

論文要旨

Particle Size of Tin and Phytate Colloid in Sentinel Node Identification

Sentinel node 検出における Tin および Phytate Colloid の
至適な粒子サイズについて

東 泰志

【目的】

リンパ節転移は消化器癌の重要な転移形式の一つであり、術式の選択にも密接に関連する。近年、リンパ節転移が最初に起こるとされる Sentinel Node (SN)を検出する試みが行われてきている。すでに SN Navigation Surgery (SNNS) はメラノーマや乳癌では臨床応用されているが、SNを同定するために、様々な種類の RIトレーサーが使用されている。RIトレーサーの粒子径によりリンパ流の豊富な臓器ではSNが多数みられ、逆にリンパ流の乏しい臓器ではSNの同定が困難であり、臓器間での明らかな相違が認められている。消化器癌のSNNSの標準化を目指すには、使用されるRIトレーサーとしては、容易に入手でき、精製に再現性があり、かつ容易に作製できることが必要条件となる。しかしながら、これまでRIの粒子径に着目した研究はほとんどみられない。本研究では、SNNSに使用される代表的なRIトレーサーである、スズコロイドとフチン酸コロイドを用い、その作製条件を変えることによる粒子径の調整を試み、最も適切なRIトレーサーの開発を目的とした。

【方法】

1. 使用する放射性医薬品は、市販されているテクネチウムスズコロイド注射液用スズ溶液(1mM 無水塩化第一スズ溶液、日本メジフィジックス社製)と、テクネチウムフチン酸注射液(5.0mg フチン酸溶液、第一ラジオアイソトープ社製、東京、日本)を使用した。また、溶解液は生理食塩液を使用した。
2. 生理食塩水とスズコロイドの混合比を 1:4、1:2、1:1、2:1、4:1 にわけて粒子径を測定した。また、時間経過を観察するために、混合後 5、15、30、60、120 分後に測定した。
3. フチン酸コロイドはカルシウム濃度により粒子径が変化するため、カルシウム製剤(カルチコール)と混合し粒子径を測定した。
4. 粒子径の測定は Coulter Model N4SD Sub-micron Particle Analyzer (Technical Communications Counter Electronics, Inc. FL, USA)を使用した。

【結果】

1. スズコロイドと生理食塩水の混合比が 1:4 の場合、15 分以内では不均一であったが、30 分以後 120 分までは 50nm であった。混合比が 1:2 では 15 分から 120 分まで 87 から 111nm の粒子径であった。混合比が 1:1 では 5 分で 300nm、30 分で 700nm、60 分から 120 分までは 800 から 1000nm であった。混合比が 2:1 では 5 分で 500nm、30 分で 1000nm、60 分で 1200nm であった。混合比が 4:1 では 5 分で 500nm、30 分で 1000nm、60 分で 1500nm であった。
2. フチン酸コロイドでは 5 分から 15 分の間では粒子径は変化した、15 分以後は 150-200nm で均一であった。したがって安定した粒子径を作製するには 15 分以後にカルシウムを添加することが重要である。フチン酸コロイドとカルシウムの混合比を変えて粒子径を測定すると、 $174\pm 39\text{nm}$ から $1222\pm 283\text{nm}$ までの粒子径を精製することができた。

【考察】

イオン強度が増強すればコロイドの粒子径が大きくなることが報告されている。研究ではコロイドと触媒の混合比を変化させることで様々な粒子径のコロイドを作製可能であった。大きい粒子では投与部位に滞留し、リンパ管の移行が悪く、逆に小さい粒子では SN を容易に通過し遠位のリンパ節に移行する可能性がある。したがって、SN を同定するための理想的な RI tracer は投与部位よりリンパ管への移行性に優れ、SN に滞留し、遠位のリンパ節に容易に広がらないものが求められる。各臓器によってリンパ管数は異なるため、リンパ流の豊富な臓器では大きな粒子径、リンパ流に乏しい臓器は小さな粒子径のトレーサーが SN の同定に適していると考えられる。現在遂行中の胃癌の臨床研究では 100nm が 50、500nm に比べ優れている結果が得られている。本研究で投与前に各臓器に応じた粒子径を調整できることが可能となった。今後 SNNS を臨床応用する上で、各臓器に最適な粒子径を選択することが SNNS の標準化には重要である。

(Journal of Surgical Research 121,1-4 2004 掲載)

論文審査の要旨

報告番号	医論第1421号	氏名	東 泰志
審査委員	主査	宮田 篤郎	
	副査	坂田 隆造	馬嶋 秀行

Particle Size of Tin and Phytate Colloid in Sentinel Node Identification

Sentinel node 検出における Tin および Phytate colloid の 至適な粒子サイズについて

近年、リンパ節転移が最初に起こるとされる Sentinel Node (SN)を検出する試みが行われている。すでに SN Navigation Surgery (SNNS) はメラノーマや乳癌では臨床応用されており、SNを同定するために、様々な種類の RI トレーサーが使用されている。リンパ流の豊富な臓器では SN が多数みられ、逆にリンパ流の乏しい臓器では SN の同定が困難であり、臓器間で明らかな相違が認められる。しかしながら、これまで RI の粒子径に着目した研究はほとんどみられない。大きい粒子では投与部位に滞留し、リンパ管の移行が悪く、逆に小さい粒子では SN を容易に通過し遠位のリンパ節に移行する可能性がある。したがって、SN を同定するための理想的な RI tracer は投与部位よりリンパ管への移行性に優れ、SN に滞留し、遠位のリンパ節に容易に広がらないものが求められる。各臓器によってリンパ管数は異なるため、リンパ流の豊富な臓器では大きな粒子径、リンパ流に乏しい臓器は小さな粒子径のトレーサーが SN の同定に適していると考えられる。学位申請者は、SNNS に使用される代表的な RI トレーサーであるスズコロイドとフチン酸コロイドを用い、消化器癌における至適な RI トレーサーを開発すべく、その作製条件を変えることにより粒子径の調整を試みた。

研究方法は、

生理食塩水とスズコロイドの混合比を 1:4、1:2、1:1、2:1、4:1 にわけて粒子径を測定した。また、時間経過を観察するために、混合後 5、15、30、60、120 分後に particle size を測定した。フチン酸コロイドはカルシウム濃度により粒子径が変化するため、カルシウム製剤 (カルチコール) と混合し粒子径を測定した。粒子径の測定は Coulter Model N4SD Sub-micron Particle Analyzer を使用した。

その結果、本研究では以下の知見が明らかにされた。

1. 生理食塩水とスズコロイドの混合比が 1:4 の場合、15 分以内では不均一であったが、30 分以後 120 分までは 50nm であり、混合比が 1:2 では 15 分から 120 分まで 100nm の均一な粒子径が得られた。混合比が 1:1 では 5 分で 300nm、30 分で 700nm と大きくなり、120 分では 1000nm であった。混合比が 2:1 では 5 分で 500nm、60 分で 1200nm であり、混合比が 4:1 では同様に大きくなり 60 分で 1500nm であった。このように種々の粒子径を作製することが可能となった。
2. フチン酸コロイドでは 5 分から 15 分の間では粒子径は変化したが、15 分以後は 150-200nm で均一であった。したがって安定した粒子径を作製するには 15 分以後にカルシウムを添加することが重要である。フチン酸コロイドとカルシウムの混合比を変えて粒子径を測定すると、 $174 \pm 39\text{nm}$ から $1222 \pm 283\text{nm}$ までの粒子径を作製することができた。

本研究でコロイドと触媒の混合比を変化させることにより様々な粒子径のコロイドを作製できた。投与前に各臓器に応じた粒子径を調整することにより、消化器癌においても SNNS の臨床応用が可能となった。よって本研究は、学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

試験(学力確認)の結果の要旨

報告番号	医論第1421号	氏名	東 泰志
審査委員	主査	宮田 篤郎	
	副査	坂田 隆造	馬嶋 秀行

主査及び副査の3名は、平成18年1月31日、学位申請者 東 泰志君に面接し、学位請求論文の内容について説明を求めるとともに、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) 粒子径測定器の COULTER MODEL N4SD の測定原理は？

回答 粒子にレーザー光を照射し散乱されたレーザー光を検出する。さらに光子相関分光法により粒子径を測定する。

質問2) 理想的な tracer の条件とは？

回答 Sentinel Node を同定するための理想的な tracer は投与部位よりリンパ管への移行性に優れ、SN に滞留し、遠位のリンパ節に容易に広がらないものが求められる。さらに生体で時間経過とともに変化し、サイズが大きくなり SN にとどまるものが理想的な tracer といえる。

質問3) SN 検出に個人差はないのか？

回答 たとえば乳癌におけるリンパ管ネットワークは年齢により異なり、若年者と高齢者では SN 検出に差がある。各臓器によっても、リンパ管ネットワークは異なるため、SN 検出に差を認める。現在、胃癌においては 100nm、甲状腺癌では 1000nm と各臓器により粒子径を使い分けている。

質問4) 粒子径が確立される前と後では臨的にどのような差があるか？

回答 粒子径の確立される以前の症例と、統一された粒子径を使用した症例とでは、RI-uptake に差を認めた。臨床研究で示したように胃癌では 100nm の粒子径が至適サイズといえる。

質問5) SN は機能的一群リンパ節と考えてよいか？

回答 Sentinel concept から考えれば機能的一群リンパ節と考えてよい。

質問6) 胃癌取り扱い規約で第2群とされるリンパ節に SN はないのか？

回答 通常は1群リンパ節に SN が認められる場合が多いが、第2群リンパ節の No. 7, 8a, 11p への集積が4%くらい認められた。リンパ管に個人差があるために規約上の2群リンパ節ではあるがこれらの症例では SN と考えられた。

質問7) コロイドの大きさがそろっていれば、スズコロイド以外でもよいか？

回答 リンパ指向性がよく球形でサイズが整っていないとてはならない。そして体内でコロイドサイズが変化し、大きくなりリンパ節に留まることが重要である。現在使用されている tracer の中ではスズとフチン酸コロイドが条件を満たしている。

質問8) コロイドの毒性、排泄は気にしなくてよいか？

回答 肝臓で代謝される。明らかな毒性は報告されていない。

- 質問9) 粒子径が大きくなるのは？
回答 スズコロイドは注入した時点より圧、能動輸送によりリンパ管内を流れ、リンパ節内でイオン強度により凝集することにより大きくなりSNに停滞する。
- 質問10) 投与前のサイズと生体内でのサイズの状況は？
回答 投与前のコロイドサイズが100nmであったのがSNとして摘出されたリンパ節内でのコロイド分布状況を蛍光顕微鏡で確認すると約2000nmで凝集しており、体内で変化し大きくなっていることが確認された。サイズの増大はコロイドの凝集に起因している。
- 質問11) スズとフチン酸の利点、欠点は？
回答 フチン酸の粒子径を変化させるにはカルシウムを混合し調製しなければならない。また、体内に注入されれば、体内のカルシウム濃度により大きくなるとされており不明な点がある。スズコロイドは50-2000nmの粒子径をスズ溶液と生食の混合比のみを変えることで作製可能であり、フチン酸に比べてスズコロイドのほうが容易に作製できる。
- 質問12) metastasis, micrometastasis とコロイドの集積との discrepancy はどうか？
回答 リンパ節内に占める腫瘍面積が60%を超えるとRIはとりこまれないという結果を得ている。
- 質問13) リンパ管の構造と hot node との関係はどうであるか？
回答 リンパ管は loose であり、注入された tracer は圧、能動輸送によって hot node に取り込まれると思われる。リンパ管も個人差があるために、SNの部位は異なる。このことは個別化治療の応用につながるとと思われる。
- 質問14) コロイドは物理的に流れリンパ節内にあるのか？ phagocyte されないのか？
回答 注入されたコロイドは、圧および能動輸送によってリンパ節に取り込まれる。注入してから2時間で hot node に取り込まれているので phagocyte されていないと考える。しかしそれ以上の時間が経過すると phagocyte されると思われる。
- 質問15) SNNS を用いてどのような手術を目指すのか？
回答 早期胃癌症例の一部においては sentinel node biopsy による郭清が可能になるとと思われる。食道癌においては進行度に応じたの活用法があり、現在EMR+sentinel biopsyの臨床研究を表在食道癌の治療に応用している。また、この手技を用いて放射線治療の照射範囲決定に sentinel node detection を試行中である。

以上の結果から、3名の審査委員は本人が大学院博士課程修了者と同等あるいはそれ以上の学力と識見を十分に具備しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。