別添４

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書　籍　名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
横塚　記代 冨沢　比呂之 佐々木　博	^{99m}Tc標識放射性医薬品の迅速かつ簡便な放射化学的純度測定法に関する検討	RADIOISOTOPES	第61巻7号	353-364	2012

原　著

^{99m}Tc 標識放射性医薬品の迅速かつ簡便な放射化学的純度測定法に関する検討

横塚記代，冨沢比呂之，佐々木　博

Reprinted from
RADIOISOTOPES, Vol.61, No.7
July 2012

Japan Radioisotope Association
http://www.jrias.or.jp/

RADIOISOTOPES, 61, 353-364 (2012)

原　著

^{99m}Tc 標識放射性医薬品の迅速かつ簡便な放射化学的純度測定法に関する検討

横塚記代，冨沢比呂之，佐々木　博

国際医療福祉大学　保健医療学部　放射線・情報科学科
324-8501　栃木県大田原市北金丸 2600-1

2011 年 11 月 21 日　受理

^{99m}Tc 標識放射性医薬品の品質管理である放射化学的純度測定の迅速で簡便な方法を検討した。^{99m}Tc-HMDP では 1 M 塩化アンモニウム/1 M 尿素/酢酸（70：28：2）と高性能セルロース薄層板のクロマトグラフィは 2 M 塩化アンモニウム/10 M 尿素/酢酸（49：49：2）とセルロース薄層板よりも 4 倍，^{99m}Tc-HSA では 100% アセトンとろ紙の場合は 75% メタノールよりも 16 倍速く実施できた。

Key Words：quality control, radiochemical purity, ^{99m}Tc-labeled radiopharmaceutical, thin-layer chromatography

1.　研究の背景と目的

現在，核医学検査で使用されている放射性医薬品のうち，放射性同位元素である^{99m}Tc を標識核種とした放射性医薬品（^{99m}Tc 製剤）は，全放射性医薬品の約 6 割を占め，日本アイソトープ協会の調査報告[1]によると使用頻度は最も高い。現在の本邦では，既に標識された状態で販売されている^{99m}Tc 製剤（標識済完成製剤，いわゆるシリンジタイプ）と^{99m}Tc を使用施設で標識するためのキット化された製剤（キット製剤）が市販されており，^{99}Mo/^{99m}Tc ジェネレータ（Tc ジェネレータ）から過テクネチウム酸ナトリウム溶液（Na^{99m}TcO$_4$）を抽出し，キット製剤と過テクネチウム酸イオン（^{99m}TcO$_4^-$）を反応させること（標識）により，^{99m}Tc 製剤を使用施設で調製する（^{99m}Tc キット製剤）ことが可能である。しかし，キット製剤による標識方法は^{99m}Tc キット製剤の種類により手順が異なり，標識後から投与時間までに制約がある製剤もある。

^{99m}Tc キット製剤の品質管理（Quality Control：QC）の実施状況及び標識不良の発生件数の調査[2]が 2003 年に行われ，やや古いデータではあるが，日本核医学会によって，以下の 3 点について報告されている。第一に，124 施設の回答数に対して，^{99m}Tc キット製剤の QC を「時々 QC を実施している」と回答した施設は 5 施設で，それ以外の施設では QC を行っていない。第二に，「^{99m}Tc キット製剤の QC が不要であると考える理由」としては，指示書に従った調製を行った製剤は標識不良を起こさないという先入観によるもの，QC の知識や時間がない，薄層板や展開溶媒の試薬の入手や準備に手間がかかる，という意見が多い。第三に，標識不良の発生件数は，^{99m}Tc-macroaggregated albumin（^{99m}Tc-MAA）で 18 例，^{99m}Tc-ethyl cysteinate dimer（^{99m}Tc-ECD）で 17 例，^{99m}Tc-hexamethyl propylene amine oxime（^{99m}Tc-HMPAO）で 17 例，^{99m}Tc-hydroxymethylene diphosphate（^{99m}Tc-HMDP）で 11 例，^{99m}Tc-tetrofosmin で 10 例であった。つまり，標識不良が起きているにもかかわらず，多くの施設で QC が行われていないのが現状である。

放射性医薬品における QC の一つの指標に放射化学的純度（radiochemical purity：RCP）がある。これは，放射性医薬品の全放射性物質中に含まれる標識化合物の割合のことである。^{99m}Tc 製剤の RCP 値測定の方法は，日本アイソトープ協会による参考資料[3]（以下，Japan Radioisotope Association：JRIA 資料）に示されている。さらに，「放射性医薬品取り扱いガイドライン」[4]では，^{99m}Tc 製剤の QC は JRIA 資料に従った方法で行うことが推奨されている。しかし，JRIA 資料では，RCP 値測定に要する時間が不明なものや長いものがある。また，製剤により RCP 値測定方法が異なり，手法の統一が充分でないため，検査前に迅速に RCP 値測定を行うことは困難である。^{99m}Tc 製剤の簡便な RCP 測定法に関しては国内外でも研究されている製剤は限られており，未だ充分とはいえない[5-8]。クロマトグラフィや放射能測定の手技は，^{99m}Tc 製剤によって異なるため，上記で挙げた標識不良の報告が多く，使用頻度が高い^{99m}Tc-HMDP と JIRA 資料に展開時間の記載がされていない^{99m}Tc-HSA を研究対象とした。

したがって，本研究の目的は，^{99m}Tc 製剤の QC が行われていない理由の一つでもある「QC に時間や手間がかかる」を改善し，日常的に QC を行うことができる迅速かつ簡便な RCP 測定法を^{99m}Tc-HMDP と^{99m}Tc-HAS を対象に提案することである。そのため，RCP 測定の手順の中でも多くの時間を占めるクロマトグラフィを迅速に行うことのできる薄層板や展開溶媒を検討する。さらに，RCP 測定をより簡便化するために，薄層板や展開溶媒の保存や準備に関する基礎研究及びキュリーメータを使用した放射能測定の可能性について検討を行うことを目的とした。

2. 研究方法

2·1 ^{99m}Tc 製剤の調製

^{99m}Tc-HSA の調製にはアルブミンキット（富士フイルム RI ファーマ社製），^{99m}Tc-HMDP の調製にはクリアボーンキット（日本メジフィジックス社製）を用いて，キットの指示書通りに実施した。

2·2 ^{99m}Tc-HSA の RCP 測定

2·2·1 展開溶媒の検討

展開溶媒には，先行研究[9]によって，高性能液体クロマトグラフィにおける短時間での展開の可能性が示唆された 100% アセトンと JRIA 資料に記載のある 75% メタノールを使用して，ペーパークロマトグラフ法（Paper Chromatography：PC 法）で展開を行った（サンプル数；n＝6）。このときのろ紙は ADVANTEC 社製の No. 51B（20×400 mm，厚さ：0.17 mm）を使用し，試料のスポッティング量は 2 μL で行った。JRIA 資料には，展開に要する時間の記載がなく，試料をスポッティングした位置から展開により移動した距離（移動距離）が約 15 cm であることから，これに達した時点を JRIA 資料の展開時間として，その確認を行った。このとき，展開中のろ紙をシンチレーションカメラで 60 秒/フレーム，15 フレーム（合計 15 分）のダイナミック収集にて撮像し，^{99m}Tc-HSA と^{99m}TcO$_4^-$が移動した距離（移動距離）を測定した。これにより，アセトンを使用した際に最短で展開できる時間を調べた。

さらに，初回から 6 回目に使用する展開溶媒（100% アセトン）を用いて，PC 法において 5 分で展開を行う（n＝3）ことで，展開溶媒を繰り返して使用することが可能かの検証を行った。

2·2·2 ろ紙及び薄層板の検討

JRIA 資料にはろ紙を使用することが記されているが，扱いやすい薄層板を使用できるか検討するため，支持体の担体がセルロースであるアルミニウム薄層板とガラス薄層板，ろ紙を用い，展開溶媒に 100% アセトンを用いて展開（n＝3）を行った。このときの展開時間は各支持体での展開状態が充分に比較できるように，15 分で行った。

ろ紙を保存する湿度が分離や RCP 値に影響を及ぼすことが一般的には懸念されている[10),11)]ことから，78% と 54%，30% で 1 日間保存をしたろ紙を上記と同様の方法で 15 分間の展開を行った(n＝6)。このとき，上記と同様にして，^{99m}Tc-HSA と $^{99m}TcO_4^-$ の移動距離を測定した。

2･3　^{99m}Tc-HMDP の RCP 測定

2･3･1　展開溶媒の検討

JRIA 資料に記載のある展開溶媒（2 M 塩化アンモニウム：10 M 尿素：酢酸＝49：49：2）及びそれを基準に試薬の濃度や配分を変えて作成した 17 種の展開溶媒を用いて，展開を行った。JRIA 資料によると，セルロースの薄層板を使用するとの記載があったことから，支持体がガラスである MERCK 社製のセルロース薄層板（TLC Cellulose F，1.05718.0001，20×20 cm）を使用した。このとき，上記と同様にして，^{99m}Tc-HSA と $^{99m}TcO_4^-$ の移動距離を測定し，最も短時間で分離が良い展開溶媒を調べた。さらに，JRIA 資料には，展開に要する時間の記載はなく，移動距離が約 10 cm であると記されていたことから，これに達した時点を JRIA 資料の展開時間として，その確認を行った。

上記で調べた短時間で分離が良い展開溶媒を用いて，展開溶媒の保存期間が分離や RCP 値に影響を及ぼすかを調べた。展開溶媒の保存期間は，なし（直前に作成），1 日，20 日とした。

2･3･2　ろ紙及び薄層板の検討

Table 1 の条件について薄層板及びろ紙の検討を行った。ここに示す high-performance thin-layer chromatography plate；HPTLC は高性能薄層板である。前処置として，試料をスポットした薄層板を予め展開溶媒の蒸気に 20 分程度さらす工程を行った。薄層板やろ紙の種類の検討の際には，展開中のろ紙をシンチレーションカメラでダイナミック収集にて撮像し，最短で展開できる時間を調べた。保存湿度の検討では，該当する湿度で 1 日間の保存を行った。

Table 1　Characteristics of chromatography procedures by the JRIA manual and the current study

	Pre-treatment	Supporting substance (base plate)	Humidity in the storage
JRIA	not done	Cellulose TLC (Unknown)	Unknown
Current study	not done	Paper*	85.0% (Wet)
	done	Cellulose TLC** (glass, aluminum) Cellulose HPTLC*** (glass)	10.0% (Dry)

*ADVANTEC，No.51B (20×400 mm)
**MERCK，TLC Cellulose F (20×20 cm)
***MERCK，HPTLC Cellulose F (10×10 cm)

2･4　放射能測定

2･4･1　シンチレーションカメラ（検出器）

RCP 測定のためには，展開によって分離した標識化合物と放射性異物の放射能を測定する必要がある。そのため，展開後に乾燥させた薄層板及びろ紙をシンチレーションカメラにて Static 収集（マトリックス数；512×512，コリメータ；LEHR）で 10 分間撮像した。その後，Static 画像（シンチグラム）上の標識化合物と標識化合物のスポットから展開された全範囲に関心領域（Region of Interest；ROI）を設定し，それぞれを ROI＃1 と ROI＃2 として放射能を測定した。標識化合物の RCP 値が高いと標識化合物のスポットから分離した $^{99m}TcO_4^-$ の放射能が低くなり画像上で確認することができない。そのため，ROI＃2 の上端は，同時に展開を行った $^{99m}TcO_4^-$ の上昇位置を基準にした（Fig. 1）。

2･4･2　キュリーメータ

シンチレーションカメラで取得したクロマトグラムから標識化合物と $^{99m}TcO_4^-$ の中点をハサミで切断し二つに分断した。それらをラップで密封し，キュリーメータで放射能を測定した。ただし，切断が困難であるガラスの薄層板に関してはこの方法から除外し，シンチレーションカメラのみで放射能を測定した。

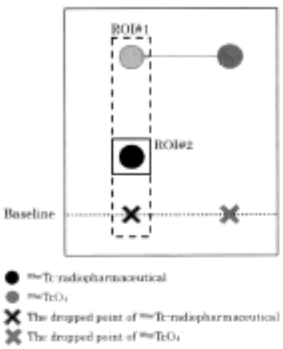

Fig. 1 ROI created over radioactivity developed on chromatogram.

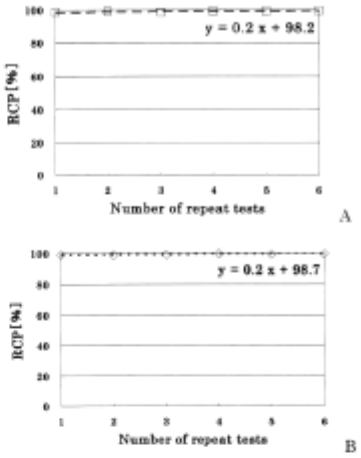

Fig. 2 Relationship between the number of repeat tests of a solvent and ^{99m}Tc-HSA RCP values using scintillation camera and well-type ionization chamber. Paper chromatography was developed during 5 minutes using acetone as a solvent.
A : Radioactivity measurement by NaI (Tl) scintillation camera.
B : Radioactivity measurement by well-type ionization chamber.

2・5 RCP 値の算出

上記の方法により測定した値を標識化合物の放射能を C_1，全ての放射性物質の放射能を C_2 として，RCP 値（$=C_1/C_2\times100$）[%] を算出した。シンチレーションカメラによって測定した C_1 と C_2 は，同じ大きさの関心領域で測定したバックグラウンドの値を除した値を用いた。

3. 結　果

3・1 ^{99m}Tc-HSA の RCP 測定

3・1・1 展開溶媒の検討

JRIA 資料の展開溶媒である 75% メタノールを用い，資料に記載されている通りの展開距離（展開溶媒が上昇した距離）が約 15 cm に到達するためには，展開に 80 分を要することがわかった。100% アセトンを用いた場合の展開時間は，シンチグラム上で $^{99m}TcO_4^-$ と ^{99m}Tc-HSA のスポットが重ならない時点とした。その結果は最長が 5.0 分，最短が 4.0 分，平均が 4.5 分であった。これと同様の条件で 75% メタノールの展開時間を調べたところ，最長が 30 分，最短が 25 分，平均が 27.5 分であった。このことから，100% アセトンでは 5 分以上，75% メタノールでは 30 分以上展開することで，$^{99m}TcO_4^-$ と ^{99m}Tc-HSA のスポットが十分に分離できることが確認できた。両者の放射能をシンチレーションカメラで測定して算出した RCP 値は，75% メタノールで 97.5±0.3%，100% アセトンで 98.3±0.7% となり，T 検定を行ったところ，P 値 = 0.15（>0.05）となり，有意な差はなかった。

一度目の展開に使用した展開溶媒を次の展開に使用することを繰り返したときの RCP 値の算出結果を Fig. 2 に示す。繰り返し回数が多いほど RCP 値が増加し，標準偏差は小さくなった。さらに，繰り返し回数と RCP 値の関係を示す回帰方程式の決定係数 R^2 はシンチレーションカメラ使用時で 0.62，キュリーメータ使用時で 0.73 であった。R^2 の値が 1 に近いほど，二つの値に相関関係が強いことを示してい

Table 2　Layer thickness, development time of the solvent, and RCP values at 15 minutes in the three supporting substance using ^{99m}Tc-HSA

Supporting substance	Layer thickness [mm]	Development distance of the solvent [cm]	RCP [%]
Paper	0.17	11.3	98.1 ± 0.2
Cellulose TLC aluminum plate	0.10	8.85	98.3 ± 0.3
Cellulose TLC glass plate	0.10	6.05	97.7 ± 0.6

(Mobile phase: 100% acetone, Numbers of sample : n = 3)

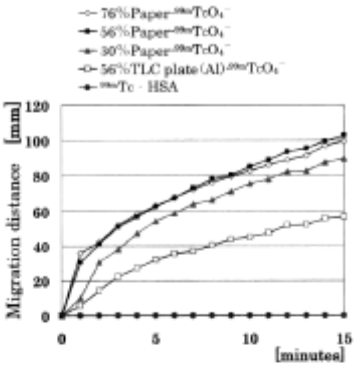

Fig. 3　Relationships among paper and TLC humidity in the storage, migration distances of $^{99m}TcO_4^-$ and ^{99m}Tc-HSA, and development time.
Paper chromatography was developed during 15 minutes using acetone as a solvent.

るため，繰り返し回数の増加と RCP 値の増加が関連している結果となった。しかし，展開溶媒は繰り返し使用するごとに，RCP 値がやや高くなる傾向があるものの，初回使用時と 6 回目使用時で T 検定を行ったところ有意な差はなかった。

3･1･2　ろ紙及び薄層板の検討

ろ紙及びセルロース薄層板（支持体：ガラス，アルミニウム）のセルロース層厚［mm］とこれらを使用して 15 分で展開し，シンチレーションカメラで放射能を測定した結果を Table 2 に示す。この結果より，支持体の種類によって RCP 値に相違はないものの，同じ時間展開を行ったときの最長の展開溶媒の移動距離（展開距離）はろ紙の使用で 11.3 cm，最短の移動距離はガラスのセルロース薄層版の使用で 6.05 cm となり，最大で約 5 cm の差が生じた。ろ紙を用いた場合が最も展開溶媒の上昇が早く，標識化合物は基準点付近，$^{99m}TcO_4^-$ は展開フロント（溶媒が上昇した位置）付近に分離されることから，最も分離が良いことがわかった。

上記の結果により，短時間の分離に優れるろ紙を用いて，保存湿度による影響を調べた結果を後述する。展開を始めてから標識化合物（^{99m}Tc-HSA）と $^{99m}TcO_4^-$ が移動した距離の変化を Fig. 3 に示す。この結果から，30% で保存した場合には他の保存湿度の場合と比較して移動距離が短く，分離速度が遅いこと示された。また，15 分展開したときの RCP 値はろ紙の保存湿度が 30% で 97.5 ± 0.8%，56% で 97.3 ± 0.5%，76% で 98.2 ± 0.4% となった（Fig. 4）。T 検定を行った結果，RCP 値には差がなかった。

3･2　^{99m}Tc-HMDP の RCP 測定

3･2･1　展開溶媒の検討

JRIA 資料に記載されている溶媒（溶媒 JRIA）である 2 M 塩化アンモニウム/10 M 尿素/氷酢酸（49：49：2）の展開溶媒とセルロース薄層版を使用したときの展開時間は JRIA 資料に表記がなかったため，表記されている移動距離が約 10 cm に到達する時間としたところ，約 60 分を要した。本研究で作成した 17 種の展開溶媒の中で，最も短時間かつ良好な分離をした溶媒は，1 M 塩化アンモニウム溶液：1 M 尿素：酢酸＝70：28：2 であった（溶媒 K_{15}）。よって，溶媒 K_{15} を用いて検討した結果を後述する。

展開溶媒の保存期間を変えて同じ試料を各

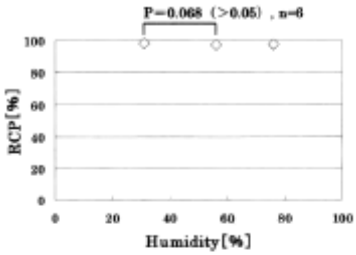

Fig. 4 Relationships between paper humidity (%) and the RCP values in the storage.
Paper chromatography was developed during 15 minutes using acetone as a solvent. (Numbers of sample ; n = 6)

15分で展開し，シンチレーションカメラで放射能を測定した結果をTable 3に示す。このときの展開には，溶媒K_{15}とセルロースHPTLCを用いた。この結果から，展開溶媒を20日保存した場合でも，直前に作成したものと化合物の分離やその速さに影響しないことが示唆された。

3・2・2 薄層板の検討

試料をスポットした薄層板を予め展開溶媒の蒸気に20分程度さらすという前処置を行った後に展開を行うと，化合物のテーリングが少なくなり展開後の放射能測定において関心領域の設定が容易となった。

前処置の有無及び薄層板の保存湿度を変えた結果をTable 4とTable 5に示す。Table 4の結果から，前処置を行うことでRCP値が高く算出されていることがわかった。Table 5の結果から，薄層板の保存湿度によってRCP値に変化はなく，化合物の分離やその速さに影響しないことが示唆された。

3種の薄層板を用いたシンチグラムをFig. 5に，展開時間とRCP値の結果をTable 6に示す。得られたシンチグラム上では，HPTLC以外には展開により上昇した化合物の軌跡上にややテーリングが生じた。このテーリングは視覚的には判断しにくいが，分離及び分解能が悪いため，RCP値が低い結果となった。セルロースHPTLCを用いた場合の展開時間は，溶媒

Table 3 Storage days of the solvent and RCP values of ^{99m}Tc-HMDP using HPTLC

Storage days of the solvent	RCP [%]
not stored	94.5 ± 0.5
1 day	94.8 ± 0.1
20 days	94.5 ± 0.7

(Mobile phase – 1 M ammonium chloride : 1 M carbamide : acetic acid = 70 : 28 : 2. Numbers of sample ; n = 6)

Table 4 RCP values at 30 minutes using TLC glass plates for ^{99m}Tc-HMDP development when pretreatment of 20 minute exposure to solvent vapor was done or not

Pretreatment	RCP [%]
not done	89.4 ± 0.7
done	87.1 ± 0.5

(Mobile phase – 1 M ammonium chloride : 1 M carbamide : acetic acid = 70 : 28 : 2. Numbers of sample ; n = 6)

Table 5 TLC glass plates humidity in the storage and RCP values at 30 minutes after development using ^{99m}Tc-HMDP

Humidity in the storage	RCP [%]
85.0% (Wet)	89.1 ± 1.0
10.0% (Dry)	88.4 ± 0.8

(Mobile phase – 1 M ammonium chloride : 1 M carbamide : acetic acid=70 : 28 : 2. Numbers of sample ; n = 6)

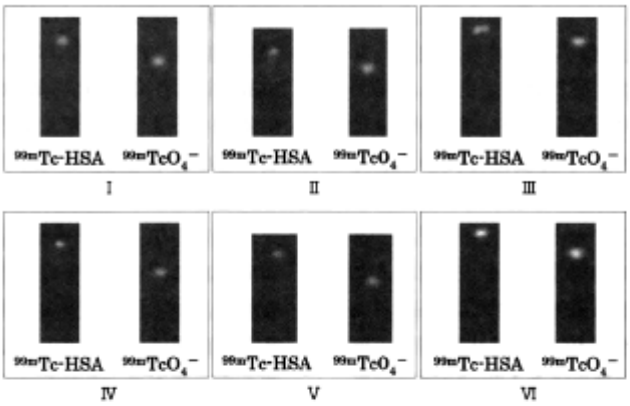

Fig. 5　^{99m}Tc-HMDP scintigrams acquired by NaI(Tl) scintillation camera.
Ⅰ～Ⅲ. Mobile phase – 2 M ammonium chloride : 10 M carbamide : acetic acid = 49 : 49 : 2
Ⅳ～Ⅵ. Mobile phase – 1 M ammonium chloride : 1 M carbamide : acetic acid = 70 : 28 : 2
Ⅰ, Ⅳ. Support : MERCK, TLC Cellulose F, glass backed
Ⅱ, Ⅴ. Support : MERCK, TLC Cellulose F, aluminum backed
Ⅲ, Ⅵ. Support : MERCK, HPTLC Cellulose F, glass backed

Table 6　Development times and RCP values using ^{99m}Tc-HMDP in the six chromatographic methods

supporting substance	Mobile phase and base plate	Development times [minutes]	RCP [%]
2M ammonium chloride: 10M carbamide: acetic acid =49:49:2	Cellulose TLC, aluminum	60	70.7 ± 8.9
	Cellulose TLC, glass	60	82.2 ± 0.9
	Cellulose HPTLC, glass	25～30	94.4 ± 0.4
1M ammonium chloride: 1M carbamide: acetic acid =70:28:2	Cellulose TLC, aluminum	30	69.1 ± 4.6
	Cellulose TLC, glass	30	82.7 ± 1.1
	Cellulose HPTLC, glass	13～15	95.0 ± 0.6

K_{15} で約 15 分，溶媒 JRIA で約 30 分であった。そのときの RCP 値は溶媒 K_{15} で 95.0% ± 0.59，溶媒 JRIA で 94.4% ± 0.42 であり，T 検定の結果，両者の RCP 値に有意な差は認められなかった。

3･3　放射能測定

^{99m}Tc-HSA ではろ紙を使用しており，切断が可能であったため，シンチレーションカメラによる放射能測定に加えて，キュリーメータで放射能を測定した。その結果，75% メタノールを使用し，シンチレーションカメラとキュリーメータで放射能測定を行った RCP 値はそれぞれ 97.5 ± 0.3% と 98.6 ± 2.4% であった。100% アセトンを使用した場合では，シンチレーションカメラで 98.3 ± 0.7%，キュリーメータで 99.1 ± 1.3% であった。いずれの結果もキュリーメータで測定した方がシンチレーションカメラで測定した場合よりも RCP 値がやや高い数値となったが，T 検定を行った結果では，二つの溶媒とも放射能測定機器間の RCP 値に有意な差はなかった。

測定に要する時間は，シンチレーションカメラでは，セッティングから撮像までで平均約 15 分，キュリーメータでは平均約 5 分であった。

4. 考　察

4·1 ^{99m}Tc-HSA の RCP 測定

PC 法の展開溶媒として用いた 75% メタノールと 100% アセトンで展開時間が大きく違った理由として，メタノールとアセトン自体の粘度に差があり，アセトンの方が低粘度であるため浸透しやすく，早く溶媒が上昇したことが考えられる。^{99m}Tc-DMP など^{99m}Tc-HSA 以外の^{99m}Tc 製剤で迅速な RCP 測定法について研究した安東氏ら[12]の報告によると，100%，90%，80%，70% のアセトンで PC を行った結果，90% アセトンが最適であったと述べている。この理由として，100% アセトン中に自然に溶け込んだ水分によって，テーリングが発生する，とある。そこで，展開溶媒としての使用でアセトンに溶け込む水分が分離に与える影響の程度を調べるために，同じ展開溶媒を繰り返し使用する実験を行った。その結果，溶媒を繰り返して使用した回数を増すごとに RCP 値が若干高い値を示す結果になったが，テーリングは発生しなかった。その後，NMR 装置を用いて，これらの展開溶媒中の成分を調べた結果，アセトン中の水が影響している可能性が示唆されたが，含有量がごく微量であったことから，定量的な評価には至らなかった。この実験では，アセトンが展開槽内の水分を吸収することを想定してメスシリンダータイプではなく，ハンギングタイプの展開槽（25×25×15 cm）を用いて液体の表面積が多い状態で行った。したがって，アセトン濃度の低下はわずかであると考えられる。RCP 値の変動も少ないため，6 回以内であれば展開溶媒を繰り返し使用できるといえる。JRIA 資料で，展開溶媒として 75% メタノールを推奨していた理由は定かではないが，上記で述べたアセトンの吸水性が原因でテーリングをきたすなどの分離状況が悪化するのを避け，十分に分離できる溶媒を用いたのではないかと推測される[13-15]。さらに，放射性医薬品基準[16]では「75% メタノールで PC 法により約 15 cm 展開する試験では原点付近以外の放射能はろ紙上の総放射能の 10% 以下である。」と記されており，試験法に対する RCP の基準が 90% よりも大きい値であることを提示している。今回の実験で，この方法と有意な差がない RCP 値を算出できたことから，アセトンを溶媒として使用することができ，RCP の基準値も適用できるといえる。しかし，アセトンによって水分が吸収される状況，つまりアセトンを展開溶媒として使用する際に避けなければいけない状況としては，以下の 2 点が考えられる。第一に，十分に乾燥していない試料をスポッティングした場合に試料中の水分が吸収されてしまう状況である。第二に，展開槽の内側に水分が付着している状況である。また，Theobald, T. によると[17]，固定相に Whatman3MM のろ紙と 95% アセトンの PC 法が示されている。しかし，上記のような条件を満たせば 100% アセトンでもろ紙や展開槽内の湿度が分離に問題がないことがわかった。そのため，95% アセトンを調製する手間を考えると，簡便さを重視するならば 100% アセトンを用いた方が良いと考える。

ろ紙と支持体がガラスとアルミニウムのセルロース薄層板を比較した実験では，アセトンを用いた場合に，最も早く展開溶媒が上昇したのはろ紙であった。これは，薄層板に比べて，セルロースの層厚が厚いために，展開溶媒を吸い上げやすかったことが考えられる。展開溶媒と同様に，ろ紙に含まれる水分量が分離に影響を与える可能性があったため，ろ紙を保存する湿度を変えて，PC を行った。その結果，湿度が低い状態（30%）で展開すると分離速度がやや劣る結果となった。これは，低い湿度で保存したろ紙は水分量が他よりも少なかったため，親水性を持つアセトンが染み込むのに時間がかかったためと考えられる。しかし，RCP 値に有意な差はなかったことから，ろ紙を保存する湿度は RCP 値に影響を与えないと考えられる。よって，臨床現場では，ろ紙の保存管理をする必要がなく，扱いが容易であることが明らかに

なった。

4･2　^{99m}Tc-HMDP の RCP 測定

Table 3 と 5 の結果より，溶媒は 20 日以内の作り置きが可能であること，及び薄層板の保存湿度による RCP 値の変化はなく，化合物の分離やその速さに影響しないことが示唆された。今回行った保存と同様に密閉した瓶で保存することによって，溶媒の酸化や気化による劣化が抑えられたと考えられる。よって，一度に調製した展開溶媒を RCP 測定に使用でき，RCP 測定前に展開溶媒を調製する準備の手間が解消されると推測される。また，^{99m}Tc-HMDP の RCP 測定において，セルロース薄層板はデシケータに保存するなどの湿度管理が不要であり，10 ～ 80% の湿度環境であれば，常温保存で問題ないといえる。これは，セルロースはシリカゲルやアルミナほど吸水性が高くないことが理由として挙げられる。

Table 4 の結果，試料がスポットされた薄層板を予め展開溶媒の蒸気に 20 分程度さらす前処理を行うことで RCP 値が高く算出されていることがわかる。これは，展開前にセルロースに展開槽内に充満している展開溶媒が吸着することにより，分離が良くなったことが要因であると考えられる[18]。なぜなら，この実験ではセルロース薄層板（ガラス）を使用したが，前処理ありの状態ではテーリングの影響がやや軽減されたためである。しかし，前処理を行うためには，特殊な展開槽を必要とし，手間がかかることから実用的とはいえない。さらに，後述する HPTLC によって，JRIA 資料の方法で問題となっていたテーリングが解消されたため，前処理を行う必要はない。

通常のセルロース薄層板を用いるとクロマトグラムにテーリングが生じる。テーリングが生じた状態で放射能測定の関心領域を設定すると，過大評価となってしまい RCP 値が見かけ上大きく算出されてしまう。これは，この製剤の場合には標識化合物の Rf 値が 0.9 ～ 1.0，$^{99m}TcO_4^-$ の Rf 値が 0.7 ～ 0.8 と分離距離が短く，標識化合物の関心領域内に不純物である $^{99m}TcO_4^-$ が混入することによって，生じてしまう。そのため，テーリングが生じなく，展開時間が短かったセルロース HPTLC が最も適していたことが判明した。薄層板に HPTLC を用いることで，試料のスポットのテーリングが改善された理由として，分解能の良さが影響していると考えられる。今回使用した HPTLC を含めて，一般的に HPTLC は他の薄層板に比べて吸着剤の粒子径が小さく，細い粒度分布であるため，高分解能である。また，検査に使用できる RCP の基準値が 95% であり，指示書通りに調製した製剤を測定して，同等の値が算出できたことからも，^{99m}Tc-HMDP の RCP 値測定においてセルロース HPTLC は，有用であることが示唆された。

4･3　放射能測定

^{99m}Tc-HSA の RCP 測定において，シンチレーションカメラとキュリーメータで放射能を測定した値から算出した RCP 値には有意な差はなかったものの，後者の機器でやや高い数値を示した。キュリーメータの検出器は電離箱であるため，低い放射能測定には不向きである。今回の実験では，RCP 値が高い状態で比較したため，低い値において差が生じやすいかなどの検証を行う必要がある。今回のように，RCP 値は使用できる基準値である 90% より大きい場合には，キュリーメータを使用することが可能であるといえる。

また，測定の手技はキュリーメータの方が容易であったが，切断できないガラスの薄層板を用いる際には使用は困難となり，単独の使用では切断面の判断が難しいと推測される。^{99m}Tc-HSA のように展開によって標識化合物のスポットが基準線から移動しない場合には，さらに分離に影響を与える条件の検討を行い，切断面の指定をすることができれば，より簡便な操作になり得る。

日本核医学会ならびに日本核医学技術学会緊急実態調査の中間報告[19]によると，キュリーメータの保有状況は，回答があった878施設中99.7%であり，ほとんどの施設でRCP測定にキュリーメータを使用できる。

4·4 RCP値の低下要因と測定頻度

各キット製剤は，キットの指示書に記載されている方法での調製や使用を厳守することが基本となっているが，標識操作時に人為的な誤りにより標識不良が発生することが十分にあり得る。例えば，^{99m}Tc-ECDを調製する際の手順の誤り及び^{99m}Tc-methoxyl isobutyl isonitrile (^{99m}Tc-MIBI) を調製する際の加熱処理の失念などの可能性がある。本研究で使用した^{99m}Tc-HSAと^{99m}Tc-HMDPの調製は，規定範囲の容量の$^{99m}TcO_4^-$をキットバイアルに入れ，振とうによって内容物を溶解し，室温で規定の時間放置する，という比較的容易な作業である。しかし，$^{99m}TcO_4^-$をキットバイアルに入れた後に生理食塩液で希釈する場合，室温で放置する時間が規定に満たない場合など，RCP値が低下する要因がある。

標識手順等の誤りによりRCP値が低下すると，目的臓器への集積の低下や正常集積部位以外への集積，バックグラウンドの増加を引き起こし，診断画像の画質劣化や定量精度の低下により誤診へ発展する可能性もある[20]。特に，各使用施設で標識された^{99m}Tcキット製剤は標識不良の可能性がある。実際に，河村[21]の論文で^{99m}Tc-ECD，^{99m}Tc-MAAと^{99m}Tc-red blood cells (^{99m}Tc-RBC) の標識不良が画像に及ぼした実例と放射線医薬品を投与する前に，RCP値を測定してから患者へ投与する必要性が述べられている。

以上のように，コールドキットを用いた^{99m}Tcキット製剤の調製では手順を誤り，RCP値の低下による検査への影響も実際にある。そのため，^{99m}Tcキット製剤を使用する前，つまり日常的なRCP測定が理想的であるが，業務の負担を考えると現実的ではない。調製手順を確認するチェックリストの使用を併用した場合であれば，最低でも1か月に一度の頻度でRCP測定を行うことを推奨する。

5. 結　論

^{99m}Tc-HASのPC法では，75%メタノールを用いた展開（JRIA資料の方法）に80分を要し（展開距離が約15 cm），RCP値は97.5±0.3%であった。展開溶媒が100%アセトンの展開ではJRIA資料の方法よりも約1/16の時間である5分で展開が可能であり，RCP値は98.3±0.7%であった。両者のRCP値に有意な差はなく，JRIA資料の基準値である90%以上を満たしていることから，適した溶媒であるといえる。本研究の場合，JRIA資料の方法と比較した実験を行っていることから，RCPの基準値も同等として問題ないと考える。さらに，この溶媒は6回以内では繰り返して再利用でき，RCP値はろ紙の保存湿度による影響が少ないことも示唆された。

^{99m}Tc-HMDPのクロマトグラフィでは，JRIA資料の方法（2 M塩化アンモニウム/10 M尿素/酢酸（49：49：2）の展開溶媒とセルロースHPTLC）では展開に約60分を要し，テーリングの影響によりRCP値は82.2±0.9%であった。今回検討した1 M塩化アンモニウム/1 M尿素/酢酸（70：28：2）の展開溶媒と高性能セルロース薄層板（HPTLC）を用いた場合は，JRIA資料の方法より約1/4の15分で展開することができ，RCP値は95.0±0.6%であった。これは，RCPの基準値95%以上を満たしていることから，適した方法であるといえる。さらに，検討した方法の溶媒は20日以内の密閉保存が可能であり，セルロース薄層版は10～80%の湿度環境であればRCP値に影響を与えないことも示唆された。

したがって，^{99m}Tc-HSAと^{99m}Tc-HMDPの迅速で簡便なRCP測定法を提案できたといえる。この方法での品質管理は日常的に行うことが理

想的ではあるが，調製手順のチェックリストを併用して1か月に一度実施することを推奨したい。

謝　辞

本研究が平成22年度厚生労働科学研究助成金の援助によって実施できましたことに，深く感謝の意を表します。

本研究実施にあたり，資料提供にご協力いただきました富士フイルムRIファーマ株式会社の皆様に御礼申し上げます。

また，平成22年度に国際医療福祉大学の放射線・情報科学科を卒業しました小木有紗さん，佐々木ひかるさんには，本研究実施にあたり，実験補助やデータ解析などにご協力いただきました。心より感謝致します。

文　献

1) 社団法人日本アイソトープ協会医学・薬学部会全国核医学診療実態調査専門委員会，第6回核医学診療実態調査報告書，*RADIOISOTOPES*，**57**，491-558(2008)
2) 日本核医学会放射性医薬品等適正使用評価委員会，放射性医薬品の適性使用におけるガイドラインの作成，核医学，**41**，1-58(2004)
3) 社団法人日本アイソトープ協会医学・薬学部会放射性医薬品専門委員会，標識キット方式による^{99m}Tc 放射性医薬品の調製について，*RADIOISOTOPES*，**53**，155-178(2004)
4) 日本核医学会・日本核医学技術学会・日本放射線技師会・日本病院薬剤師会，放射性医薬品取り扱いガイドライン，4-17(2011)
5) 立木一博，石井亘友，高橋秀樹，高野政明，掛川満男，^{99m}Tc を標識核種とした放射性医薬品のRCP値測定簡便法，核医学技術，**24**，200(2004)
6) 立木一博，石井亘友，久保圭一郎，田中真司，高橋秀樹，高野政明，中込俊雄，三浦慶和，放射性医薬品のRCP値チェック日常業務化について（第2報），第26日本核医学技術学会総会発表予稿集，122(2006)
7) Luebke, A. L., Wilary, D. M., Mahoney, D. W. and Hung, J. C., Evaluation of alternative radiochemical purity testing method for technetium-99m-sestamibi, *J. Nucl. Med. Technol.*, **28**, 259-263 (2000)
8) Koslowsky, I. L., Brake, S. E. and Bitner, S. J., Evaluation of the stability of ^{99m}Tc-ECD and stabilized ^{99m}Tc-HMPAO stored in syringes, *J. Nucl. Med.*, **29**, 197-200(2001)
9) Verbeke, K. and Verbruggen, A., Usefulness of fast protein liquid chromatography as an alternative to high performance liquid chromatography of ^{99m}Tc-labelled human serum albumin preparations, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **14**, 1209-1213(1996)
10) 日本化学会，第5版実験化学講座1：基礎編I 実験・情報の基礎，pp.202-223，丸善，東京(2003)
11) Gritter, R. J., Bobbitt, J. M. and Schwarting, A. E., 原　昭二訳，入門クロマトグラフィー第2版，pp.4-8，東京化学同人出版，東京(1988)
12) 安東　醇，真田　茂，安東逸子，平本辰之介，鈴木　豊，久田欣一，^{99m}Tc 標識医薬品の迅速純度検定法，*RADIOISOTOPES*，**33**，226-229(1984)
13) Colombetti, L. G., Moerlien, S., Patel, G. C. and Pinsky, S. M., Rapid determination of oxidation state of unbound ^{99m}Tc and labeled radiopharmaceuticals, *J. Nucl. Med.*, **17**, 805-809(1976)
14) Billinghurst, M. W., Chromatographic quality control of ^{99m}Tc-labeled compounds, *J. Nucl. Med.*, **14**, 793-797(1973)
15) Eckelman, W. C. and Richard, P., Analytical pitfalls with ^{99m}Tc-labeled compounds, *J. Nucl. Med.*, **13**, 202-204(1971)
16) 厚生省告示第242号，放射性医薬品基準(1997)
17) Theobald, T., Sampson's Textbook of Radiopharmacy Fourth edition, pp.381-418, Pharmaceutical Press, London, Chicago(2011)
18) 原　昭二，森　定雄，花井俊彦，クロマトグラフィ分離システム，pp.113-117，丸善，東京(1981)
19) 日本核医学会・日本核医学技術学会，日本核医学会ならびに日本技術学会緊急実態調査報告（中間報告），1-4(2011)
20) 中村佳代子，RI標識化合物の安定性―標識したRIはどこに―，核医学技術，**13**，123-125(1993)
21) 河村誠治，放射性医薬品調製の基礎と実際，核医学技術，**26**，340-343(2006)

Abstract

Investigation of a Quick and Convenient Method Using Thin-layer Chromatography to Measure the Radiochemical Purity of ^{99m}Tc-labeled Radiopharmaceuticals

Noriyo YOKOTSUKA, Hiroshi TOMIZAWA and Hiroshi SASAKI

School of Health Sciences, Department of Radiological Sciences
2600-1 Kitakanemaru, Otawara-shi, Tochigi Pref. 324-8501, Japan

As a quality control of ^{99m}Tc-labeled radiopharmaceuticals, a quick and convenient method of radiochemical purity (RCP) measurement were investigated. In this study, two methods to measure the RCP of ^{99m}Tc-hydroxymethylene diphosphonate (^{99m}Tc-HMDP) and ^{99m}Tc-human serum albumin (^{99m}Tc-HSA) were proposed.

The RCP of ^{99m}Tc-HMDP was measured by thin-layer chromatography (TLC) using a mixture of 1 M ammonium chloride, 1 M carbamide, and acetic acid (70 : 28 : 2) as a solvent and a high-performance thin-layer chromatography cellulose plate. Development time taken by this method was a quarter of the time taken by the method using a mixture of 2 M ammonium chloride, 10 M carbamide, and acetic acid (49 : 49 : 2) as a solvent and a thin-layer cellulose chromatography plate without loss of measurement accuracy. The RCP of ^{99m}Tc-HSA was measured by paper chromatography using 100% acetone as the solvent. Development time taken by this method was one sixteenth of the time taken by the method using 75% methanol as a solvent without loss of measurement accuracy.

(Received November 21, 2011)