

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19861

研究課題名(和文) ナノダイヤモンドによる新規MRリンパ管造影法開発：in vivo study

研究課題名(英文) Development of new MR lymphangiography by using Gd(III)-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) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、ウサギ(日本白色種)を用いて、古典的リンパ管造影を行うことに成功した。また、CTで撮像して、これを元に3次元画像を作成したところ、非常に鮮明なウサギのリンパ系画像を得ることに成功した。この手法は、多くの他施設においても、リンパ系の動物実験を行うことを可能にするもので、我々は、普遍的で有用なモデルの開発に成功したと考えている。

動物を用いたMRI撮像実験を行うことによって、ナノダイヤモンド・Gd複合造影剤(Gd-DTPA-Nd)は、炭素-炭素共有結合程度の強固な結合により、数百nm～数μm程度の凝集体を形成してしまうことが判明した。これを解消することが、今後の検討課題である。

研究成果の概要(英文)：Lymphangiography was successfully performed in rabbits. Three-dimensional maximum intensity projection (3-D MIP) image on post-lymphangiographic multidetector CT in anteroposterior view clearly shows the lymphatic system in rabbits. Lymphangiography is feasible and the visibility of the lymphatic system on post-lymphangiographic MDCT in a rabbit model provides enough information for interventional radiologists to perform preclinical lymphatic interventions. We found that Gd(III)-DTPA-nanodiamond (Gd-DTPA-Nd) particles formed persistent agglomerates in animal magnetic resonance imaging study. We must resolve the problem of persistent agglomerates to use Gd-DTPA-Nd particles in daily clinical works.

研究分野：放射線医学

キーワード：ナノダイヤモンド MRI リンパ管造影 MRリンパ管造影

## 1. 研究開始当初の背景

リンパ系は循環器系の一部であるとともに免疫系の重要な装置でもある。このため、リンパ管の破綻に伴いリンパ液の喪失が続くと、重度の低栄養、電解質異常や免疫低下により生命に危険が及ぶ。臨床的には、リンパ管の破綻は乳び胸水、乳び腹水として発症する。これらは非常に稀な病態とされてきたが、近年の食道癌などの外科手術の高度化及び積極化から、リンパ管損傷が増加している。これらに乳び胸水や乳び腹水は治療に難渋することが少なくない。

申請者らは、元来リンパ管破綻部位の診断のために行われていた古典的 direct リンパ管造影後に、リンパ管の破綻部位が閉塞し、リンパ管の破綻に対する治療法となることを発見し、論文報告した。また、鼠径リンパ節を超音波ガイド下で穿刺し、リンパ管造影を行う最新技術も当院当科で多く実施している。

古典的 direct リンパ管造影は、難易度が高く、肺塞栓症などの重篤な合併症も報告されているため、低侵襲で簡便なリンパ系画像検査を開発することが強く望まれている。しかしながら、リンパ系の画像化技術は、血管系画像に比して大きな遅れをとっている。その中において核磁気共鳴画像法 (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。さらに MR リンパ管造影で詳細な画像を得るために、造影剤を足背皮内注射し、間質のリンパ管から造影剤が吸収された後に撮像する方法が検討されている (間質 MR リンパ管造影)。しかし、Gd-DTPA などの既存ガドリニウム (Gd) 造影剤はリンパ系との親和性が低く、描出能が不十分である。一方ナノスケールの物質がリンパ系に選択的に取り込まれやすい性質を応用して、リポソームやポリマーなどのナノ粒子の投与が検討されているが、生体適合性や細胞毒性の課題などの理由で普及には至っていない。

以上から、間質 MR リンパ管造影を臨床応用するには、安全でかつリンパ系を選択的に描出できるナノ粒子径の新規 Gd 造影剤を開発することが望ましい。

## 2. 研究の目的

リンパ管造影の動物モデルの確立及び、Gd-DTPA-Nd を用いた MR リンパ管造影の臨床応用に向けた動物実験を行う。

## 3. 研究の方法

(1) 古典的 direct リンパ管造影法の手技を確立し、リンパ系の画像解析を行う。

小動物において古典的 direct リンパ管造影の手技は確立しているとは言えないため、平成 28 年度後半では、ウサギにおいて古典的 direct リンパ管造影の手技確立と、ウサギのリンパ系画像解析を目指す。

そこで、ウサギ (日本白色種) を用いて、1% パテントブルーバイオレットを両側足底にそれぞれ

0.1 ml 皮内注射した。注入から約 5 分後に、両側後肢の皮膚を剥離し、上記の色素を吸収し視認できるようになった下腿リンパ管と膝窩リンパ節を露出した。この露出した下腿リンパ管又は膝窩リンパ節に 30 G リンパ管造影用針を穿刺し、油性造影剤 (リピオドール) を各 1 ml シリンジで手動的に緩徐に注入した。注入終了後、X線透視装置、CT で撮影を行い全身のリンパ系の解析を行った。放射線診断専門医 3 名で評価した。

## (2) Gd-DTPA-Nd を用いた間質 MR リンパ管造影

Gd-DTPA-Nd の皮内注射による間質 MR リンパ管造影を行った。ウサギを用いる前段階の実験として、SD ラットを準備した。両側足底に 0.1 M に調整した Gd-DTPA-Nd をそれぞれ 0.05 ml を皮内注射し、MRI 装置で撮像した。表在コイルを用いて enhanced 3D T1 high-resolution volume excitation with fat saturation (e-THRIVE) で撮像を行った。

## 4. 研究成果

### (1) ウサギにおける古典的リンパ管造影手技の確立

我々は、3-3.5kg の日本白色種を用いて、古典的リンパ管造影を行った。128 列の Multi-detector CT で撮像し 3-D maximum intensity projection (3D-MIP) 画像を作成したところ、非常に鮮明なウサギのリンパ系画像を得ることに成功した (図 1)。ウサギであれば、比較的安価で、取り扱いも比較的容易である。このため、この手法は、多くの他施設においても、リンパ系の動物実験を行うことを可能にするもので、我々は、普遍的で有用なモデルの開発に成功したと考えている。

我々は、その成果を 2017 年に、The 29th International Congress of the Society for Medical Innovation and Technology (iSMIT) で報告した。また、本内容について論文投稿予定である。

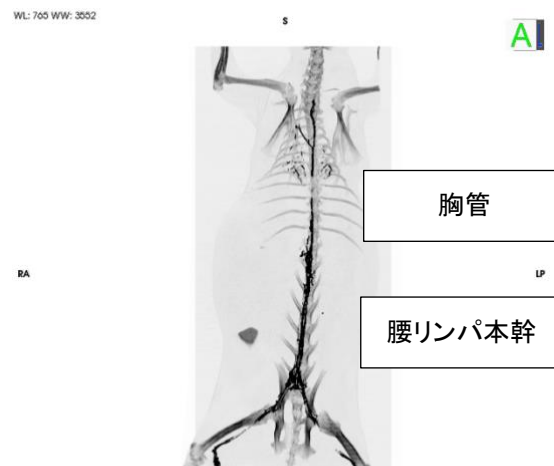


図1 ウサギのリンパ系画像

## (2) Gd-DTPA-Ndを用いた間質MRリンパ管造影

0.1 mlに調整したGd-DTPA-Ndをそれぞれ0.05 mlを皮内注射し、MRIを撮像した。しかし、MRIでのリンパ管の描出は不明瞭であった。Gd-DTPA-Ndの溶液中での凝集が問題であると考えた。

そこで、ホモジナイザーを利用して分散液を作成することとした。純水中で分散するGd-DTPA-Ndを作成することに成功した。

これを用いて、再度、0.1 mlに調整したGd-DTPA-Ndをそれぞれ0.05 mlを皮内注射し、MRIを撮像した。しかし、これでもMRIでのリンパ管の描出は不明瞭であった。純水中では分散されているものの、凝集していると予想した。

これらのMRI撮像実験結果によって、Gd-DTPA-Ndは、炭素-炭素共有結合程度の強固な結合により、数百 nm～数 μm程度の凝集体を形成してしまうことが判明した。

以上より、さらなるGd-DTPA-Ndの分散方法を検討することによって、実臨床への応用の道が開けるのではないかと考えられ、今後の研究を行う予定としている。

## 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)

[雑誌論文](計 7 件)

- ① Yamato Y, Maegawa S, Hasebe T, Bito K, Matsumoto T, Mine T, Hayashi T, Hotta A, Suzuki T. Biocompatibility Tests and Adhesion Improvements for Hydrogen-Free Amorphous Carbon for Blood-Contacting Medical Devices. *Sensors and Materials*. 29, 2017, 843-854. 査読有り. DOI: 10.18494/SAM.2017.1573.
- ② Matsumoto T, Ichikawa H, Imai J, Hayashi T, Tomita K, Mine T, Kojima S, Watanabe N, Hasebe T, Feasibility and Safety of Repeated Transarterial Chemoembolization Using Miriplatin Lipiodol Suspension for Hepatocellular Carcinoma. *Anticancer Research*. 37, 2017, 3183-3187. 査読有り. DOI: 10.21873/anticancers.11678.
- ③ Bito K, Hasebe T, Maegawa S, Maeda T, Matsumoto T, Suzuki T, Hotta A. In vitro basic fibroblast growth factor (bFGF) delivery using an antithrombogenic 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) polymer coated with a micropatterned diamond-like carbon (DLC) film. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 105, 2017, 3384-3391. 査読有り. DOI: 10.1002/jbm.a.36201.
- ④ Kamono M, Kabeya Y, Sohara E, Taoda A, Matsumoto T, Mine T, Hasebe T, Ueda A, Takagi A, Higaki M. The Etiology of Pyogenic Vertebral Osteomyelitis and Evaluation of Biopsy Specimen Cultures in

Hospitalized Patients. *Journal of Medical Microbiology & Diagnosis*. 6, 2017, 査読有り. DOI: 10.4172/2161-0703.1000261.

- ⑤ Horikawa A, Maegawa S, Hasebe T, Matsumoto T, Tanaka T, Takaashi K, Susuki T. Fluorine-Incorporated Amorphous Carbon Coating Inhibits Adhesion of Blood Cells to Biomaterials. *Sensors and Materials*. 29, 2017, 795-803. 査読有り. DOI: 10.18494/SAM.2017.1558.
- ⑥ Matsumoto T, Mine T, Hayashi T, Kamono M, Taoda A, Higaki M, Hasebe T. CT Fluoroscopy-Guided Transsacral Intervertebral Drainage for Pyogenic Spondylodiscitis at the Lumbosacral Junction. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 査読有り. Doi: 10.1007/s00270-016-1452-9. 2017
- ⑦ 山上 卓士, 松本 知博, 吉松 梨香. リンパ管造影. *日本インターベンショナルラジオロジー学会雑誌*. 32, 2017, 34-36. 査読有り. DOI: <https://doi.org/10.11407/ivr.32.34>

[学会発表](計 7 件)

- ① Tomohiro Matsumoto, Hitoshi Ichikawa, Jin Imai, Takahiko Mine, Toshihiko Hayashi, Kosuke Tomita, Satoshi Suda, Kazunobu Hashida, Terumitsu Hasebe. Feasibility and safety of repeated transarterial chemoembolization using miriplatin-lipiodol suspension for unresectable hepatocellular carcinoma. *Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe 2017 (CIRSE2017)*
- ② Shunto Maegawa, Terumitsu Hasebe, Kenta Bito, Masamitsu Nakayama, Tomohiro Matsumoto, Tetsuya Suzuki. Antithrombogenic nano-coatings by doping into amorphous carbon films for blood contacting medical devices. *iSMIT2017 29th International Congress of the Society for Medical Innovation and Technology*.
- ③ Tomohiro Matsumoto, Kosuke Tomita, Shunto Maegawa, Takako Nakamura, Tetsuya Suzuki, Terumitsu Hasebe. Post-lymphangiographic multidetector CT for preclinical lymphatic interventions in rabbits. *iSMIT2017 29th International Congress of the Society for Medical Innovation and Technology*
- ④ Tomohiro Matsumoto, Takahiko Mine, Kazunobu Hashida, Toshihiko Hayashi, Kosuke Tomita, Satoshi Suda, Megumu Higaki, Rika Yoshimatsu, Takuji Yamagami, Terumitsu Hasebe. CT fluoroscopy-guided drainage for pyogenic spondylodiscitis and iliopsoas abscesses: What to need to know before you start.

Radiological Society of North America  
(RSNA) 2017 (103rd RSNA Scientific  
Assembly and Annual Meeting)

- ⑤ Tomohiro Matsumoto, Takahiko Mine,  
Kazunobu Hashida, Toshihiko Hayashi,  
Kosuke Tomita, Satoshi Suda, Megumu  
Higaki, Rika Yoshimatsu, Takuji  
Yamagami, Terumitsu Hasebe. CT-guided  
drainage for pyogenic spondylodiscitis and  
iliopsoas abscesses - What to need to know  
before you start - 第76回日本医学放射  
線学会総会, 2017
- ⑥ 松本 知博, 嶺 貴彦, 林 敏彦, 橋  
田 和靖, 富田 康介, 須田 慧, 長  
谷部 光泉, 市川 仁志, 今井 仁,  
小嶋 清一郎, 渡辺 勲史. 頻回ミリ  
プラチン TACE (repeated MPT/LPD  
TACE) の安全性について. 第53回肝  
癌研究会, 2017
- ⑦ 松本 知博, 富田 康介, 須田 慧,  
橋田 和靖, 林 敏彦, 嶺 貴彦, 吉  
松 梨香, 山上 卓士, 長谷部 光  
泉. リンパ系インターベンション. 第  
28回日本血管内治療学会総会, 2017

#### 【その他】

ホームページ等

<http://www.hachioji->

[hosp.tokai.ac.jp/department/xp/research.php](http://www.hachioji-hosp.tokai.ac.jp/department/xp/research.php)

#### 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