

二官能性放射性医薬品の分子設計概念に基づくインビボ放射性医薬品の開発

向 高 弘

Development of Bifunctional Radiopharmaceuticals for Targeted Imaging and Therapy

Takahiro MUKAI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi,
Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

(Received July 20, 2007)

In vivo radiopharmaceuticals have two different uses – for nuclear diagnostic imaging and for internal radiation therapy. For nuclear diagnostic imaging, it is necessary to make the difference of radioactivity levels between in the target regions and in the other regions at an early time after administration. For internal radiation therapy, a more selective accumulation of the radioactivity to the target regions is required to minimize an adverse effect. In order to achieve the highly selective accumulation of *in vivo* radiopharmaceuticals, it is necessary to find an appropriate target molecule in the first place and design a compound which can recognize the target molecule and stably label it with radionuclide. There are several proposed approaches to chemical design for this purpose. However, even with the specific recognition and stable radiolabel, targeted imaging and therapy are not necessarily achieved. We have been developing *in vivo* radiopharmaceuticals based on a chemical design called “bifunctional radiopharmaceutical.” Bifunctional radiopharmaceuticals have the recognition site of the target molecule and binding site for the radionuclide independently in one molecule. This review summarizes our examples of chemical design of *in vivo* radiopharmaceuticals to achieve the targeted imaging and therapy.

Key words—bifunctional radiopharmaceuticals; molecular recognition; nuclear imaging; internal radiotherapy

1. はじめに

体内に投与される放射性医薬品（インビボ放射性医薬品）には、核医学画像診断を目的とするものと、内用放射線治療を目的とするものがある。核医学画像診断用のインビボ放射性医薬品においては、投与後早期に標的部位への放射能分布量とそれ以外への放射能分布量との間に差を作り出すことが要求される。内用放射線治療を目的とする場合も基本的には同様であるが、他の部位への分布量を極力少なくしなければならぬため、分布の特異性においてはより厳密さが求められる。これらのインビボ放射性医薬品に要求される選択性の高い標的部位集積性（標的部位への放射能ターゲティング）を達成するには、まず適切な標的分子を見い出すことが必要となる。そして、この標的分子を認識し、かつ放射性

核種を安定に結合することのできる放射性標識化合物を設計することとなる。しかしながら標的分子の認識性と放射性核種との結合安定性の両立により、標的部位への放射能ターゲティングがかならずしも達成される訳ではない。われわれは、標的分子の認識部位と放射性核種結合部位とを一分子内に独立して有する「二官能性放射性医薬品（Bifunctional Radiopharmaceutical）」という分子設計概念に基づいたインビボ放射性医薬品の開発を行ってきた。ここでは、腫瘍骨転移の内用放射線治療を目的とした放射性レニウム標識薬剤の研究成果を通して、標的部位への放射能ターゲティングを達成するためのインビボ放射性医薬品の分子設計例を紹介することとする。

2. 腫瘍骨転移の内用放射線治療を目的とした放射性レニウム標識二官能性放射性医薬品

前立腺がんや乳がんは骨に転移し易く、骨転移の多くは激しい痛みを伴うため、患者の quality of life (QOL) を著しく低下させる。そこで、がん骨転移の疼痛緩和のための治療法が種々検討されてい

九州大学大学院薬学研究院病態分子認識化学分野
(〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1)

e-mail: mukai@phar.kyushu-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 127 年会シンポジウム S11 で発表したものを中心に記述したものである。

る。転移部位が局所的である場合には、放射線外照射は疼痛緩和に有効であるが、¹⁾ 転移が全身に広がっている場合への適応は難しい。そこで、細胞障害作用の強い β^- 線放出核種で標識され、標的部位へ特異的に分布する放射性薬剤を用いる内用放射線治療法が期待されている。²⁾ これまでに、腫瘍骨転移の内用放射線治療薬として、高エネルギーの β^- 線と診断に適したエネルギーを持つ γ 線を放出する放射性レニウム (^{186}Re) と、骨に対して親和性を持つビスホスホネートの 1 つである 1,1-hydroxyethylidene diphosphonate (HEDP) との錯体である ^{186}Re -HEDP (Fig. 1 (A)) が検討されており、疼痛緩和に有効であるとの報告がなされている。³⁾ しかし、この錯体においては、生体内で安定性が低く、解離して $^{186}\text{ReO}_4^-$ を生成すること、またビスホスホネートのリン酸部が Re とのキレートに供されることにより、病変部位への放射能集積が低下、血液からの放射能消失の遅延による骨髄被曝の増加など

の問題が提起されている。^{4,5)} そこでわれわれは、骨への親和性を損なうことなく血液からの速やかな放射能消失を示す ^{186}Re 標識骨疼痛緩和剤の開発を目的として、二官能性放射性医薬品の概念に基づき、骨に高い親和性を有するビスホスホネート分子に、生体内で ^{186}Re と安定な錯体を形成するキレート部位を導入する薬剤設計を考案した。⁶⁾ そこで、Re の同族元素であり、化学的性質が類似している $^{99\text{m}}\text{Tc}$ と安定な錯体を形成することが知られている monoaminemonoamidedithiols (MAMA) を ^{186}Re 単核錯体形成部位として選択し、⁷⁾ これらをビスホスホネート分子に導入した化合物を設計し、腫瘍骨転移に対する内用放射線治療薬としての有用性を基礎的に評価することを計画した。一方、ビスホスホネート構造の中央の炭素に水酸基が結合しているビスホスホネート誘導体は、水酸基が結合していないものと比べて骨への親和性が高いことが報告されている。⁸⁾ そこで、 $[N$ -[2-[4-[4-(4-hydroxy-4,4-diphosphonobutyl) amino]-4-oxobutyl]-(2-thioethyl amino) acetyl]-2-aminoethanethiolate] oxorhenium (V) (^{186}Re -MAMA-HBP, Fig. 1 (B)) を合成し、その比較対照として、ビスホスホネート骨格の中央の炭素に水酸基が結合していない $[N$ -[2-[3-(3,3-diphosphonopropylcarbamoyl) propyl] (2-thioethyl amino) acetyl]-2-aminoethanethiolate] oxorhenium (V) (^{186}Re -MAMA-BP, Fig. 1 (C)) を併せて合成し、ビスホスホネート構造と独立して ^{186}Re キレート部位を有する二官能性放射性医薬品の概念を適用した薬剤設計の有用性を評価するとともに、本薬剤設計におけるビスホスホネートの中央の炭素への水酸基導入の有用性を評価した。⁹⁾

^{186}Re -MAMA-HBP の合成において、 ^{186}Re との錯体形成部位である MAMA 構造のメルカプト基は不安定であるため、トリチル基を保護したものを標識前駆体として使用し、 ^{186}Re 標識反応の直前に、トリチル基を脱離して $^{186}\text{ReO}_4^-$ と反応させることにより、 ^{186}Re -MAMA-HBP を放射化学的収率 54%、放射化学的純度 95% 以上、 ^{186}Re -MAMA-BP を放射化学的収率 32%、放射化学的純度 95% 以上で得ることに成功した。

合成した ^{186}Re 標識化合物の安定性を確認するため、酸素で飽和したリン酸緩衝液中でインキュベートした (Table 1)。その結果、 ^{186}Re -HEDP は経時

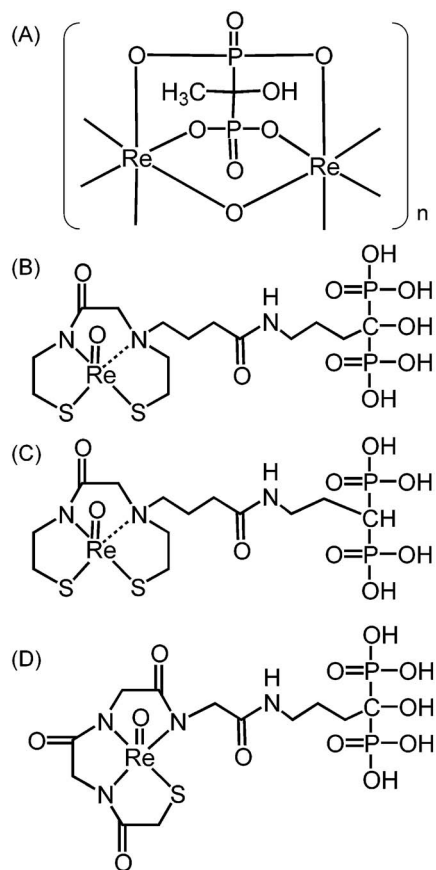


Fig. 1. Chemical Structures of ^{186}Re -labeled Compounds
(A): ^{186}Re -HEDP, (B): ^{186}Re -MAMA-HBP, (C): ^{186}Re -MAMA-BP,
(D): ^{186}Re -MAG3-HBP.

Table 1. Stability of ^{186}Re -labeled Compounds in Oxygen-saturated Buffer

Compound	Incubation period (h)		
	1	6	24
	Radiochemical purity (%)		
^{186}Re -HEDP	82.0	51.5	24.8
^{186}Re -MAMA-BP	97.3	89.2	81.8
^{186}Re -MAMA-HBP	98.5	94.9	75.6
^{186}Re -MAG3-HBP	99.4	99.1	98.3

Each value represents the mean for three experiments.

的な $^{186}\text{ReO}_4^-$ への分解が認められ、24 時間後における未変化体の割合は 25% 以下であった。それに対して、 ^{186}Re -MAMA-HBP, ^{186}Re -MAMA-BP はいずれも 75% 以上が未変化体として存在しており、より安定であることが確認された。

骨の無機質の主成分であるヒドロキシアパタイトに対する ^{186}Re -MAMA-HBP, ^{186}Re -MAMA-BP の親和性を評価するために、ヒドロキシアパタイト懸濁液中で ^{186}Re -MAMA-HBP, ^{186}Re -MAMA-BP をインキュベートし、ヒドロキシアパタイトへの結合を調べた。Figure 2(A) に示すように、ビスホスホネート分子の中央の炭素に水酸基が結合した ^{186}Re -MAMA-HBP は、水酸基が結合していない ^{186}Re -MAMA-BP と比べて、有意に高いヒドロキシアパタイトとの結合親和性を示した。一方、同様の実験を $^{186}\text{ReO}_4^-$ と ^{186}Re -MAMA に関して行った結果、 $^{186}\text{ReO}_4^-$ と ^{186}Re -MAMA はヒドロキシアパタイトとほとんど結合しなかった。また、 ^{186}Re -MAMA-HBP の結合はビスホスホネート (HEDP) の添加により濃度依存的に阻害された (Fig. 2(B))。これらの結果は、 ^{186}Re -MAMA-HBP のヒドロキシアパタイトへの結合は、ビスホスホネート部位に起因することを示唆している。

^{186}Re -MAMA-HBP と ^{186}Re -MAMA-BP のマウス体内分布を ^{186}Re -HEDP の場合と比較検討した結果を Fig. 3 に示す。 ^{186}Re -HEDP は投与後速やかに骨に集積したものの、血液からの放射能消失の遅延と、分解物である $^{186}\text{ReO}_4^-$ の集積部位として知られる胃への放射能集積の増加が認められ、これにより、 ^{186}Re -HEDP が体内で分解していることが示唆された。一方、 ^{186}Re -MAMA-HBP, ^{186}Re -MAMA-BP は、胃への放射能集積を示すことなく、高い骨

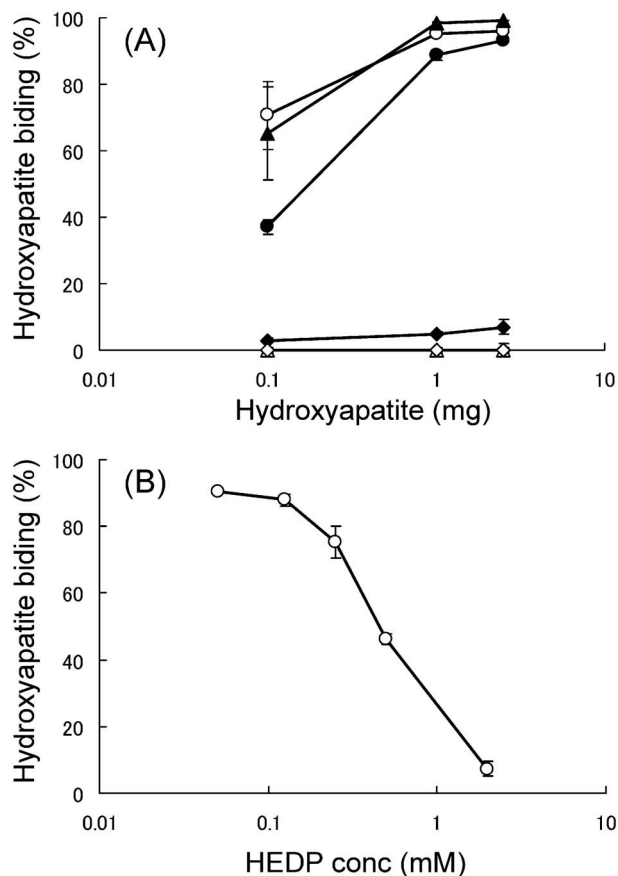


Fig. 2. Hydroxyapatite Binding of ^{186}Re -labeled Compounds (A): ^{186}Re -MAMA-HBP (○), ^{186}Re -MAMA-BP (●), ^{186}Re -MAMA (◆), ^{186}Re -MAG3-HBP (▲), ^{186}Re -MAG3 (◇) or $^{186}\text{ReO}_4^-$ (△) was added to hydroxyapatite beads suspension (100 μL ; 1, 10 and 25 mg/ml), and the mixture was gently shaken for 1 h at room temperature. After centrifugation, the radioactivity of the supernatant was measured. Each value represents the mean \pm S.D. for three samples. (B) One hundred microliters of ^{186}Re -MAMA-HBP (○), which additionally contained a different amount of HEDP, was incubated with 100 μL of the suspension containing 1 mg of hydroxyapatite beads. After centrifugation, the radioactivity of the supernatant was measured. Each value represents the mean \pm S.D. for three to six samples.

への放射能集積と速やかな血液からの放射能消失を示し、その結果、骨と血液との放射能集積比が大きく向上することを認めた。また、インビトロでのヒドロキシアパタイトとの結合実験の結果を反映し、 ^{186}Re -MAMA-HBP は、 ^{186}Re -MAMA-BP と比較して有意に高い骨への放射能集積を示した。これら結果は、標的分子との結合部位とは独立して同一分子内に RI 結合部位を有する二官能性放射性医薬品の分子設計により、標的分子との結合性と RI の結合安定性が両立できることを示すものである。また、 ^{186}Re 標識ビスホスホネートにおいて、ビスホスホネート構造の中央の炭素への水酸基の導入が骨集積の亢進に効果的であることを示唆している。

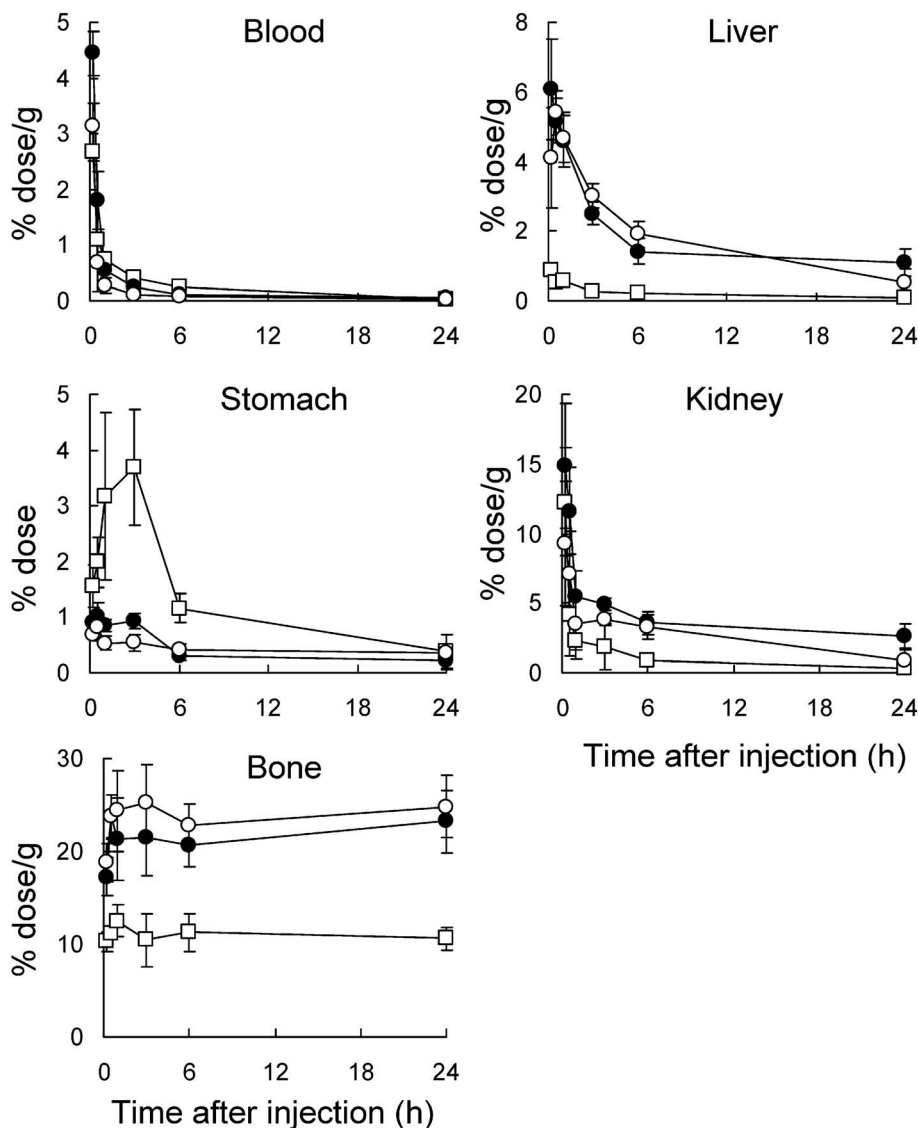


Fig. 3. Biodistribution of Radioactivity after Intravenous Administration of $^{186}\text{Re-MAMA-HBP}$ (○), $^{186}\text{Re-MAMA-BP}$ (●) or $^{186}\text{Re-HEDP}$ (□) in Mice

Each value represents the mean \pm S.D. for five or six animals.

しかしながら、 $^{186}\text{Re-MAMA-HBP}$, $^{186}\text{Re-MAMA-BP}$ を投与した場合、非標的組織、特に肝臓への放射能集積が $^{186}\text{Re-HEDP}$ と比べて有意に高値を示した。このことは、標的分子との結合性と RI との結合安定性のみでは、標的分子への放射能ターゲティングが達成できないことを意味するものである。

3. 放射性レニウム標識二官能性放射性医薬品の体内動態の制御

$^{186}\text{Re-MAMA-HBP}$ の分子設計に当たり、 ^{186}Re 単核錯体形成部位として、ビスホスホネートのヒドロキシアパタイトへの結合性に影響を与えないよう、電氣的に中性の ^{186}Re 錯体を形成する MAMA

を配位子として選択した。しかし、この錯体構造を有する $^{186}\text{Re-MAMA-HBP}$, $^{186}\text{Re-MAMA-BP}$ は、骨への高い結合性を示したものの、非標的組織、特に肝臓への放射能集積が高く、その結果、標的部位への選択的な放射能送達が達成されなかった。この原因として、両化合物に共通する $^{186}\text{Re-MAMA}$ 錯体構造の脂溶性が原因ではないかと考え、 ^{186}Re 標識ビスホスホネートの体内放射能動態を制御し、腫瘍骨転移部位に放射能をターゲティングするべく、水溶性を向上させた ^{186}Re 単核錯体結合ビスホスホネートを分子設計することを計画した。そのために、 ^{186}Re 錯体形成の配位子として MAMA 配位子より

水溶性が高く、Re と安定な錯体を形成し、生成した錯体が -1 価の電荷を有する mercaptoacetyl-glycylglycylglycine (MAG3) を選択し、ビスホスホネートに $^{186}\text{Re-MAG3}$ 錯体を結合した [[[(4-hydroxy-4,4-diphosphonobutyl) carbamoylmethyl] carbamoylmethyl] carbamoyl-methyl] carbamoylmethanethiolate] oxorhenium (V) ($^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$, Fig. 1 (D)) を設計した。¹⁰⁾

$^{186}\text{Re-MAMA-HBP}$ の合成と同様に、MAG3 のメルカプト基をトリチル基で保護したものを標識前駆体として使用し、 ^{186}Re 標識反応の直前に、トリチル基を脱離して $^{186}\text{ReO}_4^-$ と反応させることにより、 $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ を放射化学的収率 76%、放射化学的純度 95% 以上で得ることに成功した。

合成した $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ の安定性を確認するため、酸素で飽和したリン酸緩衝液中でインキュベートした (Table 1)。その結果、24 時間後においても、その大部分が未変化体として存在し、インビトロにおいて非常に高い安定性を有することが示された。またヒドロキシアパタイトに対する $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ の親和性を評価するために、ヒドロキシアパタイト懸濁液中で $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ をインキュベートしたところ、 $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ は、 $^{186}\text{Re-MAMA-HBP}$ と同様、水酸基を有していない $^{186}\text{Re-MAMA-BP}$ と比べて、有意に高いヒドロキシアパタイトとの結合親和性を示した (Fig. 2(A))。この結果は、本薬剤設計において、 ^{186}Re 錯体の構造・性質は、ビスホスホネート構造のヒドロキシアパタイトへの結合性に影響を与えないことを示すものであり、 ^{186}Re 錯体の構造変化により、標的分子への認識性を損なうことなく、体内動態を制御できる可能性が示された。

そこで、 $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ をマウスに投与し、その体内分布を $^{186}\text{Re-MAMA}$ を錯体として用いた場合と比較検討した (Fig. 4)。その結果、 $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ は投与後速やかに、血液から消失し、胃への放射能集積も低く、インビボにおいても、非常に安定であることが示された。また標的部位である骨には投与後速やか、かつ非常に高く集積し、長時間滞留することが明らかとなった。一方、非標的組織である肝臓及び腎臓への集積も $^{186}\text{Re-MAMA-HBP}$ と比べて、有意に低いものであった。さらにこれらの ^{186}Re 標識ビスホスホネートの脂溶性を評

価するため、オクタノール/水分分配係数を測定した (Table 2)。その結果、 $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ は、 $^{186}\text{Re-MAMA-HBP}$ 、 $^{186}\text{Re-MAMA-BP}$ と比べて、水溶性が向上していることが明らかとなった。したがって、 $^{186}\text{Re-MAMA}$ を導入したビスホスホネートにおける肝臓、腎臓の放射能集積性は、錯体構造として選択した $^{186}\text{Re-MAMA}$ の脂溶性に起因すると考えられる。

以上の結果から、 $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ が腫瘍骨転移部位へ ^{186}Re を選択的に送達する薬剤としての基本的性質を有することが示されたため、骨転移モデルラットを作製し、腫瘍骨転移部位への集積性を評価するとともに、内用放射線治療薬剤としての有効性を検討した。¹¹⁾ そこで、ラット乳がん細胞 MRMT-1 を雌性 SD ラットの左足脛骨の骨髓腔に移植することにより骨転移モデルラットを作製した。¹²⁾ 反対側の右足脛骨の骨髓腔にはコントロールとして用いてメEDIUMのみを注入した。がん細胞を移植した 3 週間後に $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ もしくは $^{186}\text{Re-HEDP}$ を 55.5 MBq/kg の投与量で単回投与した。まず、 $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ の体内分布を評価するため、投与 24 時間後に、SPECT 撮像を行ったところ、がん細胞を移植した部位に高く集積していることが認められた (Fig. 5)。そこで、このモデルに対する各 ^{186}Re 標識化合物の疼痛緩和効果の評価するために von Frey filament test を行った。¹³⁾ すなわち、1.65-6.45 mN までの各フィラメントを用い、細いフィラメントから順に 5 回ずつ足底を刺激、ラットが痛感反応を示したフィラメントをしきい値 (mN) とし、そのしきい値の左右足比を算出することにより痛みの指標とした。その結果、 $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ 投与群は、非投与群に対して有意な疼痛緩和効果を示した (Fig. 6(A))。また、 $^{186}\text{Re-HEDP}$ 投与群も、非投与群に対して疼痛緩和効果を示したが、その効果は、 $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ 投与群の方が大きかった。一方、腫瘍増殖に及ぼす ^{186}Re 標識化合物の効果を検討するため、腫瘍容積の経時変化を調べた結果を Fig. 6(B) に示す。腫瘍の容積は式 $\text{Volume} = [\text{length} \times (\text{width})^2] / 2$ により求め、 ^{186}Re 標識化合物投与時 (がん細胞移植 3 週間後) に対する相対値で示した。その結果、 $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ 投与群では、非投与群と比較して有意にがんの増殖が抑制された。一方、 ^{186}Re

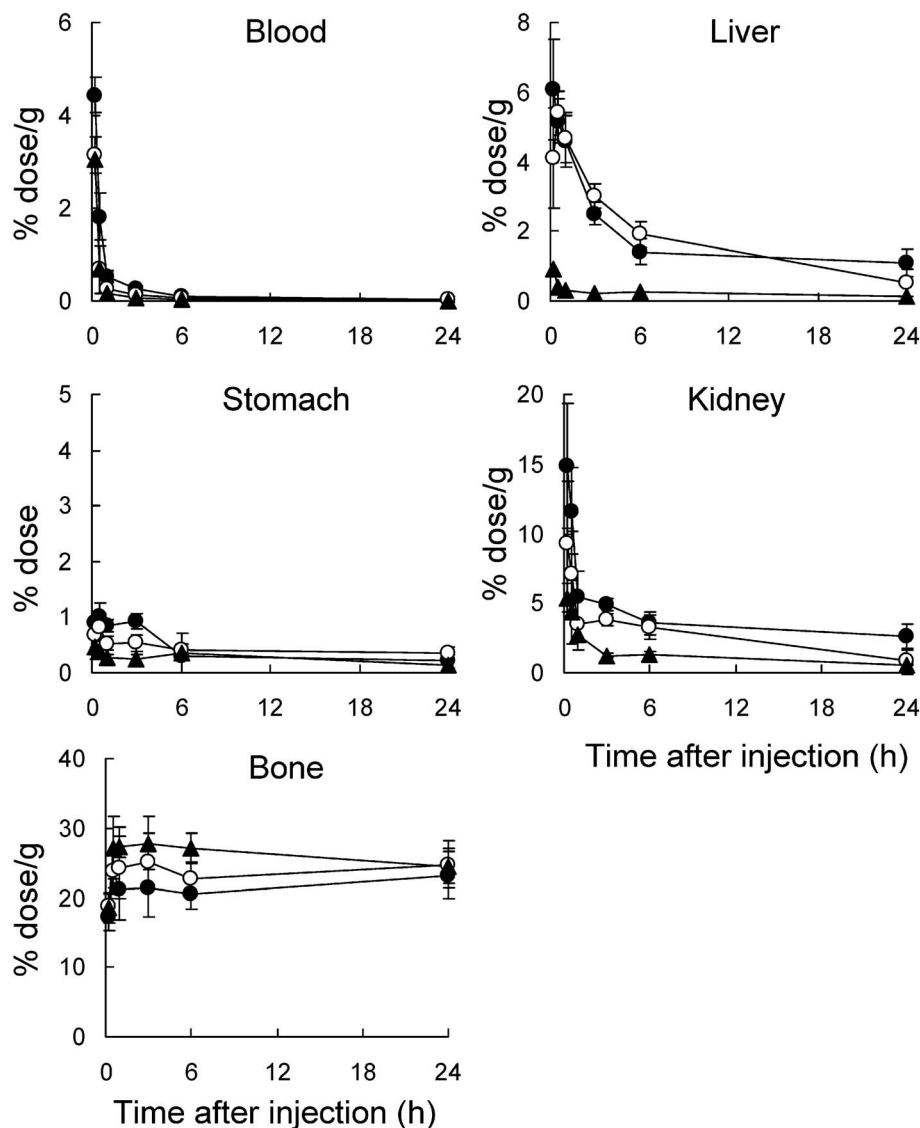


Fig. 4. Biodistribution of Radioactivity after Intravenous Administration of ^{186}Re -MAG3-HBP (\blacktriangle), ^{186}Re -MAMA-HBP (\circ), or ^{186}Re -MAMA-BP (\bullet) in Mice

Each value represents the mean \pm S.D. for five or six animals.

Table 2. Partition Coefficient of ^{186}Re -labeled Compounds

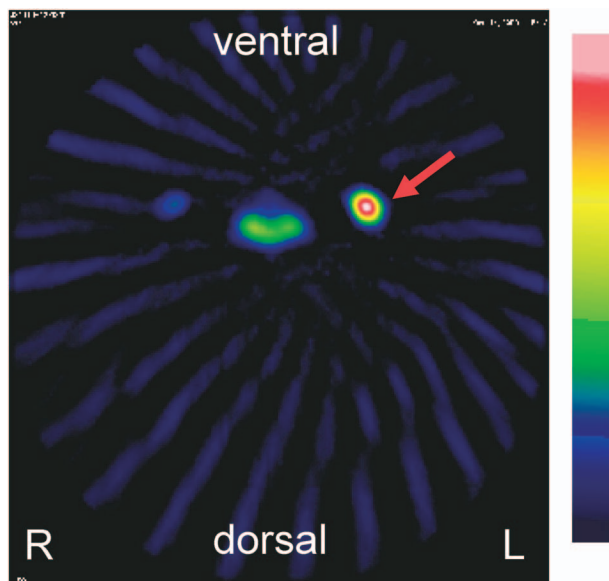
Compound	log P
^{186}Re -MAMA-BP	-0.96 ± 0.01
^{186}Re -MAMA-HBP	-1.02 ± 0.01
^{186}Re -MAG3-HBP	-2.68 ± 0.01

Each value represents the mean \pm S.D. for three experiments.

HEDP 投与群においては、がん増殖抑制効果は観察されなかった。さらに今回使用した ^{186}Re 標識化合物の副作用の指標として血球数を経時的に計測した。その結果、すべての群において、有意な血球数

の減少は認められなかった。

ビスホスホネートは強力な骨吸収阻害剤であることから、がんによる骨痛の治療にも使用されており、実際のがん患者の QOL が改善されることが最近報告された。¹⁴⁾ また、ビスホスホネートの 1 つであるゾレドロン酸が骨転移の疼痛緩和薬剤として有効であることが、骨転移モデルラットを用いた動物実験においても報告されている。¹³⁾ したがって ^{186}Re -MAG3-HBP で認められた治療効果が ^{186}Re の放出する β^- 線ではなく、ビスホスホネート構造に起因している可能性も考えられる。そこで、非放射性的のレニウムを用い、 Re-MAG3-HBP を合成し、



Transaxial Image

Fig. 5. SPECT Image at 24 h after Intravenous Administration of ^{186}Re -MAG3-HBP (222 MBq/kg) in a Rat Model of Bone Metastasis

Arrow indicates the site where tumor cells were injected.

^{186}Re -MAG3-HBP と同濃度を単回投与することにより治療効果の評価を行った。その結果、非放射性 Re-MAG3-HBP 治療群においては、von Frey filament test の反応しきい値の比、腫瘍増殖ともに、未治療群と比べて有意差は観察されなかった (Fig. 6)。したがって、 ^{186}Re -MAG3-HBP の治療効果は、ビスホスホネートの薬理効果ではなく、ビスホスホネート構造に由来して病変部位に高濃度に集積した ^{186}Re の放出する β^- 線に起因していると考えられる。

以上、骨転移モデルラットを用いた検討において、 ^{186}Re -MAG3-HBP ががん移植部位周辺に高く集積し、単回投与で、骨髄抑制を示すことなく、有意な疼痛緩和効果、腫瘍増殖抑制効果を示すことを見出した。これらの結果から、 ^{186}Re -MAG3-HBP は転移性骨腫瘍の内用放射線治療を目的とした放射性薬剤として有効である可能性が示された。

4. おわりに

本稿では、標的部位への放射能ターゲティングを達成するためのインビボ放射性医薬品の分子設計例として、腫瘍骨転移の内用放射線治療を目的とした

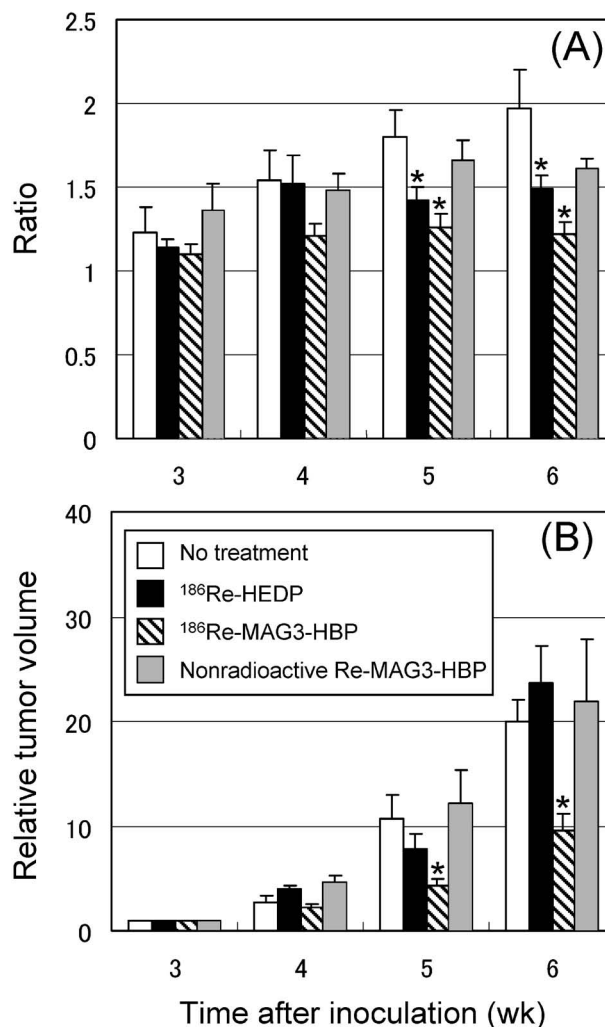


Fig. 6. Therapeutic Effects of ^{186}Re -MAG3-HBP in Rat Models of Bone Metastasis

(A) Palliation effects on bone cancer pain. Data are expressed as ratio of right (contralateral) withdrawal paw threshold values to left (ipsilateral) values (mean \pm S.E. for five to seven rats). (B) Inhibition of growth of MRMT-1 tumor cells on therapy. Data are expressed as tumor volume relative to that on day of treatment (mean \pm S.E. for five to seven rats). Significance was determined using one way ANOVA followed by the Dunnett post hoc test (* $p < 0.05$ vs. no treatment).

放射性レニウム標識薬剤の分子設計を紹介した。ここで示したように、インビボにおいて標的分子に放射能を選択的に送達するには、標的分子の認識性と RI の結合安定性のみでは十分でなく、体内動態を制御する、特に非標的組織への集積を低減させる分子設計が重要となる。腫瘍骨転移の内用放射線治療を目的とした放射性レニウム標識ビスホスホネート製剤については、比較的簡単な構造変更による脂溶性の変化によって、非標的組織への集積を著しく低減することが可能となった。こうした体内放射能動態の制御については、これまでに、電荷修飾による

制御,¹⁵⁻¹⁷⁾ 放射性代謝物の脂溶性の変化による制御,^{18,19)} 非標的組織に存在する酵素の分子認識を利用した制御²⁰⁻²³⁾などに成功している。

最近, 世界的に分子イメージングの研究に注目が集まり, こうした研究への大型研究予算の配分が精力的に進められている。分子イメージングにはいくつかのモダリティがあるが, 多くの場合, イメージング用分子プローブがその基盤技術を担っている。ここで示した放射性プローブと同様に, 生体中の標的分子をインビボで捉える(インビボイメージング)ためには, 標的分子の認識性とシグナル分子の結合安定性のみでは十分でなく, 体内動態を制御する分子設計が重要となると考える。今後, インビボ放射性医薬品の分子設計法をさらに高精密化することにより, 核医学診断・治療の発展のみならず, 様々なモダリティにおける分子イメージング研究の促進につながることを期待する。

REFERENCES

- Arcangeli G., Giovinazzo G., Saracino B., D'Angelo L., Giannarelli D., Arcangeli G., Micheli A., *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **42**, 1119-1126 (1998).
- Finlay I. G., Mason M. D., Shelley M., *Lancet Oncol.*, **6**, 392-400 (2005).
- Lam M. G., de Klerk J. M., van Rijk P. P., *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **31**, S162-170 (2004).
- de Klerk J. M., van Dijk A., van het Schip A. D., Zonnenberg B. A., van Rijk P. P., *J. Nucl. Med.*, **33**, 646-651 (1992).
- de Winter F., Brans B., van de Wiele C., Dierckx R. A., *Clin. Nucl. Med.*, **24**, 898-899 (1999).
- Ogawa K., Mukai T., Arano Y., Hanaoka H., Hashimoto K., Nishimura H., Saji H., *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **47**, 753-761 (2004).
- O'Neil J. P., Carlson K. E., Anderson C. J., Welch M. J., Katzenellenbogen J. A., *Bioconjug. Chem.*, **5**, 182-193 (1994).
- van Beek E., Hoekstra M., van de Ruit M., Lowik C., Papapoulos S., *J. Bone Miner. Res.*, **9**, 1875-1882 (1994).
- Ogawa K., Mukai T., Arano Y., Otaka A., Ueda M., Uehara T., Magata Y., Hashimoto K., Saji H., *Nucl. Med. Biol.*, **33**, 513-520 (2006).
- Ogawa K., Mukai T., Arano Y., Ono M., Hanaoka H., Ishino S., Hashimoto K., Nishimura H., Saji H., *Bioconjug. Chem.*, **16**, 751-757 (2005).
- Ogawa K., Mukai T., Asano D., Kawashima H., Kinuya S., Shiba K., Hashimoto K., Mori H., Saji H., *J. Nucl. Med.*, **48**, 122-127 (2007).
- Medhurst S. J., Walker K., Bowes M., Kidd B. L., Glatt M., Muller M., Hattenberger M., Vaxelaire J., O'Reilly T., Wotherspoon G., Winter J., Green J., Urban L., *Pain*, **96**, 129-140 (2002).
- Walker K., Medhurst S. J., Kidd B. L., Glatt M., Bowes M., Patel S., McNair K., Kesingland A., Green J., Chan O., Fox A. J., Urban L. A., *Pain*, **100**, 219-229 (2002).
- Mystakidou K., Katsouda E., Stathopoulou E., Vlahos L., *Cancer Treat. Rev.*, **31**, 303-311 (2005).
- Akizawa H., Arano Y., Mifune M., Iwado A., Saito Y., Mukai T., Uehara T., Ono M., Fujioka Y., Ogawa K., Kiso Y., Saji H., *Nucl. Med. Biol.*, **28**, 761-768 (2001).
- Akizawa H., Takimoto H., Saito M., Iwado A., Mifune M., Saito Y., Uehara T., Arano Y., Mukai T., Hanaoka H., Saji H., *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 271-272 (2004).
- Hanaoka H., Mukai T., Habashita S., Asano D., Ogawa K., Kuroda Y., Akizawa H., Iida Y., Endo K., Saga T., Saji H., *Nucl. Med. Biol.*, **34**, 503-510 (2007).
- Arano Y., Mukai T., Akizawa H., Uezono T., Motonari H., Wakisaka K., Kairiyama C., Yokoyama A., *Nucl. Med. Biol.*, **22**, 555-564 (1995).
- Ono M., Arano Y., Mukai T., Saga T., Fujioka Y., Ogawa K., Kawashima H., Konishi J., Saji H., *Bioconjug. Chem.*, **13**, 491-501 (2002).
- Arano Y., Inoue T., Mukai T., Wakisaka K., Sakahara H., Konishi J., Yokoyama A., *J. Nucl. Med.*, **35**, 326-333 (1994).
- Arano Y., Wakisaka K., Ohmomo Y., Uezono T., Mukai T., Motonari H., Shiono H., Sakahara H., Konishi J., Tanaka C., Yokoyama A., *J. Med. Chem.*, **37**, 2609-2618 (1994).

-
- 22) Mukai T., Fujioka Y., Arano Y., Saji H.,
Yakugaku Zasshi, **123**, 647–652 (2003).
- 23) Fujioka Y., Satake S., Uehara T., Mukai T.,
Akizawa H., Ogawa K., Saji H., Endo K.,
Arano Y., *Bioconjug. Chem.*, **16**, 1610–1616
(2005).