

## 《原 著》

## In-111-Oxine 標識好中球による炎症巣の描出

内田 立身\*      松田 信\*      油井 徳雄\*      木村 秀夫\*  
 田中鉄五郎\*      刈米 重夫\*      木田 利之\*\*

**要旨** 最近開発された  $^{111}\text{In}$ -oxine complex を用いて好中球を標識し、あらかじめ炎症の存在が確認されている症例に投与したところ、炎症部位に標識好中球の明瞭な集積を認めた。 $^{111}\text{In}$ -oxine 標識好中球は標識率が高く、phagocytosis index や trypan-blue での viability も障害されておらず、 $^{111}\text{In}$ -oxine complex を用いると標識は比較的簡単であった。好中球寿命も正常例においては  $t_{1/2}$ : 7 時間と  $\text{DF}^{32}\text{P}$  で報告された値に一致し、好中球減少を伴う炎症例では 1.0 時間と短かく、しかも翌日、炎症巣の膿の中に高濃度の放射能が認められ、すみやかに炎症巣に動員されることがうかがわれた。本法は炎症巣の確認や検索に有用であるのみならず、好中球の動態を知る上にも寿命と臓器分布を同時に観察できる利点があって優れていることを示唆した。

## I. はじめに

放射性核種を用いての炎症巣の描出は、 $^{67}\text{Ga}$  を用いて行なわれることが多いが<sup>1)</sup>、特異性に欠ける点がある。好中球は機能的に炎症巣に遊走、集積する特性を有しており、標識好中球を用いれば、より確実性が増すと考えられる。この考えのもとに私どもは、すでに、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$  標識好中球を用いて炎症巣を描出することに成功したが<sup>2,3)</sup>、物理的半減期が短かく長期の観察に不向きであった。最近、Thakur らによって開発された  $^{111}\text{In}$ -oxine は血球標識物質として優れており、好中球<sup>5-9)</sup>、リンパ球<sup>10,11)</sup>、血小板<sup>12,13)</sup> などに応用されている。 $^{111}\text{In}$ -oxine 標識好中球による炎症巣の描出は、Thakur ら<sup>14)</sup>、Martin ら<sup>15)</sup>、Fawcett ら<sup>16)</sup>、Coleman ら<sup>17)</sup>による報告があるが、投与好中球の寿命や組織への移行についての解析に乏しい。私どもは、好中球の減少した血液疾患例における肛門周

囲膿瘍など、あらかじめ炎症の存在が確認されている例にこの technique を応用したところ、明瞭な  $^{111}\text{In}$ -oxine 標識好中球の集積像を得た。本法は、炎症巣の描出に特異性が高く、炎症の部位診断や好中球の動態についての研究にも応用されうる有用な方法であると思われるので、ここにその詳細を報告したい。

## II. 方 法

**症例** 対象は血液疾患で肛門周囲膿瘍 2 例、瘻管 1 例、炎症のない血液学的正常例 1 例である。

症例 1 は急性骨髄性白血病例 (56 歳 男子)。昭和 55 年 7 月より  $40^{\circ}\text{C}$  の発熱あり、風邪として治療をうけ、一時解熱したが、20 日後より再度、発熱、同時に肛門周囲の疼痛、腫脹があり肛門周囲膿瘍として切開術をうけた。そのさい白血球数  $213,000/\mu\text{l}$ 、骨髄芽球 94% を認められ、急性骨髄性白血病と診断され、当科に入院、daunorubicin, arabinosyl cytosine, 6MP, prednisone (以下 DCMP) を中心とする化学療法で白血球数  $1,700/\mu\text{l}$ 、骨髄芽球 0%、好中球 24% となったが、肛門周囲膿瘍は治癒傾向がなかった。この時期に  $^{111}\text{In}$ -標識好中球による炎症巣の描出を試みた。

症例 2 は無顆粒球症の 52 歳女性。昭和 55 年 8 月

\* 福島県立医科大学第一内科

\*\* 同 放射線科

受付: 55 年 10 月 13 日

最終稿受付: 55 年 11 月 26 日

別刷請求先: 福島市杉妻町 4-45 (☎ 960)

福島医科大学第一内科

内 田 立 身

下旬、自律神経失調との診断で某医より内服薬を、また自らも漢方薬を服用していた。9月12日、咽頭痛と発熱があり本院耳鼻科を受診したが解熱せず、40°Cの発熱が持続した。そのさい白血球数1,300/ $\mu$ l、好中球0%で無顆粒球症として内科に転科、同時に肛門周囲膿瘍とそれにつづくびまん性蜂窩織炎があり膿より緑膿菌、大腸菌が検出されている。

症例3は急性骨髄性白血病の51歳男子。全身倦怠感と発熱で入院。初診時、白血球数99,000/ $\mu$ lうち骨髓芽球92%で、DCMP療法を施行、白血球数1,000/ $\mu$ l、骨髓芽球1%、好中球9%となったとき、左示指の瘰癧をきたした。尚、正常例、無顆粒球症では輸血はないが、白血病症例では新鮮血輸血をうけている。

**標識用好中球の分離** 症例1-3は好中球減少があり自己好中球を得ることが困難であったので血液型同型の正常人血液50 mlを抗凝固剤ヘパリンを加えて採血したものを用い、対照とした正常人では自己の血液50 mlより好中球を分離した。操作はすべて無菌的条件下で施行し、試薬もあらかじめ滅菌したものを用いた。

好中球の分離はBoyumの方法に従い<sup>18)</sup>、Ficoll-Isopaque比重遠沈法により、1容のFicoll-Isopaque液に約2容の血液を注意深く重層したのち、400G、30分間遠沈した。遠沈後、リンパ球、単球、血小板をふくむ上清をすて、好中球を多くふくむbuffy coatの部分をもとの滅菌試験管に移し、生理的食塩水で一回洗滌した(300G、10分)。ついで0.28%食塩水に浮遊させ3分間室温に放置して混入せる赤血球を溶血せしめたのち、250G、10分遠沈、さらに生理的食塩水で1回洗滌して(250G、10分)、好中球を得た。好中球は5 mlの生理的食塩水に浮遊して好中球浮遊液とした。以上の操作で、好中球は94.8 $\pm$ 1.0% (n=5)の純度で得られることが別のin vitroにおける検討で確かめられた。

**好中球の標識** <sup>111</sup>In-oxineはAmersham社製のものを科研化学(株)の提供によって用いた。本溶液1 mlはIndiumがoxine complexとして0.1  $\mu$ g以下、oxine (8-hydroxyquinoline) 50  $\mu$ g、polysor-

bate 80-100  $\mu$ g, N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethan-sulphonic acid buffer 6 mg, 0.75% NaCl 1 mlよりなり<sup>111</sup>In 1 mCi/mlに調整され、白血球、血小板標識用として作製されたものである。この<sup>111</sup>In-oxineを好中球浮遊液に加え、室温で20分間インキュベートしたのち自己血漿または生理的食塩水で、250G、10分間遠沈して洗滌する。さらに2回洗滌(250G、10分)をくり返したのち、10 mlの自己血漿に浮遊せしめて、一部を標準として残し、残りを被験者の静脈内に投与した。

### <sup>111</sup>In-oxine 標識好中球の臓器分布の観察

<sup>111</sup>In-oxine 標識好中球投与後、直後、1時間、24時間後の臓器分布を炎症巣をもふくめて東芝製シンチレーションカメラで観察した。また、症例3において投与後24時間目に、瘰癧部の切開を行ない、膿をすべて集めその放射能を測定した。

### <sup>111</sup>In-oxine 標識好中球の血中消失曲線

<sup>111</sup>In-oxine 標識好中球投与後、症例1および血液学的正常例において経時的に5 ml採血し、先にのべたFicoll-Isopaque比重遠沈法と低張塩化ナトリウム溶液による溶血法をあわせた方法で好中球を分離し、2 mlの生理的食塩水に浮遊せしめた。得られた好中球数は、Coulter counterにて算定し、<sup>111</sup>In 標識好中球の放射能をcpm/10<sup>6</sup>好中球で表現した。そして、各々を半対数グラフにプロットし、好中球放射能が0時間の1/2になる時間、t<sub>1/2</sub>を求めた。

## III. 成 績

### <sup>111</sup>In-oxine 標識好中球の標識率と Viability

標識に用いた<sup>111</sup>Inの放射能と投与前の<sup>111</sup>In 標識好中球の放射能の比、いわゆる標識率は正常例、症例1,2および3において、46.8%, 53.2%, 89.2%, 83.0%であった。また、正常例において、標識前後の好中球をin vitroで1ケの好中球に黄色ブドウ球菌死菌100ケとなるように浮遊させ、好中球1ケあたり貪食細菌数を求めたところ前44.9、後57.9で標識操作による好中球貪食能の低下はみられなかった。また、trypan-blue viability testではいずれもtrypan-blue 排除率90%以上を示した。

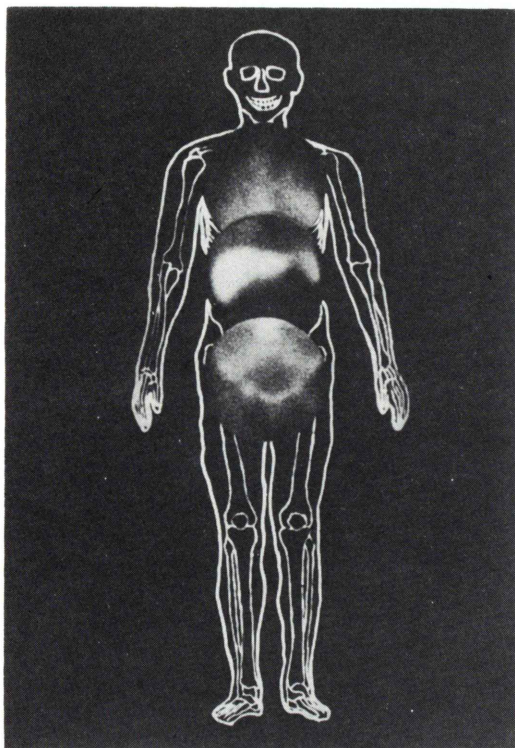


Fig. 1 Migratory patterns of  $^{111}\text{In}$ -labeled neutrophils 1 hour after infusion in normal hematological patient. Note accumulation of radioactivity in lungs, liver, spleen and bone marrow.

#### $^{111}\text{In}$ -oxine 標識好中球の臓器分布の観察

血液学的正常例： $^{111}\text{In}$ -oxine 標識好中球投与後の好中球動態をガンマカメラで観察すると、標識好中球は心血管系を経て肺に捕捉され、ついで5分以内に肺の放射能の減少とともに肝脾が造影される。Fig. 1 は、投与後1時間の臓器分布を示すが、肺、肝、脾のほか骨盤も造影されている。24時間後においてもこの分布はほとんど変化がなかった。

**症例 1:** Fig. 2 は症例 1 における  $^{111}\text{In}$ -oxine 標識正常人好中球投与後1時間の臓器分布を示す。正常人と同じく肝脾に摂取をみると、肺と骨盤が淡く造影されている以外に、肛門周囲膿瘍に一致して明らかな標識白血球の集積を認めた。

**症例 2:** 無顆粒球症の例を Fig. 3 に示す。本例は持続導尿カテーテルが挿入されている。Fig. 3

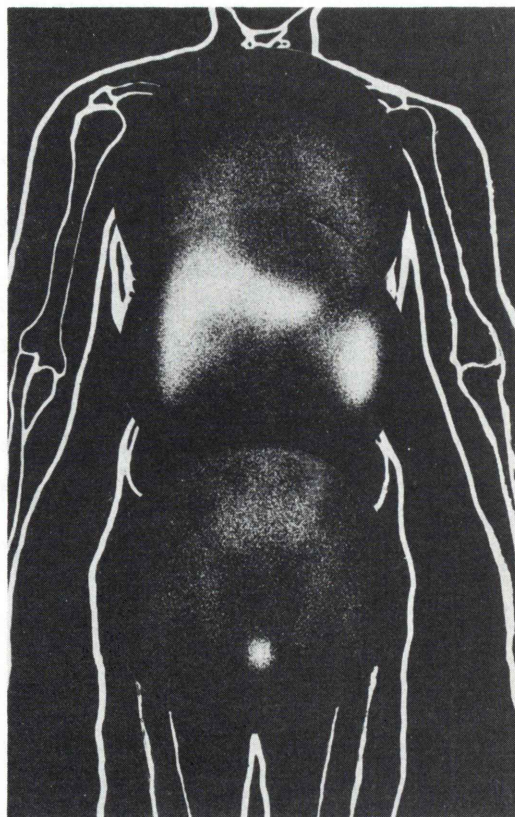


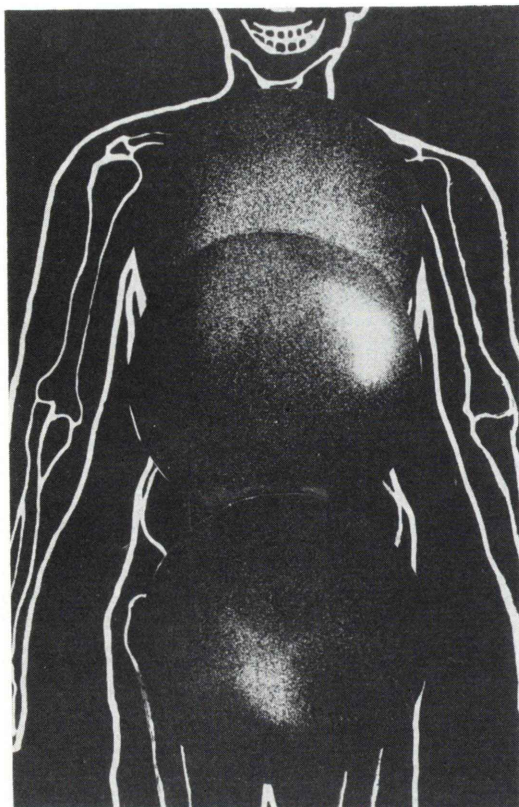
Fig. 2 Migratory patterns of  $^{111}\text{In}$ -labeled neutrophils 1 hour after infusion in a patient with perianal abscess of acute myeloblastic leukemia. Note an accumulation of  $^{111}\text{In}$  in the anal infected area.

は投与後1時間の像で、脾に最も強い集積を認め、肺、肝が造影されている。また肛門周囲膿瘍とその周囲の蜂窩織炎に一致した標識好中球の集積を認めた。

**症例 3:** 急性白血病に合併した瘰癧においても、Fig. 4 のように罹患部への標識好中球の集積を認めた。Fig. 4 の右は、同時に撮影した右手で放射能の摂取は認めない。24時間後に瘰癧部に切開排膿し、膿を集め膿の放射能を測定したところ 18844 cpm であった。この時期の末梢好中球の放射能は  $10^6$  個あたりほとんど検出できなかった。

#### $^{111}\text{In}$ -oxine 標識好中球の血中消失曲線

血液学的正常例の  $^{111}\text{In}$ -oxine 標識好中球の減



少曲線を Fig. 5 に示したが、好中球は指数函数的に減少し、 $T^{1/2}=7.0$  時間であった。これに対し、好中球減少、炎症例においては Fig. 6 のように  $T^{1/2}=1.0$  時間で好中球の炎症巣への動員がすみやかであることが示された。

#### IV. 考 案

$^{111}\text{In}$ -oxine による細胞標識の基礎的検討については、標識率が  $^{51}\text{Cr}$  や  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ( $8.4 \pm 0.6\%$ )<sup>2)</sup> に比し極めて高く、細胞よりの溶出や再利用がないことがいわれている<sup>6)</sup>。私どもの好中球<sup>7)</sup>、リンパ球<sup>11)</sup>、血小板<sup>13)</sup>における検討でも同様に理想的標識用核種であった。好中球に対しては、 $^{111}\text{In}$ -oxine は細胞膜を通過し細胞内で標識されること、また放射能は DNA 分画に高いことが示されている<sup>19)</sup>。標識操作による好中球への障害は、著者らの検討で trypan-blue 排除試験や貪食能で前後に差がな

Fig. 3 Migratory patterns of  $^{111}\text{In}$ -labeled neutrophils 1 hour after infusion in a patient with perianal abscess of agranulocytosis. Note an accumulation of  $^{111}\text{In}$ , which corresponded to a large abscess in perianal region.

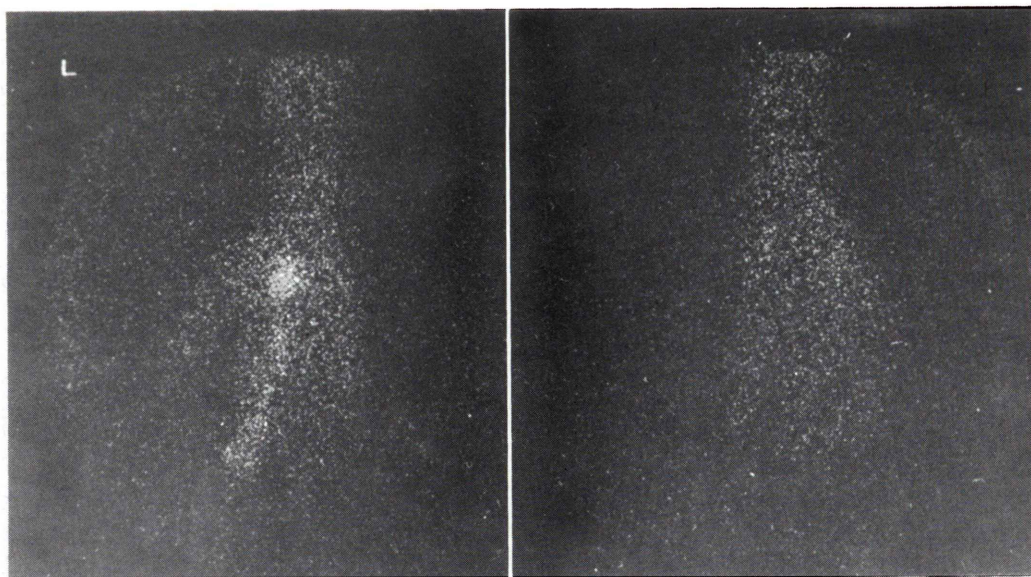


Fig. 4 Migratory patterns of  $^{111}\text{In}$ -labeled neutrophils 1 hour after infusion in a patient with panaritium with acute myeloblastic leukemia. Note an accumulation of  $^{111}\text{In}$ , which corresponded to a panaritium of the left index finger.

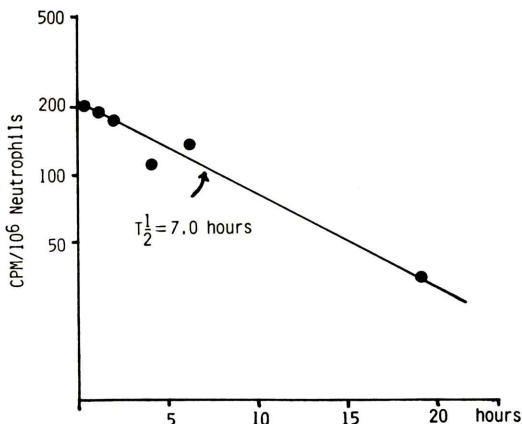


Fig. 5 Neutrophil disappearance curve in normal subject. This patient had a lifespan of 7.0 hours ( $T_{1/2}$ ).

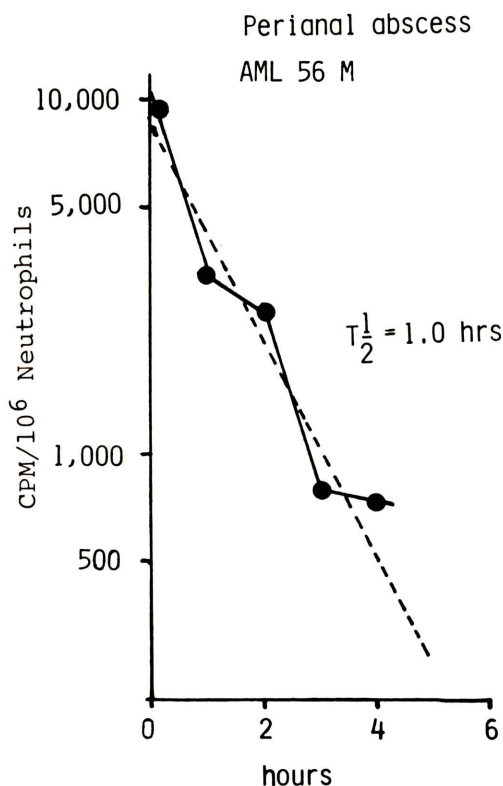


Fig. 6 Neutrophil disappearance curve in a patient with perianal abscess of acute myeloblastic leukemia. This patient had a short lifespan of 1.0 hour, which suggests labeled neutrophils were rapidly migrated to the infected area.

く、Weiblen らは殺菌能力に差がないことを示している<sup>9)</sup>。Oxine 自体は、脂肪組織親和性であり、キレート物質であるので、大量に用いた場合は、鉄やカドミウムイオンをキレートして細胞障害性に働く可能性があるが、標識に用いる量では、形態的にも機能的にも細胞障害はないことを Zak-hireh らは論じている<sup>20)</sup>。私どもは、標識された好中球を3度洗滌して余分の  $^{111}\text{In}$ -oxine をのぞき、しかも好中球自体は機能的に障害されていない状態で検索を行った。このような状態では、正常人好中球の  $T_{1/2}$  は 7.0 時間でこれは  $\text{DF}^{32}\text{P}$  を用いて測定した好中球寿命  $9.9 \pm 2.7$  時間に比して大差はない<sup>21)</sup>。また標識好中球は臓器分布での観察のように炎症巣に集積し、末梢血中にはすでに放射能のない投与翌日にも集積部位に高い放射能を認めたことは標識好中球が好中球としての機能を全うしたことを示すものである。

投与直後の好中球  $10^6$  ケあたりの放射能は、自己好中球を用いた場合、標識率によって変動するが 200~1,000 cpm 程度であり正常例では 210 cpm/ $10^6$  cells であった。症例 1 においては好中球数  $408/\mu\text{l}$  と正常の約 1/10 で、投与直後 9,000 cpm/ $10^6$  cells であった。本例では、正常例と同量の標識好中球が投与されたが、好中球数が正常の 1/10 で、患者好中球に対する標識好中球の比が正常に比し約 10 倍となり、それだけ分投与直後の  $10^6$  ケあたり好中球放射能は高くなったと思われる。

$^{111}\text{In}$ -oxine 標識好中球を用いたさいの被曝線量は、被験者に 200  $\mu\text{Ci}$  を投与した場合、脾 2.3 rad、肝 0.93 rad、全身 0.08 rad であり<sup>22)</sup>、また好中球に対しては細胞 1 ケあたり 3,500~8,500 rad といわれている<sup>20)</sup>。ちなみに好中球の代謝系は 50,000 rad の照射で影響がなかったという<sup>20)</sup>。また従来は  $^{111}\text{InCl}_3$  より松田らの報告の通り<sup>11)</sup>、自らの手で  $^{111}\text{In}$ -oxine を作製していたが、 $^{111}\text{In}$ -oxine の型で用いられることは術者の被曝量が一段と軽減したことになり、これも大きな利点である。

以上のごとく  $^{111}\text{In}$ -oxine 標識好中球は、 $^{111}\text{In}$ -oxine complex を用いることにより、好中球を比較的簡単に標識でき、標識率が高く細胞への障害

もなく理想的な標識核種であると思われる。確実に炎症の存在している場所には集積が認められることで炎症部位の確認や精査に今後の利用が期待される。また好中球寿命とその臓器分布を同時に観察できることから、好中球動態の検索手段としても重要な位置をしめるものと思われる。

## V. ま と め

好中球を  $^{111}\text{In}$ -oxine で標識して、好中球減少症で炎症を伴う例3症例に投与したところ、全例に炎症巣が描出された。 $^{111}\text{In}$ -oxine 標識好中球は細胞への障害もなく標識率も高いので、炎症巣の検出や好中球動態検索への応用が期待される。

Amersham 社製  $^{111}\text{In}$ -oxine を提供して戴いた科研化学館に感謝します。

## 文 献

- 1) Deysine M, Robinson R, Rajkin H, et al: Clinical infections detected by  $^{67}\text{Ga}$  scanning. *Ann Surg*, **180**: 897-901, 1974
- 2) Uchida T and Vincent PC: In vitro studies of leukocyte labeling with technetium-99m. *J Nucl Med*, **17**: 730-736, 1976
- 3) Uchida T, Nemoto, T., Yui, T., et al: Use of technetium-99m as a radioactive label to study migratory patterns of leukocytes. *J Nucl Med*, **20**: 1197-1200, 1979
- 4) Thakur ML, Coleman RE, Mayhall CG, et al: Preparation and evaluation of In-111-labeled leukocytes as an abscess imaging agent in dogs. *Radiology*, **119**: 731-732, 1976
- 5) Thakur ML, Lavender JP, Arnot RN, et al: Indium-111-labeled autologous leukocytes in man. *J Nucl Med*, **18**: 1012-1019, 1977
- 6) Weiblen BJ, Forstrom L and McCullough J: Studies of the kinetics of indium-111-labeled granulocytes. *J Lab Clin Med*, **94**: 246-255, 1979
- 7) 内田立身, 松田 信, 油井徳雄, 他: In-111-oxine による好中球の標識(続報). 好中球回転への応用. *核医学* **17**: 1111, 1980
- 8) 内田立身, 松田 信, 油井徳雄, 他: In-111-oxine による好中球の標識(第19回日本核医学会総会講演). *核医学* **16**: 1181, 1979
- 9) 末広牧子, 飯尾正宏: RIによる白血球標識(II). In-111-オキシンを用いた標識. *核医学* **17**: 139-145, 1980
- 10) Labender JP, Goldman JM, Thakur ML, et al: Kinetics of Indium-111-labeled lymphocytes in normal subjects and patients with Hodgking's disease. *Brit Med J*, **2**: 797-799, 1977
- 11) 松田 信, 内田立身, 国分令子, 他:  $^{111}\text{In}$ -oxine によるリンパ球標識の基礎的検討とマウスおよびラットにおけるリンパ球回転への応用. *核医学* **16**: 1373-1378, 1979
- 12) Heyns AD, Lötter MG, Badenhorst PN, et al: Kinetics, distribution and sites of destruction of In-111-labeled human platelets. *Br J Haematol*, **44**: 269-280, 1980
- 13) 油井徳雄, 内田立身, 松田 信, 他:  $^{111}\text{In}$ -oxine による血小板標識の基礎的検討. *核医学* **18**: 463-472, 1981
- 14) Thakur ML, Coleman RE and Welch MJ: Indium-111-labeled leukocytes for the localization of abscess; preparation, analysis, tissue distribution and comparison with gallium-67 citrate in dogs. *J Lab Clin Med*, **89**: 217-228, 1977
- 15) Martin WR, Gurevich N, Goris ML, et al: Detection of occult abscesses with  $^{111}\text{In}$ -labeled leukocytes. *Am J Roentgenol*, **133**: 123-125, 1979.
- 16) Fawcett HD, Lin MS and Goodwin DA: Indium-111-labeled leukocyte imaging in acute pancreatitis with suspected complicating abscess. *Dig Dis Sci*, **24**: 872-875, 1979
- 17) Coleman RE, Black RE, Welch DM, et al: Indium-111-labeled leukocytes in the evaluation of suspected abdominal abscess. *Am J Surg*, **139**: 99-104, 1980
- 18) Bøyum A: A one stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood. *Scand J Clin Lab Invest*, **21** (Suppl. 1): 51-76, 1966
- 19) Thakur ML, Segal AW, Louis L, et al: Indium-111-labeled cellular blood components: Mechanism of labeling and intracellular location in human neutrophils. *J Nucl Med*, **18**: 1020-1024, 1977
- 20) Zakhireh B, Thakur ML, Malech HL, et al: In-111-labeled human PMN leukocytes; viability, random migration, chemotaxis, bactericidal capacity and ultrastructure. *J Nucl Med*, **20**: 741-747, 1979
- 21) 内田立身: 正常および各種病態における好中球回転. *臨床血液* **20**: 1548-1561, 1979.
- 22) The Radiochemical Centre: Indium Oxine Solution for cell labeling. 使用説明書

## Summary

### Detection of Inflammatory Sites by In-111-Oxine-Labeled Neutrophils

Tatsumi UCHIDA\*, Shin MATSUDA\*, Tokuo YUI\*, Hideo KIMURA\*,  
Tetsugoro TANAKA\*, Shigeo KARIYONE\* and Toshiyuki KIDA\*\*

*\*The First Department of Internal Medicine and \*\*Department of Radiology,  
Fukushima Medical College*

Neutrophil labeling was performed by using recently developed  $^{111}\text{In}$ -oxine complex.  $^{111}\text{In}$ -oxine-labeled neutrophils injected into the patients with inflammation were significantly accumulated in the infected area.  $^{111}\text{In}$  could label neutrophils with the advantages of higher labeling efficiency, normal viability due to phagocytosis index and trypan blue exclusion test, and simple labeling procedure.

Neutrophil survival labeled with  $^{111}\text{In}$ -oxine in a normal patient was 7.0 hours of T-1/2 and

that in a neutropenic patient was 1.0 hour, in which higher radioactivity was detected in the collected pus 24 hours after the infusion. This technique would be utilized not only in the detection of inflammatory sites, but in simultaneous observation of neutrophil survival and organ distribution in the field of neutrophilic kinetic studies.

**Key words:** In-111-oxine, In-111-oxine labeled neutrophils, Inflammation, Neutrophil Kinetics.