

《原 著》

 ^{99m}Tc -monofluorophosphate の骨集積

—— ^{99m}Tc -pyrophosphate, ^{99m}Tc -diphosphonate との比較を
中心にした基礎的検討——

市 川 恒 次* 伊 藤 安 彦* 村 中 明* 横 林 常 夫*
内 田 昌 宏** 木 村 修 治*** 今 城 吉 成***

1. 緒 言

Subramanian¹⁾らによって ^{99m}Tc -標識磷酸化合物の骨スキャンニング剤が開発されて以来、種々の磷酸化合物が開発されてきた。これらの ^{99m}Tc -標識磷酸化合物は入手しやすく、キット化された簡便な標識法、被曝線量の軽減、像の鮮明さ等の点から、従来の ^{85}Sr , ^{87}Sr あるいは ^{18}F のような骨スキャンニング剤の使用は激減したといえる。しかし、より優れた bone seeking agent を開発しようとする努力は絶えず続けられなければならない。最近, Radiochemical Centre (Amersham, Buck., England) で ^{99m}Tc -標識 monofluorophosphate (以下 MFP) が開発された。これは強い骨親和性を持つ Stannous fluoride と Phosphate との組み合わせにより優れた bone seeker を作ろうと試みたものである。筆者らは、これに若干の基礎的、臨床的検討を加え、同時に現在市販されている ^{99m}Tc -標識 pyrophosphate (以下 PPI) 及び ^{99m}Tc -標識 ethane-1, hydroxy-1, diphosphonate (以下 EHDP) との比較検討を行なった。以下、

基礎的検討を中心に報告する。

2. 材料と方法

1) ^{99m}Tc -磷酸化合物の調整: MFP は凍結乾燥された Monofluorophosphate 100 mg 及び 2 mg の Stannous fluoride を含有したバイアル中(科研化学)に、 ^{99}Mo - ^{99m}Tc -ジェネレーターより溶出した 5 ml の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を無菌的に注入し、15 秒間軽く振盪混和後使用した。PPI (第一ラジオアイソトープ研究所) 及び EHDP (ダイナボット RI 研究所) はそれぞれのキット調整法に従った。

2) 標識精度: ペーパークロマトグラフィー及び薄層クロマトグラフィー (以下 TLC) を用いた。ペーパークロマトは東洋汙紙 No 51 で上昇法にて行なった。展開溶媒は 85 % Methanol 及び Methyl ethyl ketone (以下 MEK) を使用した。TLC はメルク社製シリカゲル G のプレート (展開距離 10 cm) を作製した。展開溶媒はペーパークロマトと同一のもので行なった。原点より 1 cm 毎にシリカゲルをかきとり、ウエル型シンチレーションカウンターにより放射能を測定した。

3) 実験動物: 体重 2.1~2.8 kg の家兎を用いた。

4) 標識化合物の血中消失率測定: 一定量の標識化合物を耳静脈より注射後、経時的に心穿刺によって採血、単位重量当りの放射能を片対数紙にプロットした。

5) 組織内分布: 各標識化合物を 200 μCi 投与

* 川崎医科大学 核医学科

** 同 附属病院薬剤部

*** 同 放射線治療学科

受付: 50年11月5日

採用: 51年2月6日

別刷請求先: 倉敷市松島577 (〒701-01)

川崎医科大学核医学

伊 藤 安 彦

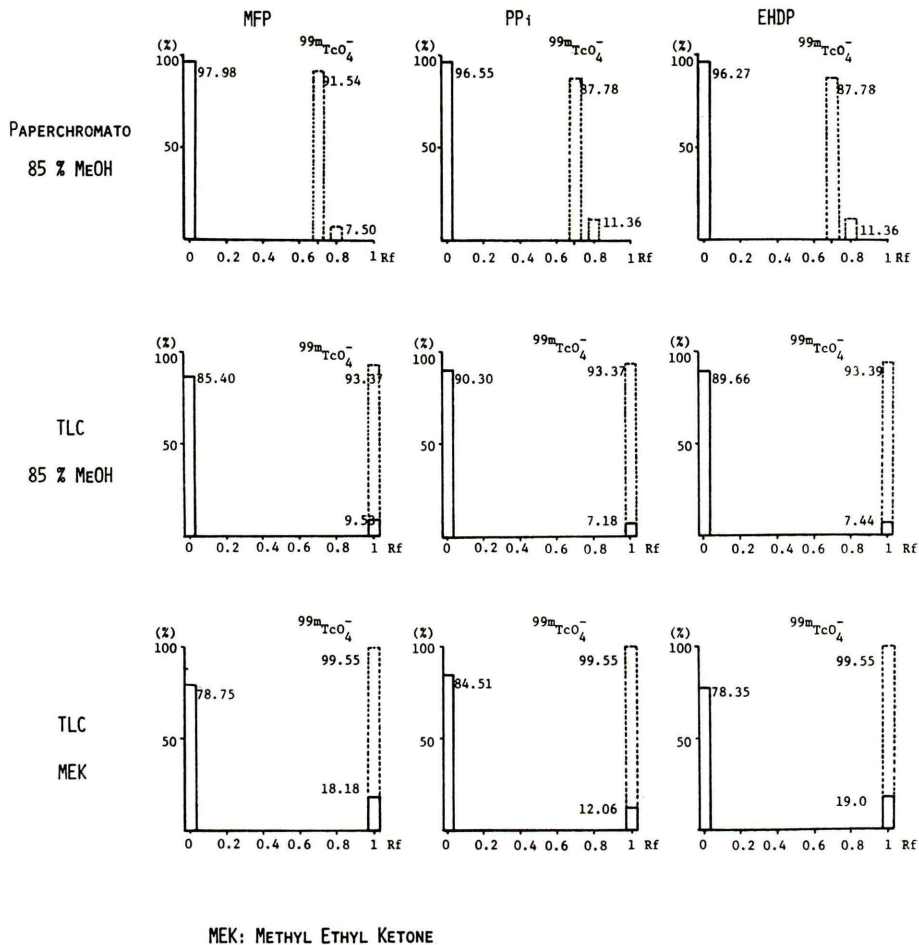


Fig. 1 Paperchromatography and Thin Layer Chromatography

Table 1 Distribution of ^{99m}Tc -MFP, -PPi and -EHDP in Rabbits*
% Dose/gram of tissue

	MFP	PPi	EHDP
Femur	0.148	0.135	0.177
Tibia	0.123	0.141	0.183
Liver	0.052	0.080	0.004
Kidney	0.139	0.259	0.067
Lung	0.016	0.011	0.011
Spleen	0.062	0.113	0.004
Marrow (femur)	0.021	0.030	0.005
Marrow (Tibia)	0.021	0.031	0.007
Muscle	0.002	0.002	0.001
Blood	0.019	0.019	0.007

* Average values for 5 animals each

3時間後に屠殺し、主な臓器の放射能を測定した。測定値は組織1gの放射能に対する各標識物質の投与放射能の比を百分率で求め、各群5頭の平均値で示した。

6) 骨放射活性：大腿骨及び脛骨から骨髓を除去して測定した。骨格中の全放射活性は体重の10%を骨と仮定し換算した。

7) 尿への排泄：4頭の家兎を用い、各標識物質投与直後より3時間までの尿を採取し、geometry independent counter (島津製)で測定した。

8) 骨シンチグラフィ：3種の標識化合物を投与間隔1日で同一家兎に1mCi投与し、3時間後ニュークリアシカゴ社製 HP シンチカメラ(高

Table 2 Distribution of ^{99m}Tc -MFP, -PPi and -EHDP in Rabbits*
Ratio Bone to Tissue

	MFP	PPi	EHDP
Blood	7.1	7.3	25.7
Muscle	67.8	69.0	180.0
Marrow	6.5	4.5	30.0
Liver	2.6	1.7	45.0
Kidney	1.0	0.5	2.7

* Average value for 5 animals each

Table 3 Deposition of Bone Seeking Agents in Entire Bone

	Percents of Dose Given
^{99m}Tc -MFP	19.95 ± 3.74
^{99m}Tc -PPi	29.10 ± 4.53
^{99m}Tc -EHDP	40.00 ± 6.74

分解能コリメーター)で全身の骨シンチグラフィを行なった。EHDPによるイメージを得るに要した時間で他の2種もスキャンし、カメラの他の設定条件は一定にした。

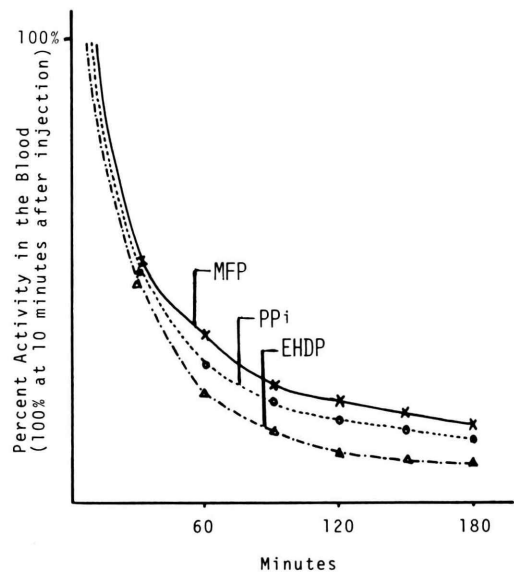
9) 血清カルシウム:5頭の家兎に MFP 50 mg 及びフッ化スズ 1 mg を耳静脈より注射後、経時的に心穿刺により採血を行ない、Orthocresolphthalein 法により測定した。

3. 結果

1) 標識精度:ペーパークロマトでは 85% MeOH 展開にて、MFP, PPi, EHDP のいずれも標識は Fig. 1 に示すごとく、96%以上が原点にとどまり、遊離 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ は 4% 以下であり標識率は良好であった。TLC によると 85% MeOH による展開では、MFP: 85.40%, PPi: 90.30%, EHDP: 89.66% が原点にとどまり、MEK による展開では MFP: 78.75%, PPi: 84.51%, EHDP: 78.35% が同じく原点にとどまった。

2) 血中クリアランス:注射後30分では各標識化合物間に著しい相違は認められなかったが、それ以後では EHDP のクリアランスが最も速く、次いで PPi であり、MFP は最も遅かった(Fig. 2)。

3) 臓器への取込み:主な臓器の摂取率を



* Average values for 5 animals each

Fig. 2 Clearance of ^{99m}Tc -MFP, -PPi and -EHDP From Blood in Normal Rabbits*

Table 1 に示した。即ち、臓器 1 g 中の取込みを投与量に対する百分率で求めると、大腿骨では EHDP, MFP, PPi はそれぞれ 0.177, 0.148, 0.135% で、MFP は両者の中間であった。脛骨では EHDP, PPi, MFP の順にそれぞれ 0.183, 0.141, 0.123% となり、MFP は EHDP よりかなり少なかった。軟部組織についてみると、肝では MFP, PPi はそれぞれ 0.052, 0.080%, EHDP では 0.004% であり、他の二種に比し EHDP の肝への集積は低率であった。又、腎では PPi が最も多く集積し、0.259% であった。MFP は 0.139, EHDP は 0.067% であり、MFP の腎への集積は PPi の 1/2, EHDP の約 2 倍であった。骨髄についてみると、大腿骨、脛骨ともに MFP は 0.021%, PPi は 0.030% で同程度であるのに比し、EHDP はそれぞれ 0.005, 0.007% とかなり低値を示した。筋肉では、MFP, PPi ともに 0.002% であったが、EHDP は 0.001% で集積が最も少なかった。血液では、MFP, PPi ともに 0.019%, EHDP は最も少なく 0.007% であった。

次に実験から得た値をもとにして、骨対軟部組

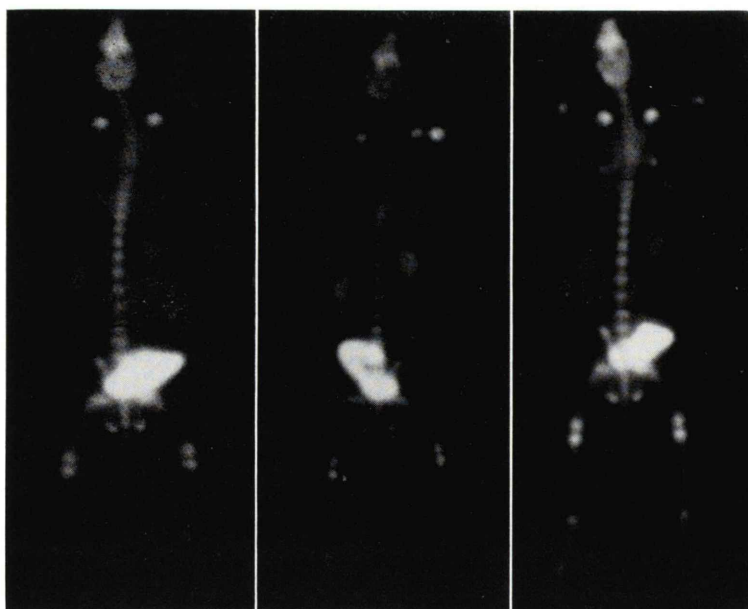


Fig. 3 Bone Scintigraphy Rabbit 3.1 kg 3 hrs Post 1 mCi

織の比率を Table 2 に示した. 血液では MFP, PPi ではそれぞれ 7.1, 7.3, EHDP は 25.7 と前二者の約 4 ~ 5 倍であった. 筋肉では EHDP が 180.0 と最も大きく MFP, PPi はそれぞれ 67.8, 69.0 で同程度であった. 骨髄, 肝, 腎では EHDP MFP, PPi の順であった.

家兎の全身骨格を体重の 10% として 3 種の bone seeking agents の全身骨への集積を Table 3 に示した. MFP は投与量の $19.95 \pm 3.74\%$, PPi $29.10 \pm 4.53\%$, EHDP $40.00 \pm 6.74\%$ であり, MFP の骨への集積は他の二者に比べかなり少なく統計的に有意の差が認められた.

4) 尿への排泄: 標識化合物を投与後, 3 時間までの尿中排泄は, MFP: $41.6 \pm 2.7\%$, PPi: $42.5 \pm 6.5\%$, EHDP: $43.9 \pm 6.9\%$ であり三者間に有意の差を認めなかった.

5) 家兎の骨シンチグラム: 同一家兎に隔日に同量 (1 mCi) の MFP, PPi, EHDP を投与し, 得たシンチグラムを比較すると上述の Radioassay の成績がシンチグラムによく反映された. 即ち, 3 種とも良好な骨シンチグラムといえるが,

Table 4 Contents* of Serum Calcium Before and After MFP

Before MFP	6.55 ± 1.98
Time After MFP	
1 hr	5.84 ± 1.31
2 hrs	5.87 ± 0.62
3 hrs	6.60 ± 1.05
4 hrs	6.02 ± 0.11

* meq/ℓ

EHDP は最も優れ, MFP, PPi では軟部組織への集積が EHDP より大であるため肋骨が明瞭に解像されず, 肝, 脾が描画された. 腎の描画は PPi が他の二者より著しかった. (Fig. 3)

6) 血清カルシウム値: Table 4 に示す. MFP の投与後 4 時間にわたって血清カルシウム値の変動をみたが注射前に比べて時間的な変動はなかった.

4. 考 案

^{99m}Tc の優れた物理・化学的特性が, 核医学的診断に貢献する役割は大きい. なかでも磷酸化合

物の標識が可能になって以来¹⁾、骨腫瘍の診断をはじめとし骨シンチグラフィの診断的評価は飛躍的に向上したといえよう。

^{99m}Tc -tripolyphosphate の発表以来、Polyphosphate²⁾、Pyrophosphate³⁾、Diphosphonate⁴⁾ など ^{99m}Tc -標識磷酸塩の発表が相次ぎ、直ちに基礎的、臨床的検討が報告されている。

一方、骨質の微量成分であるフッ素に着眼し、 ^{18}F が bone scanning agent として用いられてきたが、製法上の制限も加わり、 ^{99m}Tc -磷酸塩の出現により臨床への応用は減少した。しかし、 SnF_2 を ^{99m}Tc と結合させ scanning agent を作る試みも可能なわけであり、Chervu らが発表している⁵⁾。又、フッ素と磷酸塩の complex を ^{99m}Tc で標識する試みが Amersham の Radiochemical Centre でなされた。即ち、 ^{99m}Tc -labeled monofluorophosphate (MFP) であり、筆者らはこれを、わが国で最も広く使われている ^{99m}Tc -pyrophosphate (PPi) 及び ^{99m}Tc -diphosphonate (EHDP) と比較検討することにより、bone scanning agent としての評価を試みた。

これらの3種の標識率は、85%メタノール展開によるペーパークロマト法による限り極めて良好といえる。しかし、ペーパークロマト法による分析には問題があることが指摘されている⁶⁾ので、薄層クロマトグラフィーによってたしかめた。その結果、85% MeOH、MEK 展開ともペーパークロマトによる標識率より劣る結果が得られた。Polyphosphate について Billingham は silica gel で 85% MeOH 展開の方がペーパークロマトより Smearing が少ないためより実的であると報告している⁶⁾。たしかに、薄層クロマトグラフィーは短時間で得るため展開中に予想される空気中の酸素による酸化物を少なくできると思われるが、 ^{99m}Tc -phosphate の quality control を如何に行なうか検討を要する問題であろう。

血中よりのクリアランスはシンチグラムの画質に影響を与え、最大のコントラストを得るための適切な“waiting period”の決定に重要である。

^{99m}Tc -polyphosphate の方が PPi より長く血中にとどまり^{7,8)}、PPi の方が EHDP よりクリアランスが遅い⁸⁾。MFP は投与後 30 分までは、PPi、EHDP と同程度であったが、時間の経過とともに三者の間にクリアランスの差がみられ、EHDP、PPi、MFP の順であり EHDP が最も速かった。

骨組織に対する MFP、PPi、EHDP の集積はほぼ 2:3:4 の比率であり、EHDP は MFP の約 2 倍高率であった。PPi は EHDP に比し肝への集積が高度であることが既に報告されており⁹⁾、筆者らの成績も同様な結果であったが、MFP の肝への集積は PPi より低率であった。同様に腎への集積も、EHDP が最も少なく、次いで MFP、PPi の順であった。骨対血液比及び骨対筋肉比でみると、ともに EHDP が最も良く、次いで MFP、PPi の順である。

尿中への排泄は MFP、PPi、EHDP と同程度であった。骨集積の少ないもののほど骨以外の組織、主として肝、腎、脾への集積が大であり、従って三種の標識物の尿中排泄は同程度であったものと考えられる。

以上の Radioassay の成績は家兎の骨シンチグラムに極めて良く反映された。即ち、肝、脾、腎などへの集積が少ないこと、軟部組織への集積が少ないため肋骨が見易いことなど EHDP は優れているが、MFP、PPi が著しく劣るとはいえず、いずれも良好な骨シンチグラムが得られた。

MFP の骨集積が EHDP より低率でむしろ PPi に近い結果が得られたが、このことは Francis らの inorganic phosphate と P-C-P 結合についての発表、即ち、前者が phosphatase により容易に分解されるのに比し、後者はより安定であるという成績¹⁰⁾を MFP にもあてはめることができるかもしれない。因みに ^{99m}Tc -Sn-F を家兎に投与し、3 時間後における分布をみた Chervu らの成績⁵⁾と筆者らの成績を比較すると、腎、血液の集積は MFP の方が少なく、他の主な臓器はほとんど同程度であった。 SnF_2 よりも Fluoride ion を phosphate と結合させた方がより優れた bone scanning agent が得られると即断することはできな

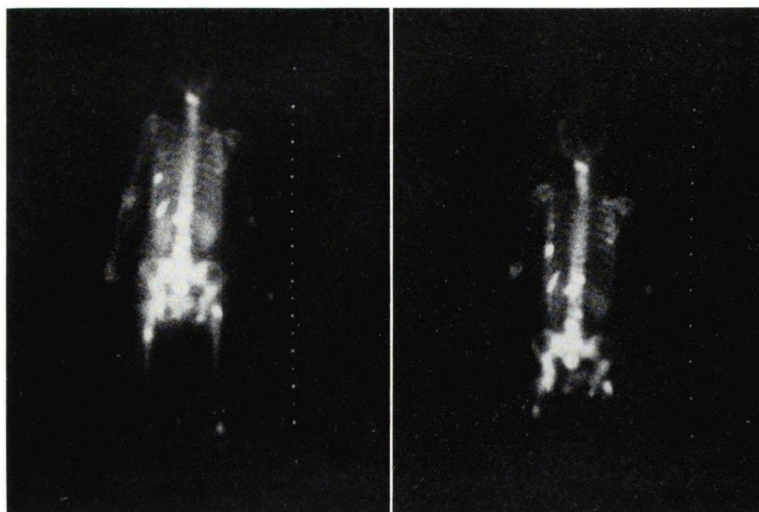


Fig. 4 Breast Cancer H. M. Female Age 53

いが、フッ素の優れた骨集積性を生かした今後の開発が望まれるところである。 ^{99m}Tc -monofluorophosphate の骨集積機序も本来 Diphosphonate について述べられた「chemisorption」の過程により、新しく形成された hydroxy apatite への ^{99m}Tc -phosphate の強い結合¹⁰⁾¹¹⁾によるものと推定されるが、今後検討を要するところである。

MFP 投与により起こり得る副作用の一つは hypocalcemia である。キットになっている調整試薬の1/2バイアル (Sodium monofluorophosphate として 50 mg, Stannous fluoride として 1 mg) を体重 2 kg の家兎 5 頭に投与し、血清 Calcium 値を測定した結果では、投与前後において変動が認められなかった。

以上の基礎的検討をもとに、転移性骨腫瘍を主とし、種々の骨疾患について MFP によるシンチグラフィを行なった。その詳細は稿をあらためて発表する予定であるが、1 例を Fig. 4 に示した。EHDP に比し軟部組織への集積が大であるため像の鮮明さはやや劣るが転移巣は明瞭に描画されている。

諸家の報告にある如く、又筆者らの成績でも EHDP は極めて優れた bone scanning agent であるといえる。しかし、MFP, PPi ともに臨床的

に充分使用し得るものとする。

5. 結 語

1) ^{99m}Tc -monofluorophosphate は ^{99m}Tc -Pyrophosphate, ^{99m}Tc -diphosphonate と同様、調整が容易であり標識率も同程度であった。

2) 血中クリアランスは ^{99m}Tc -diphosphonate が最も速く、次いで ^{99m}Tc -pyrophosphate, ^{99m}Tc -monofluorophosphate の順であった。

3) 骨集積、骨対筋肉比、骨対血液比ともに ^{99m}Tc -diphosphonate が最も大であり、 ^{99m}Tc -monofluorophosphate は ^{99m}Tc -pyrophosphate と同程度か、又はやや劣る。

4) 肝、腎への集積は ^{99m}Tc -diphosphonate が最も少なく、次いで ^{99m}Tc -monofluorophosphate, ^{99m}Tc -pyrophosphate であった。

5) ^{99m}Tc -monofluorophosphate 投与前後において血清 Calcium 値に変動は認められなかった。

6) 家兎の骨シンチグラムは良好であったが、 ^{99m}Tc -diphosphonate に比し、肝、腎、脾への集積がやや大であった。

7) 臨床的に、骨転移巣を主とした骨疾患の診断上、他の 2 種と同様極めて有意義であった。

文 献

- 1) Subramanian G, McAfee JG : A new complex of ^{99m}Tc for skeletal imaging. *Radiology* **99** : 192-196, 1971
- 2) Subramanian G, McAfee JG, Bell EG, Blair RJ, O'Mara RE, Ralston PH : ^{99m}Tc -labeled polyphosphate as a skeletal imaging agent. *Radiology* **102** : 701-704, 1972
- 3) Cohen Y, Perez R, Henry R, Bardy A, Panneciere C : Utilization du pyrophosphate de sodium marquer par le technetium 99m dans la scintigraphie du squelette. *C.R. Acad. Sc. Paris t 275 Series* 1719-1721, 1972
- 4) Castronovo FP, Callahan RJ : New bone scanning agent : ^{99m}Tc -labeled 1-disodium phosphonate. *J Nucl Med* **13** : 823-827, 1972
- 5) Chervu LR, Novich I, Blaufox MD : Fluorotec : A new bone seeker. *Radiology* **107** : 435-437, 1973
- 6) Billingham MW : Chromatographic quality control of ^{99m}Tc -labeled compounds. *J Nucl Med* **14** : 793-797, 1973
- 7) Krishnamurthy GT, Huebotter RJ, Walst CF, Taylor JR, Kehr MD, Tubis M, Bland WH : Kinetics of ^{99m}Tc -labeled pyrophosphate and polyphosphate in man. *J Nucl Med* **16** : 109-115, 1975
- 8) 山本逸雄, 森田陸司, 坂本 力他 : ^{99m}Tc -標識リン化合物による 骨シンチグラフィの検討. *Radioisotopes* **23** : 614-619, 1974
- 9) 安東 醇, 鈴木 豊, 久田欣一等 : ^{99m}Tc -pyrophosphate, ^{99m}Tc -polyphosphate および ^{99m}Tc -EHDP の骨親和性の比較. *Radioisotopes* **23** : 224-229, 1974
- 10) Francis MD, Russel RGG, Fleisch H : Diphosphonates inhibit formation of calcium phosphate crystals in vitro and pathological calcification in vivo. *Science* **165** : 1264-1266, 1969
- 11) Citrin DL : The radiopharmacology of bone scanning agents. *Proceedings of the First World Congress of Nuclear Medicine* 201-205, 1974

Summary

^{99m}Tc-labeled monofluorophosphate as a skeletal imaging agent : a comparison with pyrophosphate and diphosphonate

Tsuneji ICHIKAWA, Yasuhiko ITO, Akira MURANAKA and Tsuneo YOKOBAYASHI

Division of Nuclear Medicine, Kawasaki Medical College

Masahiro UCHIDA

Division of Pharmacy, Kawasaki Medical College Hospital

Shuji KIMURA, Yoshinari IMAJO

Division of Radiation Therapy, Kawasaki Medical College

The high affinity of trace quantities of fluoride ions for the hydroxyapatite crystal of bone is well recognized. Consequently, the development of a sodium monofluorophosphate stannous fluoride preparation which could be labeled with ^{99m}Tc-seemed attractive. Such a preparation was obtained from the Radiochemical Center (Amersham, England) and its performance was compared at our laboratories with those of ^{99m}Tc-Pyrophosphate and ^{99m}Tc-diphosphonate in rabbits. Studies included chromatographic quality control, measurements of blood clearance, tissue distribution, urinary excretion, skeletal imaging, and measurements of the serum calcium. The percentage labeling for ^{99m}Tc-monofluorophosphate was 98 % on paper chromatography and 85 % on thin layer chromatography. A large fraction of the activity of the three labeled agents was cleared very rapidly from the bloodstream; however, slow components of the curves were the highest for ^{99m}Tc-monofluorophosphate and lowest for

^{99m}Tc-diphosphonate. Three hours after injection 20% of the dose of ^{99m}Tc-monofluorophosphate was taken up by bone. The corresponding values of ^{99m}Tc-pyrophosphate and ^{99m}Tc-diphosphonate were 29.1% and 40.0% respectively. Concentration ratios in bone to that in other major organs was highest with ^{99m}Tc-diphosphonate. Ratios were similar for both ^{99m}Tc-monofluorophosphate and ^{99m}Tc-pyrophosphate and much lower than those of ^{99m}Tc-diphosphonate. No significant differences were demonstrated in urinary excretions of the three labeled agents. Visual comparison of the scans obtained with three compounds confirmed the results of radioassay. All were excellent skeletal imaging agents, although ^{99m}Tc-diphosphonate appeared to be superior to the other two mainly because of a higher target to non-target ratio. With 50 mg of monofluorophosphate and 1 mg of stannous fluoride, no hypocalcemia was observed.