

学 位 論 文 題 名

IN VIVO DISTRIBUTION OF Tc-99m LABELED RECOMBINANT
TISSUE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR
IN CONTROL AND THROMBUS-BEARING RATS

（正常ラットと血栓モデルラットにおける Tc-99m 標識
組み替え組織型プラスミノゲンアクチベータの体内分布）

学位論文内容の要旨

1. はじめに

血栓症の患者に血栓溶解療法を含む適切な治療をするためには、血栓の局在を正確に知ることが重要である。現在のところ主な診断手段は血管造影であるが、血栓症が繰り返し起こることを考慮にいと、非侵襲的な方法が望ましいと考える。このため、シンチグラフィによる方法が考えられ、血栓に高い親和性と特異性を持つ放射性薬剤が求められてきた。

現在までに In-111 標識血小板、標識抗フィブリン抗体、抗血小板抗体などの放射性薬剤が開発され、血栓の検出に高い感受性を示している。しかし、In-111 標識血小板は血液プールに高い放射能が見られ、撮像までに時間がかかり、標識抗体では、繰り返しの検査により出現するヒト抗マウス抗体が問題であった。これらの問題に対し、ヒトに自然に存在し、フィブリンに高い親和性を持つ組織型プラスミノゲンアクチベータは、理想的な物質と考えられた。

著者らは、先に Tc-99m 標識組み替え組織型プラスミノゲンアクチベータ（Tc-99m-rt-PA）の簡便な標識方法とその高い血栓親和性、それによる血栓描画の可能性について報告した。この論文では、正常ラットおよび血栓モデルラットにおける Tc-99m-rt-PA の体内分布について検討した。

2. 対象と方法

標識に使用した rt-PA (sm-9527, lot No. p-113) は二本鎖で、住友化学より提供された。rt-PA は、スズ溶液と混合し、時々振とうしつつ10分間放置したのち、Tc-99m 溶液と混合し標識した。標識率は、標識時にペーパークロマトグラフィにより検定した。

正常ラットの生体内分布は、尾静脈より Tc-99m-rt-PA を静注し、15, 30, 60, 120分後に血液と主な臓器を取りだして、ウエル型ガンマカウンターで放射能を測定した。

血栓モデルは、ラットの下大静脈を左腎動脈の直下で結紮して作成し、結紮部位の直上より、Tc-99m-rt-PA を投与した。これらのラットを、Tc-99m-rt-PA 投与直前にアプロチニンを投与した群と、投与しなかった群との二群に分けた。両群とも静注後15分後と30分後に血液と主な臓器を取りだし、その放射能を測定した。

シンチグラムは、正常ラットと、アプロチニンを投与した血栓モデルラット、アプロチニンを投与しない血栓モデルラットとに Tc-99m-rt-PA を投与して撮像した。撮像は、静注後20分まで、5分ごとに施行され、データはコンピュータに収集された。対照として、血栓モデルラットに Tc-99m-rt-HSA を投与し、血栓描画の有無をみた。

in vivo の血栓結合性との対照に in vitro の血栓親和性をみるため、人工的に作成したフィブリンブロック (FB) への Tc-99m-PA の結合とその画像化を試みた。

3. 結 果

標識率は、平均 $84.6 \pm 3.4\%$ だった。

正常ラット、血栓モデルラットとも、Tc-99m-rt-PA の血中クリアランスは速かった。肝臓の放射能は、投与後15分で最も高くなり、その後漸減した。これとは反対に、腎臓の放射能は、120分までは時間と共に増加した。遊離の Tc-99m を示唆する胃の放射能は、胃全体で投与量の $0.016-0.089\%$ と低く、時間の経過による集積の増加もなかった。血栓モデルラットにおいて、血栓への Tc-99m-rt-PA の集積は、血液より低かったが、骨格筋や心筋より高かった。血栓への集積は、アプロチニンを投与した群でしない群より有意に高かった。

画像では、正常ラット、血栓モデルラットともに、心臓からの速い放射能の消失と肝臓と腎臓の明瞭な描画が認められた。心臓に関心領域を設定して得られた時間-放射能曲線より計算した血中半減期は、第1相が 2.6 ± 0.26 分、第2相が 24.2 ± 6.4 分であった。この値は、正常ラット、血栓モデルラットともに大きな差はなかった。血栓の描画は、アプロチニンを投与した群でもない群でも下大静脈の結紮部位にわずかに高い集積としてみられた。この集積は Tc-99m-rt-PA 投与後30分までに時間の経過とともに消失した。

Tc-99m-rt-PA 溶液に浸した FB は明瞭に描画された。FB に結合した Tc-99m-rt-PA は浸した量の 13.5% で、対照群としての Tc-99m, Tc-99m-HSA のそれは、それぞれ 0.25% , 0.45% であった。

4. 考 察

この研究では、Tc-99m-rt-PA の体内分布と血栓の描画について検討した。体内分布については、現在まで他の核種により標識された t-PA で報告されている結果とほぼ同様であった。また、時間-放射能曲線から計算された血中半減期も、報告されている採血法より求められた値と近い値であった。

血栓への単位重量あたりの Tc-99m-rt-PA 集積は、in vitro の FB への集積から予想されたよりもかなり低かったが、画像では、血栓が陽性像として確認された。これは、rt-PA は血栓の表面にのみ結合するために、単位重量あたりでは血液より値が低くても、血栓表面では血液より集積が高くなるのだろうと説明できる。

血栓への rt-PA の集積が in vitro に比し低かった原因としてはふたつのことが考えられる。ひとつは、rt-PA による血栓溶解である。すなわち、結合した rt-PA が血栓を溶解し、血栓から遊離してしまうためである。このことは、血栓溶解を阻止するアプロチニンの投与により血栓への Tc-99m-rt-PA の集積が増加したことより確認された。アプロチニンが t-PA による血栓溶解を阻止することはすでに報告されているが、これを利用して血栓への標識 t-PA の集積率増強を試みたのは、今回の研究が初めてである。他の可能性は、血中の inhibitor と体外より投与した rt-PA との複合体の形成である。このような複合体はフィブリンに結合しないことが報告されている。しかし、今回は、血中での複合体の検討は行っていない。

5. 結 語

今回の検討では、Tc-99m-rt-PA の血栓集積性が確認された。その集積は、投与後短時間でおこり、持続時間も短いことが確認された。in vivo ではアプロチニンによる Tc-99m-rt-PA の効果は、集積率の増強、および持続時間の延長として認められた。しかし、in vivo ではアプロチニンを併用しても in vitro における Tc-99m-rt-PA の FB に対する程度の強い集積率を得られなかった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 古 館 正 從

副 査 教 授 田 邊 達 三

副 査 教 授 宮 崎 保

1. 研究目的

血栓症の患者に血栓溶解療法を含む適切な治療をする為には、血栓の局在を正確に知ることが重要である。非侵襲的な方法としてシンチグラフィによる方法が考えられ、血栓に高い親和性と特異性を持つ放射性薬剤が求められてきた。

本研究者は、さきに Tc-99m 標識組替え組織型プラスミノージェンアクチベータ (Tc-99m-rt-PA) の簡便な標識方法とその高い血栓親和性、それによる血栓描画の可能性については報告した。この論文では、正常ラットにおける Tc-99m-rt-PA の体内分布について検討した。

2. 対象と方法

正常ラットの生体内分布は、尾静脈より Tc-99m-rt-PA を静注し、経時的に血液と主な臓器を取り出して放射能を測定した。血栓モデルは、ラットの下大動脈を左腎動脈の直下結紮して作成し、結紮部位の直上より、Tc-99m-rt-PA を投与した。これらのラットを、Tc-99m-rt-PA 投与直前にアプロチニンを投与した群と、投与しなかった群とのⅡ群に分けた。両群とも静注後15分後と30分後に血液と主な臓器を取り出し、その放射能を測定した。シンチグラムは、正常ラットと、アプロチニン投与血栓モデルラットとアプロチニン非投与血栓モデルラットとに Tc-99m-rt-PA を投与して撮像した。対照として、血栓モデルラットに Tc-99m-HSA を投与し、血栓描画の有無をみた。in vivo の血栓結合性との対照として in vitro の血栓親和性をみるため、人工的に作成したフィブリンブロック (FB) への99m-rt-PA の結合とその画像化を試みた。

3. 結 果

正常ラット、血栓モデルラットとも、Tc-99m-rt-PA の血中クリアランスは速かった。肝臓の放射能は、投与後15分で最も高くなり、その後漸減した。血栓モデルラットにおいて、

血栓への Tc-99m-rt-PA の集積は、血液より低かったが骨格筋や心筋より高かった。血栓への集積は、アプロチニンを投与した群でしない群より有意に高かった。

画像では、正常ラット、血栓モデルラットともに、心臓からの速い放射能の消失と肝臓と腎臓の明瞭な描画が認められた。血栓の描画は、アプロチニンを投与した群でもしない群でも下大動脈の結紮部位にわずかに高い集積としてみられた。この集積は Tc-99m-rt-PA 溶液に浸した FB は明瞭に描画された。

4. 考 察

この研究では、Tc-99m-rt-PA の体内分布と血栓の描画について検討した。体内分布については、現在まで他の核種により標識された t-PA で報告されている結果とはほぼ同様であった。血栓への単位重量あたりの Tc-99m-rt-PA 集積は、in vitro の FB への集積から予想されたよりもかなり低かったが、画像では、血栓が陽性像として確認された。これは rt-PA は血栓の表面にのみ結合するため、単位重量あたりでは血液より値が低くても血栓表面では血液より集積が高くなるだろうと説明できる。

血栓への rt-PA の集積が in vitro に比し低かった原因としては rt-PA による血栓溶解が考えられる。すなわち、結合した rt-PA が血栓を溶解し、血栓から遊離してしまうためである。このことは、血栓溶解を阻止するアプロチニンの投与により血栓への Tc-99m-rt-PA の集積が増加したことより確認された。アプロチニンが t-PA による血栓溶解を阻止することは既に報告されているが、これを利用して血栓への標識 t-PA の集積率増強を試みたのは、今回の研究が初めてである。

5. 結 語

今回の研究では、Tc-99m-rt-PA の血栓集積性が確認された。その集積は、投与後短時間で起こり、持続時間も短いことが確認された。in vivo ではアプロチニンによる Tc-99m-rt-PA の効果は、集積率の増強および持続時間の延長として認められた。

本研究の価値判定：本研究は正常ラットと血栓モデルラットにおける Tc-99m-rt-PA の体内分布と血栓集積性を明らかにし、さらにアプロチニンが標識 t-PA の集積率を増強することをも明らかにした。よって学位論文としての価値を認めるものである。