

《原 著》

放射性ヨード標識 Peanut Agglutinin (PNA) の腫瘍親和性の研究： (第一報) 標識操作による PNA の生物学的活性の変化の検討

横山 邦彦* 渡辺 直人* 川畠 鈴佳* 向 加津子*
 小泉 潔* 油野 民雄* 利波 紀久* 久田 欣一*
 鶴野 弘明** 越村 三郎***

要旨 Thomsen-Friedenreich (T) 抗原に強い結合性を有する放射性ヨード標識 PNA を用い癌のイメージング診断を行うにあたり、それに先立って今回標識法の基礎的検討を行った。標識法・標識条件を標識前後の PNA の生物学的活性の変化で評価するため、分光光度計による簡便かつ鋭敏な半定量的な活性測定法を開発し、それを用いた。クロラミン T 法では、標識後 PNA の生物学的活性は 50.7% に低下し、in vivo での体内分布の検討では、変性による凝集物生成に基づくと考えられる網内系での放射能の停滞がみとめられた。一方、ヨードゲン法では標識後も生物学的活性の 87.9% が保持された。担癌動物での体内分布の検討でも血中よりの放射能のクリアランスがより早く、筋肉等の臓器内の放射能の停滞が短いため、より良好な腫瘍対他臓器比が得られた。以上より PNA のヨード標識に関しては、クロラミン T 法よりヨードゲン法の方が適した方法であると考えられた。

I. はじめに

レクチンは、ある一定の糖鎖構造をあたかも抗原抗体反応のように特異的に認識するため、リンパ球活性化反応や膜表面リセプターの解析、糖およびタンパクの精製に利用されている。

レクチンの一種で、ピーナツから抽出された peanut (Arachis Hypogaea) agglutinin (PNA) は、 β -D-galactosyl (1→3) α -N-acetyl-D-galactosamine を末端に持つ糖鎖の galactose 部分にきわめて強い親和性を持つ。

一方この二糖類は Thomsen-Friedenreich (T) 抗原と呼ばれ、赤血球等の正常細胞では、シアル酸により完全に被覆され不活型として存在する。

しかし細胞の癌化に伴い、乳腺・肺・消化管の腺癌では、この T 抗原が露出した状態で細胞膜表面に発現されるとの Springer らの報告以来、T 抗原は TAA (tumor associated antigen) として注目されている。したがってこの終末の galactose を認識し結合する PNA は、腫瘍親和性物質である可能性が考えられる。PNA のこの特異性を利用し、RI 標識 PNA により腫瘍イメージングへの応用を計ろうとした場合、標識操作による PNA の生物学的活性の低下を可及的に少なくする標識法が必要である。しかし、標識前後の PNA の生物学的活性の変化を定量的に測定した報告はない。そこで今回、PNA の生物学的活性の簡便な測定法を開発して、クロラミン T 法とヨードゲン法による、放射性ヨード標識前後の PNA の活性変化の比較検討を行った。

II. 材料と方法

PNA (peanut agglutinin)

実験に用いた PNA は EY Laboratories (San Mateo, California) より購入したものであり、

* 金沢大学医学部核医学科

** 日本メディフィジックス株式会社

*** 金沢大学癌研究所化学療法部

受付：60年8月27日

最終稿受付：60年8月27日

別刷請求先：金沢市宝町13-1 (郵920)

金沢大学医学部核医学科

横山 邦彦

ピーナツ (Arachis Hypogaea) よりの抽出物をアフィニティクロマトグラフィで精製した凍結乾燥品である。

1) 放射性ヨード標識 PNA の作製

(1) クロラミン T 法

反応に用いた蛋白、試薬、RI は全て、0.01 M pH 7.45 のリン酸ナトリウム緩衝生理食塩水 (0.01 M PBS) で標識当日、溶解した。

i) PNA 2 mg/0.2 ml に、Na¹²⁵I (Amersham International plc, Buckinghamshire, England) 2 mCi/0.2 ml を加えた。

ii) 濃度を 0.5 mg/ml に調製したクロラミン T (Sodium para-Toluenesulfonchloramide Trihydrate, 和光純薬、大阪) 0.2 ml を加え、総量を 0.6 ml とし、室温で 5 分間静かに攪拌し反応させた。

iii) ii) の混合液にメタ重亜硫酸ナトリウム 0.4 mg/0.2 ml を加え反応させた後、透析チューブ (SPECTRAPOR #2, SPECTRUM MEDICAL INDUSTRIES INC., Terminal Annex, Los Angeles) に移し、4°C、一晩 0.01 M PBS で透析精製した。

(2) ヨードゲン法

Franker らの方法⁶⁾に基づき標識した。

i) Iodogen (1,3,4,6-Tetrachloro-3 α , 6 α -diphenylglycouril, Pierce Chemical Comp., Rockford, Illinois) を 1 mM になるように、塩化メチレンに溶解した。

ii) 標識前日、マイクロピペットでヨードゲン溶液をガラス製小試験管 (φ 15 mm) に 100 μ l ずつ分注し、37°C の温浴中で時々回転させながら溶液を蒸発させた。この操作によりヨードゲンの透明な薄膜が、ガラス壁に形成された。

iii) ヨードゲンの薄膜が形成された小試験管に PNA 3.8 mg/2 ml (0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) および Na¹²⁵I 5.8 mCi/10 μ l (0.1 M 水酸化ナトリウム溶液) を入れ、4°C、30 分静置した。

iv) 反応液をあらかじめ 0.3 M NaCl で平衡化したアフィニティ・カラム (ゲル量 0.5 ml) にかけ、未反応の ¹²⁵I および失活した PNA を取り除いた。

v) 反応液が流下した後、カラムを 0.3 M NaCl 3 ml で洗い、0.2 M ガラクトース溶液 2 ml で ¹²⁵I-PNA を溶出した。

vi) さらに溶出液よりガラクトースを除くために、0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液で平衡化した Sephadex G-25 カラム (ゲル量 9.1 ml, ⁸Column PD-10, Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden) に導き void 分画を回収した。

2) 標識率と比放射能の検討

(1) 標識率 (トリクロロ酢酸沈殿法) の検討

標識 PNA にトリクロロ酢酸を加えよく攪拌、遠心することにより、標識 PNA は沈殿し、未反応の ¹²⁵I は上清中に分離される。沈殿および上清の放射能を測定し、標識率を算定した。

(2) 比放射能の検討

精製した標識 PNA 溶液の 280 nm での吸光度を測定し、標準試料 (既知 PNA 濃度) で求めておいた吸光度濃度曲線より、溶液中の PNA 濃度を算出した。標識率と溶液中の蛋白量とから比放射能を検定した。

3) 標識前後の PNA の生物学的活性の測定

(1) 原理: PNA には正常赤血球に対する凝集力はなく、膜表面上を覆うシアル酸を Neuraminidase (Sialidase) 処理して初めて凝集活性を呈する。以上の原理を利用し、分光光度計を用い、Neuraminidase 処理赤血球に対する凝集力を測定することにより、PNA の生物学的活性の評価を行った。

(2) Neuraminidase 処理赤血球の作製: 活性測定当日調整を行った。健康成人 (O 型, Rh (+)) より採取した新鮮血をヘパリン加生食で 3 回洗浄し、4% (v/v) に調整し、0.01 unit/ml の Neuraminidase (Cl. perfringens 由来, SIGMA Chemical Comp., St Louis, Missouri) を添加し、37°C, 1 時間インキュベートした後、0.01 M PBS (pH 7.4) で 4 回洗浄し約 1% (v/v) の濃度に調整し実験に用いた。

(3) Neuraminidase 処理赤血球 2 ml に対し、クロラミン T 法またはヨードゲン法で標識した PNA および未標識 PNA の倍々稀釀系列 2 ml ないし陰性対照として PBS 2 ml を混合し 37°C で

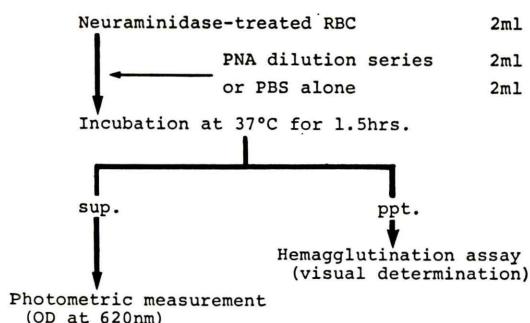


Fig. 1 Procedures for determination of hemagglutination activity to neuraminidase treated red blood cells by the visual hemagglutination assay and by the photometric measurement.

1.5 時間インキュベート後、まず血球凝集の有無を肉眼的に判定した。続いて分光光度計を用い、上清の吸光度を 620 nm にて測定し血球凝集活性を定量的に評価した (Fig. 1)。

4) 担癌マウスにおける ^{125}I -PNA の体内分布

クロラミン T 法およびヨードゲン法で標識した PNA の体内分布の比較を担癌動物を用いて行った。

(1) Lewis lung carcinoma (C57BL/6 マウスの自然発生肺癌) を腫瘍モデルとして用い、生細胞数として 2×10^6 個を雌 C57BL/6 マウスの右大腿外側皮下に移植し、12~14日後腫瘍が小指頭大に発育した時点で実験に供した。

(2) ^{125}I 標識 PNA、1) で示したクロラミン T 法およびヨードゲン法で標識し、最終的に得られた標品を $0.20 \mu\text{m}$ メンブレン・フィルタ (Acrodisc, Gelman, Ann Arbor Michigan) で除菌濾過し、尾静脈より $5 \mu\text{Ci}/0.2 \text{ ml}$ 投与した。なお投与量の個体間でのばらつきは、注射前後の注射器の重量を測定し求めた実投与重量で補正した。静注 24, 48 時間後ジエチルエーテル麻酔下で心臓穿刺し脱血、解剖し、腫瘍および各主要臓器を摘出し重量測定 (湿重量) および ^{125}I の放射能をウェル型シンチレーション・カウンタで測定した。なお、無機ヨードによる甲状腺ブロックは行っていない。

Table 1 Effect of radioiodination by chloramine-T on PNA biological activity

Biological activity before labeling

Cold PNA dilution	Protein content (ng/ml)	OD (620 nm)	Hemagglutination (visually)
1: 2	8,333	0.898	+
1: 2 ²	4,167	1.136	+
1: 2 ³	2,083	1.301	+
1: 2 ⁴	1,042	1.446	+
1: 2 ⁵	521	1.646	+
1: 2 ⁶	260	1.834	±
1: 2 ⁷	130	1.936	+

Biological activity after labeling

I-125-PNA dilution	Protein content (ng/ml)	OD (620 nm)	Hemagglutination (visually)
1: 2	11,076	0.855	+
1: 2 ²	5,538	1.41	+
1: 2 ³	2,769	1.440	+
1: 2 ⁴	1,385	1.634	+
1: 2 ⁵	692	1.820	+
1: 2 ⁶	346	1.930	+
1: 2 ⁷	173	1.914	—
1: 2 ⁸	87	1.901	—

III. 結 果

1) 標識率と比放射能

(1) クロラミン T 法による標識率は 15% であり、得られた比放射能は $0.15 \text{ mCi}/\text{mg}$ PNA となり、PNA 1 分子に対して平均 0.01 個の ^{125}I 原子が結合したことになる。透析後、全放射能の 57% がトリクロロ酢酸で沈殿した。

(2) ヨードゲン法による標識率は 70% であり、放射能、蛋白質の回収率は、それぞれ 53%, 80% であった。標識 PNA の比放射能は $1.0 \text{ mCi}/\text{mg}$ となった (^{125}I と PNA のモル比は、 $0.05:1$)。最終的に得られた標識蛋白の放射化学的純度は 97% 以上であった。

2) ^{125}I 標識前後の PNA の生物学的活性の変化 (両標識法での比較検討)

(1) クロラミン T 法では、肉眼的に判定すると標識前は PNA 濃度 $260\sim521 \text{ ng}/\text{ml}$ 付近まで凝集能を示し、標識後の PNA は、 $346 \text{ ng}/\text{ml}$

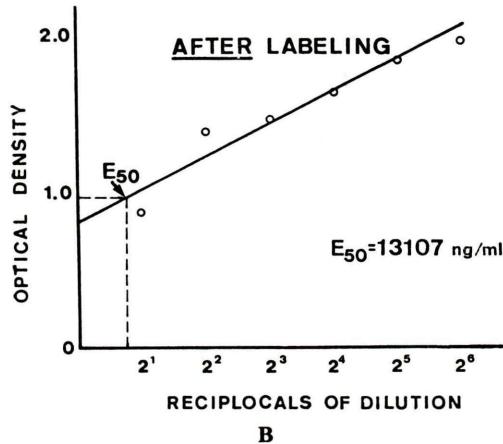
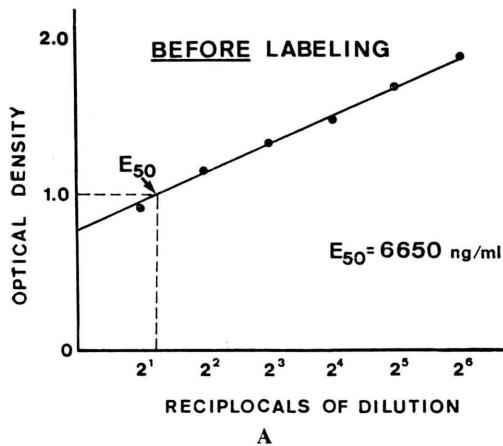


Fig. 2 Results of photometric measurement of PNA biological activity before labeling (A) and after labeling (B) by chloramine-T. E_{50} was described in detail in "Materials and Methods."

まで凝集能を示し (Table 1), わずかながら生物学的活性の低下が認められた。次に反応上清の 620 nm における吸光度による活性測定法を示す (Fig. 2)。標識前が上段、標識後が下段のグラフで縦軸の吸光度 (OD) に対して横軸に對数目盛りで PNA の稀釈の逆数をプロットしてある。PNA 溶液を稀釈するにつれて PNA の血球凝集力が低下し上清の混濁度が増加するため吸光度が比例的に上昇している。そこで、この両者を最小 2 乗法により直線近似し陰性対照の 1/2 吸光度を呈する PNA 濃度を E_{50} として算出すると、標識前の E_{50}

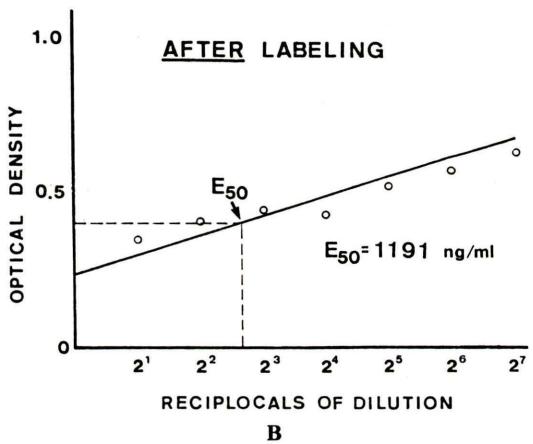
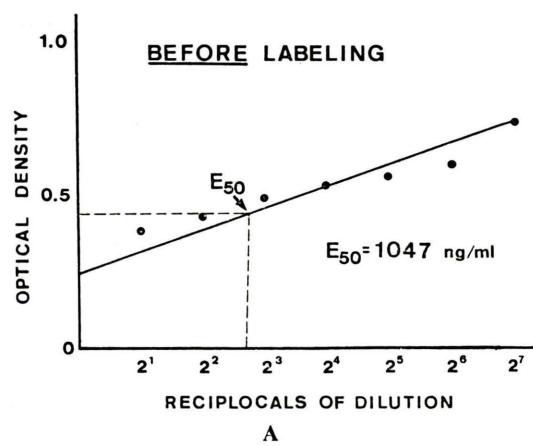


Fig. 3 Results of the change in PNA biological activity through radiolabeling procedure using Iodogen, before (A) and after (B) labeling.

は 6,650 ng/ml であり、標識後の E_{50} は 13,107 ng/ml の値を示した。この E_{50} は、凝集素を加えない場合の反応上清の吸光度を血球凝集によって 1/2 に低下させるために必要な PNA 濃度を意味する。したがってクロラミン T 法による放射性ヨード標識の操作により、標識前に比べ標識後の PNA の生物学的活性は 50.7% に低下したことになる。

(2) ヨードゲン法での生物学的活性の変化を同様に分光光度計を用いて測定した (Fig. 3)。上段が標識前、下段が標識後である。上述の方法で

Table 2 Biodistribution of ^{125}I -PNA prepared by chloramine-T and Iodogen method, 24 and 48 hours after administration. Expressed as percent injected dose per gram wet weight as the mean \pm 1 s.d. (n=7)

Tissue	Chloramine-T method		Iodogen method	
	24 hrs	48 hrs	24 hrs	48 hrs
Blood	0.35 \pm 0.07	0.10 \pm 0.01	0.57 \pm 0.60	0.10 \pm 0.04
Heart	0.42 \pm 0.16	0.20 \pm 0.04	0.41 \pm 0.22	0.14 \pm 0.04
Lung	2.84 \pm 2.61	0.90 \pm 0.46	1.99 \pm 1.02	1.92 \pm 1.60
Liver	1.88 \pm 0.71	1.22 \pm 0.15	0.83 \pm 0.34	0.45 \pm 0.10
Spleen	3.95 \pm 1.80	2.20 \pm 0.76	3.07 \pm 1.57	1.23 \pm 0.43
GI	0.52 \pm 0.11	0.18 \pm 0.05	2.97 \pm 3.66	0.70 \pm 0.71
Muscle	0.13 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.21 \pm 0.19	0.03 \pm 0.02
Bone	0.57 \pm 0.17	0.34 \pm 0.06	0.43 \pm 0.27	0.13 \pm 0.58
Tumor	0.51 \pm 0.12	0.21 \pm 0.03	0.43 \pm 0.41	0.13 \pm 0.08

それぞれの E_{50} を算出すると標識前は 1,047 ng/ml, 標識後は 1,191 ng/ml であり、標識操作による活性変化は 87.9% となり、クロラミン T 法の場合に比べ良好な結果を示した。

3) ^{125}I 標識 PNA の担癌マウス体内分布

クロラミン T 法およびヨードゲン法により ^{125}I 標識した PNA を投与された担癌動物の腫瘍、血液および各臓器 1 gあたりの放射能を測定し、全投与量に対する % として算出した (Table 2)。ヨードゲン法の場合腫瘍への集積が若干低下するものの、血中よりの放射能のクリアランスがより早く、また肝、脾、筋肉等の各臓器内の放射能の停滞が少ないため、クロラミン T 法の場合に比べより良好な腫瘍対他臓器比が得られた。

IV. 考 察

モノクローナル抗体やレクチン等の蛋白は、高い構造特異性を持つ。これらの蛋白の癌関連抗原ないしは癌特異抗原と称される糖および糖蛋白に対する特異性を利用し、RI 標識による腫瘍の検出をはかる場合 (radioimmunodetection)，基本的にはこれらの蛋白が持つ生物学的および免疫学的な活性を温存するような標識方法、標識条件を選択すべきである。

レクチンの一種に属する PNA は、癌関連糖鎖抗原である Thomsen-Friedenreich 抗原に特異的な結合性を有するため、RI 標識 PNA を用いた腫瘍イメージングの試みがなされてきた。しかし、

ヨードゲン法、ヨード標識法の違いによる RI 標識前後の PNA の生物学的活性を比較した報告は見られない。そこでヨード標識法の中で最も広く用いられているクロラミン T 法と文献的にも好成績が見られるヨードゲン法を取り上げ両者を比較検討した。

PNA の生物学的活性はヨード標識後、クロラミン T 法では 50.7%，ヨードゲン法では 87.9% に変化した。この変化は血球凝集の有無を肉眼的に判定する方法では倍々稀釀系列で一管違うかどうかの微妙な差である。他方、PNA の血球凝集能を吸光度計を用いて評価する本法はより僅かの生物学的活性の差を鋭敏かつ定量的にとらえることができた。さらに、凝集の有無を肉眼的に判定する方法では、一連の PNA の稀釀系列の中に凝集を呈する濃度から凝集のみられなくなる濃度までを含む必要があり、稀釀系列の作製本数はある程度多くならざるを得ない。一方、分光光度計を用いた方法では PNA の凝集活性が高いほど、血球は沈殿し、上清の混濁度が比例的に減少する点を利用し、 E_{50} 値を比較するため稀釀系列の作製は少なく、操作の簡便化をはかることができる。この測定法に基づき、クロラミン T 法とヨードゲン法とを比較した場合、今回の標識条件では PNA の生物学的活性がより高く保持された点で、ヨードゲン法がすぐれていた。

また in vivo での体内分布を比較すると肝、脾、骨髄等の網内系での停滞がクロラミン T 法で頭

著に認められた。この現象はクロラミンTの強い酸化力により種々の変性を受けて生成したPNAの凝集物(macroaggregate)に由来すると思われた。一方、ヨードゲンは水に不溶性で、標識反応は試験管壁に薄膜状に固相化されたヨードゲン膜表面で生ずるため蛋白質のアミノ酸残基(システイン、メチオニン等)の酸化・変性は、比較的少ないとされている。以上の考察は、クロラミンT法に比べてヨードゲン法では、よりPNAの生物学的活性の低下が少なく、また蛋白の凝集物生成による網内系での停滞が少ないというわれわれの検討結果と一致する。

さらに操作手技上、インキュベーション時間のコントロールがクロラミンT法より容易であり、反応停止のための還元剤添加が不要であることもヨードゲン法の利点といふことができる。

蛋白をRIで標識する場合、1) 標識後の蛋白の生物、免疫学的活性が保持されるばかりでなく、2) 選択し得る比放射能の幅が広く、3) 分子量および三次元構造を変えず、4) 操作、精製が簡便で安定な再現性を持ち、5) さらに人体投与を考慮すると毒性、異熱物質、無菌性の条件を満たす標識操作が理想といえる。蛋白質のヨード標識にはクロラミンT法、ラクトペルオキシダーゼ法、ICl法、ヨードゲン法、電気分解法等の直接標識およびBolton-Hunter試薬、Wood試薬等の2官能性カップリング剤を用いる方法が報告されている。これらの標識法に関する文献はきわめて多いがそれぞれに一長一短があり、各標識法の体系的な比較は少ないため、ある特定の蛋白に關し、どの標識法が最適かは一概にいえない。しかし、今回得られた検討結果よりPNAの放射性ヨード標識に關してはヨードゲン法を用いる方が適していると考えられた。

現在、ヨードゲン法により標識したPNAを用い、各種担癌動物でのイメージングおよび体内分布の検討、さらに良性炎症性疾患への集積性や⁶⁷Ga-citrateとの腫瘍親和性の比較を検討中である。

V. まとめ

- 1) PNA(peanut agglutinin)を用い腫瘍イメージングを行うにあたり、PNAの放射性ヨード標識の基礎的検討を行った。
- 2) 標識法の評価のためPNAの生物学的活性の簡便かつ鋭敏な半定量的測定法を開発した。
- 3) クロラミンT法によるヨード標識では、PNA1分子に対し平均0.01個のヨード原子が結合し生物学的活性は50.7%に低下した。
- 4) ヨードゲン法ではPNA1分子に対して平均0.05個のヨード原子が結合し生物学的活性は87.9%に保持された。
- 5) 両法による放射性ヨード標識PNAを担癌動物に投与し体内分布を検討した結果、ヨードゲン法の方がより良好な腫瘍対他臓器比が得られた。
- 6) PNAの放射性ヨード標識には、クロラミンT法よりヨードゲン法が適していると考えられた。

最後に、本研究の一部は、昭和58年度文部省一般研究(B)(課題番号57480259)、昭和59年度文部省一般研究(C)(課題番号59570436)および昭和60年度厚生省がん研究助成金(課題番号60-39:久田班)の補助によったことを付記し、謝意を表します。

文 献

- 1) Nowell PC: Phytohemagglutinin: An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res* **20**: 462-466, 1960
- 2) Thomas DB, Winzler RJ: Structural studies on human erythrocyte glycoproteins: Alkali-labile oligosaccharides. *J Biol Chem* **244**: 5943-5946, 1969
- 3) Lotan R, Skutelsky E, Danan D, et al: The purification, composition, and specificity of the anti-T lectin from peanut (*Arachis hypogaea*). *J Biol Chem* **250**: 8518-8523, 1975
- 4) Novogrodsky A, Latan R, Ravid A, et al: Peanut agglutinin, a new mitogen that binds to galactosyl sites exposed after neuraminidase treatment. *J Immunol* **115**: 1243-1248, 1975
- 5) Springer GF, Desai PR: Relation of human blood-groups MN to cancer cell surface antigens and to receptors for oncogenic viruses. *Ann Clin Lab Sci* **4**: 294-298, 1974

- 6) Franker PJ, Speck Jr JC: Protein and cell membrane iodinations with a sparingly soluble chloroamide, 1,3,4,6-tetrachloro-3 α , 6 α -diphenylglycoluril. *Biochem Biophys Res Commun* **80**: 849-857, 1978
- 7) Linener IE: The photometric determination and hemagglutinating activity of soyin and crude soybean extracts. *Arch Biochem Biophys* **54**: 223-231, 1955
- 8) Sugiura K, Stock CC: Studies in a tumor spectrum III. The Effect of Phosphoramides on the growth of a variety of mouse and rat tumors. *Cancer Res* **15**: 38-51, 1955
- 9) Zabel PL, Noujaim AA, Shysh A, et al: Radio-iodinated peanut lectin: A potential radiopharmaceutical for immunodetection of carcinoma expressing the T antigen. *Eur J Nucl Med* **8**: 250-254, 1983
- 10) Shysh A, Eu SM, Noujaim AA, et al: In vivo localization of radioiodinated peanut lectin in a murine TA3/Ha mammary carcinoma model. *Eur J Nucl Med* **10**: 68-74, 1985
- 11) Tolan DR, Lambert JM, Boileau G, et al: Radio-iodination of microgram quantities of ribosomal proteins from polyacrylamide gels. *Anal Biochem* **103**: 101-109, 1980
- 12) Millar WT, Smith FB: Protein iodination using Iodogen®. *Int J Appl Radiat Isot* **34**: 639-641, 1983
- 13) Glover JS, Salter DN, Shepherd BP: A study of some factors that influence the iodination of ox insulin. *Biochem J* **103**: 120-128, 1967
- 14) Sherman LA, Harwig S, Hayne OA: Macromolecular complexes formed as the result of chloramine-T radioiodination of proteins. *Int J Appl Radiat Isot* **25**: 81-85, 1974
- 15) Argentini M: Labelling with Iodine, A Review of the Literature, Federal Institute for Reactor Research Div. IP, Wuerenlinger, Switzerland, 1982, p. 261
- 16) Argentini M: Labelling with Iodine, A Review of the Literature, Federal Institute for Reactor Research Div. IP, Wuerenlinger, Switzerland, 1982, p. 281
- 17) Saha GB: Radioimmunoimaging and Radioimmunotherapy. Burchiel SW and Rhodes BA, Elsevier, New York, 1983, p. 176
- 18) Hunter WM, Greenwood FC: Preparation of iodine-131-labelled human growth hormone of high specific activity. *Nature* **194**: 495-496, 1962
- 19) Marchalonis JJ: An enzymatic method for the trace iodination of immunoglobulins and other proteins. *Biochem J* **113**: 299-305, 1969
- 20) McFarlane AS: Efficient trace-labelling of proteins with iodine. *Nature* **182**: 53, 1958
- 21) Pennisi F, Rosa U: Preparation of radioiodinated insulin by constant current electrolysis. *J Nucl Biol Med* **13**: 64-70, 1969
- 22) Bolton AE, Hunter WM: The labeling of proteins to high specific radioactivities by conjugation to a ^{125}I -containing acylating agent. *Biochem J* **133**: 529-539, 1973
- 23) Wood FT, Wu MM, Gerhart JC: The radioactive labeling of proteins with an iodinated amidination reagent. *Anal Biochem* **69**: 339-349, 1975

Summary

Radioiodinated Peanut Agglutinin (PNA): A Potential New Tumor Seeking Agent

Kunihiko YOKOYAMA*, Naoto WATANABE*, Suzuka KAWABATA*, Katsuko MUKAI*,
Kiyoshi KOIZUMI*, Tamio ABURANO*, Norihisa TONAMI*, Kinichi HISADA*,
Komei WASHINO** and Saburo KOSHIMURA***

*Department of Nuclear Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa

**Research and Development Section, Technical Department, Nihon Medi-physics Co., Ltd., Chiba

***Department of Experimental Therapeutics, Cancer Research Institutes,
Kanazawa University, Kanazawa

The Thomsen-Friedenreich (T) antigen, β -D-Gal-(1 \rightarrow 3)- α -D-GalNAC, is expressed as a reactive form on many human adenocarcinomas, but not on normal or benign tissues. PNA (peanut agglutinin), one of plant lectins, is expected to be a potential tumor seeking agent because of its strong binding affinity for the T antigen.

The purpose of this study was to evaluate the difference between chloramine-T method and Iodogen method, and to determine which labeling method was more desirable for radioiodination of PNA. With this point of view we have established the quantitative method to determine the biological activity of PNA. The advantage of this quantitative measurement with a spectrophotometer was simple and sensitive. And we estimated the effect of labeling on the biological activity of PNA by this photometric measurement.

In chloramine-T method the biological activity

of PNA was decreased to 50.7% and the bio-distribution study showed the prolonged retention of the radioactivity in reticuloendothelial system, which was probably due to the formation of macro-aggregates.

On the other hand, 87.9% of the prelabeled biological activity of PNA was preserved in Iodogen method. Furthermore its blood clearance was more rapid, and the radioactivity in major organs such as liver, spleen, muscle etc. was more rapidly cleared. Rapid organ clearance, combined with a tumor retention allowed to attain a favorable tumor to background ratio.

From these investigations we concluded Iodogen method was more suitable for radioiodination of PNA.

Key words: Thomsen-Friedenreich (T) antigen, PNA, PNA biological activity, Tumor imaging, Iodogen.