

Title	67Ga-citrateの腫瘍集積に関する臨床的基礎的研究
Author(s)	藤野, 久武
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1976, 36(9), p. 826-834
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18560
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

^{67}Ga -citrate の腫瘍集積に関する臨床的基礎的研究

天理病院放射線科

藤野 久武

(昭和50年6月19日受付)

(昭和51年4月30日最終原稿受付)

Clinical and Biochemical Studies on the Mechanism of Gallium-67 Citrate Accumulation in Tumor Tissues

Hisatake Fujino

Department of Radiology, Tenri Hospital

Research Field Code: 401

Key Words: Tumor diagnosis, ^{67}Ga binding protein

A clinical series of ^{67}Ga scintigraphy, taken at Kobe University Hospital and Tenri Hospital from 1970 to 1974, were investigated statistically and histologically.

Positive imaging of the lesion was obtained in 87% of 196 cases of primary lung cancer; 94%, 83%, and 82% were positive in squamous cell carcinoma, undifferentiated carcinoma, and adenocarcinoma. In a comparative study on inflammatory lesions, positive imaging was also obtained frequently during the active state such as pneumonia or lung abscess, but no evidence of positive image was noted in inactive state.

Since cyclic AMP is reported to play a role as a potent growth regulator, effect of cyclic AMP as well as theophylline on ^{67}Ga citrate binding in vitro was examined using a Millipore filter. Although cyclic AMP released ^{67}Ga citrate bound to cytosols of a rat liver, theophylline stimulated ^{67}Ga citrate binding. In order to prove the working hypothesis that cyclic AMP phosphodiesterase might bind ^{67}Ga citrate, this enzyme was purified to a specific activity of 2330 mU/mg by an elaborated method such as ammonium sulfate treatment (30—50%) and stepwise Hydroxyapatite fractionation. The specific radioactivity of ^{67}Ga citrate bound to this enzyme preparation (500 mM potassium phosphate buffer, pH 7.5) was 70-fold more than transferrin and 240-fold more than cyclic AMP-binding protein purified as 50 mM potassium phosphate buffer, pH 7.5 eluted through Hydroxyapatite.

It was also confirmed that the purified lysosome from the more rapidly growing hepatoma (7316A) showed a two-fold higher radioactivity than the slower growing hepatoma (7794A) using an in vitro ^{67}Ga citrate binding method.

緒言

アイソトープによる腫瘍診断には2つの方法がある。1つは正常臓器に親和性のあるRI (ラジ

オアイソトープ) 標識化合物を用いて、腫瘍を欠損像として検出する方法、他の1つは悪性腫瘍に選択的に集まる癌親和性物質にRIを標識して、

これを検出する方法である。

⁶⁷Ga-citrate は後者に属するR Iである。久田らは癌親和性物質として、1) 無機物質、2) Radiosensitizer 3) 蛋白質、4) 抗癌剤等の分類を行なっている¹⁾。1942年、抗癌剤ポルフィリンの腫瘍親和性がAuler, Figge ら²⁾によつて報告された。以後種々の物質について癌親和性が検討されてきた。放射性 Gallium の医学利用についての歴史は、1949年、これが骨に集まるというDudley, Maddox らの報告³⁾に始まる。1953年、Bruner, Hayes らは、ラットで ⁶⁷Ga-citrate の代謝研究をした。同年Andrews らにより⁷²Ga-citrate の臨床診断、治療への試みがなされたが効果なく終つた。1961年、Schmidt により ¹³¹I 標識フィブリノーゲンの腫瘍親和性について報告がなされ⁴⁾、1964年に、Bale, Spar らにより ¹³¹I-Antifibrinogen の臨床応用が脳腫瘍患者について行なわれた。1965年、Hayes らによつて再び ⁶⁸Ga-citrate の骨シンチグラフィが行なわれたが⁵⁾、⁸⁵Sr, ¹⁸F, ^{87m}Sr 等の登場で一時 Gallium に関する報告が途絶えた。1969年、Edwards, Hayes らにより ⁶⁷Ga-citrate が Hodgkin 病患者の頸部リンパ節腫瘍にも集まることが報告された⁶⁾。その後、¹⁶⁹Yb-citrate⁷⁾、⁵⁷Co-bleomycin⁸⁾、^{99m}Tc-bleomycin⁹⁾ 等の腫瘍集積に就ても諸家により報告がみられたが、これら核種の中で ⁶⁷Ga-citrate の集積度は最も腫瘍広範性があり、且つその度が高いという事実結果から、その集積機序に就て注目が続けられ現在に至つている。しかし未だ追求が成功をみていない状態にある。従つて、ここに於て本主題追求研究の意義が生まれ、現況よりすぐれた腫瘍 R I 診断を生む重要性が在ることになつた。

第 I 編 臨床的研究

A 方法および成績

(1) 方法 1970年1月から1974年2月迄の期間に、神戸大学及び天理病院に来院又は入院した治療前の患者を対象として ⁶⁷Ga シンチグラフィを施行した。これらのうち、臨床診断の確定した悪性腫瘍 289例、非腫瘍性疾患63例について比較

検討した。前処置なしの患者1名につき、輸血用クエン酸ナトリウム 100mg と Phillips-Duphar 社の ⁶⁷Ga-citrate 1.5—2.5mCi を混合静注し、Nuclear, Chicago 製、及びコンピューター情報処理方式東芝製ガンマーカメラで撮像した。原則として ⁶⁷Ga が有するγ線スペクトルのうち、全体の46%を占める 184KeV と 296KeV のいずれかのエネルギーにカメラのウインドーを合わせ、1,000ホールのコリメーターを使用して、40,000カウントの一定条件にてシンチ像を得た。病巣に一致した放射活性値と Background との差が最も高くなる静注後48—72時間のシンチフォトについて、集積のないもの及び Background との差が少なく病巣に一致した集積有りとは断定し難いものを(—)、集積が著明なものを(+)として判定した。

(2) 成績

a. 悪性腫瘍——Table 1の如く、289例中原発性肺癌では87%、転移性肺癌では76%の陽性率

Table 1. Results ⁶⁷Ga scintigraphy on malignant diseases

Diseases	No. of cases	⁶⁷ Ga accumulation	
		positive (+)	negative (—)
Primary lung cancer	196	169 (87%)	27 (13%)
Metastatic lung cancer	21	16 (76%)	5 (24%)
Mediastinal tumor	6	4	2
Malignant lymphoma	14	11 (79%)	3 (27%)
Maxillary cancer	4	4	0
Thyroid cancer	8	1	7
Metastatic tumor of the neck	5	4	1
Breast cancer	7	5	2
Cancer of the esophagus	1	0	1
Hepatoma	4	2	2
Cancer of the stomach	1	0	1
Cancer of the pancreas	1	0	1
Metastasis to the abdominal wall	8	4	4
Retroperitoneal tumor	2	0	2
Hypernephroma	4	1	3
Cancer of the urinary bladder	2	0	2
Chorioepithelioma malignum	2	1	1
Osteosarcoma	3	3	0
Total	289 (100%)	225 (78%)	

が得られた。その他の疾患では、上顎癌4例中4例、頸部腫瘍5例中4例、悪性リンパ腫14例中11例、乳癌7例中5例に陽性像が示された。一方甲状腺癌では8例中1例の陽性、腎癌では4例中1例の陽性が得られ、腹壁の腫瘍や後腹膜腫瘍は低い陽性率であつた。次に試験開胸、気管支鏡生

Table 2. ^{67}Ga accumulation in 159 lung cancers with different histology

Tumor type	No. of cases	+	-
Squamous cell	79	74 (94%)	5
Undifferentiated	35	30 (83%)	6
Adenocarcinoma	44	37 (82%)	7

Table 3. ^{67}Ga accumulation in malignant lymphomas

	No. of cases	^{67}Ga accumulation	
		+	-
Hodgkin's disease	6	3	3
Reticulosarcoma	4	4	0
Lymphosarcoma	1	1	0
Unknown	3	3	0
Total	14	11 (%)	

Table 4. results of ^{67}Ga scintigraphy on benign diseases

Diseases	No. of cases	^{67}Ga accumulation	
		+	-
Lung tuberculosis	16	11 (69%)	5
Tuberculoma	3	0	3
Lung abscess	14	8	6
Sarcoidosis	10	8	2
Pneumonitis	6	2	4
Other lung diseases (cystic fibrosis, hamartoma)	3	0	0
Struma	8	0	8
Renal disease (renal cyst)	3	0	3
Total	63 (100%)	29 (46%)	

検、剖検等によつて病理組織が判明した原発性肺癌を分類すると、Table 2に示す如く扁平上皮癌が最も高い陽性率であつたが、各組織の集積度には特異性がなかつた。次に直径が約3cmの小さな病巣にもかかわらず、高い陽性を示した悪性リンパ腫を組織分類すれば、Table 3の如く Hodgkin 氏病では6例中3例に陽性を来し、細網肉腫及びリンパ肉腫は全例陽性であつた。

b. 非腫瘍性疾患—Table 4に示す如く、63例中29例すなわち46%の陽性率であつた。そのうち肺結核は16例中11例、肺化膿症は14例中8例、ザルコイドーシスは10例中8例が陽性であつた。なお結核腫や腎囊腫には ^{67}Ga の集積がなかつた。

B 考 案

原発性肺癌は87%の陽性率を示した。諸家の報告¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾と同じく、 ^{67}Ga 本来の目的(悪性腫瘍への集積)を満足させる結果であつた。一方、非腫瘍性疾患では肺結核や肺化膿症にも ^{67}Ga の集積を認めた。諸家の報告の如くいずれも活動期の病巣であつた。ザルコイドーシスの陰性例は2例共十分な化学療法を行なつた症例である。肺は全体に Background が低くて均一であるため、直径3cmのものまでシンチカメラで描出可能であるが、カメラの解読限界能(直径2.5—3.0cm)以下の腫瘍は、たとえ集積をみてもそれと解し難いものがあることは避けられない。又シンチフォト上陰性の場合、 ^{67}Ga -citrate の腫瘍内取り込みが増殖度に関係して少ない場合も考慮される。後腹膜腫瘍2例中2例及び原発性肝癌4例中2例には ^{67}Ga の集積がなかつた。これは腫瘍部が Necrosis になつていたからと思われる。腫瘍への ^{67}Ga の集積には血液が重要な役割を果たすと考えている。試みに ^{67}Ga -citrate を静注した肺癌患者の48時間後静脈血から血清を分離して Sephadex G 100及びG 200による Gel Filtration を行なうと、 ^{67}Ga の放射活性は Albumin 分画附近に存在した。よつて ^{67}Ga -citrate の腫瘍集積に関する基礎的研究は、ガリウムと蛋白の結合面からおし進めることになつた。

C 結 論

(1) ^{67}Ga -citrate 静注による悪性腫瘍 289例のシンチグラフィーによつて、原発性肺癌は87%、転移性肺癌は76%、悪性リンパ腫は79%の陽性率が得られた。上顎癌4例と骨肉腫3例は全例共陽性であつたが、甲状腺癌や腎癌では陽性率が低かつた。

(2) 原発性肺癌の組織別集積度には特異性がみられなかつた。

(3) 非腫瘍性疾患63例のうち、肺結核は16例中11例、肺化膿症は14例中8例、ザルコイドーシスは10例中8例に陽性を示したが、結核腫や腎囊腫には ^{67}Ga の集積がなかつた。

(4) ^{67}Ga の腫瘍集積には血液が重要な役割を果たすと考える。

第II編 基礎的研究

^{67}Ga -citrate は悪性腫瘍によく集まるアイソトープであるが、一部の炎症にも集積することが知られている¹³⁾。癌や炎症への集積機序はまだ明らかでなく、又一方正常の肝臓や骨組織にも集積するのでこれを克服する課題が残されている。 ^{67}Ga -citrate を炎症や正常組織よりも悪性腫瘍にもつと多く集めることにより、腫瘍診断の向上を目指す目的で、 ^{67}Ga -citrate の悪性腫瘍集積機序解明に着手した。著者は、主として Morris によつて開発された Buffalo 系ラット移植の実験肝癌、7316A、7794A、及びそれらの宿主肝を使つて実験を行ない、in vitro にて ^{67}Ga と高い親和性を示すと思われる結合物質の一つをラット正常肝より精製し、その生理的意義を検討した。

方法並びに結果

^{67}Ga はヒト及びラットの血清蛋白と結合するという諸家の報告¹⁴⁾に基づき、 ^{67}Ga と蛋白の結合を細胞内レベルでも究明する必要があるので、まず試みに腫瘍や炎症に重要な役割を演じる Lysosome¹⁵⁾ に着目し、Leighton らの方法¹⁶⁾、すなわち8500 R P M40分の条件で得られる Mitochondria-Lysosome 分画を、非連続の蔗糖密度勾配で遠心して、14.3%と34.5%界面に Lysosome を分離精製するという方法によつて行なつた。蛋白

量は Lowry 法¹⁷⁾にて測定した。まず予備的に Lysosome と比較のために、細胞顆粒分画、特に Coleman の方法¹⁸⁾によつて部分精製した細胞質膜をも用い、中性洗剤、酸、アルカリにてよく洗つた遠心チューブ内で ^{67}Ga と結合させるという方法(遠心法と名付ける)をとつた。始めに細胞顆粒を生理的食塩水にて約1~27mg/mlの範囲に懸濁させて ^{67}Ga (約 12×10^4 cpm) とインキュベートの後、日立55P高速遠心機による27,500 R P M 15分の遠心にて、沈澱として再回収される各細胞顆粒を0.15M NaCl で2回洗浄遠心した後、各プラスチック遠心チューブ管壁に残つた遊離放射活性を更に3回0.15M NaCl で洗つてから、各顆粒に強く結合又は取り込まれた放射活性をウェルタイプ、シンチレーションカウンターで測定した。その結果、Table 5に示すように Lysosome

Table 5. ^{67}Ga activity on the subcellular element binding in vitro

	Morris hepatoma	
	7316 A tumor (rapid growing)	7794 A tumor (slow growing)
Lysosome*	800 (400)	400
Plasma membrane**	4800 (8200)	7700
Microsome	3000 (3700)	2300
Mitochondria	1700 (500)	2000
Nuclei	200 (200)	300

* vgl./ (16)

** vgl./ (18)

cpm/mg

Figures in parentheses indicate the value in the host liver.

にわずかながら ^{67}Ga の結合がみられた。Rapid Growing Tumor である肝癌7316Aの方が Slow Growing Tumor である肝癌7794Aや宿主肝より集積が多いが、比活性(蛋白当たりの放射活性)は他の顆粒成分と比べて特にならなかつた。Lysosome の確認は電子顕微鏡写真及び生化学的方法により行ない、後者としては酸性フォスファターゼ活性をマーカー Enzyme とした。Lysosome 以外で着目すべきことは、肝癌及び宿主肝

のいずれにおいても部分精製により得られた細胞質膜は ^{67}Ga の比活性が高かったが、核分画では ^{67}Ga の結合が少なかった。一方 ^{67}Ga を筋肉内に注射して各細胞顆粒成分への取り込みをみた *in vivo* の実験では、宿主肝、実験肝癌を問わず核及び膜の分画よりも遠心上 Microsome 以上の分画に ^{67}Ga が多く分布した。更に *Vivo* 実験にて、肝癌 7316A の場合 ^{67}Ga は Microsome よりも $105,000\times$ g 上清により多く分布する結果を得た。そこで比較的蛋白の精製が容易な $105,000\times$ g 上清成分の結合蛋白について調べた。蛋白と ^{67}Ga の結合度の比較は、 0.45μ のポアサイズを有するミリポアフィルターを使つて行なつた。すなわち Table 6 に示した Incubation System によつて数時間 Incubation の後、この蛋白 ^{67}Ga 結合体をミリポアフィルターにのせて 20mM Phosphate Buffer で3回洗う方法（これをミリポア法と呼ぶことにする）を使つた。今回の実験に主として用いた肝癌 7316A、肝癌 7794A の $105,000\times$ g 上清と、これらを Sephadex G 25 にかけて得た Cytosol をミリポア法により ^{67}Ga 結合度の比較を行なつたところ、Table 5 の遠心法の実験で得た細胞質膜に関する結果と同様、Table 7 の如く肝癌 7794A の $105,000\times$ g 上清が肝癌 7316A のそれより高い比活性を示した。

このように *in vitro* にて増殖度の異なる腫瘍の場合、 ^{67}Ga - $105,000\times$ g 上清結合（或いは ^{67}Ga -Cytosol 結合）に放射活性の差がみられた。この放射活性は分化度及び増殖度とは比例していない。 ^{67}Ga はいかなる物質に結合して、いかなる生理的因子がその結合に影響を与えるかという興味から、細胞増殖調節因子として Pastan¹⁹⁾ により注目されている Cyclic AMP (cyclic adenosine 3',5' monophosphate) の添加を検討したところ、Table 8 の如く Cyclic AMP がラット実験腫瘍及び宿主肝 Cytosol と ^{67}Ga の結合を抑えることがわかつた。なお肝癌 7316A の場合、結合 ^{67}Ga 放射活性は宿主肝と同程度であつた。増殖度に比例した ^{67}Ga を得る可能性の検討は今後の課題である。

Table 6. Millipore method for ^{67}Ga binding *in vitro*

0.5 M sodium acetate pH 5.2	0.040
0.1 M MgCl_2	0.040
GaCl_3 (10-100 μM)	0.500
Binding proteins (10 $\mu\text{g}/\text{mg}$)	0.100
^{67}Ga citrate	0.001
H ₂ O added to make 1.000 ml	

If necessary, gallium citrate molar ratio was kept 59/1. Incubated samples (0° for 7-14 hr) were diluted with 2 ml of ice-chilled 20 mM phosphate buffer (pH 7.5) containing 10 mM MgCl_2 , and filtered through a Millipore cellulose ester membrane (pore size 0.4 μ) and further washed 3 times with 4, 6, and 6 ml of 20 mM phosphate buffer. The appropriate protein concentration was carefully checked before incubation since the proportional range was narrower in cruder samples.

Table 7. ^{67}Ga binding activity

^{67}Ga citrate Tumor	1 λ (290×10^3 cpm) 105000 \times g Sup	2 λ (290×10^3 cpm) Cytosol
7316 A	36	22
7794 A	58	37

$\times 10^3$ cpm/mg protein

Gallium chloride was not used in these experiments.

Table 8. additional effect of cyclic AMP on ^{67}Ga binding in cytosol

0.125 μM cyclic AMP	Hepatoma 7316 A	Host liver
-	1010 (100%)	958 (100%)
+	731 (72%)	482 (50%)

$\times 10^3$ cpm/mg

Gallium chloride was not used in these experiments.

^{67}Ga citrate (1 λ): 1820 $\times 10^3$ cpm.

以上の Cyclic AMP 添加実験から、 ^{67}Ga の結合蛋白が Protein kinase の Sub unit である Cyclic AMP Binding protein である可能性も示唆されるが、一方 Fig. 1 に示すように Cyclic AMP Phosphodiesterase (以下 Cyclic AMP PDE と略す) の阻害薬理物質として知られる Theophylline が ^{67}Ga の結合を高める知見を得たので、 ^{67}Ga が Cyclic AMP PDE に結合する可能性も考えて、Cyclic AMP Binding protein と Cyclic AMP PDE の製精をハイドロキシアパタイト、カラムクロマ

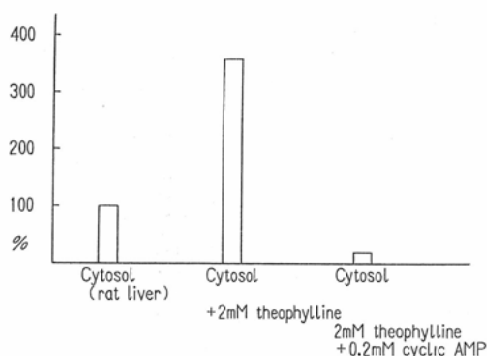


Fig. 1. Additional effect of theophylline on ⁶⁷Ga binding
Gallium chloride was not used in these experiments.

トグラフィーを使った新しい方法で行なつた。ウイスター系ラット正常肝(18匹分)の105,000×g上清を作つてこれを30—45%に硫酸塩析し、この硫酸分画をTris緩衝液に透析後、蛋白1mgにつき10mgのCalcium phosphate gelに吸着させた。50mM 磷酸緩衝液(以下KPBと略す)にて大部分のProtein kinaseを除いた後²⁰⁾、更にHydroxyl apatite (Clarkson社、以下HAと略す)カラムに吸着させて蛋白の分離を試みた。50mM, 200mM, 500mMのKalium phosphate buffer (KPB)をそれぞれHAカラムに流して溶出した各Fractionのうち、Cyclic AMP Binding proteinは50mM KPB溶出分画に存在した。各溶出分画と⁶⁷Gaの結合をミリポア法にて調べたところ、Table 9の如く⁶⁷Gaは500mM KPB溶出分画に非常に高い親和性を示した。この分画への⁶⁷Gaの結合は0.25M蔗糖及び10%グリセロールを含んだ20mM KPB (pH 7.5)に4℃15時間透析しても解離せず、HA 50mM KPB分画の約240倍の結合が保持されていた。一方Table 10に示した新しいCyclic AMP PDE assay systemによつて各溶出分画の酵素活性を測定したところ、Table 9の如く500mM KPB分画に遊離のCyclic AMPを分解する酵素、“Phosphodiesterase”が比活性として高い値を示した。HA溶出前後でCyclic AMP PDE比活性とミリ

Table 9. purification of cyclic AMP phosphodiesterase and ⁶⁷Ga binding protein

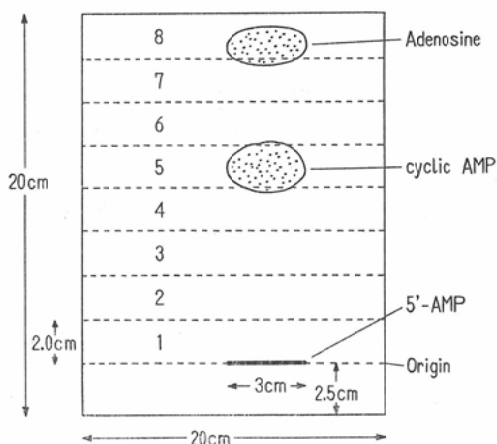
	Cyclic AMP Phosphodiesterase (mU/mg)	⁶⁷ Ga bound (×10 ³ cpm/mg)
After absorption with Calcium Phosphate Gel.	0.5	18
Hydroxyapatite fraction		
50mM phosphate fraction	25.8	379
500mM phosphate fraction	2330	94000

2mM cyclic AMP was used in these experiments.

Table 10 Cyclic AMP phosphodiesterase assay system

1 M Tris-HCl (pH 7.6)	0.010
0.1 M MgCl ₂	0.010
0.1 mM cyclic AMP	0.025
cyclic ³ H AMP	0.001
H ₂ O+enzyme	0.104
	0.150

Paper chromatography Chrom AR Sheet (20×20cm) Mallinckrodt, for 1hr at 35° using 2-propanol:ethyl acetate:ammonium hydroxide (55:29:16) as a developing solvent.



ポア法による⁶⁷Ga結合比活性との間の精製度を比べると同程度(約4,000倍)の増加があり、Vitroにて⁶⁷GaがCyclic AMP PDEに結合する可能性を強くした。なおCyclic AMP PDE酵素活性はTable 10の下図の如く、20cm×20cmのChrom AR Sheet (Mallinckrodt社)を使用して、基質Cyclic AMPから生成する5' AMP及び

Adenosine を分離し、それらの放射活性を Beckman 液体シンチレーションカウンターで測定して求めた。 ^{67}Ga の結合する蛋白の1つとして Transferrin が知られている²¹⁾。著者は Bovine Transferrin と HA 500mM K P B 分画を使つて、これらと ^{67}Ga (約 72×10^4 cpm) を 4°C にて 15 時間 Incubation 後、ミリポアー法による ^{67}Ga 結合実験を行なつた。その結果 Table 11 に示す如く、 ^{67}Ga の結合比活性は Transferrin の約 70 倍であつた。なお市販の P D E (Böhringer 社仔牛心筋) には ^{67}Ga の結合がみられなかつた。

Table 11 Specificity of ^{67}Ga binding

	Specific activity ($\times 10^3$ cpm/mg protein)
Purified cyclic AMP phosphodiesterase (calf heart muscle)	0
Transferrin (bovine)	1770
Partially purified cyclic AMP phosphodiesterase	122280

^{67}Ga citrate (720×10^3 cpm)

考 案

Table 5 に示した如く、遠心法で肝癌 7316 A, 7794 A から分離した Lysosome に増殖度と比例する ^{67}Ga の結合がみられた。これは ^{67}Ga の腫瘍集積には Lysosome が関係するという諸家の報告²²⁾²³⁾と一致する。さてミリポアーフィルターによる ^{67}Ga 結合法は、105,000×g 上清 Cytosol 硫酸分画内に種々の蛋白又は金属が存在して互いに干渉しあうためか、もしくは結合に及ぼす生理的因子が介在するためか、比較範囲が得にくかつた。このことは蛋白の精製の重要性を示唆するものと言える。今回 ^{67}Ga と高い結合を示した Phosphodiesterase はラット正常肝から分離精製したものである。一方 Appleman の方法²⁴⁾によつてラット腫瘍(肝癌7316A)から Cyclic AMP PDE を分離し、これに対してアセチル CoA からの脂肪酸合成の最終産物である長鎖脂肪酸 CoA²⁵⁾ の添加により、Cyclic AMP PDE- ^{67}Ga 結

合の増加知見を得た²⁶⁾。又ラット正常肝に比べて腫瘍(肝癌7316A)では Cyclic AMP PDE の活性が上昇している傾向があることをつきとめた²⁷⁾。ところで Wang らは P D E 活性を高める Protein Activator を心筋より精製した²⁸⁾。著者らも肝癌7316Aからこの熱安定性蛋白を取り出してミリポアー法にて ^{67}Ga 結合実験を行なつたところ、これと Mg イオンの共存によつて Cyclic AMP PDE- ^{67}Ga 結合が増加すること知つた。 ^{67}Ga と結合する Cyclic AMP PDE はラット肝及び腫瘍(肝癌)への ^{67}Ga の集積に関係した生理的意義のある蛋白と考察される。

結 論

(1) Vitro に於ける ^{67}Ga -細胞顆粒結合法(遠心法)にて、Leighton の方法によつて分離した Lysosome に ^{67}Ga が結合することを確認した。Lysosome に関して、増殖度の高い肝癌7316Aの比活性(cpm/mg)が増殖度の低い肝癌7794Aの約2倍であつた。

(2) Vitro に於ける ^{67}Ga -可溶性蛋白結合法(ミリポアー法)が、ラット正常肝の 105,000×g 上清からの ^{67}Ga 結合蛋白の精製に使用出来た。

(3) ^{67}Ga -Cytosol 結合にて、Cyclic AMP の含量が少ないと言われる肝癌7794Aの方が肝癌7316Aより ^{67}Ga の結合が高かつた。

(4) ^{67}Ga -Cytosol 結合は、ラット正常肝、腫瘍を問わず、Cyclic AMP によつて抑制された。

(5) P D E の阻害薬理物質として知られる Theophylline は、 ^{67}Ga -ラット正常肝 Cytosol 結合を促進した。

(6) ラット正常肝よりハイドロキシアパタイト吸着溶出法を活用して、比活性として ^{67}Ga と高い親和性を示す蛋白(Phosphodiesterase)を分離した。この蛋白と ^{67}Ga の結合は、Bovine Transferrin の70倍、Cyclic AMP Binding protein の240倍であつた。

(7) 肝癌7316Aから Cyclic AMP 特異性の Phosphodiesterase を分離し、これと ^{67}Ga の結合に影響を与える因子について考察した。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜った恩師神戸大学榎林和之教授、直接の御指導に預った東北大学抗酸菌病研究所大津英二博士、度々貴重な肝意を分与していただいた国立ガンセンター研究所長杉村隆博士に深甚なる謝意を表します。又研究に対して御協力していただいた以下の方々に感謝致します。

市谷 迪 雄〔天理病院胸部外科〕
 市島 国 雄〔天理病院病理〕
 稲田 満 夫〔天理病院内分泌内科〕
 井上 昇 昇〔国療南京都病院内科〕
 井上 善 夫〔神戸大放射線科〕
 岩田 猛 邦〔天理病院呼吸器内科〕
 加藤 幹 夫〔京都大胸部研外科〕
 北野 司 久〔天理病院胸部外科〕
 黒田 康 正〔天理病院放射線科〕
 久野 健 志〔尼崎塚口分院呼吸器科〕
 河野 通 雄〔神戸大放射線科〕
 弘野 慶次郎〔天理病院胸部外科〕
 小林 聡 聡〔天理病院放射線科〕
 小島 勇 亮〔国立ガンセンター研究所〕
 笹沼 竹 雄〔天理病院呼吸器内科〕
 佐藤 紘 市〔天理病院R I技師〕
 沢田 英 夫〔東海大内科〕
 田中 敬 正〔天理病院放射線科〕
 高橋 正 治〔愛媛大放射線科〕
 高橋 浩 浩〔天理病院臨床病理〕
 高橋 豊 豊〔天理病院血液内科〕
 坪井 慶 孝〔兵庫県ガンセンター放射線科〕
 轟 文 夫〔尼崎塚口分院呼吸器科〕
 榎 林 勇 勇〔近畿大放射線科〕
 西山 章 次〔神戸大放射線科〕
 西 峯 康 雄〔奈良医大放射線科〕
 西 村 宏 明〔神戸大放射線科〕
 本 田 義 男〔天理病院放射線技師〕
 前 田 知 穂〔京都府立医大放射線科〕
 松 原 恒 雄〔天理病院呼吸器内科〕
 宮 林 美 福〔天理病院胸部外科〕
 松 本 晃 晃〔神戸大放射線科〕
 山 本 利 雄〔天理病院院長〕
 山 辺 博 彦〔天理病院病理〕
 柳 沢 弥 弥〔天理病院放射線科〕
 吉 田 祥 二〔別子住友病院放射線科〕
 他 神戸大〔放〕医局員

天理病院〔研究所〕技師

天理病院〔放〕技師

文 献

- 1) Hiramatsu, H. and Hisada, K.: 最新医学, 20 No4, 1965.
- 2) Auler, et al.: Krebsforsch, 53 (1942), 63.
- 3) Dudley, H.C., Maddox, G.E. and La Rve, H.C.: J. Pharmacol. Exper. Therap. 96 (1949), 135.
- 4) Horwitz, N.H., Lofstrom, J.E. and Forsaith, A.L.: Radiology 86 May (1966), 830.
- 5) Hayes, R.L., Carlton, J.E. and Byrd, B.L.: J. Nucl. Med. 6 Aug. 1965, 605—610.
- 6) Edwards, C.L. and Hayes, R.L.: J. Nucl. Med. 10 (1969), 103.
- 7) 久田欣一, 安藤 醇: 医学のあゆみ, 81, 13 (1972), 825.
- 8) 河野 彬, 小嶋正治, 前田辰夫: 臨床放射線, 18巻3号 (1973), 195.
- 9) 森 徹, 浜本 研, 鳥塚莞爾: 臨床放射線, 18巻3号 (1973), 201.
- 10) 木下文雄, 前川 全, 久保敦司, 牛尾暉夫, 西川正夫, 里和スミエ, 七里 泰, 間森 担, 山形正和, 有輪六朗: 臨床放射線, 15巻8号 (1970), 583.
- 11) 宮前達也, 亘理 勉, 百瀬郁光, 安河内浩: 臨床放射線, 15巻8号 (1970), 598.
- 12) Edwards, C.L. and Hayes, R.L.: JAMA. Vol 212, No. 7, May, 1970.
- 13) Lavender, J.P., Lowe, J., Barker, J.R., Burn, J.I. and Chaudhri, M.A.: B.J. of Radiol. 44 (1971), 361.
- 14) Hartman, R.E. and Hayes, R.L.: J. Pharmacol. Exper. Therap. 168 (1969) 193.
- 15) 紺野邦夫: 代謝, 4 (1972), 27.
- 16) Federico Leighton and Christian DE DUVE: The Journal of Cell Biology, 37 (1968) 482.
- 17) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: J.B.C. 193 (1951), 265.
- 18) Coleman, R., Michell, R.H., Finean, J.B. et al.: BBA, 135 (1967) 572.
- 19) Jacques Otten, George S. Johnson and Ira Pastan: J.B.C. 247, 10 (1972) 7082.
- 20) Granner, D.K.: Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol. 46, No. 4 (1972), 1516.
- 21) 折井弘武: 臨床放射線, 18巻3号 (1973), 211.
- 22) 東 与光, 池本真一, 久田太郎, 中山義之他: ^{67}Ga -citrate による癌の診断 (第3報), 核医学 Vol. 8, No. 3, June, 1971.
- 23) Brown, D.H., Schwartzner, D.C., Carlton, J.E., Byrd, B.L. and Hayes, R.L.: Cancer

Research, 33 (1973), 2063.

- 24) Russel, T.R., Terasaki, W.L. and Appleman,
M.M.: J.B.C. 248, 4 (1973), 1334.
25) 大津英二: 日本生化学学会 (1973) 発表.
26) 藤野久武, 大津英二, 楢林和之, 田中敬正, 黒

田康正: 第32回日本癌学会 (1973), 発表.

- 27) Otsu, E.: In preparation of J.B.C.
28) Tian Seng Teo, Teresa H. Wang and Jerry H.
Wang: J.B.C. 248, 2 (1973), 588—595.
-