キレート剤投与による ^{67}Ga -citrate の tumor/blood 比の改善

佐治英郎, 横山 陽*, 幡 直孝*, 三崎敦司, *田中 久*,

森田陸司, 福永仁夫, 鳥塚莞爾

京都大学医学部放射線核医学科 606 京都市左京区聖護院川原町54

*京都大学薬学部 606 京都市左京区吉田下阿達町

1979年10月15日受理

^{67}Ga -citrate の体内分布に与えるキレート剤の影響を, エールリッヒ 担がんマウスを用いて検討した。使用したキレート剤は, CaEDTA, CaDTPA, D-penicillamine, DMSA, desferoxamine, NTA, cysteine ethyl ester, BAL, α -MPG, phthalein complexone の10種類である。これらのキレート剤を, ^{67}Ga -citrate 投与1時間後に投与すると, 大部分の場合, 血中からの ^{67}Ga の消失を速める一方, がんへの取込みには比較的影響を与えず, 結果的に tumor/blood 比の上昇が認められた。このように, キレート剤の投与は, イメージの改善には, 1つの有効な方法であることが示された。さらに, これらのキレート剤のうち, D-penicillamine が最も効果的であり, ^{67}Ga -citrate のみを投与した control group に比べ, かなり早い時点で, かなり高いがんとの臓器との取込み量の比が得られた。

Key Words: gallium-67, tumor imaging, contrast enhancing agent, chelating agent, tumor-to-blood ratio

1. 緒 言

^{67}Ga -citrate (以下 ^{67}Ga -cit と略記) は, がん診断薬として, 現在最もよく用いられている放射性医薬品の1つである。しかしながら, この試薬には, (1)悪性と良性腫瘍の区別なく取り込まれるため, 炎症部位にも取込みが認められる, (2)がんがんでない組織との取込みにおける%/g の比が小さい, (3)体内, とくに血中からのクリアランスが遅いので, イメージを撮るには投与後24~72時間も必要であるなどの欠点がある^{1),2)}。とくに血中からの消失が遅いということは被曝という点からも問題となる点である。そこで, 今回, がんを除く他の臓器, とくに血中からの ^{67}Ga の消失をできるだけ速くし, 結果的にイメージを投与後の短時間内に撮ることを可能とすることを目的として実験を行った。もし, このように ^{67}Ga -cit 投与後短時間内にイメージが得られるようになれば, 短半減期核種でかつ陽電子放出核種である ^{68}Ga (半減期68分) を使用することも可能となり, 短期間でのアイソトープ検査の繰返しや被曝の軽減をはじめ, ポジトロンカメラを用いての病巣の正確な位置の決定もでき, がんの診断に大いに役立つものと思われる。

さて, 投与された ^{67}Ga は, 血液中では約90%がトランスフェリン (以下 Tf と略記) と結合しているとされている³⁾⁻⁵⁾。したがって, この Tf に結合して

いる ^{67}Ga をキレート剤で除去し, 尿中または糞中へ排泄させることは非常に有用な方法であると考えられる。実際, Hoffer らは, pH が中性付近で Ga と強く結合する鉄排泄キレート剤の一種である desferoxamine (以下 DEF と略記) を, ^{67}Ga -cit 投与3時間後に投与すると, 24時間後には, 血中濃度が ^{67}Ga -cit のみを投与したコントロール群にくらべ約1/10になると報告している^{6),7)}。しかし, この場合には, がん自体への取込みそのものも減少するため, 小さい病巣や深い所にある病巣を検出することが難しく, ^{67}Ga -cit 投与後短時間に診断を可能にするためのイメージの改良という点では, まだ十分なものではない。また, Larson らも同じ DEF を用いて, 投与時間, 投与量などをいろいろ変化させて検討しているが, 同じような傾向があると述べている^{8),9)}。そこで, 診断に要する時間の短縮という点で, もっと有効なキレート剤を見出すために, DEF を含め各種キレート剤の ^{67}Ga -cit の体内分布に与える影響を検討した。

2. 実 験

2.1 試薬

^{67}Ga -cit は, 第一ラジオアイソトープ研究所および日本メディフィジックス社製のものを, ビリジン: エタノール: 水 = 1 : 2 : 4 (ろ紙, Whatman No.1) および50%メタノール (ろ紙, 東洋ろ紙 No.51) を展

開溶媒としたペーパークロマトグラフィにてその放射化学的純度を検討したのち使用した。 Na_3CaDTPA (以下 CaDTPA と略記) は, CaCl_2 と DTPA とを混合し, pH を NaOH にて 7.0 に調整して用いた。NTA, 3, 3'-Bis [N, N-di (carboxymethyl)-aminomethyl]-*o*-cresolphthalein (以下 PC と略記), dimercaptosuccinic acid (以下 DMSA と略記) は, それぞれ 1 M NaHCO_3 で溶解後, pH を 7.0~7.4 に調整して使用した。また, DEF はチバガイギー社製のものを, その他の試薬はすべて特級試薬を使用した。

2.2 動物実験

^{67}Ga の体内分布の検討には, エールリッヒ担がんマウス (d-d 系) を用いた。すなわち, 約 30 g の雄マウスの左大腿部にエールリッヒ腹水がんを移植し, 1 週間後, その重量が約 1 g になったものを一群 3~5 匹ずつ使用した。 ^{67}Ga -cit を 370 kBq (10 μCi) 尾静脈より投与し, 1 時間後, 種々の濃度の各種キレート剤 0.1 ml を, ふたたび尾静脈より投与した。投与後, 経時的に屠殺し, 血液および主要臓器を取り出し, その重量および放射能を測定した。なお, DEF, D-penicillamine (以下 Pen と略記) および Na_2CaEDTA (以下 CaEDTA と略記) については, 投与時間についても検討を加えた。尿および糞は, メタボリックケージを用い, ^{67}Ga -cit を投与後 24 時間の間集めた。

3. 結 果

^{67}Ga -cit の体内分布に与える各種キレート剤の影響を検討するために, ^{67}Ga -cit 静注 1 時間後に, 各種キレート剤をふたたび尾静脈より投与し, その後の ^{67}Ga の体内分布の経時変化を調べてまとめたのが Table 1 である。なお, 今回使用したキレート剤は, PC, cysteine ethyl ester (以下 *cys ester* と略記), BAL, α -mercaptopropionylglycine (以下 α -MPG と略記) CaEDTA , CaDTPA , Pen, DMSA, DEF, NTA の 10 種類である。まず, ^{67}Ga -cit のみを投与した群, すなわち control group における分布をみると, ^{67}Ga の tumor への取込みは非常に速く, 投与後 30 分で 3.80%/g の値を示し, 以後この値はあまり大きく変化しない。それに比べ, 血液からは徐々にではあるが減少を示し, その結果, tumor/blood 比は時間とともに上昇している。しかし, その上昇率は遅く, 6 時間後になってもまだその比は 1 を超えず, 24 時間後になって初めてその比は 1 を超え, 2.79 という値を示した。一方, 各種キレート剤を投与した群においては,

NTA 投与の場合を除き, キレート剤投与 1 時間後には, いずれも, tumor/blood 比は control group に比べ上昇を認めている。これは, いずれの薬物も血液からの ^{67}Ga の消失を速めるためである。すなわち, このとき, tumor 自体への取込みも大部分の場合ある程度減少するが, それ以上に血液からの消失が促進されるため, 結果的に tumor/blood 比は改善されるということになるのである。なお, NTA の場合, tumor/blood 比においてあまり良い結果が得られなかったのは, 33 $\mu\text{g/g}$ という投与量が 24 時間後には大半のマウスが死亡するほどに毒性が高い量であったため, マウスが正常な機能を営むことができない状態にあり, そのため, tumor への取込みもかなり低下したためであると思われる。

つぎに, これらのなかで, 比較的良好な値の得られた CaEDTA , Pen, DEF について, さらに投与量, 投与時間などの検討を行った。投与量については, Table 2 に示すように, いずれの場合も, 投与量の増加とともに血中からの消失は速くなり, それにともなって tumor/blood 比は上昇を認めている。一方, 投与時間については, Table 3 に示すように, 全体として, 10 分後に投与するよりも, 1 時間~3 時間後に投与したほうがよい値が得られている。とくに, Pen の場合には, ^{67}Ga -cit 投与 1 時間後に投与したときには, tumor/blood 比が 2.41, また 3 時間後に投与したときには, 5.67 という値が得られ, ^{67}Ga -cit のみを投与した control group の 24 時間の値の 2.79 という値に近いまたはそれ以上の値が得られている。

また, 尿および糞中への排泄量を調べてみると, Table 3 に示すように, CaEDTA , Pen, DEF のいずれの場合も, 尿への排泄量が 9.57%, 糞への排泄量が 8.70% の control group の場合に比べると, 尿への排泄量が多くなっている。このことは, 主として血液からの ^{67}Ga はキレート剤により尿へ運ばれることを示している。

4. 考 察

^{67}Ga -cit において, tumor/blood 比を上げようとしてキレート剤を使用する場合, 一般に, 血液からの消失を速めるという点と, tumor 自体の取込み量が低下するという点は, おたがいに相反する影響を与えるようである^{8~9)}。したがって, この 2 点をうまく調節してバランスをとることが非常に重要となる。このような観点から, いくつかのキレート剤の影響を調べてみた。Table 1 に示したキレート剤の投与量は, 各化合

Table 1 Biodistribution of ^{67}Ga in Ehrlich's tumor bearing mice administered chelating agents at 1 hr after injection of ^{67}Ga -citrate.

Each value is the mean of three to five mice.

Compound ² (administered dose (mg/g body weight))	Time after injection ¹ (hr)	Tumor/Tissue ratio ³					% injected dose/g		% dose excreted in urine for 24 hr after ^{67}Ga
		T/B	T/L	T/K	T/I	T/M	Blood	Tumor	
Ga-citrate	0.5	0.37	1.50	0.88	1.83	2.43	15.51	3.80	9.57
	1	0.48	1.29	0.91	1.44	2.46	9.71	3.74	
	3	0.74	1.63	0.96	1.30	3.18	4.46	2.82	
	6	0.73	1.16	0.99	1.30	5.50	4.99	3.59	
	24	2.79	0.78	0.77	1.56	10.30	1.45	3.58	
PC (0.36)	1	1.00	0.93	0.79	0.39	2.57	5.15	5.13	14.60
	3	0.75	0.68	0.52	0.13	2.55	2.85	2.14	
	24	1.84	0.70	0.53	0.59	4.15	0.76	1.61	
Cysteine ethyl ester (0.17)	1	0.58	1.36	1.34	1.07	4.03	8.44	4.79	11.78
	3	0.83	1.30	1.33	0.78	5.66	5.49	4.54	
	24	4.66	1.32	1.02	1.27	9.07	1.17	4.27	
BAL (0.005)	1	0.48	0.92	1.00	1.17	3.53	6.15	2.83	7.14
	3	0.72	1.17	1.48	1.20	3.85	4.36	2.92	
	24	2.28	0.73	0.90	1.09	10.81	1.16	2.52	
α -MPG (0.30)	1	0.94	2.10	1.62	1.37	3.15	5.77	5.07	8.87
	3	2.26	2.17	1.51	1.51	3.34	3.73	5.03	
	24	3.61	1.19	1.02	1.64	8.70	1.08	3.14	
CaEDTA (1.00)	1	1.17	1.56	1.23	0.81	3.05	7.52	6.27	11.40
	3	1.11	1.40	1.13	0.53	3.00	3.32	3.64	
	24	1.64	1.03	1.54	1.12	7.42	1.17	1.79	
CaDTPA (0.67)	1	0.71	0.73	0.57	0.72	2.64	2.67	1.86	18.88
	3	0.73	0.72	0.79	0.59	4.08	2.27	1.65	
	24	2.42	1.03	0.93	1.01	10.75	0.71	1.62	
D-penicillamine (0.67)	1	0.83	1.39	0.61	0.82	3.27	1.23	1.89	48.13
	3	2.20	1.01	0.60	0.47	2.37	0.45	1.32	
	24	1.83	0.82	0.53	0.85	4.86	0.47	1.18	
DMSA (0.50)	1	0.62	1.02	1.10	0.94	4.02	3.04	1.88	13.48
	3	0.84	0.93	1.01	0.81	5.38	2.79	2.33	
	24	2.73	0.96	0.90	1.39	7.37	0.92	2.37	
Desferoxamine (0.067)	1	0.75	1.26	0.23	0.83	2.75	1.59	1.08	37.33
	3	0.92	1.20	0.25	0.43	3.60	0.77	0.64	
	24	2.48	1.02	0.32	0.87	21.63	0.15	0.38	
NTA (0.033)	1	0.46	1.04	1.12	0.88	3.54	5.99	2.78	—
	3	0.88	1.26	1.36	0.65	6.50	4.04	3.51	

1 When chelating agent is administered, the number represents the time after injection of the chelating agent.

2 PC=3, 3'-Bis[N, N-di(Carboxymethyl)-aminomethyl]-o-cresolphthalein, α -MPG= α -Mercaptopropionyl-glycine, DMSA=Dimercaptosuccinic acid.

3 T/B=tumor-to-blood ratio, T/L=tumor-to-liver ratio, T/K=tumor-to-kidney ratio, T/I=tumor-to-intestine ratio, T/M=tumor-to-muscle ratio.

Table 2 Dose effect of CaEDTA, D-penicillamine and desferoxamine on the tissue distribution of ^{67}Ga -citrate in Ehrlich's tumor bearing mice.
Each value is the mean of three to five mice.

Chelating agent	Administered dose (mg/g body weight)	Time after injection of chelating agent* (hr)	Tumor/Tissue ratio**		Blood (%/g)
			T/B	T/M	
CaEDTA	0.067	1	0.58	2.53	6.43
		3	0.76	2.64	4.72
		24	1.40	3.29	1.30
	1.000	1	1.17	3.05	7.52
		3	1.11	3.00	3.32
		24	1.64	7.42	1.17
	0.150	1	0.79	3.98	11.07
		3	0.92	3.90	4.27
		24	2.28	5.22	1.35
D-penicillamine	0.667	1	0.83	3.27	1.23
		3	2.20	2.37	0.45
		24	1.83	4.86	0.47
	0.010	1	0.55	3.67	7.46
		3	0.75	3.46	3.40
		24	2.62	4.99	0.84
	0.067	1	0.75	2.75	1.59
		3	0.92	3.60	0.77
		24	2.48	21.63	0.15

*Chelating agent was administered intravenously at 1 hr after ^{67}Ga -citrate injection.

**T/B=tumor-to-blood ratio, T/M=tumor-to-muscle ratio.

物の LD_{50} の $\frac{1}{3} \sim \frac{1}{10}$ の量で、投与後3時間以内に死亡を認めない量とした^{10)~12)}。Table 1 において、CaDTPA, CaEDTA, Pen, DMSA, DEF などの水溶性の高い化合物に比べ、PC, cys ester, BAL などの比較的脂溶性の高い化合物の場合は、全体として血液からのクリアランスが悪く、腹部に高い放射能の集積を示すものもある。これは、おそらく、生成したキレートが脂溶性が高いために、体外への排泄過程において、尿からの排泄が起こりにくく、むしろ胆汁排泄に頼っているためと考えられる。しかし、このような腹部における高い放射能の存在は、現在でも難点となっている腹部がんの検出をさらに難しくすると考えられるので、キレート剤としては、水溶性の高いもので、尿への排泄が多いもののほうが有効と思われる。

このようなことをもとにして、Table 1 の結果から、初期において tumor/blood 比の高い CaEDTA、および血液からの消失もかなり速く、かつ尿中への排泄量の多い Pen, DEF が今回の目的には一応適応するものと考えられる。そこで、この3つの化合物につ

いて、投与量、投与時間についてさらに検討を加えてみると、投与量については、キレート剤の血中濃度が高いほどキレート化されやすいはずであるから、投与量が多いほどよく、一方、投与時間については、 ^{67}Ga -cit とキレート剤の投与間隔が短いほど分布せずに血液に残っている ^{67}Ga が多いので、体外へ排泄される ^{67}Ga が相対的に多くなり、tumor へ取り込まれる量がその分だけ少なくなるため、結果的に tumor/blood 比が低くなるので、投与間隔は長いほどよく、今回の結果では1時間以上にしたほうがよいことが示された (Table 2, 3)。

以上の結果から、CaEDTA, Pen, DEF の3つの化合物において、 ^{67}Ga -cit 投与1時間～3時間後に投与した場合について、最初に述べた2点から比較検討してみると、血液からのクリアランスは全体的にみると、DEF がいちばん効果的で、以下 Pen, CaEDTA の順にその効果は少なくなっている。一方、tumor への取込み量は、CaEDTA, Pen, DEF の順で少なくなっている。したがって、どの化合物の場合でも一長一

Table 3 Effect of interval between ^{67}Ga -citrate injection and CaEDTA, D-penicillamine or desferoxamine administration on the tissue distribution of ^{67}Ga in Ehrlich's tumor bearing mice.

Each value is the mean of three to five mice.

Compound (administered dose (mg/g body weight))	Time between Ga inject. and com- pound administ.	Time after inject. of compound (hr)	Tumor/Tissue ratio*		% injected dose/g		%dose excreted for 24 hr after Ga	
			T/B	T/M	Blood	Tumor	Urine	Feces
CaEDTA (1.00)	10 min	1	1.05	1.06	2.03	1.54	30.02	10.54
		3	0.95	2.63	2.10	1.95		
		24	1.46	8.39	1.03	1.42		
	1 hr	1	1.17	3.05	7.52	6.27	11.40	—
		3	1.11	3.00	3.32	3.64		
		24	1.64	7.42	1.17	1.79		
	3 hr	1	1.04	2.18	2.12	1.78	22.49	10.94
		3	1.91	3.27	1.11	1.89		
		24	1.28	5.48	0.83	1.04		
D-Penicillamine (0.67)	10 min	1	0.65	3.10	2.23	1.46	22.93	7.78
		3	1.46	4.14	1.01	1.11		
		24	2.09	8.98	0.68	1.48		
	1 hr	1	0.83	3.27	1.23	1.89	48.13	7.07
		3	2.20	2.37	0.45	1.32		
		24	1.83	4.86	0.47	1.18		
	3 hr	1	1.42	5.98	2.39	3.06	31.18	15.82
		3	5.67	5.90	0.35	1.93		
		24	2.61	9.00	0.69	1.79		
Desferoxamine (0.067)	10 min	1	0.54	3.75	1.28	0.68	65.15	3.99
		3	0.83	6.36	0.58	0.45		
		24	2.07	9.14	0.18	0.39		
	1 hr	1	0.75	2.75	1.59	1.08	37.33	8.35
		3	0.92	3.60	0.77	0.64		
		24	2.48	21.63	0.15	0.38		
	3 hr	1	1.25	5.23	1.12	1.37	50.13	8.18
		3	1.59	5.31	0.80	1.28		
		24	2.61	6.16	0.39	1.03		

*T/B=tumor-to-blood ratio, T/M=tumor-to-muscle ratio.

短があると思われるが, ^{67}Ga -cit 投与後できるだけ短時間内に検出を可能にするという目的からすれば, Pen を ^{67}Ga -cit 投与1時間~3時間後に, 体重1 g あたり0.67mg 投与し, その3時間後にイメージを撮るという方法が最もよい方法であると思われる。また, DEF は, その各臓器におけるすぐれた ^{67}Ga 除去率から, できるかぎり早い時点でつぎの検査ができるように ^{67}Ga を体外にすばやく追出すために ^{67}Ga で検査したのちに投与するという, いわゆる cleaning agent として有用と思われる^{8),9)}。しかし, 実際にこれらを臨床に用いるには, まだまだ問題があり, 毒性や副作用などの検討も必要と思われ, そのためには,

静脈注射を筋肉注射や点滴に変えるなどの投与ルートのかうも必要であろう。

しかし, このように, キレート剤に ^{67}Ga -cit によるがん診断の価値を高める可能性があるということは, たんに ^{67}Ga に限らず, 医用 RI に金属が多いという点から考えて, キレート剤による除去法が, イメージの改良において, 1つの有用な方法であることを示唆しているものと思われる。

文 献

- 1) R. L. Hayes: *Semin. Nucl. Med.*, 8, 183 (1978)

- 2) S.M. Larson: *ibid.*, **8**, 193 (1978)
- 3) J. Clausen, C. Edeling and J. Foh: *Cancer Res.*, **34**, 1931 (1974)
- 4) D.J. Hnatowich, S. Kulprathipanja and R. Beh: *Int. J. Appl. Rad. Isotopes*, **28**, 925 (1977)
- 5) S. Kulprathipanja, D.J. Hnatowich and G. Evans: *Int. J. Nucl. Med. Biol.*, **5**, 140 (1978)
- 6) P.B. Hoffer, A. Samuel, J.T. Bushberg, et al.: *J. Nucl. Med.*, **20**, 248 (1979)
- 7) P. B. Hoffer, A. Samuel, J. T. Bushberg, et al.: *Radiology*, **131**, 775 (1979)
- 8) Z.H. Oster: *J. Nucl. Med.*, **19**, 732 (1978)
- 9) S.M. Larson, J.S. Rasey, Z. Grunbaum, et al.: *Radiology*, **130**, 241 (1979)
- 10) 海外技術資料研究所専門委員会編: 4万2千種化学薬品毒性データ集成, 海外技術資料研究所, 東京 (1975)
- 11) V.G. Kallistratos and G. Malorny: *Arzneim. Forsh. (Drug Res.)*, **22**, 1434 (1972)
- 12) 上野景平: EDTA-コンプレキサンの化学一, p.188, 南江堂, 東京・京都, (1977)

Abstract

Enhancement of ^{67}Ga Tumor-to-Blood Ratios by Chelating Agent

Hideo SAJI, Akira YOKOYAMA*, Naotaka HATA*,
Atsushi MISAKI*, Hisashi TANAKA*, Rikushi MORITA,
Masao FUKUNAGA and Kanji TORIZUKA

Department of Nuclear Medicine and Radiology, School of Medicine, Kyoto University

54, Shogoin Kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606

*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University

Yoshida Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606

Chelating agent, such as, CaEDTA, CaDTPA, D-penicillamine, DMSA, desferoxamine, NTA, cysteine ethyl ester, BAL, α -MPG, phthalein complexone, were tested as a possible contrast enhancing agent for tumor imaging with ^{67}Ga -citrate.

The intravenous administration of a chelating agent to Ehrlich's tumor bearing mice, one hour after the injection of ^{67}Ga -citrate, accelerated the blood clearance with only a very slight change of activity in the target, increasing the tumor-to-blood ratio, and consequently achieving a better visualization. Among the tested chelating agents, D-penicillamine showed the highest target-to-nontarget ratio at a shorter time: a good tumor-to-blood ratio, performed after 24 hr with non-treated animals, was achieved in only 1-3 hr with post-treated animals. Thus, D-penicillamine hold a considerable promise as a contrast enhancing agent for future clinical use.

(Received October 15, 1979)