

修士学位論文要約（令和4年3月）

## リンパネットワークの解剖学的研究と リンパ行性薬剤送達法に適した溶媒特性に関する研究

永松 大輝

指導教員：小玉 哲也

### Anatomical study of lymphatic network and study of solvent properties suitable for lymphatic drug delivery system

Daiki NAGAMATSU

Supervisor: Tetsuya KODAMA

Lymph node (LN) metastasis is thought to account for 20-30% of deaths from head and neck cancer. Lymphatic drug delivery system (LDDS) is a novel technique to inject drugs into sentinel LNs (SLNs) at the early stage of tumor metastasis and to treat SLNs and downstream LNs, and its efficacy has been demonstrated using mice established in our laboratory with lymph nodes comparable in size to human lymph nodes. However, the details of the mouse lymphatic network and the optimal physicochemical properties of the solvent used for LDDS have not been clarified. In this study, we used micro-CT imaging to elucidate the previously unknown lymphatic network in the lower limb region of the mouse, which consists of the popliteal, sciatic, and lateral iliac LNs. By injecting solutions with different osmotic pressures and viscosities into the LN assumed to be SLN, solvents that showed high retention in the SLN and their downstream lymph node were clarified. Furthermore, it was found that the mechanism of this high retention was related to the expansion of lymphatic sinuses and marginal sinuses by the highly osmotic solution, retention in the lymphatic sinuses by the highly viscous solution, and stagnation of blood flow in the microvasculature around the LNs. These results suggest the possibility of developing a new disease model useful for the diagnosis and treatment of LN metastasis using LDDS, and the physical properties of the drug solvent suitable for LDDS were clarified.

#### 1. はじめに

頭頸部がんの予後を調べた報告では、リンパ節 (LN) 転移を制御できずに死亡する人の割合は20%を占める<sup>1)</sup>。リンパ行性薬剤送達法 (LDDS) は、腫瘍転移の初期段階でセンチネル LN (SLN) に薬剤を注入し、SLN および下流 LN を治療することが可能な新規技術であり<sup>2)</sup>、われわれの研究室が樹立したヒトのリンパ節と同等の大きさを有する疾患モデルマウスを用いてその有効性が示されてきた。しかしながら、マウスリンパネットワークの詳細および薬剤送達に使用される溶媒の最適な物理化学特性は明らかにされていない。本研究では、マイクロ CT イメージングをおこないマウス下肢領域におけるリンパネットワークを解明し、薬剤溶媒の浸透圧と粘度が貯留性に与える影響を検討した。

#### 2. リンパ節腫脹マウスにおける

##### リンパネットワークの解明

リンパ節腫脹マウス MXH51/Mo-*lpr/lpr* の膝窩リンパ節 (PopLN) および坐骨リンパ節 (SciLN) に、それぞれヨード造影剤を注入し、三次元 X 線 CT 画像を取得

した。PopLN から SciLN と接続する2本のリンパ管が確認され、1本は SciLN と直接繋がっており、もう1本は外腸骨リンパ節 (LiLN) へと繋がる2つの分岐がみられた (図1 LV2,3)。また、SciLN から LiLN、腎リンパ節 (ReLN) へと連続的なリンパ流が確認された。

#### 3. リンパ行性薬剤送達法に用いる薬剤溶媒の 浸透圧・粘度と貯留性との相関

マウスの腸骨下リンパ節 (SiLN) を上流リンパ節と見立て、浸透圧・粘度の異なる蛍光色素 (ICG) を注入した。その後、SiLN および下流リンパ節である固有腋窩リンパ節 (PALN) における ICG 蛍光強度を測定することでリンパ節内における薬剤の貯留性を評価した。浸透圧  $\pi$  は 588 kPa, 1743 kPa, 3485 kPa および 5228 kPa に調整した。それぞれの溶液の粘度  $\mu$  を 0.9 mPa·s, 11 mPa·s, 133 mPa·s および 1659 mPa·s であった。図2に SiLN および PALN における ICG 蛍光強度を定量化し経時的に表したグラフを示す。SiLN において同程度の浸透圧であっても、粘度が高い溶液の方が常に蛍光強度を示した。一方で、PALN において、薬剤直後の ICG 蛍光強度は粘度と

浸透圧が低いほど高くなり、上流リンパ節への貯留性が高まるほど下流リンパ節への送達能が低下することが示唆された。

#### 4. 高浸透圧・高粘度液注入にともなうリンパ節の形態学的変化

SiLN に  $\mu = 0.9 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ ,  $\pi = 5228 \text{ kPa}$  の高浸透圧液,  $\mu = 1659 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ ,  $\pi = 5228 \text{ kPa}$  の高粘度液をそれぞれ注入し、経時的に超音波 B-Mode 画像を取得した (図3)。高粘度液投与後、リンパ節と皮膚の間に浮腫性変化がみられ、Day 3 まで継続した。一方で、高浸透圧液は投与後に輸出リンパ管周囲の辺縁洞に間隙の形成がみられ、浸透圧差によって拡張したリンパ節実質内のリンパ洞を介して溶液が輸出リンパ管に向けて急速に移行し、輸出リンパ管周囲の辺縁洞に集積・うっ滞したものと思われる。

#### 5. まとめ

本研究では、リンパ節腫脹マウスにおけるリンパネットワークを解剖学的に検討した。また、リンパ行性薬剤送達法に最適なリンパ節内投与製剤の浸透圧・粘度を検討した。

マウス下肢領域において、PopLN から SciLN と LiLN へのリンパ管の分岐、SciLN から LiLN, ReLN へと繋がる連続的なリンパネットワークが確認された。これらの知見は、より臨床に適したリンパ節転移モデルを構築する礎となることが期待される。また、薬剤溶媒の浸透圧が 588 kPa ~ 5000 kPa の範囲内で高いほど、粘度が 1 mPa·s ~ 1659 mPa·s の範囲内で高いほど、刺入リンパ節における薬剤貯留性がそれぞれ向上した。これは粘性をもつ溶液を注入した際、刺入リンパ節の辺縁洞から直ちに排出されないためだと考えられ、下流リンパ節への薬剤送達性は 11 mPa·s, 1743 kPa の溶液が最も高くなった。本研究は、浸透圧および粘度によって薬物動態の調整が可能であることを示し、今後 LDDS 治療に最適な薬剤開発の指針となると思われる。

#### 文献

- 1) Tateda M, Shiga K, Yoshida H, Saijo S, Yokoyama J, Nishikawa H, *et al.* Management of the patients with hypopharyngeal cancer: eight-year experience of Miyagi Cancer Center in Japan. *Tohoku J Exp Med* **2005**;205:65-77
- 2) Fujii H, Horie S, Sukhbaatar A, Mishra R, Sakamoto M, Mori S, *et al.* Treatment of false-negative metastatic lymph nodes by a lymphatic drug delivery system with 5-fluorouracil. *Cancer Med* **2019**;8:2241-51

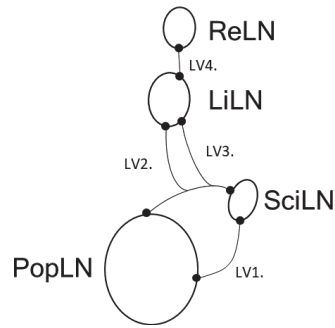


図1 下肢領域におけるリンパネットワークの概略図

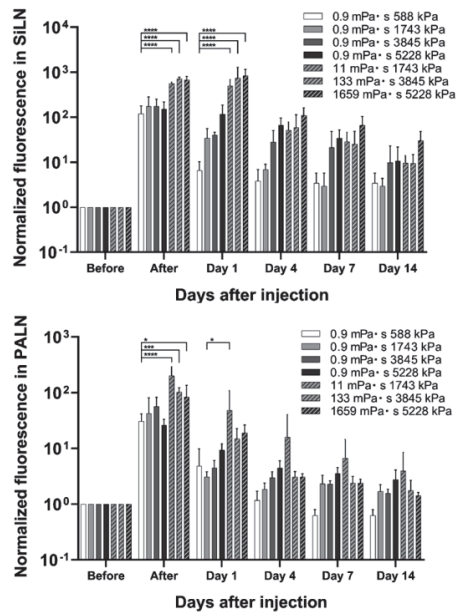


図2 上流・下流リンパ節における蛍光強度

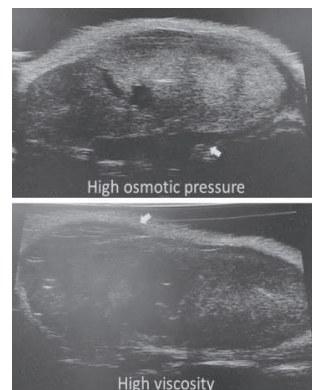


図3 注入直後の SiLN の超音波 B モード画像