房インプラントその他の再建装置を膨らまして、インプラントの漏出を検出するのに用いる液に、濃縮降る俺セインをインプラントに入れることによって、添加でき；漏出は、蛍光性化合物が血液へ、そして尿へと漏れ出すことを引き起こして、蛍光が漏出インプラントを示す。

【実施例】

【0097】

本発明は、以下の実施例を参照して説明するが、それは例示であり、いかなるようにも本発明を限定する意図はない。当該分野でよく知られている標準技術または以下に特別に記載された技術を用いる。

【0098】

[実施例1]

初期実験

照射装置は高強度青色発光ダイオード(LED)に基づき、480 nmを中心とし、約90 nmの半値バンド幅を有する強烈なバンドの光を発光する。照射ハウジングの集光および平行補正レンズの前にWratten #47フィルターを置くことによって、半値バンド幅を約70 nmまで狭くする。この構成で発光された青色光は、理想的には、フルオレッセインの経皮励起に適し、特別に選択された黄橙色レンズによって効率よく遮断され、レンズは写真文書目的の写真フィルターホルダーまたは外科医すなわちユーザーに着用されるメガネフレームに装着できる。

【0099】

LED光源からの強いが、スペクトル的に狭いバンドの青色光を除去するホログラフィーノッチフィルター (Kaiser Optical) をサージカルルーペアダプターにはめた。Stryker Endoscopyに用いられるカメラアダプター設計は、そのまま、他社製造のカメラアダプターから変更し構築するよりも非常に簡単であった。ホログラフィーノッチフィルターをはめたコンパクトなサージカルルーペを図1に示す。

【0100】

高強度3-および5-ワットLuxeon LumiLEDの光源を製造し評価した。ヘキサゴンバックアレイでPCBに搭載した7つのLuxeon 3-ワットLEDのアレイ(図2)は、オープン外科郭清におけるフルオレッセインの励起用の光源として最良であることが分かった。これらのLEDは、アレイの前に固定したWratten #47フィルターでさらにフィルターすると、フルオレッセイン励起に最適化した強力な青色光を生じる。この光源は、外科医によって操作される標準滅菌プラスチック製ハンドル(Karl Storz, Inc.)を受けるスライディングサポートに搭載される(図3)。橙色眼鏡(U60, NoIR Medical)を用いると、オープン郭清用の装置はそのプロジェクトを推進するのに十分である。

【0101】

切り替え可能なデュアル光源は、図4に示すポリメチルメタクリレートポリマー製光学集光レンズ (Polymer Optics, Ltd, UK) に連結した7つのLEDのヘキサゴンマトリックスで開発され、さらに液体光ガイドに集光する。液体光ガイドを通過する通過光は2 m以上で70%を超える。

【0102】

オープン郭清におけるリンパマッピングのためのフルオレッセインを照射する装置は、最初、3匹のブタで評価した。リンパ管中およびおよびセンチネルリンパ節中のフルオレッセインの検出は、素晴らしい成功をおさめ、図5、6および7に像を示す。フルオレッセインを励起する最適波長を選択して、皮膚を通してリンパ管を見えるようにする。図8は、リンパ管中のフルオレッセイン移動の時間経過である。これは注目に値する。なぜならば、オープン郭清、しかし、外科切開を行う前にリンパ本幹での可視化に、センチネルリンパ節 検出用のフルオレッセイン組成物の使用を許可することができるからである。

さらに、ここに記載した本方法によれば、フルオレッセインの最適濃度は、市販の10%フルオレッセインよりも、注射用に約0.01%である。これは、1%または10%フルオレッセインを採用したリンパマッピングのためのフルオレッセインを使用する他の公開された試みに対して、著しい改善である。

【0103】

[実施例2]

原料および方法

フルオレッセイン：10%フルオレッセイン USP (Mallinckrodt Baker, Inc., Phillipsburg, N.J.)を規定食塩水で希釈して、0.001%、0.01%、および0.1%の濃度にした。その希釈フルオレッセインを、1.0 mlツベルクリンシリンジを用いて、ブタの遠位前肢および後肢の真皮に注射した(0.5-1.0 ml)。皮膚注射の用量および回数は、結果によって変化した。何回か、最初の注射が大きなリンパ本幹を明るくして、皮膚を通して簡単に見えた。これは、前肢よりも後肢でより頻繁に起こった。時々、チャンネルを明るくするのに数回の注射が必要であった。また、何回か、リンパチャンネルは皮膚注射では、満たされなかった。これは、前肢でのみ起こった。もっとも頻繁には、3回未満の注射で、リンパチャンネルが肢から節へと流れてるいるのが皮膚を通して見え、センチネル節を含有する節流域へと導いた。このモデルにおいて、センチネル節は皮膚を通して見えなかった。開放手術創で毎回明るく蛍光発光したセンチネル節を露出して、主要な幹を認識した。LymphazurinTM (1%イソスルファンブルー、Covidien, Norwalk, CT) を、0.4から1.0 mlの体積で経皮注射して、リンパチャンネルを認識させたフルオレッセインとの共局在化を評価した。

10

20

【0104】

蛍光刺激および発光検出：高強度青色発光ダイオード(LED)に基づき、480 nmを中心とし、約90 nmの半値バンド幅を有する強烈なバンドの光を発光する照射装置を用いた。照射ハウジングの集光および平行補正レンズの前にWratten #47フィルターを置くことによって、半値バンド幅を約70 nmまで狭くする。この構成で発光された青色光は、理想的には、フルオレッセインの経皮励起に適し、特別に選択されたB+W #023 3X Multi-Reflection Coating (MRC)黄橙色レンズによって効率よく遮断され、レンズは写真文書目的の写真フィルターホルダーまたは外科医すなわちユーザーに着用されるメガネフレームに装着できる。

30

【0105】

リンパマッピングのブタモデル：平均体重30 kgの青年期後メスブタをユタ大学アニマル・リソース・センター (the University of Utah Animal Resource Center)で飼育した。最低5日間の順化期間後、ブタを12時間絶食させた。麻酔導入をTKX 溶液 (4.4 mg/kg Telazol、2.2 mg/kg Ketamineおよび2.2 mg/kg Xylazine) のIM注射で行った。次いで、ブタに挿管し、機械的通気にして1-2% Isofluraneで麻酔した。それらを、動き、呼吸または急速心拍数のような軽い麻酔の兆候について、アニマル・リソース・センターのテクニシャンによって観察した。麻酔の外科平面を確立した後、耳翼辺縁静脈にIVを入れ、確実にした。22 ml/kg/分の規定食塩水滴下を確立して、ブタの水分補給を維持し、薬物投与のルートを与えた。通常麻酔の深い外科平面下、動物をEuthanasiaで安楽死させた。この方法は、米獣医学会安楽死委員会 (the Panel on Euthanasia of the American Veterinary Medical Association) および国際実験動物管理公認協会 (the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International (AAALAC)) の推奨に合致する。

40

【0106】

[実施例3]

リンパマッピング

全部で5匹のブタにつきすべての四肢を用いて研究し、評価したリンパ節流域の総数は20であった。10のフルオレッセイン後肢注射のうち、9 (90%)が皮膚下のリンパ本幹がSLNに導くことを示した。研究に利用可能な前肢において、7のフルオレッセイン注射を行って、たったの一つ(14%)がSLNに導く可視蛍光を示した。ブタの前肢においてフルオ

50

レッセインでのリンパ本幹の可視化が悪かったので、研究した最後の動物の前肢への注射は中止した。前肢において、lymphazurinを4回注射し、SLNに導くことができなかった。ブタの前肢リンパ排液は、ブタ後肢で確実に見られるように(Wallace, et al. "Lymphose ek: a molecular imaging agent for melanoma sentinel lymph node mapping." *Annals of Surgical Oncology* (2007) 14(2):913-21.)、表層的なものよりも頻繁に深いリンパに導くのであろうと感じた。

【0107】

注射方法：常圧下での完全皮膚注射が最良の結果をもたらすことが見出された。リンパ本幹は、しばしば、リンパ系において皮膚の下での蛍光マーカーの急速進行で即座に可視化された。このようにならなければ、注射部位を原部位から1センチメートル離れたところに移動することで、普通はうまくいった。皮下組織への注射は、確実にリンパ系に排出しなかった。

【0108】

蛍光リンパマッピング：蛍光イメージングの強度が、執刀外科医が皮下のリンパ系から鼠径部まで追跡できるようにすることが分かった。信号が消えたところで切開を行い、その位置で輝くリンパ本幹をSLNまで追跡できた。図10は、皮膚切開に導くリンパ本幹および、SLN切開内の蛍光信号である。強い蛍光信号が、二分されたSLNに見られた(データ示さず)。

【0109】

同時lymphazurin注射での無効化：最初の2匹のブタにおいて、1.0 mlのLymphazurinTMを注射して、フルオレッセインによって明るくなっているリンパ系が、SLN手術で外科医が普通に用いている青色ダイで満たされているものとおなじであることを確認した。それぞれの場合において、2つのマーカーは同じリンパ本幹に共局在化し、同一のSLNに排出された。LymphazurinTMがフルオレッセインの蛍光を消光し、そこでは、それらが同時に存在することも分かった。図11は、両方のマッピング剤を含有するリンパ本幹を示す。

【0110】

これらの結果は、リンパマッピングおよびリンパ節位置決定に伝統的に用いられてきた非蛍光 青色ダイ、Lymphazurin^Rよりも優れていることを実証する。手術中リンパマッピング剤としてのフルオレッセインの使用の成功への重要事項は、ここに記載した照射および可視化システムの使用であり、それは皮膚を通してフルオレッセインリンパマッピング剤の直接可視化を可能にする。

【0111】

[実施例 4]

ヒトメラノーマ臨床試験

0.75 mm以上のBreslow厚の皮膚悪性メラノーマ、またはClarkレベルIV/V合併症、または潰瘍形成の患者が試験に登録された。すべての患者が、手術の24時間前までに99m-テクネチウム標識硫黄コロイドで術前リンパシンチグラフィーを受けた。通常用いられる手術中生体青色ダイをフルオレッセインに置き換えた。フルオレッセインの初期開始用量は、0.001%であり、1 mlを手術中に、メラノーマバイオプシー部位の周囲4か所に経皮注入した。この用量にて、センチネルリンパ節蛍光を5人の患者中3人において認識した(60%)。プロトコルにより、蛍光は80%未満の患者に観察されたので、用量を0.01%に増やした。この用量にて、蛍光は5人の患者中4人で観察され、プロトコルにより、この用量が適切用量と決定した。0.01% 用量を次なる第II段階実験に用いた。センチネルリンパ節蛍光は、今まで、第II段階実験で研究された51人の患者すべてで観察されている。

【0112】

本発明を説明する文脈において(特に特許請求の範囲の文脈において)、用語「a」および「an」および「the」ならびに同様の指示対象の使用は、ここに特記するか、または、文脈から明らかに反意しない限り、単数および複数の双方を包含すると解釈されるべきである。用語「comprising」、「having」、「including,」、および「containing」は、

特記ない限り、オープンエンド用語（すなわち、「限定されないが、含む」を意味する）と解釈されるべきである。ここでの値の範囲の列記は、特記しない限り、その範囲に入る個々の値各々を個別に参照する省略表現方法として機能させるだけの意図であり、個々の値各々は、あたかもそれが個別に記載されているかのように明細書に含まれている。例えば、もし、範囲10-15が開示されていれば、11、12、13、および14も開示されている。ここに記載されるすべての方法は、ここに特記するか、または、文脈から明らかに反意しない限り、いずれかの適当な順序で実行できる。いずれのおよびすべての例、または代表的言語（例えば、「such as」）のここでの使用は、本発明をより明らかにするだけの意図であり、特記しない限り、本発明の範疇に制限を置くものではない。明細書のどの言語も、特許請求されていない要素を本発明の実施に必須であると解釈されるべきではない。

10

【0113】

本発明のシステム、方法および組成物は様々な具体例の形態で含まれ、それらのうちの少しだけがここに開示されている。この方法の具体例は、ここに記載され、本発明を実施するために発明者らに知られているベストモードを含む。それらの具体例の変形は、前記の説明を読み、図面を参照することによって、当業者に明らかになるであろう。発明者らは、当業者がそのような変形を適当に採用することを期待し、発明者らは、本発明がここに特別に説明した以外にも実施されることを意図している。したがって、本発明は、付随する特許請求の範囲で言及される内容のすべての修正および等価物は適用される法律によって許可されるように含む。さらに、そのすべての可能な変形における上記の要素のいかなる組合せも、ここに特記するか、または、文脈から明らかに反意しない限り、本発明に

20

【0114】

本発明は、いくつかの具体例を有し、当該分野で知られている詳細について、特許、特許出願その他の引用文献に依拠する。それゆえ、特許、特許出願その他の引用文献がここに引用されているとき、すべての目的ならびに言及された提案につきそのすべてが出典明示して本明細書に含まれていると理解されるべきである。

【 図 1 】

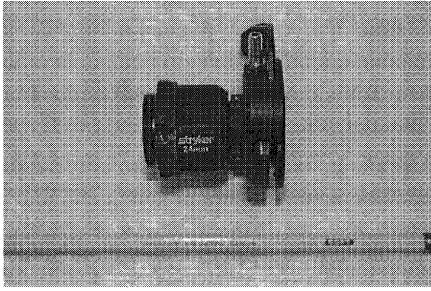


Figure 1

【 図 2 】



Figure 2

【 図 3 】

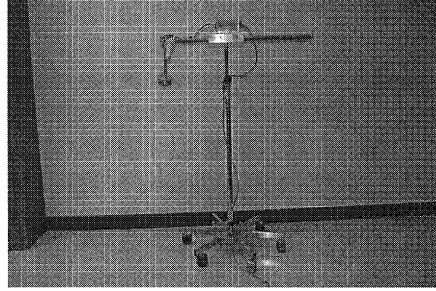


Figure 3

【 図 4 】

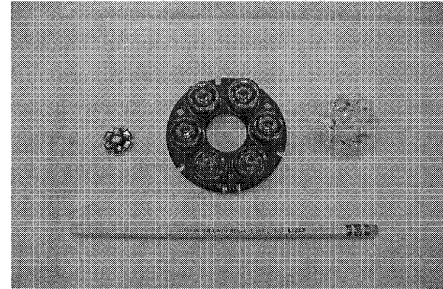


Figure 4

【 図 5 】

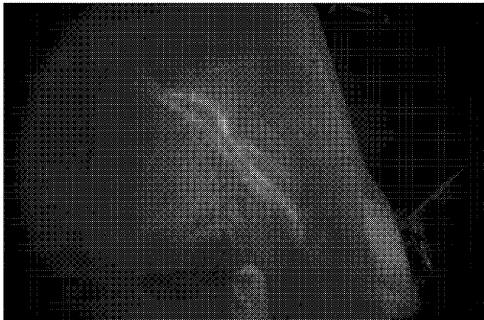


FIG. 5

【 図 7 】



FIG. 7

【 図 6 】

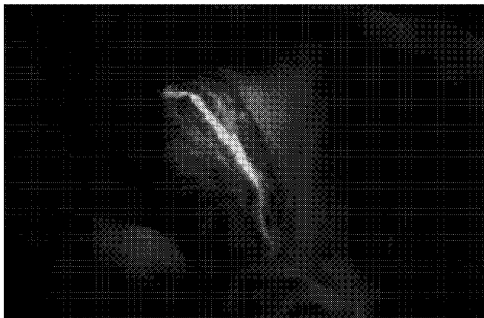


FIG. 6

【 図 8 】

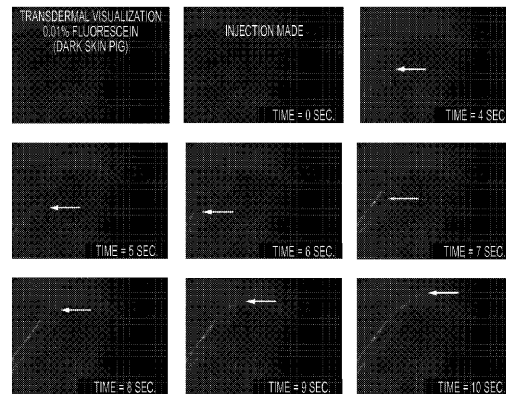


FIG. 8

【図 9】

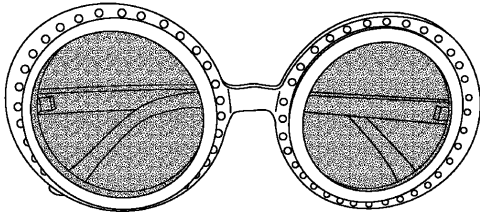


FIG. 9

【図 10】

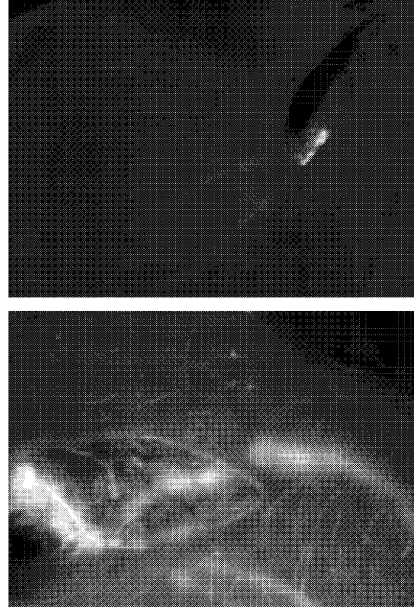


FIG. 10

【図 11】

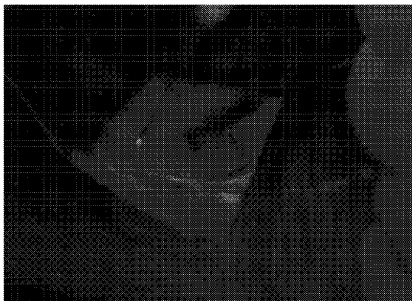


FIG. 11

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2010/031882

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - G01N 21/64 (2010.01) USPC - 435/4 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - A61B 1/00; G01N 21/64, 33/00, 33/52, 33/574 (2010.01) USPC - 435/4, 7.23; 436/63, 64, 164 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatBase		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2007/070680 A2 (KOBAYASHI et al) 21 June 2007 (21.06.2007) entire document	1-4, 10-15, 19, 28-30, 36-39, 45-48
Y	US 2007/026937 A1 (MCGREEVY et al) 22 November 2007 (22.11.2007) entire document	1-4, 13-15, 19, 28-30, 36-39
Y	US 2006/0084177 A1 (HAIDEKKER et al) 20 April 2006 (20.04.2006) entire document	4, 10-12, 39, 45-48
Y	WO 2008/040994 A2 (SAID) 10 April 2008 (10.04.2008) entire document	10-12, 45-48
Y	US 2006/0141404 A1 (PHILIP JR et al) 29 June 2006 (29.06.2006) entire document	11, 46, 48
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 27 May 2010		Date of mailing of the international search report 09 JUL 2010
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2010/031882

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 5-9, 16-18, 20-27, 31-35, 40-44
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 チャールズ・ビー・グリッソム

アメリカ合衆国 8 4 1 0 8 ユタ州ソルト・レイク・シティ、イースト・コマンチー・ドライブ 2 7 4 0 番

(72)発明者 ジェイムズ・エム・マクグリービー

アメリカ合衆国 8 4 1 2 1 - 6 3 0 8 ユタ州ホラデイ、サウス・ヒューズ・キャニオン・ドライブ 6 5 3 2 番

(72)発明者 ロベルト・ハンス・インゲマル・アントバッカ

アメリカ合衆国 8 4 1 2 4 ユタ州ソルト・レイク・シティ、ザラヘムラ・ドライブ 4 4 3 0 番

Fターム(参考) 2G043 AA03 BA16 CA03 EA01 EA02 EA06 JA02 KA02 KA05 KA09
LA05

专利名称(译)	用于手术成像或前哨淋巴结活检的发光模具		
公开(公告)号	JP2012524904A	公开(公告)日	2012-10-18
申请号	JP2012507346	申请日	2010-04-21
[标]申请(专利权)人(译)	犹他大学研究基金会		
申请(专利权)人(译)	犹他州研究基金会大学		
[标]发明人	チャールズビーグリッソム ジェイムズエムマクグリービー ロベルトハンスインゲマルアントバッカ		
发明人	チャールズ・ビー・グリッソム ジェイムズ・エム・マクグリービー ロベルト・ハンス・インゲマル・アントバッカ		
IPC分类号	G01N21/64 A61B19/00 A61B10/00		
CPC分类号	G01N21/6447 A61B5/0059 A61B5/0091 A61B5/415 A61B5/418 A61B90/39 A61B2090/3941 G01N21/6428 G01N2021/6471 G01N2201/062		
FI分类号	G01N21/64.F A61B19/00.501 A61B10/00.E A61B10/00.T		
F-TERM分类号	2G043/AA03 2G043/BA16 2G043/CA03 2G043/EA01 2G043/EA02 2G043/EA06 2G043/JA02 2G043/KA02 2G043/KA05 2G043/KA09 2G043/LA05		
代理人(译)	田中，三夫 山崎 宏 佐藤 剛 坂田启二		
优先权	61/171414 2009-04-21 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明一般涉及荧光染料领域，作为用于外科成像的系统。更具体地，本发明涉及用来自光源的光激发荧光，磷光或发光分子并检测从荧光，磷光或发光分子发射的相对荧光，磷光或发光光强度的系统，方法和试剂盒。这种系统可以用作各种手术技术的标测剂，例如用于癌症手术和活组织检查。

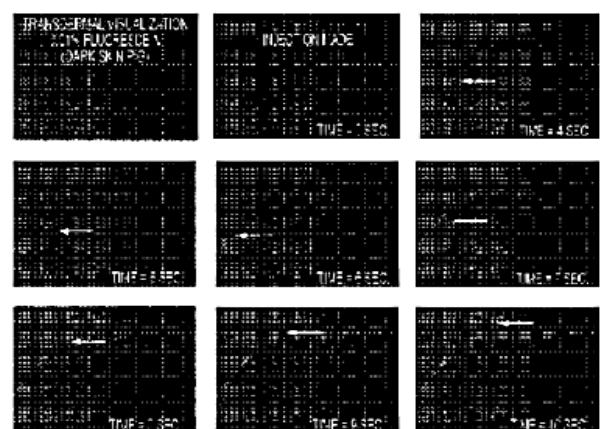


FIG. 8