

クエン酸⁶⁷Gaによる腫瘍イメージの薬理的改善に関する基礎的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9021

クエン酸 ^{67}Ga による腫瘍イメージの薬理的改善に関する基礎的研究

金沢大学医学部核医学講座 (主任: 久田欣一教授)

小 泉 潔

(昭和58年1月10日受付)

腫瘍イメージング用剤の一つであるクエン酸 ^{67}Ga は体内からの排泄が遅く、したがって、これによる腫瘍イメージが不良となる原因の一つになっている。3価のガリウムは3価の鉄と類似した点を有し、鉄キレート剤であるメシル酸デフェロキサミン (deferoxamine mesylate 以下 DFO と略) と結合することが知られており、DFO 投与により血中 ^{67}Ga の排泄が促進され、腫瘍イメージ改善効果が期待される。本論文にてその改善効果およびその機序に関して詳細な検討を行った。腫瘍モデルとしては吉田肉腫皮下結節ラット (以下腫瘍ラットと略) を用いた。また、吉田肉腫培養細胞を用いての検討も行った。腫瘍ラットにクエン酸 ^{67}Ga を注射し、その4時間後 DFO を投与すると、対照群に比し血中放射能の著明な減少と腫瘍内放射能の軽度の減少を示し、DFO 投与3時間後における腫瘍対血液比は16.5と対照群の1.2に比し著明な改善を認めた。それに対し、DFO 投与をクエン酸 ^{67}Ga 注射12時間後に行うと、血中放射能の減少は同様であったが、腫瘍内放射能の経時的変化は対照群と大差はなく、DFO 投与3時間後における腫瘍対血液比は29.4と対照群の2.2に比しより著明な改善を認めた。また、この結果より、腫瘍内への ^{67}Ga 集積は、投与後早期においてはDFO投与により容易に排出される分画への集積であり、投与後後期の集積はDFO投与により排出され難い分画への集積という2カ所の部位から成立している可能性が推定された。DFO投与による腫瘍対血液比の改善効果はDFO投与量の多い方が大であり、無投与群0.61であるのに対し、10 mg/kg 投与群0.89, 50 mg/kg 投与群2.62, 200 mg/kg 投与群12.16を示した。 ^{67}Ga とDFOは試験管内においてすみやかに結合し、形成された ^{67}Ga -DFOを腫瘍ラットに投与すると、腫瘍への集積は少なく、大部分の放射能はすみやかに腎より排泄された。吉田肉腫培養細胞においては ^{67}Ga は経時的に摂取が増加することが示され、一旦 ^{67}Ga を摂取した培養細胞にDFOを作用させても細胞からの ^{67}Ga の排出は見られなかった。このことより、 ^{67}Ga 腫瘍集積における後期の結合分画として、細胞内への集積が一つの可能性として推測された。以上、DFO投与により血中 ^{67}Ga はすみやかに減少するが、一旦腫瘍細胞内まで摂取された ^{67}Ga はDFO投与によっても減少を示さず、その結果、腫瘍対血液比の増加をきたし、腫瘍イメージ改善効果が期待される。

Key words ^{67}Ga , 腫瘍シンチグラフィ, メシル酸デフェロキサミン

^{67}Ga がホジキン病のリンパ節に集積することが初めて見出されたのは1969年であり¹⁾、それ以来、種々の腫瘍に集積することが見出され、現在、日常臨床での腫瘍イメージング用剤としての価値が充分評価されている²⁾。しかしながら、クエン酸 ^{67}Ga による腫瘍イメージングの欠点の一つとして、体内に投与された ^{67}Ga の排泄が遅く³⁾、その結果血中放射能が高く、したがって ^{67}Ga 投与の早い時間には充分良好な腫瘍イメージを撮る

ことができず、血中放射能が低下するまで待たねばならない点である。

^{67}Ga がクエン酸 ^{67}Ga として投与された場合、血液中 ^{67}Ga は鉄結合蛋白であるトランスフェリンと結合することが知られており^{4)~6)}、血液中には ^{67}Ga -トランスフェリン結合体として存在し、その結果 ^{67}Ga の排泄遅延が認められる。したがって、この ^{67}Ga とトランスフェリンの結合を解離し、すみやかに ^{67}Ga を体外に排泄

Possible Pharmacologic Enhancement of ^{67}Ga -Citrate Tumor Imaging. **Kiyoshi Kozumi**, Department of Nuclear Medicine, (Director: Prof. K. Hisada), School of Medicine Kanazawa University.

することを目的として種々の薬剤投与が試みられている。デキストラン鉄等の鉄剤⁷⁾⁻⁹⁾、鉄キレート剤であるメシル酸デフェロキサミン (deferoxamine mesylate 以下 DFO と略)¹⁰⁾⁻¹³⁾、合成 siderophore である tricatecholamide ligand¹⁴⁾、さらに周期律表の IIIA 族に属するスカンジウム¹⁵⁾などである。ガリウムは周期律表の IIIB 族に属する元素であり、3 価のガリウムは原子半径や電荷や種々の無機化合物を形成する性格が 3 価の鉄と非常に類似を示しており、siderophore ligand に対しても、in vitro、in vivo のいずれにおいても 3 価のガリウムは 3 価の鉄とよく競合することが示されている¹⁶⁾。これらの点より、体内の過剰鉄排泄促進剤として臨床的に用いられている¹⁷⁾¹⁸⁾DFO の⁶⁷Ga 排泄促進剤としての使用は充分理論的根拠がある。しかしながら、現在までの報告は心ずしも十分な効果が示されてはいない。その一つの理由として DFO 投与時間等に関して必ずしも充分系統的に検討されていないためである。

本研究では、以上の検討に重点をおき、さらに培養細胞を用いた検討も行うことにより、DFO の⁶⁷Ga 排泄効果を論じ、さらに、⁶⁷Ga の腫瘍集積に関し一つの興味ある知見を得た。

材料と方法

今回の実験に用いた腫瘍モデルとしては吉田肉腫皮下結節ラットを用いた。この結節は、ドンリュウラットの腹水中に継代されている吉田肉腫腹水細胞約 1×10^6 個を体重 170~230 g の雌ドンリュウラットの大腿皮下に移植し、約 5 日後、直径約 2 cm の結節を形成した時期に実験に用いた。

DFO は日本チバガイギー社製のデスフェラールバイアルを使用し、使用時、滅菌蒸留水にて溶解した。クエン酸⁶⁷Ga は日本メジフィジックス社製あるいは第一ラジオアイソトープ研究所社製のクエン酸⁶⁷Ga 注射液 (1 mCi/ml) を使用し、ラットへの投与に際しては 0.07 モルクエン酸ナトリウムにて $10 \mu\text{Ci}/0.4 \text{ ml}$ に希釈して用いた。

吉田肉腫培養細胞は、ドンリュウラット腹水中より採取した吉田肉腫腹水細胞を 20% ウシ胎児血清加 Eagle MEM 培地にて継代培養しているものを用いた。この吉田肉腫細胞は浮遊培養で増殖し、その倍加時間は約 12 時間である。

各実験とも、それぞれの時間毎、ラットの場合 3~5 匹、培養細胞の場合 4 ないし 5 本の培養試験管の測定値を平均し、Student t test にて有意差検定を行った。

I. DFO 投与によるクエン酸⁶⁷Ga の体内分布に与える影響

1. 吉田肉腫皮下結節ラット(以下腫瘍ラットと略)におけるクエン酸⁶⁷Ga の体内分布

腫瘍ラットにクエン酸⁶⁷Ga $10 \mu\text{Ci}$ を尾静脈より静注投与し、投与後 30 分、1、3、5、7、10 および 16 時間後、ラボナール麻酔下に脱血屠殺し、腫瘍、血液、筋肉、肝、腎、肺を採取した。各臓器の重量を測定した後、放射能をウェルタイプシンチレーションカウンターにて 0~400 KeV のエネルギー範囲にて測定した。各臓器の摂取量は、臓器 1 g あたりに摂取された放射能の投与量に対するパーセント (% dose/g) をラット体重 1 kg あたりに標準化し (% dose/g (norm))、さらに 10^3 倍することにより % dose/g (norm) $\times 10^3$ として表現した。

2. 腫瘍ラットにおけるクエン酸⁶⁷Ga の体内分布に及ぼす DFO の効果

1) クエン酸⁶⁷Ga 注射後早期の DFO 投与効果

腫瘍ラットにクエン酸⁶⁷Ga $10 \mu\text{Ci}$ を静注投与し、投与 4 時間後に DFO をラット体重 kg あたり 200 mg を筋注投与した。DFO 投与後 1、3、6 および 12 時間後に脱血屠殺し、各臓器を摘出し、その放射能摂取量(残存量)を測定した。

2) クエン酸⁶⁷Ga 注射後後期の DFO 投与効果

腫瘍ラットにクエン酸⁶⁷Ga $10 \mu\text{Ci}$ を静注投与し、投与 12 時間後に DFO をラット体重 kg あたり 200 mg を筋注投与した。DFO 投与後 1、3、6 および 12 時間後に脱血屠殺し、各臓器を摘出し、その放射能摂取量(残存量)を測定した。

3) クエン酸⁶⁷Ga 注射前の DFO 投与効果

腫瘍ラットにクエン酸⁶⁷Ga を投与する前 1、3、6、24 および 48 時間に DFO をラット体重 kg あたり 200 mg を筋注投与した。クエン酸⁶⁷Ga $10 \mu\text{Ci}$ を静注投与 20 時間後に脱血屠殺し、各臓器を摘出し、その放射能摂取量(残存量)を測定した。

3. 腫瘍ラットにおける DFO 投与量と腫瘍対血液比の改善度との関係

腫瘍ラットにクエン酸⁶⁷Ga $10 \mu\text{Ci}$ 投与 4 時間後、DFO をラット体重 kg あたり 10 mg、50 mg および 200 mg を筋注投与した。その 3 時間後脱血屠殺し、腫瘍を摘出し、血液および腫瘍の放射能を測定し、腫瘍対血液比を算出した。

4. DFO 投与による正常ラット体内残存⁶⁷Ga 放射能の経時的変化

正常ラットにクエン酸⁶⁷Ga $10 \mu\text{Ci}$ を投与し、以下の異なる時間の後、DFO をラット体重 kg あたり 200 mg 筋注投与し、以下のごとく経時的にアニマルカウンターにて 184 KeV $\pm 10\%$ のエネルギーで体内残存⁶⁷Ga 放射能を測定した。

- 1) クエン酸⁶⁷Ga 静注 4 時間後 DFO 投与し、その 1, 3, 6 および 18 時間後測定
- 2) クエン酸⁶⁷Ga 静注 17 日後 DFO 投与し、その 1, 3 および 6 時間後測定
- 3) クエン酸⁶⁷Ga 静注 12 時間後 DFO 投与し、その 24, 48, 72 および 96 時間後測定

II. DFO 投与によるクエン酸⁶⁷Ga 体内分布改善の機序

1. in vitro での⁶⁷Ga と DFO との結合能の検討

クエン酸⁶⁷Ga 50 μCi/ml の 1 ml および DFO 100 mg/ml の 1 ml を試験管内にて混和し、軽く振とうする。これを Whatman 3MM クロマトグラフィー用ペーパーにスポットし、n-ブタノール+n-プロパノール+水を 9+6+5 に混合した溶媒で展開した。対照として、クエン酸⁶⁷Ga のみをスポットしたものと比較した。

2. 腫瘍ラットにおける⁶⁷Ga - DFO の体内分布

クエン酸⁶⁷Ga 50 μCi/ml および DFO 100 mg/ml の等量を試験管内にて混和振とう後、その 0.4 ml (⁶⁷Ga の放射能として 10 μCi, DFO の量として 20 mg を含む) を腫瘍ラットに静注投与した。投与後 30 分、1 時間、3 時間および 24 時間後に脱血屠殺し、腫瘍、血液、筋肉、肝および腎を摘出し、その放射能摂取量を測定した。

3. DFO 投与ラットにおける血清不飽和鉄結合能 (以下 UIBC と略) の経時的変化

正常ラットに DFO を体重 kg あたり 200 mg 筋注し、投与後 1, 3, 6 および 24 時間後脱血し、血液を遠心分離し、血清を採取した後、市販の UIBC 測定用キットを用いて測定した。

4. 吉田肉腫培養細胞における⁶⁷Ga の細胞内摂取量の経時的変化

図 1 の左側列に示したごとく、20% ウシ胎児血清加 Eagle MEM 培地にて継代培養している吉田肉腫培養細胞を新鮮培養液中に 10~20×10⁴ cells/ml となる様浮遊させ、容量 16 ml の培養試験管へ 2 ml ずつ分注し、24 時間の前インキュベーションを行った。その後クエン酸⁶⁷Ga を 10 μCi/ml となる様に新鮮培養液で希釈したものを 0.5 ml ずつ分注し、1, 3, 6, 12 および 24 時間、37°C にてインキュベーションを行った。インキュベーション時間終了後、ただちに細胞を 1000 回転 10 分間遠心分離し、Dulbecco リン酸緩衝液にて 2 回洗浄し、トリパンブルーによる生細胞数算定および細胞の放射能測定を行った。細胞内の⁶⁷Ga 摂取量は % dose/10⁶ viable cells として表現した。

5. 培養細胞内摂取された⁶⁷Ga の DFO 投与による細胞外への排出

図 1 の右側列に示したごとく、上記の方法でクエン酸⁶⁷Ga を各培養試験管へ分注した後、4 時間あるいは

12 時間のインキュベーションを行い、細胞内へ⁶⁷Ga を摂取させた後、細胞を遠心分離し、洗浄し、新鮮培養液中に再浮遊させた。そこで DFO を 100 mg/ml となる様に新鮮培養液で溶解したものを 0.015 ml ずつ分注し、1, 3, 6 および 12 時間、37°C にてインキュベーションを行った。インキュベーション時間終了後ただちに細胞を遠心分離し、洗浄し、生細胞数の算定および細胞内残存放射能の測定を行った。対照としては DFO のかわりに DFO を含まない新鮮培養液を 0.015 ml ずつ分注して検討した。

6. 腫瘍ラットより摘出した腫瘍組織からの⁶⁷Ga の溶出

腫瘍ラットにクエン酸⁶⁷Ga 10 μCi を静注投与後 3, 6, 9 および 12 時間後脱血屠殺し腫瘍組織を摘出した。摘出した腫瘍をただちにハサミで数 mm 角に細切し、0.1% プロナーゼ 3 ml を加えた試験管内へ入れ、37°C 30 分間、途中で強い振とうを加えつつ細胞間質の分解処理を行った。その後 1000 回転 10 分間の遠心分離を行い、細胞成分 (固形成分) と液成分の放射能をそれぞれ測定した。測定された細胞成分 (固形成分) と液成分の放射能の合計に対する液成分の放射能の比をもって細織からの⁶⁷Ga の溶出量を検討した。

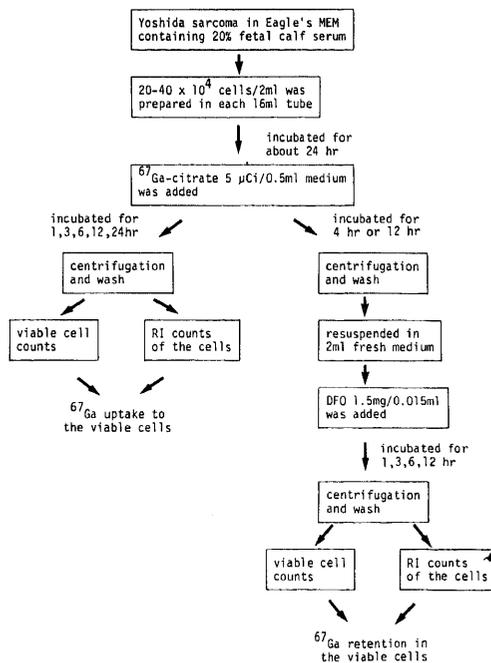


Fig. 1. Method for ⁶⁷Ga uptake in cultured tumor cells and ⁶⁷Ga retention in DFO administered cultured tumor cells which took up ⁶⁷Ga.

成 績

I. DFO 投与によるクエン酸⁶⁷Ga の体内分布に与える影響

1. 腫瘍ラットにおけるクエン酸⁶⁷Ga の体内分布
腫瘍, 血液, 筋肉, 肝および腎における⁶⁷Ga の経時的摂取量を図2に示した。腫瘍へは投与3時間以内にすみやかに集積を認め, その後10時間まで漸増を示すが, 3時間値と10時間値の間には明らかな有意差は認めておらず, この間はプラトーであると言ってもよい。これに対し, 血液の放射能は漸減を示した。したがって, 腫瘍対血液比は投与後5時間以内は1以下であるが, 7時間以後は1以上となり, 16時間後には2.6を示した。肝への放射能集積も腫瘍のそれと比較的類似しており, 投与1時間後まではすみやかであり, その後漸増を示した。筋肉は投与1時間後まで増加を示したが, 以後は血液の放射能と平行する様な形で減少を示した。

2. 腫瘍ラットにおけるクエン酸⁶⁷Ga の体内分布に及ぼすDFOの効果

1) クエン酸⁶⁷Ga 注射後早期のDFO投与効果

クエン酸⁶⁷Ga 注射4時間後DFOを投与した時の腫瘍, 血液, 筋肉, 肝, 腎および肺の経時的放射能摂取量(残存量)および対照として, 上記の1の実験結果の一部を表1A)に示した。このうち特に腫瘍および血

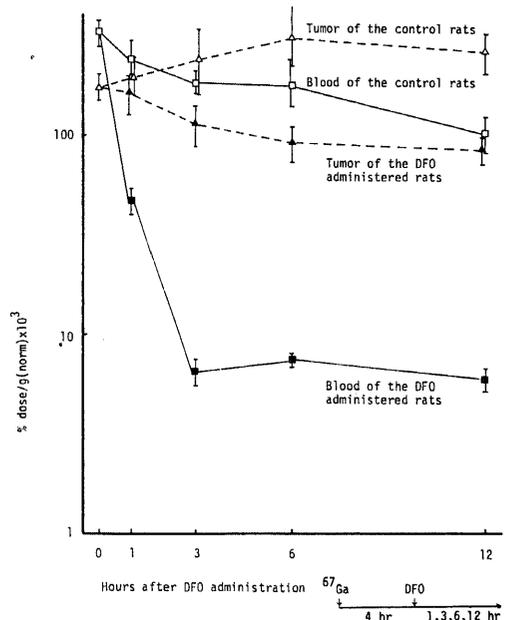


Fig. 3. ⁶⁷Ga retention in the blood and tumor as a function of time after IM administration of DFO. ⁶⁷Ga - citrate was injected 4 hours before DFO administration.

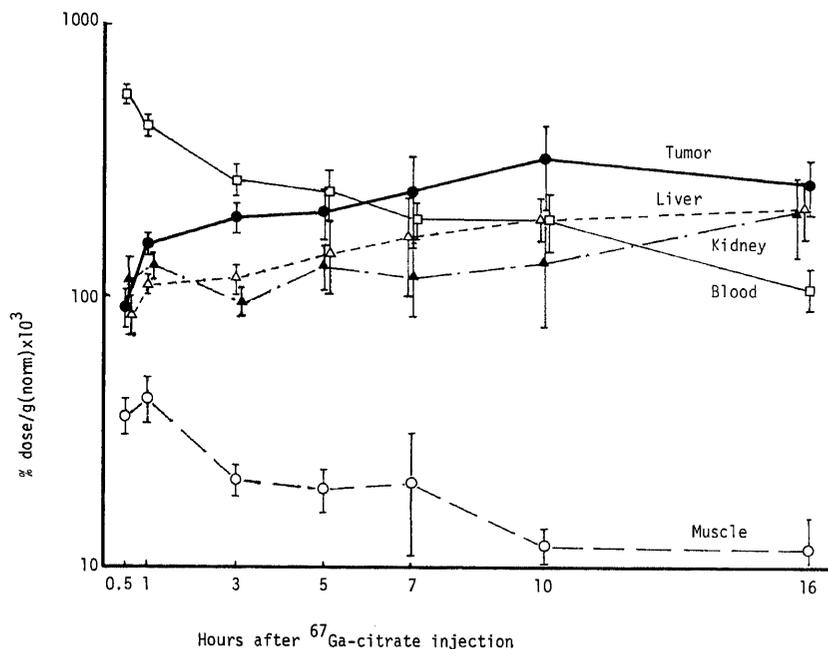


Fig. 2. Biodistribution of ⁶⁷Ga - citrate in tumor - bearing rats.

Table 1. Effects of DEO administration on biodistribution of ⁶⁷Ga-citrate in tumor-bearing rats. DFO was given intramuscularly 4 hours (A) and 12 hours (B) after intravenous ⁶⁷Ga injection.

A) IM administration of DFO 4 hours after ⁶⁷Ga injection

	Time after ⁶⁷ Ga injection									
	4 hr		5 hr		7 hr		10 hr		16 hr	
	Time after DFO administration									
	DFO(-)	DFO(-)	1 hr	DFO(-)	3 hr	DFO(-)	6 hr	DFO(-)	12 hr	
Tumor	180.0* ±9.3	204.5 ±43.5	163.9 ±59.4	242.5 ±90.9	111.5 ±34.8	326.6 ±116.0	91.1 ±22.5	264.4 ±59.5	86.7 ±14.1	
Blood	332.1 ±31.3	249.9 ±49.1	48.5 ±14.1	192.4 ±26.6	6.7 ±1.2	194.3 ±44.2	7.8 ±0.8	107.7 ±19.2	6.0 ±0.9	
Muscle	24.1 ±3.0	19.4 ±3.4	11.4 ±1.1	20.9 ±11.2	4.9 ±1.4	12.2 ±1.9	4.6 ±1.9	11.8 ±3.8	4.9 ±2.0	
Liver	181.8 ±74.6	143.6 ±54.5	140.0 ±45.5	166.4 ±65.8	92.5 ±16.1	194.7 ±35.4	128.1 ±11.0	214.9 ±48.9	136.5 ±13.4	
Kidney	161.3 ±34.1	130.4 ±22.3	226.0 ±71.0	118.0 ±37.8	142.4 ±44.6	135.1 ±61.4	135.3 ±21.0	206.9 ±70.3	138.6 ±22.6	
Lung	141.3 ±34.6	122.4 ±26.0	67.4 ±48.0	127.0 ±3.9	18.2 ±14.5	89.7 ±20.1	33.0 ±19.8	88.9 ±13.7	19.6 ±9.8	
Tu/B1	0.6 ±0.1	0.8 ±0.1	3.5 ±1.6	1.2 ±0.3	16.5 ±3.3	1.8 ±1.0	11.8 ±2.9	2.6 ±1.1	15.1 ±4.8	
Tu/Mus	7.9 ±1.8	10.8 ±2.7	14.9 ±6.4	14.2 ±7.0	24.9 ±13.2	28.6 ±5.9	22.5 ±10.2	25.2 ±12.0	19.1 ±4.9	

B) IM administration of DFO 12 hours after ⁶⁷Ga injection

	Time after ⁶⁷ Ga injection									
	12 hr		13 hr		15 hr		18 hr		24 hr	
	Time after DFO administration									
	DFO(-)	DFO(-)	1 hr	DFO(-)	3 hr	DFO(-)	6 hr	DFO(-)	12 hr	
Tumor	231.2* ±9.0	163.6 ±51.8	144.4 ±34.9	143.4 ±14.0	150.4 ±46.2	168.8 ±31.4	129.5 ±49.8	134.9 ±63.8	113.7 ±45.8	
Blood	96.6 ±11.0	76.8 ±18.6	14.9 ±1.9	71.3 ±21.1	5.5 ±2.3	36.5 ±4.8	5.1 ±0.4	23.7 ±4.5	4.1 ±0.4	
Muscle	10.9 ±2.9	8.5 ±0.6	7.3 ±1.8	9.1 ±3.4	5.3 ±2.2	9.5 ±4.7	6.2 ±1.7	9.8 ±6.0	6.7 ±1.9	
Liver	159.6 ±29.3	135.2 ±19.3	134.8 ±41.8	147.3 ±42.4	111.4 ±32.0	162.8 ±30.6	87.9 ±12.6	166.1 ±17.5	85.9 ±10.6	
Kidney	98.5 ±10.4	76.7 ±10.6	86.7 ±21.2	82.0 ±19.7	89.5 ±15.9	86.9 ±14.2	70.8 ±7.9	93.5 ±8.5	60.9 ±14.9	
Lung	56.8 ±12.4	66.1 ±23.4	28.1 ±13.8	64.1 ±25.7	41.1 ±21.4	45.8 ±4.5	19.1 ±6.3	44.8 ±19.3	28.7 ±9.0	
Tu/B1	2.3 ±0.2	2.7 ±1.6	10.1 ±1.7	2.2 ±0.8	29.4 ±12.9	4.7 ±1.2	25.2 ±8.6	5.8 ±2.7	28.2 ±11.3	
Tu/Mus	21.1 ±7.3	19.0 ±6.7	22.3 ±10.4	18.1 ±6.9	26.3 ±1.8	21.0 ±9.8	22.9 ±11.5	20.6 ±21.5	16.8 ±5.1	

* Data are expressed as % injected dose/g, normalized to unit body weight and multiplied by 10³ with 1 s.d. of the mean.

液の結果を図3に示した。DFO投与により、血液の放射能は3時間以内に急激な減少をきたした。3時間以後の減少は少なかった。腫瘍の放射能も対照と異なり、DFO投与により減少を示した。その結果、腫瘍対血液比で見て、DFO投与3時間後(すなわち ^{67}Ga 投与7時間後)では16.5と対照群の1.2に比し著明な改善を認めた。DFO投与により肝の放射能も腫瘍と同様の減少を示した。肺の放射能も減少を示していた。腎の放射能はDFO投与1時間にて一過性の増加を認めた。

2) クエン酸 ^{67}Ga 注射後後期のDFO投与効果

クエン酸 ^{67}Ga 注射12時間後DFOを投与した時の腫瘍、血液、筋肉、肝、腎および肺の経時的放射能摂取量(残存量)およびDFOを投与しない対照群の結果を表1B)に示した。このうち特に腫瘍および血液の結果を図4に示した。DFO投与により血液の放射能は、上記1)の実験と同様に3時間以内に急激な減少をきたした。それに対し、腫瘍の放射能はDFO投与によってわずかの減少傾向はあるものの、対照群においても同様の減少を示しており、DFO投与によっても対照群と本質的な差異がない点上記1)の実験結果とは異なっていた。腫瘍対血液比は、DFO投与3時間後(すなわち ^{67}Ga 投与15時間後)では対照群2.2であるのに対し、DFO投与群では29.4と著明な改善を示していた。肝の放射能は対照群に比しDFO投与群では減少を示していたが、その差異は上記1)の実験における差異ほど大きくはなかった。腎はDFO投与群と対照群で明らかな有意差は見られなかった。肺の放射能もDFO投与により減少を示していたが、その差異は上記1)の実験における差異ほど大きくはなかった。

3) クエン酸 ^{67}Ga 注射前のDFO投与効果

クエン酸 ^{67}Ga 注射前にDFOを投与した時の腫瘍、血液、筋肉、肝および腎の摂取量を表2に示した。1時間前投与群では対照群に比し腎を除く各臓器の摂取量の著明な低下を認めた。血液の放射能も低いが、腫瘍の放射能も低く、したがって、腫瘍対血液比は3.8でむしろ対照群の5.5に比し悪くなっている。3時間前

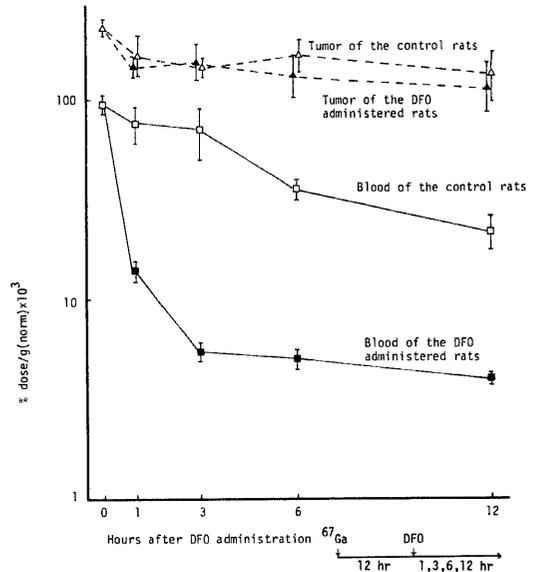


Fig. 4. ^{67}Ga retention in the blood and tumor as a function of time after IM administration of DFO. ^{67}Ga -citrate was injected 12 hours before DFO administration.

Table 2. Effects of DFO administration on biodistribution of ^{67}Ga -citrate at 20 hours after the injection in tumor-bearing rats. DFO was given intramuscularly at various intervals before intravenous ^{67}Ga injection.

	Control	before ^{67}Ga injection					
		1 hr	3 hr	6 hr	24 hr	48 hr	
Tumor	165.1±59.3*	2.0±0.9	87.7±29.9	97.2±43.6	184.4±68.8	169.6±56.2	
Blood	32.4±10.4	0.6±0.4	22.5±4.6	30.5±6.3	38.8±23.7	26.8±6.1	
Muscle	5.1±0.8	0.2±0.1	3.9±0.6	5.4±1.2	4.4±1.2	3.7±1.5	
Liver	113.1±12.3	3.1±0.7	85.6±23.5	88.2±14.0	145.3±62.9	115.5±38.6	
Kidney	85.4±5.3	40.3±13.2	55.0±16.4	77.8±2.0	92.8±11.5	63.5±17.7	
Tu/B1	5.5±2.5	3.8±1.2	3.8±0.5	3.4±1.7	6.8±5.3	6.5±2.7	
Tu/Mus	33.5±14.0	9.8±3.6	22.7±6.1	17.9±7.7	47.3±26.8	48.5±12.3	

* Data are expressed as % injected dose/g, normalized to unit body weight and multiplied by 10^3 with 1 s.d. of the mean.

投与群と6時間前投与群は類似した傾向を示しており、対照群に比し腫瘍の放射能は低いにもかかわらず、血液の放射能は低くなく、したがって腫瘍対血液比は低値を示していた。24時間前投与群と48時間前投与群も類似した傾向を示し、これらは対照群と本質的な差異はなく、腫瘍対血液比に有意差はなかった。

3. 腫瘍ラットにおける DFO 投与量と腫瘍対血液比の改善度との関係

DFO 投与量を横軸に、腫瘍対血液比を縦軸にして図5に結果を表示した。DFO をまったく投与しない対照群は、腫瘍対血液比 0.61 であるのに対し、200 mg 投与群では 12.16 と有意な増加を示した。50 mg 投与群では

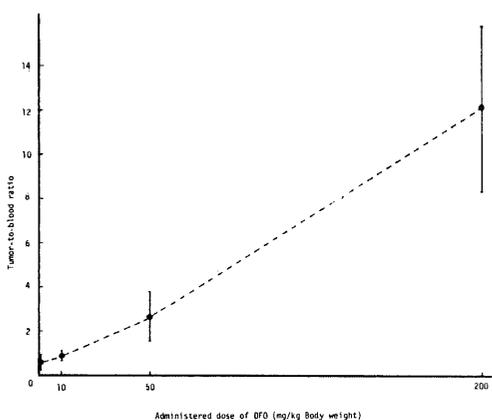


Fig. 5. Effect of DFO dose on tumor - to - blood ratio.

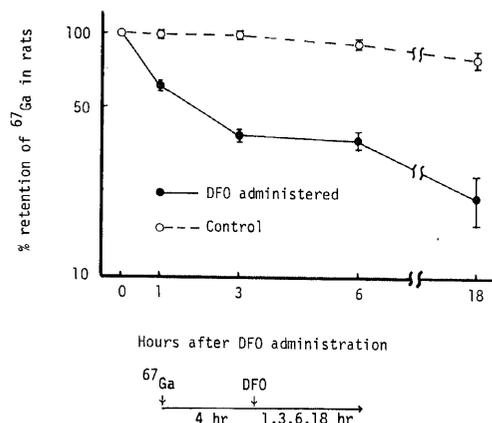


Fig. 6. ^{67}Ga whole body retention in normal rats as a function of time after IM administration of DFO. ^{67}Ga - citrate was injected 4 hours before DFO administration.

2.62, 10 mg 投与群では 0.89 を示し、いずれも有意差はないものの、増加傾向を示しており、ほぼ腫瘍対血液比は DFO 投与量と正比例するものと考えられた。

4. DFO 投与による正常ラット体内残存 ^{67}Ga 放射能の経時変化

クエン酸 ^{67}Ga 注射4時間後にDFOを投与した時の体内残存放射能をDFO投与時点での体内放射能を

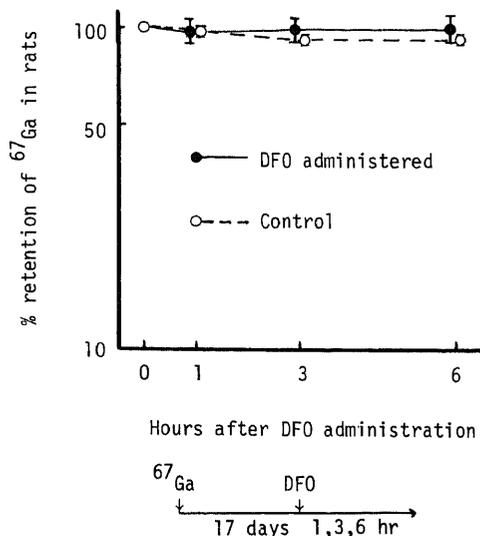


Fig. 7. ^{67}Ga whole body retention in normal rats as a function of time after IM administration of DFO. ^{67}Ga - citrate was injected 17 days before DFO administration.

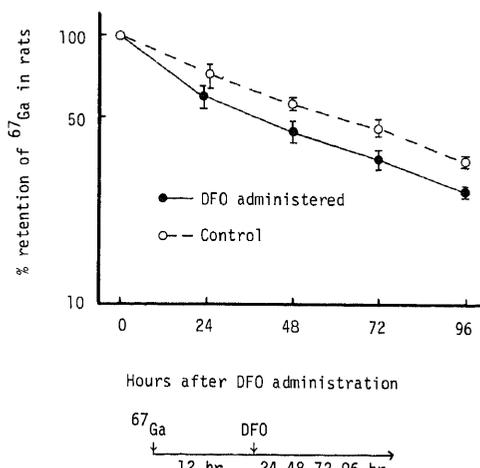


Fig. 8. ^{67}Ga whole body retention in normal rats as a function of time after IM administration of DFO. ^{67}Ga - citrate was injected 12 hours before DFO administration.

100%として図6に表示した。DFO投与により3時間以内に体内放射能の急激な減少を認め、以後も放射能の減少はあるものの比較的緩徐であった。クエン酸⁶⁷Ga注射17日後にDFOを投与した場合の体内残存放射能の推移を図7に表示した。⁶⁷Ga投与後日時を以てDFOを投与した場合、図6に比較して体内放射能の減少はまったく認められなかった。クエン酸⁶⁷Ga注射12時間後にDFOを投与した場合の以後の経日的な体内残存放射能の推移を図8に表示した。DFO投与1日以内に体内放射能の減少を認めたが、2日目以降の減少率は対照群と大差はなかった。

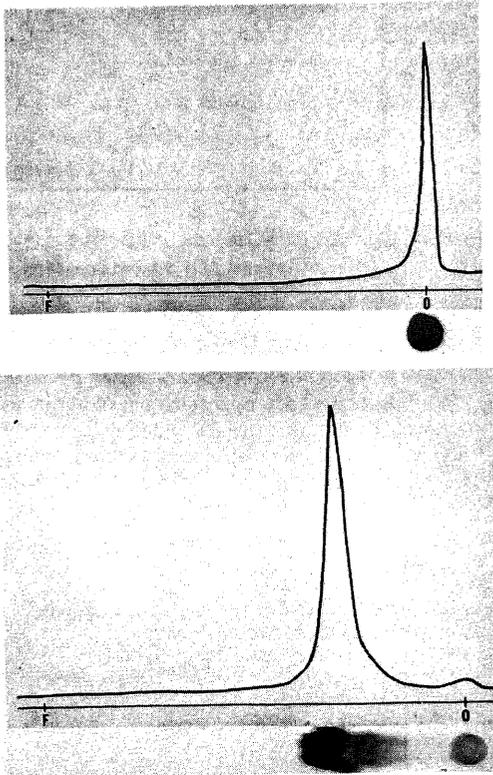


Fig. 9. Chromatographic migration patterns of ⁶⁷Ga-citrate (upper part of the figure) and ⁶⁷Ga-DFO formed in vitro (lower part).

II. DFO投与によるクエン酸⁶⁷Ga体内分布改善の機序

1. in vitroでの⁶⁷GaとDFOとの結合能の検討

図9の上段に示した様にクエン酸⁶⁷Gaのペーパークロマトグラムはまったく原点にとどまるのに対し、試験管内でクエン酸⁶⁷GaとDFOを混合した場合のペーパークロマトグラムは図9の下段に示した様にRf=0.31とまったく異なるパターンを示した。このことより、試験管内で振とうすることにより容易に⁶⁷GaはDFOと結合し、⁶⁷Ga結合DFOが形成される可能性が示唆された。

2. 腫瘍ラットにおける⁶⁷Ga-DFO体内分布

上記1の実験にて形成されたとされる⁶⁷Ga結合DFOを腫瘍ラットに静注投与した時の各臓器の経時的放射能摂取量を図10に示した。実験Iの1で得られたクエン酸⁶⁷Gaの体内分布(図2)とまったく異なる体内分布を示し、投与30分後にて腫瘍、肝および筋肉の放射能はある程度認められるものの、以後は増加を示さず、いずれも減少を示すのみであった。血液の放射

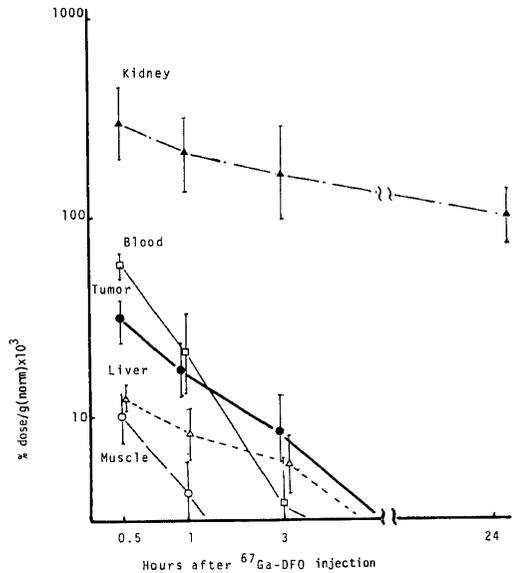


Fig. 10. Biodistribution of ⁶⁷Ga-DFO in tumor-bearing rats.

Table 3. Changes in the UIBC levels in normal rats after intramuscular administration of DFO.

	Control	after DFO administration			
		1 hr	3 hr	6 hr	24 hr
UIBC (μg/100 ml)	283 ± 25	367 ± 44	319 ± 19	278 ± 31	229 ± 45

能も減少を示しており、クエン酸 ^{67}Ga として静注された時の血中放射能減衰曲線よりもさらに急峻であった。腎の放射能も減少傾向を示すものの、他の臓器に比し摂取量は高値を示し、その減少も緩徐であった。腫瘍の放射能の減少は血液のそれに比し緩徐である点、腫瘍対血液比は3時間後で2.3と1以上の値を示した。24時間後における腎以外の臓器の放射能はバックグラウンドと同程度であった。

3. DFO 投与ラットにおける UIBC の経時的変化

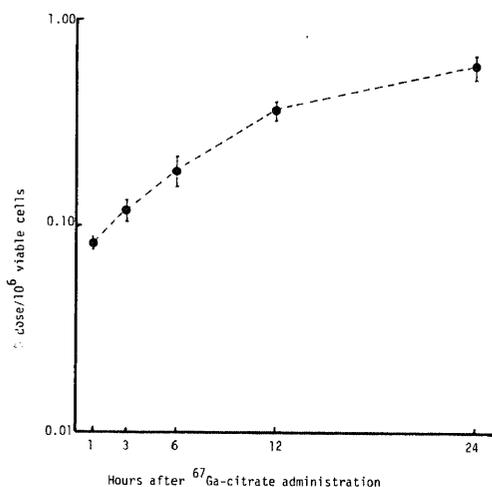


Fig. 11. ^{67}Ga uptake in cultured tumor cells.

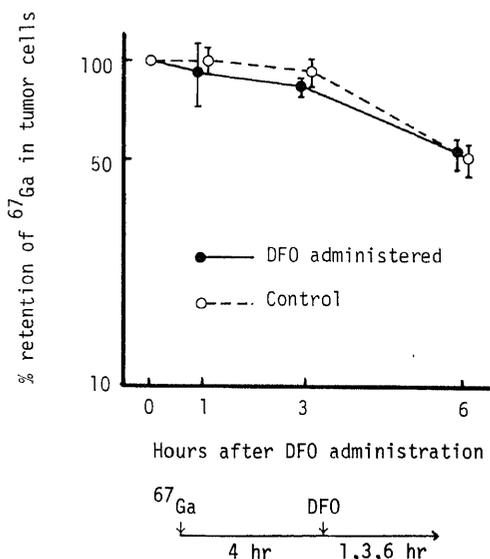


Fig. 12. ^{67}Ga retention in cultured tumor cells as a function of time after DFO administration. The tumor cells were preincubated with ^{67}Ga for 4 hours.

表3に経時的なUIBCの変化を示した。DFO投与1時間後および3時間後のUIBCは、対照群に比し5%の危険率で有意の増加を示していた。6時間後および24時間後は有意差が認められなかった。

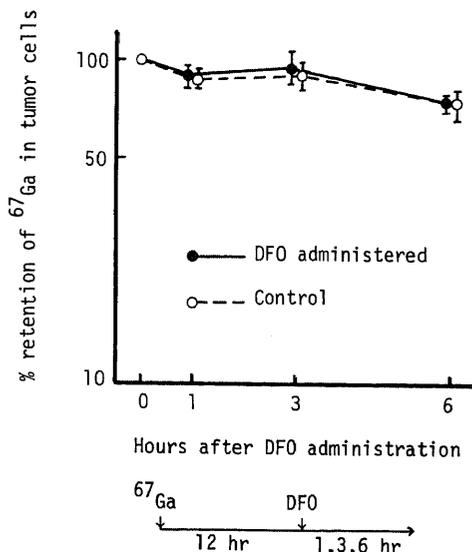


Fig. 13. ^{67}Ga retention in cultured tumor cells as a function of time after DFO administration. The tumor cells were preincubated with ^{67}Ga for 12 hours.

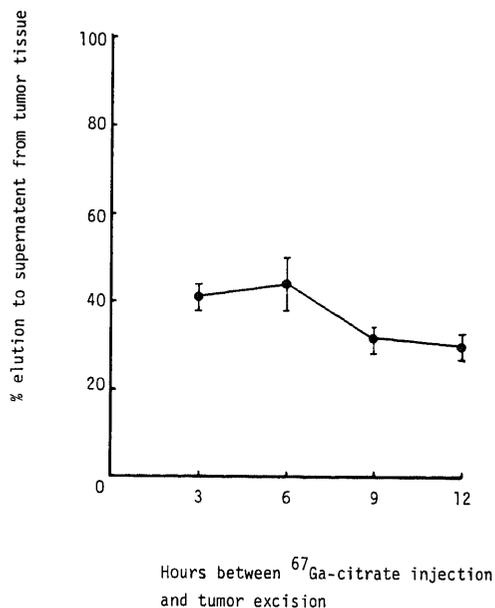


Fig. 14. ^{67}Ga elution from tumor tissues which took up ^{67}Ga by mincing and treating with pronase as a function of time for ^{67}Ga uptake in tumor tissues.

4. 吉田肉腫培養細胞における ^{67}Ga の細胞内摂取量の経始的变化

図 11 の横軸にインキュベーション時間を、縦軸に細胞内摂取量を取り、実験結果を示した。経時的に細胞内への ^{67}Ga 摂取が増加することが認められた。24 時間後における生細胞の絶対数は平均約 100×10^4 個であり、したがって、24 時間後における細胞内への摂取量の総量は投与量の約 0.6% と算出された。

5. 培養細胞内摂取された ^{67}Ga の DFO 投与による細胞外への排出

培養細胞への ^{67}Ga 摂取を 4 時間かけて行った場合 (図 12) および 12 時間かけて行った場合 (図 13) の両者で、DFO を投与した時の細胞内残存放射能を DFO 投与時点での細胞内放射能を 100% として図に示した。いずれの場合においても、DFO 投与による細胞内放射能の減少は対照群に比し有意の差は見られなかった。

6. 腫瘍ラットより摘出した腫瘍組織からの ^{67}Ga の溶出

腫瘍組織を細切し、プロナーゼ処理することにより、液成分と細胞成分 (固形成分) に分離した場合、図 14 に示す様に腫瘍組織への ^{67}Ga 摂取時間の長い方が液成分への溶出が少ない傾向が認められ、3 時間摂取と 9 時間ないしは 12 時間摂取とでは 1% の危険率で有意の差が認められた。

考 察

腫瘍ラットにクエン酸 ^{67}Ga を静注投与した場合、投与 3 時間以内にすみやかに腫瘍内に ^{67}Ga は集積を示すが、それ以後は有意な集積増加を認めない。これに対し、血液の放射能は漸減を示しており、したがって経時的に腫瘍対血液比の改善が認められた。日常臨床での ^{67}Ga 腫瘍イメージングに際して、患者にクエン酸 ^{67}Ga を静注投与してから撮像までは、通常、最低 48 時間待たないと充分良好なイメージが撮れない。これは ^{67}Ga 投与後の早い時間には血中放射能が高く、したがって、腫瘍病巣を充分陽性像として描出することができないためである。この問題を解決する一つの方法として、DFO 投与による血中放射能の排泄効果が報告されている^{10)~13)}。腫瘍ラットにおいて、クエン酸 ^{67}Ga 静注 4 時間後あるいは 12 時間後に DFO を投与した場合、いずれも血中放射能はすみやかに減少をきたした。それに対し、腫瘍内に摂取された ^{67}Ga の DFO に対する態度は 4 時間後投与群と 12 時間後投与群では異なっており、前者において腫瘍内放射能も減少を示していた。 ^{67}Ga 腫瘍イメージングに際しては、血中放射能のすみやかな減少が良好なイメージを得るのに必須であるが、クエン酸 ^{67}Ga 静注の早期、具体的には腫瘍自体へ ^{67}Ga が

摂取されている最中から腫瘍内放射能がプラトーに達する前後にかけてにおいては、一旦腫瘍内に ^{67}Ga が摂取されたのにもかかわらず、DFO 投与により腫瘍内の放射能も減少してしまう。それに対し、腫瘍内放射能がプラトーに達した後のかなりの時間が経ってから DFO を投与したのでは、確かに腫瘍内の放射能の減少はないが、血中放射能も時間の経過とともにかなりの減少をきたしている点、この時点での DFO 投与は必ずしも効果的な方法であるとは言い難い。したがって、腫瘍内への ^{67}Ga 摂取が充分完了した後の比較的早い時期に DFO を投与するのが理想的と考えられる。実際のヒト腫瘍において、 ^{67}Ga 摂取が完了し、プラトーに達する時間を決定することは、腫瘍の種類の違いや、患者の個体差等が存在しており、必ずしも容易なことではないが、DFO の臨床応用に際しては充分注意しておくべき点の一つである。

DFO の投与をクエン酸 ^{67}Ga の静注前に行った場合、血液の放射能は減少を示すものの、それ以上に腫瘍自体へ摂取される放射能の絶対的な低下を認め、したがって、腫瘍対血液比の改善はまったく期待できなかった。試験管中において、 ^{67}Ga はすみやかに DFO と結合し、この形成された ^{67}Ga 結合 DFO はすみやかに腎より排泄されることが認められている。したがって、DFO を筋注にて投与した後の数時間は、DFO は吸収されて血液中に存在しており、その間に ^{67}Ga を静注投与すると、血液中でただちに ^{67}Ga -DFO 結合体が生じ、充分に ^{67}Ga が腫瘍内へ集積する以前に腎よりこれが排泄されてしまうものと考えられた。正常ラットに DFO を投与した場合、投与 1 時間後および 3 時間後において有意な UIBC の増加をきたしている。3 価の鉄のトランスフェリンに対する安定度定数よりも DFO に対するその方が高く¹⁷⁾、したがって、投与された DFO により血液中でトランスフェリンに結合していた 3 価の鉄は離れ、DFO にキレートされた結果、UIBC の増加を示したことが推定される。 ^{67}Ga が腫瘍に集積する一つの機序として、血液中のトランスフェリンが重要な役割を演じている可能性が報告されており¹⁹⁾、UIBC の減少により ^{67}Ga の腫瘍摂取が減少することが見出されている点²⁰⁾より、逆に、UIBC の増加すなわちトランスフェリンの ^{67}Ga 結合部位の増加している時点で ^{67}Ga が投与されると、腫瘍への絶対量の摂取増加が期待された。しかしながら、今回の実験ではむしろ逆の結果に終わった。3 価の鉄の DFO に対する結合と同様、 ^{67}Ga の DFO に対する安定度定数がトランスフェリンのそれに対するよりも大きいとすれば、静注投与された ^{67}Ga は増加したトランスフェリン結合部位に結合する以前に DFO に結合してしまったと考えられる。

DFO 筋注投与による UIBC の一過性の増加は投与 1 時間後で最大を示し、3 時間後ではなお有意の増加を示してはいるが回復傾向にあり、6 時間以後は対照群と同程度に回復している。同様に、⁶⁷Ga 静注前に DFO を筋注投与した場合の血中放射能の減少は、1 時間前が最大であり、3 時間前ではなお低値を示すものの回復傾向を示しており、6 時間前以前に DFO が投与された場合、血中放射能の減少はまったく認められてはいない。さらに、⁶⁷Ga 静注後 DFO を筋注投与した場合の血中放射能の減少、あるいは、アニマルカウンターでの体内残存放射能の減少は、DFO 投与 1 時間から 3 時間の間にかけてが急激であるのに対し、3 時間以後の減少は乏しいかわずかである。以上の諸点より推察するに、ラットにおける DFO の血中⁶⁷Ga 排泄効果は、DFO 筋注投与の 3 時間以内に充分認められるものであり、それ以後時間をおいても無駄に近いことがわかる。臨床応用に際して、一刻も早く良好な⁶⁷Ga イメージを撮りたい立場からすると、この DFO 投与による⁶⁷Ga 排泄効果の有効時間をヒトにおいても検討しておくことが必要であろう。

現在までに DFO を臨床的に用いた報告は少ないが、予備的な検討において臨床应用到に悲観的な意見がある²¹⁾。その一つの理由として、DFO は血中放射能の減少はきたすものの、正常の諸臓器の放射能の減少効果は比較的弱いという点であり、もう一つの理由として、DFO 投与量がヒトでは動物実験にて効果が出る程大量には投与できないという点である。前者に関して、確かに一般的に腫瘍イメージにおける全身バックグラウンドの高値が血中放射能の高値のみに帰因するものではなく、腫瘍対血液比の改善のみで腫瘍イメージの改善効果をうんぬん出来るものではないことは当然である。しかしながら、特に⁶⁷Ga においては、投与早期より血中放射能は高く、血中よりの消失が遅延しているのは事実であり、⁶⁷Ga イメージにおけるバックグラウンドの大部分は血中放射能の高値によるものであることが推察される点、および、血液以外で問題となるバックグラウンドとしては、肺野あるいは筋を含む軟部組織自体の放射能であるが、DFO 投与によって血液程ではないが、肺および筋の放射能も対照に比し明らかな減少を認めている点、今回の実験からは臨床応用に関して必ずしも悲観的になることはないと考え。もう一つの問題点である DFO の投与量の点であるが、一般にヒトでの DFO 常用量は 500~1000 mg/日であり、ヒト体重を仮に 50 kg とすると 10~20 mg/kg ということになる。今回のラットにおける検討では 10 mg/kg の DFO 投与によっても、有意差はないものの対照群に比し腫瘍対血液比の改善が認められている点、な

お臨床的有用性の可能性は残されている。さらに、前述した様に、ヒトにおいても⁶⁷Ga 静注と DFO 筋注投与の時間間隔および DFO 筋注投与と腫瘍イメージ撮像までの時間間隔を詳細に検討し最適化することにより、さらに腫瘍イメージの改善効果は増大するであろうことが予測される。

DFO の臨床応用に関して、イメージ改善効果のみならず⁶⁷Ga 排泄を促進することによる被曝線量の減少効果について言及した報告がある²²⁾。今回のラットを用いたアニマルカウンターのデータによると、⁶⁷Ga 静注後の早期に DFO を投与すれば、体内残存放射能は明らかに減少することが示されている。しかしながら、その減少は一時的なものであり、したがって、DFO 投与 24 時間以後の経日的な体内残存放射能の減少率は対照群と差異はない点、DFO 1 回投与による被曝線量の低下効果はある程度の限界が存在する様に推測される。また、⁶⁷Ga 投与 17 日後という様なかなりの後期に DFO を投与した場合、体内残存放射能の減少効果はまったく認められなかった。このことより、DFO 投与による体内残存放射能減少効果は、大部分血中放射能の減少に起因するものであり、したがって、日が経つてすでに血中放射能が減少してしまっている時点では、体内残存放射能は DFO 投与による排泄効果の乏しい各種臓器内に摂取された放射能に由来していることが推定された。臓器内鉄沈着の著明なヘモクロマトーシスにおいて、DFO 投与による鉄排泄効果は、筋注投与では乏しく、持続的な静注投与が必要であるという報告²³⁾²⁴⁾によく一致する所見である。

⁶⁷Ga の腫瘍内集積機序に関しては不明な点が多い¹⁹⁾²¹⁾。血液中で⁶⁷Ga はトランスフェリンと非常にすみやかに結合することは明白である⁴⁾⁶⁾。しかしながら、腫瘍組織内における⁶⁷Ga の結合物質としては、ラクトフェリン²⁵⁾²⁶⁾、フェリチン²⁷⁾、酸性ムコ多糖²⁸⁾²⁹⁾等の種々が報告されており、⁶⁷Ga は細胞内のライソゾーム顆粒³⁰⁾³¹⁾あるいはその他の高分子化合物³²⁾に結合すると報告されている反面、⁶⁷Ga は細胞内に摂取されるより、その周囲の炎症巣にとどまっている³³⁾とも報告されている。今回の我々の実験において、クエン酸⁶⁷Ga 静注 4 時間後に DFO を投与した場合、腫瘍中の放射能の減少を認めたのに対し、クエン酸⁶⁷Ga 静注 12 時間後に DFO を投与すると、腫瘍中の放射能は対照群に比し有意の減少を示さなかった。この点より、⁶⁷Ga の腫瘍内集積の部位として、2 種類の異なる分画が存在する可能性が示唆された。すなわち、クエン酸⁶⁷Ga 静注早期の腫瘍内集積は、DFO 投与により容易に排出される弱い結合分画への集積であり、クエン酸⁶⁷Ga 静注後時間を経た遅い時期の腫瘍内集積は、DFO 投与によっても容易

には排出されない強い結合分画への集積である。後者の強い結合分画として細胞内である可能性も考えられる。その一つの根拠として、in vivoの腫瘍組織中への ^{67}Ga 集積にはプラトーがあるにもかかわらず、in vitroにおける培養細胞への ^{67}Ga 集積は少なくとも24時間までは経時的に増加を示している点、および、一旦培養細胞に摂取された ^{67}Ga は摂取時間の長短にかかわらず、DFOを作用させても排出されない点である。それに対して、弱い結合分画として、細胞内以外の細胞周囲の間質等が考えられる。腫瘍組織を細切しプロナーゼ処理することによる腫瘍組織の破壊は、細胞自体の破壊よりも細胞周囲の間質の破壊が大である。 ^{67}Ga 摂取時間の長い腫瘍組織程この破壊による ^{67}Ga の溶出が少ないことが見出され、したがって、腫瘍組織中で ^{67}Ga は経時的に間質より細胞内へ移行する可能性が推定される。しかしながら、培養細胞における細胞内への ^{67}Ga 摂取は、24時間後においても投入量のわずかに約0.6%であり、決して多いものではない。従って、in vivoにおける腫瘍組織内への ^{67}Ga 集積において、その集積がプラトーに達した時点でもなお腫瘍細胞内以外の間質等における放射能はかなり高いものと推測される。それ故、 ^{67}Ga の腫瘍組織内の弱い結合分画と強い結合分画を単純に間質と細胞内とにあてはめることは危険である。この点に関し、今後さらに検討の余地はあり、その際、DFOを利用することにより、興味ある実験系が組み立てられる可能性が考えられる。

結 論

DFOを用いた ^{67}Ga 腫瘍イメージ改善効果を検討した結果、次の結論を得た。

- 1) 腫瘍ラットにクエン酸 ^{67}Ga を注射し、その4時間後DFOを投与すると、対照群に比し血中放射能の著明な減少と腫瘍内放射能の軽度の減少を示した。それに比し、DFO投与を12時間後に行うと、血中放射能の減少は同様であったが、腫瘍内放射能の経時的変化は対照群と大差はなかった。その結果、腫瘍対血液比は後者においてその改善度が大であった。DFO投与をクエン酸 ^{67}Ga 注射以前に行うと、UIBCの増加はあるものの腫瘍内摂取はむしろ減少を示し、したがって、腫瘍対血液比の改善効果はまったく見られなかった。
- 2) 以上の様な腫瘍対血液比改善効果は、DFO投与量の多い方が大であり、対照群において腫瘍対血液比は0.61であるのに対し、10 mg/kg投与群 0.89, 50mg/kg投与群 2.62, 200 mg/kg投与群 12.16を示した。
- 3) ラット体内残存 ^{67}Ga のDFOによる排泄効果は、 ^{67}Ga 注射後早い時期に投与する方が効果的であったが、その効果の持続は1回投与のみでは短かった。

4) ^{67}Ga とDFOは試験管内においてすみやかに結合し、形成された ^{67}Ga -DFOを腫瘍ラットに投与すると、腫瘍への集積は少なく、大部分の放射能はすみやかに腎より排泄された。

5) 吉田肉腫培養細胞に ^{67}Ga は経時的に摂取されることが示され、一旦 ^{67}Ga を摂取した培養細胞にDFOを作用させても細胞からの ^{67}Ga の排出は見られなかった。

以上のごとく、DFO投与により血中 ^{67}Ga はすみやかに減少するが、一旦腫瘍細胞内まで摂取された ^{67}Ga はDFO投与によっても減少を示さず、その結果、腫瘍対血液比の増加をきたし、腫瘍イメージ改善効果が期待されることが判明した。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師久田欣一教授に深謝いたします。また本研究に御協力いただいた金沢大学医学部核医学教室の皆様方に深謝いたします。

文 献

- 1) Edwards, C. L. & Hayes, R. L.: Tumor scanning with ^{67}Ga citrate. *J. Nucl. Med.*, **10**, 103 - 105 (1969).
- 2) Hoffer, P.: Status of gallium - 67 in tumor detection. *J. Nucl. Med.*, **21**, 394 - 398 (1980).
- 3) Nelson, B., Hayes, R. L., Edwards, C. L., Kniseley, R. M. & Andrews, G. A.: Distribution of gallium in human tissues after intravenous administration. *J. Nucl. Med.*, **13**, 92 - 100 (1972).
- 4) Clausen, J., Edeling, C.-J. & Fogh, J.: ^{67}Ga binding to human serum proteins and tumor components. *Cancer Res.*, **34**, 1931 - 1937 (1974).
- 5) Gunasekera, S. W.: The behaviour of tracer gallium - 67 towards serum proteins. *Clin. Chim. Acta.*, **39**, 401 - 406 (1972).
- 6) Hartman, R. E. & Hayes R. L.: The binding of gallium by blood serum. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **168**, 193 - 198 (1969).
- 7) Oster, Z. H., Larson, S. M. & Wagner, H. N.: Possible enhancement of ^{67}Ga citrate imaging by iron dextran. *J. Nucl. Med.*, **17**, 356 - 358 (1976).
- 8) Sephton, R. & Martin, J. J.: Modification of distribution of gallium 67 in man by administration of iron. *Br. J. Radiol.*, **53**, 572 - 575 (1980).
- 9) Smith, F. W. & Dendy, P. P.: Modification of gallium - 67 citrate distribution in man following the administration of iron. *Br. J. Radiol.*, **54**, 398 - 402 (1981).
- 10) Hoffer, P. B. & Samuel, A., Bushberg, J.

- T. & Thakur, M.:** Effect of desferoxamine on tissue and tumor retention of gallium - 67. *J. Nucl. Med.*, **20**, 248 - 251 (1979).
- 11) **Larson, S. M., Rasey, J. S., Grunbaum, Z. & Allen, D. R.:** Pharmacologic enhancement of gallium - 67 tumor - to - blood ratios for EMT - 6 sarcoma. *Radiology*, **130**, 241 - 244 (1979).
- 12) **Oster, Z. H., Som, P., Sacker, D. F. & Atkins, H. L.:** The effects of deferoxamine mesylate on gallium - 67 distribution in normal and abscess - bearing animals. *J. Nucl. Med.*, **21**, 421 - 425 (1980).
- 13) **Sephton, R. G. & Abrew, S. D.:** Effects of desferrioxamine on ⁶⁷Ga distributions in tumor - bearing mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **161**, 402 - 406 (1979).
- 14) **Moerlein, S. M., Welch, M. J. & Raymond, K. N.:** Use of tricatecholamide ligands to alter the biodistribution of gallium - 67. *J. Nucl. Med.*, **23**, 501 - 506 (1982).
- 15) **Hayes, R. L., Byrd, B. L., Rafter, J. J. & Carlton, J. E.:** The effect of scandium on the tissue distribution of Ga - 67 in normal and tumor - bearing rodents. *J. Nucl. Med.*, **21**, 361 - 365 (1980).
- 16) **Emery, T. & Hoffer, P. B.:** Siderophore - mediated mechanism of gallium uptake demonstrated in the microorganism *Ustilago sphaerogena*. *J. Nucl. Med.*, **21**, 935 - 939 (1980).
- 17) **Keberle, H.:** The biochemistry of desferrioxamine and its relation to iron metabolism. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **119**, 758 - 768 (1964).
- 18) **Moeschlin, S., Bickel, H., Blumberg, A., Frey, F., Heilmeyer, L., Keberle, H., Keller, H. M., Maier, C., Mann, M., Marti, H. R., Nielsen, J. B., Schnack, H., Schnider, U., Tripod, J. & Wöhler, F.:** Erfahrungen mit Desferrioxamin bei pathologischen Eisenablagerungen. *Schweiz. Med. Wschr.*, **92**, 1295 - 1306 (1962).
- 19) **Larson, S. M.:** Mechanisms of localization of Ga - 67 in tumors. *Semin. Nucl. Med.*, **8**, 193 - 203 (1978).
- 20) **Bradley, W. P., Alderson, P. O., Eckelman, W. C., Hamilton, R. G. & Weiss, J. F.:** Decreased tumor uptake of gallium - 67 in animals after whole - body irradiation. *J. Nucl. Med.*, **19**, 204 - 209 (1978).
- 21) **Hoffer, P.:** Gallium : mechanisms. *J. Nucl. Med.*, **21**, 282 - 285 (1980).
- 22) **James, M.R., Basmadjian, G. P., Leonard, J. C. & Ice, R. D.:** Desferoxamine mesylate : its use in reducing the radiation burden of pediatric patients given gallium - 67 citrate. *Clin. Nucl. Med.*, **7**, P16 (1982).
- 23) **Propper, R. D., Shurin, S. B. & Nathan, D. G.:** Reassessment of the use of deferoxamine B in iron overload. *N. Engl. J. Med.*, **294**, 1421 - 1423 (1976).
- 24) **Blume, K. G., Beutler, E., Chillar, R. K., Fahey, J. L., Sharkoff, D. & Zia, P. K.:** Continuous intravenous deferoxamine infusion : treatment of secondary hemochromatosis in adults. *J. A. M. A.*, **239**, 2149 - 2151 (1978).
- 25) **Hoffer, P. B., Huberty, J. & Khayam - Bashi, H.:** The association of Ga - 67 and lactoferrin. *J. Nucl. Med.*, **18**, 713 - 717 (1977).
- 26) **Hoffer, P. B., Miller - Catchpole, R. & Turner, D. A.:** Demonstration of lactoferrin in tumor tissue from two patients with positive gallium scans. *J. Nucl. Med.*, **20**, 424 - 427 (1979).
- 27) **Hegge, F. N., Mahler, D. J. & Larson, S. M.:** The incorporation of Ga - 67 into the ferritin fraction of rabbit hepatocytes in vivo. *J. Nucl. Med.*, **18**, 937 - 939 (1977).
- 28) **Alpert, L. & Friedman, R.:** Gallium scintigraphy demonstration of an appendiceal Mucocoele : a proposed mechanism of uptake. *Clin. Nucl. Med.*, **6**, 378 - 379 (1981).
- 29) **Ando, A., Ando, I., Hiraki, T., Hisada, K. & Takeshita, M.:** Ga - 67 binding substances in tumor tissue and liver. *J. Nucl. Med.*, **23**, p100 (1982).
- 30) **Swartzendruber, D. C., Nelson, B. & Hayes, R. L.:** Gallium - 67 localization in lysosomal - like granules of leukemic and nonleukemic murine tissues. *J. Nat. Cancer Inst.*, **46**, 941 - 952 (1971).
- 31) **Brown, D. H., Swartzendruber, D. C., Carlton, J. E., Byrd, B. L. & Hayes, R. L.:** The isolation and characterization of gallium - binding granules from soft tissue tumors. *Cancer Res.*, **33**, 2063 - 2067 (1973).
- 32) **Hayes, R. L. & Carlton, J.E.:** A study of the macromolecular binding of ⁶⁷Ga in normal and malignant animal tissues. *Cancer Res.*, **33**, 3265 - 3272 (1973).

- 33) Ando, A., Doishita, K., Ando, I., Sanada, S., Hiraki, T., Midsukami, M. & Hisada, K.: Study of distribution of ^{169}Yb , ^{67}Ga and ^{111}In in tumor tissue by macroautoradiography. *Radioisotopes*, 26, 59 - 60 (1977).

Possible Pharmacologic Enhancement of ^{67}Ga -Citrate Tumor Imaging Kiyoshi Koizumi, Department of Nuclear Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920-J. *Juzen Med. Soc.*, 92, 23-36 (1983)

Key words: Deferoxamine mesylate, Gallium-67, Tumor scintigraphy.

Abstract

The present study was conducted to elucidate the effect of deferoxamine mesylate (DFO) administration on ^{67}Ga tumor imaging and then the mechanism for the improved imaging in detail. When DFO was administered four hours after ^{67}Ga -citrate injection in tumor-bearing rats, rapid decrease of the concentration of radioactivity in the blood and gradual decrease of that in the tumor were observed. Tumor-to-blood ratio at three hours after DFO administration showed 16.5, while the control group did 1.2. When DFO was administered twelve hours after ^{67}Ga -citrate injection, rapid decrease of the concentration of radioactivity in the blood was also observed. Compared with the previous study, however, the decrease of the concentration of radioactivity in the tumor was minimal and similar to the control group; tumor-to-blood ratio showed 29.4, while the control group did 2.2. These results seemed to indicate that two different compartments existed for ^{67}Ga uptake in the tumor tissue: in the first compartment, injected ^{67}Ga might be initially taken up by the tumor tissue where ^{67}Ga was weakly bound and easily dissociated by DFO administration; in the second compartment, ^{67}Ga taken up might be strongly bound in the tumor and hardly dissociated by DFO administration. The ^{67}Ga -DFO compound that was easily formed *in vitro*, when intravenously administered to tumor-bearing rats, showed minimal tumor uptake and rapid excretion from the rats. Cultured tumor cells showed gradual uptake of ^{67}Ga as a function of time up to twenty four hours, and ^{67}Ga once taken up by the cultured cells could not be excreted from the cells by DFO administration. These results indicated that the second compartment in ^{67}Ga tumor uptake might be the tumor cells themselves. In conclusion, ^{67}Ga in the blood showed rapid decrease by administration of DFO, and on the other hand, ^{67}Ga once taken up in the tumor cells was not excreted by DFO. Therefore, ^{67}Ga tumor imaging was expected to be improved owing to an increase of tumor-to-blood ratio.