

《原 著》

Whole Body Counter (Plastic Scintillator) による ビタミン B₁₂ 吸収試験 (1) その基礎的検討

森 下 玲 児* 古 松 萱 子**

1950年, Chaiet ら¹⁾により放射性ビタミン B₁₂ (B₁₂) が合成精製されて以来, B₁₂ 吸収試験はそのほとんどが放射性 B₁₂ を用いて行われている。すなわち, 経口投与した放射性 B₁₂ の糞便中²⁾ または尿中排泄試験³⁾, 肝放射能摂取率測定法⁴⁾, 血漿中放射能測定法^{5), 6)} 等である。これらのいずれの方法によつても悪性貧血 (PA) の診断は可能であるが, B₁₂ 吸収の定量性に関しては糞便中排泄率の測定が最も優れている。しかしながら糞便の完全な回収が困難なことや, その取り扱いが煩わしい等の理由により Schilling の尿中排泄率測定法が用いられる場合が多い。この場合は B₁₂ 吸収率の結果を比較的早く知ることができるが, 24時間 (または48時間) 尿を全量採取することが困難なこと, 糞便の混入により一見正常の値を示すこと, 腎機能障害を有する患者では尿中排泄が遅延するため低値を示す可能性のあること, 1000μg の非放射性 B₁₂ を注射するため血液学的にただちに改善をみるとこと等の欠点がある。

Reizenstein ら⁷⁾, Heinrich ら⁸⁾ は whole body counter (WBC) を B₁₂ 吸収試験に応用し, この方法が非常に優れていることを報告した。昭和41年, 京都大学医学部に WBC が設置されて以来, 教室の日比野は主として Na I Scintillator を用いて B₁₂ 吸収試験の基礎的検討を行い報告してき

た⁹⁾⁻¹¹⁾。Na I Scintillator を用いる方法には Arc 法, Chair 法, Scanning 法等があるが, Arc 法および Chair 法では投与した放射性 B₁₂ の体内分布の時間的推移による変動のため 100% 値の決定が困難である。そのため 1 個の Na I detector を用いる場合には, Scanning 法や日比野ら⁹⁾ のいわゆる multiple detector 法のように, detector を固定して体位を転換して測定する方法が優れているが, 測定にかなり長時間を要する。そのため著者らは放射能エネルギーの分解能は悪いが, 測定感度の優れている Plastic Scintillator を用いて, B₁₂ 吸収試験の基礎的検討を行つたのでその結果について報告する。

I. 材料および測定法

(1) ⁶⁰Co-B₁₂ (Cyanocobalamin) : Abbott 社製, 比放射能 0.73~0.8 μCi/μg.

⁵⁸Co-B₁₂ (Cyanocobalamin) : CIS 製, 比放射能 3.85~124 μCi/μg. はじめに非放射性 B₁₂ を加え比放射能を 2 μCi/μg に希釈して用いた。

(2) 測定法

著者らの用いた WBC についてはすでに詳細な報告があり^{12), 13)}, Na I Scintillator と Plastic Scintillator の測定感度についての基礎的なデータについても報告されている^{12), 13)}。すなわち Plastic Scintillator は 50×50×15 cm³ (厚さ) の大きさからなる 4 個の probe が直列に配置され, その各々はまた 4 個の光電子増倍管を有し測定ベッド下 8 cm の位置にあり, 測定される患者はこのベッド上に横臥して測定される。早朝空腹時に

* 京都大学医学部第一内科

**同中央放射線部同位元素部門

受付: 50年1月23日

別刷請求先: 京都市左京区聖護院川原町 54(〒606)

京都大学医学部第一内科

森 下 玲 児

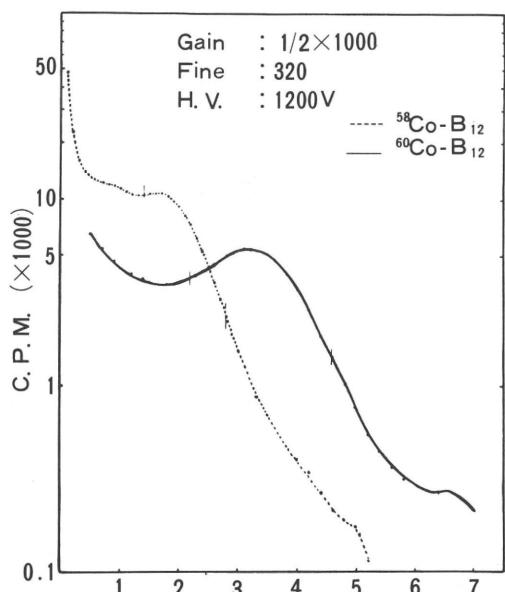


Fig. 1 Gamma spectra of ^{58}Co - and ^{60}Co -labeled vitamin B_{12} by whole body counter (plastic).

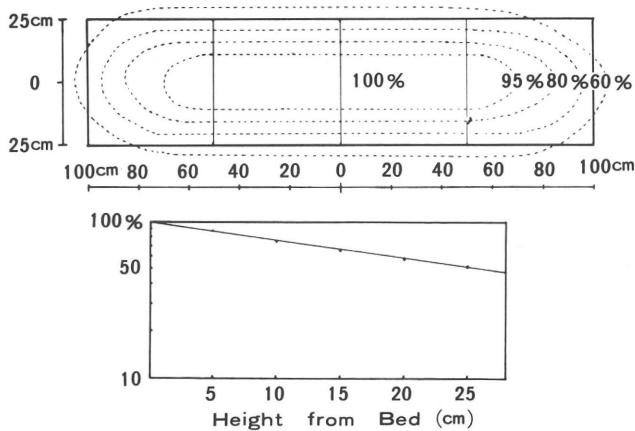


Fig. 3 Isoresponse area on the bed of plastic scintillator and efficiency of the counting by the different heights from the bed

患者はまず body background を測定され、続いて $^{60}\text{Co-B}_{12}$ 0.17~0.2 μg (0.16 μCi 以下) または $^{58}\text{Co-B}_{12}$ 0.2 μg (0.4 μCi 以下) を約 100 倍の水と共に経口投与される。放射性 B_{12} 投与後少なくとも 2 時間は飲食、薬剤の摂取は禁止した。とくに B_{12} を

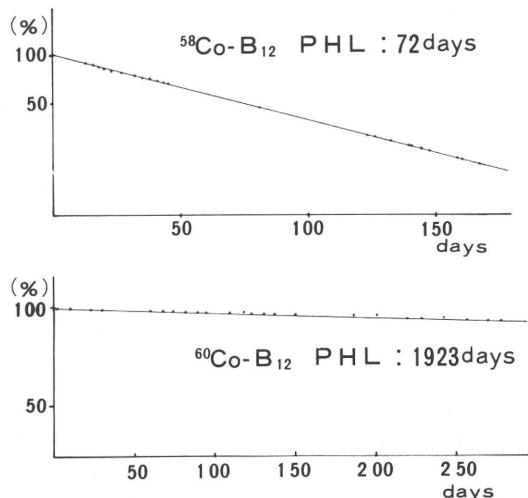


Fig. 2 Decay of ^{58}Co - and ^{60}Co -labeled vitamin B_{12} point source measured by plastic scintillator.

含む薬剤の投与は測定前少なくとも 3 日間および測定期間中は禁煙した。なお測定は後述するように supine と prone でそれぞれ 100 秒間ずつ 3 回測定し、その平均を用いた。

(3) 測定患者はすべて B_{12} 吸収試験を申し込んだ患者である。

(4) 相関係数は最小自乗法により計算した。

II. 成 績

(1) Plastic Scintillator による放射性 B_{12} の測定条件の決定と測定感度についての検討

$^{58}\text{Co-B}_{12}$ および $^{60}\text{Co-B}_{12}$ の各々の点線源を用いて横軸に channel 数を、縦軸に channel 每の計数値 (net CPM) を plot すると Fig. 1 のような各々の spectrum が得られるが、これらの spectrum の縦線で示したエネルギー範囲で計数を行った。この図から明らかによう各々の spectrum は幅広い peak をもつため、他の核種の分離測定ができない欠点がある。そのため ^{40}K や他の核種の contamination の補正には十分注意する必要がある。 ^{137}Cs , $^{58}\text{Co-B}_{12}$ および $^{60}\text{Co-B}_{12}$ の各々の点線源、並びに KCl を用いて

測定した ⁴⁰K の γ 線 spectrum の peak は、それぞれ 0.48, 0.616, 1.038 および 1.24 MeV を示し、これらの間には良好な直線関係が認められた。Fig. 2 に ⁵⁸Co-B₁₂ および ⁶⁰Co-B₁₂ の点線源の測定を示したが、その測定値の物理的半減期より算出した値との誤差は 2 % 以下で非常に安定している。Fig. 3 にベッド上での ⁶⁰Co-B₁₂ 点線源による等感度曲線と高さの影響を示す。放射性 B₁₂ を経口投与した場合、経時的に B₁₂ は胃、小腸と降下吸収され、吸収された B₁₂ はほとんど肝に摂取される。従ってこの図の上部に示すように、その放射能は 90 % の感度の部分で測定されることになる。他方高さの影響は大きく Fig. 3 の下部に示すようにベッドから 10 cm 離れると測定感度は約 77 % に減じる。この事は経口投与後の放射性 B₁₂ の局在部位による影響が大きいことを示している。

(2) Body background と身長、体重および年齢との関係

Fig. 4 および Fig. 5 は使用した放射性 B₁₂ の条件により各患者で測定した body background をそれぞれの患者の身長、体重に応じて plot したも

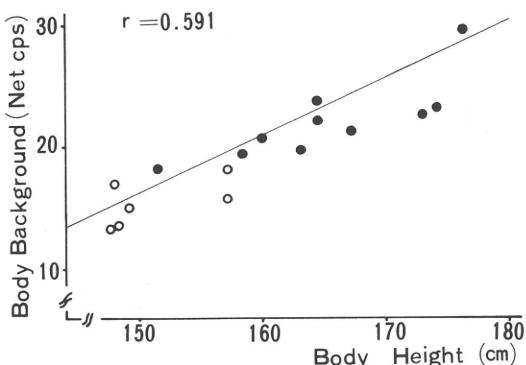


Fig. 4 Body background in ⁶⁰Co-channel correlated to body height.

● Male

○ Female

のであるが男女共に身長、体重の増加につれ body background も増加している。これは各人の ⁴⁰K が体格ごとに体重(筋肉量)と相關する事実と一致する。Fig. 6 にみる年齢と body background との間にも弱い逆相関がみられるが、この事実も成人では ⁴⁰K が年齢と共に減少する成績と一致する。この測定成績から体格その他のによる body background の計測値の変動が、どの程度までは

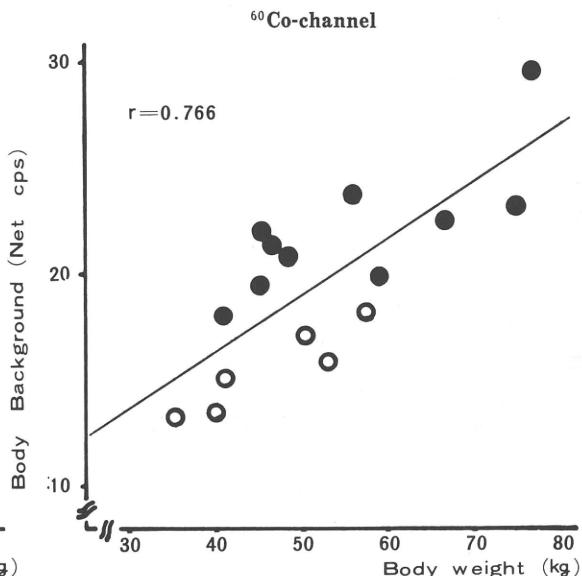
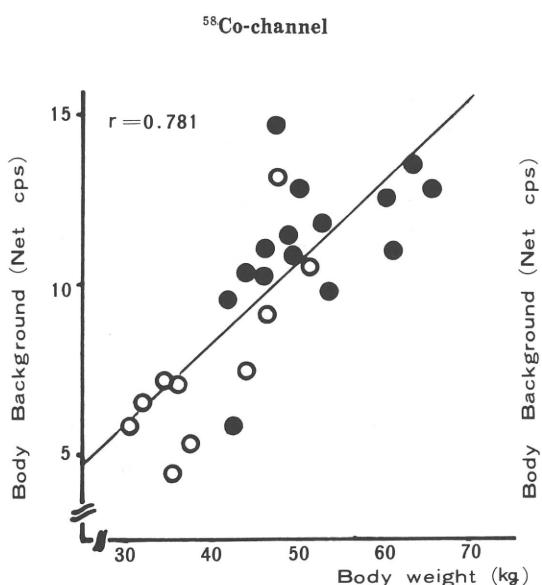


Fig. 5 Body background in ⁵⁸Co or ⁶⁰Co-channel correlated to body weight.

● Male

○ Female

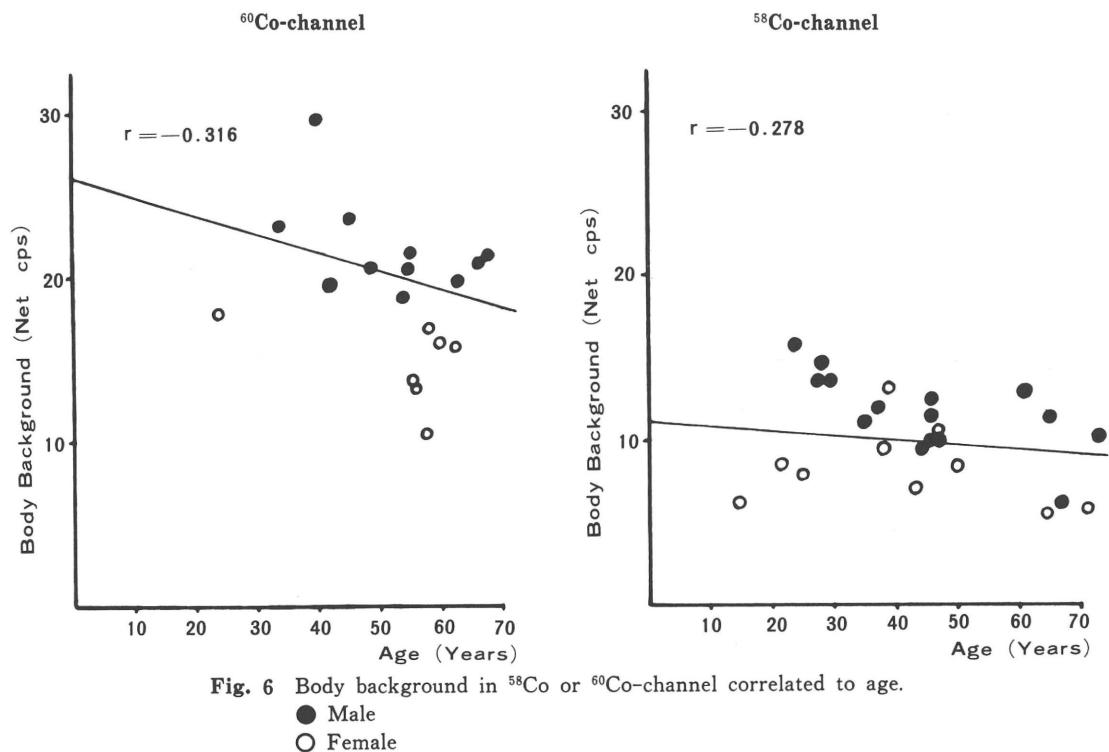


Fig. 6 Body background in ^{58}Co or ^{60}Co -channel correlated to age.

● Male
○ Female

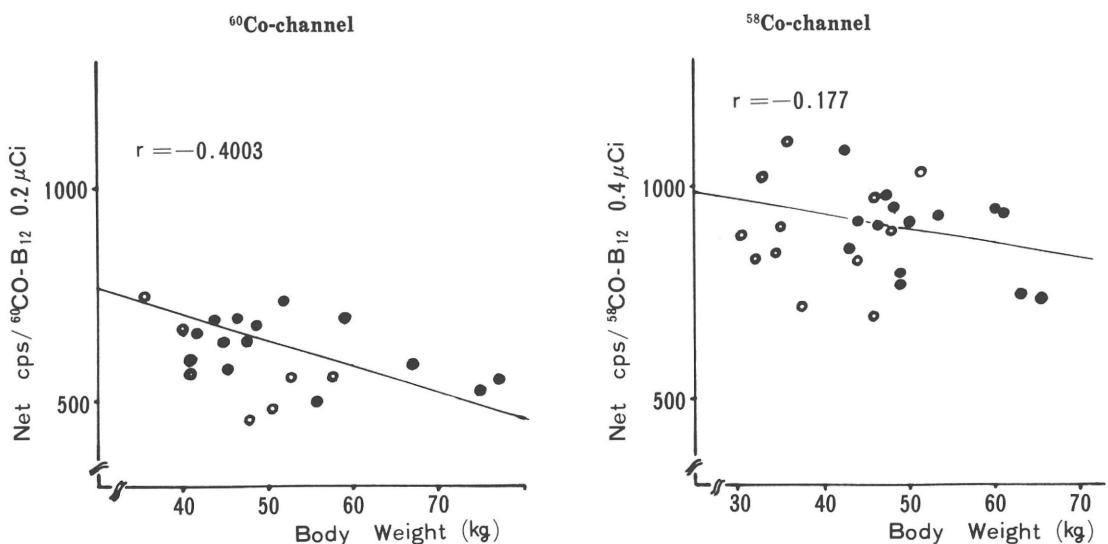


Fig. 7 Radioactivity at 35 minutes after oral uptake of radioactive B_{12} (Net cps per 0.2 μCi ^{60}Co -or 0.4 μCi $^{58}\text{Co-B}_{12}$) correlated to body weight.

● Male
○ Female

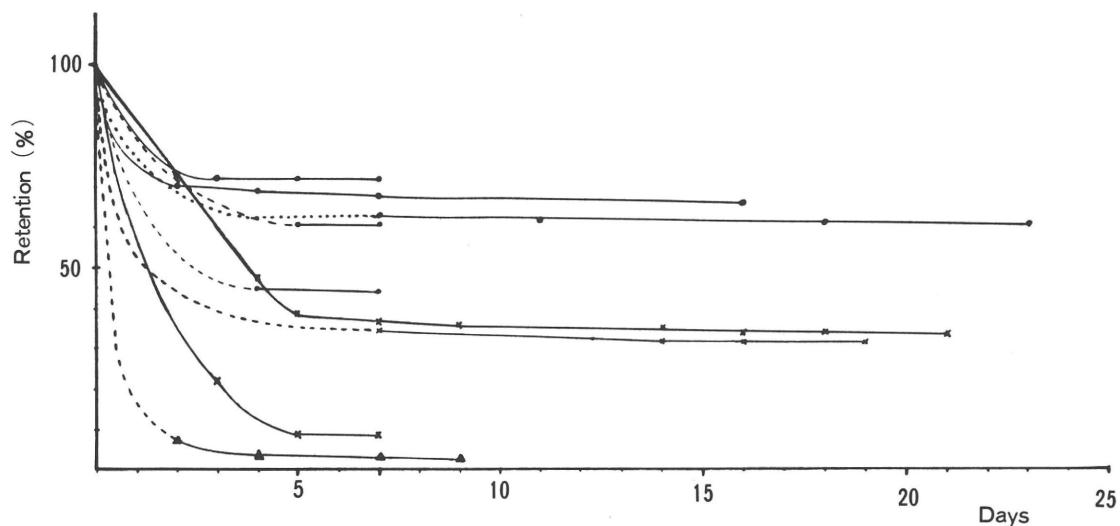


Fig. 8 Body retention of radioactive B₁₂ in patients with various disorders.

いわゆる自然の⁴⁰Kによるbody backgroundである可能性があるかを知ることができ、このbody backgroundの計測値が著しく高い場合には他の核種のcontaminationを考慮する必要がある。

(3) 100%値の決定とその身長、体重との関係

前述したようにsupineの位置のみの測定では放射性B₁₂の局在部位による影響が大きく、100%値もB₁₂投与後何時測定するかによって変動が大きい。そこでsupineとproneの位置で放射能を測定し、その平均値を一部の患者で経時的に追跡した。35分後の測定値を100%とした場合、第1例で2時間後の値は93%，7日後は32.1%，第2例では24時間まで排便がなくこの時の値が96.3%，第3日で65.5%，第5，第7日では全く変わらずいすれも60.3%を示した。第3例は頑固な便秘症のある患者で第3日96%，第4日96%と第1回の排便までの測定値の変動は7%以下であった。そのため外来患者での待ち時間も考慮して、放射性B₁₂経口投与後35分のsupineとproneの測定値の平均を100%値とした。この100%値に用いたnet CPSを⁵⁸Co-B₁₂では0.4 μ Ci、⁶⁰Co-B₁₂では0.2 μ Ci投与した場合のCPSに換算し、点線源の値によって補正したCPS値に直し、各々の患者の体重に応じてplotすると弱い逆相関が認められた

(Fig. 7)。この場合⁵⁸Co-B₁₂も⁶⁰Co-B₁₂も同様の傾向を示したが、⁵⁸Co-B₁₂の方がこの傾向は弱い。男女差はほとんどない。この体重の影響は、放射性B₁₂が肝に摂取された時期の測定においても同様の傾向を示すはずであり、その影響はある程度cancelされる。またこの100%値を同様に比体重(体重/身長)に応じてplotすると、Fig. 7とほぼ同様の傾向を示した。すなわちplastic scintillatorを用いてのB₁₂吸収試験においては、体格の大きな人の測定効率は多少悪いといえる。

(4) 吸収率測定日の決定

数例の患者で放射性B₁₂投与後2~3日の間隔で1~3週間WBCで放射能を測定したところ、頑固な便秘症のない限り放射性B₁₂が排便によって失われる最初の2日間は急速に体内放射能は減じ、肝に摂取された後では測定値は安定し、5日目以後は一定期間は直線的に減少する(Fig. 8)。従って7日後の測定値を点線源で補正した値と35分後の測定値すなわち100%値との割合からB₁₂吸収率を求めた。なおWBCによるB₁₂吸収率と糞便中排泄率測定によるB₁₂吸収率がよく一致することは教室の日比野ら^{9), 10)}がNa I detectorを用いて検討した成績でも文献的⁸⁾にも認められている。

(5) 再検査時におけるbody backgroundの

補正

Fig. 8 からも明らかなように、7日目以後の放射性 B_{12} の turnover rate はほぼ一定で、一定期間は直線的に減少する。従って最初の B_{12} 吸収試験の後2~3日の間隔で body background を測定し、その減少率を得れば、body background の補正により引続いて内因子添加による B_{12} 吸収試験等の次の検査を施行し得る。

(6) 最小検出限界 (Minimum Detectable Amount, M.D.A.) について

$^{58}\text{Co}-B_{12}$ を用いて以上述べてきた方法により、plastic scintillator で測定した13人の患者から計算した M.D.A. は 0.41nCi である。ちなみに日比野が $^{60}\text{Co}-B_{12}$ を用い Na I detector を用いて 66cm Arc 法で測定した20人の患者から計算した M.D.A. は 2.15nCi であった。

III. 考 案

放射線被曝、ことに医療被曝をいかに少なくするかは医療従事者すべてが注意すべき問題である。 B_{12} 吸収試験は一般的には Schilling 法が広く用いられている。すなわち $0.5\sim1.0\mu\text{Ci}$ ($0.5\sim1.0\mu\text{g}$) の放射性 B_{12} の経口投与後2時間目に $1000\mu\text{g}$ の非放射性 B_{12} を注射し、吸収された放射性 B_{12} を24~48時間尿中に追い出して、その計測値から吸収率を得る方法である。放射性 B_{12} としては ^{60}Co -, ^{58}Co -, $^{57}\text{Co}-B_{12}$ が使用されるが、 $^{60}\text{Co}-B_{12}$ は半減期が1923日と長く、人体への被曝エネルギーが強いこともあり現在ではほとんど使用されない。最初著者らも $^{60}\text{Co}-B_{12}$ を使用していたが、最近は $^{58}\text{Co}-B_{12}$ を使用している。

$^{58}\text{Co}-B_{12}$ は半減期も72日と比較的短く、WBC (plastic) は測定感度が優れているため、その使用量も最初に $0.2\mu\text{g}$ ($0.4\mu\text{Ci}$) の比放射能に希釈した batch を作製して、aliquot に分けて保存して使用するため、ほとんどの患者は $0.1\sim0.2\mu\text{Ci}$ の投与量で測定される。従って人体への被曝線量は $0.3\sim1\text{ mrem/week}$ となる⁸⁾。 $0.05\mu\text{Ci}$ の B_{12} 量でも十分測定可能である。WBC を使用する長所としては、少量の放射性 B_{12} 投与で測定できる、

屎尿の回収を必要とせず正確な吸収率が得られる、腎機能に影響されない、必要ならば長期間の代謝を追跡し得る、大量の非放射性 B_{12} の注射を要しないため診断上必要な他の検査への影響をさけ得る、測定される患者の精神的、身体的負担がほとんどないこと等があげられる。欠点は高価な測定機器を必要とし、結果を得るまで比較的の日時を要する事である。Fig. 2 に示すように room background の測定値の変動および点線源の測定値と、物理的半減期から算出した値との誤差は非常に少なく約 2% 以下である。本方式の plastic scintillator は測定効率は非常に優れているが、高さの影響が強いため supine と prone の位置での測定値の平均を用いて、この高さによる影響を cancel する必要がある。

WBC を用いて B_{12} 吸収試験を行う場合に最も問題となるのは、(1) B_{12} 経口投与後何日目の値を吸収率とするか、(2) 100% 値をいかにして決定するかの 2 点である。(1)については Fig. 8 にみるように経目的に測定した場合、よほど頑固な便秘症のない限り 5 日目以後の測定値はほとんど変化がみられない。このことは日比野ら^{9), 10)} が WBC による B_{12} 吸収率と糞便中排泄率による B_{12} 吸収率とはよく一致することを認めており、また Fish ら¹⁴⁾ が非吸収性の ^{60}Co 標識 microspheres を用いて検討した成績でも、7日目以後の便中排泄はほとんど認めていない。Irvine ら¹⁵⁾、Finlayson ら¹⁶⁾ は時に下剤を投与しているが特殊な場合以外にはその必要性はない。以上のような理由により 7 日後の測定値で B_{12} 吸収率を求めた。(2)の 100% 値については WBC を用いての B_{12} 吸収試験において、その決定は最も困難でありまた議論のある点である。日比野ら⁹⁾⁻¹¹⁾ は種々検討した結果 $8\times4\text{ inch}$ Na I detector 1 個によりいわゆる multiple detector 法を考案し、 B_{12} 投与後便前24時間経時的に測定した値はほぼ 3% の変動しか示さず、かなり安定した値が得られた事を報告した。今回著者らの plastic scintillator による測定でも B_{12} 投与35分後の測定値を 100% とした場合、第一回排便までの測定値の変動はほぼ 7% 以下であった。従って

B₁₂ 経口投与後任意の時間の測定値を 100% 値とし得るが、外来患者を含めての routine test として、待ち時間も考慮して投与後 35 分後の測定値を用いた。Irvine ら¹⁵⁾、Finlayson ら¹⁶⁾は投与直後の測定値を、Boddy ら¹⁷⁾は 10~20 分後の値、Heinrich ら⁸⁾は 10 時間後の値を 100% 値としている。B₁₂ 投与 35 分後の計測値 (100% 値) の測定効率については Fig. 7 にみるように、放射性 B₁₂ の投与 μ Ci 数を同じになるように補正した場合、体重の増加につれて低下する。測定される人の体重の増加につれて放射性 B₁₂ の測定効率が低下する傾向は、⁶⁰Co-B₁₂ 投与群の方が⁵⁸Co-B₁₂ 投与群よりも強い。従って体格の大きな患者(おもに体重)では、普通の体格の患者より放射性 B₁₂ の M.D.A. は大きくなりこの点注意が必要であろう。

Body background に及ぼす影響は⁵⁸Co-B₁₂ および⁶⁰Co-B₁₂ の plastic scintillator による著者らの測定条件においてはそのほとんどが⁴⁰K によるものであることは明らかである。しかし B₁₂ 吸収試験にとって実際的には影響がない。ただ今日のように種々の RI を使う検査が普及してくると、WBC のように測定感度の高い機器では、他の核種の contamination により body background が異常に高く、B₁₂ 吸収試験がこの方法ですぐ不可能な場合もある。この様な場合患者の受けた検査項目から核種が判明する場合もあるが、不明な場合には WBC でその spectrum をとり、その RI の種類を知り、適当な期間その decay を測定して body background を補正しながら、B₁₂ 吸収試験を行う事ができる。内因子添加で、B₁₂ 吸収試験をくり返す場合も同様である。まして悪性貧血、胃全摘患者では B₁₂ 単独の吸収はほとんどみられないため、引続いて検査を行うことが出来る。結果を得るまでに比較的時間要するため Na I detector を用いて 2 種類の放射性 B₁₂ を用いて一方は B₁₂ 単独、他方は内因子との複合体とした二重標識による同時投与後の各々の B₁₂ 吸収率を測定する試みもなされている^{7), 11), 14), 17)}。しかし各々の放射性 B₁₂ が胃腸管内である程度交換するため、各々の B₁₂ 吸収率がそれぞれ独立になされた B₁₂ 吸収率

よりやや低値を示すことや被曝線量を少なくする意味から routine に行うには問題があろう。

IV. 結 語

WBC (plastic) を用いて B₁₂ 吸収試験の基礎的検討を行った。この方法では放射性 B₁₂ 投与量は少量ですみ、被曝線量もごくわずかで、屎尿の完全な回収も必要とせず正確な値が得られる優れた方法である。

謝 辞

恩師脇坂行一教授の御指導ならびに WBC の使用にあたり便宜を与えられた放射線科鳥塚莞爾教授に深謝する。

文 献

- 1) Chaiet L, Rosenblum C and Woodburg DT : Biosynthesis of radioactive vitamin B₁₂ containing cobalt⁶⁰. *Science* 3 : 601, 1950
- 2) Heinle RW Jr, Welch AD, Sharf V, Meacham GC, Prusoff WH : Studies of excretion (and absorption) of Co⁶⁰-labeled vitamin B₁₂ in pernicious anemia. *Trans Ass Am Physns* 65 : 214, 1952
- 3) Schilling RF : Intrinsic factor studies. II. The effect of gastric juice on the urinary excretion of radioactivity after the oral administration of radioactive vitamin B₁₂. *J Lab Clin Med* 42 : 860, 1953
- 4) Glass GBJ, Boyd LJ, Gellin GA and Stephanson L : Uptake of radioactive vitamin B₁₂ by the liver in humans : test for measurement of intestinal absorption of vitamin B₁₂ and intrinsic factor activity. *Arch Biochem Biophys* 51 : 251, 1954
- 5) Booth CC and Mollin DL : Plasma, tissue, and urinary radioactivity after oral administration of ⁵⁸Co-labeled vitamin B₁₂. *Brit J Haematol* 2 : 223, 1956
- 6) Doscherholmen A and Hagen PS : Radioactive vitamin B₁₂ absorption studies : results of direct measurement of radioactivity in the blood. *J Clin Invest* 35 : 699, 1956
- 7) Reizenstein PG, Cronkite EP and Cohn SH : Measurement of absorption of vitamin B₁₂ by whole-body gamma spectrometry. *Blood* 18 : 95, 1961
- 8) Heinrich HC and Pfau AA : Mit Hilfe eines Gesamtkörper-Radioaktivitäts-Detektors, durchgeführte Untersuchungen zur Resorption, biolo-

- gischen Halbwertzeit und Umsatzrate des Vitamin B₁₂ im menschlichen Organismus. Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor, 2. Europ. Symposium, Hamburg, 1961 (Ed. H.C. Heinrich), Ferdinand Enke, Stuttgart, 1962, p351
- 9) 日比野敏行, 右京成夫, 藤井正博, 山口延男, 脇坂行一: Whole-body counterによるV.B₁₂代謝の研究(1)⁶⁰Co-B₁₂吸収試験における基礎的研究. 核医学 5: 53, 1968
- 10) 日比野敏行, 山口延男, 右京成夫, 藤井正博, 脇坂行一: Whole body counterによるVit. B₁₂代謝の研究, ⁶⁰Co及び⁵⁸Co-B₁₂の腸管吸収試験. 日本血液学会雑誌 31: 524, 1968
- 11) 日比野敏行, 山口延男, 藤井正博, 脇坂行一: Whole body counterによる⁵⁸Co-free B₁₂と⁶⁰Co-bound B₁₂の同時吸収試験. 核医学 6: 62, 1969
- 12) Fukuda M, Torizuka K, Hamamoto K, Fujii M, Mori T and Furumatsu C: The whole body counter at Kyoto University. Its structure and some characteristics. Radioisotopes 16: 209, 1967
- 13) 福田 正, 鳥塚莞爾, 浜本 研, 藤井正博, 森 徹, 古松菴子: 京都大学に設置されたwhole body counterについて. 核医学 4: 87, 1967
- 14) Fish MB, Polycove M, Wallerstein RO, Cheng KKS, and Tono M: Simultaneous measurement of free and intrinsic factor (IF) bound vitamin B₁₂ (B₁₂) absorption: absolute quantitation with incomplete stool collection and rapid relative measurement using plasma B₁₂ (IF): B₁₂ absorption ratio. J Nucl Med 14: 568, 1973
- 15) Irvine WJ, Cullen DR, Scarth L and Simpson JD: Intrinsic factor secretion assessed by direct radioimmunoassay and by total body counting in patients with achlorhydria and in acid secretors. Lancet 2: 184, 1968
- 16) Finlayson NDC, Shearman DJC, Simpson JD and Girdwood RH: Determination of vitamin B₁₂ absorption by a simple whole body counter. J Clin Path 21: 595, 1968
- 17) Boddy K, Will G and Holmes BM: An evaluation of ⁵⁷Co-labeled vitamin B₁₂ in a double tracer test of absorption using a whole-body monitor. Phys Med Biol 14: 455, 1969

Summary

The Study of Vitamin B₁₂ Absorption by a Whole-Body Counter (Plastic) (1) The Fundamental Considerations

Reiji MORISHITA, M.D.

The First Department of Internal Medicine

Chisako FURUMATSU

Central Clinical Radioisotope Division, Kyoto University School of Medicine, Sakyo, Kyoto.

This paper describes the results of the fundamental studies on assay procedures for vitamin B₁₂ (B₁₂) absorption using a whole-body counter (plastic). The whole-body counter at Kyoto University which was set up in March, 1966, has been used in the field of the measurement of minute quantities of radioactivity in human subjects, clinical metabolic studies and medical diagnostic investigations. An absorption test of B₁₂ was studied by using the whole body spectrometer (plastic) in a low background room. Four plastic scintillation probes were set under the bed. Each plastic scintillation probe contains a $50 \times 50 \times 15\text{cm}^3$ scintillator and four photomultiplier tubes. Each subject was measured in supine and prone positions and the mean was used.

The measurement was made before (body background), 35 minutes after (100%), and again 7 days after the oral administration of 0.17—0.2 μg (below 0.16 μCi) $^{60}\text{Co-B}_{12}$ or of 0.2 μg (below 0.4 μCi) $^{58}\text{Co-B}_{12}$.

No meal or medicine was given at least 2 hours after the oral uptake of radioactive B₁₂. To correct the radioactive decay and any counter instability, all measurements were corrected by a standard source. The results of B₁₂ absorption were expressed as the retention percentage of the labeled B₁₂ within the body on the seventh day. Present methods of measuring intestinal absorption of radioactive B₁₂ include measurements of the radioactivity (1) in the feces, (2) in the urine, (3) in the serum, or over the liver projection. While all these methods give clinically valuable results, B₁₂ absorption is determined most accurately by direct measurement of the amount remaining in the body with a whole-body counter after the unabsorbed radio-B₁₂ is excreted in the feces.

It is more quantitative and simple than the Schilling test and permits the measurement of radioactive B₁₂ at greatly lower level than the maximum permissible body burdens.