

## 《原 著》

## ガリウム標識抗体を用いる腫瘍の radioimmunodetection: ガリウム標識の抗体活性に及ぼす影響について

古川 高子\* 遠藤 啓吾\*\*\* 大桃 善朗\*\*\*\* 阪原 晴海\*\*\*  
 小泉 満\*\*\* 中島 鉄夫\*\*\* 福永 仁夫\* 森田 陸司\*  
 平井 秀松\*\*\*\* 横山 陽\*\* 鳥塚 莊爾\*\*\*

**要旨** 抗ヒト  $\alpha$ -fetoprotein ポリクローナル抗体、抗ヒト thyroglobulin モノクローナル抗体、抗ヒト chorionic gonadotropin モノクローナル抗体などの腫瘍関連抗原に対する抗体の  $^{67}\text{Ga}$  標識法について基礎的な検討を行った。 deferoxamine (DF) を bifunctional chelating agent として用いて得られた  $^{67}\text{Ga}$  標識抗体は、 Scatchard plot 解析から、 抗原に対する結合親和定数、 結合能とともに変化せず、 抗体活性が保持されていることが示された。また、  $^{67}\text{Ga}$  標識抗体が投与されたマウスの血漿に第2抗体を添加した実験より、  $^{67}\text{Ga}$  標識抗体は in vivo でも安定であることが確認された。標識は DF 結合抗体に  $^{67}\text{Ga}$  を混和するだけで可能であり、 簡単で、 しかもきわめて短時間に終了する利点がみられた。抗体活性の完全な保持と安定性とを同時に満足できる本標識方法は、 肿瘍の radioimmunodetection に有用であると期待される。

### I. はじめに

放射性同位元素で標識した抗体を使用して行う radioimmunodetection は、 肿瘍の検出・診断に有用であるばかりでなく、 抗体の高い特異性を利用した腫瘍の治療にも応用され得るものと期待されている。抗体の標識に用いられる放射性同位元素として、 現在まで、  $^{131}\text{I}^{1\sim 6}$ ,  $^{123}\text{I}^{7\sim 9}$  などの放射性ヨードのほか、 放射性金属核種である  $^{111}\text{In}^{10\sim 19}$ ,  $^{99m}\text{Tc}^{20\sim 22}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Cu}^{23}$ ,  $^{90}\text{Y}^{24}$  などが数多く報告されている。このうち  $^{67}\text{Ga}$  はそれ自体が  $\gamma$  線放出核種であり、 in vivo での使用に適している。さらに、 同位体である  $^{68}\text{Ga}$  はジェネレーターシ

ステムの確立された数少ないポジトロン核種であり、 臨床使用が大いに期待されるので、 放射性 Ga による抗体標識法の確立は意義が大きいものと考えられる。

radioimmunodetection には標識抗体の腫瘍への高い集積性と周辺組織からの速やかな clearance が要求される。そのために、 まず抗体活性の完全な保持と安定性とを同時に満足できる抗体標識法の開発が必須とされる。横山、 大桃らにより報告された deferoxamine (DF) を bifunctional chelating agent として用いるタンパク質の  $^{67}\text{Ga}$  標識法は、 アルブミン<sup>25)</sup>、 フィブリノーゲン<sup>26)</sup>、 ウロキナーゼ<sup>27)</sup>など生理活性タンパク質の標識に優れた成績を挙げている。そこで、 前記の標識法を用い、  $^{67}\text{Ga}$  標識抗体による腫瘍の radioimmunodetection を行うために、 抗体の  $^{67}\text{Ga}$  標識方法に関する基礎的検討を行った。腫瘍関連抗原である  $\alpha$ -fetoprotein (AFP), thyroglobulin (Tg), human chorionic gonadotropin (hCG) に対するポリクローナル抗体、 またはモノクローナル抗体を用い、  $^{67}\text{Ga}$  標識による抗体活性への影響や、  $^{67}\text{Ga}$  標識

\* 川崎医科大学核医学科

\*\* 京都大学薬学部

\*\*\* 同 医学部

\*\*\*\* 大阪薬科大学

\*\*\*\*\* 北海道大学医学部

受付：60年11月5日

最終稿受付：60年12月22日

別刷請求先：倉敷市松島577（番号701-01）

川崎医科大学核医学科

古川 高子

抗体の安定性について検討したので報告する。

## II. 方 法

### 1. 腫瘍関連抗原に対する抗体の作製

ヒト AFP に対するポリクローナル抗体は、ヒト AFP をウマに免疫して得られた抗血清を affinity chromatography で精製して得た<sup>6)</sup>。

Tg および hCG に対するモノクローナル抗体は、それぞれマウスに免疫後、マウス脾臓細胞とマウス骨髓腫細胞を用いる hybridoma の手法により作製した。IgG 分画 (IgG<sub>1</sub>) は、hybridoma をマウス腹腔内に投与後、得られた腹水より Protein A-Sepharose CL-4B を用いて精製し実験に供した。

### 2. DF-抗体conjugate の作製

抗体の <sup>67</sup>Ga 標識は、DF を bifunctional chelating agent として用いて行い、まず DF-抗体 conjugates を作製した後、次いで <sup>67</sup>GaCl<sub>3</sub> 溶液を添加する 2段階法<sup>25~27)</sup>により行った。

DF と抗体の coupling はグルタルアルデヒドを用いる Fig.1 の方法にて行った。つまり PBS (0.01 M phosphate - 0.14 M NaCl buffer, pH 7.4) に溶解した 0.06 M DF (日本チバガイギー株式会社) 1 ml に 10% グルタルアルデヒド 10 μl を加え、

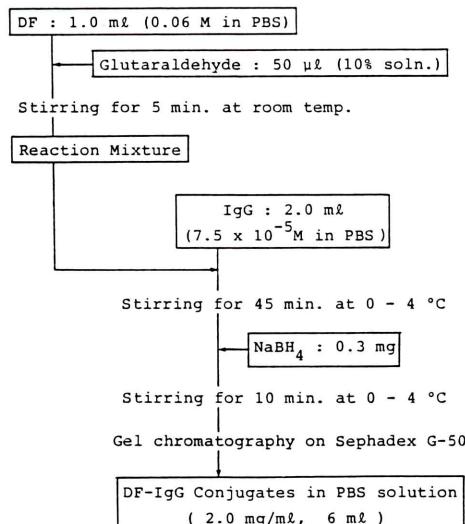


Fig. 1 Coupling method of deferoxamine (DF) to antibodies.

5分間攪拌する。この反応液を各抗体溶液 (2~10 mg/ml (PBS)) 1 ml に DF と抗体のモル比が 6.25~300 になるように添加し、0~4°C で 45 分間攪拌する (N=2~5)。次いで還元剤 NaBH<sub>4</sub> 0.3 mg を加えて、さらに 0~4°C で 15 分間攪拌した後、抗体に結合していない DF は Sephadex G-50 を用いたカラムクロマトグラフィー (1.5×30 cm, 溶出液: PBS, 流速: 25 ml/hr) により分離し、DF-antibody conjugate の分画のみを分取した。この分画は 2.0 mg/ml に調整して保存した。

抗体の濃度は 280 nm の紫外線吸収により、また、抗体に結合した DF の濃度は Emery, Hoffer の方法<sup>28)</sup>により測定し、抗体 1 分子当たりに結合している DF 分子数を求めた。

### 3. 抗体活性の測定

DF の結合が抗体活性に与える影響については、RIA, あるいは赤血球凝集反応を用いて検討した。抗 AFP 抗体、抗 hCG 抗体の抗体活性は、すでに報告した測定法に従い、調製した DF-抗体 conjugates を用いて RIA を行った後、Scatchard plot により解析した。

抗 Tg 抗体については、赤血球凝集反応を用いるサイロイドテスト（富士臓器製薬株式会社）により抗体活性を測定した。

### 4. <sup>67</sup>Ga-DF-抗体 conjugates の作製

抗体の <sup>67</sup>Ga 標識は、DF-抗体 conjugate 2 mg/ml に <sup>67</sup>GaCl<sub>3</sub> (1~5 mCi/ml, 日本メジフィジックス) を加え 15 分間室温で incubate することにより行った (Fig. 2)。<sup>67</sup>Ga-DF-抗体 conjugate は millipore filter を通した後に使用した。標識率の算出は Sephadex G-50 カラムクロマトグラフィー (1.5×30 cm, 溶出液: PBS, 流速: 50 ml/hr) の放射能の測定により行った。

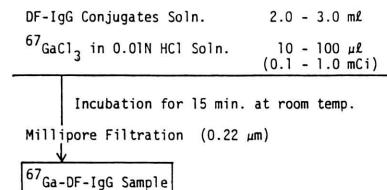


Fig. 2 Labeling of DF-antibody conjugates with <sup>67</sup>Ga.

## 5. 正常マウスでの $^{67}\text{Ga}$ 標識抗体の体内分布

$^{67}\text{Ga}$  標識抗 Tg 抗体 ( $127 \mu\text{Ci}/90 \mu\text{g}$  IgG) を DDY 系正常マウスの尾静脈より投与後、1, 2, 4 日目に全身シンチグラムを得た。また 4 日目に屠殺し、心臓穿刺にて採血後、肝、腎、腸管、胃、脾臓、肺、筋肉を摘出し、その重量および放射能を測定して各組織 1 g 当たりの放射活性を求めた。

血漿中における  $^{67}\text{Ga}$  標識抗 Tg 抗体の安定性については、4 日目に血漿を採取し、第 2 抗体(抗マウス IgG 抗体)を加えて沈澱させた後、総カウントに対する沈澱部のカウントの割合を計算することにより判定した。

## III. 結 果

### 1. グルタルアルデヒドを用いた DF と抗体との coupling

グルタルアルデヒドを用いた DF と抗体との coupling は、1) 抗体の濃度、2) 反応させる DF/抗体比を変化させると、抗体 1 分子当たりに結合する DF の数が変動した (Table 1)。例えば、IgG 濃度が  $6 \text{ mg/ml}$  であるとき、反応させる DF/IgG 比を 12.5, 25, 50 とすると、それぞれ平均 1.0, 1.8, 2.6 分子の DF が IgG 1 分子当たりに導入された。一方、用いる IgG 濃度を増加させると、同じ DF/IgG 比の反応でも IgG 1 分子に結合する DF 数が増加した。つまり DF/IgG 反応比を 50 に一定化したとき、IgG 濃度を  $2, 4, 6 \text{ mg/ml}$  と増加させると、作製される conjugate の IgG 1 分子当

Table 1 Effect of antibody concentration and added DF to antibody molar ratio on DF conjugation

1)	Added DF to IgG molar ratio	12.5	25	50
	Attached DF per IgG molar ratio	1.0	1.8	2.6
The concentration of IgG was $6 \text{ mg/ml}$				
2)	Concentration of IgG ( $\text{mg/ml}$ )	2	4	6
	Attached DF per IgG molar ratio	1.0	2.0	2.6
Added DF to IgG molar ratio was 50				

たりの DF は 1.0, 2.0, 2.6 であり、抗体濃度と反応させる DF/IgG 比により、抗体 1 分子当たりに結合される DF 分子数をコントロールすることができた。

### 2. DF/抗体比の変動と DF-抗体 conjugate の抗体活性に及ぼす影響

DF/抗体比が 1.0, 2.1, 6.7 の値の DF-抗 AFP 抗体 conjugate、または DF を結合していない未処理の抗体と  $^{125}\text{I}$  標識 AFP との結合状態を Fig. 3 に示す。Scatchard plot での解析では、DF/IgG 比が 1.0 および 2.1 では未処理の抗体と抗原への結合親和定数、結合能ともに差が認められなかった。一方、DF/IgG 比が 6.7 と抗体結合する DF が多い場合には、結合親和定数にはほとんど差がみられないが、抗原への結合能が約半分にまで低下していることが示された。

抗 Tg モノクローナル抗体 1 分子当たりに DF 1 分子を結合させた場合、サイロイドテストでは 102,400 倍希釈 ( $0.49 \text{ ng/cup}$ ) まで陽性であり、未処理抗体の場合のそれと差がなく (Table 2), DF

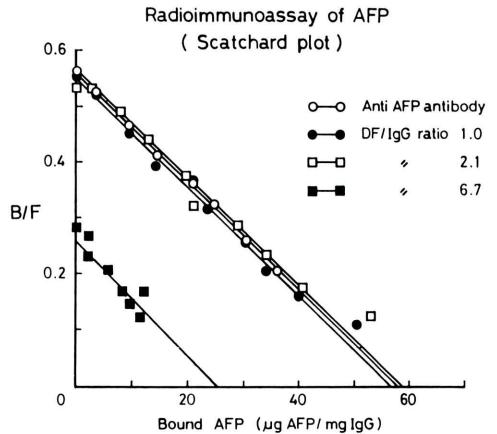


Fig. 3 Scatchard plots of original and DF coupled antibodies (Ab) against AFP.

- : original Ab
- : Ab containing 1.0 DF molecule per Ab molecule
- : Ab containing 2.1 DF molecules per Ab molecule
- : Ab containing 6.7 DF molecules per Ab molecule

**Table 2** Effect of DF coupling on the anti-Tg monoclonal antibody (MoAb): Thyroid test

Original anti-Tg MoAb	0.49 ng/cup (1: 102,400)
DF-anti-Tg MoAb*	0.49 ng/cup (1: 102,400)

\* DF/IgG molar ratio=1.2

**Table 3** Effect of DF coupling on the anti-hCG MoAb

	Affinity constant ( $M^{-1}$ )	Maximum binding capacity ( $\mu g$ hCG/mg IgG)
Original anti-hCG MoAb	$5.5 \times 10^9$	160
DF-anti-hCG MoAb*	$5.5 \times 10^9$	167

\* DF/IgG molar ratio=0.9

**Table 4** Biodistribution in mice at 4 days postinjection with  $^{67}\text{Ga}$ -DF-anti Tg monoclonal antibody

Organ	% dose/organ	% dose/gram organ
Blood	—	$8.91 \pm 2.62$
Liver	$20.69 \pm 0.85$	$10.56 \pm 0.22$
Kidney	$6.05 \pm 0.21$	$10.36 \pm 0.27$
Intestine	$5.52 \pm 0.29$	$1.64 \pm 0.01$
Stomach	$0.85 \pm 0.11$	$1.05 \pm 0.04$
Spleen	$1.14 \pm 0.07$	$7.79 \pm 1.10$
Lung	$0.58 \pm 0.01$	$4.03 \pm 0.35$
Muscle	—	$1.50 \pm 0.10$

mean  $\pm$  s.d. n=3

結合による抗体活性の低下は認められなかった。hCG に対するモノクローナル抗体でも同様に、抗体 1 分子当たり DF 1 分子の結合の場合、抗原との結合親和定数、結合能とも変化はみられなかった (Table 3)。

### 3. DF-抗体 conjugate の $^{67}\text{Ga}$ 標識率

DF-抗体 conjugate の  $^{67}\text{Ga}$  標識溶液は、Fig. 4 の Sephadex G-50 クロマトグラムに示すように、void volume 付近にのみ放射能のピークがみられ、 $^{67}\text{Ga}$  標識率はほぼ 100% と考えられる。したがって、以後の実験には精製することなく  $^{67}\text{Ga}$  標識抗体を使用した。

### 4. $^{67}\text{Ga}$ 標識モノクローナル抗体の正常マウス体内分布

$^{67}\text{Ga}$  標識モノクローナル抗体を正常マウスに投与した場合の 4 日目の体内分布、および 1, 2, 4

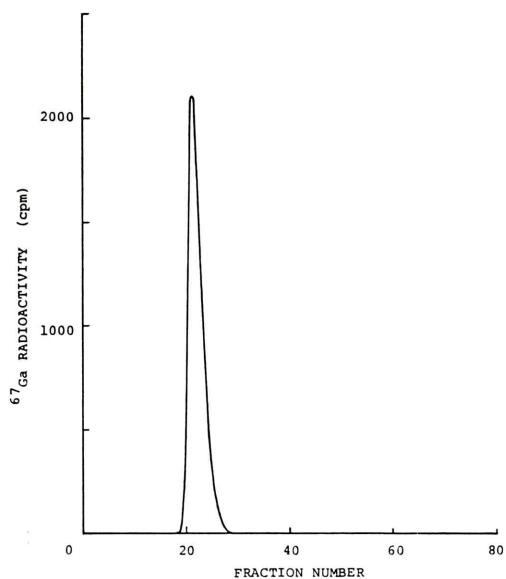


Fig. 4 Sephadex G-50 gel chromatogram of  $^{67}\text{Ga}$  labeled antibody.

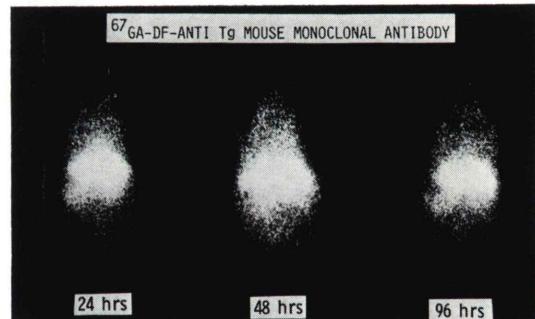


Fig. 5 Scintigrams of normal mice at 1, 2 and 4 days after injection of  $^{67}\text{Ga}$  labeled anti-Tg monoclonal antibody.

日目のシンチグラムを Table 4, Fig. 5 に示す。 $^{67}\text{Ga}$  標識抗体は、肝臓、腎臓への分布が多く、シンチグラムでも体幹部に強い集積が認められた。

### 5. 血漿中における $^{67}\text{Ga}$ 標識抗体の安定性

マウス血漿中の  $^{67}\text{Ga}$  の放射能の 92~95% は抗マウス IgG 抗体の添加により沈澱し、遊離の  $^{67}\text{Ga}$  はごく僅かで、マウス体内でも標識抗体が安定に存在していることが示された。

#### IV. 考 察

radioimmunodetection はモノクローナル抗体作製の確立に伴い、新しい核医学的手段として期待されている。現在のところ、標識の容易なことから、主として  $^{131}\text{I}$  標識抗体が用いられている<sup>1~6)</sup>。しかし  $^{131}\text{I}$  は半減期が 8 日と長いこと、しかも  $\beta$  線を放出するため放射線被曝が多いこと、エネルギーも撮像に適していないなど診断に用いるには問題点が多い。標識抗体を用いる radioimmunodetection は、投与 2~3 日後には撮像可能であるので<sup>2,4,16)</sup>、半減期が 3 日程度の  $^{111}\text{In}$ ,  $^{67}\text{Ga}$  が注目されている。さらに  $^{111}\text{In}$ ,  $^{67}\text{Ga}$  は放出する  $\gamma$  線のエネルギーもシンチグラフィーにほぼ適していること、 $\beta$  線を放出せず患者の放射線被曝が少ないとなどの特徴を有する<sup>10~19)</sup>。さらに、これらは DTPA や DF などの bifunctional chelating agent を用いることにより、抗体の標識がきわめて容易にできることも利点である。

今回の検討でも、DF-抗体 conjugate に  $^{67}\text{GaCl}_3$  溶液を混和するだけではほぼ 100% の標識率が得られることが示された。したがって、 $^{131}\text{I}$  の場合のように  $^{131}\text{I}$  標識抗体と遊離の  $^{131}\text{I}$  との分離操作が不要であった。

放射性金属核種のうち、抗体の標識には、 $^{111}\text{In}$  が最もよく研究され臨床応用も進んでいる<sup>13,16,18,19)</sup>。ところが、DTPA を bifunctional chelating agent として用いる  $^{111}\text{In}$  標識法は、抗体活性が損われやすい。また、抗体 1 分子に結合させる DTPA の分子数を増やすと、抗体活性と同時に体内分布にも変化が生じることも報告されている<sup>15)</sup>。

放射性同位元素で標識した抗体を用いて特異的なイメージを得るために、抗体活性の保持は必須であり、抗体の変性を回避するために穏和な反応条件が要求される。DF を bifunctional chelating agent に用いる  $^{67}\text{Ga}$  標識法は、DF-抗体 conjugate の作製から標識まで中性 pH の条件下で行われ、かつ短時間内に終了することができるので、抗体活性の保持に適している。DF の結合による

抗体活性への影響は、抗 AFP 抗体、抗 Tg 抗体、抗 hCG 抗体のすべてについて、抗体 1 分子当たりに結合する DF が 1 分子の場合では観察されず、すでに報告した DTPA を用いる  $^{111}\text{In}$  標識法に比べて抗体活性の保持が容易であると推測される。

$^{67}\text{Ga}$  標識抗体のマウスでの体内分布の実験、および、血漿中の  $^{67}\text{Ga}$  の放射能のうち 92~95% が抗体に結合して存在することより、 $^{67}\text{Ga}$  標識抗体の in vivo での高い安定性が確認された。したがって、本法は抗体活性の保持と安定性とがともに満足できる抗体の Ga 標識法と考えられる。

一方、マウス体内分布の検討での  $^{67}\text{Ga}$  標識抗体の正常肝臓への強い集積は、体幹部の腫瘍の検出・診断に問題となろう。肝臓への放射能の非特異的集積は  $^{111}\text{In}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  標識抗体でもみられており<sup>11,16,22)</sup>、金属核種に共通した性質とも考えられる。他方、グルタルアルデヒドを用いたことによるタンパク質同志の、あるいはタンパク質内の架橋形成などが肝臓への非特異的集積の原因となった可能性もあり、今後肝臓への非特異的集積を減少させる検討が必要であろう。

このように DF を bifunctional chelating agent として用いる抗体の  $^{67}\text{Ga}$  標識法は、簡単な操作で短時間に、かつ、効率よく実施できる方法であることが認められた。本方法はただちに短半減期ポジトロン核種である  $^{68}\text{Ga}$  に応用することが可能であり、今後広く応用されることが期待される。

#### V. まとめ

腫瘍関連抗原である AFP, Tg, hCG に対する抗体を、 $^{67}\text{Ga}$  で標識し、radioimmunodetection における基礎的検討を行った。

DF を bifunctional chelating agent に用いる方法は、穏和な条件下で迅速な標識が可能であった。抗体 1 分子当たりの DF 結合分子数を 1 度程にコントロールすれば、抗原への結合親和定数、結合能を減じることなく、抗体活性を完全に保持することが可能であった。さらに  $^{67}\text{Ga}$  標識抗体は in vivo でも安定であることが示された。

抗体活性の完全な保持と安定性とを同時に満足

できる本法は、<sup>67</sup>Ga 標識抗体を用いる radioimmunodetection に有用であり、今後ポジトロン核種である<sup>68</sup>Gaへの応用が期待される。

### 文 献

- 1) Goldenberg DM, DeLand FH, Kim EE, et al: Use of radiolabeled antibodies to carcinoembryonic antigen for the detection and localization of diverse cancer by external photoscanning. *N Engl J Med* **289**: 1384-1386, 1978
- 2) Larson SM, Brown JP, Wright PW, et al: Imaging of melanoma with I-131-labeled monoclonal antibodies. *J Nucl Med* **24**: 123-129, 1983
- 3) Wahl RL, Parker CW, Philpott GW: Improved radioimaging and tumor localization with monoclonal F(ab')<sub>2</sub>. *J Nucl Med* **24**: 316-325, 1983
- 4) Mach JP, Chatal JF, Lumbroso JD, et al: Tumor localization in patients by radiolabeled monoclonal antibodies against colon carcinoma. *Cancer Res* **43**: 5593-5600, 1983
- 5) Keenan AM, Colcher D, Larson SM, et al: Radioimmunoangiography of human colon cancer xenografts in mice with radioiodinated monoclonal antibody B72.3. *J Nucl Med* **25**: 1197-1203, 1984
- 6) 阪原晴海, 遠藤啓吾, 中島鉄夫, 他: 標識抗ヒト $\alpha$ -fetoprotein抗体を用いる腫瘍イメージングの基礎的検討: 第1編 ヨード標識による抗体活性の変化. 核医学 **21**: 805-813, 1984
- 7) Epenetos AA, Britton KE, Mather J, et al: Targeting of iodine-123-labelled tumour-associated monoclonal antibodies to ovarian, breast, and gastrointestinal tumours. *Lancet* **2**: 999-1004, 1982
- 8) Shepherd PS, Lazarus CR, Mistry RD, et al: Detection of thyroid tumour using a monoclonal <sup>123</sup>I anti-human thyroglobulin antibody. *Eur J Nucl Med* **10**: 291-295, 1985
- 9) Jackson PC, Pitcher EM, Davies JD, et al: Radio-nuclide imaging of ovarian tumours with a radio-labeled (<sup>123</sup>I) monoclonal antibody (NDOG<sub>2</sub>). *Eur J Nucl Med* **1**: 22-28, 1985
- 10) Hnatwich DJ, Layne WW, Childs RL: Radioactive labeling of antibody: A simple and efficient method. *Science* **220**: 613-615, 1983
- 11) Halpern SE, Hagan PL, Garver PR, et al: Stability, characterization, and kinetics of <sup>111</sup>In-labeled monoclonal antitumor antibodies in normal animals and nude mouse-human tumor models. *Cancer Res* **43**: 5347-5355, 1983
- 12) Khaw BA, Strauss HW, Cahill SL, et al: Sequential imaging of indium-111-labeled monoclonal antibody in human mammary tumors hosted in nude mice. *J Nucl Med* **25**: 592-603, 1984
- 13) Bunn PA, Carrasquillo JA, Keenan AM, et al: Imaging of T-cell lymphoma by radiolabelled monoclonal antibody. *Lancet* **2**: 1219-1221, 1984
- 14) Fawwaz RA, Wang TS, Estabrook A, et al: Immunoreactivity and biodistribution of indium-111-labeled monoclonal antibody to a human high molecular weight melanoma associated antigen. *J Nucl Med* **26**: 488-492, 1985
- 15) Sakahara H, Endo K, Nakashima T, et al: Effect of DTPA conjugation on the antigen binding activity and biodistribution of monoclonal antibodies against  $\alpha$ -fetoprotein. *J Nucl Med* **26**: 750-755, 1985
- 16) Murray JL, Rosenblum MG, Sobol RE, et al: Radioimmunoimaging in malignant melanoma with <sup>111</sup>In-labeled monoclonal antibody 96.5. *Cancer Res* **45**: 2376-2381, 1985
- 17) Rosenblum MG, Murray JL, Maynie TP, et al: Pharmacokinetics of <sup>111</sup>In-labeled anti-p97 monoclonal antibody in patients with metastatic malignant melanoma. *Cancer Res* **45**: 2382-2386, 1985
- 18) 遠藤啓吾, 阪原晴海, 小泉 満, 他: In-111 標識メラノーマ抗体を用いた悪性黒色腫の部位診断. 核医学 **22**: 1271, 1985 (abstract)
- 19) 石井勝己, 村田晃一郎, 中沢圭治, 他: <sup>111</sup>In 標識モノクローナル抗体による悪性メラノーマのイメージング. 核医学 **22**: 1271, 1985 (abstract)
- 20) Pettit WA, DeLand FH, Bennett SJ, et al: Radiolabeling of affinity purified goat anti-carcinoembryonic antigen immunoglobulin G with technetium-99m. *Cancer Res* **40**: 3043-3045, 1980
- 21) Rhodes BA, Torvestad DA, Breslow K, et al: <sup>99m</sup>Tc-labeling and acceptance testing of radio-labeled antibodies and antibody fragments. In *Tumor Imaging*. Burchiel SW, Rhodes BA, eds. Masson Publishing, New York, 1982, pp. 111-123
- 22) Childs RL, Hnatwich DJ: Optimum conditions for labeling of DTPA-coupled antibodies with technetium-99m. *J Nucl Med* **26**: 293-299, 1985
- 23) Cole W, DeNardo S, Meares C, et al: Development of copper-67 chelate conjugated monoclonal antibodies for radioimmunotherapy. *J Nucl Med* **24**: 30, 1983 (abstract)
- 24) Hnatwich DJ, Virzi F, Doherty PW: DTPA-coupled antibodies labeled with yttrium-90. *J Nucl Med* **26**: 503-509, 1985
- 25) Yokoyama A, Ohmomo Y, Horiuchi K, et al: Deferoxamine, a promising bifunctional chelating agent for labeling proteins with gallium: Ga-67 DF-HSA: concise communication. *J Nucl Med* **23**: 909-914, 1982
- 26) Ohmomo Y, Yokoyama A, Suzuki J, et al: Ga-67 labeled human fibrinogen: a new promising thrombus imaging agent. *Eur J Nucl Med* **7**: 458-461, 1982

- 27) Ohmomo Y, Yokoyama A, Yamauchi Y, et al: In vivo kinetics and thrombus accumulation of  $^{67}\text{Ga}$ -labeled urokinase. Int J Nucl Med Biol **12**: 47-52, 1985
- 28) Emery T, Hoffer PB: Siderophore-mediated mechanism of gallium uptake demonstrated in the microorganism *Ustilago sphaerogena*. J Nucl Med **21**: 935-939, 1980

## Summary

### Radioimmunodetection of Tumor with Ga-67 Labeled Antibodies: Effect of Radiolabeling on the Antibody Activities

Takako FURUKAWA, Keigo ENDO, Yoshiro OHMOMO, Harumi SAKAHARA,  
Mitsuru KOIZUMI, Tetsuo NAKASHIMA, Masao FUKUNAGA, Rikushi MORITA,  
Hidematsu HIRAI, Akira YOKOYAMA and Kanji TORIZUKA

*Department of Nuclear Medicine, Kawasaki Medical School, Osaka Pharmacy College,  
Kyoto University and Hokkaido University*

Antibodies against tumor associated antigen; anti-AFP polyclonal antibody, anti-thyroglobulin monoclonal antibody and anti-hCG monoclonal antibody, were labeled with Ga-67, using deferoxamine (DF) as a bifunctional chelating agent. The immunoreactivity and in vivo stability of the Ga-67 labeled antibodies were examined. The effect of DF conjugation to antibodies on the antigen-binding activity was evaluated by RIA and Scatchard analysis or tanned sheep red blood cell hemagglutination technique. When DF was conjugated to antibody at the molar ratio of 1:1, the antibody activity of the DF-conjugated antibodies was fully retained. Whereas, in heavily conjugated

antibodies, the maximum antigen binding capacity was reduced. Biodistribution study in normal mice demonstrated the high in vivo stability of Ga-67 labeled antibodies.

The labeling of DF-antibody conjugated with Ga-67 was performed easily and quickly, with a high labeling efficiency, requiring no further purification. Thus, this labeling method, providing in vivo stability of Ga-67 labeled antibody and full retention of immunoreactivity, would be useful for the radioimmunodetection of various cancers.

**Key words:** Radioimmunodetection, Bifunctional chelating agent,  $^{67}\text{Ga}$ , Antibody.