

骨スキャンニング用^{99m}Tc標識リン酸系化合物の生体内分布と骨集積機序の研究

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/2297/8806

骨スキャンニング用 ^{99m}Tc 標識リン酸系化合物の 生体内分布と骨集積機序の研究

金沢大学医学部核医学教室 (主任: 久田欣一教授)

竹 内 鉄 夫

(昭和54年11月27日受付)

骨スキャンニングは臓器スキャンニングのうちでも重要な位置を占めており、その臨床的必要性から広く普及するに至っている。この骨スキャンニング用放射性医薬品としては、従来は ^{86}Sr -chloride, $^{87\text{m}}\text{Sr}$ -chloride, ^{18}F -などが使用されてきた^{1)~4)}。 ^{85}Sr ($T_{1/2} = 64$ 日) は物理的半減期が長いので、骨被曝が多く、 $^{87\text{m}}\text{Sr}$ ($T_{1/2} = 2.8$ 時間) は ^{87}Y - $^{87\text{m}}\text{Sr}$ cow からミルキングで得られるが、 ^{87}Y ($T_{1/2} = 80$ 時間) の半減期が短いため使用に不便でかつ高価である。またサイクロトロンで作られる ^{18}F - ($T_{1/2} = 1.87$ 時間) は半減期が短く、ルーチンに使用するには適さない核種であった。このような状況の時に、Subramanian ら⁵⁾ が $^{99\text{m}}\text{Tc}$ で標識したリン酸系化合物である $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tripolyphosphate の骨集積を報告したが、この化合物は広く臨床に使用されるまでには至らなかった。しかしこれを契機として $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -polyphosphate⁶⁾, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pyrophosphate (PYP)⁷⁾, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -monofluorophosphate⁸⁾¹⁰⁾, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ethylenedihydroxydiphosphonate (EHDP)^{11)~14)}, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -methylenediphosphonate (MDP)¹⁵⁾¹⁶⁾ の強い骨親和性がいっしょに報告された。これらの中では $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EHDP および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP が臨床的に普及するに至り、優れた臨床成績がいっしょに報告されている^{17)~19)}。

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ は物理的半減期が6時間で、放射する γ 線のエネルギーは140 keV であり、 β 線を放射せずかつ ^{99}Mo ($T_{1/2} = 67$ 時間)- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ cow で容易に得られる優れた核種である。上記の $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -リン酸系化合物は $^{99\text{m}}\text{Tc}$ で標識されており、骨集積が強く、かつ軟組織集積が少ないために骨スキャンニング剤として広く使用されるに至った。これら $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -リン酸系化合物の生体内分

布、骨集積機序についてはある程度研究が進められており^{9)12)~14)}、chemisorption (化学吸着) による⁹⁾¹⁷⁾ ともいわれているが、その詳細は不明であり⁹⁾、また $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -リン酸系化合物の間にも化合物の種類により生体内分布に微妙な差があることが認められている¹⁰⁾。

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -化合物は一般に ^{131}I -化合物などに比較して、放射化学的に比較的不安定なものが多いので、本研究ではまず $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -リン酸系化合物の放射化学的安定性を検討し、ついでその生体内分布をラットを用いて詳細に検討した。他の RI 化合物、例えば ^{67}Ga の場合にも carrier effect が認められる⁴⁾⁹⁾¹⁰⁾ ことがあるので、本研究においても carrier 実験を行った。また一方、これら $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -リン酸系化合物の骨集積機序を明らかにする目的で、まず in vitro において $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -リン酸系化合物と人血清との結合性について検討し、ついでこれら $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -リン酸系化合物が静注された場合、血液中でどのような状態で存在しているかを検討し、さらに骨の無機質のモデルとされているハイドロキシアパタイト [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] 結晶および骨粉を使用して chemisorption の本態を明らかにするための実験を行った。

実験材料および方法

I. 実験材料

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP 注射液 (I): (株) 第一 RI 研究所製テクネピロリン酸キットに、 ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ジェネレーターより溶出した $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ 生理食塩水 (以下生食水と略す) 溶液 2~5 ml (含まれる $^{99\text{m}}\text{Tc}$ の放射能強度は個々の実験により適当に調製) を加え、5 分間ゆっくと振盪したのち使用した (0.2 ml あたり約

Study on In-Vivo Distribution of Bone Scanning Agent, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Labeled Phosphate Compounds and a Mechanism of Their Bone Accumulation. Tetsuo Takeuchi, Department of Nuclear Medicine (Director: Prof. K. Hisada), School of Medicine, Kanazawa University.

10 μ Ci, PYP 0.8 mg含む).

^{99m}Tc-PYP 注射液 (II): ^{99m}Tc-PYP 注射液 (I) を生食水で 160 倍に希釈して使用した (0.4 ml あたり約 10 μ Ci, PYP 0.01 mg含む).

^{99m}Tc-EHDP 注射液 (I): (株) ダイナポット RI 研究所製 ジホスホネートバイアルを使用し, ^{99m}Tc-PYP の場合と同様に標識した (0.4 ml あたり約 10 μ Ci, EHDP 0.8 mg含む).

^{99m}Tc-EHDP 注射液 (II): ^{99m}Tc-EHDP 注射液 (I) を生食水で 80 倍に希釈して使用した (0.4 ml あたり約 10 μ Ci, EHDP 0.01 mg含む).

^{99m}Tc-MDP 注射液 (I): (株) 第一 RI 研究所製 テクネ MDP キットを使用し, ^{99m}Tc-PYP の場合と同様に標識した (0.4 ml あたり約 10 μ Ci, MDP 0.8 mg含む).

^{99m}Tc-MDP 注射液 (II): ^{99m}Tc-MDP 注射液 (I) を生食水で 80 倍に希釈して使用した (0.4 ml あたり約 10 μ Ci, MDP 0.01 mg含む).

ハイドロキシアパタイト結晶: 米国マリנקロット社製, 分析用試薬

ラット血清: ラットから採取した血液を 2500rpm, 10 分間遠心分離し, その上清を使用した.

使用動物: 平均体重 187 \pm 20g のウイスター系ラットを使用した.

^{99m}TcO₄⁻液: (株) 第一 RI 研究所製 ウルトラテクネカウより溶出した.

人血清: 正常人から採血したものを 2500rpm, 10 分間遠心分離し, その上清を使用した.

骨粉: ラットの大腿骨から骨髓を除去し, 水洗後に 2 週間風乾し, ついで赤外線ランプで 3 日間乾燥したのち, 乳鉢で粉砕して粉末にしたものを使用した.

リン酸ナトリウム-³²P 生食水溶液 (0.05 μ Ci/ml, carrier free): 日本原子力研究所製, H₃PO₄-³²P の 0.06NHCl 溶液を希カセイソーダで中和後, 生食水で希釈して調製した.

ピロリン酸ナトリウム-³²P 生食水溶液 (0.05 μ Ci/ml, carrier free): 米国 New England Nuclear 社製ピロリン酸ナトリウム-³²P 水溶液を生食水で希釈して調製した.

その他の試薬は市販の試薬特級を使用した.

II. ^{99m}Tc-PYP 注射液, ^{99m}Tc-EHDP 注射液および ^{99m}Tc-MDP 注射液の放射化学的安定性試験

1. ペーパークロマトグラフ法

^{99m}Tc-リン酸系化合物注射液から生ずる不純物の主なものは, 分解して生ずる ^{99m}TcO₄⁻ であるので, その定量を主とし, 展開溶媒にはメタノール:水 (85:15) を使用した. 注射液調製直後およびその後 1 時間毎に

6 時間後まで, 長さ 5.5 cm, 幅 0.5 cm の展開用濾紙の下から約 1 cm の位置に, ガラス毛细管で前記 ^{99m}Tc-PYP 注射液 (I), ^{99m}Tc-EHDP 注射液 (I) および ^{99m}Tc-MDP 注射液 (I) を各々スポットした. 風乾後, 小型ペーパークロマトグラフ装置で約 5 分間展開した. 展開終了後, 風乾し, ついで X 線フィルムに密着させ曝射し, フィルムを現像して放射性物質の位置を確認した. この場合 ^{99m}Tc-リン酸系化合物はいずれも原点にとどまり, 分解して生ずる ^{99m}TcO₄⁻ は Rf0.6 附近にあるので, 濾紙の下から 2 cm の所で切断し, 上下を各々ウエル型シンチレーションカウンターで測定して, その放射能強度を求め, 分解して生じた ^{99m}TcO₄⁻ の割合を計算した.

2. ハイドロキシアパタイト (HAP) 結晶付着法

^{99m}Tc-PYP 注射液 (I), ^{99m}Tc-EHDP 注射液 (I) および ^{99m}Tc-MDP 注射液 (I) の調製直後に, 各注射液 1 ml にハイドロキシアパタイト結晶 (以下 HAP 結晶と略す) 10 mg を加えて, 10 分間振盪した後, 2500rpm で 10 分間遠沈して HAP 結晶を沈殿させた. この沈殿と上清を分離して各々の放射能強度を測定し, これら ^{99m}Tc-リン酸系化合物の HAP 結晶への付着率を計算した. 同様の実験を注射液調製後 1 時間毎に 6 時間後まで行い, 経時的变化を調べた.

また ^{99m}Tc-PYP 注射液 (I), ^{99m}Tc-EHDP 注射液 (I) および ^{99m}Tc-MDP 注射液 (I) を各々生食水で 50 倍に希釈したのち 1 ml とり, HAP 結晶 10 mg を加えて 10 分間振盪し, 遠心分離して HAP 結晶への付着率を調べる実験を上記と同様に行った. この 50 倍希釈液についても希釈直後から 1 時間毎に 6 時間後まで行ない, 経時的变化を調べた. さらに ^{99m}Tc-PYP 注射液 (I), ^{99m}Tc-EHDP 注射液 (I) および ^{99m}Tc-MDP 注射液 (I) を各々ラット血清で 50 倍に希釈したのち 1 ml とり, 10 mg の HAP 結晶への付着率を上記と同様の方法で調べた. このラット血清で希釈したものについても希釈直後およびその後 1 時間毎に 6 時間後まで行い, 経時的变化を調べた.

III. ^{99m}Tc-PYP, ^{99m}Tc-EHDP および ^{99m}Tc-MDP の生体内分布実験

ラットをベントバルビタールナトリウム (ネンブタール) 注射液の腹腔内注射で麻酔した後, 前記 6 種の ^{99m}Tc-リン酸系化合物注射液を尾静脈より注入した. ^{99m}Tc-PYP 注射液 (I) は 0.2 ml, 同 (II), ^{99m}Tc-EHDP 注射液 (I), 同 (II) および ^{99m}Tc-MDP 注射液 (I), 同 (II) は各々 0.4 ml を注射し, ついでこれらラットは注射 30 分, 1 時間, 2 時間後に各々 5 匹ずつ屠殺して血液, 筋肉, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 肺臓, 心

臓、脳、頭頂骨および脛骨の一部を摘出した。つぎにその重量を測定後、放射能強度をウエル型シンチレーションカウンターで測定して、臓器組織 1g 中への集積率を投与量に対する割合で求めた。つぎにこの値を基にして主要臓器組織全体への集積率も計算した。またこの屠殺時にそれまでに膀胱内に貯留した全尿を採取して、投与量の何パーセントが尿中へ排出されたかを求めた（測定値はいずれも ^{99m}Tc の物理的減衰を補正した）。

IV. ^{99m}Tc -PYP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -MDP の血液成分との結合性の実験

1. HAP 結晶附着法

人血清 1 ml に ^{99m}Tc -PYP 注射液 (I), ^{99m}Tc -EHDP 注射液 (I) および ^{99m}Tc -MDP 注射液 (I) 0.1 ml を加えた後、37℃のインキュベーターであらかじめ 1 分、15 分、30 分および 60 分プレインキュベートしたものに HAP 結晶 10 mg を加えて、10 分間インキュベートした。インキュベート終了後、2500rpm で 10 分間遠心分離して、HAP 結晶と人血清を分離した。また比較のために、 ^{99m}Tc -リン酸系化合物のかわりに $^{99m}\text{TcO}_4^-$ でも実験した。分離後の HAP 結晶と人血清の放射能をウエル型シンチレーションカウンターで測定して HAP 結晶への附着率を求めた。

2. 電気泳動法

前記 3 種の ^{99m}Tc -リン酸系化合物注射液 0.1 ml を人血清 1 ml に加えて 37℃のインキュベーターで 1 時間インキュベートした。この人血清をあらかじめ電気泳動用緩衝液（ペロナール・ペロナールナトリウム緩衝液、pH = 8.6, イオン強度 0.07）に浸した電気泳動用セルロースアセテート膜（セパラックス）にスポットし、0.6mA/cm で 1 時間泳動させた。泳動終了後、セルロースアセテート膜は X 線フィルムに密着させて、オートラジオグラムを作成した。ついでこのセルロースアセテート膜をボンソー 3R で染色し、人血清タンパクの位置を確認した。

3. トリクロル酢酸法

前記 3 種の ^{99m}Tc -リン酸系化合物注射液 0.1 ml を人血清 1 ml に加えて 37℃のインキュベーターで 1 時間インキュベートした後、その 0.1 ml に 10% トリクロル酢酸 0.9 ml を加えて攪拌し、10 分間放置後、2500rpm で 10 分間遠心分離した。また比較のため ^{99m}Tc -リン酸系化合物のかわりに $^{99m}\text{TcO}_4^-$ でも実験した。沈殿のタンパクと上清を分離し、各々をウエル型シンチレーションカウンターで測定し、放射能強度を求めた。

V. ^{99m}Tc -PYP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -MDP

の血液中の動態に関する実験

1. ^{99m}Tc -化合物の血球附着率

^{99m}Tc -MDP 注射液 (II) の静注 30 分、1 時間、2 時間後のラット血液にヘパリンナトリウムを加え、2500rpm で 10 分間遠心分離して血球を沈殿させた。血球と血漿を分離したのち、血球を 2 ml の生食水で洗浄して、もう一度遠心分離し、上清の放射能は血漿の放射能に加算した。血球と血漿の両方の放射能をウエル型シンチレーションカウンターで測定して、血球附着率と血漿残存率を求めた。 ^{99m}Tc -EHDP 注射液 (II) および ^{99m}Tc -PYP 注射液 (II) を静注した血液についても同様に行った。

2. 血漿中の ^{99m}Tc -化合物の HAP 結晶および骨粉への附着

^{99m}Tc -MDP 注射液 (II) を静注 30 分、1 時間、2 時間後のラット血液から上記のごとく、血球を除いて分離した血漿 1 ml に HAP 結晶 10 mg を加えて 37℃のインキュベーターで 10 分間インキュベートした。インキュベート終了後、2500rpm で 10 分間遠心分離して HAP 結晶と血漿を分離した。分離後の HAP 結晶と血漿の放射能をウエル型シンチレーションカウンターで測定して、HAP 結晶への附着率を求めた。また HAP 結晶のかわりに骨粉 10 mg を加えて同様に行った。 ^{99m}Tc -EHDP 注射液 (II), ^{99m}Tc -PYP 注射液 (II) を静注したラットの血液についても同様に行った。

3. HAP 結晶処理後の血漿の分析

トリクロル酢酸法：上記の HAP 結晶処理後の血漿 0.2 ml に 10% トリクロル酢酸 1.8 ml を加えて混合し、10 分間放置後、2500rpm で 10 分間遠心分離してタンパクを沈殿させた。沈殿のタンパクと上清を分離し、各々ウエル型シンチレーションカウンターで測定し、 ^{99m}Tc のタンパクへの附着率を求めた。

ペーパークロマトグラフ法：HAP 結晶処理後の血漿をペーパークロマト展開用濾紙（2 × 40 cm）の下方より 5 cm の所にガラス毛细管でスポットし、85% メタノールを展開溶媒として上昇法で 4 時間展開した。風乾後、ペーパークロマトスキャナーでアクチグラムを作成後、X 線フィルムに密着させて一日放置し、オートラジオグラムを作成した。

VI. ^{99m}Tc -リン酸系化合物の骨無機質成分への集積機序に関する実験

1. ピロリン酸ナトリウム- ^{32}P および ^{99m}Tc -PYP の HAP 結晶ならびに骨粉への取り込み

10 本の試験管（遠心分離管）に carrier free のピロリン酸ナトリウム- ^{32}P 0.05 μCi を含む生食水 2 ml を加え、このうちの各 1 本ずつに carrier としてピロリン

酸ナトリウムを0.1 mg, 0.25 mg, 0.5 mg, 1.0 mg, 2.5 mg, 5.0 mg, 10 mg, 20 mg, 50 mgを加えて溶かして攪拌し、ピロリン酸ナトリウム- ^{32}P と十分に混合した。この試験管にHAP結晶10 mgを加えて、10分間振盪したのち2500rpmで10分間遠心分離し、上清と沈殿を分離した。上清から1 mlを放射能測定皿にとり、赤外線ランプで蒸発乾固した。沈殿には0.2N塩酸2 mlを加えて溶かし、その1 mlを放射能測定皿にとり、赤外線ランプで蒸発乾固した。この蒸発乾固した試料を測定皿ごと端窓型GM測定器で測定して、上清および沈殿(HAP結晶)にある放射能強度を求め、HAP結晶への取込率を計算した。骨粉についてもHAP結晶の場合と全く同様に行ったが、遠心分離した骨粉の溶解には濃硝酸0.5 mlを使用して溶かし、溶解後に蒸留水1.5 mlを加えて、以下同様に処理した。

また $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP注射液(I)0.1 mlを10本の試験管(遠沈管)に入れ、これに生食水2 mlを加えた。この9本の試験管にピロリン酸ナトリウム- ^{32}P の場合と同様にcarrierとしてのピロリン酸ナトリウムを加え、HAP結晶10 mgを加えて同様に処理した。この上清および沈殿はウエル型シンチレーションカウンターで測定して沈殿への付着した放射能の割合を求めた。骨粉についても全く同様に行った。

2. HAP結晶- ^{32}P , 骨粉- ^{32}P , HAP結晶- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYPおよび骨粉- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYPからピロリン酸ナトリウムによるリン酸イオン- ^{32}P ならびに $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYPの遊離

あらかじめHAP結晶をリン酸ナトリウム- ^{32}P により標識した。すなわち0.05 μCi のリン酸ナトリウム- ^{32}P を含む生食水2 mlの入った試験管(遠沈管)に、HAP結晶10 mgを加えて10分間振盪後、2500rpmで10分間遠心分離して上清を除いた。これに2 mlの生食水を加えて振盪し、遠心分離して洗浄した。この時にほぼ定量的にリン酸ナトリウム- ^{32}P はHAP結晶に付着した。また骨粉についても同様にしてリン酸ナトリウム- ^{32}P で標識した。このようにして標識したHAP

結晶- ^{32}P または骨粉- ^{32}P の10 mgに生食水2 mlおよび生食水2 ml中にピロリン酸ナトリウム1.0 mg, 2.5 mg, 5.0 mg, 10 mg, 20 mg, 50 mgを含む生食水2 mlを加えて10分間振盪した。ついで2500rpmで10分間遠心分離し、上清と沈殿を分離した。上清から1 mlを放射能測定皿に移し、蒸発乾固して放射能を測定した。沈殿のHAP結晶または骨粉は上記のごとく0.2N塩酸または硝酸で処理して溶かし、液量2 mlに統一した後、その1 mlを放射能測定皿で蒸発乾固し、放射能を測定してHAP結晶- ^{32}P または骨粉- ^{32}P から遊離したリン酸イオン- ^{32}P の割合を求めた。

つぎにまずHAP結晶を $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYPにより標識した。すなわち $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP注射液(I)0.1 mlを含む生食水2 mlの入った試験管に、HAP結晶10 mgを加えて10分間振盪した後に2500rpmで10分間遠心分離して上清を除き、ついで生食水で洗浄した。骨粉についても同様に $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYPで標識した。このようにして標識したHAP結晶- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYPまたは骨粉- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYPの10 mgに生食水およびピロリン酸ナトリウムをHAP結晶- ^{32}P の場合と同様に加えて、同様に処理した。そして上清と沈殿はウエル型シンチレーションカウンターで測定してHAP結晶- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYPまたは骨粉- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYPから遊離した $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYPの割合を求めた。

成 績

I. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP注射液, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EHDP注射液および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP注射液の放射化学的安定性

1. ペーパークロマトグラフ法

結果は表1に示すごとく、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EHDP注射液(I)および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP注射液(I)は調製6時間後までは非常に安定であり、調製6時間後でも認められるほどの分解はなかった。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP注射液(I)は前2者に比較すれば、かなり不安定で3.7~9.1%の不純物が含まれることがわかった。

2. HAP結晶付着法

表1 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP注射液, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EHDP注射液および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP注射液の放射化学的安定性 (小型ペーパークロマトグラフ法による)

調製後の時間 (時間)	0時間	1時間	2時間	3時間	4時間	5時間	6時間
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP注射液	99.7%	99.6%	99.7%	99.6%	99.7%	99.6%	99.6%
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EHDP注射液	99.6	99.7	99.3	99.4	99.4	99.5	99.5
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP注射液	96.3	95.5	94.7	94.8	93.4	93.3	90.9

表2に示すごとく、^{99m}Tc-MDP注射液（I）および^{99m}Tc-EHDP注射液（I）およびこれらを生食水で50倍に希釈したものは、ほとんど定量的にHAP結晶に付着し、付着率は98%以上であった。^{99m}Tc-MDP注射液（I）をラット血清で50倍に希釈したものは希釈直後HAP結晶付着率は95.6%であったが、HAP結晶付着率は経時的に減少した。このことはHAP結晶と血清タンパクが競合していることと、血清中で経時的にゆっくりと^{99m}Tc-MDPが分解していることを意味しているのであろう。^{99m}Tc-EHDP注射液（I）をラット血清で希釈したものはHAP結晶への付着率は93~96%であり、経時的には一定の傾向を示さなかった。このことは^{99m}Tc-EHDPはラット血清中では^{99m}Tc-MDPよりもより安定であることを示すものであろう。^{99m}Tc-PYP注射液（I）の場合は、注射液調製直後にはHAP結晶付着率は96%であったが、経時的にゆっくりとHAP結晶付着率は減少した。生食水で50倍に希釈したものは希釈しないものに比較してHAP結晶付着率がやや低かった。ラット血清で50倍に希釈したものは希釈直後に約90%がHAP結晶に付着したが、経時的に減少し、6時間後には80%となった。このことは^{99m}Tc-PYPは血清タンパクにかなり付着することおよびラット血清中で分解されるものと思われる。

II. ^{99m}Tc-PYP, ^{99m}Tc-EHDP および ^{99m}Tc-MDP の生体内分布

1. carrier（リン酸系化合物）が少量の場合

実験方法に述べたごとく、まず臓器組織1g中へのこれら^{99m}Tc-リン酸系化合物の集積率を求めた。しか

し、この実験に使用したラットは体重187±20gであり、各実験に使用したラットの体重に多少のバラツキがあった。そこで体重を統一するために次の式により体重を100gにnormalizeして比較した。

体重を100gに標準化した場合の臓器組織1g中への集積率 = (1gあたりの集積率) × 体重 / 100

結果は表3に示すごとく、骨集積率は^{99m}Tc-MDP, ^{99m}Tc-EHDP および ^{99m}Tc-PYPともに3%/g前後であり、静注30分後も2時間後も大きな差はなく、30分後には骨集積はほとんど終わっていた。また脛骨よりも頭頂骨の方が集積率は大きかった。腎臓を除く軟組織集積率は3種の^{99m}Tc-リン酸系化合物とも小さかったが、^{99m}Tc-PYPは他の2者に比較して集積率は大きく、この点で^{99m}Tc-PYPは劣っていた。^{99m}Tc-MDPと^{99m}Tc-EHDPはともに軟組織集積率が小さく、よく類似していたが、静注30分後の値は^{99m}Tc-MDPの方がやや小さく、この点で^{99m}Tc-MDPがやや優れていた。

つぎに脛骨集積率と血液、筋肉、肝臓、腎臓集積率の比較を表4に示した。この値の大きいほど骨スキヤニング剤としては優れている。表4のごとく^{99m}Tc-MDPと^{99m}Tc-EHDPはよく類似していたが、静注30分後の値は^{99m}Tc-MDPの方が大きかった。^{99m}Tc-PYPは前2者よりもはるかに小さく劣っていた。

臓器摘出時に、それまでに生成した全尿を採取して、投与量に対する割合を求めたものを表5に示した。^{99m}Tc-MDP, ^{99m}Tc-EHDPは30分後に40~44%, 1時間後に約52%排出されており、2時間後にも増加しなかった。^{99m}Tc-PYPはやや少なく、30分後に34%, 1時

表2 ^{99m}Tc-PYP, ^{99m}Tc-EHDP および ^{99m}Tc-MDP のHAP結晶付着率

		調製後の時間						
		0時間	1時間	2時間	3時間	4時間	5時間	6時間
^{99m} Tc-MDP	注射液	99.4%	99.6%	99.2%	99.4%	99.6%	99.5%	99.3%
	生食水で50倍に希釈	99.2	99.2	99.2	98.7	98.8	98.4	98.4
	ラット血清で50倍に希釈	95.6	94.0	92.6	91.1	91.1	89.9	89.9
^{99m} Tc-EHDP	注射液	99.0	99.0	99.2	99.6	99.3	99.2	99.1
	生食水で50倍に希釈	98.9	99.0	99.0	99.2	98.8	98.7	98.6
	ラット血清で50倍に希釈	93.4	95.5	95.6	96.1	94.2	94.8	93.5
^{99m} Tc-PYP	注射液	96.6	96.3	95.0	95.2	94.7	94.0	93.2
	生食水で50倍に希釈	94.0	94.3	93.8	93.5	92.7	91.4	91.1
	ラット血清で50倍に希釈	91.4	91.4	88.7	83.9	82.5	81.4	80.7

間後に約40%であり、2時間後でも大幅には増加しなかった。

さて、臓器組織1gあたりへの集積率は以上のごとくであるが、主要臓器組織全体への集積率を求めるために、骨、血液、筋肉、肝臓、腎臓、脾臓、心臓は各々体重の10%、7.4%、43%、4.07%、0.74%、0.43%、0.38%としたものから計算により求めた^{9,10)}。その結果は表6に示すごとく、^{99m}Tc-MDP、^{99m}Tc-EHDPおよび^{99m}Tc-PYPともに骨集積率はほぼ26~36%の

間にあったが、軟組織集積率は非常に小さかった。とりわけ^{99m}Tc-MDPと^{99m}Tc-EHDPの静注1時間および2時間後の軟組織集積率は極めて小さかった。

2. carrier (リン酸系化合物) が大量の場合
前記のcarrier量の0.01mgの場合と全く同様に行った。まず体重を100gに規準化した場合の臓器組織1gあたりへの集積率を表7に示した。この表からわかるように骨集積率では^{99m}Tc-MDP、^{99m}Tc-EHDPおよび^{99m}Tc-PYP間に大きな差はなく、また表3に示し

表3 ^{99m}Tc-MDP (carrier量0.01mg)、^{99m}Tc-EHDP (carrier量0.01mg)および^{99m}Tc-PYP (carrier量0.01mg)のラット臓器組織集積率
(投与量を100%とした場合に体重を100gに規準化した後の臓器1gあたりの集積率で示す)

	^{99m} Tc-MDP			^{99m} Tc-EHDP			^{99m} Tc-PYP		
	30分	1時間	2時間	30分	1時間	2時間	30分	1時間	2時間
血液	%/g 0.203±0.006	%/g 0.070±0.008	%/g 0.055±0.004	%/g 0.314±0.021	%/g 0.074±0.012	%/g 0.050±0.009	%/g 0.405±0.072	%/g 0.358±0.083	%/g 0.280±0.016
筋肉	0.046±0.003	0.020±0.006	0.018±0.002	0.073±0.023	0.017±0.002	0.015±0.002	0.083±0.014	0.059±0.006	0.051±0.006
肝臓	0.050±0.002	0.037±0.001	0.031±0.001	0.060±0.004	0.030±0.004	0.036±0.007	0.126±0.009	0.369±0.036	0.090±0.007
腎臓	0.919±0.101	0.629±0.123	0.894±0.098	1.08±0.14	0.567±0.073	0.802±0.088	1.50±0.22	2.47±1.10	2.27±0.54
脾臓	0.050±0.005	0.028±0.003	0.034±0.003	0.064±0.006	0.025±0.003	0.030±0.003	0.126±0.007	0.129±0.063	0.102±0.033
肺臓	0.132±0.013	0.056±0.004	0.044±0.004	0.177±0.017	0.057±0.012	0.058±0.011	0.286±0.024	0.167±0.037	0.121±0.031
心臓	0.071±0.005	0.028±0.001	0.025±0.001	0.097±0.010	0.026±0.004	0.021±0.002	0.152±0.021	0.097±0.008	0.075±0.007
脳	0.004±0.001	0.002±0.001	0.004±0.001	0.006±0.002	0.001±0	0.002±0.001	0.007±0.002	0.005±0.002	0.006±0.002
頭頂骨	3.48±0.45	3.51±0.33	3.86±0.36	3.43±0.35	3.19±0.19	3.28±0.24	3.28±0.15	3.17±0.49	3.57±0.22
脛骨	3.46±0.40	3.11±0.21	3.14±0.27	3.06±0.16	2.64±0.30	2.77±0.25	3.26±0.66	2.89±0.68	3.26±0.24

表4 ^{99m}Tc-MDP (carrier量0.01mg)、^{99m}Tc-EHDP (carrier量0.01mg)および^{99m}Tc-PYP (carrier量0.01mg)のラット脛骨集積率/臓器集積率-比

		脛骨/血液	脛骨/筋肉	脛骨/肝臓	脛骨/腎臓
^{99m} Tc-MDP	30分	17.2±1.6	75.2±9.4	69.6±10.0	3.9±0.8
	1時間	44.4±3.2	164.4±14.3	84.3±6.4	5.0±0.8
	2時間	57.6±4.0	184.0±14.8	102.1±8.0	3.5±0.7
^{99m} Tc-EHDP	30分	9.8±0.9	44.0±4.3	51.8±5.8	2.9±0.4
	1時間	35.7±3.2	155.4±6.4	86.5±4.7	4.7±0.7
	2時間	57.7±3.7	192.8±9.6	80.9±6.6	3.5±0.7
^{99m} Tc-PYP	30分	8.4±2.4	40.6±9.7	26.3±4.1	2.3±0.7
	1時間	8.6±3.5	48.7±12.9	17.0±13.6	1.5±0.9
	2時間	12.2±3.7	64.1±10.5	36.7±14.4	1.4±0.9

表5 ^{99m}Tc-MDP(carrier量0.01mg), ^{99m}Tc-EHDP(carrier量0.01mg)および^{99m}Tc-PYP(carrier量0.01mg)のラット尿中排泄率(投与量を100%として計算)

	^{99m} Tc-MDP	^{99m} Tc-EHDP	^{99m} Tc-PYP
30分	44.0±2.6%	40.7±8.7%	34.2±2.5%
1時間	51.9±1.5	51.8±4.1	39.6±6.2
2時間	42.0±2.2	46.9±2.9	40.4±3.5

たcarrier量0.01mgの場合と大きな差はなかった。しかしながら軟組織集積率ではcarrier量の増加により顕著に増大したものがあつた。すなわち^{99m}Tc-PYPでは肝臓、脾臓で顕著に増大し、^{99m}Tc-MDPでも肝臓、脾臓で顕著に増大していた。これに対し^{99m}Tc-EHDPは軟組織集積率がやや増大するとはいえ、前2者ほど大きな増加はなかった。

carrier量が0.8mgの場合の脛骨集積率と血液、筋肉、肝臓、腎臓集積率の比を表8に示した。carrier量

表6 ^{99m}Tc-MDP(carrier量0.01mg), ^{99m}Tc-EHDP(carrier量0.01mg)および^{99m}Tc-PYP(carrier量0.01mg)の各臓器組織全体への集積率(投与量を100%として計算)

	^{99m} Tc-MDP			^{99m} Tc-EHDP			^{99m} Tc-PYP		
	30分	1時間	2時間	30分	1時間	2時間	30分	1時間	2時間
血液	1.51%	0.52%	0.40%	2.33%	0.55%	0.37%	3.00%	2.67%	2.09%
筋肉	2.00	0.85	0.74	3.18	0.74	0.63	3.59	2.55	2.21
肝臓	0.20	0.15	0.12	0.24	0.12	0.15	0.51	0.15	0.37
腎臓	0.68	0.47	0.66	0.80	0.42	0.59	1.09	1.85	1.68
脾臓	0.02	0.01	0.02	0.03	0.01	0.01	0.05	0.06	0.04
心臓	0.03	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.06	0.04	0.03
骨	35.14	32.71	31.18	30.71	26.44	33.04	33.67	28.74	32.66
合計	39.58	34.72	33.13	37.33	28.29	34.80	41.97	36.06	39.08

表7 ^{99m}Tc-MDP(carrier量0.8mg), ^{99m}Tc-EHDP(carrier量0.8mg)および^{99m}Tc-PYP(carrier量0.8mg)のラット臓器組織集積率(投与量を100%とした場合に体重100gに規準化した後の臓器1gあたりの集積率で示す)

	^{99m} Tc-MDP			^{99m} Tc-EHDP			^{99m} Tc-PYP		
	30分	1時間	2時間	30分	1時間	2時間	30分	1時間	2時間
血液	0.280±0.062 %/g	0.132±0.019 %/g	0.094±0.021 %/g	0.493±0.100 %/g	0.203±0.035 %/g	0.171±0.030 %/g	0.380±0.031 %/g	0.251±0.032 %/g	0.239±0.010 %/g
筋肉	0.055±0.006	0.027±0.001	0.020±0.008	0.107±0.034	0.030±0.006	0.018±0.004	0.092±0.045	0.065±0.007	0.057±0.014
肝臓	0.923±0.281	1.07±0.12	0.894±0.244	0.110±0.039	0.061±0.012	0.071±0.016	2.17±0.21	1.47±0.36	2.11±0.45
腎臓	1.54±0.72	1.14±0.76	0.942±0.131	2.10±0.89	0.889±0.032	1.17±0.27	1.62±0.08	1.37±0.11	1.79±0.49
脾臓	0.511±0.171	0.422±0.092	0.528±0.202	0.106±0.031	0.045±0.005	0.055±0.018	0.748±0.161	0.381±0.045	0.897±0.394
肺臓	0.176±0.041	0.096±0.038	0.064±0.008	0.268±0.054	0.096±0.016	0.096±0.050	0.240±0.011	0.173±0.032	0.164±0.048
心臓	0.096±0.022	0.051±0.019	0.030±0.006	0.145±0.042	0.050±0.002	0.050±0.025	0.118±0.011	0.086±0.011	0.074±0.027
脳	0.007±0.003	0.004±0.002	0.003±0.001	0.009±0.002	0.003±0.001	0.003±0.001	0.007±0.004	0.003±0.001	0.004±0.001
頭頂骨	3.45±0.51	4.37±0.43	3.58±0.43	3.53±0.77	3.16±0.43	3.46±0.17	3.53±0.40	3.96±0.69	3.56±0.21
脛骨	3.06±0.47	3.57±0.51	3.05±0.28	2.85±0.37	2.88±0.28	2.92±0.62	3.02±0.51	3.05±0.15	2.93±0.29

表8 ^{99m}Tc -MDP (carrier 量 0.8mg), ^{99m}Tc -EHDP (carrier 量 0.8mg) および ^{99m}Tc -PYP (carrier 量 0.8mg) のラット脛骨集積率/臓器集積率—比

		脛骨/血液	脛骨/筋肉	脛骨/肝臓	脛骨/腎臓
^{99m}Tc -MDP	30 分	11.0±0.8	55.9± 9.7	3.5± 1.3	2.2±0.7
	1 時間	27.2±3.9	134.7±25.6	3.4± 0.5	3.7±1.3
	2 時間	32.4±4.0	166.7±55.4	3.5± 0.8	3.3±0.5
^{99m}Tc -EHDP	30 分	5.8±0.4	27.8± 5.7	27.1± 5.4	1.5±0.4
	1 時間	14.4±3.1	97.9±28.8	48.5±14.7	3.2±0.3
	2 時間	17.2±2.4	163.4±12.4	41.6± 5.3	2.6±0.8
^{99m}Tc -PYP	30 分	8.0±1.6	32.9± 6.5	1.4± 0.1	1.8±0.2
	1 時間	12.2±0.9	47.0± 2.9	2.2± 0.7	2.3±0.2
	2 時間	14.4±6.2	55.2±17.6	1.4± 0.3	1.7±0.4

表9 ^{99m}Tc -MDP(carrier 量 0.8mg), ^{99m}Tc -EHDP (carrier 量 0.8mg) および ^{99m}Tc -PYP (carrier 量 0.8mg) のラット尿中排泄率 (投与量を100%として計算)

	^{99m}Tc -MDP	^{99m}Tc -EHDP	^{99m}Tc -PYP
30 分	36.3±4.9%	41.4±5.9%	33.4±2.9%
1 時間	39.8±7.6	54.2±2.6	37.6±3.8
2 時間	37.8±3.6	47.7±8.6	38.2±1.1

0.01 mgの場合に比較してほとんどの値が小さくなっており、特に ^{99m}Tc -MDP と ^{99m}Tc -PYP の骨/肝臓-比が顕著に小さくなっていた。

つぎに静注 30 分、1 時間、2 時間後までの尿中排泄量は表 9 に示した。carrier 量 0.01 mg の場合 (表 5) とほとんど同様であったが、 ^{99m}Tc -MDP はやや減少していた。

carrier 量が 0.8 mg の場合の 3 種の ^{99m}Tc -リン酸系化合物の場合の各臓器全体への集積率を求めて表 10 に示した。この表のごとく、骨集積率では carrier 量 0.01 mg の場合と大きな差はないが、軟組織集積率ではおおむね増大しており、 ^{99m}Tc -MDP、 ^{99m}Tc -PYP の肝臓集積率の増加が著しかった。

Ⅲ. ^{99m}Tc -PYP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -MDP の血液成分との結合性

1. HAP 結晶付着法

インキュベート終了後、HAP 結晶を加えて振盪する時間を予備実験において 5 分、10 分、20 分間振盪を行

ったところ、HAP 結晶への付着率は全く変らなかったので、本実験では 10 分間で行った。結果は表 11 に示すごとく、 ^{99m}Tc -PYP はプレインキュベートの時間が 1 分のものは HAP 結晶への付着率は 85.6% であり、プレインキュベートの時間が長くなるにしたがってこの付着率は少しずつ減少した。 ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -MDP は HAP 結晶への付着率はプレインキュベート 1 分の時に 95~96% であり、プレインキュベートの時間を長くするとこの値はやや減少した。また比較のために行った $^{99m}\text{TcO}_4$ は HAP 結晶にほとんど付着しなかった。

2. 電気泳動法

図 1 に示すごとく、オートラジオグラフ法による X 線フィルムの黒化による ^{99m}Tc -化合物の位置と、セルロースアセテート膜のボンソ-3R による染色でのタンパクの位置は明らかに異っていた。この方法では ^{99m}Tc -PYP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -MDP とともに陽極に移動し、また人血清アルブミンも陽極に移動した。しかしながら人血清アルブミンよりも ^{99m}Tc -PYP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -MDP の方が易動度が大きく、人血清タンパクへの結合は証明されなかった。

3. トリクロル酢酸法

表 12 に示すごとく、 ^{99m}Tc -PYP は 57.5% がタンパクに付着しており、 ^{99m}Tc -EHDP は同じく 22.1%、 ^{99m}Tc -MDP は同じく 45.3% であり、比較のために行った $^{99m}\text{TcO}_4$ は 5.6% しかタンパクに付着していなかった。

Ⅳ. ^{99m}Tc -PYP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -MDP の血液動態

1. ^{99m}Tc -化合物の血球付着率

表10 ^{99m}Tc-MDP(carrier量 0.8mg), ^{99m}Tc-EHDP(carrier量 0.8mg) および^{99m}Tc-PYP(carrier量 0.8mg) の各臓器組織全体への集積率 (投与量を100%として計算)

	^{99m} Tc-MDP			^{99m} Tc-EHDP			^{99m} Tc-PYP		
	30分	1時間	2時間	30分	1時間	2時間	30分	1時間	2時間
血液	2.09%	0.98%	0.70%	3.66%	1.51%	1.27%	2.81%	1.86%	1.74%
筋肉	2.38	1.19	0.86	4.63	1.33	0.78	3.96	2.81	2.42
肝臓	3.78	4.39	3.69	0.45	0.25	0.27	8.82	5.94	8.74
腎臓	1.15	0.87	0.69	1.57	0.66	0.87	1.20	1.01	1.33
脾臓	0.22	0.18	0.22	0.05	0.02	0.02	0.32	0.16	0.39
心臓	0.04	0.02	0.01	0.06	0.02	0.02	0.05	0.03	0.03
骨	30.74	35.94	30.55	28.59	28.71	29.39	30.08	30.60	29.32
合計	40.40	43.57	36.72	39.01	32.50	32.62	37.24	42.41	43.97

表11 人血清中でプレインキュベートした^{99m}Tc-MDP, ^{99m}Tc-EHDPおよび^{99m}Tc-PYPのHAP結晶への付着率

プレインキュベート時間(分)	1分	15分	30分	60分
^{99m} Tc-化合物				
^{99m} Tc-MDP	96.5 %	96.0 %	95.5 %	94.2 %
^{99m} Tc-EHDP	95.3	94.5	93.8	93.7
^{99m} Tc-PYP	85.6	83.3	81.9	80.9
^{99m} TcO ₄ ⁻				4.4

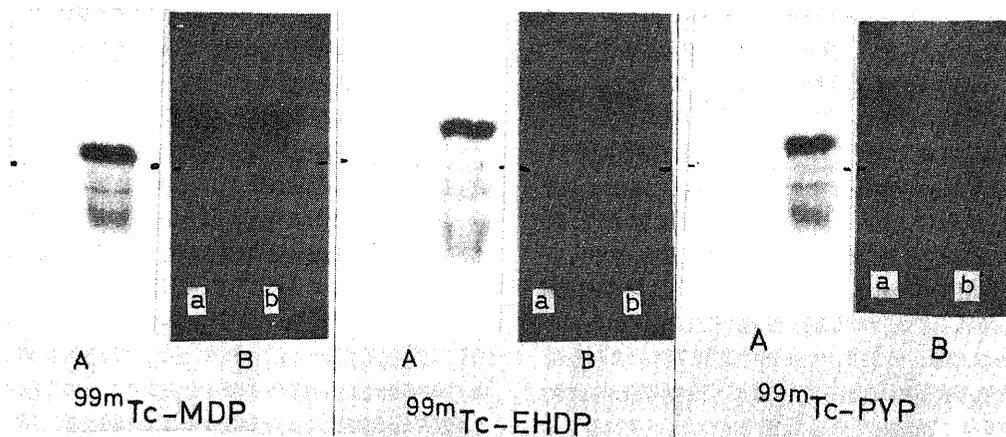


図1. ^{99m}Tc-リン酸系化合物を人血清とインキュベート後の電気泳動図(A)とそのオートラジオグラム(B)

a : 単独の ^{99m}Tc-リン酸系化合物 b : 人血清とインキュベート後の ^{99m}Tc-リン酸系化合物

表12 ^{99m}Tc -リン酸系化合物および $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の血清タンパク付着率(トリクロル酢酸法による)

	^{99m}Tc -MDP	^{99m}Tc -EHDP	^{99m}Tc -PYP	$^{99m}\text{TcO}_4^-$
タンパク付着率	45.3 %	22.1 %	57.5 %	5.6 %

表13 ^{99m}Tc -リン酸系化合物の血液中存在率, 血球付着率および血漿中存在率(投与量を100%とした場合の1g中に存在する%)

		投与後の時間		
		30分	1時間	2時間
^{99m}Tc -MDP	血中の ^{99m}Tc 存在率(%/g)	0.203	0.070	0.055
	血球への付着率(%/g)	0.013	0.009	0.009
	血漿中の ^{99m}Tc 存在率(%/g)	0.190	0.061	0.046
^{99m}Tc -EHDP	血中の ^{99m}Tc 存在率(%/g)	0.314	0.074	0.050
	血球への付着率(%/g)	0.007	0.005	0.005
	血漿中の ^{99m}Tc 存在率(%/g)	0.307	0.069	0.045
^{99m}Tc -PYP	血中の ^{99m}Tc 存在率(%/g)	0.405	0.358	0.280
	血球への付着率(%/g)	0.110	0.107	0.110
	血漿中の ^{99m}Tc 存在率(%/g)	0.295	0.251	0.170

表13に示すごとく, ^{99m}Tc -MDPの静注30分後では血球へ付着した ^{99m}Tc -化合物は投与した ^{99m}Tc -MDPを100%とした場合,血液1gあたりで0.013%/gであった.このことは血液にある ^{99m}Tc -化合物は大部分は血漿中にあることを示し,血球へ付着した ^{99m}Tc -化合物は血液にある ^{99m}Tc -化合物のわずか6.4%でしかなかった.静注1時間後,2時間後には血球付着率はやや減少し0.009%/gとなったが,血液中の ^{99m}Tc -化合物は経時的に速やかに減少しているため,血液で血球に付着した ^{99m}Tc -化合物の占める割合は経時的に増大した. ^{99m}Tc -EHDPの場合も同様に30分,1時間,2時間後で0.007%/g,0.005%/g,0.005%/gであり,血球への付着は非常に少なく,血液で血球に付着した ^{99m}Tc -化合物の占める割合は10%以下であった.しかし ^{99m}Tc -PYPは同様に30分,1時間,2時間後で0.110%/g,0.107%/g,0.110%/gであり,前2者より血球付着 ^{99m}Tc -化合物の量が多く,この値は血液中の ^{99m}Tc -化合物の30%前後であった.

2. 血漿中の ^{99m}Tc -化合物のHAP結晶および骨粉への付着
血漿中の ^{99m}Tc -化合物で骨粉およびHAP結晶へ付

着するものの割合を調べたものであるが,表14に示すごとく ^{99m}Tc -MDPは静注30分後の血漿でHAP結晶へ63.9%が付着し,1時間後および2時間後には各々40.8%,26.9%に減少した.骨粉でも同様の傾向であるが,付着率はやや小さかった. ^{99m}Tc -EHDPの場合は ^{99m}Tc -MDPの場合よりHAP結晶および骨粉付着率はやや大きかったが,全体として ^{99m}Tc -MDPに類似していた. ^{99m}Tc -PYPの場合は前2者に比較してHAP結晶および骨粉付着率が著しく小さかった.

3. HAP結晶処理後の血漿の分析

トリクロル酢酸法: HAP結晶処理後の血漿中で ^{99m}Tc -化合物がどの程度血漿タンパクへ結合しているかを調べたものであるが,表15に示すごとく, ^{99m}Tc -MDPは静注後30分~2時間にわたって75%前後がタンパクへ結合していた. ^{99m}Tc -EHDPでは静注30分後に50.2%であり,その後経時的に増加した. ^{99m}Tc -PYPは静注30分後に67.9%であり,経時的に増大し,2時間後には77.8%となった.このように ^{99m}Tc -リン酸系化合物は差はあるものの50~80%弱がタンパクへ結合しているようであったが,実際に ^{99m}Tc -化合物がタンパクへ結合しているか,トリクロル酢酸処理により一部分がタンパク沈殿物によって包み込まれ

表14 ^{99m}Tc-リン酸系化合物投与後の血漿中の放射能のHAP結晶または骨粉への付着率

投与後の時間 ^{99m} Tc-リン酸系化合物	H A P 結 晶			骨 粉		
	30 分	1 時間	2 時間	30 分	1 時間	2 時間
^{99m} Tc-MDP	63.9 %	40.8 %	26.9 %	59.1 %	35.1 %	20.7 %
^{99m} Tc-EHDP	74.2	62.5	42.3	66.8	54.8	36.7
^{99m} Tc-PYP	35.8	19.1	9.8	29.6	14.5	7.6

表15 H A P 結晶処理後の血漿中における^{99m}Tc-化合物のタンパク付着率

投与後の時間 ^{99m} Tc-リン酸系化合物	30 分	1 時間	2 時間
^{99m} Tc-MDP	74.1%	75.9%	77.1%
^{99m} Tc-EHDP	50.2	60.6	63.2
^{99m} Tc-PYP	67.9	75.5	77.8

たものを含むのかはこれだけでは明らかにならなかった。

ペーパークロマトグラフ法: 展開したペーパーのオートラジオグラムとアクチグラムを図2に示した。この図は^{99m}Tc-PYPの静注30分後のものであるが、大部分(77.3%)の放射能は血漿タンパクと同じ原点(矢印A)にとどまり、化学形不明の^{99m}Tc-化合物が21.5%(矢印B)にあった。多量に存在すると予想していた^{99m}TcO₄(矢印C)は痕跡程度認められるのみであった。^{99m}Tc-PYPの場合は^{99m}TcO₄および矢印Bの^{99m}Tc-化合物とともに静注1時間後にはさらに減少し、2時間後にはわずかに認められる程度まで減少した。^{99m}Tc-MDPおよび^{99m}Tc-EHDPの場合にも^{99m}TcO₄と矢印Bの^{99m}Tc-化合物がわずかに認められたが、^{99m}Tc-PYPの場合よりもさらに少なく、ほとんどの^{99m}Tcは血漿タンパクと同じ原点にとどまっていた。

V. ^{99m}Tc-リン酸系化合物の骨無機質成分への集積機序

1. ピロリン酸ナトリウム-³²Pおよび^{99m}Tc-PYPのHAP結晶ならびに骨粉への取り込み

表16に示すごとく、ピロリン酸ナトリウム-³²Pがcarrier freeの場合はHAP結晶および骨粉への取り込みは94%以上であり、非常によく取り込まれた。しかしcarrierが増加するほどこの取り込みは減少し、carrier量が50mgのときは取込率は3%前後であっ

た。また骨の無機質のモデルとして使用したHAP結晶と骨粉とはその取込率で非常によく類似していた。^{99m}Tc-PYPのHAP結晶および骨粉への取り込みもピロリン酸ナトリウム-³²Pとよく類似していた。

2. HAP結晶-³²P, 骨粉-³²P, HAP結晶-^{99m}Tc-PYPおよび骨粉-^{99m}Tc-PYPからピロリン酸ナトリウムによるリン酸イオン-³²Pならびに^{99m}Tc-PYPの遊離

リン酸イオン-³²Pの遊離は表17に示すごとく、生食水のみでピロリン酸ナトリウムを加えない場合でもHAP結晶、骨粉ともに約6%が遊離した。これは単なる溶解を意味するものであろう。ピロリン酸ナトリウム量が1.0mgでは30%前後が遊離され、ピロリン酸ナトリウムの量が多くなるほど遊離する割合も多くなり、50mgでは60%前後が遊離した。HAP結晶と骨粉はよく類似した関係を示した。HAP結晶-^{99m}Tc-PYP, 骨粉-^{99m}Tc-PYPからの^{99m}Tc-PYPの遊離もリン酸イオン-³²Pの遊離の場合に非常によく類似していた。

考 察

1. ^{99m}Tc-PYP注射液, ^{99m}Tc-EHDP注射液および^{99m}Tc-MDP注射液の放射化学的安定性

1) ペーパークロマトグラフ法

^{99m}Tc-PYP注射液は調製直後に96.3%であり、経時的に純度が悪化し、6時間後には90.9%となった。この時の不純物は^{99m}TcO₄であった。しかしながら、^{99m}Tc-EHDP注射液および^{99m}Tc-MDP注射液は調製直後から6時間後までほとんど不純物を認めなかった。このように^{99m}Tc-EHDP, ^{99m}Tc-MDPよりも^{99m}Tc-PYPが不安定であるのは図3から明らかのように^{99m}Tc-EHDP, ^{99m}Tc-MDPがP-C-Pの構造をもっているのに対し、^{99m}Tc-PYPはP-O-Pの構造であるために、リン酸基とリン酸基の結合が切れやすいことに原因があると思われる¹⁾。

2) HAP結晶付着法

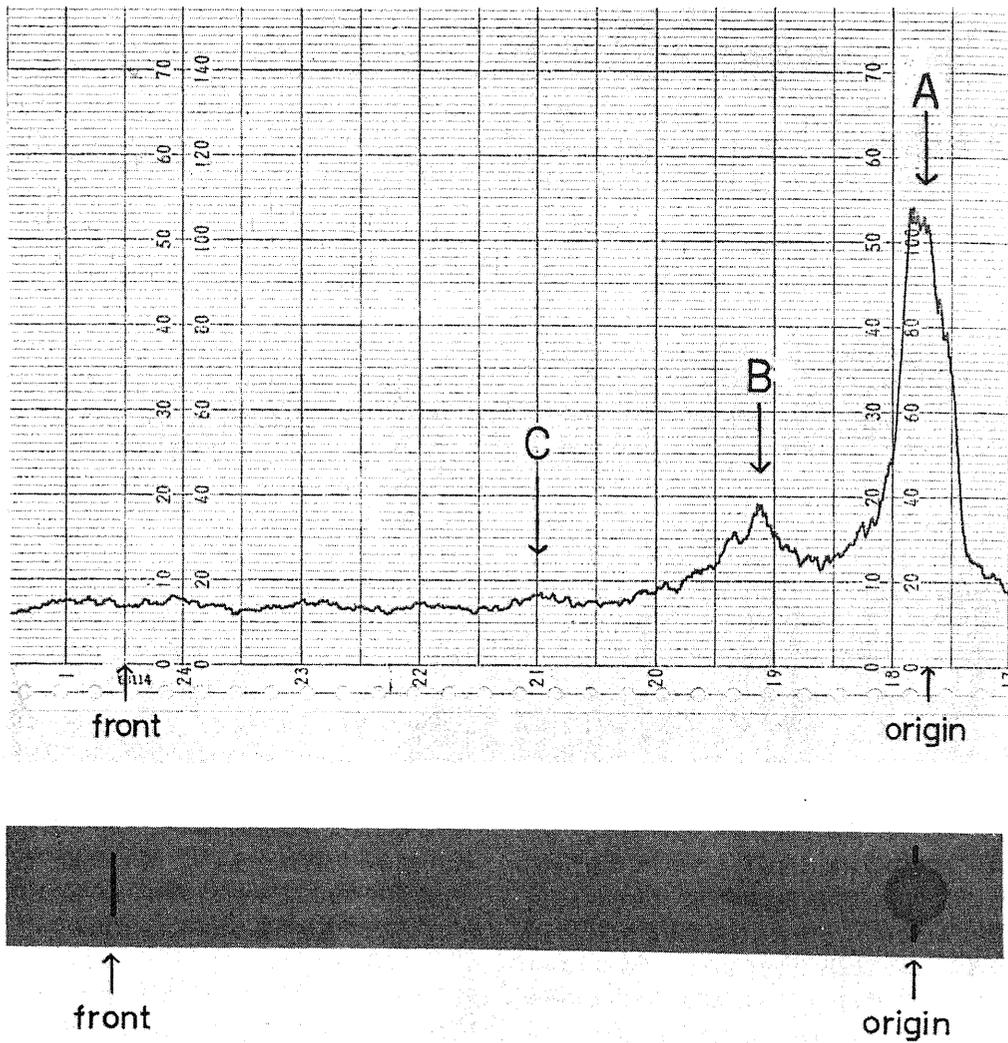


図2. HAP 結晶処理後の血漿のペーパークロマトグラムのアクチグラムとオートラジオグラム

表16 ピロリン酸ナトリウム-³²P および^{99m}Tc-PYPのHAP結晶ならびに骨粉への取り込み

		ピロリン酸ナトリウム量 (mg)										
		carrier free	0.1	0.25	0.50	1.0	2.5	5.0	10	20	50	
ピロリン酸 ナトリウム- ³² P	H A P 結晶	94.3%	94.0%	91.4%	69.1%	39.9%	18.6%	11.2%	6.8%	4.4%	3.3%	
	骨 粉	94.7	91.9	88.5	77.1	41.9	20.0	10.7	9.3	5.5	2.5	
^{99m} Tc-PYP	H A P 結晶	95.2	79.9	69.9	59.6	43.6	28.8	24.4	17.3	11.8	6.6	
	骨 粉	92.0	73.7	58.8	41.4	29.7	22.0	17.4	14.2	10.3	8.8	

表17 HAP結晶-³²P, 骨粉-³²P, HAP結晶-^{99m}Tc-PYPおよび骨粉-^{99m}Tc-PYP からピロリン酸ナトリウムによるリン酸イオン-³²Pならびに^{99m}Tc-PYPの遊離

ピロリン酸ナトリウム量 (mg)		0	1.0	2.5	5.0	10	20	50
		mg						
リン酸ナトリウム- ³² P	HAP結晶	6.2 %	34.2 %	42.0 %	52.0 %	57.1 %	62.8 %	63.8 %
	骨粉	6.1	29.4	38.4	45.4	46.5	51.0	57.7
^{99m} Tc-PYP	HAP結晶	7.6	34.0	42.0	48.2	54.1	61.1	64.2
	骨粉	2.1	29.3	36.7	44.5	50.8	57.3	60.2

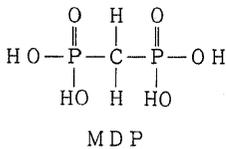
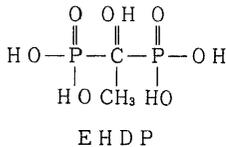
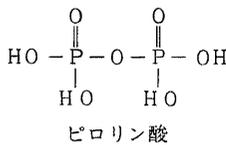


図3 ピロリン酸, EHDPおよびMDPの構造式

HAP結晶は骨の無機質のモデルとして使用されるように骨の無機質に類似しているが、^{99m}Tc-リン酸系化合物のこの結晶への付着率を利用して、純度検定を行った場合も上記のペーパークロマトグラフ法の場合とほとんど同じ値を示しており、^{99m}Tc-EHDP注射液と^{99m}Tc-MDP注射液は非常に安定であったが、

^{99m}Tc-PYP注射液はかなり不安定であることが、この方法でも確認された。まず生食水で50倍に希釈した場合は^{99m}Tc-PYP、^{99m}Tc-EHDPおよび^{99m}Tc-MDPともにやや安定性を欠いた。この原因は調製バイアル中のPYP, EHDP, MDPおよびSn⁴⁺の濃度が薄くなることによると思われるので、できるかぎり調製した注射液を希釈しない方がよいことがわかった。血清で50倍に希釈した場合は^{99m}Tc-EHDPはほとんど安定性を失わないが、^{99m}Tc-MDPはやや不安定となり、^{99m}Tc-PYPはさらに不安定となった。ピロリン酸は生体

内では pyrophosphatase により分解される⁵¹⁾といわれているので、血清中の pyrophosphatase により^{99m}Tc-PYPが分解されるためにこのように不安定になったのであろう。

2. ^{99m}Tc-PYP, ^{99m}Tc-EHDP および^{99m}Tc-MDPの生体内分布

Carrier量が0.01 mgの場合はこれら3種の^{99m}Tc-化合物は骨に非常に多く集積し、軟組織集積は少なかった。これら3者のうちでは^{99m}Tc-PYPが軟組織集積率が一番多かったが、^{99m}Tc-EHDPと^{99m}Tc-MDPは非常に少なく、かつ^{99m}Tc-MDPは静注後早い時間に急速に軟組織集積率が低下した。また表6に示すごとく、体内にある^{99m}Tc-化合物の大部分は骨に集積しており、軟組織中の^{99m}Tc-化合物は非常に少なく、骨に集積しなかったものの大部分は速やかに尿中へ排出していた(表5)。これらの事実はSubramanianら¹⁶⁾によるウサギを使用した実験とよく一致していた。

^{99m}Tc-PYP, ^{99m}Tc-EHDP および^{99m}Tc-MDPの臓器集積におよぼすcarrierの影響であるが、表7および表10に示すごとく、carrier量が増加すると軟組織集積率なかでも肝、脾集積率が増加の傾向を示した。3者中、^{99m}Tc-PYPが著しく、ついで^{99m}Tc-MDPが多かったが、^{99m}Tc-EHDPではその傾向は小さかった。このようにcarrierの増加による軟組織集積率の増加が明らかとなったので、人に投与する場合もこのことを十分注意すべきである。前記のごとく、ラット1匹あたり^{99m}Tc-リン酸系化合物量0.01 mg (carrier量)の場合はcarrierによる悪影響は認められなかった。この量は0.053 mg/kgとなり、単純に計算するならば体重60 kgの人の場合は3.2 mgまでcarrierの悪影響はないと考えられる。臨床に使用されている^{99m}Tc-PYPキットは1バイアル中にピロリン酸約20 mg、^{99m}Tc-MDP, ^{99m}Tc-EHDPキットは1バイアル中に約5 mgのMDPまたはEHDPを含んでおり、いずれの場合も1

バイアルを数人の患者に分けて投与しているので carrier の影響は現われていない。

3. ^{99m}Tc -PYP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -MDP の血液成分との結合性

^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -PYP を人血清と1分間インキュベートしたあとで, HAP 結晶への付着を調べたものでは ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP では 95~96% が HAP 結晶に付着し, 残りの 4~5% が血清タンパクへ結合したと考えられる。 ^{99m}Tc -PYP の場合は HAP 結晶に付着するものが 85% と少なく, 15% が血清タンパクへ結合していた。この傾向は Subramanian ら¹⁶⁾の報告と一致していた。 ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP の場合はプレインキュベートの時間を長くしても, 血清タンパクへの結合の割合はわずかに増加した程度であったが, ^{99m}Tc -PYP はその割合がやや大きかった。電気泳動法では, これら3種の ^{99m}Tc -リン酸系化合物と血清タンパクの結合はほとんど証明されなかった。またトリクロル酢酸法で調べた場合は ^{99m}Tc -PYP は 57%, ^{99m}Tc -MDP は 45%,

^{99m}Tc -EHDP は 22% が血清タンパクと同一行動をしており, 前記2つの分析法よりも多くの ^{99m}Tc -リン酸系化合物がタンパクと同一行動をしていた。この場合はタンパクに結合しているものの他に一部分は ^{99m}Tc -リン酸系化合物を包み込んでいるのかもしれない。この様に3種の分析法により差はあるが, ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP, ^{99m}Tc -PYP は in vitro で血清タンパクに強く結合せず, HAP 結晶により大部分が取り去られる程度の弱いものであることがわかった。このことは Saha ら⁴⁹⁾が ^{99m}Tc -PYP は in vivo で血清タンパクに結合したものが, やがてタンパクから離れて骨に集積すると述べているものと一致する。またこの3種の ^{99m}Tc -リン酸系化合物の中では ^{99m}Tc -PYP が最も血清タンパクに結合しやすいことが明らかとなった。

4. ^{99m}Tc -PYP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -MDP の血液中の動態

静注された ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -MDP は血液中ではほとんどが血漿中にあり, 血球へ付着している割合は非常に少なかった。血漿中の ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP は速やかに減少したが, 血球へ付着しているものはゆっくりと減少した。これに対し, ^{99m}Tc -PYP では血球へ付着しているものがかなり多く, 血球へ付着しているものはほとんど減少しなかった。このことが ^{99m}Tc -PYP が血液中に長くとどまる一因と考えられた。

つぎに血漿中の ^{99m}Tc -化合物のうち, 何パーセント

が骨粉および HAP 結晶へ付着できるものであるかを調べたものが表 14 である。この表に示すごとく, HAP 結晶と骨粉の結果は類似しており, これらへ付着する ^{99m}Tc -化合物の割合は経時的に減少した。すなわち時間が経過するほど骨に集積することのできない ^{99m}Tc -化合物の割合が増加していることを意味していた。 ^{99m}Tc -PYP の場合はこの骨に集積することのできない ^{99m}Tc -化合物の割合は非常に多かった。つぎに HAP 結晶で処理したあとの血漿をトリクロル酢酸法でタンパクへの付着を調べた結果は表 15 に示すごとく 50~78% がタンパクに付着しており, ペーパークロマトグラフ法でも大部分がタンパクと同じ位置に ^{99m}Tc を認め, $^{99m}\text{TcO}_2$ はほとんど認められなかった。このことは血漿中で骨に集積できない化学形の ^{99m}Tc -化合物の大部分は血漿中でタンパクと結合して存在していると考えられるが, ^{99m}Tc がどのような化合物を形作っているかは不明である。

5. ^{99m}Tc -リン酸系化合物の骨無機質成分への集積機序

^{99m}Tc -リン酸系化合物の骨集積は chemisorption (化学吸着) によると考えられている^{91,47)}が, その詳細は明らかとなっていない³⁾。著者は骨の無機質のリン酸基と ^{99m}Tc -リン酸系化合物のリン酸基の交換反応と考え, これを証明するために ^{32}P で標識したピロリン酸ナトリウムを使用して実験を行った。このさい骨粉ならびに HAP 結晶も同時に行ったが, 表 16 に示すごとくである。すなわち carrier free のピロリン酸ナトリウム- ^{32}P では約 94% が骨粉および HAP 結晶に付着し, carrier が多くなるほどこの値は小さくなった。このことはピロリン酸ナトリウム- ^{32}P が骨粉または HAP 結晶に取り込まれる際に, carrier が多くなるとピロリン酸ナトリウムのリン酸基が多くなるので, 骨粉または HAP 結晶へのピロリン酸ナトリウムの取込率が減少 (絶対量では増加している) することを意味している。この場合は取り込まれるピロリン酸ナトリウムを ^{32}P で標識して取り込み側から証明したものであるが, 次に取り込みにさいして, 骨粉または HAP 結晶からリン酸基が放出されることを証明したものが表 17 である。すなわちリン酸ナトリウム- ^{32}P で標識した骨粉または HAP 結晶にピロリン酸ナトリウムを作用させると, ピロリン酸ナトリウムの量が多いほど骨粉または HAP 結晶からリン酸イオン- ^{32}P が遊離放出されてきた。表 16 の結果と表 17 の結果を合せ考えると, 水中に溶けているピロリン酸ナトリウムのリン酸基が骨粉または HAP 結晶に取り込まれ, 逆に骨粉または HAP 結晶からリン酸基が水中に遊離放出されたこと

を示している。EHDP,MDP については実験しなかったが、これらもピロリン酸ナトリウムと同じ反応を示すものと推定される。前記の実験はピロリン酸ナトリウムの骨粉または HAP 結晶への取り込み実験であり、臨床的に骨スキャンに使用されている ^{99m}Tc -PYP による実験ではなかった。そこで ^{99m}Tc -PYP でも同様の反応が起っているかどうかを調べたものも表 16,17 に一緒に示した。これからわかるように ^{99m}Tc -PYP も ^{32}P で標識したのも非常によく類似しており、このことは ^{99m}Tc -PYP もピロリン酸ナトリウム ^{32}P と同様に骨粉または HAP 結晶へリン酸基の交換反応で取り込まれていることを意味していた。

結 論

1. ^{99m}Tc -MDP 注射液および ^{99m}Tc -EHDP 注射液は非常に安定であり、注射液調製後 6 時間経過してもほとんど遊離の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を認めなかったが、 ^{99m}Tc -PYP 注射液はやや不安定で注射液調製時に 4% 弱の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を含み、6 時間後にはその量は約 10% に増加することがわかった。

2. 血清中では ^{99m}Tc -EHDP が最も安定であり、 ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -PYP の順に安定性は悪くなった。

3. ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -PYP は正常ラットでの実験で、静注 30 分後に投与量の約 30% が骨に集積しており、2 時間後でも骨集積率はほとんど変化しなかった。軟組織集積率は非常に小さく、骨に集積しなかったものの大部分は尿中に排泄されていた。

4. ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -PYP のうちでは ^{99m}Tc -MDP と ^{99m}Tc -EHDP が軟組織集積率が小さく、ことに ^{99m}Tc -MDP は静注後早い時間に軟組織集積率が小さくなる特徴があった。しかし ^{99m}Tc -PYP は軟組織集積率が前 2 者よりはかなり大きかった。

5. ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -PYP には carrier 効果のあることが明らかとなり、ことに ^{99m}Tc -PYP と ^{99m}Tc -MDP において著しかった。この carrier 効果の主なもののは肝臓、脾臓への集積率の増加であった。

6. ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -PYP の in vitro での血清タンパクとの結合率は実験法により異なった値を示した。しかしタンパクとの結合力は弱く血清タンパクとインキュベート後に HAP 結晶を加えて振盪すると大部分の ^{99m}Tc -リン酸系化合物は HAP 結晶に付着した。この 3 種の ^{99m}Tc -リン酸系

化合物の中では ^{99m}Tc -PYP が最も多く血清タンパクに結合した。

7. 静注された ^{99m}Tc -MDP と ^{99m}Tc -EHDP は血液の中では大部分が血漿中にあり、血球に付着している割合は少なかったが、血球に付着したものは経時的に非常にゆっくりと減少した。これに対し、 ^{99m}Tc -PYP はかなり多く血球へ付着していた。血漿中の ^{99m}Tc -化合物中、HAP 結晶および骨粉に付着するものの割合は静注後の時間が経過するほど減少した。またこの HAP 結晶処理後の血漿中の ^{99m}Tc -化合物には遊離の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ はほとんど含まれず、大部分が血漿タンパクと結合していると考えられた。

8. ピロリン酸ナトリウム ^{32}P およびリン酸ナトリウム ^{32}P で標識した HAP 結晶 ^{32}P と骨粉 ^{32}P を使用して実験したところ、ピロリン酸ナトリウムの HAP 結晶および骨粉への取り込みはリン酸基の交換反応により取り込まれることが明らかとなった。 ^{99m}Tc -PYP の HAP 結晶および骨粉への取り込みもピロリン酸ナトリウムの HAP 結晶および骨粉への取り込みに非常に類似していたので、リン酸基の交換反応により取り込まれると考えられた。

以上より、骨スキャン剤としては ^{99m}Tc -MDP が最も優れていた。そして ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP および ^{99m}Tc -PYP の骨無機質への集積はこれら ^{99m}Tc -リン酸系化合物のリン酸基と骨無機質のリン酸基の交換反応によるものと考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師久田欣一教授に深甚の謝意を表すると共に、種々技術的援助を賜った金沢大学医療技術短期大学部安東醇教授、実験施設の便宜を与えられた神奈川歯科大学東与光教授に深く感謝致します。

文 献

- 1) 鈴木 豊 : 最新医学 (久田編), 第 6 版, 318-323 頁, 東京, 金原出版. 1975.
- 2) 倉田邦夫 : 核医学大系 2 放射性医薬品 (御園生・飯尾編), 第 1 版, 95-99 頁, 東京, 実業公報社. 1977.
- 3) 伊丹康人 : 核医学大系 9 臨床核医学 (御園生・飯尾編), 第 1 版, 16-23 頁, 東京, 実業公報社. 1977.
- 4) 鈴木一太 : 核医学応用の実際 (伊丹編), 第 1 版, 48-61 頁, 東京, 医学図書出版. 1973.
- 5) Subramanian, G. & McAfee, J. G. : A new complex of ^{99m}Tc for skeletal imaging. *Radiology*, **99**, 192-196 (1971).
- 6) Subramanian, G., McAfee, J. G., Bell, E. G., Blair, R. J., O'Mara, R. E. & Ralston, P. H. : ^{99m}Tc

- Tc-labeled polyphosphate as a skeletal imaging agent. *Radiology*, **102**, 701-704 (1972).
- 7) **Perez, R., Cohen, Y., Henry, R. & Panneciery, C.** : A new radiopharmaceutical for ^{99m}Tc bone scanning (Abstract). *J. Nucl. Med.*, **13**, 788-789 (1972).
- 8) **Hosain, P.** : Technetium-99m labeled pyrophosphate: A simple and reproducible bone scanning agent. *Br. J. Radiol.*, **46**, 724-728 (1973).
- 9) **Citrin, D. L.** : The radiopharmacology of bone scanning agent. Proceeding of the First World Congress of Nuclear Medicine, 201-205 (1974).
- 10) 市川恒次・伊藤安彦・村中 明・横林常夫・内田昌宏・木村修治・今城吉成 : ^{99m}Tc -monofluorophosphate の骨集積 : ^{99m}Tc -pyrophosphate, ^{99m}Tc -diphosphate との比較を中心にした基礎的検討. *核医学*, **13**, 129-136 (1976).
- 11) **Subramanian, G., McAfee, J. G., Blair, R. J., Mether, A. & Connor, T.** : Tc-99m-EHDP : A potential radiopharmaceutical for skeletal imaging. *J. Nucl. Med.*, **13**, 947-950 (1972).
- 12) **Tofe, A. J. & Francis, M. D.** : Optimization of the ratio of stannous tin : Ethane-1, hydroxy-1, 1-diphosphonate for bone scanning with ^{99m}Tc -pertechnetate. *J. Nucl. Med.*, **15**, 69-74 (1974).
- 13) **Yano, Y., Mcrae, J., VanDyke, D. C. & Anger, H. O.** : ^{99m}Tc -labeled stannous ethane-1, hydroxy-1, 1-diphosphonate : A new bone scanning agent. *J. Nucl. Med.*, **14**, 73-78 (1973).
- 14) **Castronovo, F. P. & Callahan, R. J.** : New bone scanning agent ^{99m}Tc -labeled 1-hydroxy, 1-ethane disodium phosphonate. *J. Nucl. Med.*, **13**, 823-827 (1972).
- 15) **Subramanian, G., Blair, R. J., Kallfelz, E. A., Thomas, F. D. & McAfee, J. G.** : Tc-99m MDP (methylene diphosphonate) : A superior agent for skeletal imaging (Abstract). *J. Nucl. Med.*, **14**, 640 (1973).
- 16) **Subramanian, G., McAfee, J. G., Blair, R. J., Kallfelz, F. A. & Thomas, F. D.** : Technetium-99m-methylene diphosphonate : A superior agent for skeletal imaging : Comparison with other technetium complexes. *J. Nucl. Med.*, **16**, 744-755 (1975).
- 17) **Charke, N. D., Valentine, G. & Gravit, B.** : Interpretation of the normal ^{99m}Tc polyphosphate rectilinear bone scan. *Radiology*, **107**, 563-567 (1973).
- 18) **O'Mara, R. E. & Subramanian, G.** : Experimental agents for skeletal imaging. *Semin. Nucl. Med.*, **2**, 38-49 (1972).
- 19) **Pendergrass, H. P., Potsaid, M. S. & Castronovo, F. P.** : The clinical use of ^{99m}Tc -diphosphonate (HEDSPA). *Radiology*, **107**, 557-562 (1973).
- 20) **Rosenfeld, N. & Treves, S.** : Osseous and extraosseous uptake of fluorine-18 and technetium-99m polyphosphate in children with neuroblastoma. *Radiology*, **111**, 127-133 (1974).
- 21) **Thrall, J. H., Ghead, N., Geslien, G. E., Pinsky, S. M. & Johnson, M. C.** : Pitfalls in ^{99m}Tc polyphosphate skeletal imaging. *Amer. J. Roentgenol.*, **121**, 735-747 (1974).
- 22) **Rosenthal, L. & Kaye, M.** : Technetium- ^{99m}Tc -pyrophosphate kinetics and imaging in metabolic bone disease. *J. Nucl. Med.*, **16**, 33-39 (1975).
- 23) **Danigellis, J. A., Fisher, R. H., Ozonoff, M. B. & Sziklas, J. J.** : ^{99m}Tc -polyphosphate bone imaging in leggperthes disease. *Radiology*, **115**, 407-413 (1975).
- 24) **Bekerman, C., Gennant, H. K., Hoffer, P. B., Kozin, F. & Ginsberg, M.** : Radionuclide imaging of the bone and joints of the hand. *Radiology*, **118**, 653-659 (1975).
- 25) **Sickles, E. A. & Gennant, H. K.** : Increased localization of ^{99m}Tc -pyrophosphate in a bone island : Case report. *J. Nucl. Med.*, **17**, 113-115 (1976).
- 26) **Martin, N. L. & Preston, D. F.** : Osteoblastomas of the axial skeleton shown by skeletal scanning : Case report. *J. Nucl. Med.*, **17**, 187-189 (1976).
- 27) 鈴木 豊・久田欣一・安東醇 : ^{99m}Tc ピロリン酸による骨スキャン. *Medical Postgraduates*, **11**, 537-543 (1973).
- 28) 浜本研・藤田透・高坂唯子・山本逸雄・坂本力・森田陸司・森 徹・鳥塚莞爾 : ^{99m}Tc 標識ピロリン酸による骨シンチグラフィの臨床的検討. *核医学*, **11**, 637-645 (1974).

- 29) 杉浦 勲・佐々木常雄・金子昌生・渡辺道子 : 骨シンチグラムの臨床的検討. 核医学, 12, 57-66 (1975).
- 30) 小山田日吉丸・折井弘武・田部井敏夫・石橋弘義 : ^{99m}Tc - 燐酸化合物による全身骨シンチグラム : 数種の ^{99m}Tc - 燐酸化合物についての臨床的見地からの比較と問題点および転移性骨腫瘍の検出について. 核医学, 12, 273-288 (1975).
- 31) 李敬一・渡辺定雄・竹川鉦一・高橋元一郎・佐藤敏彦・早川和雄・松川昌勝 : ^{99m}Tc -EHDPによる骨シンチグラフィで陽性像を呈した hyperretrophic pulmonary osteoarthropathy の2例. 核医学, 13, 831-834 (1976).
- 32) 中野俊一・長谷川義尚・小松原良雄・梶田明義・石上重行 : ^{99m}Tc -EHDPと全身カメラによる転移性骨腫瘍の骨スキャンニング. 核医学, 14, 233-241 (1977).
- 33) 利波紀久・上野恭一・杉原政美・道岸隆敏・油野民雄・久田欣一 : 肺癌, 乳癌, 前立腺癌患者の ^{99m}Tc -diphosphonate 骨シンチグラフィの検討. 核医学, 14, 493-500 (1977).
- 34) 利波紀久・瀬戸光・上野恭一・窪田昭男・久田欣一・安東醇 : 骨シンチグラフィ用 ^{99m}Tc methylene diphosphonate kit の基礎的臨床的検討. 核医学, 14, 911-921 (1977).
- 35) 川口新一郎・千葉一夫・飯尾正宏・村田啓・山田英夫・松井謙吾・大石幸彦・木戸晃・与那嶺茂道・八谷正行・餘利野八郎 : ^{99m}Tc -MDPによる micro dot imager 全身骨スキャンの臨床的有用性の検討. 核医学, 15, 231-237 (1978).
- 36) 土光茂治・森田陸司・山本逸雄・福永仁夫・藤田透・佐治英郎・鳥塚莞爾 : 骨シンチグラフィ用剤 ^{99m}Tc -methylene diphosphonate (^{99m}Tc -MDP) の基礎的, 臨床的検討. 核医学, 15, 261-266 (1978).
- 37) 戸張千年・福岡良樹・金海洋雄・村井昌允・安島正敏・黒沢洋 : 骨スキャンの ^{99m}Tc -MDP (methylene diphosphonate) の検討. 核医学, 15, 267-274 (1978).
- 38) 小泉潔・利波紀久・久田欣一 : 多発性骨髄腫10例における ^{99m}Tc -diphosphonate による骨スキャン所見の検討. 核医学, 15, 553-559 (1978).
- 39) 奥山武雄・鈴木均・渋谷均・鈴木宗治・川口智義・網野勝久 : 骨隣接軟部腫瘍における骨シンチグラフィ (^{99m}Tc -diphosphonate) 所見の観察. 核医学, 15, 569-576 (1978).
- 40) 中野俊一・長谷川義尚・塩村和夫・井深啓次郎 : ^{99m}Tc MDPによる骨スキャンニング : ^{99m}Tc EHDPとの比較. 核医学, 15, 587-590 (1978).
- 41) 角文明・中島哲夫・砂倉瑞良・佐々木康夫・永井輝夫 : ^{99m}Tc -methylene diphosphonateによる骨スキャンの臨床的有用性の検討. 核医学, 16, 95-103 (1979).
- 42) Tilden, R. L., Jackson, J. Jr., Enneking, W. F., DeLand, F. H. & McVey, J. T. : ^{99m}Tc -polyphosphate : Histological localization in human femurs by autoradiography. J. Nucl. Med., 14, 576-578 (1973).
- 43) Schmitt, H. G., Holmes, R. A., Isitman, A. H., Hensleg, G. T. & Lewis, D. J. : A proposed mechanism for ^{99m}Tc -labeled polyphosphate and diphosphonate uptake by human breast tissue. Radiology, 112, 733-735 (1974).
- 44) Zimmer, A. M., Isitman, A. T. & Holmes, R. A. : Enzymatic inhibition of diphosphonate : A proposed mechanism of tissue uptake. J. Nucl. Med., 16, 352-356 (1975).
- 45) Rohlin, M., Larsson, A. & Hammarstrom, L. : In vitro interaction between ^{99m}Tc -labeled pyrophosphate, ^{32}p -labeled pyrophosphate and rat tissues. Eur. J. Nucl. Med., 3, 249-255 (1978).
- 46) Saha, G. B. & Boyd, C. M. : Plasma protein binding of ^{99m}Tc -pyrophosphate. Int. J. Nucl. Med. & Biol., 5, 236-239 (1978).
- 47) Francis, M. D., Russell, R. G. & Fleish, H. : Diphosphonate inhibit formation of calcium phosphate crystals in vitro and pathological calcification in vivo. Science, 165, 1264-1266 (1969).
- 48) 東与光・青山亘・中山義之・久田太郎・馬場茂雄・川井邦男・三木太平・戸村健児 : 悪性腫瘍のRI診断 : Ga-67を中心に(安河内編), 第1版, 11-18頁, 東京, 医学図書出版, 1973.
- 49) 安東醇・久田欣一 : ガリウム-67のがん親和性について. Radioisotopes, 19, 239-246 (1970).
- 50) 奥木実 : 実験動物, 第1版, 273頁, 東京, 南山堂, 1968.
- 51) Russell, R. G. G., Bisaz, S. & Fleisch, H. : Pyrophosphate and diphosphonates in calcium metabolism and their possible role in renal failure. Arch. Intern. Med., 124, 571-577 (1969).

Study on In-Vivo Distribution of Bone Scanning Agent, ^{99m}Tc -Labeled Phosphate Compounds and a Mechanism of Their Bone Accumulation—Tetsuo Takeuchi, Department of Nuclear Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan. *J. Juzen Med. Soc.*, 88, 849—866 (1979).

Abstract Recently for the bone scanning have been developed the phosphate compounds labeled with ^{99m}Tc , radionuclide having physical characteristics suitable for scanning. Among the compounds, ^{99m}Tc -pyrophosphate (for short PYP), ^{99m}Tc -ethylene hydroxy diphosphonate (EHDP) and ^{99m}Tc -methylene diphosphonate (MDP) have spread in clinical use resulting in an excellent outcome. It has been already known that the in-vivo distribution of these phosphate compounds varies subtly with species and the mechanism of bone accumulation has not been fully understood. The present study was undertaken to determine the in-vivo distribution of ^{99m}Tc -PYP, ^{99m}Tc -EHDP and ^{99m}Tc -MDP and to explain the mechanism of their bone accumulation.

In radiochemical stability test performed prior to animal experiment, ^{99m}Tc -PYP preparation proved to be slightly unstable but the remaining two were very stable. Even by adding serum to the preparations, ^{99m}Tc -EHDP was most stable followed by ^{99m}Tc -MDP and ^{99m}Tc -PYP.

In the experiment using normal rats, about 30% of the administered dose of ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP and ^{99m}Tc -PYP has been found in the bone 30 minutes after the i.v. injection and even two hours later the accumulation in the bone remained almost constant. The accumulation in the soft tissue was extremely small and the majority of the fraction not accumulated to the bone were excreted into the urine. Among three preparations, ^{99m}Tc -MDP and ^{99m}Tc -EHDP showed low accumulation in the soft tissue and especially ^{99m}Tc -MDP disappeared from the soft tissue in a short time after i.v. injection. On the other hand, the soft tissue accumulation of ^{99m}Tc -PYP was much greater than those of the other two. A carrier effect was noted in the ^{99m}Tc -phosphate compounds, especially remarkable in ^{99m}Tc -PYP and ^{99m}Tc -MDP. The carrier effect was characterized by the increase in hepatic and splenic uptake of the preparations. In the peripheral blood, i.v. injected ^{99m}Tc -MDP and ^{99m}Tc -EHDP remained for the most part in the plasma fraction and were far less attached to corpuscles while ^{99m}Tc -PYP was attached to corpuscles in a considerable amount and tended not to be released from the corpuscles.

From the above-mentioned results, ^{99m}Tc -MDP is considered the best bone scanning agent.

With the experiments using ^{32}P -labeled bone powder, hydroxyapatite crystal and pyrophosphate, it became clear that bone accumulation of ^{99m}Tc -PYP was based on the exchange reaction of its phosphoric acid radical with that of bone mineral. And this mechanism would hold good in the case of ^{99m}Tc -MDP and ^{99m}Tc -EHDP.