

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861019

研究課題名(和文) ナノダイヤモンドを用いた新規MRI造影剤のMRリンパ管造影への応用

研究課題名(英文) MR Lymphangiography using gadolinium (GD) -DTPA - nanodiamond particles

研究代表者

松本 知博 (MATSUMOTO, Tomohiro)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：30710983

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：リンパ系の画像化技術は、血管系画像に比して大きく遅れをとっている。本研究の目的は、新規MRI造影剤として開発されたGd-DTPA-Ndナノ複合粒子(Gd-DTPA-Nd)を用いた安全で有効なリンパ系の画像化に応用することである。本研究では、in vitroにおいて、既存のMRI造影剤(Gd-DTPA)と比較して、強い造影効果を有することが示された。次に、細胞生存性実験により、Gd-DTPAとの差が無いことが明らかとなった。現在、ラットを用いてin vivoでのGd-DTPA-Ndの注入によるリンパ系描出能の評価が進行中である。

研究成果の概要(英文)：Techniques to visualize the lymphatic system have lagged behind imagings of the cardiovascular system. Our purpose is to use the gadolinium (GD) -diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) -nanodiamond (ND) to safely and effectively image the lymphatics on magnetic resonance (MR) lymphangiography. MRI experiments on the GD-DTPA-ND particles indicated their high signal intensity on T1-weighted images. GD-DTPA-ND cell viability test shows the comparable result with existing GD-DTPA. Now, MR lymphangiography using the GD-DTPA-ND in small animal model is currently in progress.

研究分野：放射線医学(血管内治療・画像化治療)

キーワード：ナノダイヤモンド MRI リンパ管造影

1. 研究開始当初の背景

リンパ系は循環系の一部であるとともに免疫系の重要な装置でもある。リンパ管が損傷・破綻すると、長鎖脂肪酸やアルブミンといった栄養学的喪失だけでなく、電解質の喪失や免疫グロブリンの喪失も伴う。この状況が続けば、重度の低栄養、電解質異常や免疫低下状態をきたし身体を脅かす。リンパ管の破綻は臨床的には乳び胸水、乳び腹水などとして現れる。その原因は、悪性リンパ腫、結核、外科手術、放射線治療、サルコイドーシスなど多岐にわたるが、非常に稀な疾患とされてきた。しかし、近年の外科手術の高度化及び積極化などから、症例数が徐々に増加してきている。これら外科手術後の乳び胸水や乳び腹水は治療に難渋することも少なくない。申請者はリンパ管の破綻部位特定のため行われていた油性造影剤を足背の細いリンパ管から直接に注入する検査(リンパ管造影)後にリンパ管の破綻部位が閉塞することを発見し、これがリンパ管の破綻に対する治療法になることを発表した。また、このリンパ管造影後に、造影された胸部のリンパ管を穿刺して、塞栓物質を注入するといった積極的な治療法も申請者施設で現在施行可能である。このため、リンパ管造影の臨床的重要性が再注目されている。

しかし、このリンパ管造影は、難易度が高く、また肺塞栓症などの重篤な合併症も報告。リンパ管造影は治療手技としてとらえるべきで、診断のみを目的として行うべきものではないと考えている。従って、この治療前に低侵襲で、正確にリンパ管の破綻部位を同定できる画像検査を行うことが望ましいと考える。

リンパ系の画像化は、血管系の画像化に比べて大きく遅れをとっているのが現状であるが、その中において MRI を用いたリンパ管造影(MR リンパ管造影)が、近年の画像技術の進歩に伴い注目されている。MR リンパ管造影には造影剤が必須で、海外では市販されているガドリニウム造影剤(Gd-DTPA; マグネピスト、バイエル)が MR リンパ管造影の陽性造影剤として使用可能である(本邦では、この Gd-DTPA は血管内投与のみで認可されている)。しかし、この造影剤は低分子のためリンパ系との親和性が低く、リンパ系の描出能が不十分である点が問題である。

リポソームやポリマーなどを用いた MR リンパ管造影の基礎的検討も行われているが、生体適合性や細胞毒性の課題や注入開始から撮像までに長時間を要するなどの理由で広く普及するには至っていない。このため、安全でリンパ系の良い描出を可能にする高分子のガドリニウム造影剤の開発が強く望まれている。

2. 研究の目的

申請者は生体適合性が高く化学的に安定なナノダイヤモンド(Nd) と Gd-DTPA との結

合物質(Gd-DTPA-Nd;図 2) に注目した。この Gd-DTPA-Nd は中村、長谷部らによって結合に成功しており、良好な陽性造影剤であることが示されている。さらに様々な粒子径のものを作成可能であるという特長も有する。申請者は、これらの Gd-DTPA-Nd の特徴と、皮内注射による MR リンパ管造影に適した造影剤の粒子径が 6-20 nm と報告されていることに着目し、粒子径 10 nm の Gd-DTPA-Nd を作成することによって、MR リンパ管造影に最適な陽性造影剤の創薬が可能となると考えた。

3. 研究の方法

(1) Gd-DTPA-Nd の特性の評価

造影能の比較

Gd-DTPA-Nd の T1 短縮効果は確認されているが、現在使用されている Gd 造影剤との造影能の比較を行う必要がある。そこで、比較対象として現在海外において MR リンパ管造影で使用可能な Gd-DTPA (マグネピスト、バイエル)を用いる(本邦では、Gd-DTPA は血管内造影剤として認可されている)。MRI 装置は学内研究協力機関である東海大学医学部の 1.5T MRI(Achieva, Philips) を用い、Gd-DTPA-Nd と Gd-DTPA の造影能の比較を行う。MRI 画像は、3D T1 gradient echo T1 強調画像(repetition time (TR): 3.0 msec, echo time (TE): 1.5 msec, flip angle: 15°)で撮像する。造影能の比較は、それぞれの信号強度、T1 値と T2 値の測定をすることによって行う。

細胞生存性の比較 (図 1)

Gd-DTPA-Nd の安全性を確認するため *in vitro* で、細胞生存性の評価を行う。培養する細胞には HEP G2 cell を用い、様々な濃度の Gd-DTPA-Nd と Gd-DTPA とで 24 時間培養し、細胞生存性を比較する(図 5) 細胞数定量には吸光度測定法を応用した WST-8 assay(細胞毒性・増殖測定キット)を用いる。この細胞培養実験は学外研究協力機関である慶應義塾大学理工学部と連携して行う。

(2) rat による *in vivo* での Gd-DTPA-Nd を用いた MR リンパ管造影

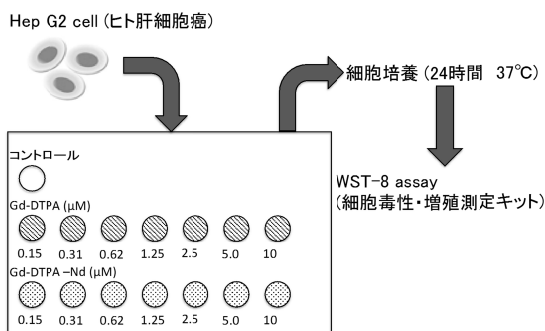


図 1 細胞生存性実験

これまで、Gd-DTPA-Nd を用いてマウスの

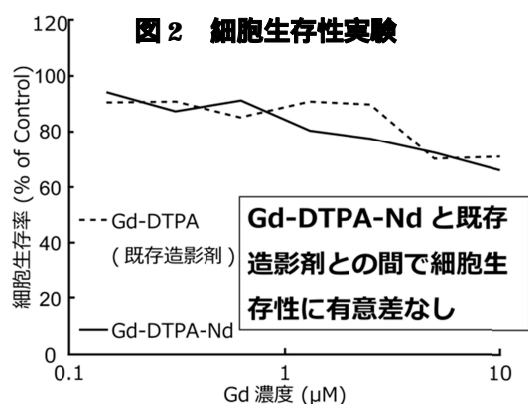
MR リンパ管造影を施行した報告はない。Gd-DTPA-Nd を用い、rat で至適濃度、至適量を決定し、この最適化された濃度及び注入量で描出能を評価する。

4. 研究成果

(1) Gd-DTPA-Nd の特性評価のため、*in vitro* で Gd-DTPA との造影能の比較を行った。臨床で用いられている MRI 装置で Gd-DTPA-Nd 分散液の T1 強調画像を撮影したところ、Gd-DTPA-Nd 分散液は既存の MRI 造影剤よりも低い Gd 濃度でも高い信号強度を示すことが証明された。

(3) 安全性を確認するための細胞生存性の比較

HEP G2 cell を用いて既存の細胞外液性造影剤である Gd-DTPA と Gd-DTPA-Nd とで細胞生存性の比較試験を行った。この試験では、Gd-DTPA と Gd-DTPA-Nd とで差は認められなかった (図 1)。



以上のことから、Gd-DTPA-Nd は高い造影能を有し、かつ安全であることが確認された。

(4) rat における MRI 撮像実験

臨床で用いられている 1.5T MRI で rat の撮像が可能であることを確認した (図 2)。現在、ラットを用いて *in vivo* での Gd-DTPA-Nd の注入によるリンパ系描出能の評価が進行中である。

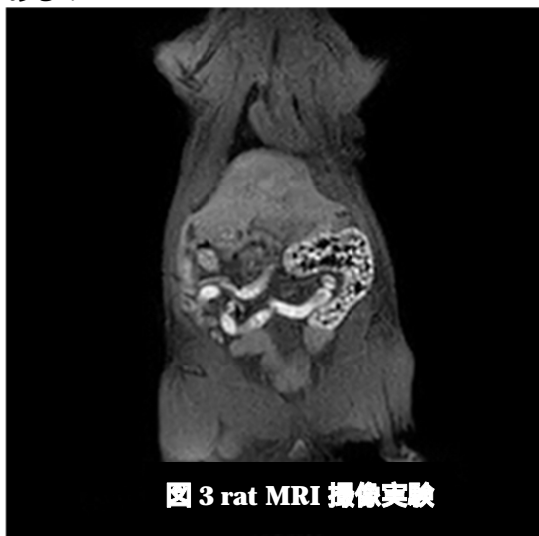


図 3 rat MRI 撮像実験

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)

[雑誌論文](計 10 件)

1. Matsumoto T, et al. Perirenal lymphatic systems: evaluation using spectral presaturation with inversion recovery T2-weighted MR images with 3D volume isotropic turbo spin-echo acquisition at 3.0-T. *J Magn Reson Imaging*, 2016 Mar 23. doi:10.1002/jmri.25244. [Epub ahead of print]. 査読有
2. 松本知博, 他. 下大静脈フィルターの種類と歴史. *Thrombosis Medicine* 6: 71-5, 2016. 査読有
3. Matsumoto T, et al. Balloon-occluded arterial stump pressure before balloon-occluded transarterial chemoembolization. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 25:22-87, 2016. 査読有
4. Matsumoto T, et al. Transnodal lymphangiography and post-CT for protein-losing enteropathy in Noonan syndrome. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 24:246-9, 2015. 査読有
5. Matsumoto T, et al. Balloon-occluded transarterial chemoembolization using a 1.8-French tip Coaxial microballoon catheter for hepatocellular carcinoma: Technical and safety considerations. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 24:94-100, 2015. 査読有
6. 松本 知博, 他. 回収型下大静脈フィルター 抜去困難例での回収のポイント. *IVR会誌* 29: 181-5, 2014. 査読有
7. 松本 知博, 他. 静脈血栓塞栓症のIVR. 下大静脈フィルターの留置 抜去の基本. *IVR会誌* 29: 173-180, 2014. 査読有
8. 松本 知博, 他. 【低線量CT検診における IR技術の応用】 逐次近似型ノイズ低減処理を用いた低線量肺がんCT検診撮影プロトコルの構築. *CT検診 特別号*: 176-188, 2014. 査読有
9. Matsumoto T, et al. Basic fibroblast growth factor as a potential stent coating material inducing endothelial cell proliferation. *J Atheroscler Thromb* 21: 477-85, 2014. 査読有
10. Matsumoto T, et al. Effectiveness of combined use of imprint cytological and histological examination in CT-guided tissue-core biopsy. *Eur Radiol* 24: 1127-34, 2014. 査読有

[学会発表](計 27 件)

1. 松本知博, 他. 胸部 IVR の T o p i c s . 第 1 回呼吸器血管内治療研究会, 新宿国際ビルディング (東京都新宿区), 2016,

- 2/27
2. 松本知博, 他. 救急 IVR に役に立つ血管内治療デバイス開発のテクノロジー: From bench to bedside. 第 35 回日本画像医学会, ステーションコンファレンス東京 (東京都千代田区), 2016, 2/27
 3. 松本知博, 他. 咯血に対する血管塞栓術・IVR (Interventional Radiology) の最新技術. 第 35 回日本画像医学会, ステーションコンファレンス東京 (東京都千代田区), 2016, 2/27
 4. 松本知博, 他. 腰仙関節 (lumbosacral junction) の化膿性脊椎炎に対する CT ガイド下経仙骨椎間腔膿瘍ドレナージ. 第 13 回 IVR 技術交流会, AP 東京 (東京都中央区), 2016, 2/13
 5. 松本知博, 他. 胸部 IVR の最新トレンド. 第 6 回呼吸器画像セミナー, 複十字病院 (東京都清瀬市), 2015, 11/17
 6. 松本知博, 他. B-TACE -肝動脈の各レベルにおける balloon occluded arterial stump pressure の検討-. 第 1 回 高知 IVR リサーチミーティング, 高知城ホール (高知県高知市), 2015, 11/6
 7. 松本知博, 他. 脈管疾患制圧に向けた抗血栓治療の役割 新規生体適合性・抗血栓性コーティングステントの開発: 医工産官学連携プロジェクト, 第 56 回日本脈管学会, 虎ノ門ヒルズフォーラム (東京都港区), 2015, 10/30
 8. Matsumoto T, et al. Balloon-occluded arterial stump pressure before balloon-occluded transarterial chemoembolization. Cardiovascular and Interventional Radiology Society of Europe 2015 (CIRSE2015), Centro de Congressos de Lisboa (Portugal), 2015, 9/26-30
 9. 松本知博, 他. 胃静脈瘤に対する B-RTO 時に portopulmonary venous anastomosis (PPVA) を認めた 1 例. 第 22 回日本門脈圧亢進症学会総会, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市), 2015, 9/11
 10. Matsumoto T, et al. Balloon-occluded arterial stump pressure before balloon-occluded transarterial chemoembolization. 25th IASGO (World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists, and Oncologists, Strait International Convention and Exhibition Center Fuzhou (China), 2015, 9/4
 11. 松本知博, 他. 肝動脈の各レベルにおける balloon occluded arterial stump pressure (BOASP) の検討. 第 12 回 IVR 技術交流会, AP 東京 (東京都中央区), 2015, 9/5
 12. 松本知博, 他. B-TACE. 第 3 回 IVR 同志会, ホテル ザ・エルシィ (東京都町田市), 2015, 8/29
 13. 松本知博, 他. 気管支動脈瘤に対する血管塞栓術. 第 7 回九州 IVR リサーチミーティング, 九州ビルホール (福岡県福岡市), 2015, 8/8
 14. 松本知博, 他. 抗血栓性ポリマーファイバーを被覆した動脈瘤破裂治療用カバードステントの開発. 第 38 回日本バイオレオロジー学会年会, 学習総合センター (東京都千代田区), 2015, 6/6
 15. Matsumoto T, et al. Balloon-occluded transarterial chemoembolization (B-TACE) for HCC. The 9th Interventional Radiology Case Club (IRCC), Sheraton Grande Ocean Resort Miyazaki (Japan), 2015, 5/29
 16. Matsumoto T, et al. Balloon-occluded arterial stump pressure (BOASP) at each hepatic arterial level. The 44th Annual Meeting of the Japanese Society of Interventional Radiology (JSIR), The 12th International Symposium of Interventional Radiology (ISIR), The 4th Asia-Pacific Conference on Interventional Oncology (APCIO), Seagaia Convention Center in Phoenix Seagaia Resort (Japan), 2015, 5/30
 17. 松本知博, 他. 食道癌術後乳糜瘻に対する鼠径リンパ節アプローチによる Lipiodol リンパ管造影の有用性. 第 115 回日本外科学会定期学術集会, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市), 2015, 4/18
 18. 松本知博, 他. B-TACE 後の再発 HCC に対し DEB-TACE を施行した 1 例. 多摩 TACE を考える会, 国分寺 L ホール (東京都国分寺市), 2015, 3/11
 19. 松本知博, 他. 効果的な B-TACE を行うマイクロバルーン閉塞下動脈圧による検討. TACE を考える会, 野村コンファレンスプラザ新宿 (東京都新宿区), 2014, 11/28
 20. 松本知博, 他. Noonan 症候群に伴う蛋白漏出性胃腸症に対する US ガイド下鼠径リンパ節穿刺リンパ管造影及びリンパ管造影後 CT. 第 55 回日本脈管学会総会, 倉敷市芸文館 (岡山県倉敷市), 2014, 10/30
 21. 松本知博, 他. Noonan 症候群に伴う蛋白漏出性胃腸症に対する US ガイド下鼠径リンパ節穿刺リンパ管造影及びリンパ管造影後 CT. 第 28 回 中四国 IVR 研究会, 岡山大学鹿田キャンパス Junko Fukutake ホール (岡山県岡山市), 2014, 10/17
 22. 松本知博, 他. 部分的脾動脈塞栓術の 2 例 -Interlock 2mm, Target XL の初期使用経験-. 第 9 回 IVR リサーチミーティング, AP 秋葉原 (東京都台東区), 2014, 9/20
 23. 松本知博, 他. Lipiodol リンパ管造影が著効した食道癌術後難治性頸部リンパ漏の一例. 第 68 回日本食道学会学術集会, 東京ドームホテル (東京都文京区), 2014, 7/4
 24. 松本知博, 他. 腎血管筋脂肪腫に対してアテンダントネクサスを用いて血管塞栓術を施行した一例. 第 10 回 IVR 技術交

- 流会，AP 東京（東京都中央区），2014，
7/5
25. 松本知博，他．未破裂気管支動脈瘤に対して経皮的動脈塞栓術を実施した 2 症例の報告．第 43 回日本 IVR 学会総会，ホテル日航奈良（奈良県奈良市），2014，6/6
 26. 松本知博，他．肝細胞癌に対する先端 1.8Fr マイクロバルーンカテーテルを用いた B-TACE の技術的側面と安全性の検討．第 43 回日本 IVR 学会総会，ホテル日航奈良（奈良県奈良市），2014，6/5
 27. Matsumoto T, et al. Transnodal lymphangiography for intestinal lymphangiectasia with protein-losing enteropathy in Noonan syndrome. 11th Asia-Pacific Congress of Cardiovascular and Interventional Radiology (APCCVIR), Singapore General Hospital (Singapore), 2014, 5/18

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特になし

6．研究組織

(1)研究代表者

松本 知博 (MATSUMOTO, Tomohiro)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：30710983