

(様式4)

## 学位論文の内容の要旨

山口 藍子 印

### Injection Site Radioactivity of $^{99m}\text{Tc}$ -Labeled Mannosylated Dextran for Sentinel Lymph Node Mapping

( $^{99m}\text{Tc}$ 標識センチネルリンパ節検出薬剤の投与部位滞留機序に関する検討)

#### 研究背景と目的

センチネルリンパ節 (SLN) とは腫瘍からのリンパ流を最初に受けるリンパ節のことであり、腫瘍のリンパ節転移が最初に形成されると考えられている。ラジオアイソトープを用いたSLNの検出にはテクネチウム-99m ( $^{99m}\text{Tc}$ ) 標識コロイド製剤が汎用されるが、コロイドの分子サイズが大きい場合や、投与部位近傍にSLNが存在する場合、投与部位に滞留する放射活性によりSLNの検出が妨げられることがあり、診断精度の低下が懸念される。近年開発された $^{99m}\text{Tc}$  標識マンノース修飾デキストラン ( $^{99m}\text{Tc}$ -DCM20) は、リンパ節に高濃度で存在するマクロファージを標的とする薬剤であり、SLN に高く集積することから、新規SLN 検出薬剤として期待されている。しかしながら $^{99m}\text{Tc}$ -DCM20においても、コロイドよりも低いものの依然として投与部位における滞留傾向が認められ、さらなる投与部位放射活性の低減が必要とされた。一方、マンノースを持たない対象化合物の $^{99m}\text{Tc}$  標識デキストラン ( $^{99m}\text{Tc}$ -DC15) は、投与部位からの速やかな消失を示すことから、 $^{99m}\text{Tc}$ -DCM20の投与部位滞留性にはマンノース修飾が影響を与えている可能性が示唆された。そこで本研究では、 $^{99m}\text{Tc}$ -DCM20の投与部位滞留と投与部位に存在し、マンノース受容体を持つマクロファージおよび樹状細胞の関与を調べた。

#### 研究方法

まず $^{99m}\text{Tc}$ -DCM20投与部位滞留性におけるマンノース受容体の関与を調べるため、*in vivo*結合阻害実験を行った。マウス足裏より $^{99m}\text{Tc}$ -DCM20を過剰量の非放射性DCM20またはDC15との混液として皮下投与し、1時間後に関心臓器を摘出し、放射活性を測定した。続いて、 $^{125}\text{I}$ 標識マンノース修飾アルブミン ( $^{125}\text{I}$ -NMA) を用いて、マウス体内動態を追跡し、 $^{99m}\text{Tc}$ -DCM20の挙動と比較した。さらに蛍光標識DCM20およびDC15を作製し、皮下投与した後、投与部位を摘出し蛍光染色を行った。

#### 結果と考察

$^{99m}\text{Tc}$ -DCM20の投与部位およびSLNにおける放射能集積は、非放射性DCM20の投与量増加に従い減少した一方で、肝臓、脾臓集積は増加した。これは、過剰量のDCM20によりリンパ節のマンノース受容体が飽和したため $^{99m}\text{Tc}$ -DCM20がリンパ管から胸管を経て血中へと流出し、肝臓および脾臓のマンノース受容体陽性細胞に結合したためと考えられる。一方、非放射性DC15の投与は $^{99m}\text{Tc}$ -DCM20の投与部位およびSLNにおける放射能集積に影響を与えなかった。これらのことから、DCM20の投与部位滞留性には結合特異性と結合飽和性があることが認められ、マンノース受容体の関与が示唆された。ま

た、 $^{125}\text{I}$ -NMAは投与部位およびSLNから速やかな消失を示した。このことから、SLNと同様に、投与部位においても $^{125}\text{I}$ -NMAはマンノース受容体に結合した後、細胞内に取り込まれ、リソソーム内で速やかな代謝を受け、 $^{125}\text{I}$ または $^{125}\text{I}$ -tyrosineなどの放射性代謝物として細胞外へと排出されたと考えられる。従って、マンノース修飾高分子化合物である $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DCM20も同様に、マンノース受容体に特異的に結合した後、細胞内に取り込まれていると予想される。一方で、デキストランはリソソームでの代謝を受けにくいことから、細胞内に取り込まれた $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DCM20は、代謝を受けずにリソソーム内に局在していると考えられる。続いて、蛍光標識DCM20を作製し、投与部位における局在を調べたところ、皮下領域に広範な分布が認められた。また、その分布は、蛍光染色によるマクロファージおよび樹状細胞の分布と一致した。一方、蛍光標識DC15の投与部位皮下における分布は非常にまばらであり、マクロファージおよび樹状細胞との共局在はほとんど認められなかった。従って、投与部位に滞留したDCM20は皮下に存在するマクロファージおよび樹状細胞と結合していることが明らかとなった。

#### **結論:**

以上の結果により、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DCM20のマクロファージおよび樹状細胞のマンノース受容体に対する特異的結合が、投与部位滞留性の要因の一つであることを明らかにした。また、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DCM20はSLNと投与部位の双方で同様の細胞に集積することから、投与部位集積を低減するためには、投与部位のみで $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DCM20のマンノース受容体に対する結合を阻害し、SLN集積を妨げない、部位特異的な新しい結合阻害方法の確立が必要であると考えられる。