

《ノート》

^{99m}Tc 標識化合物の品質管理に対する Gel Chromatography Column Scanning (GCS) 法の検討

Evaluation of Gel Chromatography Column Scanning (GCS) Method
for Quality Control of ^{99m}Tc -Radiopharmaceuticals

木田 利之* 鈴木 晃** 樋口 義典**

Toshiyuki KIDA*, Akira SUZUKI** and Yoshisuke HIGUCHI**

**Fukushima Health Administration Center, Nippon Telegraph and Telephone Public Co.*

***Department of Radiology, Fukushima Medical College*

I. はじめに

現在、核医学分野においては、比較的短半減期であり、その γ 線の優れた物理学的性質を有するため、いろいろな ^{99m}Tc 標識化合物が広く利用されていることは周知の事実である。しかしながらしばしばこれらの標識化合物を用いて、目的とする臓器の鮮明な画像が得られないばかりか、目的以外の臓器までが描出され、シンチグラムの読影に大きな支障をきたすことを経験する。これは調整された ^{99m}Tc 標識化合物内に目的とする化合物以外の放射化学的不純物の混在によることが十分考えられる。それ故、 ^{99m}Tc を標識調製するたびごとに、得られた標識化合物の品質管理がどうしても必要である。われわれは、Darte, Persson^{1,2} が推奨する臨床に実用的な品質管理法すなわち Gel chromatography column scanning 法（以下 GCS 法と略す）に若干改良を加え、本法の有用性について検討したので報告する。

II. 対象および方法

1. 対象

今回は、われわれが最もしばしば用いる ^{99m}Tc -pertechnetate, -DMSA, -DTPA, -MDP, -phytate および-HSA の 6 種類を選んだ。

2. 方法

1) カラムの充填法

適当量の Sephadex G-25 Medium (Pharmacia Fine Chemical AB) を三角フラスコにとり、その約 2 倍量の蒸留水を加える。これを沸騰水浴中にて 2 ~ 3 時間放置する。冷却後、ゲルが充分混濁状態を保つように、ガラス棒を伝わらせながら、径 9 mm、長さ 12 cm のミニカラムにゲル混濁液を連続注入する。出来上ったゲルカラムを透過光により不均一層や気泡の混入を認めたものは除外する。なお使用前日には blue dextran を流してカラムの充填状態の点検を行った。

2) 展開法 (Table 1)

先に調製したカラムを使用して ^{99m}Tc 標識化合物を 0.9% 生理的食塩水 (pH 5) にて展開した。

3) カラムスキャニング法

このように処理されたカラムを Fig. 1 の如く、

Key words: Gel chromatography scanning, Quality control, ^{99m}Tc -radiopharmaceuticals.

* 日本電信電話公社福島健康管理所

** 福島県立医科大学放射線科

受付：57年3月19日

最終稿受付：57年6月21日

別刷請求先：福島市山下町5-10（郵960）

日本電信電話公社福島健康管理所

木田 利之

ガンマカメラ(東芝製 GCA-202)のパラレルホールコリメータの前面に垂直に立てて、カラム中の放射能分布をポラロイドフィルムまたはガンマイメージヤーにてXレイフィルムに等大に撮像した。エネルギーは140 keV、ウインドウ幅は20%を選んだ。

4) データ収集および分析法

ガンマカメラからのデータは、コンピュータ DAP 5000N により 128×128 matrix (2.7 mm/pixel) の形で収集され、matrix cell 当りの最大カウント数は 200 に限定した。データ分析は、カラム像の長軸中心線上の計数率をプロファイル表示、またはデジタル印字させることにより、main peak 値を決定した。定量性再現性をみるために目的とする標識化合物の分画計数率(fraction activity)を次

Table 1 A summary of the testing procedure:

- 1) Equibrating the column.
Column is eluted with ca 25 ml 0.9% NaCl solution (pH 5).
- 2) Eluent supplied in the column is drained away.
- 3) Sample application.
The sample is applied to the top of the gel bed. (the sample volume is one drop (0.05 ml) from a 1 ml-syringe)
- 4) The accurately measured elution volume (3.0 ml) transports the sample into the column.
- 5) Column is sealed.
- 6) Recording the activity distribution of the column (GCS profile).

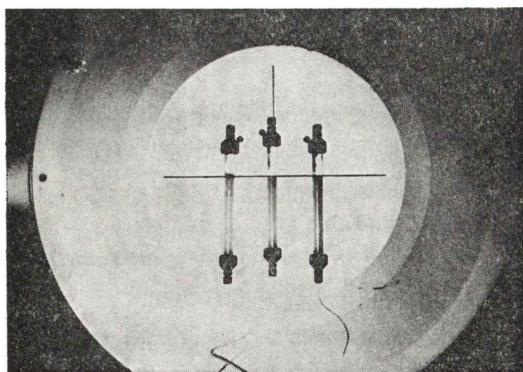


Fig. 1 Recording the activity distribution of three minicolumns at one time with a scintillation camera.

のようにして求めた。すなわち、印字させた数値より、ゲル最上端からの距離(X軸)-計数率(Y軸)曲線を作成し、この曲線からピークの半値幅(FWHM)を求め、この曲線と FWHM との交叉 2 点より X 軸へ垂線を下し、この垂線と曲線との間に囲まれた範囲内の合計計数率をもって、その標識化合物の分画計数率とし、全計数率(total activity)に対する分画計数率(fraction activity)の比をとり、fraction activity/total activity (%)を算出した。このようにして得られた main peak 値および fraction activity/total activity (%) の算出結果より、本法の再現性、定量性について検討した。

III. 結 果

1. main peak 値の検討

カラム中の放射能分布をガンマカメラ(マイクロドット・イメージヤー付)で撮像すると Fig. 2 の如き等大像が得られる。この等大像よりゲル最上端から最高放射能の中心部までの距離を実測することにより main peak 値を大まかではあるが簡単に測定可能である。ガンマカメラがコンピュータに接続されていれば、ガンマカメラからのデータを収集してプロファイル表示することによって一層正確なデータ分析が可能である。Fig. 3 上段はポラロイドで撮像した ^{99m}Tc -pertechnetate および ^{99m}Tc -MDP のカラム中の放射能分布像を示すが、Fig. 3 中段は ^{99m}Tc -pertechnetate のコンピ

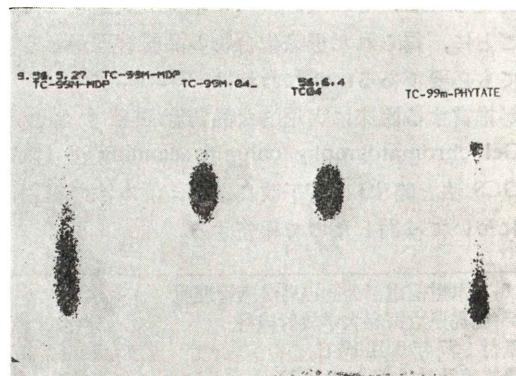


Fig. 2 Isometric images of the activity distribution of minicolumns (^{99m}Tc -MDP, -pertechnetate and -phytate).

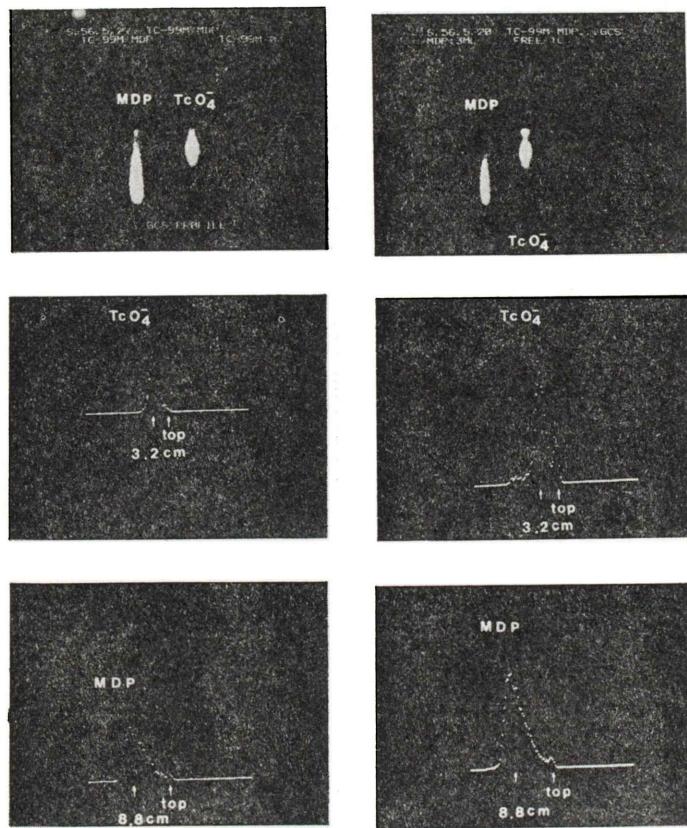


Fig. 3 The upper row shows polaroid images of the activity distribution of minicolumns (^{99m}Tc-pertechnetate and -MDP). The middle row shows profile displays of ^{99m}Tc-pertechnetate with (right) and without (left) radiochemical impurities. The lower row shows profile display of ^{99m}Tc-MDP.

ュータによる GCS プロファイル表示である。これによると ^{99m}Tc-pertechnetate の main peak はゲル最上端より 3.2 cm の所にある。また Fig. 3 中段左はほとんど不純物を含まない場合で、不純物が混在していると Fig. 3 中段右の如く、main peak 以外にゲル上端にピークを認め、このことから不純物の混在の有無を判定できる。Fig. 3 下段は ^{99m}Tc-MDP のプロファイル表示で、これの main peak は 8.8 cm であり、ゲル上端部にも放射能を認めた。Fig. 4 は、^{99m}Tc-DMSA, -DTPA および -phytate のカラム中の放射能分布像と GCS プロファイルを示すが、main peak はそれぞれ上端部、7.7 cm, 9.8 cm の所に認た。ただ ^{99m}Tc-phytate では、検討した全試料においてゲル最上

端にも必ず放射能を認めた。

^{99m}Tc-HSA は他の ^{99m}Tc 標識化合物に比べてボイドボリュームが小さいので 1.5 ml の溶出液で溶出した。Fig. 5 は ^{99m}Tc-HSA のもので、main peak はゲル最上端より 6.6 cm の所に認めた。

なお、今回われわれが行った分離結果より、ゲル上端部に不純物の存在を認めた放射性医薬品を実際に使用してシンチグラフィを試みたが、不純物の量が全体量に比し微量であったため、画像診断上、特に支障をきたしたものはない。

これらの main peak 値を Fig. 6 のように模式図に表わしておくと、簡単に目的とする化合物ならびに不純物の混在の有無を証明できる。

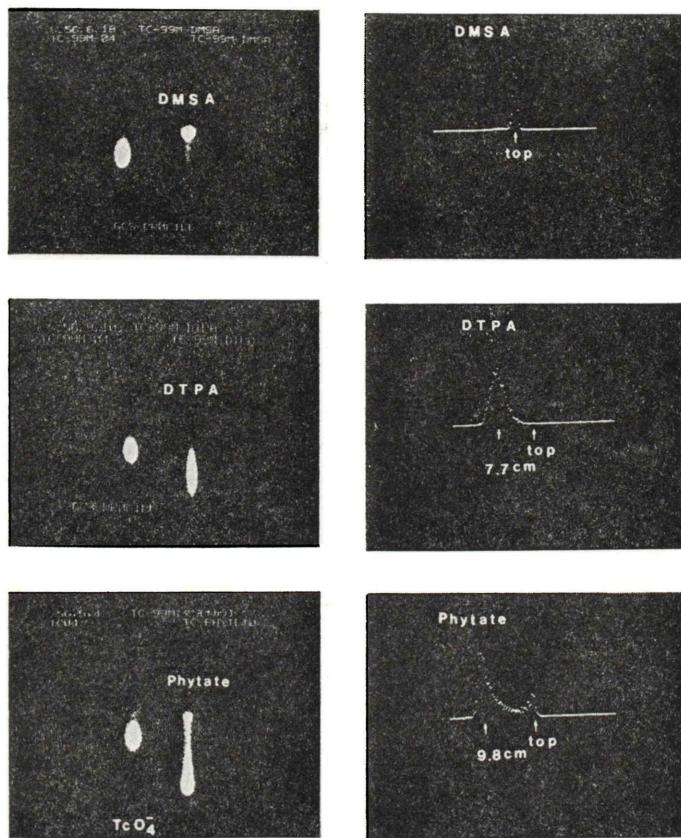


Fig. 4 The polaroid images of the activity distribution of minicolumns and the profile display: ^{99m}Tc -DMSA (upper row), ^{99m}Tc -DTPA (middle row) and ^{99m}Tc -phytate (lower row).



Fig. 5 The polaroid images of the activity distribution and the profile display of ^{99m}Tc -HSA.

2. 本法の再現性、定量性の検討

本法の再現性、定量性はいろいろな要因によって影響される。これらの中、カラム自体の充填状態の良否が大きな影響を与えることが充分考えられる。そこでまず、われわれが日常行っている充填技術が果して適切であるか否かを点検する意味で、同一ジェネレータから得られた過テクネチウ

ム酸ナトリウムを用いて同時に3本のカラムについて、移動距離および fraction activity/total activity (%) の平均値、標準偏差ならびに変動係数 (C. V. %) を検討した。その結果は Table 2 である。移動距離および fraction activity/total activity (%) の C. V. はそれぞれ Cow A では 10.98, 5.5%, Cow B では 8.60, 0.64% と良好な成績が得られたことから、われわれのカラムゲル充填技術で充分良好な再現性、定量性が得られるといえる。次に、一般に市販されているキットを用いて標識した場合、ロットの異なるキット間ではどうであるかについても検討した。Table 3 は ^{99m}Tc -MDP および ^{99m}Tc -phytate について、それぞれ 4 種類のキット間における結果を示している。移動距離

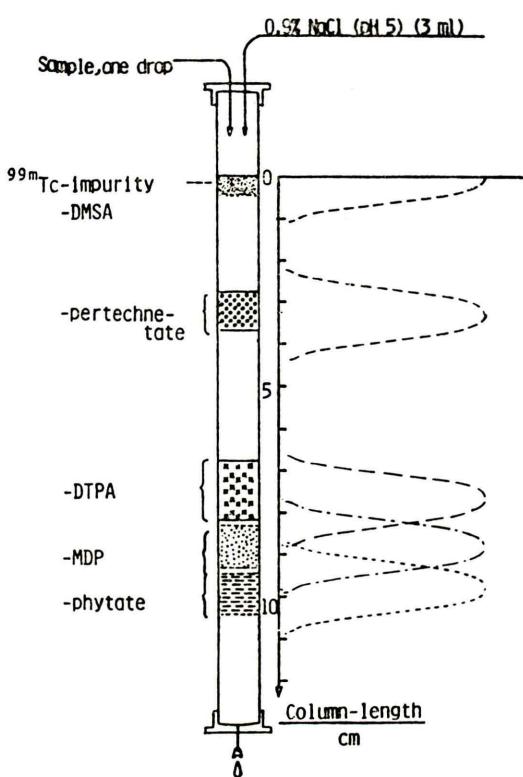


Fig. 6 Comparison of the main peaks in the GCS profiles of five common ^{99m}Tc-radiopharmaceuticals.

および fraction activity/total activity (%) の C. V. はそれぞれ ^{99m}Tc-MDP では 3.85, 3.67%, ^{99m}Tc-phytate では 6.96, 13.38% であった。 phytate における fraction activity/total activity (%) の C.V. がやや高値を示した以外は、良好な成績が得られた。

これらの一連のテスト完了までに要する時間は

Table 4 に示す如く、長くとも 15 分以内で結果が得られる。

IV. 考 案

核医学的画像診断において広く用いられている ^{99m}Tc 標識化合物は、一般に市販されているキットに ^{99m}Tc ジェネレータからの過テクネチウム酸ナトリウム (^{99m}Tc) 溶液を添加することによって得られる。そのキットの 1 バイアル中には、錯化剤や還元剤を含んでおり、時には pH 調整用の HCl または NaOH や安定剤を含んでいる。その標識結果は多くの因子、例えば用いられるキットの品質、過テクネチウム酸 (pertechnetium) 中の比放射能、標識の術式および投与前の標識化合物の取扱いなどに依存する。また多くの ^{99m}Tc 標識化合物内にはいろいろな放射化学的不純物が存在し得る。何故なら、^{99m}Tc 標識法には pertechnetate の還元反応を伴うので ^{99m}Tc 標識化合物内に未結合過テクネチウム酸 (free pertechnetate) や水酸化還元型 Tc (hydrolysed reduced Tc) が存在する可能性があり、さらに不適当な製造や標識法、または貯蔵による品質低下に起因する他の不純物も時には発生し得るからである。

未標識 ^{99m}Tc 不純物は、しばしば甲状腺、唾液腺、胃腸管へ、また微粒子状不純物は、肝、脾、骨髄および肺への uptake の増加をきたす。その他の放射化学的不純物はシンチ像に他の障害をもたらす。例えば肺スキャンにおいて非大凝集 ^{99m}Tc-HSA は循環血液からの background を増加する。このようなことから、実際に患者に投与する直前に放射化学的不純物が含まれていないことを迅速

Table 2 Reproducibility of migration depth and fraction activity to total activity (%) in ^{99m}Tc-pertechnetate obtained from the same cow

Cow	Migration depth (cm)	Mean (cm)	S. D.	C. V. (%)	Fraction activity to total activity (%)	Mean (%)	S.D.	C. V. (%)
A	3.00	3.28	0.36	10.98	70.19	71.35	3.92	5.50
	3.14				75.52			
	3.69				68.14			
B	2.87	3.14	0.27	8.60	73.34	73.88	0.47	0.64
	3.14				74.21			
	3.41				74.10			

Table 3 Reproducibility of migration depth and fraction activity to total activity (%) in ^{99m}Tc -MDP and ^{99m}Tc -phytate using four kinds of kits

Kit No.	Migration depth (cm)	Mean (cm)	S.D.	C. V. (%)	Fraction activity to total activity (%)	Mean (%)	S. D. (%)	C. V. (%)
^{99m}Tc -MDP	1 8.89	8.82	0.34	3.85	70.93	71.57	2.63	3.67
	2 8.89				75.07			
	3 8.34				71.55			
	4 9.16				68.72			
^{99m}Tc -phytate	1 9.43	9.77	0.68	6.96	46.39	42.01	5.62	13.38
	2 9.43				35.19			
	3 9.43				39.61			
	4 10.80				46.85			

Table 4 The time required in the test procedure.

- 1) Sample application and elution, 3 minutes.
- 2) Recording with scintillation camera:
Data aquisition of one to three columns at one time, ca. 2-3 minutes.
Data analysis and documentation, a few minutes.

に把握できるような品質管理テストが必要となる。現在, ^{99m}Tc 標識化合物の品質管理に薄層クロマトグラフ法(TLC), 紙クロマトグラフ法(PC)およびゲルクロマトグラフ法(GC)が広く採用されている。Eckelman ら³⁻⁵⁾は陰イオン交換クロマトグラフ法, 溶媒として 85% methanol または生食液(saline)を使用した PC ならびに溶出液として saline を用いた GC の 4 者で ^{99m}Tc 標識化合物を分析した結果, saline-PC と saline-GC が 3 分画(pertechnetate fraction, chelate fraction および hydrolyzed reduced technetium)に分離できたが, 前 2 者は hydrolyzed reduced technetium を分離せず, 目的とする標識化合物とともに移動するため, その化合物の収率を誤って高く評価することを示唆している。これに対して, Valk ら⁶⁾は, ゲルろ過前, 後の標識化合物について生体内分布実験を行い, その間になんら有意差を認めなかつたことから, ^{99m}Tc -chelate の GC によって示されたカラムから溶出されない分画すなわち, hydrolyzed reduced technetium は, 分析手技によるアーチファクトであるとした。しかし彼らの実験において用いた溶出液の saline の pH および窒素置換の有無に関して全く触れていない。また ^{99m}Tc -Sn-gluconate 4 検体を使ってゲルろ過中に

カラムに保持された放射能活性分画は 10~70%といろいろであったことを示した。しかしここでも, これらの 4 検体が同一ジェネレータまたは同一キットのものかそれとも全く異ったものについての実験結果であるかの記載がないのでなんともいえないが, 同一のものであるとすれば, この差異は種々の実験条件そのものによる影響かもしれない。Eckelman らや Darte & Persson は, この hydrolyzed reduced technetium の存在を認めており, われわれもまた, ゲル上端部に放射能を観察し, これは彼らのいう hydrolyzed reduced technetium に匹敵するものと考えている。生体内分布実験にしても, ゲルろ過前, 後の生体内分布だけで hydrolyzed reduced technetium がアーチファクトであると決めつけるのは早急であろう。得られた過テクネチウム酸ナトリウム溶液はもちろんのこと, 標識時に生成された hydrolyzed reduced technetium が ^{99m}Tc -chelate 溶液中に存在していることが充分考えられるからである。

また, Billinghurst⁷⁾は, PC, TLC および GC についても, いろいろな溶媒を組合せて, どの方法が ^{99m}Tc 標識化合物の品質管理に最適であるかについて詳細に検討している。これによると ^{99m}Tc -albumin の品質管理は Sephadex G 50 column で, ^{99m}Tc -DTPA は展開溶媒として saline もしくは butyl acetate を用いた TLC を推奨している。確かに, 純化学的には Billinghurst のいうように目的とする標識化合物の種類によっていろいろな分析法の使い分けをすべきであろう。しかし実際問題として小規模な臨床核医学検査室では,

これらの手技を網羅して行うことは困難である。routine clinical work としては、簡単かつ迅速な單一手技が望まれる。單一手技を選択するとすれば、Eckelman ら^{3~5)}、Billinghurst⁷⁾、Darte & Persson^{1,2)}の報告を総合して勘案してみると、paper-saline system か Sephadex GC が適していると思われる。しかし Billinghurst は paper-saline system は展開時間が長く、大気中酸化により重大な影響を受ける上に、手技的にも熟練と充分な経験を要し、小さな施設では正確な分析はむづかしいことを強調している。一方、Darte & Persson の報告によれば、GCS 法はテスト完了までに要する時間が短縮され、手技も簡単で、しかも再現性、信頼性からみても、PC および TLC に比してほとんど遜色がないという。われわれもまた彼らの方法（カラムの長さ 11 cm）に準じて行ったが、より良い分離能を得るためにカラムの長さを 12 cm に延長し、展開溶液量も彼らの 1.5 ml を 3.0 ml と増量して行ったところ、分離能も良く、再現性、定量性からみても充分 routine clinical work として利用できる結果を得た。

なお、現在わが国においても、厚生省が「放射性医薬品基準」を定めている。その中に放射性医薬品の純度を規定する純度試験が記載されている。これによると過テクネチウム酸ナトリウム(^{99m}Tc) は展開溶媒として 75 v/v% メタノールを用いて、PC で 3 時間展開、^{99m}Tc-DMSA: アセトン、アルミナによる TLC, 15 分、^{99m}Tc-DTPA: アセトン・水混液、PC, 2.5 時間、^{99m}Tc-MDP: メチルエチルケトン、TLC, 40 分間、^{99m}Tc-phytate: 85 v/v% メタノール、PC, 2 時間、^{99m}Tc-HSA: 75 v/v% メタノール、PC, 15 分展開するとなっている。このように ^{99m}Tc 標識化合物の種類により PC と TLC とを使い分けねばならず、さらに展開溶媒となるとそれぞれに異なってくる。ところが GCS 法では pH 調整した生理的食塩水のみで実施でき、テスト所要時間が非常に短く、どの核医学検査室でも手軽に実施できる。今後はこのような品質管理法を採用することによって、小規

模な核医学検査室でも簡単に品質管理ができ、RI 画像をより正しく評価できるものと考えている。

V. 結語

- 1) 本法は、簡単かつ短時間に再現性よく分析結果が得られ、したがって投与直前に目的とする^{99m}Tc 標識化合物と不純物の混在の有無を証明できる。
- 2) データ処理装置のない施設でも得られた等大像の main peak を実測することにより分析が可能である。
- 3) 本法は routine clinical work として小規模の核医学検査室でも^{99m}Tc 標識化合物の品質管理に充分利用できる。

本論文の要旨は第 21 回日本核医学会総会において発表した。

文献

- 1) Darte L, Persson RBR: Quality control of ^{99m}Tc-radiopharmaceuticals: Evaluation of GCS minicolumns in routine clinical work with scintillation cameras. Eur J Nucl Med **5**: 521-527, 1980
- 2) Darte L, Persson RBR: GCS minicolumns for rapid and reliable quality control of ^{99m}Tc-radiopharmaceuticals in routine clinical work. LUNF/(NFRA-3022) 1-19, 1980
- 3) Eckelman WC, Meinken G, Richards P: Chemical state of ^{99m}Tc in biomedical products. J Nucl Med **12**: 596-600, 1971
- 4) Eckelman WC, Richards P: Analytical pitfalls with ^{99m}Tc-labeled compounds. J Nucl Med **13**: 202-204, 1972
- 5) Eckelman WC, Meinken G, Richards P: The chemical state of ^{99m}Tc in biomedical products. II. The chelation of reduced technetium with DTPA. J Nucl Med **13**: 577-581, 1972
- 6) Valk PE, Dilts CA, McRae J: A possible artifact in gel chromatography of some ^{99m}Tc-chelates. J Nucl Med **14**: 235-237, 1973
- 7) Billinghurst MW: Chromatographic quality control of ^{99m}Tc-labeled compounds. J Nucl Med **14**: 793-797, 1973
- 8) Billinghurst MW: Gel chromatography as an analytical tool for ^{99m}Tc-radiopharmaceuticals. J Nucl Med **15**: 722-723, 1974