

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4579687号
(P4579687)

(45) 発行日 平成22年11月10日(2010.11.10)

(24) 登録日 平成22年9月3日(2010.9.3)

(51) Int.Cl. F 1
A 6 1 K 49/00 (2006.01) A 6 1 K 49/00 C

請求項の数 7 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2004-541342 (P2004-541342)	(73) 特許権者	396019387
(86) (22) 出願日	平成15年10月1日(2003.10.1)		ジーイー・ヘルスケア・アクスイエ・セル
(65) 公表番号	特表2006-503861 (P2006-503861A)		スカブ
(43) 公表日	平成18年2月2日(2006.2.2)		ノルウェー国 〇 4 〇 1 ・ オ ス ロ ニ イ ダ
(86) 国際出願番号	PCT/N02003/000328		レン ビーオーボックス・4 2 2 〇 ニイ
(87) 国際公開番号	W02004/030651		コベイエン 2
(87) 国際公開日	平成16年4月15日(2004.4.15)	(74) 代理人	100137545
審査請求日	平成18年9月29日(2006.9.29)		弁理士 荒川 聡志
(31) 優先権主張番号	20024755	(74) 代理人	100105588
(32) 優先日	平成14年10月3日(2002.10.3)		弁理士 小倉 博
(33) 優先権主張国	ノルウェー (N0)	(74) 代理人	100106541
			弁理士 伊藤 信和
		(74) 代理人	100129779
			弁理士 黒川 俊久

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 センチネルリンパ節の同定のための方法、化合物及び製剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被験体におけるセンチネルリンパ節を超音波により同定するためのマイクロバブルを含む製剤であって、マイクロバブルが、負に荷電したリン脂質を50～100%の量で含むシェルト、ガス又はガス前駆体とを含み、マイクロバブルが、コールター原理で測定して直径0.25～15μmの平均粒度を有するとともに、120mmHgの圧力下で50%以上の圧力安定度を有する、製剤。

【請求項 2】

前記製剤が間質内に投与される、請求項1記載の製剤。

【請求項 3】

前記製剤が経皮的に投与される、請求項2記載の製剤。

【請求項 4】

前記マイクロバブルが、0.2以上のメカニカルインデックスの超音波撮像法に伴う圧力変動に対して安定である、請求項1乃至請求項3のいずれか1項記載の製剤。

【請求項 5】

前記製剤が、さらに、マンナン、マンノース含有オリゴ糖及び多糖、免疫グロブリン分子のFc部分、補体成分、スカベンジャー受容体用リガンド、トール様受容体用リガンド、LDL受容体用タンパク質用リガンド、細菌糖ペプチド及びリボ多糖からなる群から選択されるマクロファージ刺激化合物を含む、請求項1乃至請求項4のいずれか1項記載の製剤。

10

20

【請求項 6】

前記同定が、

a) 前記製剤を被験体に投与し、

b) 前記マイクロバブルをセンチネルリンパ節に蓄積させ、

c) 超音波を用いてセンチネルリンパ節内のマイクロバブルを検出する

ことを含む、請求項 1 乃至請求項 5 のいずれか 1 項記載の製剤。

【請求項 7】

前記センチネルリンパ節の同定が、高調波超音波撮像、第二高調波超音波撮像、パルス反転、B モード、F モード、D モード撮像又は 3 D 撮像の使用を含む、請求項 1 乃至請求項 6 のいずれか 1 項記載の製剤。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、センチネルリンパ節の同定法並びに当該方法に用いる化合物及び製剤に関する。

【背景技術】**【0002】**

リンパ系は、組織を始点としてリンパ液を局所リンパ節に運ぶように設計された脈管又は導管からなり、リンパ節でリンパ液を濾過して処理して次のリンパ節に送り、リンパ液は最終的には胸管に到達して血流に入る。リンパ管に入るリンパ液は、組織からの物質や材料（例えば抗原、粒子、細胞など）と一緒に運んでいる。リンパ節はリンパ液をふるい分けによって処理し、リンパ節内のマクロファージがリンパ液で運ばれた粒状物及び細胞材料を食作用によって除去する。

【0003】

組織又は器官に癌が生じると、そのゆるい基質のために細胞が遊離し、リンパ系に入り、リンパ節に捕捉されて増殖することがある。リンパ節内での癌発生の初期段階では、癌はリンパ節内に限局されている。しかし、時間が経つと、リンパ節内の蓄積物は成長してリンパ節を完全に占拠することがあり、及び/又は次のリンパ節へと下流に拡散することがある。問題の組織又は器官（即ち、癌組織）から流入するリンパ節を所属リンパ節といい、癌を捕捉する最初のリンパ節をセンチネルリンパ節という。

【0004】

腫瘍の拡散パターンは複雑であり、新生物細胞の転移は単に物理的に最も近い次のリンパ節への新生物細胞の拡散にとどまらない。これらのリンパ節はセンチネルリンパ節を含む可能性が高いが、センチネルリンパ節はさらに遠いリンパ節群に存在することもある。こうしたことが起こり得るのは、腫瘍、感染、損傷又は以前の処置が問題の組織又は器官から直接流入するリンパ管を遮断し、迷走経路の発達を促進することがあるためである。

【0005】

従来、状況によっては、腫瘍から転移した新生物細胞が潜んでいる可能性のあるすべてのリンパ節を除去するのが通常の処置であった。この処置には高い死亡率が伴う。そのため、センチネルリンパ節を同定して生検するための方法が幾つか開発された。センチネルリンパ節が新生物細胞を含んでいなければ、それ以上のリンパ節生検及び（追加の）リンパ節切開を裂けることができる。センチネルリンパ節の同定は、担癌組織にマーキング剤を注入し、リンパ系を流れるマーキング剤の経路を辿ることで行われてきた。

【0006】

センチネルリンパ節を肉眼で視覚的に検出するため、染料のような可視マーキング剤が使用されてきた（A. E. Giuliano et al., Ann. Surg. 220, 1994, 391-401）。かかる方法ではかなりの外科的切開が必要とされる。染色しない限り周囲の組織からリンパ節を識別することができず、しかも残念なことに染料は予測できない急速なクリアランスを示す。

【0007】

米国特許第5732704号には、放射性医薬品化合物及び放射線検出プローブによる化合物の位置決定を用いてセンチネルリンパ節を検出する方法が開示されている。かかる化合物は移行は遅いが、有害となりかねない量の電離放射線に患者及び医療従事者が被曝される。また、放射性同位体は環境汚染及び廃棄物処理の問題も引き起こす。

【0008】

米国特許第5496536号には、直径1 μm 未満の粒子を用い、様々な撮像モダリティでこれらの粒子を検出することによるリンパ管造影法が記載されている。C. Oussorenら(C. Oussoren et al., Biochim. Biophys. Acta, 1328, 1997, 261-272)が観察したように、小粒子は毛細リンパ管には高度に取り込まれるが、リンパ節には僅かしか保持されない。かかる小さな粒子は概して超音波散乱体としての効果が低く、そのため超音波によるリンパ管造影法にはあまり適さない。リンパ節にはあまり保持されないため、これらはセンチネルリンパ節のみの検出には十分な選択性を示さず、他のリンパ節に移行してしまう。

10

【0009】

Oussorenらが行った観察は、国際公開第00/45855号及び同第00/38579号の開示内容によって確認されている。

【0010】

国際公開第00/38579号には、ある時間枠内(好ましくは3時間未満)にリンパ節に移動し得る造影剤を用い、適当な検出モダリティで造影剤を検出することによって、センチネルリンパ節を検出する方法が開示されている。この時間枠内での移動には、造影剤は直径0.05~5 μm の粒子からなるものでなければならない。

20

【0011】

国際公開第00/45855号には、平均粒度1~10 μm の粒子状造影剤及びリンパ節内の造影剤を検出するための撮像モダリティを用いてセンチネルリンパ節を同定する方法が開示されている。

【0012】

国際公開第00/38579号及び同第00/45855号に概説されている通り、造影剤粒子の粒度はこれらの特許文献に開示された方法の実施可能性に多大な影響を及ぼすと思われる。残念ながら、これらに記載の方法は、使用した造影剤及び撮像モダリティで一樣にうまくいくわけではない。粒度がほぼ同じであっても、造影剤が異なれば同じ撮像モダリティを用いても挙動が大きく異なり、そのため、これらに記載の方法にある造影剤を使用すると不十分な感度しか得られないことがある。

30

【特許文献1】米国特許第5732704号明細書

【特許文献2】米国特許第5496536号明細書

【特許文献3】国際公開第00/45855号パンフレット

【特許文献4】国際公開第00/38579号パンフレット

【非特許文献1】A. E. Giuliano et al., Ann. Surg. 220, 1994, 391-401

【非特許文献2】C. Oussoren et al., Biochim. Biophys. Acta, 1328, 1997, 261-272

40

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

そこで、センチネルリンパ節を同定するための信頼性の高い方法に対するニーズが存在する。さらに、かかる方法は高感度で安全で実施の容易なものでなければならない。

【課題を解決するための手段】

【0014】

今回、被験体におけるセンチネルリンパ節を同定するための方法であって、

a) シェルとガス又はガス前駆体とを含み、直径約0.25~15 μm の平均粒度及び120 mmHgの圧力下で50%以上の圧力安定度を有するマイクロバブルを含む製剤を

50

被験体に投与し、

b) マイクロバブルをセンチネルリンパ節内に蓄積させ、

c) 超音波撮像法を用いてセンチネルリンパ節内のマイクロバブルを検出することを含んでなる方法が上述の基準を満足するという予想外の知見が得られた。

【0015】

そこで、本発明は、被験体におけるセンチネルリンパ節を同定するための方法であって、

a) シェルとガス又はガス前駆体とを含み、直径約0.25～15 μmの平均粒度及び120 mmHgの圧力で50%以上の圧力安定度を有するマイクロバブルを含む製剤を被験体に投与し、

b) マイクロバブルをセンチネルリンパ節内に蓄積させ、

c) 超音波撮像法を用いてセンチネルリンパ節内のマイクロバブルを検出することを含んでなる方法を提供する。

【0016】

別の態様では、本発明は、被験体におけるセンチネルリンパ節を同定するための方法であって、超音波撮像法を用いて被験体のセンチネルリンパ節内の前もって投与しておいたマイクロバブルを検出することを含んでなり、マイクロバブルはシェルとガス又はガス前駆体とを含み、直径約0.25～15 μmの平均粒度及び120 mmHgの圧力で50%以上の圧力安定度を有する方法に関する。

【0017】

さらに別の態様では、本発明は、シェルとガス又はガス前駆体とを含み、直径約0.25～15 μmの平均粒度及び120 mmHgの圧力で50%以上の圧力安定度を有する、センチネルリンパ節同定用のマイクロバブルに関する。

【0018】

本発明の別の態様は、シェルとガス又はガス前駆体とを含み、直径約0.25～15 μmの平均粒度及び120 mmHgの圧力で50%以上の圧力安定度を有するマイクロバブルを含んでなる、センチネルリンパ節同定用の製剤である。

【0019】

本発明のさらに別の態様は、シェルとガス又はガス前駆体とを含み、直径約0.25～15 μmの平均粒度及び120 mmHgの圧力で50%以上の圧力安定度を有するマイクロバブルをセンチネルリンパ節同定用の医薬品の製造に使用することである。

【0020】

本発明に係るマイクロバブルは、注射後も無傷のまま保たれる。これらはリンパ系及びセンチネルリンパ節に容易に取り込まれるだけでなく、センチネルリンパ節に留まって安定に保たれ、そのため高感度で効果的な超音波検出が可能となる。

【0021】

本発明に係る方法の段階a)では、シェルとガス又はガス前駆体を含むマイクロバブルを含む製剤を被験体に投与する。マイクロバブルは、直径約0.25～15 μmの平均粒度及び120 mmHgの圧力で50%以上の圧力安定度を有する。

【0022】

本発明において、「被験体」は鳥又は哺乳動物のような脊椎動物被験体、好ましくはヒトを意味する。

【0023】

本発明に係るマイクロバブル及び/又は製剤は、生体適合性を有するもの、或いは生理的に有毒又は生物学的機能に有害でないものとすべきであり、アレルギー反応及び病的状態を始めとするいかなる程度の許容し得ない毒性も起こさない。

【0024】

本発明に係るマイクロバブルは、シェルとガス又はガス前駆体を含む。

【0025】

本発明に関する「シェル」という用語は、「壁」又は「膜」という用語と同義に用いら

10

20

30

40

50

れ、マイクロバブルを包囲又は画成する材料を意味する。シェルは１以上の層の形態のものであればよく、好ましくは単一の単層又は二重層（単一ラメラ層）の形態であるが、単層又は二重層を用いて１以上の単層又は二重層（オリゴラメラ層又はマルチラメラ層）を形成することもできる。２以上の単層又は二重層が存在する場合、単層又は二重層は好ましくは同心状である。好適には、シェルは脂質、天然又は合成高分子材料、タンパク質材料、炭水化物、糖類など、或いはこれらの組合せから調製できる。好ましい実施形態では、シェルは全体として負又は正の正味電荷を有する。この場合、シェルは、過剰の負又は正電荷を有する高分子材料又はタンパク質材料からなるものでも、かかる材料を含むものでもよく、或いはシェルは負又は正に荷電した脂質からなるものでも、かかる荷電脂質を含むものでもよい。別法として、シェルは、中性の高分子、タンパク質又は脂質材料を組み込み又は表面修飾によって全体として正味電荷を与える負又は正に荷電した成分と結合させたものからなるものでも、かかる材料を含むものでもよい。好ましくは、シェルは脂質、さらに好ましくはリン脂質からなるか、これを含んでおり、例えば、ホスファチジルコリン（好ましくは、ジラウロイルホスファチジルコリン、ジミリス Toil ホスファチジルコリン、ジヘプタデカノイルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジステアロイルホスファチジルコリン、ジアラキドイルホスファチジルコリン又はジベヘノイルホスファチジルコリン）、ホスファチジルセリン（好ましくは、ジパルミトイル又はジステアロイルホスファチジルセリン）、ホスファチジルグリセロール（好ましくは、ジパルミトイル又はジステアロイルホスファチジルグリセロール）、ホスファチジルエタノールアミン（好ましくは、ジパルミトイル又はジステアロイルホスファチジルエタノールアミン）、ホスファチジリンイノシトール（好ましくは、ジパルミトイル又はジステアロイルホスファチジリンイノシトール）、ホスファチジン酸（好ましくは、ジパルミトイル又はジステアロイルホスファチジン酸）、カルジオリピン、或いは上述の化合物の混合物で適宜コレステロール、コレステロールスルフェート、コレステリルヘミスクシネート、N-パルミトイルホモシステイン、パルミチン酸、オレイン酸、ステアリン酸又はアラキシン酸と混合したものからなるか、これらを含む。別法として、シェルは上述の脂質のフッ素化類似体からなるか、これを含むものでもよい。別の好ましい実施形態では、シェルは、ポリエチレングリコール（PEG）（好ましくは、PEG 2000～8000）のような親水性高分子に共有結合した上述の脂質（例えば、ジパルミトイル又はジステアロイルホスファチジルエタノールアミン-ポリエチレングリコール5000）からなるか、これを含む。特に好ましい実施形態では、シェルは、負に荷電したリン脂質、さらに好ましくは炭素原子数14以上の脂肪酸（例えば、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸又はアラキシン酸）に基づく負に荷電したリン脂質（例えば、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール又はジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン-PEG）を、好ましくは50～100%、さらに好ましくは70～90%の量で含む。別の好ましい実施形態では、シェルは、正に荷電した合成脂質（例えば、DOTAP（N-（1-（2,3-ジオレオイルオキシ）プロピル）-N,N,N-トリメチルアンモニウムメチルスルフェート）、DOTMA（N-（1-（2,3-ジオレオイルオキシ）プロピル）-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド）、DOGS（ジオクタデシルアミドグリシルスぺルミン）などの、核酸輸送に通常使用される陽イオン脂質）を、好ましくは1～20%の量で含む。別法として、シェルはリポペプチド（例えば、国際公開第99/55383号（その開示内容は援用によって本明細書の内容の一部をなす。）に記載されたようなりポペプチド）からなるか、これを含む。

【0026】

本発明において「ガス前駆体」という用語は、周囲温度及び周囲圧力で液体又は固体であるが、関連温度（例えば、被験体の体温）で液体から気体へと相変化する物質をいう。「ガス」及び「ガス前駆体」に言及する場合、ガス及びガス前駆体の混合物も上記定義に包含される。

【0027】

好適には、本発明に係るマイクロバブルは、空気、窒素、及びフッ素化合物（部分的

10

20

30

40

50

にフッ素化された化合物でも、完全にフッ素化（ペルフルオロ化）された化合物でもよい。）を純化合物又はこれらの混合物として含む。好ましい実施形態では、マイクロバブルはペルフルオロ化合物（例えば、ペルフルオロプロパン、ペルフルオロブタン、ペルフルオロペンタン、ペルフルオロヘキサン、六フッ化硫黄など）を、適宜窒素との混合物として、含む。

【0028】

本発明に係るマイクロバブルは、直径 $0.25 \sim 15 \mu\text{m}$ 、好ましくは $0.5 \sim 7 \mu\text{m}$ 、特に好ましくは $1 \sim 5 \mu\text{m}$ の平均粒度を有する。

【0029】

本発明に係るマイクロバブルは、 120 mmHg の圧力下で 50% 以上の圧力安定度を有する。本発明において、「 50% 以上の圧力安定度」という用語は、 120 mmHg の圧力に付した後のマイクロバブルの音響減衰効率が、圧力に付す前のマイクロバブルの音響減衰効率の 50% 以上であることを意味している。したがって、圧力暴露の前後におけるマイクロバブルの音響減衰効率を比較すれば、マイクロバブルの超音波撮像効率の尺度を得ることができる。音響減衰効率は、 3.5 MHz 及び/又は 5.0 MHz の中心周波数を有する1以上の広帯域変換器を用いて、マイクロバブル試料の希釈懸濁液を通過する音響ビームの減衰度 (dB/cm) を測定することで決定できる。透過率は、パルス-エコー技術で測定される。即ち、短い音波パルスを変換器から放射し、測定セルのコンパートメントを通してからコンパートメントの後壁で反射させ、放射した変換器で再び受信する。パルスをおシロスコープでデジタル化し、周波数スペクトルをフーリエ変換で計算する。透過路及び変換器特性を補償するため、スペクトルを純粋な希釈剤のスペクトルに対して基準化する。減衰スペクトルの測定及び好適なシステム構成に関する詳しい説明は、L. Hoff, *Acoustic Characterization of Contrast Agents for Medical Ultrasound Imaging*, Kluwer Academic Publishers, 2001, chapter 4, page 99-109 (その開示内容は援用によって本明細書の内容の一部をなす。)に記載されている。分析は、通常は $0 \sim 50$ の範囲内、好ましくは室温で行われる。分析の第一段階では、希釈剤から基準スペクトルを記録する。好適な希釈剤は気泡を含まないものであり、マイクロバブルが安定に存在する液体が使用できる。好ましい希釈剤は、リン酸塩緩衝剤及び表面張力を下げるための界面活性剤を含む 0.9% 食塩水である Isoton II (Coulter Electronics 社 (英国ルートン)) のような等張食塩水である。次の段階で、マイクロバブル試料を希釈剤と混合し、1以上の減衰スペクトルを周囲圧力下で測定する。マイクロバブル試料の濃度は、マイクロバブルの粒度に応じて調整される。好ましくは、希釈率は、マイクロバブル試料による減衰量が $15 \sim 20 \text{ dB}$ (即ち、約 3 dB/cm) となるものである。これは、通例、マイクロバブルを $10^3 \sim 10^4$ 倍に希釈することを意味する。次の段階で、圧力を 120 mmHg に高め、1以上の減衰スペクトルを測定する。本発明に係る圧力安定度を求めるため、加圧前のマイクロバブル試料の音響減衰効率を 100% に設定して、加圧後のマイクロバブル試料の相対音響減衰効率が計算できるようにする。

【0030】

好ましい実施形態では、本発明に係るマイクロバブルは 70% 以上、さらに好ましくは 85% 以上、最も好ましくは 95% 以上の圧力安定度を有する。

【0031】

好ましい実施形態では、本発明に係るマイクロバブルは、 0.2 以上のメカニカルインデックス (MI) の超音波撮像法に伴う圧力変動に対して安定である。超音波撮像法の圧力に関連したマイクロバブル安定度の測定方法は、W. T. Shi et al., *Ultrasound in Med. & Biol.*, Vol. 26, 2000, 1-11 に記載されている。

【0032】

好適には、本発明に係るマイクロバブルはエコー源性を有する。つまり、超音波を散乱

10

20

30

40

50

又は反射することができる。好ましくは、マイクロバブルは超音波パルスの送信周波数と異なる周波数の信号を返すことができる。即ち、マイクロバブルは米国特許第5540909号に記載されているような高調波超音波撮像に適合している。

【0033】

本発明に係るマイクロバブルは、当業者に自明の様々な方法で製造できる。かかる方法には、例えば、振盪、ボルテックス、超音波処理、押出、繰返し凍結融解サイクル、所定孔径のポアからの加圧押出し、及び噴霧乾燥がある。例えば、脂質からなるマイクロバブルに関しては、脂質含有媒体を、選定したガス又はガス前駆体の存在下で、適当なエマルジョン生成技術（例えば、超音波処理、高圧均質化又は高剪断混合）に付せばよい。乳化段階で用いるガスは、最終マイクロバブル中のガスと同じものである必要はない。即ち、このガスの大部分は後の凍結乾燥段階で除去することができ、残留ガスは乾燥生成物の排気で除去することができる。次いで、乾燥生成物に大気圧又は過圧の所望最終生成ガスを加えればよい（例えば、国際公開第97/29783号参照、その開示内容は援用によって本明細書の内容の一部をなす。）。 10

【0034】

本発明に係るマイクロバブルを形成する他の方法としては、タンパク質からなるマイクロバブルの形成（欧州特許出願公開第359246号及び米国特許第4718433号）、脂質を含むマイクロバブルの形成（米国特許第4684479号）、並びにリポソーム系マイクロバブルの形成（米国特許第5088499号、同第5123414号及び国際公開第94/28874号）が挙げられ、それらの開示内容は援用によって本明細書の内容の一部をなす。 20

【0035】

本発明の方法では、マイクロバブルは製剤として、好ましくは液状製剤として投与される。以下、「製剤」という用語は「マイクロバブル製剤」という用語と同義に用いられる。

【0036】

本発明に係る製剤は、上述のマイクロバブルと、浸透圧剤、安定剤、界面活性剤、緩衝剤、粘度調整剤、乳化剤、可溶化剤、沈殿防止剤、湿潤剤、酸化防止剤、粘度上昇剤、張度上昇剤、塩、糖などからなる群から選択される1種以上の成分を含む。かかる成分は、マイクロバブルの最大寿命及び有効性を確保するために添加される。さらに、無菌性、等張性及び生体適合性のような検討事項によって、かかる成分の使用が決まることもある。 30

【0037】

好適な粘度調整剤としては、例えば、炭水化物やそのリン酸化及びスルホン化誘導体、ポリエーテル（好ましくは400～100000の分子量を有するもの）、並びにジヒドロキシ-及びトリヒドロキシ-アルカン及びそれらのポリマー（好ましくは200～50000の分子量を有するもの）が挙げられる。

【0038】

好適な乳化及び/又は可溶化剤としては、例えば、アラビアゴム、コレステロール、グリセリルモノステアレート、ラノリンアルコール、レシチン、モノ及びジグリセリド、エタノールアミン、ジエタノールアミン、オレイン酸、オレイルアルコール、ポロキサマー（例えば、ポロキサマー188、ポロキサマー184及びポロキサマー181）、ポリオキシエチレン50ステアレート、ポリオキシシル35ひまし油、ポリオキシシル10オレイルエーテル、ポリオキシシル20セトステアリルエーテル、ポリオキシシル40ステアレート、ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート60、ポリソルベート80、プロピレングリコールジアセテート、プロピレングリコールモノステアレート、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ソルピタンモノラウレート、ソルピタンモノオレエート、ソルピタンモノパルミテート、ソルピタンモノステアレート、ステアリン酸、トロラミン、乳化性ワックスなどが挙げられる。 40

【0039】

好適な沈殿防止及び/又は粘度上昇剤としては、例えば、アラビアゴム、寒天、アルギ 50

ン酸、モノステアリン酸アルミニウム、ベントナイト、マグマ、カルボマー 934P、セルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カラゲナン、デキストラン、ゼラチン、ガーゴム、ローカストビーンゴム、ヴィーガム、ケイ酸マグネシウムアルミニウム、二酸化ケイ素、ゼオライト、ペクチン、ポリエチレンオキシド、ポビドン、プロピレングリコールアルギネート、アルギン酸ナトリウム、トラガカント、キサンタンゴム、 α -D-グルコノラクトン、グリセロール及びマンニトールが挙げられる。

【0040】

好適な沈殿防止剤としては、例えば、ポリエチレングリコール (PEG)、ポリビニルピロリドン (PVP)、ポリビニルアルコール (PVA)、ポリプロピレングリコール (PPG)、ポリソルベートなどが挙げられる。

10

【0041】

安定化と共に張度の増加をもたらす好適な張度上昇剤としては、例えば、ソルビトール、マンニトール、トレハロース、スクロース、プロピレングリコール及びグリセロールが挙げられる。

【0042】

本発明に係る製剤は、さらに染料又は生物学的活性剤を含んでいてもよい。生物学的活性剤は、好ましくは鎮痛薬、抗ヒスタミン薬、抗炎症薬、抗癌薬、抗コリン作動薬、麻酔薬、酵素、ステロイド、遺伝物質、ウィルスベクター、アンチセンス剤、タンパク質及びペプチドからなる群から選択される。

20

【0043】

好ましい実施形態では、製剤はさらに、マクロファージの摂食を促進する化合物を含む。かかる化合物は、例えば、マンナン (例えば、チモサン)、マンノース含有オリゴ糖及び多糖、免疫グロブリン分子のFc (結晶化可能なフラグメント) 部分、補体成分 (例えば、C3b又はC3bi)、スカベンジャー受容体用リガンド、トール様受容体用リガンド、LRP (LDL受容体用タンパク質) 用リガンド、細菌糖ペプチド、或いはリポ多糖 (例えば、ブレオマイシン又は内毒素) である。

【0044】

製剤は、好ましくは、水溶液又は非水溶液を始めとする適当なキャリアーと、上述の成分及び/又は化合物とを含む懸濁液又はエマルジョンのような無菌の注射可能な調合物である。好ましいキャリアーは水又は食塩水である。

30

【0045】

製剤は、公知の方法で調合できる。好ましい実施形態では、製剤は使用直前に製造される。例えば、乾燥マイクロバブル生成物を、適当なキャリアー及び上述の化合物及び成分の1種以上と混合すればよい。別の好ましい実施形態では、製剤を使用直前に製造するとともに、製剤の製造時にマイクロバブルをその場で生成する。例えば、所望のガス及びマイクロバブルのシェルの構成する成分を含むバイアルに適当なキャリアーを添加し、この混合物を攪拌すればよい。本発明に係る製剤は、好ましくは投与前に滅菌され、及び/又は無菌の出発原料から製造される。製剤の滅菌は、細菌保持フィルターでの濾過、滅菌剤の混入、照射などで達成できる。

40

【0046】

本発明の方法の段階a)における投与は、血管内投与以外の様々な方法で実施できる。非経口投与法が好ましく、特に限定されないが、筋肉内投与、経皮投与、リンパ管への直接投与、間質内投与、腹腔内投与、鞘内投与、皮下投与、滑液包内投与、(経皮投与を含む) 経上皮投与、皮膚投与、皮内投与、皮下投与、腫瘍又は病的突起自体への投与、などの経路が挙げられる。好ましくは、製剤は間質内に投与され、好ましくは皮下注射及び皮内注射を始めとする間質内投与で投与される。癌患者の場合、製剤は癌の近傍 (腫瘍周囲) に注射するのが好ましい。また、センチネルリンパ節への付着を確実にするため、製剤を2以上の非経口モードの組合せで (例えば、筋肉内、皮下及び病的突起中に) 投与することもできる。

50

【0047】

製剤は、通常、製剤が移動してリンパ循環に取り込まれることを保証する部位及び手段で投与される。これは、撮像すべき系に応じて異なる。検査すべき所属リンパ節への適切な流入を可能にするため、複数の注射部位が好ましいことがある。場合によっては、腫瘍又は生検部位の周辺への注射が望ましい。他の場合には、特定の鞘又は窩への注射が好ましい。手指又は足指の趾間への注射は、末梢リンパ管を検査するために使用される通常モードである。センチネルリンパ節の位置を決定するため、製剤は術前及び／又は術中に被験体に投与できる。本発明に係る方法は、問題の領域に製剤を投与してからセンチネルリンパ節に達するまで長いリードタイムを必要としないので、センチネルリンパ節を即座にリアルタイムで同定することができる。さらに、注射部位のマッサージ又は流れの促進を始めとして、センチネルリンパ節への製剤の輸送を修正又は変更するための追加の方法を使用できる。好ましくは、製剤の注射部位にマッサージを施す。

10

【0048】

本発明の方法は、乳房腫瘍に関連するセンチネルリンパ節の位置決定に応用可能である。腫瘍中や腫瘍周辺及び腫瘍に隣接した皮下に製剤を注射することで、腋窩、鎖骨下及び鎖骨上リンパ節の画像を得ることができる。腫瘍と同側の肋骨下部位に片側注射を行い、次いで両側のリンパ節撮像を行うことができる。製剤を腫瘍付近に注射することで、医師は、センチネルリンパ節に通じる関連リンパ管が腋窩、内部乳房又は鎖骨上リンパ節に向かうことが分かるので、そこで各注射後の適切な時刻に超音波検出を行う。

【0049】

20

別のアプローチは、両側の乳房の乳輪組織の周囲に製剤を注射し、次いで腋窩、内部乳房又は鎖骨上リンパ節を検出することである。乳輪周囲への注射に加えて、腋窩リンパ管の可視化のために製剤の指間投与を使用することもできる (De Land et al. (1980), Cancer Res., 40:2997-3001 参照。)。指間及び乳輪周囲への製剤の複合投与で、罹患腋窩リンパ節への取込みの増加の実証精度を高めることができる。また、乳癌又は黒色腫の患者には、造影剤の腫瘍内注射を行うこともできる。

【0050】

製剤は有効量 (即ち、十分な検出が可能となる量) で投与される。0.1 ~ 30 ml、好ましくは 0.1 ~ 3 ml、特に好ましくは 0.5 ~ 1.5 ml の製剤が液体状態で投与されると予想される。特に好ましい投与体積は、約 5 ~ 15 µl の投与マイクロバブルガス体積に相当する。好ましい実施形態では、各回に少量の製剤を用いて複数回 (通例は 4 回) の注射を行う。例えば、注射部位当たり 0.1 ~ 3 ml が被験体に投与される。量の変動は、注射の回数及び注射部位に起因し得る。本発明の方法では、約 0.005 ~ 約 1.0 ml / kg のような別の製剤量も想定される。液状の製剤の体積は、通常、例えば投与部位、製剤の濃度、注射の回数、製剤の組成及び／又は製剤に存在するマイクロバブルの種類、並びに各被験体に特有の性質に応じて変化する。

30

【0051】

本発明の方法に係る段階 b) では、センチネルリンパ節内にマイクロバブルを蓄積させる。

40

【0052】

投与後、マイクロバブルがセンチネルリンパ節に達してそこに蓄積するまで長いリードタイムを必要としない。そのため、本発明では、製剤の投与後にセンチネルリンパ節を即座にリアルタイムで同定することができる。一般に、本発明に係るマイクロバブルは、60 分未満でセンチネルリンパ節内に蓄積することができる。好ましい実施形態では、本発明に係るマイクロバブルは 15 分未満でセンチネルリンパ節内に蓄積し、特に好ましくは 5 分未満で蓄積する。

【0053】

投与後、本発明に係るマイクロバブルは、5 分以上、好ましくは 15 分以上、特に好ましくは 60 分以上の半減期を有する。

50

【 0 0 5 4 】

センチネルリンパ節へのマイクロバブルの蓄積時間が比較的短いので、本発明に係るマイクロバブルは投与後間もなく撮像が可能であり、ロジスティックスが改善され、検出時間が延びる。

【 0 0 5 5 】

本発明の方法に係る段階 c) では、超音波撮像法を用いてセンチネルリンパ節内のマイクロバブルを検出し、それによってセンチネルリンパ節を同定する。

【 0 0 5 6 】

超音波に関しては、本発明での使用が想定される超音波撮像技術は当技術分野で公知であり、例えば、McGahan and Goldberg, Diagnostic Ultrasound: A Logical Approach (Lippincott-Raven Publishers 1998) 及び Frederick and Kremkau, Diagnostic Ultrasound: Principles and Instruments (W B Saunders Co., 1998) に記載されている。本発明で利用できる具体的な超音波撮像モードには、高調波又は非線形撮像、グレースケール (B モード) 撮像、ドップラー撮像 (パルスウェーブ、パワー、フロー、カラー、振幅、分光及び高調波ドップラー撮像を含む)、3D 撮像、ゲート撮像などがある。非線形撮像に関しては、本発明は広帯域高調波撮像及びパルス反転高調波撮像に適合することは自明であろう。

【 0 0 5 7 】

高調波撮像の使用が望まれ、超音波撮像装置が特定の周波数で撮像を行うように設定される場合、音響変換器に供給される送出波形は撮像周波数の分数 (例えば、 $1/2$ 、 $2/3$ 、 $1/3$ など) 或いは撮像周波数の整数倍又は分数倍 (例えば、2、分数 ($3/2$)、3、4 など) となり得る。マイクロバブル製剤と励起周波数とのいかなる組合せでも、ある高調波が優勢となる。第二高調波が通常の例である。明らかにこれらの最も強い高調波が好ましいが、多重画像の作成又はバックグラウンドの排除のような理由から、他の高調波又は周波数を選択することもできる。さらに、高調波及び非高調波周波数又はこれらの組合せを始めとする複数の周波数を同時に検出して所望の画像を得ることもできる。即ち、好ましい実施形態では、送信周波数以外の任意の周波数を用いて所望の画像を得ることができる。造影剤製剤の簡単な実験で主高調波を決定できることは当業者には自明であろう。

【 0 0 5 8 】

マイクロバブル製剤によって発生した再放射超音波エネルギーを検出するには、修正された慣用超音波スキャナーシステム又は市販の非線形撮像システムが使用できる。これらのシステムは、超音波画像作成用のマイクロバブル製剤によって放射された新しい周波数 (又は高調波) の 1 以上又は全部を検出又は選択できる。換言すれば、放射周波数と異なる周波数を検出する。高調波超音波撮像に適した装置は、国際公開第 91/15999 号に開示されている。ただし、多くの慣用超音波撮像装置では広帯域幅の動作が可能な変換器が用いられており、変換器から送信される送出波形はソフトウェア制御されている。このような理由により、検出するものとは異なる波形を放射するための再プログラミングは十分に当業者の技術レベルの範囲内にある。

【 0 0 5 9 】

高調波超音波撮像、第二高調波超音波撮像又は好ましくはパルス反転のような非線形超音波撮像が、本発明の方法での使用に特に好ましいが、B モード (グレースケール撮像)、F モード (カラーフロー又はドップラー撮像) 及び D モード (分光ドップラー) のような他のタイプの常用超音波撮像も本発明に適合しており、本発明の技術的範囲に属する。

【 0 0 6 0 】

B モード撮像では、超音波システムは通例、所望の視野を走査するように操作された一連のビームを走査線に沿って送信する。超音波システムは通例、送信ビームに対応した方法で「受信ビーム」を操作する。各受信ビームから得られたデータは画像表示サブシステ

ムに送られ、そこでBモードデータから二次元グレースケール画像が再構成され、コンソール上に表示される。単一の線に沿って送られる一連のパルスは、同一のものであってもよいし、等しい周波数又は異なる周波数のものであってもよいし、或いは周囲の組織からの造影剤の識別を促進するためほぼ180度の位相シフトを有していてもよい。

【0061】

Fモード撮像は、超音波システムが一連のビームを放射及び受信して視野を走査するという点で、Bモード撮像と類似の方法で行われる。ただし、Fモード撮像では標的の速度の計算が必要であるので、各線は数回にわたって放射及び受信される。Bモード撮像と同じく、各線の各回の放射で得られたデータを用いてコンソール上に画像が再構成される。

【0062】

Fモード撮像は、大抵はBモード撮像と同時に使用される。例えば、Bモード走査から再構成されたグレースケール画像は、同じ視野又はそれより小さい包含視野のFモード走査から再構成されたFモード画像と重ね合わせることができる。Fモード情報は色を用いて表示することができ、画素を重ね合わせたBモード画像部分における様々な正又は負の流速或いは乱流が異なる色で表示される。Fモード撮像は患者の体内における標的の運動を単に定性的に見抜くことを意図しているので、超音波システムによるFモード信号の処理は振幅又は画素解像度について高い空間又は速度解像度を有する必要がない。しかし、Fモード撮像の重要な価値は生体内の解剖学的構造に対する流れを検出することにあるので、Fモード画像をスクリーン上のBモード画像と共に適切に記録することが通常重要である。この技術は一つのパルスから得られた信号と次の信号との相関に依存すると共に、マイクロバブルは最初のパルスで破壊されることがあるので、運動に関係しないF信号が発生される。このような相関の喪失は各種の表示フォーマットで示することができるが、通例は色で表示される。

【0063】

Dモード（分光ドップラー）撮像では、超音波システムはビームを放射し、単一の標的に関する復帰信号を処理する。分光ドップラー情報は、連続波（CW）又はパルス波（PW）超音波エネルギーを送信及び受信して得ることができる。CWドップラー撮像、例えばパワードップラー（ドップラー血管造影法）では、超音波受信器が、生体内において受信器の感度領域内にあるすべての物体からのエコーを連続的に受信するが、任意の特定レンジ区間から受信した情報を分離できない。CWドップラーは、プローブの物理的配置又はビーム形成或いはその両方により、所望の標的のみを含むように測定器の感度領域を調整した場合に最も有用である。PWドップラー撮像では、超音波測定器が個々のパルスからのエコーを受信するが、そのタイミングはエコーを発生する物体の体内でのレンジ区間を暗示している。臨床医は、通例、標的が位置すると予想されるレンジ区間を選択する。

【0064】

Dモード撮像では、非常に広い範囲の信号レベル（ダイナミックレンジ）にわたって詳細な定量的測定値を生み出し得ることが望ましい。Dモード情報を超音波システムで処理することで、標的の速度スペクトルを時間に対しプロットして表示するか、又は同様な情報を担った可聴出力を得ることができる。分光ドップラー撮像は、L. Hatle and B. Angelsen, "Doppler Ultrasound in Cardiology"（第一版，1982）及び（第二版，1984）に記載されている。

【0065】

Bモード、Fモード及びDモード撮像に加え、Mモードとして知られる第四のモードも存在しているが、これはBモード又はFモード撮像と類似の方法で得られたデータについての表示方式が異なるにすぎない。Mモード撮像に関する要件は、Bモード又はFモード撮像に関する要件と大きく異なるものではない。別法として、又はそれに加えて、三次元超音波も想定されている。この場合、3D走査には、特殊なプローブ並びに画像の蓄積及びレンダリングのためのソフトウェアが必要となる。放射された超音波エネルギーは（十分に高ければ）、リンパ管内に存在するマイクロバブルを破裂させ得ることが認められよう。上述のようなドップラー方式の撮像方法は、これを「擬似ドップラー」信号として検

10

20

30

40

50

出でき、固定化又は非常にゆっくりと移動するマイクロバブルの高感度で特異的な検出が可能となる（例えば、米国特許第5425366号参照。）。

【0066】

本発明での使用が想定される追加の技術は当技術分野で公知であり、例えば、Gamsu et al., Diagnostic Imaging Review (W.B. Saunders Co., 1998)に記載されている。

【0067】

標的組織の撮像には、被験体の少なくとも一部に超音波エネルギーを当てればよい。次いで、被験体の内部領域の可視像を得ることができるので、センチネルリンパ節の同定を確認できる。

10

【0068】

本発明の別の態様は、シェルとガス又はガス前駆体とを含み、直径約0.25~15 μmの平均粒度及び120 mmHgの圧力で50%以上の圧力安定度を有するマイクロバブルを予め投与しておいた被験体におけるセンチネルリンパ節を同定する方法であって、超音波を用いて被験体のセンチネルリンパ節内に蓄積したマイクロバブルを検出することを含んでなる方法である。

【0069】

本発明に係る方法は、センチネルリンパ節の同定に有用だけでなく、センチネルリンパ節がリンパ組織の欠陥又は不整を示すか否かの判定にも有用である。そこで、本発明は、被験体における良性及び悪性のセンチネルリンパ節を識別するための方法であって、

20

a) シェルとガス又はガス前駆体とを含み、直径約0.25~15 μmの平均粒度及び120 mmHgの圧力で50%以上の圧力安定度を有するマイクロバブルを含む製剤を被験体に投与し、

b) マイクロバブルをセンチネルリンパ節内に蓄積させ、

c) 超音波を用いてセンチネルリンパ節内のマイクロバブルを検出し、

d) リンパ節内のコントラスト増強パターンに従ってセンチネルリンパ節を良性又は悪性として特徴付ける

ことを含んでなる方法も提供する。

【0070】

Mattreyらは、センチネルリンパ節の超音波撮像に際し、リンパ節内の癌は造影剤で満たされず、したがって陰影欠損が残ることに気付いた。しかし、確認のためにはさらに研究が必要であると述べていた(R. Mattrey et al., Academic Radiology 9, 2002, S231-S235)。今回、本発明の方法に従ってセンチネルリンパ節を同定した後、コントラスト増強パターンが違ふことでセンチネルリンパ節を分類し得ることが判明した。即ち、良性のセンチネルリンパ節は一様なエコー源性を示すのに対し、悪性のセンチネルリンパ節はエコー源性の増加した領域及び増強しない領域の両方を有する不均質な増強パターンを示す。本発明に係る方法はセンチネルリンパ節の非侵襲的で安全な検出が可能となるだけでなく、その転移浸潤の検出も可能にするので、この発見は大きな臨床的進歩である。

30

【0071】

上述の方法は、取得した超音波画像を視覚的に評価するだけで良好な結果を与える。良性及び悪性リンパ節の識別は、正常なリンパ節と浸潤を受けたリンパ節との間におけるコントラスト増強パターンの差を増大させるための画像処理方法の適用でさらに向上させることができる。

40

【実施例】

【0072】

次に、以下の非限定的実施例を参照することで本発明をさらに詳しく説明する。

【0073】

実施例1：圧力安定度の測定

マイクロバブルを含む各種超音波造影剤の圧力安定度を試験した。

50

【 0 0 7 4 】

Albunex (商標)、変性ヒト血清アルブミンのシェル内に空気を含むマイクロバブルであり、欧州特許出願公開第 3 5 9 2 4 6 号に開示された方法で製造できる。

【 0 0 7 5 】

Sonovue (商標)：リン脂質膜内に SF_6 を封入したマイクロバブル。

【 0 0 7 6 】

Sonazoid (商標)：界面活性剤膜内にペルフルオロブタンを封入したマイクロバブル。

【 0 0 7 7 】

a) 粒度分布及び体積濃度の測定

公称測定範囲 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の $50 \mu\text{m}$ 開口を備えた Coulter Multisizer Mark II (Coulter Electronics 社 (英国ルートン)) による Coulter 計数で、すべての試料のマイクロバブル濃度及び粒度分布を測定した。分析は、64 の対数的に離隔したサイズチャンネルを用いて行った。 $20 \mu\text{l}$ の試料を室温で 200 ml の Isoton II (Coulter Electronics 社) 中に希釈し、4 分間攪拌してから分析に供した。分析応答として、懸濁液体積に対するパーセントとしてのマイクロバブル体積濃度及びマイクロバブルの体積メジアン径を用いた。

【 0 0 7 8 】

【表 1】

	懸濁液体積に対する パーセントとしての マイクロバブル体積濃度 [%]	マイクロバブルの 体積メジアン径 [μm]
Albunex TM	0.7	10
Sonovue TM	0.6	7
Sonazoid TM	1.0	3

【 0 0 7 9 】

b) 音響減衰度の測定

すべての試料の音響減衰スペクトルは、L. Hoff (Acoustic Characterization of Contrast Agents for Medical Ultrasound Imaging, Kluwer Academic Publishers, 2001, chapter 4) に記載の通り測定した。 3.5 MHz の中心周波数を有する広帯域変換器を用いて、試料の希釈懸濁液を通過する音響ビームの音響減衰度を測定した。適当な試料体積を室温で 55 ml の Isoton II 中に均質に分散させてから分析に供した。透過率は、パルス-エコー技術で測定した。即ち、短い音波パルスを変換器から放射し、測定セルのコンパートメントを通過してからコンパートメントの後壁で反射させ、放射した変換器で再び受信した。パルスをオシロスコープでデジタル化し、周波数スペクトルをフーリエ変換で計算した。透過路及び変換器特性を補償するため、スペクトルを純粋な Isoton II のスペクトルに対して基準化する。結果を $1:1000$ の希釈度に対して基準化した。大気圧下での音響減衰度 [dB/cm] を 3.5 MHz で測定し、得られた測定値の読みを 100% 音響減衰効率に設定した。 120 mmHg の圧力を 30 秒間加えた後、再び減衰度を測定し、加圧後の音響減衰効率を計算した。圧力安定度は、加圧前の減衰効率に対する加圧後の減衰効率のパーセントで表す。

【 0 0 8 0 】

【表 2】

	120 mm Hg での圧力安定度 [%]
Albunex™	0
Sonovue™	79 ± 2
Sonazoid™	98 ± 1

10

【0081】

実施例 2：生体内でのセンチネルリンパ節検出及び特性決定

黒色腫を有する麻酔したシンクレアブタを使用し、Sonazoid（商標）を用いてセンチネルリンパ節検出及び特性決定を検討した。

【0082】

a) 生体内でのセンチネルリンパ節検出

1 ml の Sonazoid（商標）を原発性腫瘍の周囲に皮内投与した。注射部位を 5 分間静かにマッサージした後、Siemens Elegera スキャナーを用いて超音波走査を行った。センチネルリンパ節は、パルス反転グレースケール撮像で強いコントラスト増強を示し、さらにマイクロバブルの破裂に特有のモザイク増強パターンを与える高出力カラーフロー撮像で評価した。センチネルリンパ節の同定は、注射部位からセンチネルリンパ節までのリンパ管のコントラスト増強によってさらに容易になった。リンパ節の位置を皮膚上にマークした。センチネルリンパ節の位置は、現行の臨床的方法に従ってラジオコロイドトレーサー及び青色染料を腫瘍周囲に投与することで確認された。センチネルリンパ節のコントラスト増強は、最高 3 時間存在していた。

20

【0083】

実施例 2 a に記載の方法を、6 頭の黒色腫シンクレアブタに適用した。超音波、リンパシンチグラフィー及び青色染料（金標準）を用いて、31 の黒色腫を伴う 17 の原発性腫瘍を評価した。センチネルリンパ節が正しく同定される精度は、超音波に関しては 90 % であり、リンパシンチグラフィーに関しては 81 % であった。

30

【0084】

b) 生体内でのセンチネルリンパ節検出及び特性決定

三つの黒色腫を有するシンクレアブタで、1 ml の Sonazoid（商標）を各原発性腫瘍の周囲に皮内投与した。注射部位を 5 分間静かにマッサージした後、Siemens Elegera スキャナーを用いて超音波走査を行い、実施例 2 a に記載の通りセンチネルリンパ節を同定した。一つのリンパ節は均質なコントラスト増強パターンを示したのに対し、他の二つはただで不均質な増強パターンを示した。最初のリンパ節は正常と特徴付けられたのに対し、後の二つは超音波撮像法に基づいて悪性と特徴付けられた。顕微鏡によるリンパ節の組織学的検査の結果、最初のリンパ節には腫瘍が存在しないことが確認され、後の二つのリンパ節には腫瘍が存在することが確認された。病理学的評価で得られた病理標本の擬似カラーマップは、超音波で見られたコントラスト増強パターン（即ち、正常なリンパ組織ではコントラスト増強が見られ、腫瘍組織では増強が見られなかったこと）と良い相関を示した。

40

【0085】

実施例 2 b に記載した方法を、6 頭の黒色腫シンクレアブタに適用した。全部で 31 の黒色腫を検討した。リンパ節での転移黒色腫の存在又は不存在を正しく検出する精度は 86 % であった。コントラスト増強超音波と病理学との間に統計的有意差は存在しなかった。

【0086】

50

実施例 3 : A l b u n e x (商 標) 及 び S o n a z o i d (商 標) の 比 較

実施例 1 に記載の A l b u n e x (商 標) 1 m l を、麻酔したイヌの後肢の指間に注射した。注射部位を 5 分間静かにマッサージした。パルス反転モードで動作する L 1 2 - 5 変換器を備えた A T L H D I 5 0 0 0 スキャナーにより、流入リンパ節 (I n n p o p l i t e u s) を撮像した。注射から 5 分後及び 1 5 分後の撮像で、コントラスト増強は見られなかった。

【 0 0 8 7 】

A l b u n e x (商 標) の注射から 2 0 分後、実施例 1 に記載の S o n a z o i d (商標) 1 m l を、実施例 3 a に記載したものと同一の撮像手順に従って同じ後肢の指間に注射した。注射から 5 分後の撮像で強いコントラスト増強が見られ、増強は注射から 1 5 分後の撮像でも維持された。コントラスト増強ピークは 7 d B を超えていた。

フロントページの続き

- (72)発明者 トルネス, オーデウン
ノルウェー、エン - 0 4 0 1・オスロ、ニイダレン、ピーオーボックス・4 2 2 0、ニコペイエ
ン・1 - 2、アメルシャム ヘルス アクスイエ セルスカブ
- (72)発明者 ウーステンセン, ジョニー
ノルウェー、エン - 0 4 0 1・オスロ、ニイダレン、ピーオーボックス・4 2 2 0、ニコペイエ
ン・1 - 2、アメルシャム ヘルス アクスイエ セルスカブ
- (72)発明者 ラムーセン, ヘンリック
ノルウェー、エン - 0 4 0 1・オスロ、ニイダレン、ピーオーボックス・4 2 2 0、ニコペイエ
ン・1 - 2、アメルシャム ヘルス アクスイエ セルスカブ
- (72)発明者 ホフ, ラーズ
ノルウェー、エン - 0 4 0 1・オスロ、ニイダレン、ピーオーボックス・4 2 2 0、ニコペイエ
ン・1 - 2、アメルシャム ヘルス アクスイエ セルスカブ

審査官 川口 裕美子

- (56)参考文献 米国特許出願公開第2 0 0 2 / 0 0 6 1 2 8 0 (U S , A 1)
特表2 0 0 0 - 5 1 1 5 1 0 (J P , A)
WISNER,E.R. et al , Contrast enhanced intermittent power Doppler ultrasound with sub-mi
cron bubbles for sentinel node detection , Acad Radiol , 2 0 0 2 年 8 月 , Vol.9 Suppl 2
, p.S389-91
森安史典ら , 次世代造影剤の動向 , Innervision , 2 0 0 2 年 1 月 , Vol.17, No.1 , 152-156
- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
A61K 49/00
JSTPlus/JMEDPlus(JDreamII)