^{111}In 標識活性炭の開発とダブルアイソトープ法による 乳腺リンパ流の解析

川西孝和・唐木芳昭・佐伯俊雄・藤巻雅夫^{*1)},
前田正敏・二本松博子・本田 昂^{*2)}

Development of In-111 labeled activated carbon microspheres and analysis of mammary lymph flow by double isotope method

We have developed In-111 labeled activated carbon microspheres (^{111}In -CH44) for use in mammary lymphoscintigraphy and analysis of mammary lymph flow. ^{111}In -CH44 was made by the NaI complex method. In 14 patients with breast cancer studied by double isotope method using ^{111}In -CH44 and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 which we developed formerly. About 1 ml (11.1 MBq, 0.3 mCi) of ^{111}In -CH44 was injected before operation into the outer side of the mammary gland, and 1 ml (74 MBq, 2 mCi) of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 inner side. The axillary and parasternal lymph nodes were visualized clearly using two isotopes at the same time and radioactivity of each isotope in surgically dissected lymph nodes was counted.

In 8 patients with parasternal lymph nodes dissection, mean distribution of radioactivity of, respectively, ^{111}In -CH44 and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 in each regional lymph node group was as follows: brachial and subscapular 2.3% and 0.5%; central, pectoral and subpectoral 79.1% and 72.9%; interpectoral 0% and 1.8%; infraclavicular 1.9% and 5.7%; highest infraclavicular 0.4% and 0%; and parasternal 16.3% and 19.1%. Thus mammary lymph flow in the same patient can be evaluated using two isotopes at the same time.

These results suggest that double isotope method using ^{111}In -CH44 and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 is useful for the detailed analysis of mammary lymph flow.

Takakazu Kawanishi・Yoshiaki Karaki・
Toshio Saeki・Masao Fujimaki^{*1)},
Masatoshi Maeda・Hiroko Nihonmatsu・
Takashi Honda^{*2)}

key words: In-111 labeled activated carbon microspheres, mammary lymphoscintigraphy, mammary lymph flow, breast cancer

リンパ指向性が高い活性炭の性質を利用し、定量的乳腺リンパ流の解析を行うため、筆者らは $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識活性炭 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44) を開発し、その有用性を証明し報告した^{1,2)}。今回、さらに ^{111}In 標識活性炭 (^{111}In -CH44) を開発し、 ^{111}In と $^{99\text{m}}\text{Tc}$ の2核種を用いた、double radioisotope lymphoscintigraphy (double isotope 法) による乳腺所属リンパ節の描出と、郭清リンパ節の2種の放射能の測定をした。

この double isotope 法により、さらに詳細な乳腺リンパ流の解析を行うことができたので報告する。

材料と方法

(1) 標識方法

$^{111}\text{InCl}_3$ 約 2 mCi (74 MBq) に NaI 5 mg を加えた溶液と、5% 活性炭懸濁液 2 ml を約 3 分間攪拌し標識を行った。pH は、1/10 N NaOH を使用して調整した。なお $^{111}\text{InCl}_3$ は、日本メジフィジックス製、活性炭は粒子径 21 nm の CH44 (三菱化成工業) であり、分散補助剤としてポリビニールピロリドン K-30 (半井化学薬品) が使用されている。

(2) 標識率測定方法

^{111}In -CH44 溶液を試験管内に入れ、遠心分離機 RS-18III (Tomy Seiko Co, LTD) で 15,000 回転、60 分の遠心分離を行い試験管内総放射能(a)、上清液を除き沈殿した状態の ^{111}In -CH44 の放射能(b)をおのおの curie meter (Aloka IGC-3) で測定し、計算式 $b/a \times 100$ から標識率を求めた。

^{*1)} Second Department of Surgery 富山医科薬科大学第二
外科学教室

^{*2)} Department of Radiological Science, Toyama Medical
and Pharmaceutical 同 放射線基礎医学教室

(3) *in vitro* における ^{111}In -CH44 の安定性の検討

① pH 値の変動による安定性の検討

1/10N NaOH を加えることにより ^{111}In -CH44 の pH 値を調整し標識率を測定した。

② 経時的安定性の検討

もっとも高い標識率を示す pH の状態において、37°C の条件下、 ^{111}In -CH44 からの ^{111}In の遊離を経時的に 24 時間測定した。

③ 連続脱離に関する検討

リンパ流のシミュレーションモデルを作製し¹⁾、透析用半透膜内の ^{111}In -CH44 から、ヒト血漿中への ^{111}In の遊離を経時的に測定した。

(4) *in vivo* における ^{111}In -CH44 の動態および臨床応用の検討

① ^{111}In -CH44 投与ラットにおける ^{111}In の体内分布

6 週齢の雄ドンリュウラット足底部に、 ^{111}In -CH44 約 1 ml (0.1 mCi, 3.7 MBq) を投与し、1, 3, 6 時間後、各 6 匹より摘出した臓器の放射能を測定した。

② ^{111}In -CH44 家兎足底部投与による膝窩リンパ節の撮像

3 羽 (体重約 2.0 kg) の日本白色腫 (静岡県実験動物農業協同組合) を用いた。耳静脈からペントバルビタールナトリウム 30 mg/kg を投与後、背臥位に固定し、足底部に ^{111}In -CH44 約 1 ml (0.1 mCi, 3.7 MBq) を注入した。コリメーター (high resolution parallel hole) を装着したシンチレーションカメラ (Pho/Gamma IV, Searle Radiographic Inc) にて、撮像距離 15 cm, 10,000 count の条件下で、1, 3, 6, 12, 24, 48 時間後に注入側膝窩リンパ節を撮像した。

(5) ^{111}In -CH44, ^{99m}Tc -CH44 を用いた double isotope 法による乳腺リンパ流解析の検討

① double isotope 法による家兎におけるリンパ流の検討

i. ^{111}In -CH44, ^{99m}Tc -CH44, 家兎足底部投与による膝窩リンパ節の撮像：3 羽の家兎の右足底部に、 ^{111}In -CH44 約 1 ml (0.1 mCi, 3.7 mBq), 左足底部には ^{99m}Tc -CH44 約 1 ml (0.3 mCi, 11.1 MBq) を注入した。単独投与の場合と同じ条件下でシンチレーションカメラにて、経時的に両側膝

図 1 *in vitro* における ^{111}In -CH44 の安定性
a: 経時的安定性, b: 連続脱離

窩リンパ節を撮像した。

ii. 家兎における double isotope 法によるリンパ流の検討：右足底部に ^{111}In -CH44 約 1 ml (0.1 mCi, 3.7 MBq), 左足底部に ^{99m}Tc -CH44 約 1 ml (0.3 mCi, 11.1 MBq) を注入した家兎を経時的 (1, 3, 6 時間後) に、各 3 羽屠殺し、リンパ節 (膝窩、骨盤部、腹大動脈周囲、小腸間膜根部) を摘出した。個々のリンパ節の放射能を、マルチチャンネルアナライザー (Seiko EG & G Co. LTD) にて核種別に測定し、各リンパ節群の放射能分布を求めることにより、左右足底部からの腹腔内へのリンパ流の大きさを求め検討した。

② double isotope 法の臨床応用への検討

i. 乳腺所属リンパ節シンチグラフィー：初発乳癌 14 例を対象とし、腫瘍の占居部位に関係なく、術前に ^{111}In -CH44 を約 1 ml (0.5 mCi, 18.5 MBq) 患者乳腺内 CD 領域境界部に、 ^{99m}Tc -CH44 を約 1 ml (2.0 mCi, 74 MBq) AB 領域境界部に注入した³⁾。術直前にリンパ節シンチグラフィーを施行したが、患者を背臥位の状態とし、ガンマカメラ SNC-510R (島津製作所) にて、 ^{111}In は energy 171, および 245 KeV, ^{99m}Tc は, energy 145KeV (window 20%, preset time 5 分) の条件下で、それぞれ核種別に注入部位を含めた乳腺所属リンパ節の撮像を行った。

ii. 乳腺リンパ流の検討：根治手術施行後摘出したリンパ節の ^{111}In , ^{99m}Tc による放射能を、マルチチャンネルアナライザーにて核種別に測定し、所属リンパ節群の放射能分布を求め、乳腺内側および外側注入 2 点からのリンパ流の大きさを推測し検討した。

図2 ^{111}In -CH44 による家兎リンパ節シンチグラム

I: 注入部位, P: 膝窩リンパ節

統計学的処理: 成績は $\text{mean} \pm \text{SD}$ であらわし, 有意差検定には t 検定, χ^2 検定を用いた.

結 果

(1) ^{111}In -CH44 の開発と *in vitro* における安定性

① pH の変動による安定性

^{111}In -CH44 調整時の pH 値は約 5.0 であり, pH の上昇に伴い標識率も上昇した. pH 11 では 99% 以上の高い値が得られた.

② 経時的安定性(図 1 a)

37°C, pH 11 の条件下で, 標識率は調整時 $99.65 \pm 0.15\%$ の状態から 24 時間後まで継続して 99% 以上に維持され, 非常に安定であった.

③ ^{111}In -CH44 の連続脱離(図 1 b)

生体モデル下での ^{111}In -CH44 の標識率は 99% 以上の状態から時間経過とともに低下したが, 6 時間経過時でも $77.0 \pm 9.5\%$ と高い状態に維持された.

(2) *in vivo* における ^{111}In -CH44 の動態および臨床応用

① ^{111}In -CH44 投与ラットにおける ^{111}In の体内分布

投与 1, 3, 6 時間後の, 各臓器における ^{111}In の分布は, 他臓器に比較し腹腔内, および膝窩リンパ節において有意に高く ($P < 0.01$), ^{111}In -CH44 のほとんどがリンパ節に集積していた. リンパ節以外の臓器では腎臓, 脾臓, 甲状腺, 肝臓, 肺などに多く集積がみられた.

② ^{111}In -CH44 家兎足底部投与による膝窩リ

図3 double isotope 法による家兎リンパ節シンチグラム

リンパ節の撮像(図2)

いずれの家兎においても、 ^{111}In -CH44 投与側の膝窩リンパ節は、約15分後より描出されはじめ、6時間後には明瞭な像となった。24時間、48時間経過後においてもリンパ節の撮像は可能であった。

(3) ^{111}In -CH44, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 を用いた double isotope 法による乳腺リンパ流の解析

① double isotope 法による家兎におけるリンパ流の検討

i. リンパ節シンチグラフィー(図3)： ^{111}In -CH44, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 家兎足底部注入後に、膝窩リンパ節を同時にそれぞれ核種別に描出することができた。

ii. リンパ流の検討(図4)：摘出したリンパ節の放射能を測定し、核種別に全流出率(全摘出リンパ節放射能/全注入放射能 $\times 100$)を求めたが、右足

底部より注入した ^{111}In -CH44 は6時間後 $0.077 \pm 0.052\%$ 、左足底部より注入した $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 は $0.063 \pm 0.031\%$ であった。いずれの場合も1,3時間後と比較し、有意差は認められなかった。

左右膝窩、左右骨盤部、腹大動脈周囲、小腸間膜根部各リンパ節群における放射能分布(各リンパ節群総放射能/全摘出リンパ節放射能 $\times 100$)の平均は、6時間後では ^{111}In ：右膝窩約92.9%、左膝窩0.0%、右骨盤部3.8%、左骨盤部1.7%、腹大動脈周囲0.4%、小腸間膜根部1.2%であり、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ：右膝窩0.0%、左膝窩92.2%、右骨盤部0.7%、左骨盤部4.5%、腹大動脈周囲0.6%、小腸間膜根部1.5%であった。

^{111}In -CH44, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 による放射能分布の平均値の比を各リンパ節群につき求めると、左右足底活性炭注入部からのリンパ流の大きさの割合は、右膝窩(右100.0%、左0.0%)、左膝窩(右0.0%、左100.0%)、右骨盤部(右85.0%、左15.0%)、左骨盤部(右27.9%、左73.1%)、腹大動脈周囲(右41.5%、左58.5%)、小腸間膜根部(右44.8%、左55.2%)であった。

② double isotope 法の臨床応用への検討

i. 乳腺所属リンパ節シンチグラフィー：初発乳癌14例を対象とし、術前に ^{111}In -CH44 および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 注入後撮像を行い、それぞれの核種にて所属リンパ節を同時に描出することができた。胸骨傍リンパ節において、同一リンパ節が核種別に描出されているのが確認された(図5)。

ii. 乳腺リンパ流の検討：根治手術施行後、郭清リンパ節の個数を活性炭非注入群と比較すると、拡大根治的乳房切断術を施行した8症例の平均郭清リンパ節数は 39.4 ± 14.3 であり、有意($P < 0.01$)に多かった。

各乳腺所属リンパ節群²⁾ごとでは、胸骨傍リンパ節郭清を行った8例の放射能分布の平均は、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44(内側)：1a；0.5%、1b；72.9%、1c；1.8%、2；5.7%、2h；0.0%、3；19.1% であり、 ^{111}In -CH44(外側)：1a；2.3%、1b；79.1%、1c；0.0%、2；1.9%、2h；0.4%、3；16.3% の結果が得られた。

また個々のリンパ節群への乳腺内側、および、外側活性炭注入部からのリンパ流の大きさの割合

図4 double isotope 法による家兎におけるリンパ流(注入6時間後 n=9)
 リンパ節群 A:右膝窩, B:左膝窩, C:右骨盤部, D:左骨盤部,
 E:腹大動脈周囲, F:小腸間膜根部

図5 double isotope 法による乳腺リンパ節シンチグラム
 I:注入部位, Ax:腋窩リンパ節, Ps:胸骨傍リンパ節

	所属リンパ節平均放射能分布 (%)						
	1a	1b	1c	2	2h	3	計
^{111}In -CH44 (外側)	2.3	79.1	0.0	1.9	0.4	16.3	100
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 (内側)	0.5	72.9	1.8	5.7	0.0	19.1	100

	各所属リンパ節への内外側からの リンパ流の割合 (%)						
	1a	1b	1c	2	2h	3	計
(外側)	66.0	52.0	0	29.0	100	25.7	50
(内側)	34.0	48.0	100	71.0	0	74.3	50

図6 double isotope 法による乳腺リンパ流 (n=8)
所属リンパ節(乳癌取扱い規約³⁾による分類)

を、それぞれの放射能分布の平均値の比較から求めると、1a(内 34.0%, 外 66.0%), 1b(内 48.0%, 外 52.0%), 1c(内 100%, 外 0%), 2(内 71.0%, 外 29.0%), 2h(内 0%, 外 100%), 3(内 74.3%, 外 25.7%)の結果であった(図6)。

考 察

合理的なリンパ節郭清を行うために、さまざまな製剤を用いた、乳腺リンパ流の解析が検討されている。微粒子活性炭は、リンパ指行性が高く、リンパ節の黒染にすぐれた性質を有する。黒染したリンパ節は、生体内で肉眼的に明瞭に識別する

ことが可能であり、手術におけるリンパ節郭清に有利であるとされる⁴⁾。

筆者らはこの性質を生かし、定量的リンパ流解析を可能とする $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識微粒子活性炭を開発した^{1,2)}。

今回、ダブルアイソトープ法によるさらに詳細なリンパ流の解析を行うことを目的として、 ^{111}In -CH44 を開発し、標識率、生体内での安定性ともにきわめて高いことを確認した。

(1) ^{111}In -CH44 の標識方法、安定性について
活性炭へ金属イオンは吸着しがたいとされているが⁵⁾、錯イオンの形にすることでその吸着が可

能という報告がある^{6,7)}。この性質に注目し NaI を用い、 ^{111}In の錯陰イオンを形成し、この ^{111}In -NaI complex を用い活性炭への吸着を行った。pH の変動による標識率の検討では、pH の上昇とともに標識率が上昇し、pH 11 の状態では標識率が 99% 以上となり、塩基性にするによって安定な錯体が形成され、活性炭と吸着したものと考えられた。

生体内投与とシミュレーションモデル下での ^{111}In -CH44 からの ^{111}In の遊離は、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 の $^{99\text{m}}\text{Tc}$ の遊離よりも少なく¹⁾、生体内でのリンパ液成分やその動的条件による変化によっても ^{111}In -CH44 はより高い安定性が保たれることが示唆された。この製剤のラット、家兎投与により黒染リンパ節の放射能測定が可能であり、また ^{111}In の半減期は 2.8 日と $^{99\text{m}}\text{Tc}$ よりながいため、長時間経過後も明瞭なリンパ節シンチグラムが得られ、本製剤単独でも定量的リンパ流の解析、リンパ節シンチグラフィーへの使用が可能であることが判明した。

(2) double isotope 法によるリンパ流解析

^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 両製剤を同量ずつずつに左右家兎足底部に投与したが、リンパ節シンチグラフィーでは、注入約 15 分経過後よりほぼ同時に両側膝窩リンパ節が造影されはじめた。経時的に摘出したリンパ節の放射能を核種別に測定し、左側、および右側それぞれから、各リンパ節群へ流入した活性炭の分布を計算し求めることが可能であった。両製剤の全流出率は、6 時間経過後において有意差はなく、生体内でもほぼ同様の動態を示すものと考えられた。

各リンパ節群へ左右から流入した両製剤の放射能分布の平均値の比を求めたが、腹大動脈周囲(右 41.5%, 左 58.5%), 小腸間膜根部(右 44.8%, 左 55.2%)となり、左右からのリンパの合流点ではほぼ等しい値が得られることが確認された。乳癌患者においても、これらの製剤を用いることにより、同時に 2 点からのリンパ流の大きさを推測することが可能であると考えられた。

(3) double isotope 法の臨床応用について

臨床例では、活性炭量 1 ml ずつ 2 箇所に入射したが、郭清したリンパ節の個数は、拡大根治的乳房切断術施行例においては、活性炭使用 39.4 ±

14.3、活性炭非使用 20.5 ± 5.4 であり、有意の差がみられ、リンパ節の黒染が手術における郭清の利点として十分に生かされていた。

乳腺内側および外側の 2 点からの所属リンパ節へのリンパ流は、郭清したリンパ節の放射能を ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ につき核種別に測定することによりリンパ流の有無、さらにはその大きさを知ることができた。核種別の各所属リンパ節の放射能分布の平均値から、胸骨傍リンパ節では内側からのリンパ流が約 74.3%, 外側約 25.7% と推測できた。すなわちこのリンパ節へは乳腺内側部から外側部の約 3 倍の大きさのリンパ流があるものと考えられた。他のリンパ節群においても内側注入部位からは 1c 2 3, 外側注入部位からは 1a 1b 2h へのリンパ流が優位であると推測された。

この結果は腫瘍の占居部位から乳癌患者の手術術式を選択したり、リンパ節郭清範囲を決定する際の重要な指標となるものと思われた^{8,9)}。また、術前のリンパ節シンチグラフィーの所見で、腫瘍の占居部位から大きなリンパ流の存在が疑われる場合には、腫瘍径、組織型などを考慮し、その所属リンパ節を十分郭清するのが望ましいと考えられた。

結 論

^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CH44 の併用による double isotope 法は、活性炭の有利な性質を生かし、同時に 2 点からのリンパ流の検索を可能とするものであり、乳癌患者における乳腺リンパ流の解析に有用であった。

文 献

- 1) 前田正敏, 佐伯俊雄, 唐木芳昭・他: $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識微粒子活性炭による乳房リンパ節シンチグラフィーの基礎的検討. 核医学 25: 809-812, 1988.
- 2) 佐伯俊雄, 唐木芳昭, 藤巻雅夫・他: $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識微粒子活性炭の開発と臨床応用. 日外会誌 91: 729-740, 1990.
- 3) 乳癌研究会編: 乳癌取扱い規約. 改訂第 10 版, 金原出版, 東京, 1989.
- 4) 藤井宏二, 沢井清司, 下間正隆・他: 微粒子活性炭(CH44)の術前点墨法による乳腺リンパ流の臨床的研究. 日癌学会誌 21: 96-102, 1986.
- 5) Hassler, J. W., 織田 孝, 江口良友: 活性炭. 第 3 版, 共立出版, 1976.
- 6) 吉田久良, 亀川克美, 有田静児: 活性炭による水銀(II) カドミウムおよび亜鉛の錯陰イオンの吸着. 日化会誌

- 8: 1231-1235, 1977.
- 7) 垣山仁夫, 吉田久良: 活性炭による廃水中重金属イオンの吸着, 表面 16: 266-276, 1978.
- 8) 佐藤達夫, 金子慶虎: 外科医のための局所解剖—乳腺(その3), リンパ系と筋膜, 手術 38: 1515-1528, 1984.
- 9) 北村正次, 富永 健, 林 和雄・他: 胸筋温存術式における微粒子活性炭(CH44)を用いたリンパ節郭清についての検討, J. Jpn. Soc. Cancer Ther. 22(9): 2231-2238, 1987.