
原 著

Gd-DTPA の家兎 V_x-2 腫瘍における動態と局在分布

Dynamics and distribution of Gd-DTPA as a contrast-enhancement drug in MR imaging in V_x-2 carcinoma in rabbit.

三好 武美 (千葉大学医学部放射線医学教室)
植松 貞夫 (千葉大学医学部附属病院放射線部)
斉藤 正好 (千葉大学医学部附属診療放射線技師学校)
井内 啓子 (千葉大学医学部附属病院放射線部)
守田 文範 (同 上)
東 治喜 (日本シェーリング株式会社研究部)
岩井 克己 (同 上)

キーワード

V_x-2 carcinoma, Gd-DTPA(Gadopentetate), Rabbit, Magnetic resonance imaging.

要 旨

Gd-DTPA has been recently used as a contrast-enhancement drug in MRI to obtain detailed information of tumors. However, the distribution of Gd-DTPA in tumors has yet to be established. We tried, in this report, to study the dynamics and the distribution of Gd-DTPA in tumor tissues or nearby, by comparing the concentration of Gd-DTPA in serum, the intensity of tumor in contrast-enhanced MR imaging, histological specimens and the autoradiogram of V_x-2 carcinoma in the leg of rabbits.

In this study, the autoradiogram at 20 minutes after intravenous injection of Gd-¹⁴C-DTPA with the dosage of 30 μ Ci/0.1 mmol/Kg was studied with the histological specimen, stained by Cason's Mallory method, using a cross section of rabbit's leg with tumor implanted. And the concentration of Gd-DTPA in serum, the Gd-DTPA contrast-enhanced MR imaging and its intensity of tumor, and the grain density of ¹⁴C labelled DTPA in tumor were compared with each other as the time proceeded.

There were no mutual relationship between the concentration of Gd-DTPA and the fluctuation of intensities of tumors in Gd-DTPA contrast-enhanced MR imaging or the change of grain density of several positions on the autoradiogram of rabbit's leg involved tumor. Gd-DTPA distributed in connective tissues with high grade of edema around or in tumors and in interspaces of tumor cells that had no necrosis. The grain

density of ^{14}C labelled Gd-DTPA was highest in edematous connective tissues of tumor, and higher in intact cell layers than in degenerated cell layers.

These results indicated that Gd-DTPA permeated extracellular liquid of connective tissues from blood vessels whose permeability increased, and diffused into interspaces of tumor cells near connective tissues.

はじめに

NMR を用いた画像診断 (Magnetic resonance imaging (MRI)) が登場し、さらに paramagnetic ion によるプロトン緩和促進効果を利用した Enhancement-MRI が試みられるようになってきた¹⁻⁷⁾。特に Gadolinium を diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) とキレート結合させた Gd-DTPA (Gadopentetate) がその安全性の点からも^{4,8,9)}、臨床応用されはじめている^{5,7,10-17)}。Gd-DTPA による画像輝度の増強は、腫瘍においては輪状に増強されるものが多く、瀰漫性に増強されるもの、ときに増強効果の初期において瀰漫性に、少し遅れて輪状の増強に変ってくる症例なども報告されている^{10,15)}。そこで、腫瘍におけるこのような Gd-DTPA による MR 画像の増強効果の臨床的意義を解析するための基礎的検討をおこなった。即ち Gd-DTPA の腫瘍組織および周辺における局在とその動態を検討するために、実験腫瘍として家兎の Vx-2 偏平上皮癌を用いて、Gd-DTPA の血中濃度、画像の輝度の増強効果および Gd-DTPA の局在と、その経時的変動を測定して比較検討した。

材料および方法

実験動物：日本白色種家兎、体重 2.5~3.0 Kg を使用した。MRI 実験においては、Pentovalbital 25 mg/kg 静脈内投与による麻酔下でおこなっ

た。

実験腫瘍：Vx-2 偏平上皮癌細胞を家兎の右大腿筋肉内に注入し、その大きさが拇指頭大になった時点で実験に供した。

NMR 造影剤：Gd-DTPA (Gadopentetate—西ドイツ・シェーリング社製) を使用した。Autoradiography には、 ^{14}C で標識された Gd- ^{14}C -DTPA を使用した。その投与量は $30 \mu\text{Ci}/0.1 \text{ mmol/kg}$ であった。

NMR 撮像装置：超電導、静磁場強度 0.5 Tesla の東レ富士ピッカーインターナショナル VISTA-MR を使用した。撮像パルス系列は TR 400 ms, TE 40 ms であり、画像描出条件も Window 1322, Level 375 と一定とした。

Autoradiography：Gd- ^{14}C -DTPA 投与後、経時的に、致死量の Pentovalbital の静注による即時屠殺をおこない、即時凍結保存した家兎より標本を採取し、これより 40μ の凍結切片を切りだした。LKB-Ultraspeed Film (LKB-Co.) を使用して、Autoradiography をおこなった。その曝露時間は 4 週間であった。Grain 密度の測定は SAKURA-POA-80 によった。

組織標本：Autoradiography のための標本を切りだした接続面より、組織学的検討のための標本を採取した。10% 中性ホルマリン固定、切片の厚さは 15μ 、Cason's Mallory 染色をほどこして、Autoradiogram との比較検討に供した。

Gd-DTPA の血中濃度測定：島津高周波プラズマ分析装置 ICP-50 型を使用して、ICP 発光分析法により測定した。

結 果

Gd-DTPA の経時的な組織内分布および濃度変化と、MR 画像の輝度の変動、その増強効果の相関性について検討するために、実験腫瘍として家兎の大腿筋肉内に移植された Vx-2 偏平上皮癌を用いて検討した。

A) 組織内 Gd-DTPA の局在

Gd-DTPA の腫瘍を中心とした組織内分布を検討するために、Gd-¹⁴C-DTPA を用いた Autoradiography をおこなった。そして近接断面の Cason's Mallory 染色された組織標本と比較した。Fig. 1 に示すごとく、組織標本と Autoradiography 標本は、必ずしも同一断面ではないが、互いに極めて近い断面である。両標本を比較すると、腫瘍の周囲結合組織に対応して、¹⁴C による Grain が最も高密度に認められた。浮腫が高度に存在する腫瘍組織を囲む結合組織の Grain 密度は特に高度であった。腫瘍組織自体では、周囲結合組織に接している腫瘍周辺部では、比較的 Grain 密度が高く、腫瘍内に入りこんでいる結合組織とその周囲腫瘍組織にも比較的高い Grain 密度が認められた。そして腫瘍細胞の変性層、壊死層の表層部にも、ある程度の Grain 密度が認められたが、完全な壊死部の中心部では Grain は認められなかった。筋組織では、筋線維束の間に細く入りこんでいる結合組織が低密度の Grain により、僅かに網状に描出されていた。そして、このような結合組織には浮腫は認められなかった。

B) Gd-DTPA の血中動態と MR 画像の輝度の変動

Gd-DTPA の血中濃度の変化は Fig. 2 に示すごとく、静注後急速に減少し、その半減時間は

0.5 mmol/kg 投与で約 30 分、0.1 mmol/kg では約 45 分であった。一方、0.1 mmol/kg 投与したときの、経時的に撮像された MR 画像と、その輝度の変動は Fig. 3 と Fig. 4 に示した。画像上、腫瘍部位は Gd-DTPA 静注後、5 分から 40

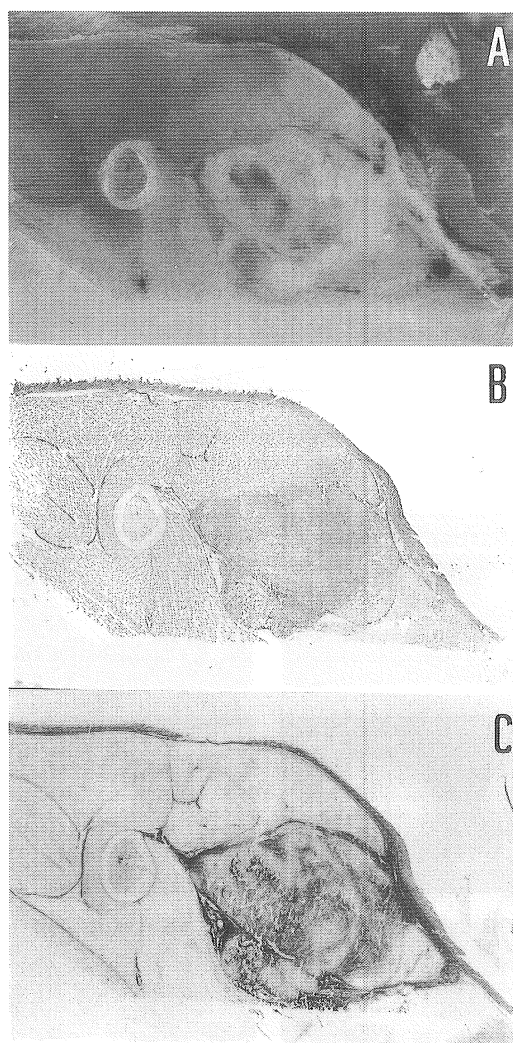


Fig. 1. Distribution of Gd-¹⁴C-DTPA in Vx-2 carcinoma tissues at 20 minutes after intravenous injection. Gd-¹⁴C-DTPA (30 μ Ci/0.1 mmol/Kg) was injected to rabbits with tumor. A; cross section of leg with tumor, B; histological section (Cason's Mallory method), and C; autoradiogram.

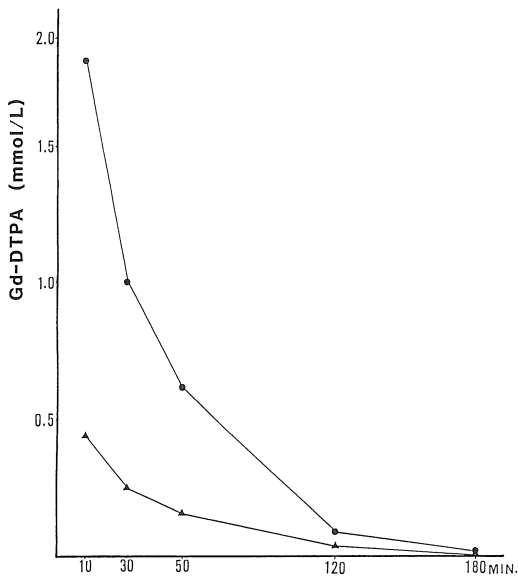


Fig. 2. Concentration of Gd-DTPA in serum after intravenous injection to rabbits. ●; 0.5 mmol/Kg. ▲; 0.1 mmol/Kg.

分までは著明にその輝度は増強されており、さらに80分までは増強効果が認められているが、それ以後はしだいに消失していった。腫瘍周辺部、中心部の測定された画像輝度の変化は、Fig. 4に示すごとく、腫瘍周辺部では、静注5分でピークを形成し、35分でその15%を減じ、45分では約23%を減少、半減時間は約60分であった(輝度の半減時間は、Gd-DTPA投与前の輝度のレベルに戻るまでの時間の1/2とした)。また腫瘍中心部では、静注後10分でピークとなり、以後漸減した。その半減時間は130分であった。

以上の結果を比較すると、Gd-DTPAの血中濃度の減少速度と、Gd-DTPAにより増強されたMR画像の輝度の変動との間には、平行的な相関関係は観察されなかった。従って、腫瘍組織においては、Gd-DTPAの血中濃度の上昇とともに、Gd-DTPAは急速に血管外に分布し、組織内に浸透、滞留し、再び少しずつ血管内に

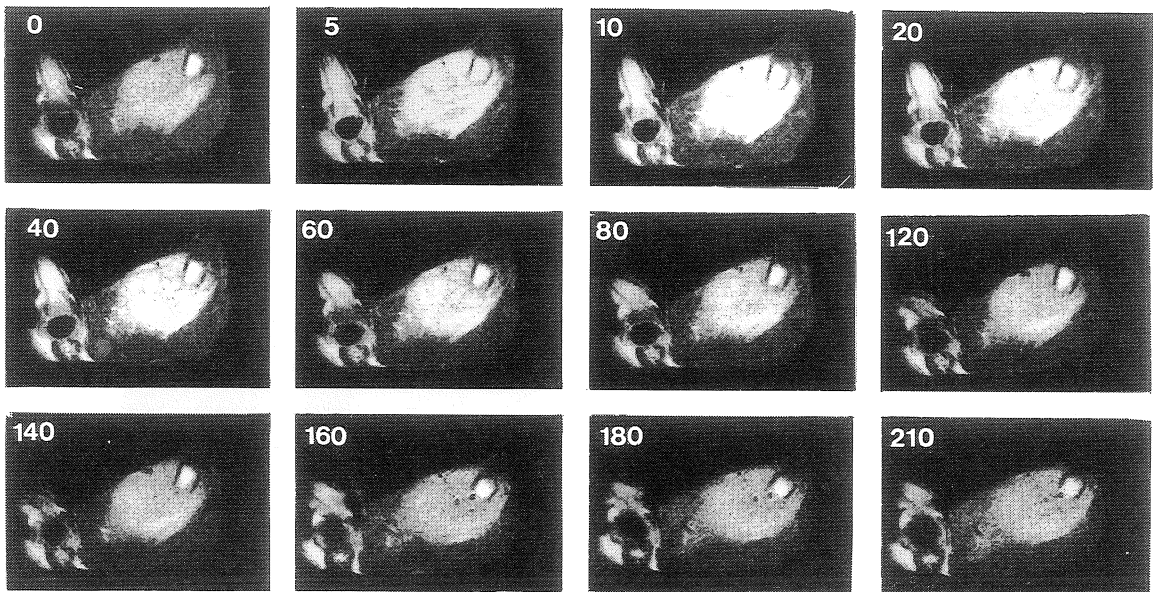


Fig. 3. Effects of Gd-DTPA on contrast-enhanced MR imaging of Vx-2 carcinoma in leg of rabbit after intravenous administration of 0.1 mmol/Kg.

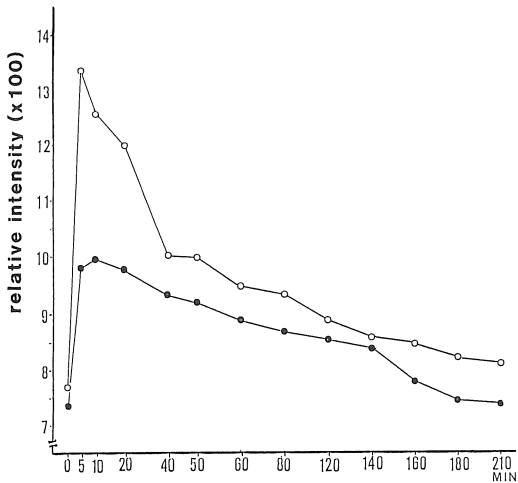


Fig. 4. Relative intensity on Gd-DTPA-enhanced MR imaging of Vx-2 rabbit carcinoma. ○; peripheral region of tumor. ●; central region of tumor.

吸収されて排泄されてゆくものと考えられた。

C) Autoradiography における Gd-¹⁴C-DTPA の Grain 密度の変動

Autoradiography における、組織内の各部位の Grain 密度の変動を検討するために経時的な検討をおこなった (Fig. 5)。

腫瘍の周囲結合組織の Gd-¹⁴C-DTPA の Grain 密度は、静注後 5 分でピークに達し、時間とともにゆるやかに減少し、その半減時間は 80

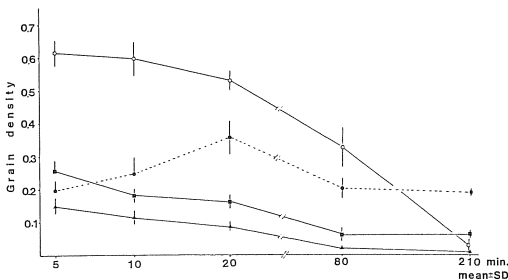


Fig. 5. Grain density of ¹⁴C-labelled Gd-DTPA on the autoradiogram of rabbit tumors. ○; connective tissues around tumor, ●; central region of tumor, involved degeneration and necrosis, ■; bone marrow, and ▲; muscle.

分であった。腫瘍中心部の変性はみられるが、壊死におちいていない部分では、静注 5 分では、骨髄、筋組織とほぼ同レベルの低値であったが、急速に増加し、20 分でピークに達し、腫瘍周囲結合組織のピーク時の Grain 密度の約 60% であった。以後しだいに減少し、静注 5 分後レベルまで低下したあとは、殆んど変化しなかった。骨髄、筋組織にも僅かの分布がみられたが、これも徐々に時間とともに減衰した。

考 察

近年、腫瘍における MRI 診断の有効性を高めるために、画像の Enhancement agent の一つである Gd-DTPA を用いて、動物の実験腫瘍^{6,7)}のみでなく、臨床的検討もなされるようになってきた^{5,7,9-17)}。そして脳腫瘍の場合には、腫瘍の輪状の増強がみられ、perifocal edema が増強されず、腫瘍の拡がりや診断のために極めて有効であると報告されている。また腫瘍の複雑な構造を反映するとみられる増強画像を呈する症例、あるいは増強の初期の画像では瀰漫性に、少し遅れて輪状に増強されてくる症例も報告されている^{10,11,15)}。脳腫瘍のみでなく、肝の実験腫瘍、臨床例においても、腫瘍の内部構造を反映すると思われる画像、また Contrast-enhancement-CT, Gd-DTPA による IR 画像, SE 画像が腫瘍の内部を描出するとき、互いに異った画像を呈する症例も報告されている¹⁰⁾。しかしながら腫瘍および周囲組織における Gd-DTPA の局在と MR 画像上の増強効果を対応し、比較検討した報告はない。このような画像上の所見を正しく理解し、その意義を明らかにするためには、Gd-DTPA の腫瘍局所における動態と、その局在分布の基礎的検討が必要である。

われわれが家兎の移植腫瘍である Vx-2 偏平上皮癌を用いて、Gd-¹⁴C-DTPA による Autor-

adiography をおこなって検討したところ (Fig. 1), 腫瘍を囲む高度の浮腫をきたした結合組織に, 最も高密度の Grain を認めた. 腫瘍組織内に入りこむ網状の結合組織にも同様の所見を認めた. 腫瘍組織自体においては, 結合組織に接する腫瘍細胞層, 変性細胞層に中等度あるいは軽度の Grain 密度が認められ, 壊死巣では外周に微量の Grain が認められたにすぎなかった.

このような Gd-DTPA の局在分布をふまえた上で, Gd-DTPA の血中動態 (Fig. 2), 画像の輝度の変動 (Fig. 4), Autoradiography における各部位の Grain 密度の変動 (Fig. 5) を検討したところ, Gd-DTPA の血中濃度の減衰と, Grain 密度および画像の輝度の変動の間には解離が認められた. したがって, Gd-DTPA は血中濃度の上昇とともに血管外の組織内に分布し, さらに組織液中を浸透してゆくものと考えられた. 毛細血管網が保存されている腫瘍細胞塊内の組織液中には Gd-¹⁴C-DTPA は分布するが, 毛細血管網が傷害, 破壊されていると考えられる, 腫瘍細胞の変性層では Grain 密度の減少が認められ, 特に壊死層には入りにくいと推定された. そして腫瘍を囲む結合組織, それに接する腫瘍細胞層等における微細な Gd-¹⁴C-DTPA の局在および動態を検討するためには, Microautoradiography による検討が必要であると考えられた.

上記のごとく, われわれの検討では, 腫瘍を囲む浮腫の高度な結合組織には, Gd-DTPA が高密度に分布するにもかかわらず, 脳腫瘍における腫瘍周囲の広範囲の perifocal edema では, Gd-DTPA による画像の増強効果が認められない^{10,15}. そして腫瘍のみが輪状にあるいは瀰漫性に増強され, 脳腫瘍における MR 画像診断の Gd-DTPA の有用性の基となっている.

脳腫瘍を囲む結合組織では, 血液脳関門が破壊されており, 血管の透過性も亢進, Gd-DTPA が高濃度に分布するが, 単なる脳浮腫部では血液脳関門は保存されており, 血管の透過性の亢

進もおこらず, したがって Gd-DTPA の血管外分布も生じない. このような理由により, perifocal edema 部には Gd-DTPA が分布せず, 画像の輝度の増強も観察されないと考えられた.

われわれの経験では, 悪性腫瘍は全て Gd-DTPA により画像輝度の増強が認められているが, 良性腫瘍では, 髄膜腫のように増強されるものと, 下垂体腺腫のように全く増強されないものが認められた¹⁵. また乳腺の線維腺腫は Gd-DTPA により増強されるが, 局所増殖性異形成症は増強されないとの報告¹⁶もあり, 星状細胞腫は増強されるものと, されないものがあると報告¹⁷されている. われわれの結果に照らして考察すると, 病理組織学的に良性腫瘍と分類されているものも, 悪性腫瘍と同様に, その結合組織の血管の透過性の亢進と浮腫が存在するものと, 血管の透過性の亢進も浮腫も存在しないものとのに分けることができると推察された. Gd-DTPA による Enhancement-MRI により, 良性腫瘍が, 悪性腫瘍と共通の性質を持つものと, 持たないものとの分類できることは, 腫瘍学的にも誠に興味深いことと考えられた.

良性, 悪性を問わず, 性質の異なる各種腫瘍において, Gd-DTPA による MR 画像の様々な増強効果と, 腫瘍組織, 周囲結合組織の Gd-DTPA の局在, 動態をより詳細に検討することは, MR 画像による診断の臨床的意義を向上させる上でも, また腫瘍学を発展させるためにも, 極めて重要なことであると考えられた.

結 論

家兔 Vx-2 腫瘍を用いて, Gd-DTPA による MR 画像の増強効果と, Gd-DTPA の局在, 動態について検討をおこなった.

1) Gd-DTPA の血中動態と, MR 画像の輝度の変動, Autoradiography における Grain 密度の動態との間に解離が認められ, Gd-DTPA は

血中濃度の上昇とともに血管外に分布，組織液中に浸透し，組織内に滞留したのち，再び徐々に血管内にかえり，排泄されてゆくものと考えられた。

2) 腫瘍組織を囲む結合組織，特に高度な浮腫を伴う結合組織に最も高密度に集積し，結合組織に接する変性，壊死をきたしていない腫瘍細胞層にも集積した。変性をきたしている部分の分布は減少し，壊死部の集積は殆んど認められないか，極めて僅かであった。

文 献

- 1) Doyle, F.H., Pennock, J. M. and Gore, J. C.: Relaxation rate enhancement observed in vivo by NMR imaging. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 5 : 295-296, 1981.
- 2) Brasch, R. C.: Method of contrast enhancement for NMR imaging and potential application. *Radiology*, 147 : 781-788, 1983.
- 3) Brasch, R. C., Weinman, H-J. and Wesbey, G. E.: Contrast enhanced NMR imaging: Animal studies using gadolinium-DTPA complex. *AJR*, 142 : 625-630, 1984.
- 4) Carr, D. H., Brown, J., Leung, A. W-L. and Pennock, J.M.: Iron and gadolinium chelates as contrast agents in NMR imaging: Preliminary studies. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 8, 385-389, 1984.
- 5) Carr, D. H., Brown, J. and Bydder, G. M.: Intravenous chelated gadolinium as a contrast agent in NMR imaging of cerebral tumors. *Lancet*, 1 : 484-486, 1984.
- 6) Staini, S., Stark, D. D., Brady, T. J., Wittenberg, T. and Ferruci, J. T. Jr.: Dynamic spin-echo MRI of liver cancer using gadolinium-DTPA.: Animal investigation. *AJR*, 147 : 357-362, 1986.
- 7) Ferruci, T. J.: MR imaging of the liver. *AJR*, 147 : 1103-1116, 1986.
- 8) Goldstein, E. J., Burnett, K. R., Hansell, J. R., Casala, J., Dison, J., Farrar, B., Gelblum, D. and Wolf, G. L.: Gadolinium DTPA (an NMR proton imaging contrast agent): Chemical structure, para-magnetic properties and pharmacokinetics. *Physiological Chemistry and Physics and Medical NMR*, 16 : 97-104, 1984.
- 9) Weiman, H. J., Laniado, M. and Mutzel, W.: Pharmacokinetics of Gd-DTPA/dimeglumine after intravenous injection into healthy volunteers. *Physiological Chemistry and Physics and Medical NMR*, 16 : 167-172, 1984.
- 10) Carr, D. H., Brown, J., Bydder, G. M., Steiner, P. E., Weinman, H. J., Speck, U., Hall, A. S. and Young, I. R.: MRI: Initial clinical experience in 20 patients. *AJR*, 143 : 215-224, 1984.
- 11) Claussen, C., Laniado, M., Kazner, E., Schörner, W. and Felix, R.: Application of contrast agents in CT and MRI(NMR): Their potential in imaging of brain tumors. *Neuroradiology*, 27 : 164-171, 1985.
- 12) Brant-Zawadzki, M., Berry, I., Osaki, L., Brasch, R., Murovic, J. and Norman, D.: Gd-DTPA in clinical MR of the brain: 1. Intraaxial lesion. *AJR*, 147 : 1223-1230, 1986.
- 13) Berry, I., Brant-Zawadzki, M., Osaki, L., Brasch, R., Murovic, J. and Newton, T. H.: Gd-DTPA in clinical MR of the brain: 2. Extraaxial lesion and normal structures. *AJR*, 147 : 1231-1235, 1986.
- 14) 竹本和正, 井上佑一, 橋本博美, 赤土みゆき, 松村康正, 根本 裕, 福田照男, 小野山靖人, 白馬明, 矢倉久嗣, 馬場 満: Gadolinium-DTPA の使用経験—Contrast enhanced MR imaging. *臨床放射線*, 31 : 795-801, 1986.
- 15) 砂田荘一, 山浦 晶, 鈴木典一, 魚住顕正, 岡田淳一, 宇野公一, 三好武美, 有水 昇, 植松貞夫, 守田文範: 脳腫瘍におけるNMR造影剤Gd-DTPAの効果. *CT研究*, 8 : 267-276, 1986.
- 16) Heywang, S. H., Hahn, D., Schmidt, H., Krischke, I., Eiermann, W., Bassermann, R. and Lissner, J.: MR imaging of the breast using gadolinium - DTPA. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 10 : 205-209, 1986.
- 17) 山田 進, 松沢大樹, 山田健嗣, 吉岡清郎, 小野修一, 川島隆大, 菱沼 隆, 藤原 悟, 片倉隆一, 吉本高志, 鈴木二郎: 脳腫瘍の造影MRIとT₁, T₂値. *映像情報*, 19 : 367-371, 1987.