638 RI標識ビオチン化抗体とアビジン"chase"を用いた免疫シンチグラフィ 1. アビジン"chase"はRI標識ビオチン化抗体の体内分布を著明に改善する

小林久隆，阪原晴海，細野 真，姚 正生，小西淳二（京大核医学科），遠藤啓吾（群馬大核医学科）

免疫シンチグラフィと放射免疫療法の問題点は、RI標識抗体が血中に長く留まり標的腫瘍と正常組織の放射能比が小さい事である。我々は標識抗体の腫瘍の集積を減らさずバックグラウンドのRIを減らす方法を考案した。抗腫瘍モノクローナル抗体をビオチン化した後I-125またはTc-99mで標識したRI標識ビオチン化抗体投与6または24時間後にアビジンを投与した。アビジン投与は抗体の腫瘍集積に影響せず、腫瘍血液比はI-125標識抗体で4-8倍Tc-99m標識抗体で8-15倍に増加した。RI標識ビオチン化抗体は肝脾で代謝され、I-125の尿中排泄はchase後8時間では15倍に増加した。

639 RI標識ビオチン化抗体とアビジン"chase"を用いた免疫シンチグラフィ 2. アビジン類似物質のchase能力とアビジン"chase"のメカニズム

小林久隆，阪原晴海，細野 真，姚 正生，小西淳二（京大核医学科），遠藤啓吾（群馬大核医学科）

アビジン、ストレプトアビジン、ニュートロアビジンは、同じ結合力で(Ka=10^{15}) 4個のビオチンと結合する。同量では同じ複合体を作ると思われる3種の蛋白でRI標識ビオチン化抗体をchaseする能力を比較検討した。担癌マウスにRI標識ビオチン化抗腫瘍モノクローナル抗体を投与し、24時間後に種々の量のアビジン、ストレプトアビジン、ニュートロアビジン、アビジン結合フェリチンを投与した。ニュートロアビジンは同様のchase効果を示すのにアビジンの10倍量を要し、ストレプトアビジンには、chase効果は全く無かった。RI標識ビオチン化抗体をchaseする目的にはアビジンが最適と考えられた。

640 RI標識ビオチン化抗体とアビジン"chase"を用いた免疫シンチグラフィ 3. chase後のRI標識抗体分画の変化とアビジン再静注の効果

小林久隆，阪原晴海，細野 真，姚 正生，小西淳二（京大核医学科），遠藤啓吾（群馬大核医学科）

RI標識ビオチン化抗体をアビジンによりchaseすると、静注後30分以内に血中RI量は最少となりその後徐々に増加する。ＴＣＡによる蛋白沈降とアビジンゲルとの結合実験によって、この血漿中RI分画の蛋白結合分画とアビジン結合能を持つ分画を評価しアビジン再静注の効果を検討した。アビジン結合能を持つ分画は、chase直後にはほとんどなくなるがchase後6時間後には68%まで増加した。この分画は、アビジン再静注によって再度chase可能であり、腫瘍正常組織（特に血液と肺）の放射能比は一層向上した。複数回のアビジン投与はRI標識ビオチン化抗体による免疫シンチグラフィに有効なchase法と考えられた。

641 Improved Targeting of Radiolabeled Streptavidin in Tumor Pretargeted by Biotinylated MoAbs through Avidin Chasing

姚正生、阪原晴海、張美麗、小林久隆、小西淳二（京大核医学）、中田博、山科郁男（京都産業大）

Radiolabeled streptavidin accumulation in tumor after injection of biotinylated anti-tumor antibody could be hindered by circulating biotinylated antibodies and endogenous biotin. Avidin could chase biotin and biotinylated antibodies from the circulation and improve radiolabeled streptavidin localization in tumor. Anti-human colon cancer MoAb, MLS128, was biotinylated and injected into nude mice bearing human colon cancer xenografts for pretargeting. After i.p. injection of avidin for chasing, radiolabeled streptavidin was administered. Both the tumor uptake and blood clearance of radiolabeled streptavidin were accelerated by avidin chasing compared with streptavidin alone. Avidin was very effective for radiolabeled streptavidin localization in tumor pretargeted by biotinylated MoAb.

642 ｱﾝﾁｰｾﾝｽDNAによるｲﾒｰｼﾞﾝｸﾞの可能性

小泉 満、山下 孝、小山田日吉丸、尾形悦郎、野田鉄生（癌研）、荒野 泰、横山 陽（京大）

ﾒｾﾝｼﾞｬｰRNAに相補的なanti-sense oligonucletiode(AS)は、癌の特異的な治療法として期待されている。最近、ASにｱｲｿﾄｰﾌﾟを標識することにより癌の診断法として用いる試みが報告されている。ｲﾒｰｼﾞﾝｸﾞの可能性をC-mycのASDNAと白血病細胞HL-60(C-myc(+))をﾓﾃﾞﾙとしin vitroで検討した。AS DNAは、蛋白合成開始ｺﾄﾞﾝ部の15 merを合成した。標識はP-32 用いた。ｺﾝﾄﾛｰﾙとしてsense oligonucleotide(S)を用いた。血清を加えなかった場合は、AS:3-4% S:0.3-0.6%(2hrs)であった。血清を加えるとAS:1.6% S:0.7% (2hrs) であった。血清を用いてさらに長時間ｲﾝｷｭﾍﾞｰｼｮﾝしたところ非特異的結合が増しASとSの差がなくなった。これらの結果よりASはSに比べて明らかに特異的結合があるが、血清による変性を受け、集積量が少なく現時点のままではｲﾒｰｼﾞﾝｸﾞは困難と考えられた。

643 高分子スズ錯体を用いる抗体の^{99m}Tc直接標識法の確立

中山 守雄、宜野座 靖史、原田 久美子、中山 仁（熊本大薬）古嶋昭博、冨口清二、辻 明徳、鍋島光子、高橋睦正、（熊本大放射線科）

高分子スズ錯体は、Sn (II) が、高分子上に安定に保持されているため、溶液中へのSnの混入を抑え、抗体の^{99m}Tc標識に有効に利用できることは既に報告した。今回は、ジチオスレイトールで還元処理を行ったIgGを用い、種々標識条件の検討を行った。標識は高分子スズ錯体と抗体のみを入れたバイアルに、TcO_4^-を添加後、振とうするだけの方法で行い、標識体はSDS-PAGEなどで分析した。その結果、抗体が25μg/mlと低濃度の場合でも、他の標識キットを併用することなしに、安定な^{99m}Tc標識体が得られることが明らかになった。本法は、種々のモノクローナル抗体の簡便な標識法として適用可能と考えられる。

Presented by Medical*Online