

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 31日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791181

研究課題名（和文） 生理的食塩水等の既存臨床薬剤を用いた MR リンパ管イメージング法の開発

研究課題名（英文） Development of contrast-enhanced MR lymphangiography using clinically available medical agents

研究代表者

小坂 信之（KOSAKA NOBUYUKI）

福井大学・医学部・助教

研究者番号：60397247

研究成果の概要（和文）：本研究では、生理的食塩水等の臨床的に用いられている薬剤を使用し、MRI 等を併用することにより、新しいリンパ管・リンパ節のイメージング法を開発することが目的であった。まず、光イメージングの手法により、小分子蛍光物質の水溶液であっても皮下注射により、リンパ管・リンパ節が描出されることを確認できた。続いて、健常ボランティアにおいて、生理的食塩水の負荷と特殊な MRI 撮影法（脂肪抑制併用 heavy T2 強調画像等）と画像処理により、正常のリンパ管の描出に成功した。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to develop novel contrast-enhanced MR lymphangiography methods using clinically available medical agents. First, we employed optical imaging methods to reveal that subcutaneous injection of fluid depicted lymphatic basins in mice, and then MR imaging was conducted with healthy volunteers. After subcutaneous injection of saline (clinically available medical agents) at forearm, lymphatic ducts were clearly depicted on heavy T2 weighted images with post-image processing.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線医学

キーワード：放射線、MRI、リンパ管、リンパ節、トランスレーショナル

1. 研究開始当初の背景

リンパ系はしばしば“忘れ去られた循環系（the Forgotten Circulation）”と呼ばれることがある通り、動脈系、静脈系の循環に比べ、イメージング法が限られている。現在、一般的に臨床的に用いることができるリンパ管の描出法としては、X線リンパ管造影と

放射性医薬品を用いたリンパシンチグラフィの2つしかない。前者は皮下のリンパ管を外科的に露出させ、その中にX線造影剤を投与し、直接リンパ管を描出するものであるが、侵襲度が高く、まれに肺塞栓といった致命的な合併症が起こりうるため、現在の日常臨床ではほとんど用いられない。後者のリン

パシチンググラフィは、空間解像度が低く、大きなリンパ管しかとらえることができないといった問題点がある。このように現在臨床で用いられているリンパ管イメージング法は不十分な点が多い。

近年、乳癌等の術後患者のリンパ浮腫の病態評価や、さまざまな癌におけるセンチネルリンパ節の同定などを目的として、リンパ管・リンパ節イメージングに対する臨床的必要性が高まってきている。そのため、新しいリンパ管イメージング法の開発が動物実験を中心として研究されており、中でも光イメージングとMRIを用いた研究が盛んである。特にMRIは、高い空間分解能、放射線被曝がない、非侵襲的に対象の深部から表在まで描出可能といった利点があり、新しいリンパ管描出法の非常に有力な方法である。しかしながら、これらの研究に用いられている造影剤は新規に開発された薬剤であり、人体への投与については、その体内動態や毒性などの厳密な評価が必要であり、それらは相当の時間とコストがかかる点が問題としてあがる。

2. 研究の目的

本研究では、生理的食塩水等の臨床的に用いられている薬剤を使用し、MRIの特殊な撮影法や画像処理を併用することにより、新しいリンパ管・リンパ節のイメージング法を開発することを目的とした。

リンパ系は受動的に組織間質内の余分な液体をリンパ管内に取り込み、それを体循環に戻すという役割を果たしている。したがって、組織間質内に液体を注入すると、その液体はリンパ管内に取り込まれることとなる。一方、MRIは水分子から非常に強い信号を得ることができるため、水のみを信号を抽出することが可能であり、日常臨床の場において胆管や尿路、脳脊髄液の抽出などに広く用いられている。したがって、外部から皮内に投与され、リンパ管内に取り込まれた液体の増加分のみの信号を画像化することができれば、リンパ管のみを抽出することが可能であるという仮説を検証する事を初期検討課題とした。

当初は、より実施が容易で自由度が高い光イメージングの手法を用い、小動物において、使用薬剤の種類・濃度や投与方法の検討、MRIの各種パラメーターの最適化などを行い、人体への応用に向けて、もっとも効率的なイメージング法の確立を目指した。その後、健常ボランティアにおいて、新たに開発したイメージング法が人においても小動物と同様に効果的にリンパ管を描出することができるかどうかを検討した。

3. 研究の方法

(1) 小動物と光イメージングを用いた検討

まず光イメージングの手法を併用し、小動物において、皮内注射によりリンパ管やリンパ節が描出されるかどうかについて検討を行った。具体的には、麻酔下のマウスにおいて、比較的大きな分子（直径数～数十ナノメートル）で、良好なリンパ管造影効果が報告されている量子ドットを含んだ水溶液を皮内～皮下に注入し、報告通りリンパ管およびリンパ節が描出されるか検討した。また、注射部位により、描出されるリンパ領域の違いを検討した。その後、今回MRIで用いる生理的食塩水などと同様の動態を示すことが推測される、小分子蛍光物質を含んだ水溶液を同様に皮内～皮下に注入し、量子ドットと比較して、どの程度リンパ管、リンパ節が描出されるか検討した。

(2) MRIを用いた検討

まず、ファントムと研究用のマイクロコイルを用いて、撮影シーケンスのパラメータの最適化について検討を行った。撮影シーケンスを確定した後、それに引き続いて、健常ボランティアにおいて、前腕や下腿皮下に生理的食塩水を皮内～皮下に注入して、複数のMRIシーケンス（T2強調画像、balanced steady-state free precession (FIESTA)、脂肪抑制T2強調画像、heavy T2強調画像など）、複数の画像処理（Maximum intensity projection (MIP)、subtraction imageなど）を用いて、リンパ管描出の可否、また最適なMRシーケンスの検討を行った。画像評価については、臨床経験が10年以上の放射線科画像診断専門医1名が行った。

4. 研究成果

(1) 小動物と光イメージングを用いた検討
まず、麻酔下のマウスにおいて、すでに報告のある量子ドット水溶液を用いたリンパ管、リンパ節の描出能の検討を行った。注入した部位により、異なる領域のリンパ装置が、リアルタイム光イメージング装置（FluoroVivo）にて明瞭に描出された。耳→頸部リンパ節、下顎→顎下リンパ節、前肢→腋窩リンパ節、下腹部→腋窩リンパ節、後肢→鼠径リンパ節といったように、注射部位により異なるリンパ領域の描出が確認できた（図1）。続いて、今回MRIで用いる生理的食塩水などと同様の動態を示すことが予想される、小分子蛍光物質を含んだ水溶液（Alexa Fluoro680）を同様の手技で麻酔下のマウスに皮内注射を行い、リンパ装置の描出を検証した。このような水溶液でもリンパ管やリンパ節が視覚的に描出可能であったが、量子ドット水溶液の場合と比較して、明らかに描出能は低かった。

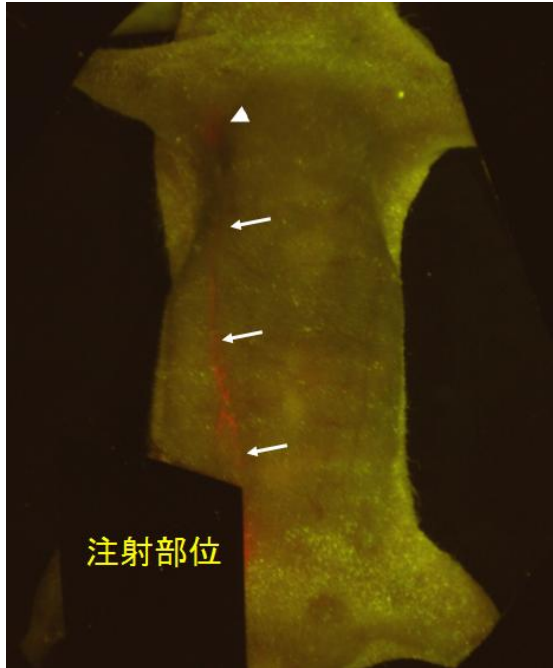


図1 光イメージングによるリンパ管の描出。右下腹部皮内に注射された蛍光物質を含んだ水溶液により腹壁のリンパ管が明瞭に描出され（矢印）、最終的には右腋窩リンパ節（矢頭）にリンパ流が達している事が明瞭に描出されている。注射部位は極端に強い蛍光をカットするためブラックテープで覆っている。

（2）MRI を用いた検討

生理的食塩水をファントムとして、研究用マイクロコイルで撮影シーケンスの最適化を行った後、健常ボランティアにおいて、生理的食塩水約 3mL を皮下に注射し、リンパ管の描出を試みた。前述の通り、複数の MRI シーケンスを生理的食塩水投与前後に撮像した。また、投与部位（前腕および下腿）、投与後の経過時間、投与後の圧迫の有無なども検討した。当初は、リンパ管の描出が見られなかったが、投与後すぐに撮影する（5 分以内）、投与後に注射部位を数秒圧迫するといった、投与法の工夫により、前腕にてリンパ管の描出に成功した。その際、複数のシーケンスを撮影し、その描出能を、放射線科画像診断専門医により評価したところ、生理的食塩水投与後の脂肪抑制を併用した heavy T2 強調画像から、投与前の同シーケンスで撮像した画像を減算処理（subtraction）し、得られた画像を最大値投影法（Maximum intensity projection ; MIP 法）で画像処理を行ったものが最もリンパ管を明瞭に描出することができた（図 2）。しかしながら、現時点では以下の問題点が残し、現在その解決に向けて実験を継続している。

- ①□投与後の撮像可能時間が短い点。投与後早期に撮像しないと、生理的食塩水が拡散するため、描出能が低下すると考えている。これについてはリンパ管内での貯留を延長する工夫（粘稠度など）が必要であると考えている。
- ②□注射部位により描出の再現性が不良な点。これはおそらく解剖学的な差異が最も影響があると考えている。また、皮内か皮下かといった点や投与後の圧迫法、投与後の時間なども影響している可能性がある。投与方法も含めた再現性の確保が今後重要であると思われた。
- ③□投与部位の疼痛。皮内から皮下に注射するため、投与部位の疼痛がやや強かった。他の手法で報告されているように、麻酔薬の混合など、疼痛の低減も重要な課題と考えている。



図2 生理的食塩水の皮内注射による MR リンパ管イメージング。前腕手関節近くの皮内に投与した生理的食塩水の効果で、投与部位の中枢側（前腕から肘部）のリンパ管が描出されている（矢印）。画像については、脂肪抑制併用 Heavy T2 強調画像の投与前後を減算処理し、得られた画像の最大値投影法（MIP 法）を用いて表示している。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

〔学会発表〕(計1件)

小坂信之 他、Clinical Applications of Contrast-Enhanced Optical Imaging in Cancer. 第98回北米放射線学会、2012年11月25日-30日、シカゴ(米国)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小坂 信之 (KOSAKA NOBUYUKI)

福井大学・医学部・助教

研究者番号：60397247

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし