

《原 著》

 ^{111}In -oxine 標識白血球の膿瘍描出能— 特にウサギにおける ^{67}Ga citrate との比較 —

宇野 公一* 内山 暁*** 今関 恵子** 三好 武美**
 秋庭 弘道** 有水 昇**

要旨 テレピン油による膿瘍作製ウサギを用いて、 ^{111}In -oxine 標識白血球による膿瘍描出を試み、また Ge 半導体検出器を用いて ^{111}In -oxine 標識白血球と ^{67}Ga citrate 同時投与による膿瘍描出能を比較検討した。アイソトープ投与後 1 時間、24 時間、48 時間のガンマカメラ像では、48 時間像が両核種とも最も良く膿瘍を描出できた。 ^{111}In -oxine 標識白血球の体内分布は、脾への放射能集積が最も多く、肝、腎、膿瘍の順であった。両核種投与後 72 時間で屠殺し、膿瘍と健側筋肉との g 当りの投与量パーセント比は ^{111}In が 6.2 に対し ^{67}Ga は 7.6 でやや ^{67}Ga の方が膿瘍への放射能集積は優るが、バックグラウンドが少なく像のきれいな ^{111}In -oxine 標識白血球は軟部組織や下腹部の膿瘍描出には有効と考えられた。白血球分離と標識操作に手間どるが、Specificity に乏しい ^{67}Ga citrate になる炎症巣描出核種として今後期待される。

I. 緒 言

膿瘍の核医学診断は 1962 年 Ariel¹⁾ が放射性ヨードを用いて以降、 ^{51}Cr ²⁾、 ^{67}Ga ^{3~7)} ^{111}In ⁸⁾ 等の核種により検討されて来た。炎症巣や膿瘍へ白血球が集簇する能力を利用して病巣を描出するために、白血球にアイソトープを標識することが試みられ、McAfee 等は ^{111}In -8-hydroxy-quinoline (以下 ^{111}In -oxine) が白血球の標識率が高いことを報告した⁹⁾。3 分子の oxine は pH 5~6 で In の 1 原子とキレートを作り、これは脂溶性で白血球の細胞膜を通過し細胞内へ移行すると言う。Thakur 等はイヌの実験で ^{67}Ga citrate より膿瘍への集積ははるかに優ると述べている^{10~12)}。今回われわれは ^{111}In -oxine 標識白血球による膿瘍描出の臨床応用

の前段階として動物実験を行った。すなわちテレピン油によりウサギ四肢に作製した膿瘍を用いて、ガンマカメラによる膿瘍描出像、臓器分布等を検討し、また、 ^{67}Ga citrate を同時投与して両者の比較を試みたので報告する。

II. 材料および方法

以下に示す手順に従って実験を行った (Fig. 1)。

1) ウサギ白血球分離

テレピン油注射後約 20 時間に心臓穿刺により 20~30 ml をヘパリン加採血した動脈血に 2% (W/V) メチルセルロース 1.5 ml を加え、約 1 時間試験管を垂直に立て赤血球沈降後、上清を 450 G で 5 分間遠心しその沈渣を 0.9% 生理食塩水で洗浄して得た。

2) ^{111}In -oxine の調製

Thakur の方法に基づき、 ^{111}In chloride 3 mCi/1.5 ml (11.1×10^7 Bq)[†] を試験管に移し、等量の蒸留水と 0.3 M 酢酸緩衝液 (pH 5.6) を 200 μl 加え良くかくはんした。等量のクロロホルムで ^{111}In -oxine complex を抽出し、クロロホルムを窒素ガ

[†] 日本メジフィジクス株式会社提供

* 千葉大学医学部附属病院放射線部

** 千葉大学医学部放射線科

*** 山梨医科大学放射線医学教室

受付: 56 年 7 月 21 日

最終稿受付: 56 年 8 月 13 日

別刷請求先: 千葉市亥鼻 1-8-1 (☎ 280)

千葉大学医学部附属病院放射線部

宇 野 公 一

スで蒸発させ、乾固した ^{111}In -oxine をエタノール 50 μl 、生理食塩水 550 μl で溶解した。

3) ^{111}In -oxine の白血球標識

ウサギ白血球浮遊液に 200 μl ^{111}In -oxine 約 1 mCi ($3.7 \times 10^7 \text{Bq}$) を滴下し 15~20 分間室温で incubate した後、2 回生理食塩水で洗浄して標識を行った。

4) ^{111}In -oxine 標識白血球と ^{67}Ga citrate の体内投与

前または後足筋肉内にテレピン油 0.2~0.5 ml を筋注して膿瘍を作製した体重 2~3 kg の雄ウサギ 7 羽を用いた。4 羽は ^{111}In -oxine 標識白血球単独投与群、残り 3 羽は 2 核種同時投与群とした。 ^{67}Ga citrate は約 500 μCi ($1.85 \times 10^7 \text{Bq}$) を静脈内投与した。

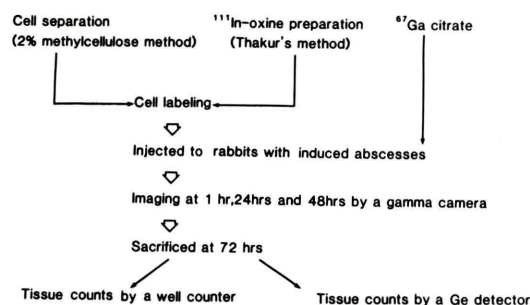


Fig. 1 Experimental processes

5) ガンマカメラによる膿瘍描出

ガンマカメラで ^{111}In -oxine 標識白血球投与 1 時間以内、24 時間後、48 時間後と撮像した。 ^{67}Ga は 290 keV, ^{111}In は 240 keV のフォトピークにてシンチグラフィを得た。

6) 臓器分布の検討

^{111}In -oxine の標識白血球投与後 72 時間で屠殺し、各臓器の g 当たりの放射能を井戸型シンチレーションカウンタ (Aloka Model TDC-5) により測定し、 ^{111}In , ^{67}Ga 同時投与群は pure Ge 半導体検出器 (Aptec 社有効面積 16.2 cm^2) にて測定した。

III. 結 果

1) ウサギ膿瘍について

テレピン油注射後 24 時間で注射部位は硬くなり腫脹が認められる。48 時間から 96 時間で腫脹部位は次第に軟化する。96 時間後の膿瘍の組織像では、中心は壊死層がありテレピン油は抜け落ちており周囲に白血球の濃染像がみられ、周囲とは明瞭に境界されている (Fig. 2)。膿瘍組織の状態からみて 48~96 時間をもっとも多く ^{111}In -oxine 標識白血球を集積する時期と考えることができる。

2) ウサギ白血球標識について

incubation 後、生理食塩水で 2 回洗浄した白血

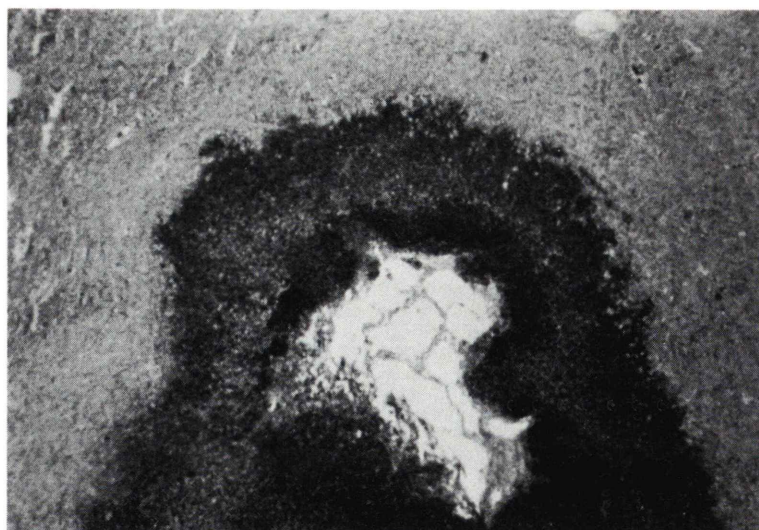


Fig. 2 Microscopic structure of tupentine-oil-induced abscess in a rabbit. ($\times 100$)

球の数は 10^7 個/ml のオーダーであり、その標識率は60%前後であった。標識白血球が膿瘍に集積するためには、標識操作をうけたあとも活きた細胞が十分存在する必要がある。この白血球の viability は、トリパンプルー排除試験によって確認できるが、結果は90%以上であった。

3) シンチグラフィの経時的变化

4羽のウサギのシンチグラフィを ^{111}In -oxine 標識白血球投与後1時間、24時間、48時間で撮像した。そのうちの代表的なシンチグラフィを Fig. 3 (a), (b), (c) と示す。矢印はそれぞれのウサギの膿瘍作製部位を示す。(a) ではまだ描出されておらず、肺、肝、脾への集積が強い。(b) では肺への集積は減少し、肝、脾、骨髓、腎への集積が増

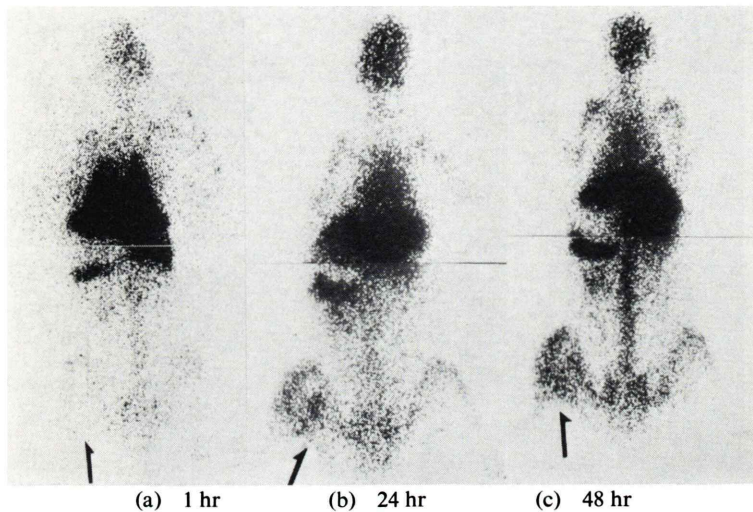


Fig. 3 Whole-body scintigrams of a rabbit at 1, 24 and 48 hours after the ^{111}In -oxine labeled leukocytes administration. An abscess in the left hind limb is delineated at 24 and 48 hours (arrows).

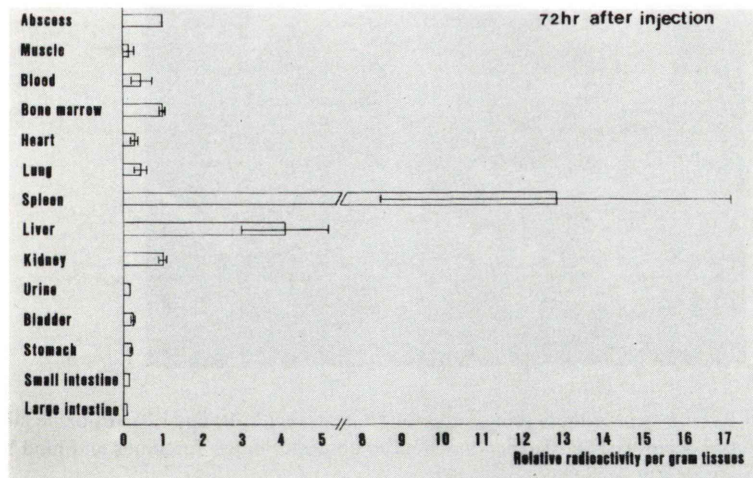


Fig. 4 Distribution of ^{111}In -oxine labeled leukocytes in three rabbits bearing turpentine induced abscesses. Radioactivities in organs are expressed in relative values to that of abscess.

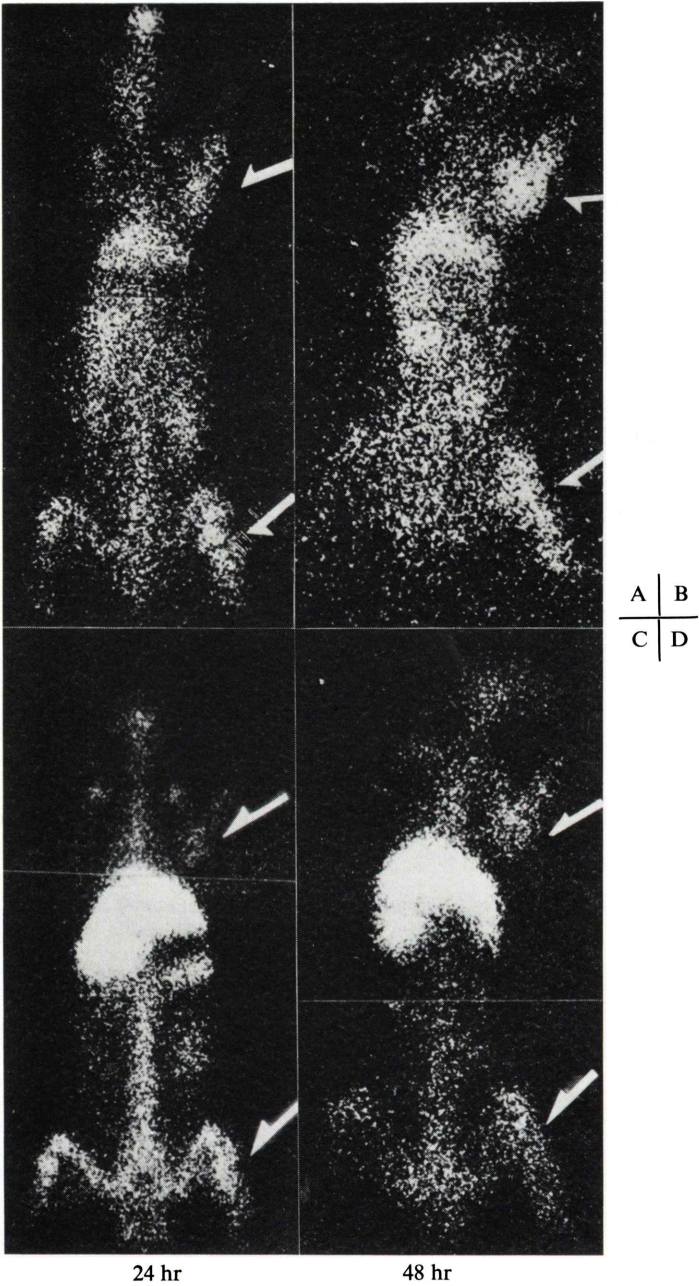


Fig. 5 Rabbits' whole-body scintigrams of ^{67}Ga citrate (A, B) and of ^{111}In -oxine labeled leukocytes (C, D). Turpentine induced abscesses in left forelimbs and hind limbs are clearly delineated in all images.

加し、膿瘍の部位は鮮明に描出されてくる。(c)でも(b)と同程度もしくはそれ以上に膿瘍描出がみられる。肝、脾、骨髄、腎への集積はなお強くみられる。頭蓋、心への集積も認められる。

4) 臓器分布の検討

^{111}In -oxine 標識白血球単独投与群の各臓器の g 当たりの 1 分間のカウント数を膿瘍を 1 として相対比で表わしたグラフが Fig. 4 である。

脾、肝への集積は著明で、膿瘍と健側の筋肉との比率は最高 19 対 1 で平均 5.8 対 1 であった。次に ^{111}In -oxine 標識白血球と ^{67}Ga citrate 同時投与群で g 当たりの投与量パーセントを算出した。膿瘍と健側筋肉との比が ^{67}Ga citrate の 7.6 に対し、 ^{111}In -oxine 標識白血球は 6.2 であった。同一ウサギのシンチグラフィを Fig. 5 に示す。上段は ^{67}Ga -citrate 投与後 24 時間、48 時間で撮像したもので、下段は ^{111}In -oxine 標識白血球の同時間像である。 ^{67}Ga citrate の方が膿瘍描出はまさっている様にみえるが、ボディバックグランドが高い。一方 ^{111}In -oxine 標識白血球は、肝、脾、骨髄の描出が強いが軟部組織の放射能は低く、膿瘍の像は鮮明である。

IV. 考 察

^{111}In -oxine を標識したウサギ白血球はウサギのテレピン油誘発膿瘍を描出し得た。 ^{67}Ga citrate と比較して膿瘍対健側筋肉の集積比は同程度もしくはやや低かった。この膿瘍への集積の程度について Thakur はイスに用いた実験で、はるかに ^{111}In -oxine の方が膿瘍への集積はすぐれていると報告している。われわれの成績が Thakur に比べてそれほど好成績でなかった原因としては、実験動物の差異、膿瘍へ白血球が遊走する能力や時期、白血球の標識率等が考えられる。ウサギの血液は多形核白血球よりリンパ球の方が多く 20~90% を占めると言われ¹³⁾、この点ではより多くの多形核白血球に標識しようとするには不利であることは否めないが、ウサギは膿瘍の動物モデルとして古くから諸家により利用されている。膿瘍をもつウサギを使用して ^{111}In -oxine 標識白血球の体内分布を調

べた報告は未だみられないが、 ^{67}Ga citrate についての報告は多い¹⁴⁾。ウサギ膿瘍への ^{67}Ga citrate の集積についてのわれわれの成績は Tscan 等の報告¹⁵⁾している結果と良く一致している。

つぎに標識された白血球の遊走能や遊走する期間について考察する。白血球の遊走能は、Boyden の方法等で調べることができるが、今回われわれはこれは検討していない。標識後も白血球が活きているか否かを調べるには、トリパンブルー排除試験を行う。これは活きている白血球はトリパンブルーに染色されないという簡単な検査法であるが、この結果は 90% 以上であった。すなわち 90% 以上の白血球が遠心操作にも耐え得たことがわかった。遊走する期間については ^{111}In -oxine 標識白血球と ^{67}Ga citrate の同時投与群、 ^{111}In 単独投与群ともに直後<24 時間後<48 時間後と時間が経過する程、膿瘍の描出は良くなっている。つまり膿瘍作製後 3 日までは暫時的に白血球が膿瘍に集まるものと考えられる。

つぎに白血球の標識率であるが、この実験における 60% 前後の標識率は Thakur 等の得た 75~95% に比し低い値である。これは標識技術より白血球の細胞数によるものと考えられる。 2×10^6 個/ml の細胞数ではヒト血液でも同程度の標識率である。したがって白血球をより多く集める血球分離法を選択することにより、この問題は解消され得ると考えられる。

シンチグラフィを ^{67}Ga citrate と比較すると ^{67}Ga citrate の方はボディバックグラウンドが高く、胃や小腸の放射能もかなり多い。これに対し ^{111}In -oxine 標識白血球はボディバックグラウンドが低く、特に腹部に障害陰影が少ない (Fig. 5)。したがって軟部組織や下腹部の膿瘍描出には ^{111}In -oxine 有利であろう。しかし両者とも、肝、脾、腎への集積は多く肝膿瘍等の検索は困難である。 ^{111}In -oxine はイスやヒトでは腎の描出がほとんどみられないが、ウサギでは膿瘍より投与量%が高い。Goedemans 等¹⁶⁾はヤギの体内分布でやはり腎の集積が肝より多い結果を報告している。多分動物の種特異性によるものと考えられる。

V. 結 語

^{111}In -oxine 標識白血球はウサギの膿瘍を良く描出したが、 ^{67}Ga citrate と比較して膿瘍対筋肉比は同程度もしくはやや少なかった。しかしバックグラウンドが少なくシンチグラフィのきれいな本法は軟部組織や下腹部の膿瘍描出に有効と考えられた。今後白血球分離法等を改善し、標識率を向上させることにより Specificity に乏しい ^{67}Ga citrate に代わる炎症巣描出化合物として今後期待されよう。

稿を終るにあたり、組織標本作成に御助力をいただいた千葉大学第一病理学教室岩崎勇助教授に感謝致します。

なお、本論文の要旨は第19, 20回日本核医学会総会、第39回日本医学放射線学会総会で発表した。

文 献

- 1) Ariel IM: Pick up of radioactive iodinated albumin by abscesses. *Arch Surg* **84**: 432, 1962
- 2) Winkelman J, Collica CJ, Sandler SG: The delineation of abscesses by scintiphotography using ^{51}Cr labeled leukocytes. *Amer J Roentgen* **103**: 881-885, 1968
- 3) Lavender JP, Lowe J, Barker JR, et al: Gallium 67 citrate scanning in neoplastic and inflammatory lesions. *Brit J Radiol* **44**: 361-366, 1971
- 4) Blair DC, Carroll M, Carr E, et al: ^{67}Ga -citrate for scanning experimental staphylococcal abscesses. *J Nucl Med* **14**: 99-102, 1973
- 5) Harvey WC, Silva J, Haines RS: Detection and delineation of abdominal abscesses in rabbits with ^{67}Ga . *Radiology* **107**: 681-682, 1973
- 6) Burleson RL, Johnson MC, Head H: Scintigraphic demonstration of experimental abscesses with intravenous ^{67}Ga citrate and ^{67}Ga labeled blood leukocytes. *Ann Surg* **178**: 446, 1973
- 7) Yeats MG, Scarchilli J, Vescio PD, et al: Leukocyte labeling for abscess detection. *J Nucl Med* **16**: 583, 1975
- 8) Lamoy RE, Hobson RW: Indium-111 chloride scanning for identification of experimental abscesses. *J Surg Res* **21**: 85-90, 1976
- 9) McAfee JG, Thakur ML: Survey of radioactive agents for in vitro labeling of phagocytic leukocytes. I. Soluble agents *J Nucl Med* **17**: 480-487 1976
- 10) Thakur ML, Coleman RE, Welch MJ: Indium-111-labeled leukocytes for the localization of abscesses: preparation, analysis, tissue distribution and comparison with gallium- 67 citrate in dogs. *J Lab Clin Med* **89**: 217-227, 1977
- 11) Thakur ML, Coleman RE, Mayhall CG, et al: Preparation and evaluation of ^{111}In -labeled leukocytes as an abscess imaging agent in dogs. *Radiology* **119**: 731-732, 1976
- 12) McAfee JG, Gagne GM, Grossman ZD, et al: Distribution of Leukocytes Labeled with In-111 oxine in Dogs with Acute Inflammatory Lesions. *J Nucl Med* **21**: 1059-1068, 1980
- 13) 田嶋嘉雄編集: 実験動物学各論. 朝倉書店, 88, 1974
- 14) William LC, Harvey C, Silva MJ, et al: Detection and Delineation of Abdominal Abscesses in Rabbits with ^{67}Ga . *Radiology* **107**: 681-682, 1973
- 15) Tsan MF, Chen Y, Wagner Jr. HN, et al: Studies on Gallium Accumulation in Inflammatory Lesions: I. Gallium Up take by Human polymorphonuclear Leukocytes. *J Nucl Med* **19**: 36-43 1978
- 16) Goedemans WT, Hardeman MR, Belfer AJ: Comparison of Indium-111 Oxine Labelled Autologous Granulocytes with Indium-111 Oxinate and Indium-111 Chloride as Abscess Scanning Agents. *Eur J Nucl Med* **5**: 63-68, 1980

Summary

Abscess Imaging with ^{111}In -oxine Labeled Leukocytes —A Comparison with ^{67}Ga citrate in Rabbits Bearing Abscesses—

Kimiichi UNO*, Guio UCHIYAMA***, Keiko IMAZEKI**, Takeyoshi MIYOSHI**,
Hiromichi AKIBA** and Noboru ARIMIZU**

**Department of Radiology, Chiba University Hospital*

***Department of Radiology, Chiba University School of Medicine*

****Department of Radiology, Yamanashi University School of Medicine*

Abscess imaging with ^{111}In -oxine labeled leukocytes was performed in rabbits bearing turpentine-induced abscesses. After simultaneous administration of ^{111}In -oxine labeled leukocytes and ^{67}Ga citrate, gamma camera images were obtained over a period of 48 hours. Rabbits were sacrificed 72 hours later and the radioactivities of rabbits' tissues were counted on using a germanium semiconductor detector. ^{111}In -oxine labeled leukocytes showed almost the same abscess-to-

muscle ratio as of ^{67}Ga citrate. Delineated abscess images of ^{111}In -oxine labeled leukocytes though, were superior to those of ^{67}Ga citrate because of fairly low radioactivity in the body background. ^{111}In -oxine labeled leukocytes imaging seems to be a useful procedure in detecting abscesses especially of lower abdomen and soft tissues.

Key words: ^{111}In -oxine labeled leukocytes, Abscess imaging, ^{67}Ga citrate, Ge semiconductor detector, Tissue distribution