前立腺と Menadiol Sodium Diphosphate (第二報)

担ヒト前立腺腺腫ヌードマウスにおけるトリチウム
標識 MSDP の動態について

北里大学泌尿器科学教室 藤 野 淡 人
(主任: 小柴 健教授)

PROSTATE AND MENADIOL SODIUM DIPHOSPHATE —INVESTIGATION ON THE DISTRIBUTION OF TRITIATED MENADIOL SODIUM DIPHOSPHATE IN NUDE MICE BEARING HETEROTRANSPLANTED HUMAN PROSTATIC ADENOMA

Awato Fujino

From the Department of Urology, School of Medicine, Kitasato University
(Director: Prof. Ken Koshiba)

Menadiol Sodium Diphosphate (2-methyl-1, 4-naphthohydroquinone diphosphoric acid ester tetrasodium salt; ® Synkavit) is a watersoluble preparation with physiological functions of natural fatsoluble vitamin K. This drug, however, was employed as antimetabolic agent, radiosensitizer, and internal irradiation agent for neoplasms in experimental or clinical studies in the past. Furthermore, in the previous study, it was used as a substrate for acid phosphatase determination in *in vitro* studies, and its specificity for the prostatic acid phosphatase has been established. This paper deals with an *in vivo* study which investigated the distribution of tritiated menadiol sodium diphosphate (^3H -MSDP) in nude mice bearing heterotransplanted human prostatic adenoma, by means of whole-body macroautoradiography and quantitative evaluation by a liquid scintillation spectrometer. Possibilities of its clinical use in the prostatic disorders are discussed. MSDP, labelled with tritium by RCC Amersham (TR 7 method), was purified through paper partition chromatography, and its purity was confirmed by autoradiochromatography.

Whole-body macroautoradiograms (ARG) were obtained at 5, 15, 30, and 60 minutes after an intravenous administration of ^3H -MSDP, $34\ \mu\text{Ci}/15.4\ \mu\text{g}$ of MSDP/ $50\ \mu\text{l}/10\ \text{g}$ body weight, into nude mice bearing heterotransplanted human prostatic adenoma. Accumulation of ^3H -MSDP in the heterotransplanted tumor was defined by the ARG of 5, 15, 30, and 60 min sections respectively. The optical concentration of radioactivity in the heterotransplanted tumor was comparatively constant throughout each ARG (at 5, 15, 30, and 60 min). At five minutes after the administration, this tracer was distributed intensely in the kidney, liver, lung, and urinary bladder, the highest radioactivity being detected in the last. However, the radioactivity of these organs tended to decrease after 30 min, while those of the urine and feces increased. At 60 min after administration the optical concentration in the heterotransplanted tumor was nearly equal to that of the renal parenchyma, and was rather higher than those of the liver and other organs.

The distribution of ^3H -MSDP in nude mice bearing heterotransplanted human prostatic adenoma was also investigated through measuring radioactivity in each organ by liquid scintillation spectrometer. Tissue samples were taken at 1, 2, 5, and 24 hour intervals after an intravenous administration of ^3H -MSDP, $3.4\ \mu\text{Ci}/1.54\ \mu\text{g}$ of MSDP/ $50\ \mu\text{l}/10\ \text{g}$ body weight. At one hour after the administration, the heterotransplanted tumor revealed an apparently higher radioactivity than circulating blood, liver, brain, spleen, muscle, testis, or seminal vesicle & prostate. On the other hand, the radioactivity of the kidney was three times higher than that of the heterotransplanted tumor. These findings paralleled to those of the ARG. Sequential analysis revealed that the radioactivity in the heterotransplanted tumor remained almost constant after a lag time, while in the kidney it tended to decrease with time. At 24 hours, Tumor/Blood ratio was almost comparable with Kidney/Blood ratio.

These findings suggest the potential usefulness of radiolabelled MSDP in the clinical diagnosis of prostatic disorders.

要旨: tritiated menadiol sodium diphosphate (^3H -MSDP) の担ヒト前立腺腫ヌードマウスにおける動態あるいは体内分布につき、whole-body macroautoradiography (全身マクロ ARG), および liquid scintillation spectrometer による各臓器分布の定量的評価を行ない、本剤の前立腺部での代謝について検討した。

RCC Amersham 社, TR 7 法により作成されたトリチウム標識 MSDP を、さらにペーパークロマトグラフィーにより精製し、その純度を確認した後、以下の実験に用いた。 ^3H -MSDP の投与後、5～60分間の全身マクロ ARG による体内分布観察では、5分で移植前立腺腫組織(腫瘍組織)への分布が認められ、15分でやや強くなるが、30分、60分では他臓器の減衰に反して、ほぼ一定の分布を示し、本剤の腫瘍組織内における残留が確認された。 ^3H -MSDP の投与後、1～24時間にわたる腫瘍組織およびヌードマウス固有の諸臓器分布の定量的解析では、投与後1時間目で、腫瘍組織における放射能は血液よりも高く、また腎を除く他臓器と比較しても高値を示し、全身マクロ ARG による結果とはほぼ一致した。1時間以後の腫瘍組織への分布度を見ると明らかなピークは認められず、ほぼ一定の値を示し、本剤の残留が示唆された。本剤の排泄動態に関しては、腎よりの排泄が主体と考えられたが、肝および消化管を介しての排泄もうかがわれた。

本剤の臨床応用について、前立腺シンチグラム用薬剤への応用を中心に、その可能性について、文献的考察を含めて検討した。

緒 言

Menadiol Sodium Diphosphate (2-methyl-1, 4-naphthoquinone diphosphoric acid ester tetrasodium salt; $^{\circ}\text{Synkavit}$) は、現在、欧米諸国でビタミンK製剤として内服薬、あるいは注射薬の形で用いられている。しかし、歴史的には、1940～1960年代にかけて、一時は抗腫瘍剤(antimitotic agent)、放射線増感剤(radiosensitiser)、あるいは内用アイソトープ療法剤(internal irradiation agent)として検討され、臨床的にも用いられていた。著者は、前の報告¹⁾において、本剤が in vitro study上、酸性フォスファターゼ活性測定に際しての基質として有用であり、さらに、前立腺性の酸性フォスファターゼの基質として、比較的その特異性が認められたことを報告した。本報では、その in vivo study として、トリチウム標識 menadiol sodium diphosphate を用いて、担ヒト前立腺腫ヌードマウスにおける動態、あるいは体内分布につき、whole body macroautoradiography および liquid scintillation spectrometer による各臓器の放射能測定により、評価するとともに、in vivo における本剤の前立腺部での代謝につき検討した。また併わせて、本剤における前立腺腫瘍の診断、あるいは治療面への応用の可能性についても考察した。

I. tritiated menadiol sodium diphosphate の精製と純度検定

I-1. 実験材料および方法

I-1-1. 試料の精製

menadiol sodium diphosphate (以下 MSDP と略) 50 mg を、日本アイソトープ協会を通じて RCC Amersham 社に依頼、TR 7 (in solution with tritium gas) 法によりトリチウム標識を行なった。本製品(以下、 ^3H -MSDP-1 と略す)は100mCi/25ml of deoxygenized water として、すでに labile tritium は除去された状態で入手したが、下記の方法により、さらに精製を行なった。精製に際しては、従来報告された方法²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾により、まず、cold MSDP を用いてそれぞれの単離法および検出法について基礎的検討を行なった後、ペーパークロマトグラフィーによる単離、精製を行なった。濾紙は東洋濾紙製、No. 50, 2×40cm を長円柱形展開槽を用いて、展開溶媒 n-propanol : ethanol : water : conc ammonia (30 : 30 : 39 : 1) にて、室温、約22時間の展開を行なった。 ^3H -MSDP-1 は1スポット 25 μl とし、また Rf 値のコントロールとして、同濃度、同量の cold MSDP を同時に展開した。水銀灯による紫外線 (2,537Å) 下、MSDP による蛍光を観察し、蛍光部の Rf 値が cold MSDP のそれと一致する部分を切り取り、蒸留水にて抽出した。次に、アセトン・ドライアイスによる freeze-drying 法により濃縮乾固し、生理的食塩水に溶解した後、Milipore 社製、Millex-HA, 0.45 μm , filter unit を通じて除菌した。なお、以上の操作により得られた ^3H -MSDP を以下 ^3H -MSDP-2 と略す。

I-1-2. 試料の検定

まず、 ^3H -MSDP-1 の性状につき、前述の条件によりペーパークロマトグラムを得、紫外線下に蛍光部をマークした後、原点より1cm 間隔に15cm 点まで、2×1cm の小紙片として、計15のフラクションを採取し、それぞれのフラクションの放射能を liquid scintillation

spectrometer により測定した。次に前述の方法により得られた ^3H -MSDP-2 につき、日立624型紫外線分光光度計を用いて、400~200nm の範囲で紫外線吸収曲線を作成し、本剤の定性および定量を行なった。また、その放射能を測定した。最後に、 ^3H -HSDP-1および ^3H -MSDP-2について、薄層クロマトグラフィー (Merck 社製シリカゲル薄層、クロマトプレート)、展開溶媒、n-butanol : acetic acid : water (12 : 3 : 5) により autoradiochromatogram を作成し、その純度を確認した。なお、放射能測定にあたり、liquid scintillation spectrometer はアロカ社製 LSC-653を、scintillator は New England Nuclear 社製 Aquasol-2を用い、またアロカ社製 TLC スキャナーを用いて autoradiochromatography を行なった。

I-2. 結果

I-2-1. ^3H -MSDP-1の精製に際して、ペーパークロマトグラフィー上、常に標準物質、cold MSDP によるモニターを行なったが、それらの Rf 値は施行時の室温などにより多少異なり、cold MSDP で 0.33 ± 0.016 (N=10)、また ^3H -MSDP では 0.33 ± 0.01 (N=20) であつた。

I-2-2. ^3H -MSDP-1の性状につき、ペーパークロマトグラフィーにより、原点より1cm 間隔に計15のフラクションをとり、それらの放射能を測定したが、

Fig. 1 Paper partition chromatography of crude ^3H -MSDP (^3H -MSDP-1), developed with n-propanol : ethanol : water : conc. ammonia (30 : 30 : 39 : 1) Abscissa; Fractions as indicated by the distance from origin (cm each). Ordinate; The radioactivity in dpm

Fig. 1 に示すように、原点より5cm 目のフラクションで大きなピークが認められた。また水銀灯により蛍光を発した部分は、このフラクションを中心に原点より4.5~7cm の範囲に存在した。一方、原点より1cm 目、および12cm 目にも小さなピークが認められた。これらより、 ^3H -MSDP-1は必ずしも単一ではなく、他の部分も含まれていたことが示され、精製の必要性が示唆された。

I-2-3. ^3H -MSDP-2の定性および定量は紫外線吸収曲線 (Fig. 2) にもとずき、MSDP の濃度は λ_{max} , 296nm ($\epsilon=4,580$)⁽¹⁾ より求めた。またその放射能の測定により、最終的に0.68mCi/0.307mg of MSDP/ml of saline solution との数値を得た。

Fig. 2 The ultraviolet spectrum of purified ^3H -MSDP-2)

I-2-4. 薄層クロマトグラフィーにより得られた、 ^3H -MSDP-1および ^3H -MSDP-2の autoradiochromatogram を Fig. 3a および Fig. 3b にそれぞれ示す。粗成 ^3H -MSDP である ^3H -MSDP-1の autoradiochromatogram では原点に接近して大きなピークが認められるとともに、二つの小さなピークも認められ、単一物ではないことが確認された。またこれは、前述の結果 (I-2-2) に一致する。これに対して、精製 ^3H -MSDP (^3H -MSDP-2) では、明らかにシャープな単一ピークとして示され、単一物質であることが確認された。

I-3. 小括

RCC Amersham 社、TR 7法により作成されたトリチウム標識 MSDP を、ペーパークロマトグラフィーにより精製し、得られた精製 ^3H -MSDP (^3H -MSDP-2) につき、autoradiochromatography によりその純度を検定し、単一性を確認した。またその紫外線吸収曲線により、定

Fig. 3a The autoradiochromatogram of ^3H -MSDP-1, developed with n-butanol : acetic acid : water (12 : 3 : 5)

Fig. 3b The autoradiochromatogram of ^3H -MSDP-2, developed with n-butanol : acetic acid : water (12 : 3 : 5)

性および定量を行なった。

II. 実験動物

前立腺腫瘍の動物モデルとして、担ヒト前立腺腺腫ヌードマウス³⁾ (BALB/c-nu/nu, slc 8.26週齢, 体重30.4 ± 1.86g) を8匹, およびコントロールとして, 同系の正常ヌードマウス (体重27.0 ± 1.78g) 8匹を, それぞれ一定条件下で飼育し使用した。

III. whole-body macroautoradiography による, 担ヒト前立腺腺腫ヌードマウスにおける tritiated menadiol sodium diphosphate の体内分布解析

Ⅲ-1. 実験材料および方法

前述の操作によつて得られた ^3H -MSDP-2を, ヌードマウス 体重10g あたり 34μci/15.4μg of MSDP/50μl として, 尾静脈より投与した。投与後, 5, 15, 30, 60分目にそれぞれエーテルにより麻酔し, 以下は概ね Ullberg⁷⁾ らの方法に従つて whole-body macroautoradiogram (以下, 全身マクロ ARG と略) を作成した。なお,

Fig. 4 The procedure of whole-body macroautoradiography by ^3H -MSDP-2 in nude mouse

Fig. 4に本法の概略を示した。

切片作成には中川製作所製オートクライオトームを, 粘着テープは久光製薬製サロテープ (マウス用), 露出用フィルムは LKB 社製, Ultrofilm ^3H (24×30cm) を用いた。露出に際してはX線撮影用カセットを用い, 露出時間は室温で35日間とした。また現像液にはサララ, Bonidol x, 定着液は Konifix をそれぞれ用いた。

Ⅲ-2. 結果

^3H -MSDP-2 を投与後, 5～60分 にわたる 短期間の全身マクロ ARG を作成し, 移植ヒト前立腺腺腫組織 (以下, 腫瘍組織と略す) および他臓器への分布状態を肉眼的に観察した。ただし, ヌードマウス前胸部皮下において, 腫瘍組織の生着部位が必ずしも一定でなかつたため, 投与後, 5, 15, 30, 60分の各群において, 腫瘍組織と他臓器を同一切片内で視察することは困難であつた。従つて各群における腫瘍組織と他臓器の黒化度の比較は, 同一個体における数枚の切片により行なつてゐる。

Fig. 5 に投与後5日目の全身マクロ ARG, およびその腫瘍組織部の拡大像を示す。尾静脈からの投与に際しての血管外への leakage によるとと思われる著明な放射能が尾部の皮下および筋肉に認められる。腫瘍組織への分布はすでに認められるが, 他臓器に比して低く, 腎,

Fig. 5 Whole-body macroautoradiograms showing the distribution of radioactivity in the nude mouse bearing heterotransplanted human prostatic adenoma, at 5 minutes after intravenous administration of ^3H -MSDP-2

Fig. 6 Whole-body macroautoradiograms showing the distribution of radioactivity in the nude mouse bearing heterotransplanted human prostatic adenoma, at 15 minutes after intravenous administration of ^3H -MSDP-2

肺，肝への分布が目立つ。特に腎への分布は高度で，すでに膀胱あるいは尿道には著しい放射能が認められる。

Fig. 6 は投与後15分目であるが，腫瘍組織への分布は

依然として腎，肝，肺など，他臓器に比して低い。なお，消化管内に高い放射能が認められる。

Fig. 7 は投与後30分目で，腫瘍組織への分布は肝とほ

Fig. 7 Whole-body macroautoradiograms showing the distribution of radioactivity in the nude mouse bearing heterotransplanted human prostatic adenoma, at 30 minutes after intravenous administration of ^3H -MSDP-2

Fig. 8 A whole-body macroautoradiogram showing the distribution of radioactivity in the nude mouse bearing heterotransplanted human prostatic adenoma, at 60 minutes after intravenous administration of ^3H -MSDP-2

ぼ同等であるが、5, 15分目に比して、ほとんどの臓器において放射能の低下を認めるため、全体的にみると、腫瘍部分はやや高い分布を示す。

Fig. 8 は投与後60分目であり、各臓器の放射能は著しく低下するが、腫瘍組織における分布はつづいており、腎実質とはほぼ同等である。一方、腎盂および消化管内には著しい分布を示している。また尿による汚染と思われる尾部の皮膚表面には高い放射能が認められる。

Ⅲ—3. 小括

全身マクロ ARG により、³H-MSDP-2の投与後、5～60分間の担ヒト前立腺腺腫ヌードマウスにおける、本剤の体内動態につき観察した。腫瘍組織への分布は投与後、5分ですでに認められ、15分でやや強くなるが、30分、60分では、他臓器の減衰に反して、ほぼ一定の傾向が認められ、本剤の腫瘍組織内における残留が確認された。一方、60分目においても、尿路内および胆嚢、消化管内への分布は著明であり、本剤の腎および肝を介しての排泄がうかがわれた。

IV. 担ヒト前立腺腺腫ヌードマウスにおける tritiated menadiol sodium diphosphate の臓器分布の定量的解析

IV—1. 実験材料および方法.

前述の操作によつて得られた ³H-MSDP-2 を、ヌードマウス体重10g あたり3.4μCi/1.54μg of MSDP/50μl として、尾静脈より投与した。投与後、1, 2, 5, 24時

間目にエーテル 麻醉下に屠殺、それぞれの時点における全血および尿を採集した後、腫瘍組織、腎、肝、脾、脳、筋肉、睪丸、そして精囊および固有前立腺をそれぞれ摘出した。剖検時、腫瘍組織にはいずれもヌードマウスの皮下において、十分な血管分布および結合組織による支持が観察された。腫瘍組織摘出に際しては、これら周囲結合組織を肉眼的に可能な限り除去し、得られた腫瘍組織は全湿重量100～150mg、平均122.5mg であつた。ちなみに、肝のそれは平均1,682.5mg、腎は610mg、また精囊および固有前立腺は177.5mg であつた。各臓器は十分に細切した後、その一部をとり torsion balance により秤量した。参考として、24時間の観察を行なつた例では本剤投与後、代謝ケージ内で糞便と尿を分別採集し、前者の全量をゲル化した後、その一部をとつて放射能を測定した。

各組織に対しては組織・ゲル可溶化剤として Protosol (New England Nuclear 社製) を 1ml、また全血および尿に対しては Protosol : ethanol (1 : 2) 液を 1ml、それぞれ用い55℃、28時間の振とう加温の後、30%過酸化水素水0.3ml を加え、scintillator として Aquasol-2を用いて、liquid scintillation spectrometer により、単位重量 (mg)、あるいは単位液量 (ml) あたりの放射能を求めた。

IV—2. 結果

³H-MSDP-2の経静脈的投与後、1, 2, 5そして24時

Table 1 The distribution of ³H-MSDP-2 among the heterotransplanted tumor and proper organs of nude mouse, as indicated in TISSUE/BLOOD RATIO, and the radioactivity in blood or urine at various time intervals following intravenous administration.

Nude Mice		1 hr.	2 hrs.	5 hrs.	24 hrs.
BW of Nude Mice		34 g	30 g	31.5 g	30 g
TISSUE/BLOOD RATIO	Tumor	1.23	0.98	1.03	1.46
	Kidney	3.58	3.46	2.38	1.72
	Liver	0.91	1.07	1.26	1.01
	Testis	0.69	0.42	0.58	0.65
	Seminal & Prostate	0.41	0.37	0.53	1.18
	Spleen	0.49	0.71	0.88	1.76
	Muscle	0.33	0.37	0.52	0.71
	Brain	0.38	0.32	0.46	0.43
Blood at this time (dpm/ml)		5.13 × 10 ⁵	3.51 × 10 ⁵	1.70 × 10 ⁵	7.89 × 10 ⁴
Urine at this time (dpm/ml)		7.29 × 10 ⁸	1.29 × 10 ⁸	3.83 × 10 ⁷	4.95 × 10 ⁵

間目における本剤の臓器分布を、それぞれの時点における各臓器組織と血液の放射能の比率 (TISSUE/BLOOD RATIO) で、また各時点における血液および尿の放射能を、それぞれ Table 1 に示した。

腫瘍組織への分布度は経時的にみて比較的変動が少なく、ほぼ1.0以上を示し、腎および肝を除く他臓器のそれを上回った。肝、腎の分布度を腫瘍組織と比較すると、肝とは経時的にも、大きな差異は認められなかった。しかし、腎の分布度と比較すると、1時間目では腎が約3倍を示すが、その後次第にその差は縮小し、24時間目ではほとんど同等となった。また、睪丸、精囊および前立腺、筋肉、および脳の分布度は、24時間目の精囊および前立腺のそれを除き、常に腫瘍組織の1/4~1/2を示すにすぎなかった。一方、脾の分布度は、腎とは対照的にむしろ増加傾向を示した。腎と尿の放射能を比較すると後者が常に上回り、また血液と尿の放射能を比較した場合も同様に、常に尿が上回っており、いずれも漸減傾向を示したことより、本剤の腎を介する排泄が認められた。一方、本実験では胆汁の採集は行なつておらず、従つて肝の放射能は肝実質の放射能のみならず、胆汁のそれも含まれている。なお、24時間採集の糞便の放射能は、同時期の血液の約14倍を示し、本剤の肝および消化管からの排泄も考えられた。

IV-3. 小括

³H-MSDP-2 投与後、1~24時間にわたり、移植ヒト前立腺腺腫組織およびヌードマウス固有の各臓器分布について定量的解析を行なつた。投与後1時間目で、腫瘍組織における放射能は血液のそれよりも高く、また腎を除く他臓器と比較しても高値を示し、全身マクロ ARG による結果とはほぼ一致した。1時間以後の腫瘍組織への分布度は、明らかなピークが認められず、ほぼ1.0以上を示し、本剤の残留が示唆された。本剤の排泄動態に関しては、尿および糞便に高い放射能が認められたことより、腎および肝、消化管を介する排泄系が主体と考えられた。

考 察

Menadiol Sodium Diphosphate (MSDP) は現在、欧米諸国でビタミンK製剤として用いられているが、泌尿器科領域では、あまり知られていない薬剤である。歴史的には、1942年 Lehmann⁹⁾ らが naphthoquinone に mitosis を抑制する作用のあることを報告し、その後、本剤をはじめとする種々のキノン系薬剤の antimitotic-action に関する報告⁹⁾ がみられた。さらに1947年、Mit-

chell¹⁰⁾ らは、chick fibroblast culture を用いて、本剤の腫瘍組織に対する放射線増感剤としての有用性を報告し、以後しばらくの間、本剤およびその analogs について、放射線増感剤としての有用性に関する報告が多く認められた^{2) 11) 12) 13) 14) 15) 16) 17)}。一方、本剤に対して放射性同位元素を標識して、これらの実験に際しての tracer として用いた報告も有り、それらの報告では核種として ³²P¹⁷⁾、¹⁴C²⁾、また、⁸²Br、¹³¹I^{15) 16)} などのハロゲン元素を用いている。1959年、Horwitz²⁾ らは、本剤にトリチウム標識 (以下 ³H-MSDP と略) を行ない、担 Walker carcinoma ラットへの投与実験に次いで、各種治療に抵抗を示した癌患者に経動脈的に投与し、本剤から生ずるβ線により内用アイソトープ療法を行ない奏効が得られたことを報告している。その他にも ³H-MSDP を用いて、各種実験腫瘍動物モデルや各種癌細胞培養株に対する制癌性について^{18) 19) 20)}、あるいは種々の悪性腫瘍症例における治療効果について^{21) 22) 23) 24)} の検討は多くみられる。これらはいずれも本剤による antimitotic action および internal irradiation にともなう制癌効果を示唆するものであつた。また、これらの報告は同時に、本剤が選択的に腫瘍組織に集積し、一定期間残留するという事実も示唆していた。一方、諸家の報告で対象とされている腫瘍は多岐にわたり、一定の傾向がみられず、少数例ながら腎、睪丸などの泌尿器系腫瘍も含まれている。しかし、前立腺腫瘍に関しては未だ詳しい報告をみていない。

他方、これら本剤の特性、すなわち抗腫瘍性あるいは腫瘍親和性に関する報告とは別に、著者は前の報告¹⁾ において、本剤が in vitro study 上、酸性フォスファターゼ活性測定に際しての基質として有用であり、さらに前立腺性酸性フォスファターゼの基質として比較的那の特異性が認められたことを述べている。

以上のような歴史的背景にもとづき、本報では ³H-MSDP を用いて、担ヒト前立腺腺腫ヌードマウスにおける本剤の動態を観察することにより、in vivo における本剤の前立腺部での代謝につき検討した。また併わせて、本剤の臨床応用、特に前立腺シンチグラム用薬剤への応用の可能性を中心に、文献的考察を含めて検討した。

1. 担ヒト前立腺腺腫ヌードマウスにおける ³H-MSDP の動態について

本剤の放射性同位元素標識については前述のように ³²P、¹⁴C、また ⁸²Br、¹³¹I などのハロゲン元素について

も試みられているが、 ^{32}P および、これらハロゲン元素による標識では生体内投与にともない hydroquinone ring より遊離する率が高いという欠点を有している^{15) 16) 17)}。

^3H -MSDP については、Marrian^(4) 21) 25) らにより、その標識法および安定性などにつき十分に検討がなされており、他の報告^{18) 19) 20) 22) 23) 24)} から本剤の標識物質としてのトリチウムの有用性がうかがわれる。本実験で用いた ^3H -MSDP は I—1 に示した方法により単離、精製、そして除菌して用い、またその純度も確認されている。本剤の濃度は、全身マクロ ARG 用として、ヌードマウス体重 10gm あたり、 $34\mu\text{Ci}/15.4\mu\text{g}$ of MSDP/ $50\mu\text{l}$ を、また liquid scintillation spectrometer による臓器分布の定量的解析では、前者の10倍稀釈量を用いた。これらの投与量は、通常のマウスを用いた実験でのそれぞれの用途にあわせて決定したものであるが、ちなみに本剤の L.D._{50} については、マウスで $0.4\sim 0.5\text{mg}$ of MSDP/g of body weight との報告^{4) 19)} がある。本剤投与後の経時的観察については、ラットを用いた従来の報告^{2) 13) 15)} を参考とし、全身マクロ ARG では5～60分にわたる短期間における動態を、また諸臓器分布の定量的解析については、1～24時間にわたって観察した。

全身マクロ ARG では、投与後5分ですでに腫瘍組織への分布が認められ、15分でやや強くなるものの、30分、60分では他臓器の減衰に反して、ほとんど減衰せず、ほぼ一定の分布が認められ、本剤の腫瘍組織における残留が確認された。本剤の腫瘍組織における autoradiography については、Mitchell²⁰⁾ らをはじめ、いくつかの報告^{18) 20) 22) 23)} がある。いずれもトリチウムを用いた^{18) 20) 22) 23)} microautoradiography についての報告であり、また対象とした腫瘍組織も前立腺腫瘍について検討されたものは無く、多くは Ehrlich ascites tumor などの癌細胞培養株、あるいは臨床例で経静脈的投与後に生検で得られた腫瘍組織についてであった。本報と、これら microautoradiography に関する報告を比較することは困難であるが、これらの報告ではいずれも、本剤の集積が腫瘍細胞そのものに限られ、間質へのそれは、わずかであったとされている。一方、全身マクロ ARG で、腫瘍組織とヌードマウス固有の各臓器における本剤の動態を比較すると、投与後5分ではほとんど全ての臓器への分布が認められ、特に腎において著しく高く、尿への排泄も観察される。しかし、5分以後の各臓器における分布は明らかに漸減傾向を示し、投与後60分においては腎実質の放射能が、ほぼ腫瘍組織と同等となる。また肝およ

び肺においては、かろうじてその輪廓がおえる程度となり、相対的に、腫瘍の存在が腎を除く諸臓器に比して明瞭に認められた。なお、今回の全身マクロ ARG に関して、技術上の問題点が二～三あげられる。その第一は、MSDP 標識する核種、すなわち、トリチウムによる autoradiography の困難性があげられる。全身マクロ ARG において、特に本実験のように微細な腫瘍組織像が要求される場合には、その technical failure を最小限にとどめる必要があり、特に種々の操作の過程で生ずる“カブリ”が問題となる。トリチウムによる場合、その放射線エネルギーが小さいため、分解能が高く、鮮明な画像が期待できる反面、 ^{14}C を用いた場合のようにルミラー膜などの保護膜を用いると十分な像が得られず、直接切片を乳剤面に接触露出する必要がある。この際、“化学カブリ”あるいは切片を乳剤面よりはがす際の静電気による“発光カブリ”などを生じやすい。その防止策として、セロイジンをうすくスプレーする方法や電子顕微鏡用のカーボン蒸着法なども試みられる。本法では、切片標本の表面に薄く carboxymethyl cellulose の粉末を散布し、また、乳剤面よりはがす際には高湿度下に行なうなどの工夫と、細心の注意をはらって行なつたが、やはりフィルムカブリは軽度ながら認められた。従つて露出法の工夫、改良、また、 ^{14}C 標識 MSDP での再実験などが今後の課題といえる。第二に、放射性薬剤を含んだ排泄物(尿、糞便)による体表汚染と、経静脈的投与時の血管周囲への汚染である。これは基本的技術の未熟さによるもので、今後の実験ではこれらの点を防止すべく技術的習熟をはかるべきと考える。

liquid scintillation spectrometer による臓器分布の定量的解析では、1時間で腫瘍組織における放射能は血液のそれよりも高く、また腎を除く他臓器と比較しても高値を示し、全身マクロ ARG による結果とほぼ一致した。1時間以後の腫瘍組織への分布度をみると明らかなピークは認められず、ほぼ1.0以上を示し本剤の残留が示唆された。他臓器では特に腎および肝において高い放射能が認められた。なお、これらの分布度を腫瘍組織と比較すると、肝とは経時的にも大きな差異は認められなかつたが、腎の分布度と比較すると、1時間目では腎が約3倍を示すが、その後次第にその差異は縮小し、24時間目ではほとんど同等となつた。Marrian らによる担 Walker 256 carcinoma を用いた実験では、本報に比して、腎および肝における本剤の分布度が腫瘍組織をはるかに上回っており、本報と異なる結果を得ている。こ

の差異は明らかでないが、一つには腫瘍組織の違いによるものとも考えられる。

技術的な問題として、この定量的解析では臓器全体を先づ細切し、その一部をとつて放射能を測定しているため、腎および肝組織では、尿および胆汁の混入が十分考えられ、全身マクロ ARG のように実質部分のみの分布を必ずしも正確に把握しえないという欠点がある。これを是正するために、可能な限り肝と胆嚢、あるいは腎と腎盂を分別、測定して、検討することが今後の課題と考える。

なお、本剤の排泄動態に関しては、ラットを用いた従来の報告²⁾¹⁵⁾に一致して、主に腎および肝を介しての排泄が確認された。本剤の基本骨格である menadione (2-methyl-1, 4-naphthoquinone) の生体内代謝についての報告²⁷⁾²⁹⁾では、投与後、大部分は肝においてグルクロン酸あるいは硫酸抱合を受けた後、多くは腎より速やかに排泄され、一部、胆汁中に排泄されることが確認されている。

2. 臨床応用、特に前立腺シンチグラム用薬剤への応用の可能性について

前述のように、本剤は歴史的に抗腫瘍剤、放射線増感剤、あるいは内用アイソトープ療法剤として、各種腫瘍に対して、実験的あるいは臨床的に応用されていた。これらに関する報告ではいずれも、本剤が腫瘍組織内に他臓器に比べ高い集積を示すとともに、一定期間残留する性質を利用したものであり、いいかえれば本剤は腫瘍親和性物質ということになる。

近年、核医学の分野では、放射性金属あるいはその錯体が腫瘍に集積する性質を利用して、腫瘍の局在診断に応用し、特に ^{67}Ga 、あるいは ^{201}Tl などは、臨床的にもその有用性が認められている。その他にも、各種の放射性金属の腫瘍親和性に関して、担腫瘍動物を用い autoradiography などにより検討した報告は多くみられる。一方、本剤のように腫瘍親和性のある薬剤に放射性同位元素を標識して腫瘍診断に応用する試みも多くなされており、特に薬剤として Bleomycin を用いた ^{57}Co -Bleomycin³³⁾ あるいは $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bleomycin³⁴⁾ などが、臨床的に利用されている。

他方、臓器の特異的な代謝や循環を利用しシンチグラムを得る方法もあり、今回の目的臓器である前立腺に関しても種々の試みがなされている。先づ第一に亜鉛があげられる。ヒトの前立腺組織は亜鉛の含有量に富み、他の軟部組織の約10倍にも達し、前立腺癌組織ではその含

有量が低下すること、また性ホルモンの影響により亜鉛の摂取率が変化することなどが知られている。そのため、前立腺のシンチグラム用薬剤として、現在までに ^{65}Zn ³⁵⁾³⁶⁾、 $^{69\text{m}}\text{Zn}$ ³⁷⁾、そして ^{62}Zn ²⁸⁾³⁹⁾ などにつき検討されている。しかし、臨床的には未だ良好なシンチグラムが得られていない。この理由の一つとして、筋肉、精嚢などの周囲組織との判別が困難なことがあげられている。第二は前立腺内でのホルモン代謝を利用するいわば、内分泌学的なアプローチで、実際には動物実験を含めて、 ^{131}I -diethylstilbestrol diphosphate⁴⁰⁾⁴¹⁾、 ^{125}I -estradiol⁴²⁾、 ^{131}I -estradiol phosphate⁴³⁾、 ^{77}Br -5 α -dihydrotestosterone⁴⁴⁾、2 α - ^{125}I -dihydrotestosterone⁴⁵⁾、および ^{125}I -prolactin⁴⁶⁾ などでのシンチグラムの基礎的検討が報告されているが、いずれも臨床応用には到っていない。しかし、ホルモン受容体をはじめ、詳細な内分泌代謝が解明されつつあり、この方面の今後の発展が期待される。第三は、石橋⁴⁷⁾⁴⁸⁾らにより試みられている $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate などの循環物質を用いる方法であるが、現時点ではシンチグラム上、前立腺とその周囲組織における血流との判別がつきにくく、他の核種なども含めて検討中である。

MSDP の前立腺シンチグラム用薬剤としての可能性については、前述のように本剤がヌードマウスにおいて、移植ヒト前立腺腫部分に、他臓器よりも比較的良好な集積を示し、かつ、その集積が持続性であったことがその根拠である。また、その集積の機序については、現時点では類推の域を越えることはできないが、次のようなことが考えられる。その第一は、本剤が有する腫瘍親和性で、これは従来の報告に基づく。第二は、本剤と酸性フォスファターゼ活性との関係で、これは本剤が in vitro study 上、酸性フォスファターゼ活性測定に際しての¹⁾基質として有用であり、さらに前立腺性酸性フォスファターゼの基質として、その特異性が認められたという事実に関連する。すなわち MSDP は、元来、水溶性を示すが、生体内投与により前立腺あるいは前立腺腫瘍組織で、酸性フォスファターゼによる脱リン酸化を受け、quinone 型となり、脂溶性物質としてそれらの細胞内にとどまる可能性が考えられる。Ramassarma⁴⁹⁾らは、その in vitro study において、本剤が各種腫瘍の放射線増感剤として経静脈的に投与された際、本剤が腫瘍組織内に残留する機序について、1) 血液の pH にほぼ等しい pH 7.2 の条件下で、本剤が脱リン酸化を受けるのはわずかであり、容易に血流に富む腫瘍組織に到達しうること。2) 本剤が腫瘍細胞の酸性あるいはアルカリ性フ

ォスファターゼにより脱リン酸化を受け、腫瘍細胞内では脂溶性の quinone として存在すること、などより説明している。この *in vitro* study によつて得られた結果は、条件こそ異なるが、本報における *in vivo* study の結果を裏付けるものとも考えられる。ちなみに、前の報告で述べたように、本実験での担ヒト前立腺腫ヌードマウスにおいて、移植前立腺腫と同ヌードマウスの肝、腎、および固有の前立腺の酸性フォスファターゼ活性を、基質として MSDP を用いて測定すると、移植前立腺腫組織が肝の約26倍、腎の約23倍、そして固有前立腺組織の約43倍を示し、同一個体内において移植前立腺腫は、酸性フォスファターゼ活性に関しては他臓器をはるかに凌駕しており、前述の機序を十分成立させうる可能性を有していると考えられた。第三は、従来本剤が有するビタミンK作用にあり、ビタミンKにともなう estrogen 様作用についての報告⁵⁰⁾⁵¹⁾などにより、内分泌学的な機序による可能性も考えられる。

以上、本剤の前立腺、あるいは前立腺腫瘍のシンチグラム用薬剤としての可能性について述べたが、最後に治療面への応用の可能性について言及したい。前述のように、本剤は現在、欧米諸国においてビタミンK製剤として用いられている。しかし、本剤は腫瘍親和性を有することが分つており、 γ 線放出核種を含めて、適当な高エネルギー性の放線同位元素による標識化合物が得られれば、内用アイソトープ療法など、治療面への応用も可能と考える。

以上、担ヒト前立腺腫ヌードマウスにおける ^3H -MSDP の動態について検討し、さらに本剤の前立腺腫瘍の診断あるいは治療面への応用の可能性について考察した。今後は、本剤、①投与量などについて再検討するとともに、MSDP の標識物質として ^{14}C 、または γ 線放出性放射性同位元素を用いて、またその実験対象についても、担ヒト前立腺腫ヌードマウスあるいは20-methylcholanthrene など発癌物質によるラット前立腺腫瘍、さらに可能であれば、Noble⁵²⁾らによる担前立腺癌 Nb ラットなどを用いて試みたいと考えている。

結 語

tritiated menadiol sodium diphosphate (^3H -MSDP) の担ヒト前立腺腫ヌードマウスにおける動態あるいは体内分布につき、whole-body macroautoradiography (全身マクロ ARG) および liquid scintillation spectrometer による各臓器分布の定量的評価を行ない、*in vivo* における本剤の前立腺部での代謝につき検討した。また併わ

せて、本剤における前立腺腫瘍の診断、あるいは治療面への応用の可能性について考察した。

1) RCC Amersham 社、TR 7法により作成されたトリチウム標識 MSDP を、さらにペーパークロマトグラフィにより精製した。得られた ^3H -MSDP について、その紫外線吸収曲線により定性および定量を行ない、またその純度を autoradiochromatography により検定し、十分実験に使用しうる単一物質であることを確認した。

2) 全身マクロ ARG により、 ^3H -MSDP の投与後、5～60分間の担ヒト前立腺腫ヌードマウスにおける、本剤の体内動態につき観察した。腫瘍組織への分布は投与後5分ですでに認められ、15分でやや強くなるが、30分、60分では、他臓器の減衰に反して、ほぼ一定の分布が認められ、本剤の腫瘍組織内における残留が確認された。一方、60分目においても尿路内および胆嚢、消化管内への分布は著明であり、腎および肝を介する本剤の排泄系がうかがわれた。

3) ^3H -MSDP 投与後、1～24時間にわたり、移植ヒト前立腺腫組織およびヌードマウス固有の各臓器分布について定量的解析を行なった。投与後1時間目で、腫瘍組織における放射能は血液のそれよりも高く、また腎を除く他臓器と比較しても高値を示し、全身マクロ ARG による結果とほぼ一致した。1時間以後の腫瘍組織への分布度をみると明らかなピークは認められず、ほぼ1.0以上を示し、本剤の残留が示唆された。本剤の排泄動態に関しては、持続して尿に極めて高い放射能が認められたことより、腎を介する排泄が主体と考えられたが、24時間採集した糞便にも比較的高い放射能が認められ、肝および消化管を介しての排泄もうかがわれた。

4) 本剤の臨床応用について、前立腺シンチグラム用薬剤への応用を中心に、その可能性について、文献的考察を含めて検討した。

稿を終るに臨み、本論文の御指導、御校閲を賜りました北里大学医学部泌尿器科学教室小柴健教授に心から感謝の意を表します。また種々の御協力、御教示をいただいた当教室石橋晃助教授、北里大学薬学部生理化学教室小林凡郎教授および同研究室柴田幸子助教授に深く感謝いたします。さらに、オートラジオグラフィに際して御協力、御指導をいただいた大日本製薬株式会社総合研究所宮崎亀、藤井敏彦両氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 藤野淡人：前立腺と Menadiol Sodium Diphosphate —酸性フォスファターゼ活性測定法にお

- ける基質としての応用, および前立腺腫瘍モデルの検討. 日泌尿会誌 (投稿中).
- 2) Marrian, D.H. and Maxwell, D.R.: Tracer studies of potential radiosensitizing agents tetrasodium 2-¹⁴C-Methyl-1,4-naphthohydroquinone diphosphate. *Brit. J. Cancer*, **10**, 575—582, 1956.
 - 3) Horwitz, H., et al.: Clinical and laboratory studies of the therapeutic possibilities of tritiated Synkavit, mainly by intra-arterial administration. *Acta Radiologica Suppl.*, **188**, 111—129, 1959.
 - 4) Marrian, D.H., Marshall, B. and Mitchell, J.S.: Laboratory and clinical studies of some quinol diphosphates and related compounds as chemical radiosensitizers and the development of a radioactive drug. *Chemotherapy*, **3**, 225—311, 1961.
 - 5) Evans, E.A.: Stability of a radioactive drug Tetrasodium 2-methyl-1,4-naphthohydroquinone diphosphate labelled with Tritium. *Nature*, **209**, 196—197, 1966.
 - 6) Andrews, K.J.M. and Marrian, D.H.: A radioactive drug: 2-methyl-6-tritio-1,4-naphthaquinol bis (disodium phosphate) and 2-methyl-5,6,7-tritio-1,4-naphthaquinol bis (disodium phosphate). *J. Chem. Soc.*, 3440—3446, 1962.
 - 7) Ullberg, S.: Autoradiographic studies on the distribution of labelled drugs in the body. *Proc. Intern. Conf. Peaceful Uses of Atomic Energy*, **24**, 248—254, 1958.
 - 8) Lehmann, F.E.: Prüfung zellteilungshemmender Stoffe an einem neuen Testobjekt. *Verhandl. Ver. Schweiz. Physiol.* June; 24—25, 1942.
 - 8) Lehmann, F.E.: Prüfung zellteilungshemmender Stoffe an einem neuen Testobjekt. *Verhandl. Ver. Schweiz. Physiol.* June; 24—25, 1942.
 - 9) Friedmann, E., Marrian, D.H. and Simon-Reuss, I.: Analysis of antimitotic action of certain quinones. *Brit. J. Pharmacol.*, **3**, 263—270, 1948.
 - 10) Mitchell, J.S. and Simon-Reuss, I.: Combination of some effects of x-radiation and a synthetic vitamin K substitute. *Nature*, **160**, 98—99, 1947.
 - 11) Mitchell, J.S. and Simon-Reuss, I.: Experiments on the mechanism of action of tetrasodium 2-methyl-1,4-naphthohydroquinone diphosphate as a mitotic inhibitor and radiosensitizer, using the technique of tissue culture. Experimental methods and quantitative results *Brit. J. Cancer*, **6**, 305—316, 1952.
 - 12) Mitchell, J.S. and Simon-Reuss, I.: Experiments on the mechanism of action of tetrasodium 2-methyl-1,4-naphthohydroquinone diphosphate as a mitotic inhibitor and radiosensitizer, using the technique of tissue culture: Relation between cytological effects and chemical constitution. *Brit. J. Cancer*, **6**, 317—338, 1952.
 - 13) Mitchell, J.S.: Laboratory studies and clinical radiotherapeutic trials of some chemical radio-sensitisers. *Acta Radiologica Suppl.*, **116**, 431—440, 1953.
 - 14) Mitchell, J.S.: Clinical assessment of tetrasodium 2-methyl-1,4-naphthohydroquinone diphosphate as a radiosensitizer in the radiotherapy of malignant tumors. *Brit. J. Cancer*, **7**, 313—328, 1953.
 - 15) Marrian, D.H. and Maxwell, D.R.: Tracer studies of potential radiosensitizing agents. *Brit. J. Cancer*, **10**, 739—747, 1956.
 - 16) Andrews, K.J.M., Marrian, D.H. and Maxwell, D.R.: Potential radiosensitisers: Some quinones and related compounds. *J. Chem. Soc.*, 1844—1854, 1956.
 - 17) Neukomm, S., Péguiron, L., Lerch, P., It Richard, M.: Répartition et fixation du synkavit hydrosoluble marqué par ³²P dans les organes du rat adulte. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **93**, 373—384, 1953.
 - 18) Simon-Reuss, I.: ³H incorporation into ascites tumor and tissue culture cells exposed to synkavit and its tritiated analogue. *Acta Radiol. (Stockh)*, **56**, 49—56, 1961.
 - 19) Gronow, M.: The effect of a radiosensitizer and its tritiated analogue on the sulphhydryl levels of mouse ascites tumor in vivo. *Int. J. Rad. Biol.*, **9**, 123—132, 1965.
 - 20) Dendy, P.P.: Selective uptake of a radioactive drug into human tumor cells growing in tissue culture. *Acta Radiol. Ther. Phys. Biol.*, **8**, 513—522, 1969.
 - 21) Marrian, D.H., Marshall, B., Mitchell, J.S. and Simon-Reuss, I.: The treatment of cancer by a radioactive drug: Tritium-labelled tetrasodium 2-methyl-1,4-naphthaquinol diphosphate. in: Tritium in the physical and biological sciences. 2; 211—218 International Atomic Energy Agency, Vienna 1962.
 - 22) Mitchell, J.S.: An attempt to develop a radioactive drug. *Clin. Radiol.*, **16**, 305—323, 1965.
 - 23) Mitchell, J.S.: Über die Möglichkeit der Verwendung radioaktiver pharmaka. *Strahlentherapie*, **127**, 497—509, 1965.
 - 24) Chipperfield, B.: Tritium uptake, half-lives

- and radiation doses in tissues of cancer patients treated with tritiated 2-methyl-1,4-naphthaquinol diphosphate. *Int. J. Cancer*, **2**, 381—395, 1967.
- 25) Marrian, D.H. and Evans, E.A.: Patent specification. *Brit. Pat.* 937682, Belg., **613**, 814, 1962.
 - 26) Mitchell, J.S., King, E.A., Marrian, D.H. and Chipperfield, B.: Investigation of a radioactive drug (TRA 119) with special reference to autoradiographic and related studies. *Acta Radiol. (Stockh), (New Series) Ther.*, **1**, 321—350, 1963.
 - 27) Losito, R., Owen, C.A. and Flock, E.V.: Metabolism of [^{14}C] Menadione. *Biochemistry*, **6**, 62—68, 1967.
 - 28) Taggart, W.V. and Matschiner, J.T.: Metabolism of Menadione-6,7- ^3H in the Rat. *Biochemistry*, **8**, 1141—1146, 1969.
 - 29) 安東 醇, 久田欣一: 金およびビスマスの担吉田肉腫結節ラットにおける体内分布および放射性同位元素標識化合物の腫瘍取込率とタンパク結合力との関連. *Radioisotopes*, **20**, 33—38, 1971.
 - 30) 安東 醇: マクロオートラジオグラフ法による ^{169}Yb , ^{67}Ga , ^{111}In の悪性腫瘍結節内分布の研究. *Radioisotope*, **26**, 13—18, 1977.
 - 31) 水川帰一郎, 他: 担がん動物における $^{103}\text{R-chloride}$, $^{103}\text{R-citrate}$ の体内分布の比較. *Radioisotopes*, **27**, 245—250, 1978.
 - 32) Kamada, M.: Distribution of $^{67}\text{Ga-citrate}$ in tumor tissue and various organs. (macroautoradiographic and scintigraphic studies). *Radioisotopes*, **27**, 390—396, 1978.
 - 33) Maeda, T., Kohno, A. and Kojima, M.: Development of RI-labelled oncotropic compounds (Affinity for tumor of $^{67}\text{Co-Bleomycin}$). *Radioisotopes*, **21**, 498—501, 1972.
 - 34) 森 徹, 浜本 研, 鳥塚莞爾: $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識 Bleomycin による腫瘍診断の基礎的検討ならびに臨床成績. *臨放*, **18**, 201—205, 1973.
 - 35) Daniel, D., Haddad, F., Prout, G. and Whitmore, W.F.: Some observations on the distribution of radioactive zinc in prostatic and other human tissues. *Br. J. Urol.*, **28**, 271—278, 1956.
 - 36) Johnston, G.S., Wade, J.C., Murphy, G.P.: ^{65}Zn and $^{69\text{m}}\text{Zn}$ studies in the dog, monkey and man. *J. Surg. Res.*, **8**, 528—534, 1968.
 - 37) Gold, F.M. and Lorber, S.A.: Radioisotope $^{69\text{m}}\text{Zn}$ chloride prostatic gland scan: $^{69\text{m}}\text{Zn}$ organ distribution studies and γ -camera scan in canine subjects. *Invest. Urol.*, **8**, 231—238, 1970.
 - 38) Chisholm, G.D. and Glass, H.I.: Radiozinc uptake and scintiscanning in prostatic disease. *J. Nucl. Med.*, **15**, 739—742, 1974.
 - 39) Yano, Y. and Budinger, T.F.: Cyclotron-Produced ^{62}Zn , its possible use in prostate and pancreas as a ^{62}Zn amino acid chelate. *J. Nucl. Med.*, **18**, 815—821, 1977.
 - 40) Tubis, M., Sendow, J.S. and Bland, W.H.: The distribution of ^{131}I labelled diethylstilbestrol diphosphate in animals and men with observations on its use as a scanning agent of the prostate. *Nucl. Med.*, **6**, 184—202, 1967.
 - 41) 三木 誠, 町田豊平, 石橋 晃, 南 孝明, 南武: ^{131}I -diethylstilbestrol diphosphate の研究. *日泌尿会誌*, **61**, 592—599, 1970.
 - 42) Ghanadian, R., Waters, S.L., Williams, G. and Chisholm, G.D.: The use of ^{125}I labelled oestradiol in detecting the human prostate using a gamma camera. *Eur. J. Nucl. Med.*, **1**, 159—169, 1976.
 - 43) Shida, K. and Shimazaki, J.: Uptake and scintiscanning of the prostate with ^{131}I -labelled estradiol phosphate. *Int. J. Nucl. Med. Biol.*, **3**, 86—89, 1976.
 - 44) Ghanadian, R. and Chisholm, G.D.: Investigations into the use of ^{75}Br labelled 5α -dihydrotestosterone for scanning the prostate. *Eur. J. Nucl. Med.*, **2**, 155—157, 1977.
 - 45) Tarle, M., Padoran, R. and Spaventi, S.: The uptake of radioiodinated 5α -dihydrotestosterone by the prostate of intact and castrated rats. *Eur. J. Nucl. Med.*, **6**, 79—83, 1981.
 - 46) Rajaniemi, H., Oksanen, A. and Vanha-Perttula, T.: Distribution of ^{125}I -prolactin in mice and rats. Studies with whole-body and microautoradiography. *Hormone Res.*, **5**, 6—20, 1974.
 - 47) 石橋 晃, 他: 前立腺スキャンの試み. *核医学*, **13**, 740, 1976.
 - 48) 石橋 晃: 骨盤内臓器・泌尿生殖器 RI スキャン. *診断と治療*, **66**, 1539—1549, 1978.
 - 49) Ramasarma, T., Srinivasan, N.G., et al.: Enzymic dephosphorylation of Synkavit. *Enzymologia*, **21**, 133—138, 1959.
 - 50) Damiani, C.R. and Filippini, D.U.: Sul potere estrogeno della vitamina K. *Athena*, **15**, 69—70, 1947.
 - 51) Paladino, T.: Sull'azione estrogena del 2-metil-1,4-naftochinone Saggiata col test di Allen-Doisy. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **24**, 303—305, 1948.
 - 52) Noble, R.L.: The development of prostatic adenocarcinoma in Nb rats following prolonged sex hormone administration. *Cancer Res.*, **37**, 1929—1933, 1977.

(1981年9月12日受付, 特別掲載)