

《原 著》

N-isopropyl-p-[I-123]Iodoamphetamine の血液分画への分布

——in vitro での検討——

熊崎 智司* 織内 昇** 富吉 勝美** 井上登美夫**
佐々木康人**

要旨 I-123 IMP の体内挙動解明の一環としてヒト末梢血と混和した I-123 IMP の血液成分(血球・血小板・血漿)への放射能分布を in vitro で検討した。37°C で incubate し血球・血漿・富血小板血漿成分に分離し、ウェルカウンターで各成分の放射能を測定した。また血球と I-123 IMP の結合を評価するための対照として、Tc-99m DTPA と血液を混和後、生理食塩水で洗浄を繰り返して放射能を測定し、I-123 IMP と比較した。32.0±6.3% (m±1 SD) は血漿に、68.0±6.3% (m±1 SD) は血球成分に分布した。富血小板血漿には 1.7±1.1% (m±1 SD) が分布したにすぎなかった。血液分画への分布比率は、incubation 時間にかかわらず一定であった。血球の洗浄結果は、Tc-99m DTPA では、血球成分に平均 22.5% が分布し、洗浄ごとにその 32±2.1% が上清液中に移行し、3 回洗浄後は平均 6.8% が血球に残存したのみであったのに対し、I-123 IMP では、洗浄上清液に、血球に対してほぼ一定の比率 (8.20±0.57%) の放射能が認められ、8 回の洗浄後も 31.1% が血球成分に残った。I-123 IMP の血球成分への分布には、単に非特異的な結合によるのみならず、特異的な血球細胞膜への結合機序が関与していると推定される。

I. はじめに

N-isopropyl-p-[I-123]Iodoamphetamine (以下 I-123 IMP と略す) は、脳血流を評価するのみならず、近年は肺^{1,2)}・肝³⁾のアミン代謝を体外的に測定しようとの報告もなされてきている。しかし、I-123 IMP の生体内分布と代謝過程については、不明な部分が多い。

一方、各種生体内アミンの体内貯蔵部位については、多くの研究の蓄積がなされている。ヒスタミンは、ヒトでは好塩基球、ウサギでは血小板に多く分布している^{4,5)}。セロトニンも脳・消化管とともに血小板に多く分布することが知られている⁶⁾。

I-123 IMP の体内挙動を明らかにするためには、血球・血小板といった血液分画への取り込みの有無を検討することが必要である。今回は、血液と I-123 IMP とを in vitro で混和して、血液成分への放射能分布を検討したので報告する。

II. 方 法

1) 血液分画への分布と incubation による影響

血液分画(血球・血小板・血漿)への I-123 IMP の分布を、ヒトの血液を対象として検討した。I-123 IMP 11.1 MBq (0.3 mCi) を生理食塩水 100 ml で希釈し 111 kBq (3 μCi)/ml とした。正常人 5 人を対象として、ACD 液 2.8 ml とともに 20 ml の静脈採血を行った。各検体を 4 ml ずつ 5 本の試験管に分注した。各試験管に希釈した I-123 IMP 1 ml を加えて混和し、よく攪拌後 37°C で incubate した。血液成分への放射能分布とその経時的变化を見る目的で、incubation 時間をそれぞれ 0 分、5 分、10 分、20 分、30 分と変え、以下の血液成分分離と測定を行った。incubate したのち

* 関東通信病院呼吸器科

** 群馬大学医学部核医学講座

受付：元年 11 月 22 日

最終稿受付：2 年 1 月 17 日

別刷請求先：東京都品川区東五反田 5-9-22 (☎ 141)

関東通信病院呼吸器科

熊 崎 智 司

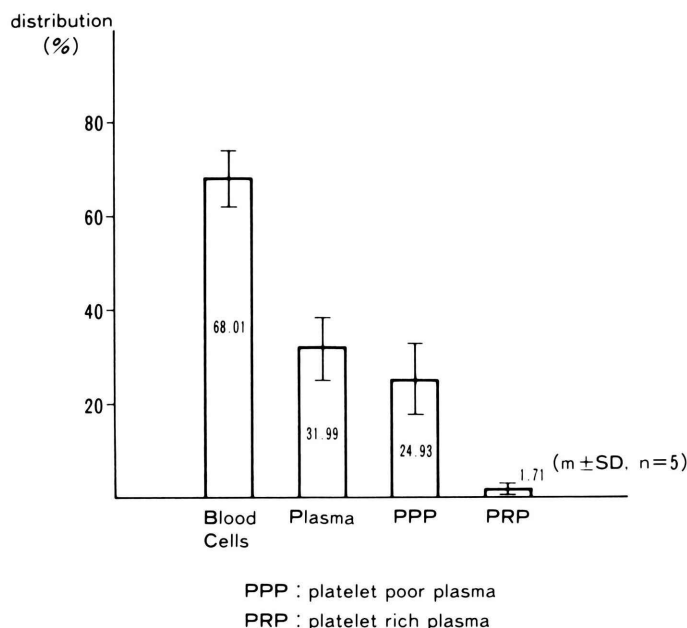


Fig. 1 Distribution of I-123 IMP among the peripheral blood components.

22°C, 1,000 回転, 10 分間の遠心分離を行って血球成分と血漿成分に分画し, 血球成分と血漿成分の放射能をウェルカウンターで測定した. 次いで血漿成分を pH 6.5 に調整後, 3,000 回転, 15 分の遠心操作を行って血漿成分から富血小板血漿を分離し, 富血小板血漿と乏血小板血漿の放射能をそれぞれウェルカウンターで測定した.

2) 血球成分への分布と, 血球洗浄による変化の検討

Tc-99m DTPA (Diethylene triamine penta acetate) を対照として, I-123 IMP の血球成分への分布が, 血球の洗浄によってどのように変化するかを検討した. 上記の要領で希釈した I-123 IMP 100 μ l と正常人 5 人の全血 2 ml を混和し 10 分間の incubate 後, 1,000 回転, 10 分間の遠心を行って血球成分と血漿成分に分画した. 一方, Tc-99m DTPA も生理食塩水で希釈し, 濃度を 18.5 kBq (0.5 μ Ci)/ml とした. この希釈した Tc-99m DTPA 50 μ l を全血 2 ml と混和攪拌後, I-123 IMP と同様な手順で血漿成分と血球成分に分画し, これらの放射能をウェルカウンターで測定した.

次いで, おおのの血球成分に生理食塩水 1 ml を加えて 1,000 回転, 1 分間の遠心を行い, 上清 0.5 ml をとり, 上清と血球の両者をウェルカウンターでカウントした. この操作を IMP では 8 回, Tc-99m DTPA では 3 回繰り返した.

以上の結果に対する統計学的な有意差の検定は student-t 検定を用いた.

III. 結 果

1. I-123 IMP の血液分画への分布 (Fig. 1)

血漿成分・血球成分・富血小板血漿成分・乏血小板血漿成分のカウント比を算出し, 5 例の平均を比較した. 血漿成分には平均 $32.0 \pm 6.3\%$, 血球成分には平均 $68.0 \pm 6.3\%$ が分布し, 血球への分布が予想外に大きいことが明らかになった. 一方, 富血小板血漿成分には平均 $1.7 \pm 1.1\%$ が分布したにすぎなかった.

2. incubation 時間による影響 (Fig. 2)

incubation 時間を 0 から 30 分まで 5 段階 (0 分, 5 分, 10 分, 20 分, 30 分) に変化させた場合の, 血球・血漿分画のカウント比を算出した. incuba-

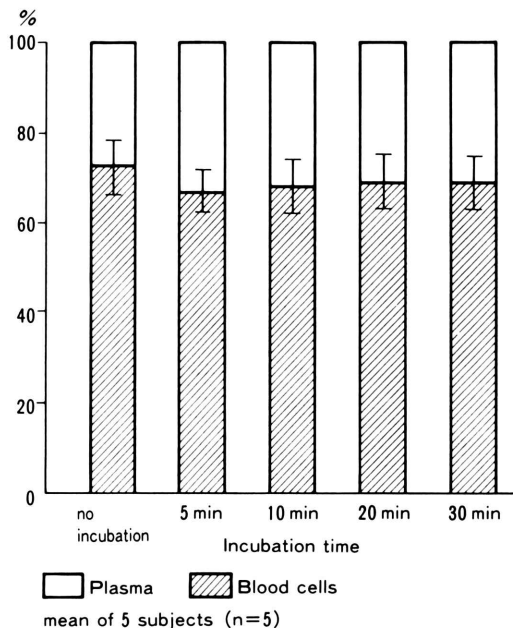


Fig. 2 The proportions of I-123 IMP binding to blood cells by the change of incubation time.

tion 時間群での平均値を算出し、各群間で有意差が見られるかを検討した。血液分画への分布比率は、incubation 時間にかかわらず一定で、血球が平均66%から73%、血漿は27%から33%であり、incubation 時間による変化に有意差は認められなかった。

富血小板血漿への放射能は、incubation 時間によって平均 0.99% から 1.71% に分布したが、各 incubation 時間群間での有意差は認められなかった。乏血小板血漿への分布は 20.8% から 27.1% であり、各 incubation 時間群間でやはり有意差を認めなかった (Table 1)。

3. 洗浄による血球成分への分布の変化

(Fig. 3)

I-123 IMP の上清液には、血球に対してほぼ一定の比率のカウントが認められた。洗浄ごとに上清液に認められるカウント比は8回の洗浄でもほぼ変わらず、 $8.20\% \pm 0.57\%$ であった。

I-123 IMP では、8回洗浄後も平均 31.1% が血

Table 1 Effect of incubation time on the distributions of I-123 IMP to the platelet poor plasma or platelet rich plasma

	Incubation Time (min)				
	0	5	10	20	30
PPP (%)	21.70 ± 8.62	27.08 ± 6.46	24.93 ± 7.74	20.79 ± 6.03	22.91 ± 8.55
PRP (%)	0.99 ± 0.33	1.38 ± 0.42	1.72 ± 1.09	1.15 ± 0.53	1.23 ± 0.46

PPP: Platelet poor plasma PRP: Platelet rich plasma

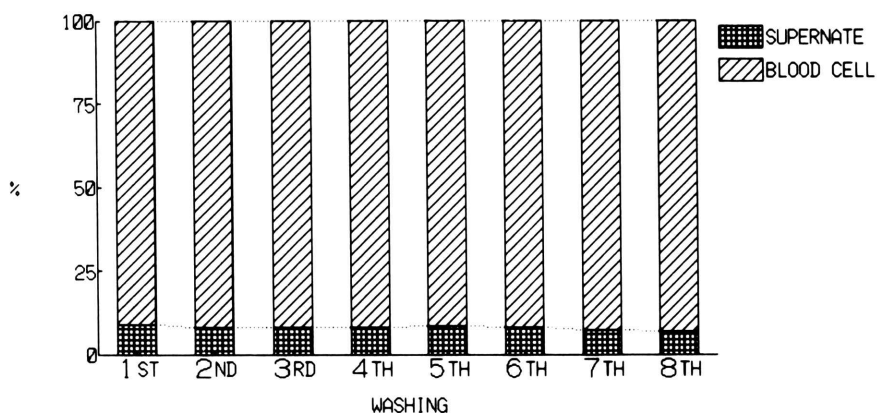


Fig. 3 Distribution of I-123 IMP between blood cells and supernates after repeated washing with salines.

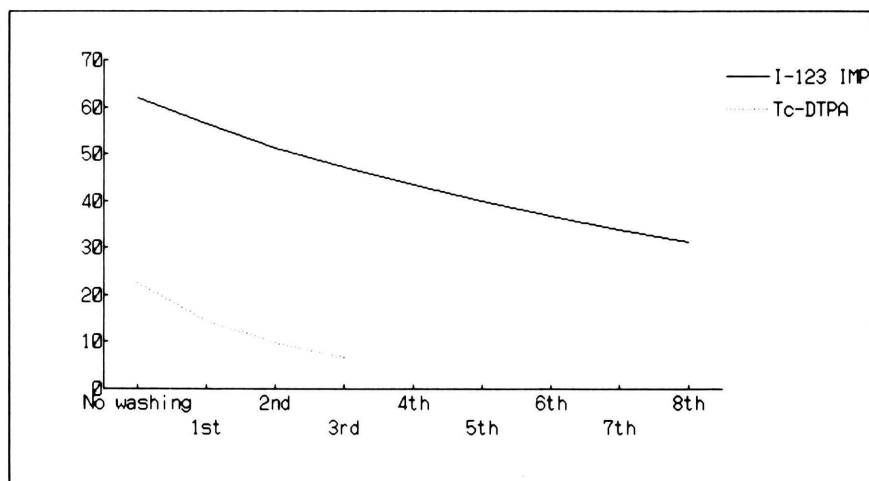


Fig. 4 Decrease in the distribution ratio to the blood cells bound to I-123 IMP and Tc-99m DTPA by repeated washing.

球成分に残ったが、Tc-99m DTPA では、洗浄前血球成分に認められたカウント比は、全血の平均22.5%であったが、洗浄ごとにその32%±2.1%が上清液中に移行し、3回洗浄後は平均6.8%が血球に残存したのみであった (Fig. 4).

IV. 考 案

薬物とその薬理作用を生体内で表すのは、血漿中の非蛋白結合成分の薬物活性によると考えられる。またセロトニンやノルエピネフリンのような生体内アミンは、ストレス・炎症時に局所に集まった血小板から放出されて、さまざまな薬理作用をきたすことが知られている⁷⁾。今回の検討では、*in vitro* で I-123 IMP は血小板成分にほとんど分布しないことが明らかになった。生体内での I-123 IMP の体内挙動を検討する際には、血小板への取り込み、あるいは血小板からの放出は大きなものでなく無視し得ると予想される。

今回の検討では、incubate 時間に関係なく、I-123 IMP は血球と血漿には、ほぼ2:1の割合で血球成分に多く分布することが明らかになった。一方、対照に選んだ Tc-99m DTPA は血球成分に平均22%が分布するのみであった。血球と血漿の分離が徹底せず、血球成分内に混在した血漿成分

中の I-123 IMP を検出した可能性については、以上の結果から否定的である。

血球を洗浄した実験で、Tc-99m DTPA は、洗浄ごとに32ないし36%という高率で上清液に移行して、3回の洗浄後、血球成分にはカウント比にして6.8%が残存したのみであったのに対して、I-123 IMP では、洗浄を繰り返しても8%という一定の低い比率で上清液に移行していた。この結果、8回の洗浄を繰り返しても、なお I-123 IMP は、平均31.1%が血球成分に残存した。Kuhl ら⁸⁾ は、I-123 IMP の結合した血球成分を、血漿と再度攪拌し血漿内に IMP が戻ることを報告している。彼らは、I-123 IMP は血漿と血球間では *freely exchangeable* であるとし、高圧液相クロマトグラフィーでの検討では、赤血球内での I-123 IMP の代謝は認められなかったとしている。われわれの方法は、洗浄に生理食塩水を使用している点が、被検者血清を洗浄に用いた Kuhl らの方法と異なるが、血球成分の表面に I-123 IMP が単に非特異的に結合するのみならず、特異的な血球細胞膜への結合の可能性も推定される。一定量の I-123 IMP が洗浄によって上清液に移行するメカニズムは、洗浄によって血球の細胞膜に結合していた I-123 IMP が遊離した可能性が考えられるが、溶

血による血球から洗浄液への移行も考慮すべきであらう。

生体内に投与された I-123 IMP は、早期に高率に肺に集積することが知られている^{9,10)}。I-123 IMP の血液への分布については、Rapin ら¹¹⁾ が、ラットでは投与後急激に血中の放射能が減少し、投与後 5 分ではほぼプラトーに達したと報告している。今回の *in vitro* での検討結果を考え合わせると、血管内に投与された I-123 IMP は投与直後に高率に血球成分に結合し、肺血管床を通過する時に、肺の血管内皮細胞と血球成分の間で、I-123 IMP の受渡しが起きている可能性が推察される。今後は、*in vivo* での I-123 IMP の血液成分、特に血球成分への分布の経時的变化を測定する必要があると考え、現在検討中である。

I-123 IMP への各臓器への分布を画像診断・代謝機構の解明に応用するとき、この血球成分への高率の分布と血球からの放出過程は重要な因子であると思われ報告した。

この要旨は、第 28 回日本核医学会総会（東京）にて報告した。

文 献

- 1) Rahimian J, Glass EC, Touya JJ, et al: Measurement of metabolic extraction of tracers in the lung using a multiple indicator dilution technique. *J Nucl Med* **25**: 31–37, 1984
- 2) Touya JJ, Rahimian J, Grubbs DE, et al: A non-invasive procedure for *in vivo* assay of a lung amine endothelial receptor.
- 3) 周藤裕治, 石井 靖, 野口正人, 他: ¹²³I-IMP による肝シンチグラムの試み. *核医学* **25**: 455–458, 1988
- 4) Garaham HT, Lowry OH, Wheelwright F, et al: Distribution of histamine among leukocytes and platelets. *Blood* **10**: 467–481, 1955
- 5) Code CF, Mitchell RG: Histamine, Eosinophils and Basophils in the blood. *J Physiol* **136**: 449–468, 1957
- 6) Paasonen MK: Release of 5-hydroxytryptamine from blood platelets. *J Pharm Pharmacol* **17**: 681, 1956
- 7) 山崎英正, 吉田 博: 生体アミン貯蔵と遊離. p. 237, 1975, 医歯薬出版
- 8) Kuhl DE, Huang SH, Selin C, et al: Quantifying Local Cerebral Blood Flow by N-isopropyl-p-[I-123]Iodoamphetamine (IMP) Tomography. *J Nucl Med* **23**: 196–203, 1982
- 9) 星 博昭, 陣之内正史, 渡辺克司, 他: N-isopropyl-p-iodoamphetamine の体内分布に関する実験的研究. *日本医放会誌* **47**: 497–514, 1987
- 10) Winchell HS, Horst WD, Braun L, et al: N-Isopropyl-[¹²³I]p-iodoamphetamine: Single pass brain uptake and washout; Binding to brain synaptosomes; and localization in dog and monkey brain. *J Nucl Med* **21**: 947–952, 1980
- 11) Rapin JR, Poncin-Lafitte ML, Duterte D, et al: Iodoamphetamine as a new tracer for local cerebral blood flow in the rat. *J of Cerebral Blood Flow and Metabolism* **4**: 270–274, 1984

Summary

Distribution of N-Isopropyl-p-[I-123]Iodoamphetamine among the Peripheral Blood Components: An In Vitro Study

Satoshi KUMAZAKI*, Noboru ORIUCHI**, Katsumi TOMIYOSHI**,
Tomio INOUE** and Yasuhito SASAKI**

*Department of Respiratory Medicine, Kanto Teishin Hospital, Tokyo, Japan

**Department of Nuclear Medicine, Gunma University, Maebashi, Japan

With the purpose to clarify dynamics of N-isopropyl-p-[I-123]iodoamphetamine (I-123 IMP) in the blood stream its binding to the peripheral blood components was determined by in vitro experiment. I-123 IMP was added to the peripheral venous blood obtained from healthy volunteers to be incubated for different length of time (0–30 min) at 37°C. The blood was then separated into blood cells and plasma. From the latter platelet rich plasma were separated. Radioactivity in each blood component was counted in a well type scintillation counter respectively. To evaluate the affinity of I-123 IMP to red blood cell the component containing blood cells were washed repeatedly with salines. It was found that the fraction of radioactivity in the blood cell component was $68.0 \pm 6.3\%$ ($m \pm 1$ S.D.), which was higher than that in the plasma ($32.0\% \pm 6.3\%$). The radio-

activity in the platelet-rich plasma was only $1.7 \pm 1.1\%$ of the total I-123 IMP activity. This percentage did not change by the incubation time. When Tc-99m DTPA was incubated with blood, radioactivity in the blood cell component was only 22.5%, which is further lowered by $32 \pm 2.1\%$ after each washing to reach 6.8% after three times washing. In contrast the radioactivity of I-123 IMP in blood cell component remained as high as 31.1% after eight times washing. Almost constant fraction ($8.20 \pm 0.57\%$) of radioactivity was freed into supernate by each washing. These findings suggest that a certain specific binding mechanism is involved in the binding of I-123 IMP to red blood cells.

Key words: N-isopropyl-p-[I-123]iodoamphetamine (I-123 IMP), Peripheral blood components, In vitro study.