



Title	各種静注用鉄コロイド製剤を用いた磁気共鳴画像におけるリンパ節造影の実験的研究
Author(s)	奥畑, 好孝
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1992, 52(8), p. 1148-1160
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15883
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

各種静注用鉄コロイド製剤を用いた磁気共鳴画像における リンパ節造影の実験的研究

日本大学医学部放射線医学教室

奥 畑 好 孝

（平成4年5月11日受付特別掲載）

（平成4年6月10日最終原稿受付）

An Experimental Study on MR Lymphography with Various Iron Colloid Agents

Yoshitaka Okuhata

Department of Radiology, Nihon University School of Medicine

Research Code No. : 510.9

Key Words : MR imaging, Lymphography, Contrast media,
Iron colloid, Rabbit

Magnetic resonance (MR) lymphography with iron colloid agents was evaluated in an animal model. The agents examined were ferric gluconate (FeG), saccharated ferric oxide (SFO), iron chondroitin sulfate (ICS) and cideferron (CiF), which were used as intravenous medication for iron deficiency anemia. The author performed time-dose-response and correlative histologic studies. MR images of the popliteal lymph nodes of rabbits were obtained at 1.5 T with a spin-echo sequence (TR=300, TE=30 msec) before and after subcutaneous injection of the agents to dorsal hind-feet. The images were evaluated by signal intensity (SI). Histologic specimens were evaluated for distribution and relative quantity of stained iron with a color image analyzer.

The SI with FeG 4 mgFe increased by 50% at 5 to 60 minutes after injection but returned to the pre-contrast level 48 hours after. The SIs with SFO 8 mgFe, ICS 1 mgFe and CiF 1 mgFe decreased to the background level at 60 minutes and 48 hours after. The histologic study in combination with the images indicated that in case of FeG the particles in lymph increased SI while in the other agents those within macrophages decreased SI.

Because the agents are already used clinically, they can be safely applied to MR lymphography.

I. 緒 言

磁気共鳴(MR)画像による癌のリンパ節転移の診断において、転移と炎症或いは正常組織を信号強度より鑑別することは、当初の期待に反して困難である^{1)~4)}というのが現状である。したがってX線CT⁵⁾とはほぼ同様に、その大きさ・形状といった形態的診断が中心となっている。

リンパ節転移における他の診断法としては、リンパ系の正常機能であるリンパ流、異物貪食作用

を利用してリンパ節に薬剤を到達させる、X線によるリンパ管造影とリンパ節シンチグラフィ⁶⁾がある。X線撮影における油性造影剤を用いたリンパ節造影は、転移巣には流入せず欠損像となりリンパ節の機能的・構造的所見を加味している点で有効であるが、造影されるリンパ節に制限があり、手技及び侵襲性の点で多少問題がある⁶⁾。リンパ節シンチグラフィは、手技的に簡便であり生理的なリンパ系の機能を反映している点で有効であ

る⁷⁾が、空間分解能が低いのが診断能の制限となっている⁸⁾。

そこでリンパ節シンチグラフィーの手法を応用して、緩和時間の短縮能を有する静注用鉄コロイド製剤を皮下注入してリンパ節に到達させれば、所属領域リンパ節のMR画像における信号強度の変化すなわちリンパ節造影が可能である。MR画像はX線画像に匹敵する解像力を有することでシンチグラフィーよりもはるかにすぐれており、リンパ節転移の診断能の向上が期待される。

すでに行った報告⁹⁾では、コンドロイチン硫酸鉄コロイド製剤を用い、家兎の傍大動脈リンパ節についてMR画像における陽性造影の可能性を示したが、対象としたリンパ節が小さく、肉眼的にも同定できなかった個体もあった。本研究ではMR画像におけるリンパ節造影に関する基礎的な検討を、4種の鉄コロイド製剤について行うこととした。

II. 対象と方法

4種の鉄製剤について、in vitroにおける造影能の検討と動物実験によるin vivoにおけるリンパ節の造影能及び組織学的検討を行った。

1. リンパ節造影用薬剤（以下、薬剤と記す）

緩和時間短縮剤として4種類の薬剤を検討した。即ち、グルコン酸第二鉄高分子複合体（商品名グルフェリコン、日本臓器製薬、以下グルコン

酸第二鉄と略）、含糖酸化鉄（商品名フェジン、吉富製薬）、コンドロイチン硫酸鉄（商品名ブルタール、大日本製薬）、シデフェロン（商品名フェリコン、日本臓器製薬）の4種の鉄欠之性貧血治療用静注用鉄製剤である。これらの鉄製剤はいずれも高分子コロイドで、静脈内投与により肝脾、骨髓等の網内系に取り込まれたのち、鉄代謝系に徐放される薬剤である。これら製剤の物理化学的性状をTable 1に示す。尚、一部は記載がなく不明であった。

2. in vitroにおける造影能の検討

各薬剤の倍希釈水溶液の系列を作成し採血管に封入し、MR画像における信号強度の変化の検討と、薬剤の縦・横緩和能と家兎膝下リンパ節のT1・T2値より各薬剤のリンパ節内濃度によるMR画像の信号強度の変化をシミュレーションした。

2.1. 薬剤の縦・横緩和能の測定

希釈系列のT1・T2計算画像より各濃度におけるT1・T2値を測定し、 $T1^{-1} \cdot T2^{-1}$ 値と濃度相関の一次回帰直線より算出した。

2.2. 信号強度と緩和時間の計算式

シミュレーションに使用したスピンエコー法の信号強度式及び薬剤濃度による緩和時間の変化を示す式¹³⁾は以下のとおりである。

$$SI = [H] H(v) \{ \exp(-TE/T2) \} \{ 1 - \exp(-$$

Table 1 Physicochemical properties of the agents. Relaxivities (R1, R2) are measured with a MR imaging apparatus. The other data are obtained from the references 10)-17) and (—) means unknown.

	Ferric gluconate (Glufericon [®])	Saccharated ferric oxide (Fesin [®])	Iron chondroitin sulfate (Blutal [®])	Cideferron (Ferricon [®])
Fe concentration (mg/ml)	2	20	4	25
composition	$[(C_6H_{11}O_7)_3Fe \cdot 3H_2O]_n$	$[Fe(OH)_3]_m [C_{12}H_{22}O_{11}]_n$	$[(C_{12}H_{18}O_{14}NS) \cdot Fe(OH)_3]_n$ n=150~160	Dextrin citrate- iron(III) complex
mean molecular weight	$\geq 5,000$	—	75,000	230,000
particle size (nm) by electron microscope	—	6-8	10	10-15
particle size (nm) by ultrafiltration	—	—	100~	50-80
osmotic pressure (ratio to saline)	1	5	1.6	1
PH	5.8-7.8	9.0-10.0	6.5-8.0	6.5-8.5
relaxivity(1.5T, 22°C)				
R1(sec ⁻¹ , mM ⁻¹)	0.10	0.027	0.44	0.22
R2(sec ⁻¹ , mM ⁻¹)	0.13	0.30	2.3	2.4
R2/R1	1.3	11	5.2	11

TR/T1}

$T1^{-1} = T1_0^{-1} + R1 [A]$

$T2^{-1} = T2_0^{-1} + R2 [A]$

SI: 信号強度

[H], H (v): プロトンの密度及び移動の要素

TR: 繰返し時間, TE: エコー時間

R1, R2: 薬剤の縦・横緩和能

[A]: 薬剤の濃度

T1, T2: 薬剤の各濃度におけるリンパ節の

T1・T2値

T1₀, T2₀: 薬剤投与前のリンパ節の T1・T2値であり, 家兎 5 羽について計 10 個の膝下リンパ節の T1・T2 計算画像より, T1 値の最大値と最小値を示したものを除いた 8 個の平均値を使用した。

2.3. MR 撮像条件

使用機種は GYROSCAN S15HP (PHILIPS), 静磁場強度 1.5T である。

各製剤の水希釈溶液の MR 画像による検討はスピンエコー法 SE300/30/2 (TR/TE/exitations) で行った。T1・T2 計算画像は, スピンエコー法と反転回復法を組合せた Mixed sequence 法 (SE-IR と略)²⁰⁾ より得た。撮像条件は, 対象物の T1 値 = 100~400 msec については SE-IR 500/1,150/150/20×8/2 (TR SE/TR IR/TI/TE×エコー数/exitations), T1 値 = 400~1,000 msec については SE-IR 710/2,290/310/25×8, T1 値 = 1,000~2,000 msec については SE-IR 1,000/2,000/450/50×8 であり, 2 次元フーリエ変換法シングルスライス, 撮像径 150mm, スライス厚 10mm, 撮像マトリックス 256×256, ラップタイプサーフェスコイル使用である。

家兎膝下リンパ節の T1・T2 計算画像の撮像条件は, SE-IR 780/2,220/380/20×8 で行い, 撮像径 100mm, スライス厚 3mm, 撮像マトリックス 128×128 でそれ以外は上記と同様である。

尚, SE-IR (TR SE, TR IR, TI, TE×エコー数) の設定は使用機の説明書を参考にした。

3. in vivo における造影能の検討

各薬剤を家兎後肢足背部に皮下投与して膝下リンパ節の MR 画像を, 投与前と投与後後肢マッサージ 5 分施行後, ついで 15 分追加 (計 20 分) 後,

40 分追加 (計 60 分) 後に撮像を行い, 組織標本を採取した。

また別に, 各薬剤について投与 48 時間後の MR 画像と組織標本を検討した。

3.1. 実験動物と薬剤の投与方法

家兎 (日本白色種, 平均体重 3.0kg, 2.9~3.2kg) を用いた。

MR 画像の撮像及び薬剤の皮下投与は, ウレタン静注 (1.5g/kg) により麻酔し, 腹臥位で木製の固定具により四肢を固定して行った。投与 48 時間後の検討動物の薬剤の皮下投与時は麻酔時間を長くしないためネンブタール静注 (25mg/kg) による麻酔下で行った。

薬剤の投与量は以下に示す 4 段階の倍量で, それぞれについて別個体の計 2 肢に行った。また, 投与容量が原製剤で 0.25ml 未満の場合は生理食塩水で希釈して 0.25ml に調製して容量を確保した。

グルコン酸第二鉄: 4mgFe (2ml), 2 (1), 1 (0.5), 0.5 (0.25)

含糖酸化鉄: 16mgFe (0.8ml), 8 (0.4), 4 (0.25), 2 (0.25)

コンドロイチン硫酸鉄: 2mgFe (0.5ml), 1 (0.25), 0.5 (0.25), 0.25 (0.25)

シデフェロン: 2mgFe (0.32ml), 1 (0.25), 0.5 (0.25), 0.25 (0.25)

投与方法は後肢足背部皮下に各薬剤を所定量注入し, 同部の手指によるマッサージを 1 分間行なった。ついで前述の後肢マッサージとして, 両後肢の屈伸運動を受動的に 60 回/分の割合で規定時間行なった。これは, 麻酔下にある小動物の場合, 覚醒時に較べて四肢のリンパ流が著しく低下する²⁰⁾ ため, それを覚醒時の状態に近づける方法²¹⁾ として行なった。

3.2. MR 撮像条件

SE 300/30/2 (TR/TE/exitations), 3 次元フーリエ変換法, 横断面, 撮像径 100mm, スライス厚 2mm, 撮像マトリックス 256×256×7, ハーフエンコード法, ラップタイプサーフェスコイル使用である。ボクセルは約 0.4×0.4×2mm となり, 撮像時間は 10 分 10 秒である。

3.3. MR 画像の評価

膝下リンパ節の信号強度の変化を観察し、さらに変化のもっとも明らかに描出されているリンパ節内の部分に関心領域を設定し、薬剤投与前と比較した信号強度の変化度 (ΔSI) を以下の式によって算出した。

$$\Delta SI = (SI_{\text{post}}/M_{\text{post}})/(SI_{\text{pre}}/M_{\text{pre}}) - 1$$

$SI_{\text{pre}}, M_{\text{pre}}$: 投与前のリンパ節, 筋の信号強度

$SI_{\text{post}}, M_{\text{post}}$: 投与後のリンパ節, 筋の信号強度

3.4. 組織標本の作成

膝下リンパ節の摘出に際しては MR 画像との正確な比較検討のため、頭側に糸をかけ表面に墨汁でしるしをつけ、オリエンテーションが得られるようにした。

摘出したリンパ節は、10%ホルマリン溶液にて固定し、別に用意した家兎肝(コンドロイチン硫酸鉄80mgFe/kg 静注2時間後採取)の薄片とあわせてパラフィン包埋しブロックを作成した。切片はスライス厚設定3 μ m, 間隔2.5~3mmでMR画像と同一軸で上部, 中部, 下部の3枚を得た。染色は中性赤で核染色したのち3価鉄染色法であるベルリン青染色²²⁾を付しスライド標本を作成した。

投与48時間後についての組織標本の作成では、比較として投与20分マッサージ後の検体とともに、スライス厚設定9 μ mの凍結切片に鉄染色液の

滴下のみを行いスライド標本を作成した。これはリンパ洞内のリンパ液中の薬剤の効果を検討する目的で行った実験であり、通常の組織標本作成ではリンパ洞内の鉄剤が流れてしまうので、それを防止するために行った。

3.5. 組織標本の評価

光学顕微鏡により鉄染色物の分布を対応するMR画像と比較検討した。さらに、パラフィンブロック標本については、相対的鉄含有量を検討するため、カラー画像解析システム(SP500, オリンパス)を用い、色抽出法により画素ごとの鉄染色による青色の有無を二値化してその画素比率を測定した。測定はスライド標本のなかで最も多く存在する部分で関心領域を設定して計測し、同一スライドにある肝組織内鉄剤をコントロールとして以下に示す画素比率比 (ΔP) で比較検討した。

$$\Delta P = P(\text{ly.n.})/P(\text{liver})$$

$P(\text{ly.n.})$: リンパ節の鉄染色物の画素比率

$P(\text{liver})$: 同一スライドにある肝の鉄染色物の画素比率

III. 結 果

1. in vitro における造影能の検討

Fig. 1 に各鉄剤の倍希釈水溶液のMR画像を示す。グルコン酸第二鉄の信号強度は、原剤(2mgFe/ml)で植物油より高く以下の希釈溶液で漸減していた。含糖酸化鉄は、4倍希釈(5mgFe/

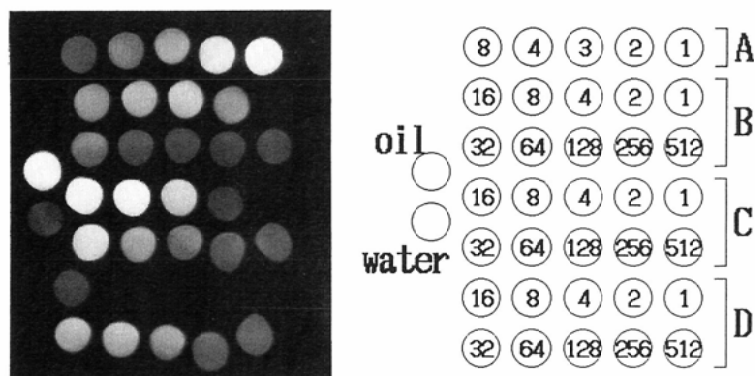


Fig. 1 An MR image (SE300/30) of the agents with dilution and its schema. (A) ferric gluconate; (B) saccharated ferric oxide; (C) iron chondroitin sulfate; (D) cideferron. (1) original; (2~512) dilution ratio with distilled water; (oil) vegetable oil; (water) distilled water.

ml) で植物油より低い高信号強度のピークを示した。コンドロイチン硫酸鉄は原製剤 (4mgFe/ml) でバックグラウンドレベルであり、16倍希釈 (0.25 mgFe/ml) で植物油と同程度の高信号強度のピークを示した。シデフェロンは 8 倍希釈 (3.13 mgFe/ml) 以上の濃度ではバックグラウンドレベルであり、64倍希釈 (0.78mgFe/ml) で植物油より低い高信号強度のピークを示した。

T1・T2計算画像より得た各鉄製剤の緩和能を Table 1 に示す。縦緩和能 (R1) はコンドロイチン硫酸鉄 $0.44 \text{ (mM}^{-1}\text{sec}^{-1})$ 、シデフェロン 0.22 、グルコン酸第二鉄 0.10 、含糖酸化鉄 0.027 の順であった。横緩和能 (R2) はシデフェロン $2.4 \text{ (mM}^{-1}\text{sec}^{-1})$ 、コンドロイチン硫酸鉄 2.3 、含糖酸化鉄 0.30 、グルコン酸第二鉄 0.13 の順であった。これらより R2/R1 は、シデフェロン、含糖酸化鉄が 11 で R2 が R1 と比較して非常に強く、コンドロイチン硫酸鉄は 5.2 となり、一方グルコン酸第二鉄は 1.3 となりほぼ R1 と R2 は同等の強さであった。

家兎の膝下リンパ節 8 個の T1・T2 測定値はそれぞれ、 1.24sec SD 0.23 、 0.093sec SD 0.013 であった。

これらの結果よりシミュレーションした各鉄製剤のリンパ節内濃度による MR 画像 (SE300/30) の信号強度の変化を Fig. 2 に示す。グルコン酸第

二鉄は、 6mM 以上で 50% 以上の信号強度の増加を示し、 60mM 前後をピークとして 200% の増加を示した。含糖酸化鉄はあまり信号強度の増加を示さず、 250mM 以上で投与前より 50% 以上の低下を示した。コンドロイチン硫酸鉄は 1.6mM より 13mM の範囲で 50% から 100% 程度の信号強度の増加を示し、 30mM 以上では 50% 以上の低下を示した。シデフェロンはあまり信号強度の増加を示さず、 30mM 以上で 50% 以上の低下を示した。

2. in vivo における造影能の検討

Fig. 3 に膝下リンパ節の信号強度 (ΔSI) の変化を示し、Fig. 4 にその MR 画像例を示す。

グルコン酸第二鉄の場合 (Fig. 3a), 1mgFe 以上で ΔSI の増加を示し、 4mgFe で最高 75% (20 分マッサージ) の増加を示した。Fig. 4a に 4mgFe 投与の MR 画像を示す。

含糖酸化鉄の場合 (Fig. 3b), 4mgFe 以上で ΔSI の漸減を示し、 8mgFe では 60 分マッサージでバックグラウンドレベルの低下を示した。Fig. 4b に 8mgFe 投与の MR 画像を示す。

コンドロイチン硫酸鉄の場合 (Fig. 3c), 0.5mgFe 以上で ΔSI の変化を示したが、 0.5mgFe 及び 1mgFe では 5 分マッサージで最大 25% の増加と ΔSI の不均一をしめす標準偏差の増加を示し、その後 ΔSI は漸減していった。 2mgFe では 5 分

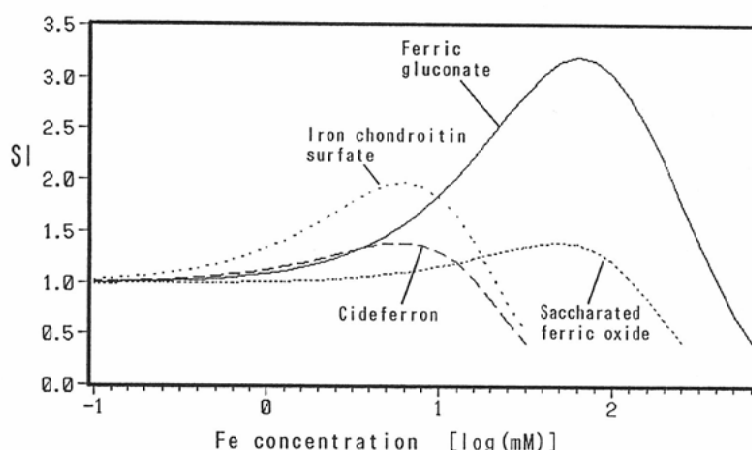
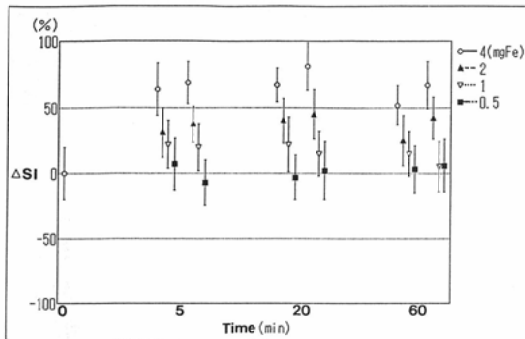
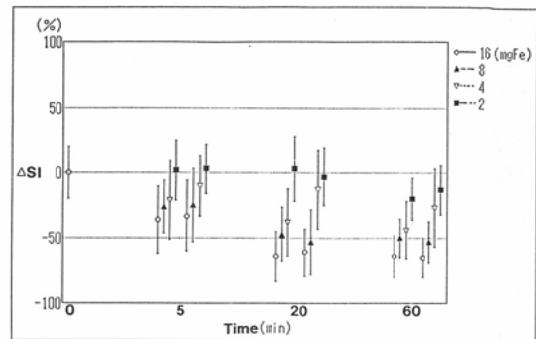


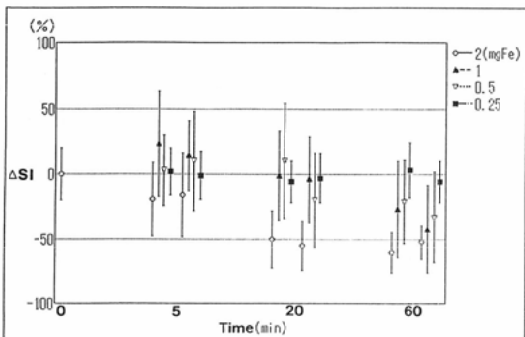
Fig. 2 Simulated relationship between Fe concentration of the agents and signal intensity (SI) in a lymph node with $T1=1.24$ and $T2=0.093$ sec. The pulse sequence is a spin echo with $TR=300$ and $TE=30\text{ms}$. See the text for the formula of SI and in Table 1 for the relaxivities of the agents.



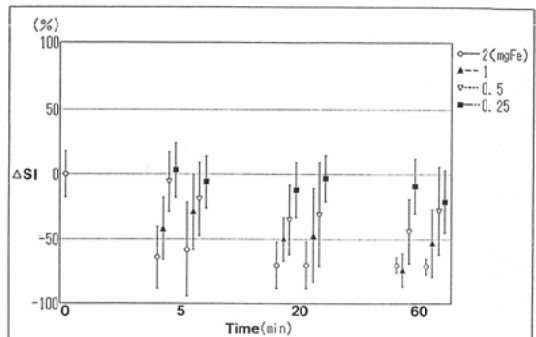
(a)



(b)



(c)

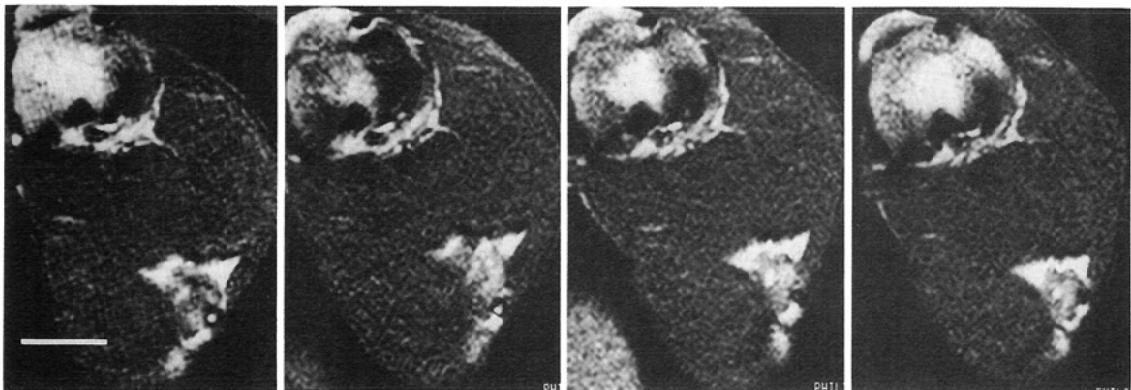


(d)

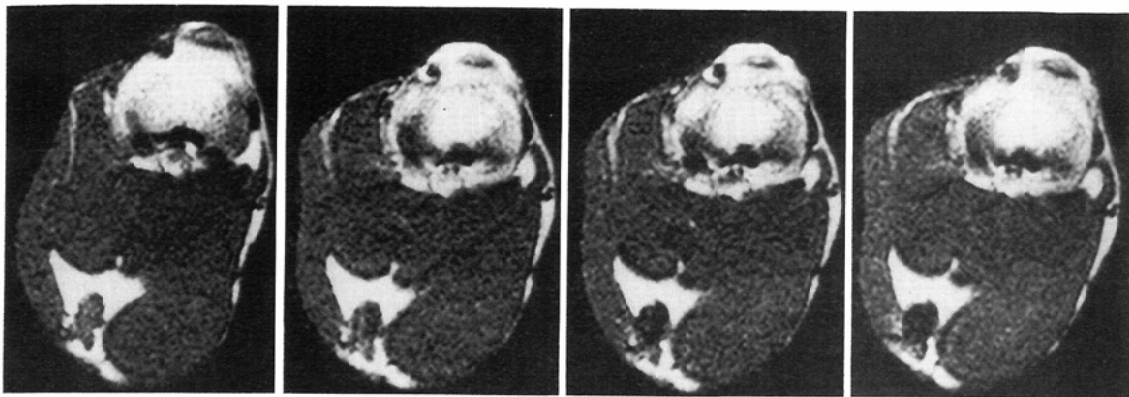
Fig. 3 Relative signal intensities of the lymph nodes following injection of the agents.
 (a) Ferric gluconate. (b) Saccharated ferric oxide. (c) Iron chondroitin sulfate. (d) Cideferon.
 Time: duration of the massage of hind-legs after injection. Time 0 means before injection.
 ΔSI : relative signal intensity compared with before injection.

マッサージで標準偏差の増加を示し、 ΔSI は当初より漸減して60分マッサージではバックグラウンドレベルに近い低下を示した。Fig. 4cに1mgFe投与のMR画像を示す。

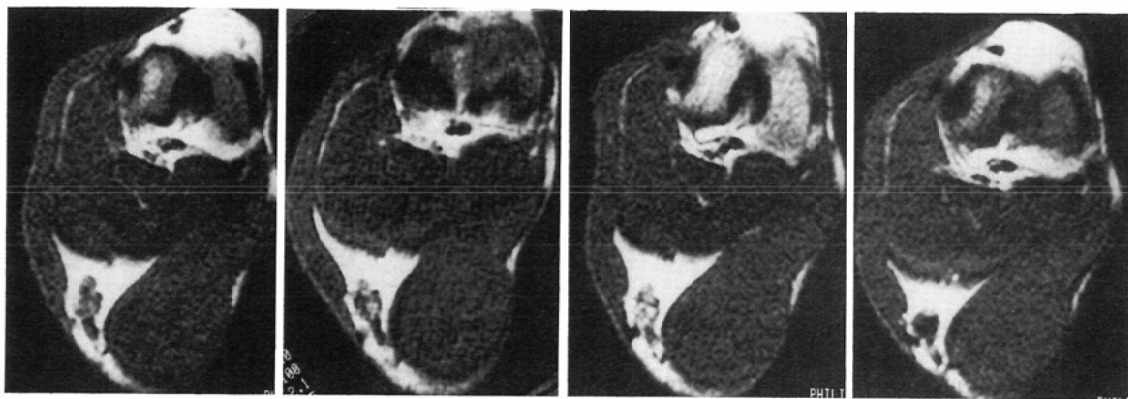
シデフェロンの場合(Fig. 3d), 投与量にほぼ比例して当初より ΔSI の漸減を示した。2mgFeでは5分マッサージよりバックグラウンドレベルに近い低下を示し、1mgFeでは60分マッサージで



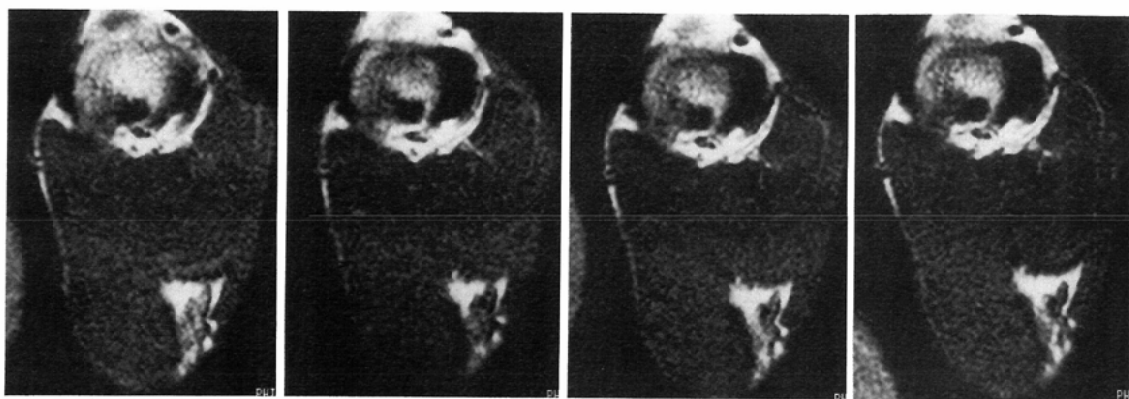
(a)



(b)



(c)



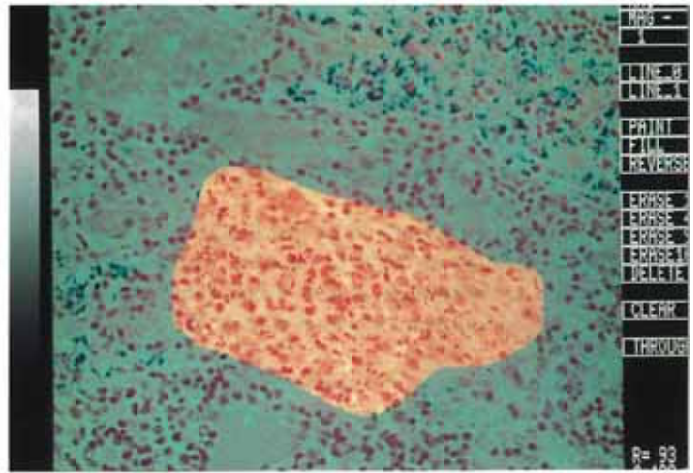
(d)

Fig. 4 Transaxial MR images (SE300/30) of the lymph nodes before, 5, 20 and 60 minutes after injection.

(a) Ferric gluconate 4mgFe. Increases in signal intensity are noted 5, 20 and 60 minutes after. Bar, 1cm. (b) Saccharated ferric oxide 8mgFe. Gradual decreases are noted. (c) Iron chondroitin sulfate 1mgFe. Multi-nodal increases are noted 5 and 20 minutes after and turn to low 60 minutes after. (d) Cideferron 1mgFe. Definite decreases are noted at the anterolateral portion in lymph node 60 minutes after.



(a)



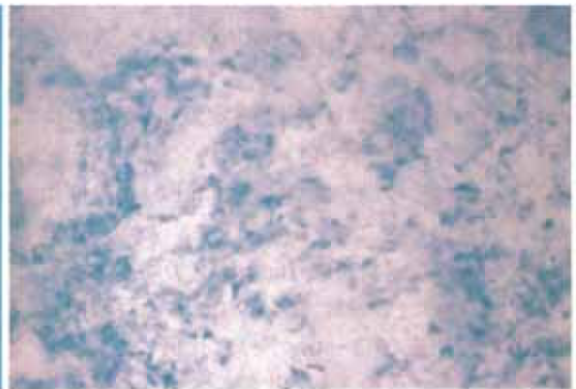
(b)

Fig. 5 Photomicrograph of histologic specimen obtained from a corresponding section of the image in Fig. 4d.

(a) Low magnification ($\times 4$). Blue stained iron particles are distributed in the medullary sinuses corresponding to the portion with signal decreases on the image. An extra-capsular stain is India ink as a marking for orientation. (b) High magnification ($\times 400$) of the medullary sinuses. Aggregated iron particles are seen within macrophages. The central red area means an example of measuring pixel rate of iron staining for the following evaluation of relative iron concentration in lymph nodes.



(a)



(b)

Fig. 7 Photomicrograph of frozen histologic specimen with preparation of iron staining only.

(a) High magnification ($\times 600$) of the medullary sinuses 20 minutes after injection of 2mgFe ferric gluconate. An inhomogenous blue stain is seen, which represents iron particles in lymph. (b) That of 48 hours after. Aggregated iron particles are seen within macrophages and are similar to those in Fig. 5b.

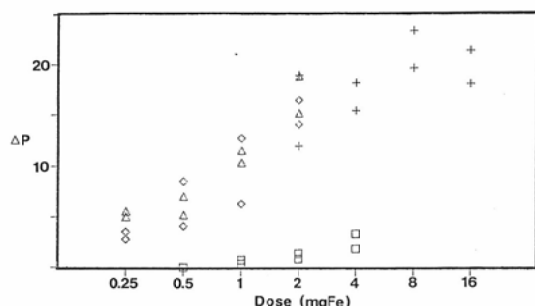


Fig. 6 Relationship between dose and relative iron concentration on the light microscopic study with a color image analyzer.

ΔP: iron concentration ratio in the lymph sinuses compared with that of the liver specimen with intravenous administration of iron chondroitin sulfate 80mgFe/kg. Dose: injection dose of the agents.

(□) ferric gluconate; (+) saccharated ferric oxide; (◇) iron chondroitin sulfate; (△) cideferon.

バックグラウンドレベルの低下を示した, Fig. 4d に1mgFe 投与の MR 画像を示す.

組織標本における検討では, 各鉄製剤とも MR 画像における信号強度の変化にはほぼ一致した部位のリンパ洞にマクロファージに貪食され凝集した鉄染色物を認めた. すなわち, リンパ節の上部を中心にして分布し投与量の多い群ではリンパ節中部にも分布が及んでいた, Fig. 5 に, Fig. 4d に示したシデフェロン投与例の MR 画像に一致する部位の組織標本を示す.

カラー画像解析による比較定量的検討では Fig. 6 に示すようにコンドロイチン硫酸鉄とシデフェロンはその投与量 (0.5~2mgFe) にはほぼ比例して画素比率比 (ΔP) が増加していたが, 含糖酸化鉄はその投与量 (2~16mgFe) で増加をあまり認めなかった. これにたいしてグルコン酸第二鉄はその投与量 (0.5~4mgFe) に比例して ΔP が増加を示すが, 他の 3 剤と比較して ΔP が著しく低く, マクロファージに貪食され固定された鉄剤が少ないことがわかった.

各薬剤投与48時間後の MR 画像では, グルコン酸第二鉄のみ, 投与前より若干の高信号強度を示したが60分マッサージ後のような高信号強度は示

さなかった. 他の 3 剤は, 60分後の MR 画像と比較してバックグラウンドレベルの低信号強度部位が広範囲となって持続していた.

凍結切片による投与後20分マッサージの組織標本と投与後48時間の組織標本の比較検討では, 各薬剤ともほぼ同様の所見を示し, 投与20分ではリンパ洞を中心にして全体に淡い青色に着色し, 比較的濃い染色が散在しているのに対して, 48時間では全体の着色はなく, 濃い染色物が増加していた. これらの濃い染色物はパラフィン切片標本におけるマクロファージに貪食された鉄剤に一致する, Fig. 7 にグルコン酸第二鉄の場合を示す.

尚, 膝下リンパ節32個の摘出時の計測では, 平均頭尾長 8 × 腹背長 6 × 左右長 4mm, 平均重量 70 mg であった.

IV. 考 察

リンパ節に薬剤を到達させるには今回検討した皮下或いは筋内注入によるリンパ流に移行させる方法 (経皮的) とリンパ管に直接注入する方法 (経リンパ管的), 血管注入によりリンパ節の血流を介する方法 (経血管的) が考えられる. Weinmann らは経リンパ管的に Gd-DTPA-BSA を注入して家兎リンパ節の陽性造影を示している²³⁾が, はじめに述べたように手技の繁雑さが問題となる. Weissleder らは経血管的に USPIO (200μmol/kg) を投与してリンパ節の陰性造影を示している²⁴⁾が, 大部分が肝脾骨髓網内系に取込まれるため投与量が多くリンパ節の造影目的の方法としては問題がある. したがってそれ以前に Weissleder らが AMI-25 を用いて示した²⁵⁾ように経皮的投与が最も臨床に適していると思われる.

一般に経皮的投与をした薬剤のリンパ系への移行性は粒子径が重要である²⁶⁾²⁷⁾. 今回検討した各薬剤については動物実験において信号強度の変化を示した投与量が, シミュレーションによる造影効果を示す投与量比にはほぼ一致していたことより, 皮下よりリンパ系への移行性には大きな差がないと考えられる. これは各鉄製剤の粒子径がグルコン酸第二鉄はその平均分子量より推察して若干小さいと考えられるが, これをのぞいてほぼ同程度 (Table 1) であることから支持される. リ

リンパ節に移行した薬剤のマクロファージによる貪食の程度については粒子表面の性状が重要²⁸⁾とされている。この点、組織標本による薬剤の相対的定量の結果より、グルコン酸第二鉄は他の3剤と比較して、貪食されにくいことが示唆され、粒子表面の性状の違いがあるものと推察される。

MR画像用造影剤としての重要な要件として緩和時間の短縮能がある。短縮能には縦緩和能(R1)と横緩和能(R2)があり、 $R1 \leq R2$ である。Gd-DTPAのように $R1 \approx R2$ の場合はその比較的強いR1により適当な濃度でT1強調画像において高信号強度を示す陽性造影剤となりうる。一方、酸化鉄粒子のように $R1 < R2$ の場合はその強いT2短縮効果により低信号強度を示す陰性造影剤となる。この点、グルコン酸第二鉄は $R1 \approx R2$ に近くシミュレーションおよび動物実験からも陽性造影効果を示した。また、他の3剤と違ってリンパ洞内のリンパ液中の鉄剤が洗い出されていた48時間後では造影をあまり認めなかったことより、その造影効果は主にリンパ洞内のリンパ液中の鉄剤によるものと考えられる。リンパ洞の鉄剤濃度は製剤濃度より希釈されることはあっても高くなることはないと考えられることと、グルコン酸第二鉄の製剤濃度(2mgFe/ml, 35.7mM)はシミュレーションにおける最大造影効果濃度(約60mM)より低いことより、製剤濃度を高くすることが可能であれば造影効果も増強し投与容量も減らせると思われる。

グルコン酸第二鉄以外の3剤については、信号強度の低下が48時間後まで持続しており、その陰性造影はマクロファージに貪食された鉄剤のT2短縮効果と考えられる。含糖酸化鉄の場合は $R1 < R2$ であり、シミュレーション、動物実験で陰性造影を示した。しかし組織標本の検討において投与量の増加による鉄剤含有量の増加を示さないことより、マクロファージの貪食機能が飽和する投与量であることが示唆されており、R2が弱く造影剤として適当とは言えない。コンドロイチン硫酸鉄の場合はR2が中等度に強いため、シミュレーションではそれを反映して濃度が上昇するにしがって信号強度の増加を示し、比較的高濃度

で信号強度は低下を示す二相性の変化を示した。これはMR画像における投与後5分、20分で標準偏差の増加、高低信号強度のモザイク状の変化と投与後60分の全体の信号強度の低下の変化に一致している。すなわちリンパ節内の不均一な鉄剤の注入、分布によりモザイク状に変化したものと考えられる。前回の報告⁹⁾で家兎両後肢足背部に2mgFeずつ皮下投与して5分、20分後の腸骨リンパ節の信号強度の増加を示したが、これは膝下リンパ節と比較して部位が遠位であり、リンパ管の吻合等で複数のリンパ管より均一な濃度で希釈され徐々に流入したことと、観察時間が短かったためと考えられる。したがって臨床応用を念頭におくと、陽性造影剤として使用する場合には投与量とともに撮像タイミングが重要な問題或いは難しい問題となる。陰性造影剤としては、60分後、48時間後のMR画像でその可能性を示しており、組織標本による検討でもマクロファージの貪食機能を飽和しておらず十分な陰性造影能を持つと考えられる。シデフェロンの場合は $R1 < R2$ であり、シミュレーション、動物実験で陰性造影を示し、R2自体もコンドロイチン硫酸鉄と同等で比較的強く、投与量が1mgFe(原製剤で0.16ml)で十分な効果を示した。T1短縮効果による信号強度の増加が少なく一相性の信号強度の低下を示し、陰性造影剤としての可能性を示したといえる。また今回検討したMR画像(SE300/30)はT1強調画像であり、T2短縮による陰性造影効果を検討する場合はT2強調画像にくらべて信号強度の低下は観察しにくくなり、必ずしも適当とはいえない。これは逆にT2強調画像の場合はより少ない濃度で陰性造影効果を示すことになり、至適投与量はさらに少なくできるため有利となる。今後、撮像条件の検討が必要と考えられる。

リンパ節は大きく分けて胚中心とリンパ洞よりなり、リンパ液は周辺部にある輸入管より流入しリンパ洞でマクロファージの貪食作用にあい輸出管より流出する²⁹⁾。組織標本でもリンパ節内の鉄剤はリンパ洞に分布し胚中心には分布していなかった。このようにリンパ節内の鉄剤の分布が不均一であるにもかかわらずMR画像では、胚中心

とリンパ洞は分離されずに造影された。Lee ら³⁰⁾の9.4T の in vitro 高解像 MR 画像を用いた酸化鉄粒子 (USPIO) の静注によるラットリンパ節の陰性造影像では、リンパ洞のみの信号強度の低下が分離同定されていることより、これはMR 画像の空間分解能に起因すると考えられる。したがって現在の MR 画像の分解能ではこのレベルのリンパ節転移の診断は難しいと考えられるが、正常リンパ節が全体に造影されるようなMR 画像が得られるほうが、リンパ節単位の診断には都合がよい面もある。

リンパ節内におけるグルコン酸第二鉄と他の3剤では造影効果に寄与する薬剤粒子の存在部位の違いが示唆された。グルコン酸第二鉄ではリンパ液中の薬剤の効果が重要であり、他の3剤ではマクロファージに貪食された薬剤の効果が重要と考えられたが、貪食された鉄剤は組織標本において凝集していた。一般に食胞すなわち二次ライソゾームでは濃縮、酸化、分解等の作用があり³¹⁾、これらの作用は局所的鉄濃度の上昇のみならず比較的不安定な鉄コロイド粒子が変性・凝集して緩和能が変化することが考えられる。この点は鉄コロイド製剤による、リンパ節をはじめとする網内系組織の造影能を修飾する重要な点として指摘される。

今回検討した各薬剤は静注用鉄欠乏性貧血治療剤として長年使用されていてその安全性は高く、一部の製剤では皮下投与における急性毒性試験も明らかにされている¹⁰⁾¹⁶⁾。これらの4種鉄剤以外であるデキストラン鉄製剤の断続的大量筋肉内投与により動物で肉腫をみた報告³²⁾がある。しかし同時に行った含糖酸化鉄では新生物の発生は認めず、総投与量も臨床的量の200~300倍であり、当時臨床的に行われていたデキストラン鉄の筋注で同種の変化を示したとの臨床例の報告も認めていない。皮下投与で問題となるものに局所の鉄剤滞留による色素沈着があり、各薬剤の説明書にも血管外漏出による色素沈着の注意が記載されている。この点はどの程度でどのくらい持続するものか臨床応用に際して検討が必要であろう。また、Baird らの報告等^{33)~35)}に筋肉内投与の記載があ

り、MR 画像における経皮的リンパ節造影において筋肉内投与も検討されうると考えられる。現在、MR 画像におけるリンパ節の造影剤として検討されているものに酸化鉄粒子がある²⁵⁾³⁶⁾。酸化鉄粒子は超磁性体であり、本検討で用いた鉄コロイド製剤よりもR2が非常に強く、MR 画像用陰性造影剤として有利であるが、経皮的投与における安全性はまだ確立しておらず、この点鉄コロイド製剤は前述したように、臨床応用に近い製剤と考えられる。

実験対象として家兎の膝下リンパ節を用いたが、造影は膝下リンパ節の上部に比較的限局していた。これは家兎の膝下リンパ節が5~7個に分葉化しておりそれぞれが別の領域リンパ流を受けるという構造的特殊性³⁷⁾によるものと考えられる。

組織標本の検討において、カラー画像解析装置を用いて鉄染色物の比較定量を行ったが、これはまだ確立した技法ではない。水溶液の比色定量は確立された技法であるが、組織標本においても切片の厚さ、染色の程度等がスライド標本により異なっており、別のスライドとの比較に問題となる。この点を解決するために、リンパ節検体のそれぞれに鉄剤を含有する肝組織の細片を合わせて包埋し、コントロールとした。この結果、Fig. 6 に示したようにグルコン酸第二鉄、コンドロイチン硫酸鉄、シデフェロンで投与量と画素比率比がほぼ比例していたことより、比較定量法として有用であったと考えられる。

V. 結 語

各種鉄コロイド製剤の皮下投与による MR 画像におけるリンパ節造影を家兎を用いて検討し、以下の結果を得た。

1. 検討した4鉄製剤はまちなちの縦・横緩和能を示し、それをもとにリンパ節の造影能をシミュレーションしたところ、動物実験の結果とよく一致していた。

2. グルコン酸第二鉄は投与後60分まで陽性造影されたが、これはリンパ洞内の鉄剤によるT1短縮効果によるものと考えられた。他の3鉄剤では投与後60分、48時間で陰性造影されたが、これ

はマクロファージに貪食された鉄剤による T2 短縮効果によるものと考えられた。

3. リンパ節の陽性造影剤としてグルコン酸第二鉄が可能性を示したが、皮下投与容量が多く、製剤の濃縮化等が必要と思われた。リンパ節の陰性造影剤としてはシデフェロンが最も適当と考えられ十分な造影能を示した。

4. 鉄コロイド製剤は安全性が確立しており臨床応用しやすく、MR 画像におけるリンパ節用造影剤となる可能性を認めた。

稿を終えるにあたり、本研究の御指導、御校閲を賜った、千葉大学医学部放射線医学教室：有水 昇教授に深謝いたします。また、御助言を頂いた日本大学放射線医学教室：鎌田力三郎教授、浦橋信吾助教授、同第 2 病理学教室：根本則道助教授、千葉大学医学部放射線医学教室：三好武美講師に厚く御礼申し上げます。さらにカラー画像解析装置を供用させて頂いたオリンパス光学株式会社に御礼申し上げます。

本研究の一部は第 49 回日本医学放射線学会総会（1990、神戸）において発表した。

文 献

- 1) Dooms GC, Hricak H, Moseley ME, et al: Characterization of lymphadenopathy by magnetic resonance relaxation times: Preliminary results. *Radiology* 155: 691—697, 1985
- 2) Webb WR, Jensen BG, Solitto R, et al: Bronchogenic carcinoma: Staging with MR compared with staging with CT and surgery. *Radiology* 156: 117—124, 1985
- 3) Wiener JI, Chaco AC, Merten CW, et al: Breast and axillary tissue MR imaging: Correlation of signal intensities and relaxation times with pathologic findings. *Radiology* 160: 299—305, 1986
- 4) Glazer GM, Orringer MB, Chenevert TL, et al: Mediastinal lymph nodes: Relaxation time/pathologic correlation and implications in staging of lung cancer with MR imaging. *Radiology* 168: 429—431, 1988
- 5) Castellino RA, Marglin SI: Imaging of abdominal and pelvic lymph nodes, lymphography or computed tomography? *Invest Radiol* 17: 433—443, 1982
- 6) Jing BS, Wallace S: Lymphatic imaging of solid tumors. (In) Clouse ME, Wallace S ed: *Lymphatic imaging*. 2nd ed. p290—292, 1985, Williams & Wilkins, Baltimore
- 7) Croll MN, Brady LW, Dadparvar S: Implications of lymphoscintigraphy in oncologic practice: Principles and differences vis-a-vis other imaging modalities. *Semi Nucl Med* 8: 4—8, 1983
- 8) Winkel KZ: Scintigraphy. (In) Viamonte MJ, Ruttimann A ed: *Atlas of lymphography*. p408—409, 1980, Thieme-Stratton, New York
- 9) 奥畑好孝, 浦橋信吾, 鎌田力三郎, 他: コンドロイチン硫酸鉄コロイドを用いた MR lymphography の予備的検討, 日本医会誌, 50: 671—673, 1990
- 10) グルフェリコン, 日本臓器製薬資料
- 11) フェジン, 吉富製薬資料
- 12) 會和融生: 網内系機能と悪性腫瘍に関する実験的研究, 阪市大医誌, 13: 401—422, 1964
- 13) ブルタール, インタビューフォーム, 大日本製薬資料
- 14) 中西 豊, 倉田邦夫, 吉村嘉男, 他: 静脈注射用コンドロイチン硫酸鉄コロイドについて (第 1 報), 薬学, 86(1): 46—50, 1966
- 15) 中西 豊: 水酸化鉄ゾルの安定性と生体内挙動, 表面, 9: 505—517, 1971
- 16) フェリコン, 日本臓器製薬資料
- 17) 藤田 孟: 塩基性イオン交換樹脂により生成した酸化鉄ゾルの性質, 日化, 87: 686—688, 1966
- 18) Davis PL, Parker DL, Nelson JA, et al: Interactions of paramagnetic contrast agents and the spin echo pulse sequence. *Invest Radiol* 23: 381—388, 1988
- 19) Kleef JE, Cuppen JM: RLSQ: T1, T2, and ρ calculations, combining ratios and least squares. *Magn Reson Med* 5: 513—524, 1987
- 20) Lewis GP, Lowe TJ, White AM, et al: Intracellular enzymes in rabbit hind limb lymph after injury. *J Physiol* 195: 12—13, 1968
- 21) Lewis GP: Changes in the composition of rabbit hind limb lymph after thermal injury. *J Physiol* 205: 619—634, 1969
- 22) 佐野 豊: 呈色反応による無機物質の検出法. (In) 組織学研究法, 第 4 版, p606—608, 1972, 南山堂, 東京
- 23) Weinmann HJ, Press WR, Raduchel B, et al: Characteristics of Gd-DTPA and new derivatives. (In) Bydder G, et al ed: *Contrast media in MRI*, p25—28, 1990, Medicom Europe, The Netherlands
- 24) Weissleder R, Elizondo G, Wittenberg J, et al: Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: An intravenous contrast agent for assessing lymph nodes with MR imaging. *Radiology* 175: 494—498, 1990
- 25) Weissleder R, Elizondo G, Josephson L, et al:

- Experimental lymph node metastases: Enhanced detectin with MR lymphography. *Radiology* 171: 835—839, 1989
- 26) ドラッグデリバリーシステム：リンパへのターゲティング. (In) 嶋林三郎, 他編, 生体コロイド II, p687—689, 1990, 廣川書店, 東京
 - 27) Bergqvist L, Strand SE, Persson BRR: Particle sizing and biokinetics of interstitial lymphscintigraphic agents. *Semi Nucl Med* 8(1): 9—19, 1983
 - 28) Frier M: Phagocytosis. (In) Cox PM ed: *Progress in radiopharmacology* (vol 2), p249—260, 1981, Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam
 - 29) Geneser F: Lymph nodes. (In) *Textbook of histology*. 1st ed. p372—378, 1986, Munksgaard, Copenhagen
 - 30) Lee AS, Weissleder R, Brady TJ, et al: Lymph nodes: Microstructural anatomy at MR imaging. *Radiology* 178: 519—522, 1991
 - 31) RT ディーン: ライソゾーム, p32, 65—69, 1981, 朝倉書店, 東京
 - 32) Richmond HG: Induction of sarcoma in the rat by iron-dextran complex. *Brit Med J* 5127: 947—949, 1959
 - 33) Baird IM, Podmore DA: Intramusculr iron therapy in iron-deficiency anemia. *Lancet* 6845: 942—946, 1954
 - 34) 中尾喜久: 貧血の治療, 内科, 1: 526—533, 1958
 - 35) 川越裕也: 静注用デキストリンクエン酸鉄 (III). 複合体製剤 “Ferricon” の臨床効果, 臨床血液, 16: 522—529, 1975
 - 36) Hamm B, Taupitz M, Hussmann P, et al: MR lymphography with iron oxide particles: Dose-response studies and pulse sequence optimization in rabbits. *AJR* 158: 183—190, 1992
 - 37) Wolfe JHN, Kinmonth JB: Lymphatic obstruction and lymph node changes—A study of the rabbit popliteal node. *Lymphology* 16: 19—26, 1983