

蛋白質・ペプチドを基礎とする放射性医薬品

荒 野 泰*

要旨 ラジオアイソトープ標識化学の進展により、核医学应用到に適した金属ラジオアイソトープを生体内で蛋白質と安定に結合可能となった。また分子生物学の進展を背景にして、様々な蛋白質やペプチドの核医学への利用が進められている。しかし、これらの組み合わせで作製された放射性医薬品の投与では、肝臓や腎臓などへの長時間にわたる非特異的な放射能が観察される。これに対して最近、非標的組織への放射能の滞留には母体蛋白質のリソソーム代謝で生成する放射性代謝物の細胞内挙動が大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。さらに、非標的組織のリソソーム代謝で母体蛋白質から尿排泄性の高い放射性代謝物を遊離する標識試薬は、非標的組織への放射能の滞留を大きく低減することが確認された。これらの結果は、蛋白質・ペプチドを基礎とする放射性医薬品の診断精度、治療効果のさらなる向上が達成されることを強く示唆する。

(核医学 33: 1111-1118, 1996)

1. はじめに

蛋白質・ペプチドを基礎とする放射性医薬品は蛋白質やペプチドと標的組織に発現される抗原やレセプターとの特異的な反応を利用した放射能のターゲティングである。本医薬品の核医学への応用は、標的組織への選択的な集積を示す蛋白質やペプチドの開発とこれらを核医学利用に適した種々のラジオアイソトープ(RI)と安定に結合する標識試薬の開発があつてはじめて可能となる。単クローン抗体の開発を契機として様々な抗原に対する単クローン抗体、さらに最近ではヒト型抗体や組織移行性に優れた低分子化抗体が開発された^{1,2)}。また somatostatin の合成誘導体である octreo-

tide に代表される数個のアミノ酸からなるペプチドの核医学への応用も進められている^{3,4)}。一方、放射性核種による蛋白質やペプチドの標識化学も大きな進展を遂げ、診断、治療に適した種々の RI と蛋白質やペプチドとを生体内で安定に結合する標識試薬が多く開発された。しかし、金属 RI を標識核種とする蛋白質・ペプチド放射性医薬品の投与では、肝臓、腎臓などの非標的組織への長時間にわたる放射能滞留が観察され、診断や治療の大きな障害となる。本稿では、非標的組織への放射能滞留の原因、さらにはその解消を目的とする放射試薬の開発について著者らがこれまで進めてきた研究成果を中心に概説する。

2. RI 標識蛋白質開発の経緯とその現状

蛋白質・ペプチドを基礎とする放射性医薬品の臨床応用には、テクネチウム-99m, インジウム-111, ガリウム-67 等の金属 RI による標識が不可欠である。しかし多くの金属 RI は蛋白質と直接には安定な結合を形成しない。これに対して Sundberg らは、金属 RI と安定な結合を形成するキレート試薬を予め蛋白質に導入し、次いで金属

第 35 回日本核医学会総会教育講演の内容を総説として編集委員会が投稿をお願いした。

* 京都大学薬学部放射性薬品化学教室

受付：8 年 7 月 14 日

別刷請求先：京都市左京区吉田下阿達町 46-29

(☎ 606-01)

京都大学薬学部放射性薬品化学教室

荒 野 泰

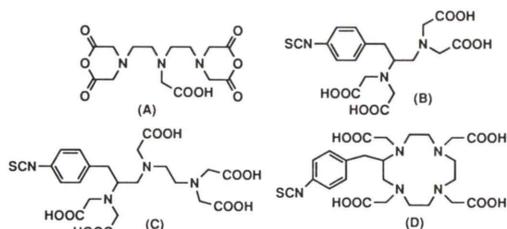


図1 蛋白質のインジウム-111 標識を目的に開発された代表的な二官能性キレート試薬. (A) DTPA 無水物, (B) ベンジル EDTA 誘導体, (C) ベンジル DTPA 誘導体, (D) 大環状ポリアミン (DOTA) 誘導体.

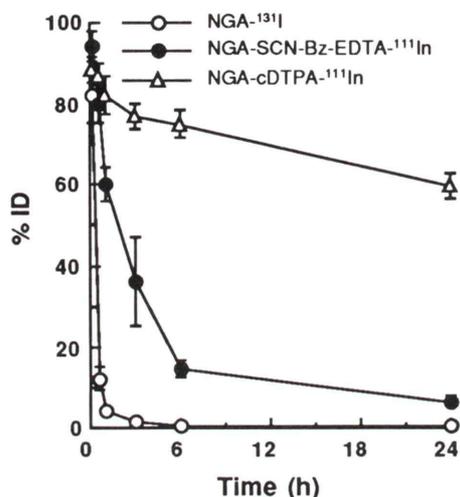


図2 In およびヨウ素標識 NGA をマウスに投与後の肝臓での放射能集積量の経時変化.

RI による標識を行う, いわゆる二官能性キレート試薬を用いる方法を考案した⁹⁾. 本報告がなされて以来, 種々の金属 RI, とりわけ IgG 抗体の生体内半減期に適したインジウム-111 (In) と生体内で安定な結合を形成する二官能性キレート試薬が多く考案されてきた⁶⁻⁸⁾. その代表例を図1に示す. これらの試薬で作製した In 標識抗体は, 実験動物では腫瘍への選択的な放射能集積を示したが, 臨床においては肝臓への長時間にわたる放射能滞留が観察された⁹⁾. これらの結果は, 生体内で安定な標識抗体を与える試薬の開発のみでは非標的組織への放射能滞留を解消し得ないこと,

および実験動物を用いた検討では臨床結果の予測が困難であることを示す. なお蛋白質の In 標識に広く応用されてきた DTPA 無水物 (図1A) は, In-DTPA キレートの生体内安定性が不十分と考えられてきた. しかし最近, 本試薬は蛋白質との結合反応で蛋白質の分子間および分子内架橋を形成し, これが In 標識蛋白質の生体内安定性を大きく損なう原因であることが明らかになった¹⁰⁾.

放射性ヨウ素標識抗体と In 標識抗体を用いた臨床研究において, 投与初期に肝臓へ集積する放射能には大きな相違は認められない⁹⁾. しかし, ヨウ素標識抗体は肝臓から経時的に放射能が消失するのに対して, In 標識抗体では放射能の蓄積あるいは増加を示す. また実験動物における検討から, RI 標識抗体は肝実質細胞で速やかに代謝される^{11,12)}. これらの知見から, In および放射性ヨウ素標識抗体の肝臓における放射能滞留性の相違は, 両標識抗体の肝細胞代謝で生成する放射性代謝物の細胞内挙動の相違に基づくことが示唆される.

3. 蛋白質の RI 標識試薬の評価系の検討

実験動物では, 放射性ヨウ素と In 標識抗体の間に大きな相違は観察されないことから, 肝細胞とりわけ肝実質細胞のリソソーム代謝で生成する放射性代謝物の挙動を追跡可能な実験系の構築が新たな標識試薬の開発に必要と考えられる. ガラクトース結合アルブミン (NGA) は投与後速やかに受容体との結合を介して肝実質細胞に取り込まれ, リソソームへ運搬, 代謝される^{13,14)}. そこで SCN-Bz-EDTA, cDTPA さらに放射性ヨウ素の直接標識で In およびヨウ素標識 NGA を作製し, 実験動物へ投与後の肝臓における放射能挙動を追跡した¹⁵⁾. その結果を図2に示す. それぞれの標識 NGA は投与後ほぼ定量的かつ速やかに肝実質細胞へ集積した. その後 NGA-cDTPA-In が長時間にわたる肝臓への放射能滞留を示したのに対して, NGA-SCN-Bz-EDTA-In は肝臓からの放射能消失を示した. しかしその消失速度は, NGA-I と比べて大きく遅延した. また NGA-SCN-Bz-

EDTA-In では胆汁排泄により腸管から糞便へと放射能が排泄されたが、I-NGA では甲状腺、胃への高い放射能の再分布を示した。両 In 標識 NGA の投与 1 時間後に肝臓に残存する放射能、投与 24 時間後までに尿あるいは糞便中に排泄された放射能を分析した結果、それぞれ L リジン結合体である lysine-DTPA-In, lysine-SCN-Bz-EDTA-In であった¹⁶⁾。これらの結果から、標識試薬に由来する放射性代謝物の細胞内挙動が肝臓からの放射能の消失速度、経路に大きな影響を及ぼすことが確認された¹⁷⁾。なお、放射性ヨウ素で直接標識した蛋白質は、リソソーム代謝でモノヨウ素チロシンまで代謝された後、ヨウ素アニオンとなり、これが肝細胞から速やかに消失して、甲状腺、胃へと分布

する¹⁸⁾。本実験結果も同じ機序によると考察される。以上の検討は、肝リソソーム代謝で蛋白質から尿排泄性の高い放射性代謝物を速やかに遊離する RI 標識試薬の開発が肝臓への長時間にわたる放射能滞留の解消に有効であることを示唆する。また NGA をモデルとする RI 標識試薬の評価系は、肝臓からの放射能排泄を目的とする蛋白質の標識試薬の開発に有用と考えられる。

4. 放射性代謝物の体内挙動を基礎とする標識試薬の設計

(1) エステル結合を代謝性スペーサーとする RI 結合試薬

肝臓などの非標的組織への放射能滞留の解消を目的として、エステル結合をはじめとして生体内で解裂可能な様々な化学結合を介して抗体と標識化合物とを架橋する、いわゆる代謝性スペーサーを介する標識抗体の検討がなされてきた¹⁹⁻²²⁾。しかしこれまでの検討の多くは、スペーサーの解裂で生成する放射性代謝物の化学構造や細胞内挙動の考察がなされていない。NGA を用いた検討も代謝性スペーサーを有する標識試薬の有用性を支持するが、それと同時にスペーサーの解裂で生成する放射性代謝物の細胞内挙動の重要性を強く示す。そこで、蛋白質の肝実質細胞のリソソーム代謝で尿排泄性の高いメタヨウ素馬尿酸を唯一の放射性代謝物として与えるスペーサー構造の探索から、代謝性スペーサーを有する蛋白質の標識

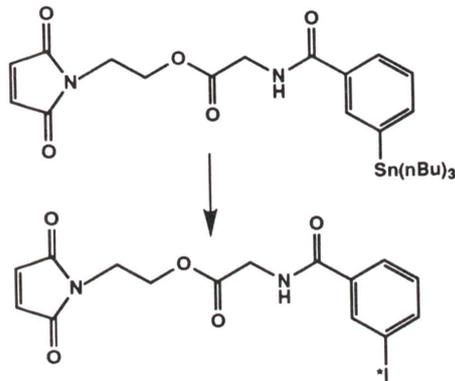


図 3 MIH およびその有機スズ前駆体の化学構造。MIH はマレイミド基を介して蛋白質と結合する。

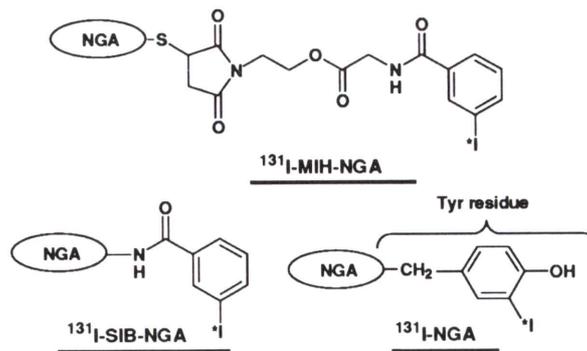


図 4 種々の方法で作製した放射性ヨウ素標識 NGA の化学構造。

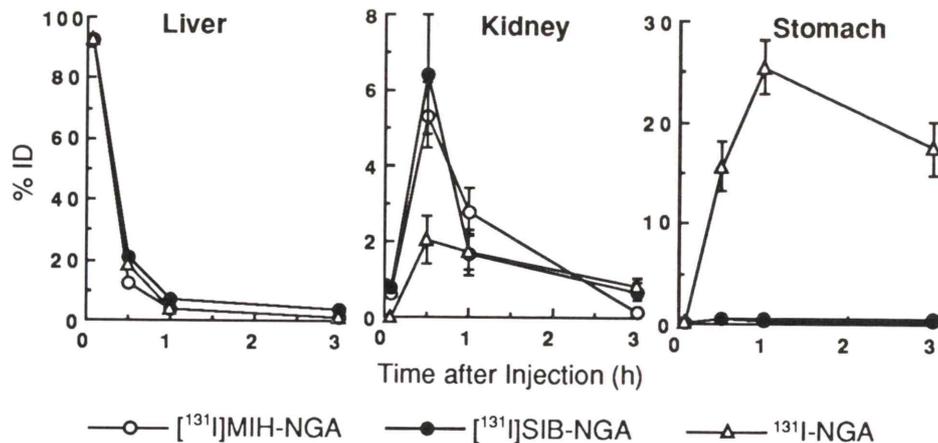


図5 それぞれのヨウ素標識 NGA をマウスに投与後の体内放射能分布の経時変化。

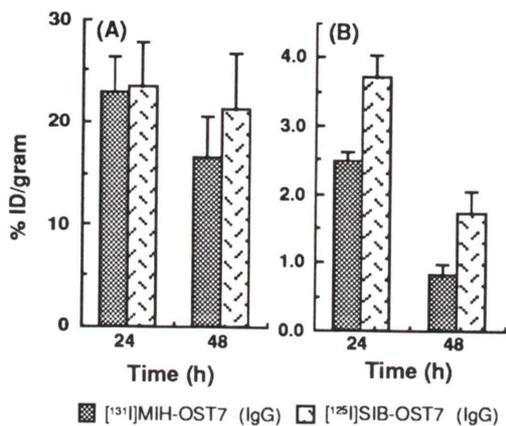


図6 MIH および SIB を標識試薬としたヨウ素標識単クローン抗体をヌードマウスに投与した際の腫瘍 (A), 肝臓 (B) への放射能集積の経時変化。

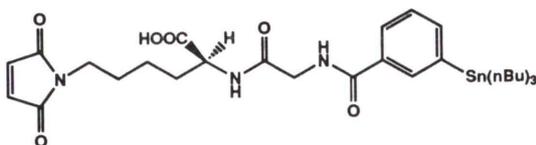


図7 HML の有機スズ前駆体の化学構造。

試薬を設計し、その有用性を改めて検討した。代謝性スペーサーには、共有結合で架橋した蛋白質からカルボン酸誘導体を選択的に遊離することが知られる唯一の化学結合であるエステル結合を選択し、図3に示すヨウ素標識試薬 MIH を設計、

合成した²³⁾。また肝臓、腎臓はエステラーゼ活性が高いこともエステル結合の選択に妥当性を与える。

NGA をモデル蛋白質として ¹³¹I]MIH-NGA を作製し、マウスに投与後、肝実質細胞リソソーム代謝で生成する放射性代謝物の構造とその体内挙動を検討した。比較のため、生体内脱ヨウ素化反応に安定な放射性ヨウ素結合蛋白質を与える ¹³¹I]SIB-NGA、放射性ヨウ素の直接標識から ¹³¹I-NGA を作製した。それぞれの化学構造を図4に示す。¹³¹I]MIH-NGA は ¹³¹I]SIB-NGA や ¹³¹I-NGA に比べて肝臓からの速やかな放射能消失を示した。また ¹³¹I]MIH-NGA, ¹³¹I]SIB-NGA では胃への放射能の分布を認めなかった。さらに ¹³¹I]MIH-NGA, ¹³¹I]SIB-NGA は投与後30分に一時的な腎臓の放射能上昇を示し、肝実質細胞リソソーム代謝で生成した放射性代謝物が肝臓から血液へ放出され、腎臓から尿中へと排泄されたことを示す(図5)。実際、¹³¹I]MIH-NGA 投与24時間後において、投与した90%以上の放射能が尿中へメタヨウ素馬尿酸として排泄された。以上の結果から、MIH は蛋白質のリソソーム代謝でメタヨウ素馬尿酸を選択的かつ速やかに遊離し、その結果、肝実質細胞から尿中へと速やかに放射能を排泄することが明らかとなった。

骨肉腫細胞に対する単クローン IgG 抗体 OST7

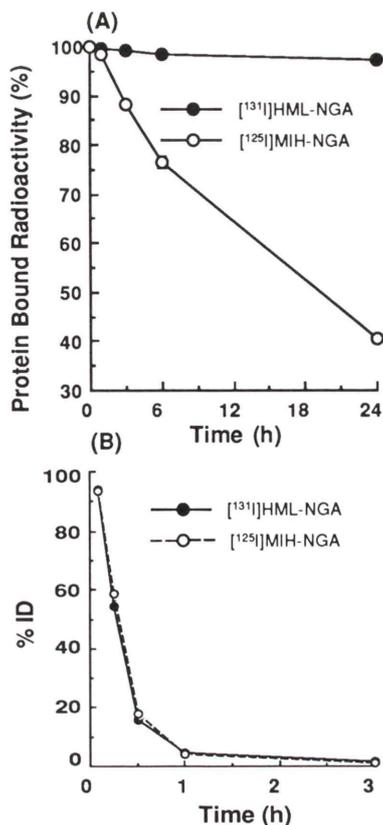


図 8 (A) HMLおよびMIHで放射性ヨウ素標識したNGAをヒト血清中37°Cでインキュベートした際にタンパク画分に残存する放射能の経時変化。(B) HMLおよびMIHで放射性ヨウ素標識したNGAをマウスに投与後の肝臓での放射能集積量の経時変化。

を用いてヌードマウスにおける放射能分布を検討した。[131I]MIH-OST7は投与24時間後において[125I]SIB-OST7と同程度の腫瘍への放射能集積を示す一方で肝臓への放射能集積を[125I]SIB-OST7の約2/3に低減した(図6)。その結果、[131I]MIH-OST7は腫瘍と肝臓との放射能集積比を有意に向上した。しかし[131I]MIH-OST7では腫瘍組織からも経時的な放射能消失が認められた。本実験腫瘍モデル系では、抗体の内在化は48時間でほとんど進行しないこと、[131I]MIH-OST7のエステル結合は血清中で徐々に解裂することから、腫瘍組織からの放射能の消失は血液中および腫瘍細胞表面

において[131I]MIH-OST7のエステル結合が解裂したためと考えられる²⁴⁾。以上の検討から、非標的組織のリソソーム代謝で抗体分子から尿排泄性の高い放射性化合物を速やかに遊離する標識試薬は、投与早期における正確な画像診断に有用であるが、エステル結合を有する標識試薬の治療への応用は困難と結論される。そこで、非標的組織のリソソーム代謝では蛋白質から尿排泄性の高い放射性代謝物を速やかに遊離する一方で、血液中では蛋白質と安定な結合を維持する新たな代謝性スペーサーの開発を検討した。

(2) 代謝性スペーサーとしてのペプチド結合の応用

NGAを用いた検討において、NGAのリジンεアミノ残基に結合したRI標識NGAは肝実質細胞リソソーム代謝でリジン結合体を最終放射性代謝物として生成した¹⁵⁾。また、RI標識抗体の肝細胞の代謝でも最終放射性代謝物としてリジン結合体が生成すると報告されている^{25,26)}。これらの結果は、蛋白質のリソソーム代謝は速やかであること、あるいは蛋白質のLリジンのαアミノ基、αカルボキシル基由来のアミド結合はリソソーム代謝で速やかに開裂することを強く示唆する。そこで、Lリジンを代謝性スペーサーに応用することを計画し、リジンのεアミノ基を蛋白質と結合可能なマレイミドに変換し、αアミノ基にメタヨウ素馬尿酸を結合した新規結合試薬HMLを設計、合成した(図7)。NGAを用いた検討から、Lリジンをスペーサーとする[131I]HML-NGAは血液中ではスペーサーの解裂を示さずにNGAと安定な結合を維持するが、肝実質細胞リソソーム代謝においてエステル結合をスペーサーとする[125I]MIH-NGAと同じ速度でメタヨウ素馬尿酸を遊離することが明らかとなった(図8)。すなわち、リソソーム代謝においてHMLはMIHと同じ選択性、速度で母体蛋白質からメタヨウ素馬尿酸を遊離するが、MIHとは異なり血液中では蛋白質と安定な結合を保つ²⁷⁾。したがって、HMLはMIHと同様に非標的組織に集積した標識抗体からメタヨウ素馬尿酸を遊離して放射能の尿排泄

を促進するが, MIH で問題とされた標的組織からの放射能消失を大幅に解消することが期待される。また HML は, 高分子量の IgG 抗体から低分子量のペプチドまで幅広く応用可能である。さらに化学構造と体内挙動の把握の容易な放射性ヨウ素標識体である HML を用いた研究成果は, 臨床使用に適した様々な金属 RI 結合試薬の設計においても基礎的指針を与えると考えられる。

5. おわりに

RI 結合ポリペプチドの非標的組織への放射能集積を解消する RI 結合試薬の開発研究について述べた。本研究は, 放射能のキャリアーとしての様々な蛋白質やペプチドの探索研究, さらには Hyperthermia や種々の Biological Response Modifiers の投与による蛋白質やペプチドの腫瘍集積性を増加する研究と相補的な関係にあり, これらの組み合わせにより蛋白質・ペプチドを基礎とする放射性医薬品による核医学診断精度さらには治療効果の大幅な向上が期待される。さらに本稿では触れなかったが, 近年, 数個から数十個のアミノ酸から構成される低分子ペプチドを母体とする放射性医薬品が開発が注目を集めている。しかしこの場合も非標的組織への放射能集積が観察され, その解消が要望される。低分子ペプチドへの RI の導入は, その生理活性のみならず体内挙動の変化も伴うことから, 化学構造・生理活性・体内分布の相関を考慮に入れた分子設計が必要とされる。しかし基本的には, これまで述べてきた蛋白質を母体とする放射性医薬品の設計が基本的な指針を与えると考えられる。

【謝辞】 本研究成果は京都大学薬学部, 医学部核医学科, 大阪薬科大学との共同研究から得られたものであり, 研究協力者諸氏に感謝いたします。本研究は文部省科学研究補助金 (07672419, 08557135) の助成を受けた。

文 献

- 1) Co MS, Yano S, Hsu RK, Landolfi NF, Vasquez M, Cole M, et al: A Humanized Antibody Specific for the Platelet Integrin GpIIb/IIIa. *J Immunol* **152**: 2968–2976, 1994
- 2) Yokota T, Milenic DE, Whitlow M, Schlom J: Rapid Tumor Penetration of a Single-Chain Fv and Comparison with Other Immunoglobulin Forms. *Cancer Res* **52**: 3402–3408, 1992
- 3) Bakker WH, Albert R, Burns C, Breeman WAP, Hofland LJ, Marbach P, et al: <In-111-DTPA-D-Phe1>-Octreotide, a Potential Radiopharmaceutical for Imaging of Somatostatin Receptor-Positive Tumors-Synthesis, Radiolabeling and In vitro Validation. *Life Sci* **49**: 1583–1591, 1991
- 4) Virgolini I, Kurtaran A, Raderer M, Leimer M, Angelberger P, Havlik E, et al: Vasoactive Intestinal Peptide Receptor Scintigraphy. *J Nucl Med* **36**: 1732–1739, 1995
- 5) Sundberg MW, Meares CF, Goodwin DA, Diamanti CI: Selective Binding of Metal Ions to Macromolecule Using Bifunctional Analogs of EDTA. *J Med Chem* **17**: 1304–1307, 1974
- 6) Breichbiel MW, Gansow OA, Atcher RW, Schlom K, Esteban J, Simpson DE, et al: Synthesis of 1-(p-isothiocyanatobenzyl) Derivatives of DTPA and EDTA. Antibody Labeling and Tumor-Imaging Study. *Inorg Chem* **25**: 2772–2781, 1986.
- 7) Deshpande SV, Subramanian R, McCall MJ, DeNardo SJ, DeNardo GL, Meares CF: Metabolism of Indium-Chelate Attached to Monoclonal Antibody: Minimal Transchelation of Indium from Benzyl-EDTA Chelate In Vivo. *J Nucl Med* **31**: 218–224, 1990
- 8) Broan CJ, Cox JPL, Craig AS, Katakly R, Parker D, Harrison A, et al: Structure and Solution Stability of Indium and Gallium Complexes of 1,4,7-triazacyclononanetriacetate and of Yttrium Complexes of 1,4,7,10-tetraazacyclododecanetetraacetate and Related Ligands—Kinetically Stable Complexes for Use in Imaging and Radioimmunotherapy—X-Ray Molecular Structure of the Indium and Gallium Complexes of 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic Acid. *J Chem Soc Perkin Trans* **2**: 87–99, 1991
- 9) Yokoyama K, Carrasquillo JA, Chang A, Colcher D, Roselli M, Sugarbaker P, et al: Differences in Biodistribution of Indium-111- and Iodine-131-Labeled B72.3 Monoclonal Antibodies in Patients with Colorectal Cancer. *J Nucl Med* **30**: 320–327, 1989
- 10) Arano Y, Uezono T, Akizawa H, Ono M, Wakisaka K, Nakayama M, et al: Reassessment of DTPA as a Chelating Agent for Indium-111 Labeling of Polypeptides Using a Newly Synthesized Monoreactive DTPA Derivative. *J Med Chem* **39**: 3451–3460, 1996
- 11) Himmelsbach M, Wahl R: Studies on the Metabolic

- Fate of ^{111}In -labeled Antibodies. *Nucl Med Biol* **16**: 839–845, 1989
- 12) Paik CH, Sood VK, Le N, Cioloca L, Carrasquillo JA, Reynolds JC, et al: Radiolabeled Products in Rat Liver and Serum After Administration of Antibody-Amide-DTPA-Indium-111. *Nucl Med Biol* **19**: 517–522, 1992
 - 13) Ashwell G, Harford J: Carbohydrate-specific Receptors of the Liver. *Ann Rev Biochem* **51**: 531–554, 1982
 - 14) Shiomi S, Kuroki T, Enomoto M, Ueda T, Masaki K, Ikeoka N, et al: Fulminant hepatic failure monitored by technetium-99m-DTPA-galactosyl-human serum albumin scintigraphy. *J Nucl Med* **37**: 641–643, 1996
 - 15) Arano Y, Mukai T, Uezono T, Wakisaka K, Motonari H, Akizawa H, et al: A Biological Method to Evaluate Bifunctional Chelating Agents to Label Antibodies with Metallic Radionuclides. *J Nucl Med* **35**: 890–898, 1994
 - 16) Arano Y, Mukai T, Uezono T, Motonari H, Wakisaka K, Yokoyama A: Biological Comparison of DTPA and SCN-Bz-EDTA as a Chelating Agent for Indium Labeling of Antibodies. *J Labelled Compd Radiopharm* **35**: 381–383, 1994
 - 17) Arano Y, Mukai T, Akizawa H, Uezono T, Motonari H, Wakisaka K, et al: Radiolabeled metabolites of proteins play a critical role in radioactivity elimination from the liver. *Nucl Med Biol* **22**: 555–564, 1995
 - 18) Labadie JH, Chapman KP, Anderson NN Jr: Glycoprotein Catabolism in Rat Liver. Lysosomal Digestion of Iodinated Asialo-fetuin. *Biochem J* **152**: 271–279, 1975
 - 19) Haseman MK, Goodwin DA, Meares CF, Kaminski MS, Wensel TG, McCall MJ, et al: Metabolizable ^{111}In Chelate Conjugated Anti-idiotypic Antibody for Radioimmunodetection of Lymphoma in Mice. *Eur J Nucl Med* **12**: 455–460, 1986
 - 20) Paik CH, Yokoyama K, Reynolds JC, Quadri SM, Min CY, Shin SY, et al: Reduction of Background Activities by Introduction of a Diester Linkage Between Antibody and a Chelate in Radioimmunodetection of Tumor. *J Nucl Med* **30**: 1693–1701, 1989
 - 21) Arano Y, Inoue T, Mukai T, Wakisaka K, Sakahara H, Konishi J, et al: Discriminated Release of a Hippurate-Like Radiometal Chelate in Nontarget Tissues for Target Selective Radioactivity Localization Using pH-Dependent Dissociation of Reduced Antibody. *J Nucl Med* **35**: 326–333, 1994
 - 22) Arano Y: Antibody-Associated Chelates for Targeted Imaging. In Torchilin V (ed.), *Handbook of Targeted Delivery of Imaging Agents*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1995, pp. 103–117
 - 23) Arano Y, Wakisaka K, Ohmomo Y, Uezono T, Mukai T, Motonari H, et al: Maleimidoethyl 3-(Tri-n-butylstannyl)hippurate: A Useful Radioiodination Reagent for Protein Radiopharmaceuticals to Enhance Target Selective Radioactivity Localization. *J Med Chem* **37**: 2609–2618, 1994
 - 24) Arano Y, Wakisaka K, Ohmomo Y, Uezono T, Akizawa H, Nakayama M, et al: Assessment of Radiochemical Design of Antibodies Using an Ester Bond as the Metabolizable Linkage: Evaluation of Maleimidoethyl 3-(Tri-n-butylstannyl)hippurate as a Radioiodination Reagent of Antibodies for Diagnostic and Therapeutic Applications. *Bioconjugate Chem*, in press
 - 25) Garg PK, Alston KL, Zalutsky MR: Catabolism of Radioiodinated Murine Antibody F(ab')₂ Fragment Labeled using N-Succinimidyl 3-Iodobenzoate and Iodogen Methods. *Bioconj Chem* **6**: 493–501, 1995
 - 26) Rogers BE, Franano FN, Duncan JR, Edwards WB, Anderson CJ, Connett JM, et al: Identification of Metabolites of ^{111}In -Diethylenetriamine-pentaacetic Acid-Monoclonal Antibodies and Antibody Fragments in Vivo. *Cancer Res* **55**: 5714s–5720s, 1995
 - 27) Arano Y, Wakisaka K, Uezono T, Akizawa H, Ono M, Iida Y, et al: Selective Release of Iodohippuric Acid from a Covalently Conjugated Protein in Lysosomes by a Plasma-Stable Metabolizable Amide Linkage. *J Nucl Med* **37**: 7P, 1996 (Abstract)

Summary

Protein- and Peptide-Derived Radiopharmaceuticals

Yasushi ARANO

Department of Radiopharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University

Recent development of radiochemistry has provided various reagent that allow stable attachment of radiolabels to proteins *in vivo*. The advent of genetic and protein engineerings have generated proteins and peptides with reduced or no immunogenicity or more favorable distribution characteristics. However, localization of radioactivity in nontarget tissues still constitutes a problem to be resolved for accurate diagnosis and effective therapy using the radiopharmaceuticals. Recent studies have indicated that radiometabolites after lysosomal proteolysis of proteins play a critical

role in the radioactivity levels in nontarget tissues. Furthermore, radiochemical design of polypeptides that liberates radiometabolites of rapid urinary excretion after lysosomal proteolysis in nontarget tissues has facilitated rapid radioactivity elimination from nontarget tissues to urine. From these findings, we believe a new era of protein- and peptide-derived radiopharmaceuticals much more suitable for diagnostic and therapeutic applications will be opened soon.

Key words: Targeting, Metabolizable linkage, Proteins, Peptides, Radionuclides.