

99-213 亀井 幸江

(指導教官：川井 恵一教授)

要旨：本研究では甲状腺機能診断薬に着目し、放射性ヨウ素の集積率向上を目的とした。放射性ヨウ素は *iodide pump* による輸送、有機化などの機序で甲状腺に集積することから、まず、同様に *iodide pump* によって甲状腺に集積する $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の集積率向上を試みた。安全性が高い臨床薬を、置換薬として $^{99m}\text{TcO}_4^-$ とともにヒト及びマウス血清に加え、限外濾過法により遊離率を求めた。その結果、ヒト及びマウス血清いずれにおいても *bucolome* が特に高い置換作用を示した。そこで *bucolome* 負荷マウスで体内分布実験を行った結果、無処置マウスに比べ血清で置換作用が見られ、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の甲状腺への集積率が向上した。次に、血中遊離率上昇によって $^{99m}\text{TcO}_4^-$ で認められた甲状腺への集積率向上が、同じ機序で甲状腺に集積する ^{123}I でも可能であると考え、その競合置換作用として腎排泄阻害の応用を試みた。その結果、*probenecid* 負荷によって、 ^{123}I においても甲状腺への集積向上が認められた。以上より、血清蛋白結合置換・排泄阻害などの競合置換によって、血中遊離率を上昇させることで、甲状腺機能診断薬の集積率を向上させ得ることが示された。

I. はじめに

本研究では、甲状腺機能診断薬である ^{123}I 、 ^{131}I などの放射性ヨウ素の集積率向上を目的とした。放射性ヨウ素は、*iodide pump* による輸送、ホルモン合成による有機化などいくつかの機序で甲状腺に集積する¹⁾。そこで、周期律が同じ7族に属するためにヨウ素と性質が類似しており、*iodide pump* によって甲状腺に集積することが知られている¹⁾ $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の集積率向上を試みた。

体内に投与された $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の一部は、血清蛋白の特異的部位に結合して血中に留まっているため、甲状腺への移行が妨げられている。医薬品と競合して血清蛋白の特異的部位に結合し置換する作用をもつ薬剤(置換薬)を併用し、医薬品の血中遊離率を高めることによって、目的臓器への集積率向上が期待される^{2,3)}。まず、この血清蛋白結合置換によって血中遊離率を上昇させることにより、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の甲状腺集積率向上を試みた。

その結果、集積率向上が認められたことから、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ と同じ機序で集積する放射性ヨウ素においても、血中遊離率上昇によって甲状腺集積率を向上させ得ると考えた。本研究室の検討によって、放射性ヨウ素の血清蛋白結合率は低いことが確かめられていることより、腎排泄阻害による甲状腺集積の向上を試みた。

II. *In vitro* 血清における $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 置換薬の探索

A) 実験材料と方法

置換薬は、薬効が少なく安全性が高い臨床薬のうち、血清アルブミン site I に結合する *bucolome* (BCL, Grelan Pharmaceutical) 及び *cefazolin* (CFZ, Fujisawa Pharmaceutical)、血清アルブミン site II に結合する *N-acetyl-L-tryptophan* (NAT, Nacalai Tesque) の3種類を用いた。

(a) ヒト血清における $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 置換薬の探索

ヒト血清(Cosmo Bio:Lot 13809)を 1/15M リン酸緩衝液(pH7.4)を用いて、アルブミン濃度の分析値より、アルブミン濃度 500 μM に希釈した。 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生理食塩溶液 20 μl と置換薬 20 μl

(最終濃度 400 μ M)をヒト血清 500 μ lに加えて混和し、そこから 20 μ lを[S]として分取した。残りの溶液から 450 μ lを限外濾過器(Tosoh : Ultracent-10)に入れ、遠心分離機(Tomy : RLX-135)を用いて 3000rpm で 10 分間遠心分離した。この濾液から[F]として 20 μ lを分取した。[S]と[F]の放射能をオートウェル γ カウンタ(Aloka : ARC-380)で計測し、血中遊離率を次式から算出した。

$$\text{血中遊離率} [\%] = \{[F]/[S]\} \times 100$$

(b)マウス血清における^{99m}TcO₄⁻置換薬の探索

マウスから採血した血液を採血管(Sekisui Medical : SI-0402S)に入れて遠心分離し、マウス血清を得た。^{99m}TcO₄⁻の生理食塩溶液 10 μ lと置換薬 10 μ l (最終濃度 400 μ M)をマウス血清 250 μ lに加えて混和し、そこから 20 μ lを[S]として分取した。残りの溶液から 200 μ lを限外濾過器(Tosoh : Minicent-10)に入れ、遠心分離した。得られた濾液から 20 μ lを[F]として分取し、[S]と[F]の放射能をオートウェル γ カウンタで計測した。血中遊離率は前述の式から算出した。

B) 結果と考察

Fig.1 は、各置換薬負荷時の control に対する遊離率の増減を示したグラフである。Control は置換薬の代わりに生理食塩水を負荷したものである。In vitro では、ヒト血清及びマウス血清いずれにおいても、他の置換薬に比べて BCL 負荷の遊離率の増加が大きく、高い置換作用を示した。

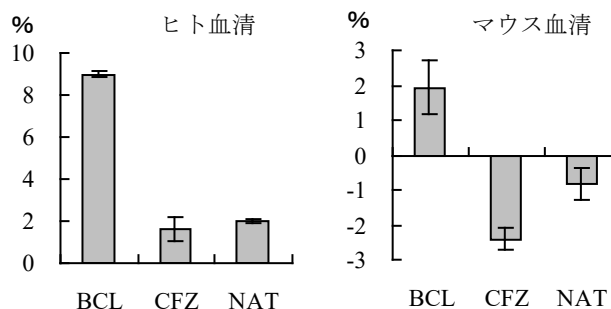


Fig.1 各置換薬負荷時の control に対する血中遊離率の増減

III. BCL を置換薬としたマウス体内分布

A) 実験材料と方法

BCL 100 μ l (20mg/kg body weight)をマウス(Std : ddY 雄 6 週齢 体重約 30 g)に尾静脈注射した。2 分後、^{99m}TcO₄⁻の生理食塩溶液 100 μ l (159kBq)を尾静脈注射した。一定時間(2、10、30、60、120 分)後、エーテル麻酔下に心臓採血した。集積率算出用としてヘパリン処理済み注射器で 200 μ l 採血し、血中遊離率算出用として 700 μ l 程度をヘパリン未処理注射器を用いて採血した。その後、臓器を摘出し、湿重量を秤量した。オートウェル γ カウンタで血液(集積率算出用)及び臓器の放射能を計測し、組織集積率及び重量集積率を次式により算出した。

$$\text{組織集積率} [\%ID/organ] = \text{組織放射能} [cpm] / \text{投与放射能} [cpm]$$

$$\text{重量集積率} [\%ID/g] = \text{組織集積率} [\%ID/organ] / \text{組織重量} [g]$$

また、血中遊離率算出用に採血した血液を採血管に入れ、遠心分離して in vivo マウス血清を得た。その後、II. A) (b)と同様に、限外濾過法により血中遊離率を算出した。

B) 結果と考察

In vivo マウス血清における control と BCL 負荷の血中遊離率のグラフを Fig.2 に示す。Control は BCL を負荷していないものである。投与後 60 分までは、BCL 負荷の方が control より血中遊離率が高くなっていた。In vitro で確認された BCL の^{99m}TcO₄⁻に対する置換作用は、in vivo においても認められることが判明した。

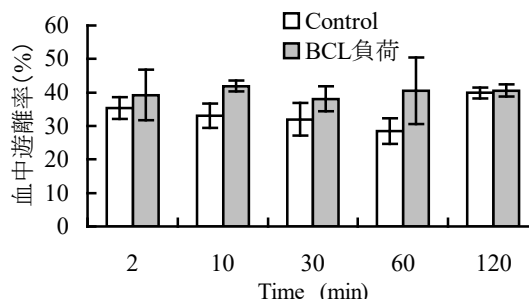


Fig.2 in vivo マウス血清における血中遊離率

Fig.3 に、体内分布実験における甲状腺の組織集積率のグラフを示す。甲状腺は、甲状腺のみの摘出が難しいため、組織集積率で評価した。投与後 30 分までの時間において、control に比べ BCL 負荷時の集積率が向上しており、投与後 30 分の集積率が特に高くなっていた。また、control と比較すると、BCL 負荷時の集積は早い時間にシフトした。 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ は甲状腺とともに胃粘膜にも集積するため、胃についても検討した。Fig.4 には、胃の組織集積率のグラフを示す。胃は内容物の影響が大きいので組織集積率で評価した。BCL 負荷では、control に比べて集積のピークが早い時間にシフトし、全体的に集積が低下していた。

このように血中遊離率の上昇により、甲状腺・胃の両方で集積が早まったのは、甲状腺と胃が特異的な輸送系を持つためであると考えられ、一方、甲状腺の集積が向上し、胃の集積が低下したのは、甲状腺の iodide pump の方が胃の輸送系より特異性が高いためであると推測される。

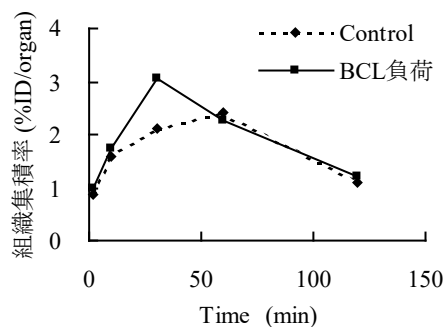


Fig.3 甲状腺の組織集積率

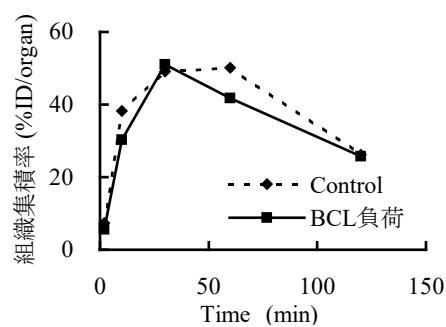


Fig.4 胃の組織集積率

甲状腺の集積率が特に高かった投与後 30 分における他臓器の重量集積率のグラフを Fig.5 に示す。多くの臓器で BCL 負荷時には集積率が若干低下していた。甲状腺への集積が増加した結果、その他の臓器への集積が低下したと考えられる。

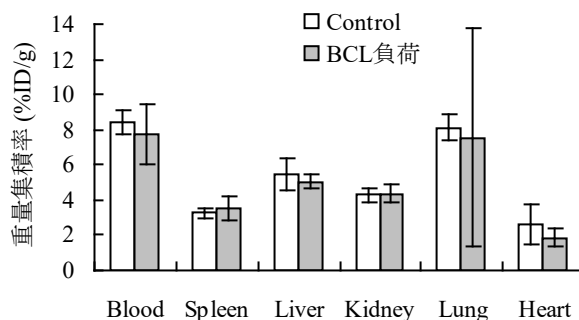


Fig.5 投与後 30 分における他臓器の重量集積率

以上より、BCL の併用によって $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の血中遊離濃度が上昇し、その結果、甲状腺への集積が向上するとともに、クリアランスも促進された。よって、BCL は $^{99m}\text{TcO}_4^-$ に対する臨床応用可能な置換薬として有用であることが判明した。また、競合置換作用によって血中遊離濃度を上昇させることにより、iodide pump による甲状腺への取り込みが増加し、甲状腺集積率が向上する可能性が示唆された。

IV. 放射性ヨウ素への応用

II・III. の検討より、血中遊離濃度を上昇させれば、同じ機序で甲状腺に集積する放射性ヨウ素の甲状腺集積も向上させることができると考えられた。既に我々の検討により、放射性ヨウ素は血清蛋白結合率が低いことが確認されている。そこで、放射性ヨウ素に関しては、その排泄を競合置換作用で阻害し、血中遊離濃度を上昇させることにより、甲状腺集積の向上を試みた。

A) 実験材料と方法

ヨウ素の腎排泄機構を organic anion transporter (OAT) によるものと仮定し、臨床薬として用いられている probenecid (Sigma) を OAT 阻害剤として選択した。臨床応用における経口投与を想定し、probenecid を連続静注し、その効果をラットシンチグラフィで検討した。非放射性ヨウ素の摂取制限のために 24 時間ラットを絶食させた。ラットは固定器に固定し、無麻酔で使用した。まず、control

として ^{123}I 370kBq (日本メジフィジックス)を尾静脈より投与した。投与後、0-60 分までの積算画像(1min/frame)と 3 時間後、24 時間後の画像をガンマカメラ(Picker Prism 3000)を用いて撮像した。体内 ^{123}I の減衰を待って、同一個体に probenecid (100mg/kg/day)を大腿静脈から syringe pump (Razel Scientific Instruments:A-99)を使って、撮像開始 1 時間前から 24 時間後まで連続静注した。その後、同様の操作によって撮像を行い、得られた結果を比較した。

B) 結果と考察

Fig.6 は、probenecid 負荷の効果を検討したラットシンチグラフィにおける ^{123}I 投与後 0-60 分の積算画像である。Probenecid 負荷時には control と比較して、甲状腺の集積が著しく向上した。

Table.1 には、甲状腺と胃における Probenecid / Control 集積比を示す。Probenecid 負荷によって、すべての時間で甲状腺への集積が向上し、3 時間後では集積比が control の約 2 倍と顕著であった。胃への集積は control と同程度であるか、低下していた。これは、マウス体内分布実験と同様、胃より甲状腺の方が輸送系の特異性が高いためであると考えられた。

以上より、probenecid は ^{123}I の甲状腺集積を向上させる薬剤として有用であると考えられる。その機序は明確ではないものの、甲状腺への集積が向上したことから、競合置換作用による放射性ヨウ素の甲状腺集積率向上の可能性が明らかとなった。

V. 結語

血清蛋白結合置換・排泄阻害などの競合置換作用によって、甲状腺機能診断薬の集積を向上させ得ることが示された。さらに、他の放射性医薬品でも、分布容積の大きい部位での競合置換を行うことによって、目的臓器への集積率向上が期待できると考えられる。

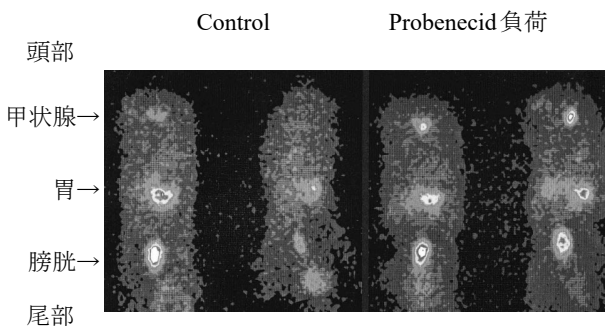


Fig.6 ラット ^{123}I 甲状腺シンチグラフィにおける probenecid の効果

	甲状腺		胃	
	Rat-1	Rat-2	Rat-1	Rat-2
0-60min	1.36	1.30	0.95	1.28
3hr	1.82	2.27	0.86	0.70
24hr	1.34	1.79	0.65	0.20

Table.1 Probenecid/Control 集積比

謝辞

今回の実験を行うにあたって、御指導下さいました川井恵一教授、御協力いただいた本研究室の方々、 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ を提供していただいた金沢大学医学部付属病院放射線部に心より感謝いたします。

VI. 参考文献

1)Mrinal K. Dewanjee

Radioiodination: Theory, Practice, and Biomedical Application:Kluwer Academic Publishers.,pp239-243,1992

2)Kawai K., Nishii R., Takamura N., Jinnouchi S., Nagamachi S. and Tamura S.

Competitive displacement of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG₃ serum protein binding in *in-vitro* and *in-vivo*.

J. Labelled Compd. Radiopharm., 42: S584-586, 1999.

3)Kawai K., Takamura H., Nishii R., Jinnouchi S., Nagamachi S., Tamura S., Arimori K. and Otagiri M.

Competitive displacement of serum protein binding to regulate pharmacokinetics.

In Proceedings of International Symposium on Serum Albumin and α_1 -Acid Glycoprotein from Basic Sciences to Clinical Applications: Eds. Otagiri M., Sugiyama Y., Testa B., Tillement J.P., pp181-192, 2001.