

《原 著》

^{99m}Tc 標識多価、蛋白分解酵素阻害剤、トラジロールのエールリッヒ担癌マウスにおける体内分布についての研究

伊藤和夫* 小林真* 安東醇**
利波紀久* 久田欣一*

I. 緒 言

これまで様々な腫瘍親和性放射性医薬品の開発と研究が報告されて来たが、いまだその集積機序に関しては不明な点も多く、また特異性に欠ける場合のある事が指摘されている^{1), 2)}。かつて、悪性腫瘍へ fibrinogen が沈着する事を利用して、 γ 線放射ラジオアイソトープ (RI) にて標識した ^{131}I -fibrinogen³⁾ 及び ^{131}I -fibrinogen antibody⁴⁾ が悪性腫瘍陽性描画の RI 医薬品として報告された。これについては、安東⁵⁾ 及び久田⁶⁾ 等が、すでに報告している。悪性腫瘍組織の有する凝固能及び組織線維素溶解（以下組織線溶と略す）活性に関しては、悪性腫瘍の発育と転移機序の解明から興味がもたれ、田中等^{7), 8)} が詳細は研究を報告している。

今回、我々が標識に用いたトラジロールは、その薬理作用の一つとして直接的な組織プラスミン及びアクチベーター阻害作用を有し、線溶現象の抑制剤として作用する事が知られている⁹⁾。従って、トラジロールは組織線溶活性が異常な値を示すある種の悪性腫瘍及び血栓形成部位へ集積する可能性が推定され標識化によって、新しい腫瘍親

和性医薬品として使用出来る可能性が予想される。

標識に使用したテクネチウム- ^{99m}Tc は、現在最も広く核医学的診断の分野で利用されている核種で、入手も容易であり標識に用いるのに適当と考えられた。

本論文では、トラジロールの ^{99m}Tc 標識法、標識物質の分離精製法、標識物質の化学的安定性及びエールリッヒ担癌雄マウスの腫瘍及び各臓器組織の分布について報告する。

さらに、放射性ヨード標識フィブリノーゲンが、静脈栓症の核医学的診断としてすぐれている事が報告されている¹⁰⁾が、その後静脈血栓症の放射性医薬品として研究が進められて来た血栓溶解剤、ウロキナーゼ¹¹⁾及びストレプトキナーゼ^{12), 13)}等の薬理作用と比較して、それらの拮抗物質であるトラジロールも静脈血栓症の核医学的診断に応用出来る可能性がある点について文献的考察を加え報告する。

II. 材料及び方法

1. トラジロールの ^{99m}Tc 標識法

白色結晶状トラジロール50万単位バイアルをバイエル薬品より提供を受け標識に使用した。トラジロールは、牛肺より抽出された分子量6,512, 16種類のアミノ酸計58個が鎖状に結合した一種の塩基性ポリペプタイドで、酸及び高温に比較的安定であるが、強アルカリには不安定な性質を有している⁹⁾。 ^{99m}Tc は、 ^{99}Mo - ^{99m}Tc カウ（第一ラジオアイソトープ研究所製ウルトラテクネカウ）より

* 金沢大学医学部核医学講座（主任教授、久田欣一）

** 金沢大学医療技術短期大学

受付：51年2月4日

採用：51年5月20日

別刷請求先：石川県金沢市宝町13-1（〒920）

金沢大学医学部核医学講座

利波紀久

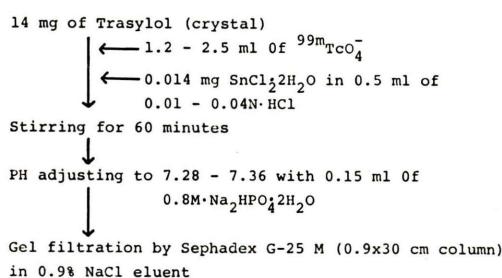


Fig. 1 Labeling Method of Trasylol with $^{99m}\text{TcO}_4^-$ and Separation of Labeled Compound.

ミルキングにて得られた ^{99m}Tc -pertechnetate を用いた。 $^{99}\text{TcO}_4^-$ の還元には Eckelman¹⁴⁾ 等の ^{99m}Tc -albumin 標識法に準じ塩化第一スズを使用した。標識は以下の手順で行った (Fig. 1)。

i) トラジロール白色結晶 14 mg (約 100,000 KIE) に、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生理食塩水溶液 1.2 ml から 2.5 ml を加え溶解する。次いで、塩化第一スズ ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 14 μg を溶解している 0.01N-0.04N HCl を 0.5 ml 加え良く攪拌する。この反応は 2.37~2.7 で行った。

ii) 上記混合液を 60 分間攪拌する。

iii) 反応後、0.8M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.15 ml を加え、pH を 7.25~7.4 に調整し、反応を終結する。

この間、シリカゲルを固定相とした薄層クロマトグラフィー (TLC) を使用し、0.9W/V% 食塩水を展開溶媒として用いて反応時間と標識率の関係を検討した。

2. 標識物質の分離精製と標識率の検討^{15)~18)}

反応溶液 1 ml を Sephadex G-25M (0.9×30 cm column) gel chromatogram に吸着させ、0.9% NaCl 溶液を 1 分間 1 ml の速さで溶出し、2 ml ずつに分取した。次に、各分画 2 ml 中の放射活性を測定し、分離精製前の反応溶液 1 ml 中の放射活性を 100 とした場合の各分画 2 ml 中の放射活性を求めた。さらに、分離精製した ^{99m}Tc -トラジロール溶液を 0.9% NaCl を展開溶媒とした前記 TLC で展開し、遊離 ^{99m}Tc 量について反応終結後 4 時間まで観察した。

3. 動物実験

体重 21 g~26 g の ddy 系雄マウスの大腿部皮下にエールリッヒ腹水癌を移植し、適当な皮下結節を形成する 8~9 日目に実験に用いた。投与方法は、Sephadex G-25M ゲル沪過法にて分離した ^{99m}Tc 標識トラジロールを、0.20 Membranfilter (GMBH, West Germany) にて沪過し、エーテル麻酔下のマウスの尾静脈より、正確に 1 ml (500 KIE<トラジロール量<1,000 KIE) を静注した。静注後、1 時間、3 時間、6 時間及び 24 時間に各々 5 匹~6 匹を屠殺し、頸静脈より脱血した後、腫瘍及び各組織を摘出した。摘出した標本はすみやかに重量を測定し、各組織の放射活性をウェル型シンチレーションカウンターにて測定した。これらの測定値から、投与量を 100% とした場合の組織 1 g 中への ^{99m}Tc の取込量 (集積率) を求めた。(測定値はすべて減衰補正した。)

III. 結 果

1. ^{99m}Tc -トラジロールの標識率と標識物質の化学的安定性

0.9% 食塩水を溶媒とした TLC による反応時間と標識率の関係は、反応時間を増すとともに ^{99m}Tc -pertechnetate は減少するが、反応後 30 分より $R_f = 0.25$ 付近に小ピークが認められるようになった。(Fig. 2) 反応 30 分以降には、未反応 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ は 2~3% になり、60 分後には 1% 以下となったので、動物実験用の ^{99m}Tc -トラジロールは反応時間を 60 分で行った。PH 調整後も $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の量的变化は認められなかった。ニヒンドリンによるアミン反応は、原点に多少 heading した形の紫赤色の反応が認められたが、 $R_f = 0.25$ 及び $R_f = 0.90$ 付近には反応が認められなかった。この $R_f = 0.25$ 付近の放射活性は、ゲル沪過分離精製法及び 0.20 μ Membranfilter 沪過後の TLC 展開でも認められた。

Sephadex G-25M (0.9×30 cm) を使用した場合トラジロールは $K_d = I$ で void volume 中に溶出する¹⁸⁾。従って、void volume 中の全放射能が ^{99m}Tc -標識トラジロールと考えられ、この全放射

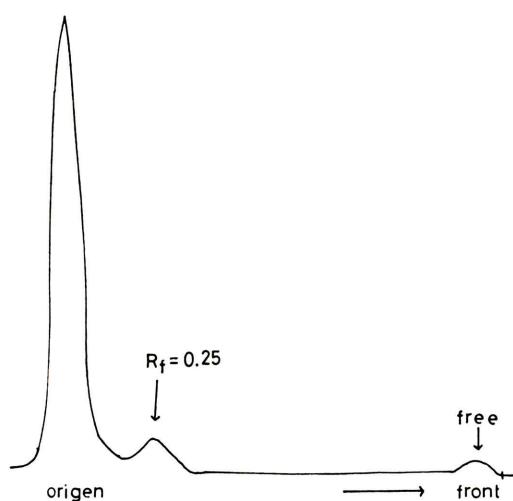


Fig. 2 Thin Layer Chromatogram of ^{99m}Tc-Labeled Trasylol in 0.9%NaCl Solvent at 30 Minutes after Beginning of Reaction. ^{99m}Tc-labeled trasylol and hydrated technetium are not developed on silica gel TLC plate in 0.9% NaCl solvent. It is thought that radioactivity at $R_f=0.25$ may be a little portion of ^{99m}Tc-trasylol.

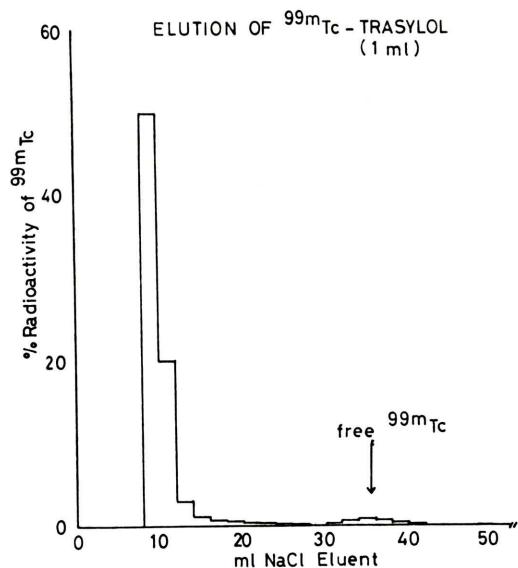


Fig. 3 Separation of ^{99m}Tc-Labeled Trasylol (1 ml) by Gel Filtration on Sephadex G-25 M (0.9×30 cm Column) eluted with 0.9% NaCl Eluent. Total radioactivity in void volume eluted in first fraction is about 75%.

活性は約 75% であった。非標識 ^{99m}TcO₄⁻ は、第二ピークを形成し、その全放射活性は約 2.5% であった。column 中に吸着されたいわゆる hydrated technetium は、全体の 22.5% であった。^{15~17}(Fig. 3)

反応時間と標識率の検討に用いたと同様の方法にて、^{99m}Tc-トラジロールの化学的安定性について検討した。^{99m}Tc-pertechnetate は 0.9% 食塩中溶媒の TLC 展開では、 $R_f=0.90$ 附近にそのピークが出現する¹⁷。ゲル漏過直後の展開でも微量の^{99m}Tc-pertechnetate のピークが認められたが、その遊離する割合には、30 分後、1 時間後、3 時間後及び 4 時間後まで差を認めなかった。

2. 動物実験

前記エールリッヒ担癌マウスの静注後 1 時間、3 時間、6 時間及び 24 時間ににおける^{99m}Tc-トラジロールの腫瘍及び各臓器組織の濃度分布 (% dose/gm of fresh tissue) については Table 1 に示した。主要臓器の濃度最高値は、多くは 1 時間後にあつた。1 時間での腫瘍及び各臓器濃度分布は、腎臓が最も高い値を示し、以下、肝臓、肺、副腎、脾臓、血液、腫瘍、心臓、胃、脾臓、胸腺、骨の順に低くなり、脳にはほとんど集積しなかった。各臓器組織の濃度分布の経時的变化についてみると (Fig. 4)，腎臓、肝臓、肺、脾臓及び血液は、1 時間を最高値として、24 時間まで徐々に減少する傾向を示した。しかし、筋肉と骨は増加する傾向を示した。腫瘍組織は、1 時間後より 24 時間まではほとんど集積率に変化がなく、約 2% dose/gm 前後の集積率が認められた。その他の臓器組織、副腎、胃、脾臓及び脳に関しては一定した変化を認め難かった。

肝臓、腎臓、脾臓についてのみ全臓器組織集積率を求めた。それぞれの体重にしめる割合を 5.18%，0.38% 及び 0.88%¹⁹ として計算すると、最高値を示す 1 時間後には、肝臓、腎臓及び脾臓には、それぞれ全投与量の $31.6 \pm 3.7\%$ ， $64.1 \pm 1.0\%$ 及び $0.45 \pm 0.09\%$ が集まっている事になる。尿中排泄率については検討出来なかつたが、1 時間及び 3 時間後の尿を 0.9% 食塩水溶媒 TLC 展開した所、

Table 1 Biologic Distribution of ^{99m}Tc -Labeled Trasylol in Ehrlich Tumor-Bearing Male Mice at Various Times Following Intravenous Injection.*

| Tissue | Time after Administration | | | |
|--------------|---------------------------|------------|------------|------------|
| | 1 hr | 3 hr | 6 hr** | 24 hr |
| Blood | 4.23±0.22 | 2.53±0.79 | 1.92±0.51 | 0.56±0.07 |
| Tumor | 1.97±0.32 | 1.94±0.31 | 2.03±0.19 | 1.81±0.26 |
| Muscle | 0.45±0.03 | 0.46±0.14 | 0.61±0.16 | 0.59±0.11 |
| Liver | 25.55±3.79 | 23.43±4.96 | 20.47±4.96 | 15.00±2.01 |
| Spleen | 4.93±1.06 | 4.67±0.92 | 4.15±1.67 | 4.50±2.01 |
| Kidney | 30.40±8.02 | 28.52±4.76 | 25.32±5.68 | 23.25±2.86 |
| Lung | 8.77±2.09 | 7.28±1.67 | 5.06±2.74 | 4.49±1.11 |
| Stomach*** | 1.20±1.12 | 1.14±0.26 | 1.24±0.17 | 0.73±0.12 |
| Pancreas | 0.88±0.21 | 0.53±0.08 | 0.73±0.24 | 0.67±0.05 |
| Ad. Gland | 7.18±1.12 | 6.92±3.01 | 6.26±2.00 | 8.63±2.49 |
| Bone (Skull) | 0.48±0.20 | 0.48±0.05 | 0.97±0.22 | 1.56±1.12 |
| Thymus | 0.60±0.09 | 0.56±0.09 | 0.73±0.15 | 1.79±0.81 |
| Brain | 0.16±0.05 | 0.11±0.02 | 0.09±0.02 | 0.33±0.13 |
| Heart | 1.93±0.51 | 1.25±0.42 | 0.88±0.15 | 1.02±1.17 |

*: Mean concentration (% administered dose/gm tissue)±s.e.m. from five mice

**: Mean concentration (% administered dose/gm tissue)±s.e.m. from six mice

***: Contents is not kept.

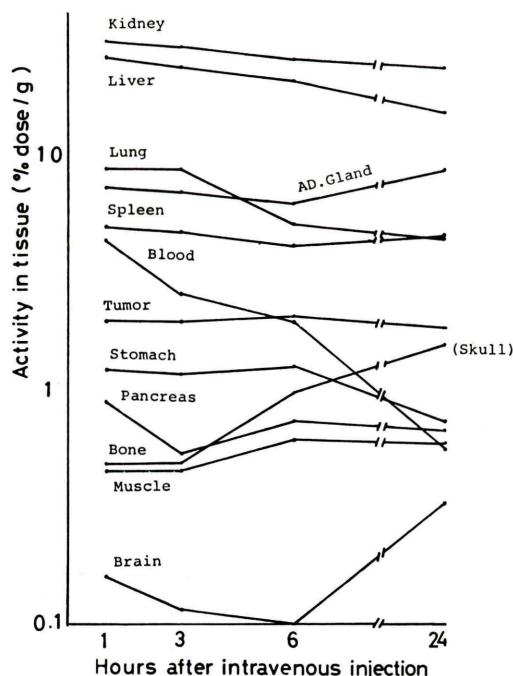


Fig. 4 Distribution of ^{99m}Tc -Labeled Trasylol in Tissues of Tumor-Bearing Mice at Various Times after Intravenous Administration.

^{99m}Tc -トラジロール及び $^{99m}\text{TcO}_4^-$ と思われる放射活性が、1時間で各々 40%，60%，3時間で各々 20%，80% 認められた。

次に、腫瘍部位をイメージとして得るには、癌組織への絶対的な集積率と同時に相対的腫瘍/各臓器組織濃度比が重要な要因となる為に、腫瘍/各臓器組織濃度比の経時的变化について求めた。(Table 2, Fig. 5) 前記した如く、腫瘍組織濃度は24時間までほぼ一定の集積率を示す為に、血液、腎臓、肝臓及び肺等の経時的減少を示す臓器組織との比は、時間とともに増加し、特に腫瘍/血液濃度比は6時間後で1.0以上となり24時間後には約3.0となった。しかし、経時的にその濃度が増していく筋肉との比は経時に減少し、24時間後には約3.3倍と腫瘍/血液濃度比に等しくなった。

IV. 考 案

腫瘍組織へのフィブリノーゲンの沈着に注目し、RI 標識フィブリノーゲンを腫瘍の陽性描画に応用した報告はすでにこれまでなされて来た^{3), 6)}。

Table 2 Tumor to Other Organ Tissue Concentration Ratio of ^{99m}Tc-Trasylol in Tumor-Bearing Mice at Various Times Following Intravenous Injection.*

| Organ Ratio | Times after I.V injection | | | |
|-------------|---------------------------|------------|------------|-----------|
| | 1 hr | 3 hr | 6 hr | 24 hr |
| Tu/Bl | 0.46±0.07 | 0.89±0.33 | 1.55±0.36 | 3.24±0.44 |
| Tu/Mu | 4.6 ± 0.9 | 4.5 ± 1.5 | 3.4 ± 0.5 | 3.3 ± 0.9 |
| Tu/Li | 0.07±0.02 | 0.07±0.02 | 0.09±0.01 | 0.12±0.02 |
| Tu/Kd | 0.06±0.02 | 0.06±0.01 | 0.07±0.01 | 0.07±0.01 |
| Tu/Lg | 0.26±0.08 | 0.25±0.09 | 0.34±0.14 | 0.41±0.09 |
| Tu/Panc. | 2.3 ± 0.6 | 3.7 ± 1.1 | 2.8 ± 0.6 | 2.7 ± 0.4 |
| Tu/Br | 13.3± 5.0 | 17.1 ± 5.3 | 21.2 ± 5.1 | 6.0 ± 2.1 |
| Tu/Bn | 5.5 ± 2.3 | 4.0 ± 0.7 | 2.1 ± 0.3 | 1.8 ± 1.3 |

*: ratio derived from % administered dose gm of fresh tissue in each mouse.

Abbreviation: Tu: Tumor, B.: Blood, Mu: Muscle, Li: Liver Kd: Kidney, Lg: lung, Panc: Pancreas Br: Brain, Bn (s): Bone (skull)

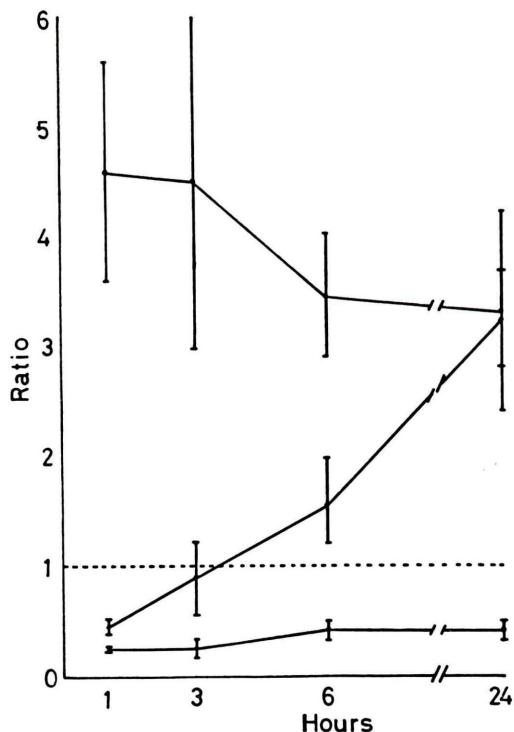


Fig. 5 Sequential Curve of Tumor (Tu) to Blood (Bl), Muscle (Mu) and Lung (Lg) Concentration Ratio in Tumor-Bearing Mice after Intravenous Injection. Tumor to blood concentration ratio is increased in course of time and became more than 1.0 at six hours.

そして、Edwards & Hayes 等^{20)~22)}の ⁶⁷Ga-citrateによる悪性腫瘍の陽性描画以来、悪性腫瘍の核医学的診断への関心が一層高まり、腫瘍親和性 RI 物質の開発と研究が急速に進んだ。久田等^{23), 24)}のランタニウム元素さらに RI 標識抗癌剤^{25), 29)}が開発され、その一部は臨床に使用されている。しかし、いまだその集積機序については不明な点が多く、腫瘍特異性に欠ける面がある事が指摘されている^{1), 2)}。

今回、我々が注目した腫瘍組織の凝固・線溶活性は、腫瘍組織の発育と転移形成の観点より注目されてはいるが、腫瘍組織に特異的に認められる現象ではない^{7), 8), 30)}。従って、組織線溶現象に抑制的に作用するトラジロールの腫瘍集積も腫瘍特異性については問題があると考えられる。しかしながら、人の悪性腫瘍の組織線溶活性は一般に低いものが多い^{7), 8)}とされていながらも、ある種の悪性腫瘍では組織線溶活性が高く、特に消費性凝固障害を示す事が知られている³⁰⁾。そのような悪性腫瘍の診断に RI 標識トラジロールが用いられる可能性がある。

標識に使用した ^{99m}Tc はその物理的特性（半減期 6 時間、140 keV の単 1 γ 線エネルギーを有する）及び経済的にも、現在核医学診断に用いられ

ている RI 核種の中で最も適当な RI 核種である。 ^{99m}Tc -pertechnetate の還元に使用した塩化第一スズの量は、 $14\ \mu\text{g}$ と極めて少く、その標識率も、 ^{99m}Tc -ストレプトキナーゼの最大標識率 75%¹³⁾に匹敵し、ほぼ満足のいく標識率と考えられる。

^{99m}Tc 標識トラジロールの担癌マウスの体内分布についてみると、腫瘍組織には、1時間後より24時間後まで約 2% dose/gm の集積率が認められた。これは、 ^{99m}Tc -トラジロールが腫瘍組織に比較的早期に取込まれた後は、代謝分解を受けずに組織にとどまるものと思われる。従って、経時的に減少していく血液濃度との比をとると、腫瘍/血液濃度比は増大し、6時間で 1.0 以上になった。 ^{99m}Tc -トラジロールの腫瘍組織の絶対的取込みに関しては、 ^{67}Ga -citrate 及び ^{56}Co -ブレオマイシンの24時間腫瘍集積率とほぼ同程度の値を取る²⁵⁾。しかし、我々が同様の実験系で求めた ^{99m}Tc -アルブミンの腫瘍集積率、1時間、3時間及び24時間の値それぞれ $3.06 \pm 0.43\%$ dose/gm, $4.02 \pm 0.19\%$ dose/gm 及び $1.47 \pm 0.26\%$ dose/gm より24時間値をのぞき低い値を示した³¹⁾。腫瘍/血液濃度比は、 ^{57}Co -ブレオマイシンよりは悪いが、 ^{67}Ga -citrate 及び ^{99m}Tc -HSA より良い結果であった^{25), 31)}。エールリッヒ腹水癌の線溶活性については、吉田肉腫腹水癌よりも明らかに高い値を示すが、日によって変動し、中等度の活性を示す事が Funahara³²⁾

により報告されている。しかし、エールリッヒ固型腫瘍の組織活性については検討されていない。実験腫瘍の有する凝固、線溶活性の相異は、 ^{99m}Tc -トラジロールの腫瘍親和性を論ずる場合には非常に重要であり、今回の我々の結果のみでその優劣を判断する事は危険である。異なった実験腫瘍における実験の検討が必要と考えている。腫瘍組織以外の ^{99m}Tc -トラジロールの分布では、腎臓、肝臓、肺及び副腎等比較的組織プラスミン活性の高い臓器に分布しており、特に肺濃度が高い点は、トラジロールが牛肺より抽出された蛋白質である点とも考えあわせると非常に興味ある分布を示した。

次に、 ^{99m}Tc -トラジロールの血栓症の核医学的診断薬の可能性にふれてみたい。これまで標識フィブリノーゲンが静脈血栓症の診断に用いられて来たが、最近、米国では肝炎防止の為にその使用が禁止されている³³⁾。それに代る新しい RI 物質として、RI 標識ストレプトキナーゼ^{12), 13)}、RI 標識ウロキナーゼ¹¹⁾及び自己フィブリノーゲンの ^{99m}Tc 標識³⁴⁾等が開発されているが、いまだ充分満足出来る結果は得られていない。これまでに標識化に用いられて来た静脈血栓症の医薬品の薬理作用とトラジロールの薬理作用について、血栓形成部位への集積機序を中心に Fig. 6 にまとめた^{9), 35)}。fibrin 形成に関与する fibrinogen の取込み時期と、

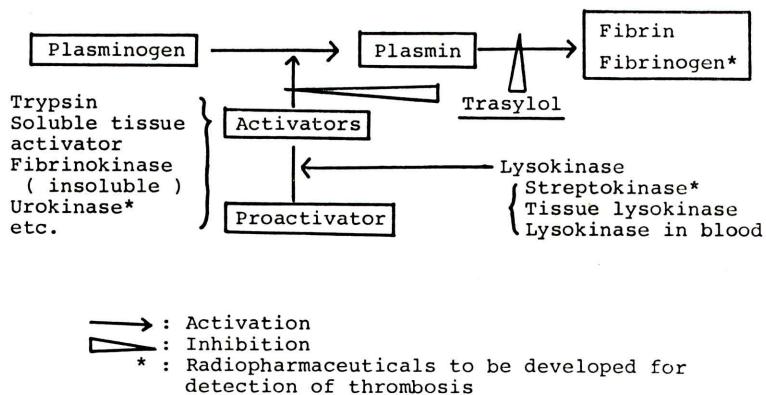


Fig. 6 Schema of Pharmacological Mechanism for Trasylol and Pharmaceutica's* which have ever been developed for Detection of Thrombosis Acting in Fibrin Formation or Fibrinolysis.

形成された fibrin 溶解 (fibrinolysis) の時期によって、当然使用された RI 物質の取込みに差の生ずる事が考えられる。Kwaan³⁶⁾ 等は、静脈血栓の融解には静脈内皮細胞の Activator が重要な役をなしていると報告しているが、組織抗アクチベーター作用を有するトラジロールの血栓形成部位への集積を示唆するものとして興味がある。

静脈血栓症の診断には、非特異的ではあるが前記以外の RI 物質による方法も報告されている^{37), 38)}。しかしながら、^{99m}Tc-トラジロールの血栓症患者への投与には問題がないわけではない。その一番の要因は、^{99m}Tc-トラジロール投与によって静脈血栓症が悪化する事が考えられる事であろう³⁹⁾。さらに、RI 医薬品としての応用に必要な control data^{40), 41)} の検討も不可欠な要因である。これらの点に関して今後とも研究を続けていく所存である。

V. 結 語

腫瘍組織の有している組織線溶現象に注目し、抗組織プラスミノーゲン及び抗アクチベーター作用を有する多価、蛋白分解酵素阻害剤、トラジロールの^{99m}Tc-標識を行い、標識物質のエールリッヒ担癌マウスの生体内分布について報告した。その結果を要約すると、

1) 標識率は、塩化第一スズ還元法で約 75% の収率であった。

2) 標識に要した時間は 60 分であった。標識時間 30 分での非標識 ^{99m}TcO₄⁻ は 2~3% で、60 分では 1% 以下であったさらに、pH 調整後にも^{99m}TcO₄⁻ 量には変化が認められなかった。

3) ^{99m}Tc-トラジロールは Sephadex G-25M gel chromatography 分離後 4 時間までの検討で、ほとんど^{99m}TcO₄⁻ の増加を認めず、安定した結合状態が確認された。

4) ^{99m}Tc-トラジロールは、腫瘍組織に比較的すみやかに取込まれ、24時間後までその集積率に変化を認めない事から、腫瘍組織内では代謝を受けない事が示された。

5) ^{99m}Tc-トラジロールの腫瘍組織への取込み

率は、^{99m}Tc-アルブミンよりも劣るが、腫瘍 / 血液濃度比は^{99m}Tc-アルブミンよりも良い値を示した。

6) ^{99m}Tc-トラジロールの 24 時間後の腫瘍組織への取込み率は、⁵⁷Co-ブレオマイシン及び⁶⁷Ga-citrate に匹敵する値であった。

7) 尿中排泄物からは、1 時間後^{99m}Tc-トラジロールの排泄が確認された。

最後に、^{99m}Tc-トラジロールの静脈血栓症の核医学的診断薬品としての可能性について文献的考察を加え報告したが、腫瘍 / 血液濃度比は、6 時間以降に 1.0 を上回る事から、^{99m}Tc の物理的半減期を考えると、¹¹¹In のような核種による標識が適当とも考えられるが、今後、これらの点も含め臨床応用を目指し研究をかねていく所存である。

本稿を終えるにあたり、標識実験及び動物実験手技等に関する御教示、御指導いただきました安東逸子博士に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) 久田欣一: 最新核医学, 6 版. 金原出版(株), 東京, 1975, p. 330-331
- 2) Hoffer PB, & Gottschalk A: Jumor scanning agents. Semi Nucl Med 4 (3): 305-316, July, 1974
- 3) Back N, Shields RR, Dewitt G et al: Uptake of fibrinogen and fibrinolytic enzymes by neoplastic tissue. J Nat Cancer Inst 36: 171-180, Feb. 1966
- 4) MacCardle RJ, Harper PV, Spar IL, et al: Studies with iodine-131-labeled antibody to human fibrinogen for diagnosis and therapy of tumors. J Nucl Med 7: 837-847, Nov. 1966.
- 5) 安東 醇、久田欣一: ¹³¹I-人血清アルブミンおよび¹³¹I-人血漿フィブリノーゲンの吉田肉腫への取り込みについて. Radioisotopes 19: 276-281, June, 1970
- 6) 久田欣一、安東 醇、平木辰之助: 腫瘍親和性 RI の研究と進歩. 総合臨床 20 (8): 1772-1783, 1971
- 7) 田中健蔵: 癌と線溶. 東京医大誌 26: 571-576, 1969
- 8) 田中健蔵、児玉好史、甲賀 新: 癌と凝固・線溶、血液と脈管 3 (9): 1035-1040, 1972
- 9) Trasylol: Bayer pharmaceutical Co. Ltd. Osaka, 1974
- 10) Negus D, Pinto DJ, Le Quesne LP et al: ¹²⁵I-labelled fibrinogen in the diagnosis of deep-vein thrombosis and its correlation with phlebography. Brit J Surg

- 55 (II): 835-839, 1968
- 11) Phodes BK, Juraiki KS, Bell WR et al: Radioactive urokinase for blood dot scanning. *J Nucl Med* **13**: (8): 646-648, 1972
- 12) Siegel ME, Malmud LS, Rhodes BA et al: Scanning of thromboemboli with ^{131}I -streptokinase. *Radiology* **103**: 695-696, June, 1972
- 13) Persson BRR & Kempf V.: Labeling and testing of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Streptokinase for the diagnosis of deep vein thrombosis. *J Nucl Med* **16**: (6) 474-477, 1965
- 14) EcKelman WC, Meinken G & Richards P: High-specific-activity $^{99\text{m}}\text{Tc}$ human serum albumin. *Radiology* **102**: 185-186, Jan 1972
- 15) EcKelman WC, MeinKen G Richards P: Chemical state of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ in biomedical products. *J Nucl Med* **12** (9): 596-600, 1971
- 16) EcKelman WC, & Richards P: Analytical pitfalls with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled compounds. *J Nucl Med* **13** (3): 202-204, 1972.
- 17) Billingham MW: Chromatographic quality control of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled compounds, *J Nucl Med* **14** (11): 793-797, 1973
- 18) Determann H, Gel chromatography, 2nd ed Springer-Verlag, Berlin, 1969, p. 26, p. 64-70.
- 19) 奥木 実: 実験動物. 1版, 南山堂, 東京, 1968, p. 273.
- 20) Edwards CL, Hayes RL: Tumor scanning with ^{67}Ga -citrate, *J Nucl Med* **10**: 103-105, 1969
- 21) Hayes RL, Nelson B, Swartzendruber DC et al: Gallium-67 localization in rat and mouse tumors. *Science* **169**: 287-290, 1970
- 22) Edwards CL, Hayes RL,: Localization of tumors with radioisotopes. AEC Symposium Series **27**: 618-639
- 23) Hisada K, Ando A: Radiolanthanides as promising tumor scanning agents. *J Nucl Med* **14** (8): 615-617, 1973
- 24) Hisada K, Suzuki Y, Hiraki T et al: Clinical evaluation of tumor scanning with ^{169}Yb -citrate *Radiology* **116**: 389-393, Aug 1975
- 25) 河野 彰, 小嶋正治, 前田辰夫: 悪性腫瘍親和性物質 ^{57}Co -Bleomycin について. *臨放* **18**: 195-196, 1973
- 26) 前田辰夫: ^{57}Co -Blomycin による腫瘍スキャンニング. *臨放* **18**: 197-200, 1973
- 27) Merrick MV, Ganaserka SW, Lavender JP et al: In Medical Radioisotopes Scintigraphy, Vienna, IAEA, 1922.
- 28) Mori T, Hamamoto K, Onoyama Y et al: Tumor imaging after administration of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled bleomycin. *J. Nucl Med* **16** (5): 414-422, 1975
- 29) Fowler JS, Finn RD, Lambrecht RM et al: The synthesis of ^{18}F -fluorouracil V° . *J Nucl Med* **14** (1): 63-64, 1973
- 30) 松岡松三, 渡辺 透: 消費性凝固障害症, *臨床科学* **9** (5): 620-627, 1972
- 31) 著者等: 技稿予定
- 32) Funahara Y: Studies on the fibrinolysis in tumor bearing mice. IV, Mechanism of ascites retention with special reference to plasmin activity of tumor cell origin. *Kobe J Med Sci* **11**: 79-88, June 1965
- 33) Henkin RE, Quinn JLIII : Nuclear medicine techniques in the diagnosis of deep vein thrombosis. *Surg Clin North Am* **54** (1): 57-68, 1974
- 34) Wong DW, Mishkin FS: Technetium-99m-human fibrinogen. *J Nucl Med* **16** (5): 343-347, 1975
- 35) 大柴 進, 有賀豊彦: 線溶系の生理化学—plasminogen の activator を中心にして—*臨床科学* **9** (5): 620-627, 1972
- 36) Kwaan HC, Astrup T: Fibrinolytic activity in thrombosed veins. *Circulation Research* **17** (6): 477-483, 1965
- 37) Rosenthal L: Combined inferior vena cavography iliac venography and Lung imaging with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ albumin macroaggregates. *Radiology* **98**: 623-626, March, 1971.
- 38) Webber MM, Victery W ,Cragin MD: Determination of thrombophlebitis and endothelial damage by scintiscanning. *Radiology* **100**: 93-97, July 1971
- 39) 松岡松三: 血栓溶解療法, *最新医学* **23** (12): 2612-2120, 1969
- 40) Rhodes BA: Considerations in the radiolabeling of albumin. *Semi Nud Med* **4** (3): 281-293, 1974
- 41) Stelmach HA, Quinn JLIII: Radiopharmaceutical quality control: *ibid* 295-303, 1974

Summary

Biologic Distribution of 99m Tc-Labelled Trasylol in Tumor-Bearing Mice.

Kazuo ITOH, Shin KOBAYASHI, Norihisa TONAMI, Kinichi HISADA

*Department of Nuclear Medicine, School of Medicine, Kanazawa University,
(Director, Kinichi HISADA, M. D., Ph. D.)*

Atsushi ANDO

School of Paramedicine, Kanazawa University

The authors have labelled the proteinase inhibitor, Trasylol, with 99m Tc-technetium as a new radiopharmaceutical for the detection of malignant neoplasms. Trasylol is a drug used at present in acute pancreatitis and secondary fibrinolysis, which has the direct inhibition effect of the tissue plasminogen activity as one of its own pharmacological properties. Therefore, it is assumed that 99m Tc-labelled Trasylol may accumulate into the abnormal tissues with the high tissue plasminogen activity, e.g., some sorts of the malignant neoplasms and venous thrombosis. This paper describes the labelling method, the separation, the labelling yield and the chemical stability of labelled compound and the biologic distribution of 99m Tc-labelled Trasylol in various tissue of Ehrlich solid tumor-bearing mice following the intravenous injection.

99m Tc-Trasylol was prepared by reducing 99m Tc-pertechnetate with Trasylol in HCl solution resolving stannous chloride. The ratio of weight of Trasylol to stannous chloride was 1000:1. The labelling yield of this labelled compound was approximately 75% by Sephadex G-25M (0.9 × 30 cm column) in 0.9 W/V% NaCl eluent. The chemical stability of labelled compound eluted within void volume was not changed until four hours. The biologic distribution in tumor-bearing male mice was determined at 1 hour, 3 hours, 6

hours and 24 hours following the intravenous injection into the tail vein. The radioactive concentration of 99m Tc-Trasylol in various tissues was described as percentage dose per gm. of fresh tissue derived from five or six mice at each point. Tumor concentration was 1.9715 ± 0.3277 (mean value ± s.e.m.) at 1 hour and did not change to be constant until 24 hours. Total accumulation of 99m Tc-Trasylol to both of the liver and kidney until 1 hour was calculated about 42.8%–33.3% per the administration. Tumor to blood concentration ratio was increased continuously in course of time and became more than 1.0 at 6 hours. 99m Tc-Trasylol clearly showed the affinity to the Ehrlich solid tumor but was poorer than the affinity of 99m Tc-albumin to the same tumor at 1 hour and 3 hours which we studied as to standard tumor-seeking agent. Blood clearance of 99m Tc-trasylol, however, was more prompt than that of 99m Tc-albumin.

Therefore, if it is assumed reasonable that the affinity of 99m Tc-Trasylol to tumor tissue is due to the abnormally increased tissue plasmin activity and/or tissue activator activity, it is proposed that 99m Tc-trasylol concentrates the lesion with the active fibrinolysis, some sorts of malignant neoplasms and venous thrombosis, so that we may use it as a new radiopharmaceutical for the diagnosis of such lesions.