

## 《原 著》

# 化学発癌剤, 3'-Methyl-4-dimethylaminoazobenzene 投与 ラットにおける<sup>67</sup>Ga-citrate 肝摂取率の経時的変化

佐々木 徹\* 小島 周二\* 久保寺昭子\*\*

**要旨** 化学発癌剤, 3'-Methyl-4-dimethylaminoazobenzene (3'-Me-DAB) 連続投与ラットについて, 1週から20週までの<sup>67</sup>Ga-citrate (<sup>67</sup>Ga) の肝摂取率変化を検索した。

<sup>67</sup>Ga の肝摂取率は, 3'-Me-DAB 投与開始後3週目で一過性の上昇を示し, その後一旦低下するが6週目より再び上昇し, 20週目における<sup>67</sup>Ga の肝あたりの摂取率は対照群の約2.3倍の値を示した。この<sup>67</sup>Ga の肝摂取率パターンは, 肝  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase や glucose-6-phosphate dehydrogenase 酵素活性の変動と一部関連が認められた。

さらに, <sup>67</sup>Ga の細胞内分布を経時的に追跡比較した結果, 800×g 分画に著しい変化が認められた。

これらの結果から, 3'-Me-DAB により誘導される病変に関与するもの一つに 800×g 分画に含まれる成分が考えられ, またこの成分が<sup>67</sup>Ga との結合性に関与していることが示唆された。

## I. 序 文

1969年 Edward ら<sup>1)</sup> によってホジキン氏病患者のリンパ節病巣への<sup>67</sup>Ga の集積性が報告されて以来, 多くの研究者によって, 臨床的ならびに基盤的研究が続けられてきた。その結果, <sup>67</sup>Ga-citrate (以下<sup>67</sup>Ga) は腫瘍部位を陽性像として描画できるスキャン剤として頻用されるに至ったが, その集積機序に関しては依然仮説の域を脱していないのが現状である。

現在までに報告されている<sup>67</sup>Ga 癌細胞集積機序に関する研究の多くは<sup>2~7)</sup>, 移植した癌あるいは培養された癌細胞について検討したものであった。

本研究では, <sup>67</sup>Ga 肝細胞集積機序解明のための基礎検索として, 肝親和性のある化学癌剤として

知られている<sup>8,9)</sup> 3'-Methyl-4-dimethylaminoazobenzene (以下 3'-Me-DAB) をラットに連続的に投与し, <sup>67</sup>Ga の肝摂取率の変化を経時的に観察するとともに摂取率の増減が関与すると考えられる細胞分画を検索し, 同時に生化学的変化を追跡して<sup>67</sup>Ga に親和性のある生体物質を類推することを試みた。

## II. 実験方法

### 1) 実験動物

実験動物は Donryu 系雄ラット (東京実験動物 K.K.) 8週齢, 体重約 180~200 g, 120 匹を 2 群に分けて用いた。対照群には固型基礎餌 CE-2 (日本クレア K.K.) を 3'-Me-DAB 投与群には 0.06% 3'-Me-DAB 含有固型餌 (オリエンタル酵母 K.K.) を与え 20 週間飼育した。飼育開始後 1 週間ごとに 20 週まで各群 5 匹ずつを<sup>67</sup>Ga の肝摂取率, 肝細胞の酵素活性の測定などの実験に供した。

### 2) 核種および放射活性の測定

<sup>67</sup>Ga は クエン酸ガリウム (第一化学薬品製 K.K.) 1 mCi/ml を 0.08 M クエン酸ナトリウム溶液で 50  $\mu$ Ci/ml に希釈したものを, ネンブタール麻酔下でラット尾静脈より 0.2 ml (10  $\mu$ Ci) 静注し

\* 帝京大学薬学部

\*\* 東京理科大学薬学部

受付: 56年3月12日

最終稿受付: 56年10月29日

別刷請求先: 神奈川県津久井郡相模湖町寸沢嵐 1091-1

(番 199-01)

帝京大学薬学部

佐々木 徹

た。静注48時間後ラットを撲殺し瀉血後、肝臓、脾臓、腎臓および肺臓を摘出し、それぞれ湿全重量を測定した。

各臓器はミンスした後、約1gをプラスチックチューブに精秤しウエル型シンチレーションカウンター(アロカ TDC-501)で放射活性を測定し、投与量に対する摂取率を示した。

### 3) 肝細胞分画

肝1gを精秤し10倍量の冷0.25M sucrose(pH 7.6)でホルモジナイズ後、ナイロンメッシュ(ファルマシア)で濾過し、以下Fig. 1に示す方法で分画を行った。得られた分画のうち沈殿は0.25M sucrose(pH 7.6)で再懸濁し放射活性と蛋白量を測定した。ただし、肝細胞分画はすべて4°C以下の低温で処理し、蛋白量の測定はウシ血清アルブミンをスタンダードとしたLowryら<sup>10)</sup>の方法に従った。

### 4) 酵素活性の測定

#### a) $\gamma$ -glutamyltranspeptidase(以下 $\gamma$ -GTP)

$\gamma$ -GTPはII-3)の肝細胞分画で得たF-3(ミクロソーム)分画について $\gamma$ -glutamyl-p-nitroanilideを基質としたOrlowskiら<sup>11)</sup>の方法に従い測定した。酵素活性は410nmにおける吸光度の増加から求めた。ただし、p-nitroanilineの分子吸光係数は $8.8 \times 10^3$ とし、1分間あたり1 $\mu$ moleのp-nitroanilineが遊離されるとき1unitとした。

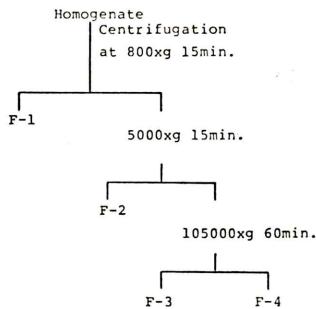


Fig. 1 Preparation of subcellular fractions. Abbreviation:  
F-1=Nuclear fraction, F-2=Mitochondrial fraction, F-3=Microsomal fraction, F-4=Supernatant fraction

またこれを蛋白量(mg)で除した値を比活性とした。

b) glucose-6-phosphate dehydrogenase(以下G-6-PDH) G-6-PDHはII-3)の肝細胞分画で得たF-4(上清)分画について、Glockら<sup>12)</sup>の方法に従い反応系1ml中に酵素およびglycylglycine buffer(pH 7.6)22.5 $\mu$ mole, MgCl<sub>2</sub>4 $\mu$ mole, NADP 0.11 $\mu$ mole, glucose-6-phosphate 1.4 $\mu$ mole含むよう調製した。

酵素活性は、37°Cで2分間インキュベーション後基質を加え、340nmにおける吸光度の増加から求めた。ただし、NADPの分子吸光係数は $6.3 \times 10^3$ とし、1分間あたり1 $\mu$ moleのNADPを還元するとき1unitとした。比活性は蛋白質1mgあたりの酵素単位とした。

## III. 結 果

### 1) $^{67}\text{Ga}$ の肝摂取率の経時的変化

Fig. 2に示すように肝1gあたりの $^{67}\text{Ga}$ の摂取率は、3'-Me-DAB投与後、1週、2週でやや低下するものの、3週目では対照群の約1.3倍の値を示した。その後、6週目までは対照群とほぼ

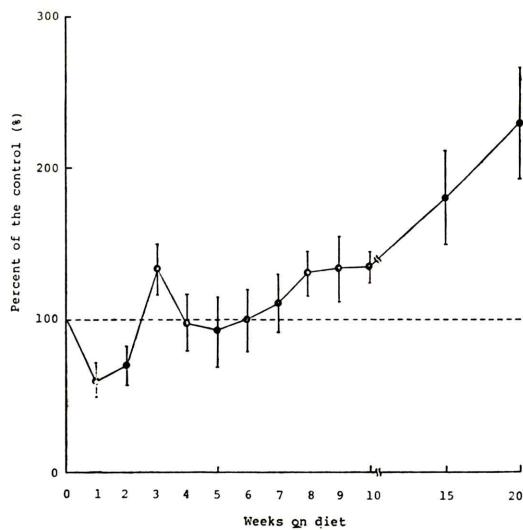


Fig. 2 Uptake of  $^{67}\text{Ga}$ -citrate in the gram liver of the rats during feeding with 3'-Me-DAB. Results were calculated as percent of the control. Vertical lines indicate the standard deviation (n=5).

同じ値を示すが、7週目より再び上昇し、20週目では対照群の約2.3倍の摂取率を示した。また、3'-Me-DAB投与後20週目における $^{67}\text{Ga}$ の摂取率liver/blood比は対照群で6.92、3'-Me-DAB群で32.4であった。

全肝臓あたりの $^{67}\text{Ga}$ 肝摂取率の変化はTable 2に示したごとく、3'-Me-DAB投与開始後3週目において若干の上昇がみられるが、対照群との間で有意差は認めなかった。しかし、6週目から高

い摂取率を示し、特に9週目からは顕著な上昇を示した。

一方、脾臓、腎臓、肺臓における臓器gあたりの $^{67}\text{Ga}$ 摂取率はTable 1にみられるように対照群と3'-Me-DAB群の間で有意差は認めなかった。

全臓器あたりの $^{67}\text{Ga}$ 摂取率をTable 2に示す。結果は、腎臓、肺臓では対照群と3'-Me-DAB群の間で有意差は認めないので対し、脾臓において3'-Me-DAB投与開始後1週目より上昇傾向が認

Table 1 Uptake of  $^{67}\text{Ga}$ -citrate in the gram tissue of rat during feeding with 3'-Me-DAB  
(% dose/g tissue)

Weeks	Liver		Lung		Spleen		Kidney	
	Control	3'-Me-DAB	Control	3'-Me-DAB	Control	3'-Me-DAB	Control	3'-Me-DAB
1	1.3 $\pm$ 0.2	0.8 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	2.6 $\pm$ 0.4	1.8 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.2
2	1.0 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.0	2.3 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.1
3	1.2 $\pm$ 0.1	1.7 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.1
4	1.3 $\pm$ 0.2	1.3 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1	2.2 $\pm$ 0.2	1.9 $\pm$ 0.4	0.9 $\pm$ 0.1	0.9 $\pm$ 0.1
5	1.2 $\pm$ 0.2	1.1 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.3	1.4 $\pm$ 0.3	0.9 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.1
6	1.4 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	2.2 $\pm$ 0.6	2.2 $\pm$ 0.2	1.0 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.1
7	1.1 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.4	2.0 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1
8	1.2 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1	2.0 $\pm$ 0.6	2.3 $\pm$ 0.4	0.9 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.1
9	0.8 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0	1.9 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.1
10	1.2 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.0	2.3 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.2
15	1.0 $\pm$ 0.2	1.9 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.0	2.0 $\pm$ 0.7	2.2 $\pm$ 0.7	1.0 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.1
20	0.9 $\pm$ 0.0*	2.1 $\pm$ 0.3*	0.2 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0	2.4 $\pm$ 0.7	2.2 $\pm$ 0.7	0.9 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.1

Each value represents the mean $\pm$ SD for 5 animals.

\* Liver/Blood ratio: Control (6.92), 3'-Me-DAB (32.4)

Table 2 Uptake of  $^{67}\text{Ga}$ -citrate in the total organ of rat during feeding with 3'-Me-DAB  
(% dose/total organ)

Weeks	Liver		Lung		Spleen		Kidney	
	Control	3'-Me-DAB	Control	3'-Me-DAB	Control	3'-Me-DAB	Control	3'-Me-DAB
1	14.87 $\pm$ 2.79	8.49 $\pm$ 1.72	0.44 $\pm$ 0.17	0.39 $\pm$ 0.16	1.44 $\pm$ 0.39	1.18 $\pm$ 0.27	2.67 $\pm$ 0.70	2.21 $\pm$ 0.41
2	9.87 $\pm$ 1.79	6.87 $\pm$ 1.48	0.35 $\pm$ 0.20	0.31 $\pm$ 0.02	1.50 $\pm$ 0.24	1.41 $\pm$ 0.49	2.05 $\pm$ 0.67	2.32 $\pm$ 0.73
3	14.94 $\pm$ 3.07	16.83 $\pm$ 2.31	0.36 $\pm$ 0.06	0.43 $\pm$ 0.15	1.54 $\pm$ 0.36	2.04 $\pm$ 0.56	1.66 $\pm$ 0.30	1.89 $\pm$ 0.64
4	18.02 $\pm$ 4.37	12.42 $\pm$ 2.95	0.86 $\pm$ 0.33	0.50 $\pm$ 0.13	1.56 $\pm$ 0.28	1.81 $\pm$ 0.63	2.24 $\pm$ 0.43	1.83 $\pm$ 0.41
5	16.31 $\pm$ 1.58	13.33 $\pm$ 2.71	0.80 $\pm$ 0.24	0.42 $\pm$ 0.14	1.56 $\pm$ 0.24	1.69 $\pm$ 0.41	2.12 $\pm$ 0.73	1.50 $\pm$ 0.28
6	16.35 $\pm$ 2.74	15.82 $\pm$ 2.67	0.80 $\pm$ 0.22	0.44 $\pm$ 0.16	1.14 $\pm$ 0.31	2.66 $\pm$ 0.56	2.12 $\pm$ 0.51	1.93 $\pm$ 0.29
7	14.34 $\pm$ 1.99	19.04 $\pm$ 4.14	0.34 $\pm$ 0.06	0.29 $\pm$ 0.15	1.60 $\pm$ 0.48	2.46 $\pm$ 0.54	1.78 $\pm$ 0.38	1.70 $\pm$ 0.37
8	15.50 $\pm$ 2.48	20.83 $\pm$ 2.12	0.62 $\pm$ 0.21	0.67 $\pm$ 0.19	1.42 $\pm$ 0.43	2.82 $\pm$ 0.59	2.18 $\pm$ 0.28	2.09 $\pm$ 0.21
9	12.90 $\pm$ 3.48	17.40 $\pm$ 1.78	0.37 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.08	1.53 $\pm$ 0.33	2.19 $\pm$ 0.18	1.82 $\pm$ 0.36	1.66 $\pm$ 0.24
10	14.77 $\pm$ 1.72	29.89 $\pm$ 3.58	0.46 $\pm$ 0.07	0.65 $\pm$ 0.26	1.25 $\pm$ 0.11	3.24 $\pm$ 0.56	2.29 $\pm$ 0.15	2.43 $\pm$ 0.61
15	16.92 $\pm$ 6.25	41.99 $\pm$ 5.34	0.54 $\pm$ 0.45	0.61 $\pm$ 0.03	1.32 $\pm$ 0.70	2.93 $\pm$ 1.04	2.92 $\pm$ 0.86	2.45 $\pm$ 0.35
20	15.62 $\pm$ 3.07	76.57 $\pm$ 11.38	0.34 $\pm$ 0.04	0.48 $\pm$ 0.08	1.99 $\pm$ 0.78	3.12 $\pm$ 1.11	2.71 $\pm$ 0.49	2.19 $\pm$ 0.52

Each value represents the mean $\pm$ SD for 5 animals.

められ、10週目以降高い摂取率を維持した。

## 2) 肝細胞分画、各フラクションの<sup>67</sup>Ga分布の経時的变化

各分画における蛋白質1mgあたりの放射活性の変化を3'-Me-DAB投与開始後20週まで対照群に対する比で比較しFig.3に示した。

その結果、各分画とも類似した傾向をとるが、とりわけ800×g分画は著しい変動を示した。すなわち、3'-Me-DAB投与開始後3週目で対照群の約2倍に達し、4週目で低下するものの再び上昇し、20週目では対照群の約3.5倍に達した。この変動は肝1gあたりの<sup>67</sup>Ga摂取率パターンと良く一致した。

## 3) $\gamma$ -GTP, G-6-DPH酵素活性の変化

$\gamma$ -GTP, G-6-PDH酵素活性について、3'-Me-DAB投与開始後1週から20週まで測定した結果をFig.4,5に示す。 $\gamma$ -GTP酵素活性は3'-Me-DAB投与開始後3～4週で著しい活性上昇を示すが、5～6週で一旦低下し、7～15週で再び高活性を示した。G-6-PDH酵素活性は3週目で上昇を示し、4週目で一旦低下した後経時的な上昇を示した。

## 4) 各臓器の重量変化

肝重量は3'-Me-DAB投与開始後3～5週に若干の低下を示すが、その後、徐々に増加し9週目前後で対照群とほぼ同重量に達し、10週目以降は有意な増加を示し、肉眼的には肝は著しく肥大し大小不同の灰黄色の結節が多数観察された。

脾重量は対照群には有意な増減は認めないのでに対し、3'-Me-DAB群は1週目から脾重量の増加がみられ、10週目で対照群の約2倍の重量に達し20週までその重量を維持した。肺、腎重量については、肺重量の測定誤差に基づくばらつきが大きいものの、対照群と3'-Me-DAB群双方に生長に伴う経時的増加がみられ、両者の間に有意差は認めなかった。

## IV. 考 察

今までに報告されている<sup>67</sup>Ga癌細胞集積機序解明に関する研究は、移植した癌あるいは培養された癌細胞について実験したもののが主である。本研究では実験肝癌モデルとして多くの研究が成されているアゾ系色素肝癌<sup>13～19)</sup>、中でも特に強い癌原性を持つことが知られている<sup>17)</sup> 3'-Me-DAB

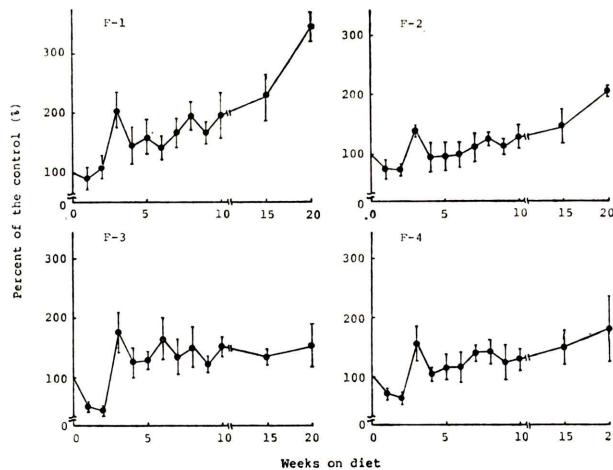


Fig. 3 Uptake of <sup>67</sup>Ga-citrate in the rats liver milligram protein of the subcellular fractions during feeding with 3'-Me-DAB. Results were calculated as percent of the control. Vertical lines indicate the standard deviation (n=5). Abbreviation: F-1=Nuclear fraction, F-2=Mitochondrial fraction, F-3=Microsomal fraction, F-4=Supernatant fraction.

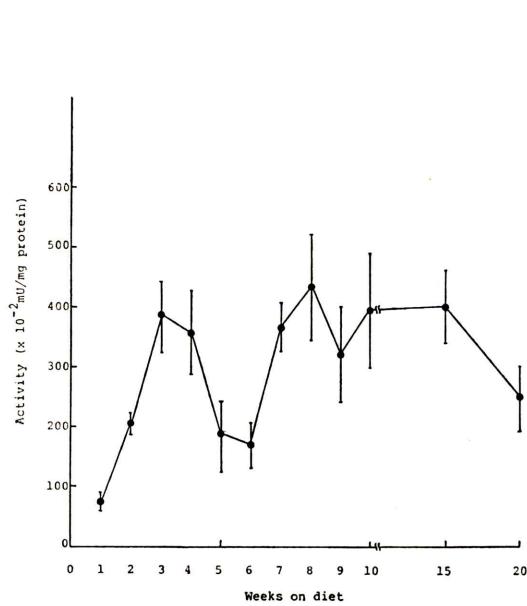


Fig. 4 Level of  $\gamma$ -GTP activity in the liver of rats during feeding with 3'-Me-DAB. Each point represents the mean  $\pm$  SD for 5 animals. Control level was 0 to 50 ( $\times 10^{-2}$  mU/mg protein).

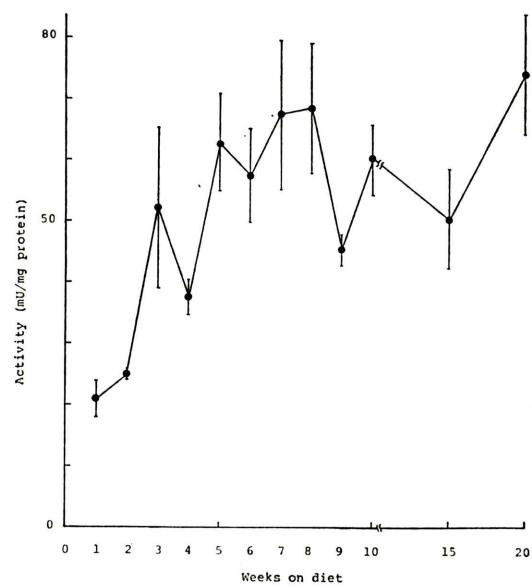


Fig. 5 Level of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in the liver of rats during feeding with 3'-Me-DAB. Each point represents the mean  $\pm$  SD for 5 animals. Control level was 2.12  $\pm$  0.28 (mU/mg protein).

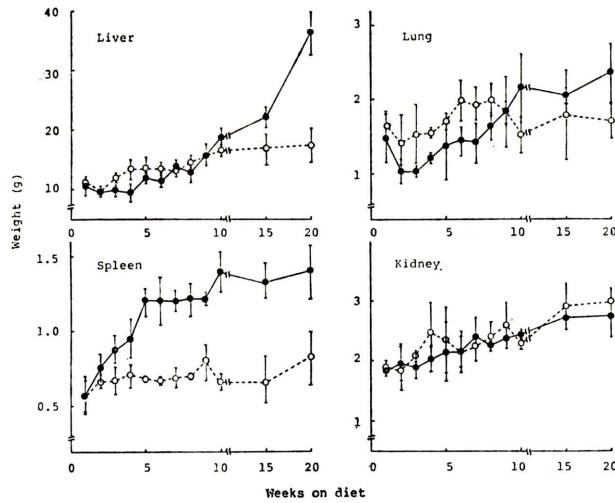


Fig. 6 Changes of total organ weight during feeding 3'-Me-DAB. Each point represents the mean  $\pm$  SD for 5 animals.

●—● 3'-Me-DAB, ○—○ Control

をラットに連続的に投与し、肝癌発生過程における  $^{67}\text{Ga}$  の肝摂取率の変動を肝の組織学的变化を良く反映すると考えられている  $\gamma$ -GTP, G-6-PDH

酵素活性<sup>11,20~22</sup>の変動とともに検討した。

その結果、肝 1 gあたりの  $^{67}\text{Ga}$  摂取率は 3'-Me-DAB 投与開始後 3 週目に第 1 のピークを示

し、その後対照群と同値を示すものの7週目より再び上昇した。同様に全肝あたりの比較でも2つのピークが認められるが、3週目の上昇は1g肝で比較した程顕著でなかった。 $^{67}\text{Ga}$ の肝摂取率を比較する場合全肝とg肝で表現する2通りが考えられる。前者は体重差の大きい場合その影響を受けにくいという点から都合がよい。また臨床的観点から肝のイメージングを重視し他の臓器とのコントラストを問題にすれば後者の方が有利である。

3'-Me-DAB投与開始後3～5週の時期では対照群と3'-Me-DAB群の間で体重差はほとんど認められていない。一方、肝重量の変化はFig. 6より明らかに如く3～5週で3'-Me-DAB群に若干の低下が認められた。岩崎ら<sup>23)</sup>によれば、3'-Me-DAB投与開始後3～5週目の時期は3'-Me-DABの毒性によって壊死した肝細胞に代って再生細胞が増殖し始める時期にあたり、この際の細胞の量的変化が肝重量の低下を引き起こすものと考えられている。したがって、3'-Me-DAB投与開始後3週目における $^{67}\text{Ga}$ の肝摂取率の上昇は $^{67}\text{Ga}$ に対する肝親和性の増大ならびに肝重量の低下に基づくものと考えられる。 $^{67}\text{Ga}$ の肝摂取率の上昇が認められた3週目前後は組織学的には肝各小葉は胆小管上皮細胞の性質を持った橢円形細胞oval cellの浸潤の顕著な時期<sup>23,24)</sup>である。発癌のマーカー酵素とも成りうると考えられている<sup>11,20～22)</sup>γ-GTP, G-6-PDH酵素活性も同様にこの時期に上昇する傾向が認められた。γ-GTP, G-6-PDHの初期の酵素活性上昇はα-フェトプロテイン<sup>23,24)</sup>と同様に3'-Me-DABの毒性に起因した肝細胞壊死が再生する際、増生するoval cellの出現と一致すると考えられることから、 $^{67}\text{Ga}$ の肝傷害修復過程における集積性増大が示唆された。3'-Me-DABを用いた肝癌発生過程における組織学的変化を検索した報告は多く、本研究と同様にラットに3'-Me-DABを投与したPriceら<sup>16)</sup>は投与開始後14週目で32%, 16週目で64%, 19週目で全てのラット肝に癌細胞を確認したことを報告している。同じくShattonら<sup>17)</sup>は投与開始後14～15週目以降に癌細胞の増殖を、Maら<sup>25)</sup>は16週目で16匹中生存

していた9匹全てのラット肝の発癌を確認したことを報告している。これら、3'-Me-DAB連続投与における肝の組織学的变化と肝癌発生率との間には高い再現性が示唆されている。本研究においても肉眼的には大小の結節を伴った肝肥大が観察され、さらに肝γ-GTP, G-6-PDH酵素活性の上昇も認められた。3'-Me-DAB投与開始後10週目以降における $^{67}\text{Ga}$ の肝摂取率の増加は3'-Me-DABにより誘発された病変細胞の増生に伴うものと考えられる。しかし、 $^{67}\text{Ga}$ の高い肝摂取率を示した3'-Me-DAB投与開始後20週目においてG-6-PDH酵素活性は上昇しているにもかかわらずγ-GTP酵素活性が低下した理由については本研究からは明らかではない。

一方、3'-Me-DABの臓器親和性の低い腎臓、肺臓への $^{67}\text{Ga}$ の摂取率は対照群と3'-Me-DAB群の間に有意差がないことが判明した。脾臓については全臓器あたりの $^{67}\text{Ga}$ の摂取率で3'-Me-DAB投与開始後経時的な上昇が認められたのに対し、1gあたりでは対照群と3'-Me-DAB群の間で有意差は認めなかった。この現象が脾の肥大かあるいは細胞の増殖によるものかは、本研究から不明である。

現在までに報告されている $^{67}\text{Ga}$ 細胞内分布に関する諸説の中でSwartzendruberら<sup>2)</sup>、その他多く<sup>26～28)</sup>によって早くから注目されているライゾーム説があるが、本研究においても $^{67}\text{Ga}$ の摂取率を絶対値で比較した結果、ライゾームを含むF-2分画に最も高い活性があり、次いでF-1, F-3, F-4の順であった。 $^{67}\text{Ga}$ の肝摂取率増加が認められる場合、 $^{67}\text{Ga}$ 集積の変動に関与していると推測されている細胞分画では、より明確な変動が認められるものと考えられ、本研究においては $^{67}\text{Ga}$ の各分画への経時的な摂取率の変動から $^{67}\text{Ga}$ に親和性のある成分を推測することとした。

その結果、Fig. 3から明らかなごとく、いずれの分画においてもFig. 2の肝1gあたりの $^{67}\text{Ga}$ 摂取率と同様の変動が認められ、中でも $800 \times g$ 分画は肝1gあたりの $^{67}\text{Ga}$ 摂取率と良く類似し最も顕著な変動を示すことが判明した。

したがって、 $^{67}\text{Ga}$  は肝細胞分画いずれにも存在し、特に  $800 \times g$  分画に多く含まれる成分と結合していることが示唆される。現在この成分については詳細に研究を進めている。

本研究を行うにあたり、御支援下さいました北里大学病院核医学の諸先生方に深謝致します。

## 文 献

- 1) Edwards CL, Hayes RL: Tumor scanning with  $^{67}\text{Ga}$  citrate. *J Nucl Med* **10**: 103-105, 1969
- 2) Swartzendruber DC, Nelson B, Hayes RL: Gallium-67 localization in lysosomal-like granules of leukemic and nonleukemic murine tissues. *J Natl Cancer Inst* **46**: 941-952, 1971
- 3) Lawless D, Brown DH, Hubner KF, et al: Isolation and partial characterization of a  $^{67}\text{Ga}$ -binding glycoprotein from Morris 5123C rat hepatoma. *Cancer Res* **38**: 4440-4444, 1978
- 4) Hoffer PB, Huberty J, Khayam-Bashi H: The association of Ga-67 and lactoferrin. *J Nucl Med* **18**: 713-717, 1977
- 5) Aulbert E, Gebhardt A, Schulz E, et al: Mechanism of gallium-accumulation in normal rat liver lysosomes. *Nuklearmedizin* **15**: 185-194, 1976
- 6) Samezima K, Orii H: In vivo localization of Ga-citrate in rat liver as determined by cell fractionation with isopycnic-rate-zonal ultracentrifugation. *Eur J Nucl Med* **5**: 281-288, 1981
- 7) Ando A, Ando I, Hiraki T, et al:  $^{67}\text{Ga}$  binding substances in the tumor and liver tissues. *Radioisotopes* **29**: 250-251, 1980
- 8) Hultin T: The intracellular distribution of protein-bound azo dye in rat liver. *Exp Cell Res* **10**: 71-77, 1956
- 9) Salzberg DA: The distribution and metabolism of 3'-methyl-C<sup>14</sup>-4-dimethylaminoazobenzene in the liver and tissues of the rat. *Cancer Res* **18**: 768-775, 1958
- 10) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, et al: Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J Biol Chem* **193**: 265-275, 1951
- 11) Orlowski M, Meister A: Isolation of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase from hog kidney. *J Biol Chem* **240**: 338-347, 1965
- 12) Glock GE, McLean P: Level of enzyme of direct oxidative pathway of carbohydrate metabolism in mammalian tissues and tumors. *Biochem J* **56**: 171-175, 1954
- 13) Orr JW: The histology of the rats liver during the course of carcinogenesis by butter-yellow (p-dimethylaminoazobenzene). *J Path Bact* **50**: 393-408, 1940
- 14) Opie EL: Mobilization of basophile substance (ribonucleic acid) in the cytoplasm of liver cells with the production of tumors by butter yellow. *J Exp Med* **84**: 91-106, 1946
- 15) Clayton CC, Baumann CA: Diet and azo dye tumors: Effect of diet during a period when the dye is not fed. *Cancer Res* **9**: 575-582, 1949
- 16) Price JM, Harman JW, Miller EC, et al: Progressive microscopic alteration in the livers of rats fed the hepatic carcinogens 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene and 4'-fluoro-4-dimethylaminoazobenzene. *Cancer Res* **12**: 192-200, 1952
- 17) Shatton JB, Donnelly AJ, Weinhouse S: Metabolism of neoplastic tissues XVI. glucokinase activity and glycogen levels during hepatocarcinogenesis by azo dyes. *Cancer Res* **22**: 1372-1380, 1962
- 18) Inaoka Y: Significance of the so-called oval cell proliferation during azo-dye hepatocarcinogenesis. *Gann* **58**: 355-366, 1967
- 19) Kampschmidt RF, Wells D: Acid hydrolase activity during the induction and transplantation of hepatomas in the rat. *Cancer Res* **29**: 1028-1035, 1969
- 20) Jalanko H, Ruosalahti E: Differential expression of  $\alpha$ -fetoprotein and  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase in chemical and spontaneous hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* **39**: 3495-3501, 1979
- 21) Kojima S, Hama Y, Kubodera A: Glucose-6-phosphate dehydrogenase and gamma-glutamyltranspeptidase activities in the rat liver during chemically induced hepatocarcinogenesis in rats and mice. *Toxcol Appl Pharmacol* **60**: 26-32, 1981
- 22) Taniguchi N, Tsukada Y, Mukuo K, et al: Effect of hepatocarcinogenic azo dyes on glutathione and related enzymes in rat liver. *Gann* **65**: 381-387, 1947.
- 23) Iwasaki T, Dempo K, Kaneko A, et al: Fluctuation of various cell population and their characteristics during azo-dye carcinogenesis. *Gann* **63**: 21-30, 1972
- 24) Watabe H: Early appearance of embryonic  $\alpha$ -globulin in rat serum during carcinogenesis with 4-dimethylaminoazobenzene. *Cancer Res* **31**: 1192-1194, 1971
- 25) Ma MH, Wabber AJ: Fine structure of liver tumors induced in the rat by 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene. *Cancer Res* **26**: 935-946, 1966
- 26) Hammersley PAG, Cauchi MN, Taylor DM: Uptake of  $^{67}\text{Ga}$  in the regenerating rat liver and its relationship to lysosomal enzyme activity. *Cancer Res* **35**: 1154-1158, 1975
- 27) Takeda S, Okuyama S, Takusagawa K, et al:

Lysosomal accumulation of gallium-67 in Morris hepatoma-7316A and Shionogi mammary carcinoma-115. *Gann* **69**: 267-271, 1978

28) Hammersley PAG, Taylor DM: The role of lysosomal enzyme activity in the localization of <sup>67</sup>Gallium citrate. *Eur J Nucl Med* **4**: 261-270, 1979

## Summary

### Changes of <sup>67</sup>Ga-citrate Accumulation in the Rat Liver during feeding with Chemical Carcinogen 3'-Methyl-4-dimethylaminoazobenzene

Toru SASAKI\*, Shuji KOJIMA\* and Akiko KUBODERA\*\*

\*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

\*\*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Science University of Tokyo

The changes of <sup>67</sup>Ga-citrate (<sup>67</sup>Ga) in the rat liver during feeding with chemical carcinogen 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene (3'-Me-DAB) were studied for 20 weeks.

The results were shown as follows:

Elevated <sup>67</sup>Ga accumulation in the rat liver was first observed at 3rd week after the start of 3'-Me-DAB feeding. There was decrease from the 3-week level at about the 6th week, followed by a sustained increase. The accumulation of <sup>67</sup>Ga in the gram liver at 20th week was about 2.3 times higher than that of the control.

There was close correlation between the <sup>67</sup>Ga

accumulation pattern and the patterns of the hepatic  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities at late stages during hepatocarcinogenesis. In subcellular distribution of <sup>67</sup>Ga, remarkable changes were seen in  $800 \times g$  fraction. From these studies, it is suggested that <sup>67</sup>Ga may bind with components in  $800 \times g$  fraction, concerned with one pathological changes induced by 3'-Me-DAB.

**Key words:** Gallium-67, Hepatocarcinogenesis, 3'-Methyl-4-dimethylaminoazobenzene,  $800 \times g$  fraction