

In vitro における ^{99m}Tc -methylene diphosphonate の 標識率と安定性

川崎医科大学 核医学

村中 明, 大塚 信昭, 友光 達志
柳元 真一, 柳 真佐子, 森田 陸司

川崎医科大学 放射線科

西 下 創 一

(昭和59年2月29日受付)

In Vitro Labeling Efficiency and Stability of ^{99m}Tc -methylene Diphosphonate

Akira Muranaka, Nobuaki Otsuka

Tatushi Tomomitsu, Shinichi Yanagimoto

Masako Yanagi and Rikushi Morita

Division of Nuclear Medicine, Department of Radiology
Kawasaki Medical School

Soichi Nishishita

Department of Radiology, Kawasaki Medical School

(Accepted on February 29, 1984)

骨スキャン剤である ^{99m}Tc -MDP の *in vitro* における標識率と安定性 およびそれらに影響する因子について, 市販されている三種類の MDP キットを用いてペーパークロマトグラフィにより検討した. 調製後 15 分における ^{99m}Tc -MDP の標識率はいずれの MDP キットにおいても 97% 以上であり, 調製後の経過時間 (24 時間まで), 標識時にバイアルビン中に加えた $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 溶出液の容量 (10ml まで) や放射能の強さ (200~300 mCi/vial まで) は標識率に影響しなかった. しかし, アスコルビン酸を含まない二種類のキットにおいては, ^{99m}Tc -MDP 溶液中への空気の bubbling によって標識率は低下し, free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ が生成された. この free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成は少量のアスコルビン酸の添加により効果的に防止できた. 以上のことから, アスコルビン酸を含んだ MDP キットの使用すると *in vitro* における free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成はほとんど無視でき, 日常の骨の核医学検査, 特に 1 本のバイアルビンで多人数の検査をする場合には便利であると考えられる.

The *in vitro* labeling efficiency and stability of three different commercially available kits of bone-scanning agent (^{99m}Tc -MDP) were studied by paper chromatography. The labeling efficiency of ^{99m}Tc -MDP was more than 97% in all these three kits at 15 min after preparation and was not affected by the time lapse after preparation (up to 24 hr), the volume of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ eluate (up to 10 ml) or the radioactivity (up to 200~300 mCi) of ^{99m}Tc added to the vials. When air was

bubbled into the prepared solutions, however, labeling efficiencies fell greatly in the two kits in which no ascorbic acid was contained. In these two kits, the formation of free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in preparation was effectively inhibited by the addition of small amounts of ascorbic acid. It is indicated that kits containing ascorbic acid may be more convenient for routine clinical use, especially in the repeated multiple dosages of a single vial.

Key Words ① ^{99m}Tc -MDP ② Labeling efficiency ③ Paper chromatography

I 緒 言

^{99m}Tc 標識 methylene diphosphonate (^{99m}Tc -MDP) は骨集積率が高く、血中クリアランスが速いことから、骨スキャン剤として現在もっとも広範に使用されている^{1),2)}。 ^{99m}Tc -MDP の調製は還元剤として2価のスズ化合物を使用したキットが数社から市販されており、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 溶液をキット中へ注入し内容物を溶解するだけで極めて簡単に行うことができる。しかし、この反応の内容には ^{99m}Tc の酸化還元反応、還元された ^{99m}Tc の加水分解反応、錯体形成反応などが組み合わされて含まれており、化学的には非常に複雑であることが知られている³⁾。また、 ^{99m}Tc 標識化合物の化学的構造はその体内分布に密接に関係しており、 ^{99m}Tc 標識化合物の品質管理は重要な課題であると考えられる。

本施設において、臨床に使用した後の ^{99m}Tc -MDP に free の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ が十数%含まれることをしばしば経験している。このような free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の存在は身体バックグラウンドを高める要因のひとつとなるため、骨シンチグラフィの画質の維持向上の点から free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成条件を明らかにし、これを防止する必要がある。本研究においては、市販されている種々の MDP キットを用い、*in vitro* における標識率と安定性およびそれらに影響する因子についてペーパークロマトグラフィにより検討した。

II 材料および方法

実験には MDP (A), MDP (B), MDP (C) の三種類の市販されている MDP キットを使

用した。MDP (A) はメチレンジスルホン酸 (7.5mg), 環元剤として塩化第一スズ・2水塩 (0.3 mg), アスコルビン酸 (0.17 mg) を1バイアルビン中に含み、通常2~9 ml の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 注射液を加え、粉末が完全に溶けるまでよく振って標識した。MDP (B) はメチレンジスルホン酸 (10 mg), 塩化第一スズ・2水塩 (1 mg) を1バイアルビン (N_2 ガス充填) 中に含み、通常1~5 ml の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を加え MDP (A) と同様に標識した。MDP (C) はメチレンジスルホン酸 (12.5 mg), フッ化スズ (0.85 mg) を1バイアルビン (N_2 ガス充填) 中に含み、通常3~8 ml の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を加え、MDP (A), (B) と同様に標識した。

標識率の測定は、展開溶媒に85%メタノールを使用したペーパークロマトグラフィ(上昇法)によって行った。展開ろ紙として東洋ろ紙 No. 51 を用いた。試料をろ紙下端から5 cm の位置に注射器で直径3~4 mm の大きさにスポットし、自然乾燥後10 cm (展開時間: 約70分間) 展開した。乾燥後、ろ紙を5 mm 間隔に切断してプラスチック試験管にいれ、各部分の ^{99m}Tc 放射能をウェル型シンチレーションカウンタで測定した。実験はすべて duplicate で行い、測定値はその平均値を用いた。

各 MDP キットに加えた $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の放射能の測定はプラスチックシンチレータを用いた Digital Curiemeter (アロカ製 IGC-2) で行った。

III 結 果

Fig. 1 に ^{99m}Tc -MDP と $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を85%メタノールを用いて展開したペーパークロマトグラフィの1例を示した。 ^{99m}Tc -MDP は原点

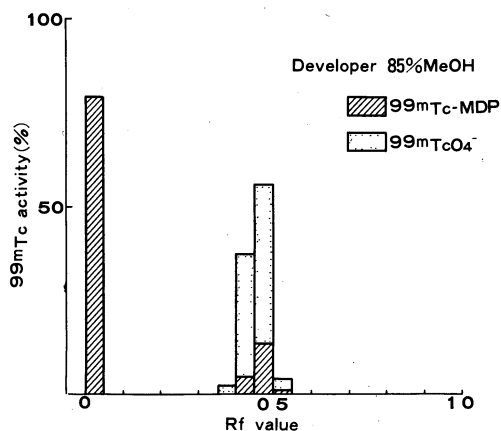


Fig. 1. Paperchromatography of ^{99m}Tc -MDP and $^{99m}\text{TcO}_4^-$

に留まり, $^{99m}\text{TcO}_4^-$ は Rf 値 4.0~5.5 の位置に認められた. ^{99m}Tc -MDP 中の一部も Rf 値 4.0~5.5 の位置に展開され, ^{99m}Tc -MDP 中に free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ が存在することを示している.

Table 1 に 3 種類の MDP キットにおける ^{99m}Tc -MDP の標識率の経時的变化を検討した結果を示した. 各キットとも 5 ml の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を加え, MDP (A) と (B) キットにおいては高放射能濃度の場合についても検討した. 標識後 0.25 から 24 時間まで, いずれのキットにおいても ^{99m}Tc -MDP

Table 1. Change of labeling efficiency of ^{99m}Tc -MDP with time after preparation in various MDP kits

	^{99m}Tc Activity (mCi/vial)	Labeling efficiency (%)							
		0.25 hr*		3 hr*		6 hr*		24 hr*	
		origin	free Tc**	origin	free Tc**	origin	free Tc**	origin	free Tc**
MDP (A)	2	99.9	0.03	98.7	0.04	—	—	99.4	0.04
	311	99.2	0.05	99.6	0.06	99.6	0.04	99.7	0.04
MDP (B)	2	97.5	0.05	97.9	0.08	—	—	99.5	0.04
	225	99.6	0.03	99.4	0.05	99.4	0.10	98.2	0.11
MDP (C)	2	97.1	0.04	99.1	0.04	—	—	99.2	0.03

* Time after preparation

** free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (Rf value: 0.40~0.55)

の標識率は 97% 以上であった. また, free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の量は 0.2% 未満であり, 良好な標識率と安定性を示した.

Table 2 に ^{99m}Tc -MDP 標識率におよぼす MDP キット中に加える $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の容量の影響を検討した結果を示した. 0.5 mCi/ml の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を用い, 容量を 5 ml と各 MDP キットの規定を越えた 10 ml で検討した. いずれの場合においても, 各 MDP キットとも標識後 3 時間まで標識率 97% 以上, free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の量は 0.1% 以下と極めて良好な標識率であった.

Table 3 に ^{99m}Tc -MDP の標識率におよぼす空気の bubbling の影響を検討した結果を示

Table 2. Effect of volume of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ injected into the vials on labeling efficiency of ^{99m}Tc -MDP

	Volume (ml)	Labeling efficiency (%)			
		0.25 hr*		3 hr*	
		origin	free Tc**	origin	free Tc**
MDP (A)	5	99.6	0.09	98.7	0.04
	10	99.3	0.07	99.5	0.05
MDP (B)	5	99.3	0.06	97.9	0.08
	10	99.4	0.06	99.0	0.10
MDP (C)	5	98.0	0.04	99.1	0.04
	10	99.3	0.08	97.4	0.06

* Time after preparation

** free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (Rf value: 0.40~0.55)

Table 3. Effect of bubbling with air on labeling efficiency of ^{99m}Tc -MDP

	^{99m}Tc Activity (mCi/vial)	Labeling efficiency (%)			
		3 hr*		6 hr*	
		origin	free Tc**	origin	free Tc**
MDP (A)	2	99.6	0.05	—	—
	240	99.6	0.05	99.7	0.08
	278	99.7	0.02	99.5	0.06
MDP (B)	2	98.4	0.41	—	—
	140	99.2	0.09	—	—
	223	97.7	1.91	85.9	13.66
MDP (C)	2	98.0	0.60	—	—
	200	98.7	0.14	90.4	8.79

* Time after preparation

** free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (Rf value: 0.40~0.55)

Table 4. Effect of ascorbic acid on labeling efficiency of ^{99m}Tc -MDP

	Conc. of Ascorbic Acid (mM)	Labeling efficiency (%)			
		3 hr*		6 hr*	
		origin	free Tc**	origin	free Tc**
MDP (B)***	0	82.4	17.2	72.6	26.9
	0.1	99.6	0.04	99.7	0.05
	0.5	99.7	0.03	99.7	0.05

* Time after preparation

** free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (Rf value: 0.40~0.55)

*** 260 mCi/vial, bubbled with 5 ml of air 10 times

した。各 MDP キットへ 2~278 mCi の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (5~7 ml) を加え、標識後 3 と 6 時間に標識率を測定した。この間に各キットとも臨床に ^{99m}Tc -MDP を使用するために 1~2 ml の空気を 4~7 回注入を行うか、実験的に 2 ml の空気を 10 回 bubbling を行った。MDP (A) キットにおいては、放射能の濃度の高低にかかわらず空気の bubbling の標識率におよぼす影響は全く認められなかった。しかし、MDP (B), (C) キットにおいては標識率の低下および free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成が認められた。特に、バイアル中の ^{99m}Tc の放射能が高く、標識後時間が経過する程、空気の出し入れによって free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成が増加する傾向を示

した。

アスコルビン酸を含む MDP (A) キットにおいては、空気の bubbling によって標識率の低下や free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成が認められなかったことから、MDP (B) キットを用いて、アスコルビン酸の ^{99m}Tc -MDP の標識率におよぼす影響を検討した (Table 4)。MDP (B) キットに $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 260 mCi/5 ml を加え標識した後、1.5 ml ずつ 3 本のバイアルビンに分注し、アスコルビン酸をそれぞれ 0, 0.1, 0.5 mM の濃度に加えた。5 ml の空気を 10 回注射器で ^{99m}Tc -MDP 溶液中に激しく bubbling し、その後静置して標識後 3 と 6 時間にペーパークロマトグラフィを行った。アスコルビン酸を加えない場合では、 ^{99m}Tc -MDP の標識率は著しく低下し、17~27% の free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成が認められた。しかし、アスコルビン酸を加えた場合には、標識率の低下や free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成は全く認められなかった。

IV 考 察

^{99m}Tc -MDP を用いた骨スキャンは検査件数が多く、MDP キット 1 バイアルで 5~10 人の検査を行うことも少なくない。また、患者 1 人あたりの投与量 (^{99m}Tc の放射能) も大であり、高放射能濃度の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を多量に用いて標識することになる。還元剤 (2 価のスズ化合物) の量、試薬濃度、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 濃度、pH 等が ^{99m}Tc 標識化合物の生成に影響する条件としてあげられているが³⁾、市販されている MDP キットの成分は微妙に異なっている。 ^{99m}Tc -MDP 中の free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の存在は、骨シンチグラフィにおける画質の低下につながることから、free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生ずる条件およびその MDP キット間の差異を実験的に明らかにしようと試みた。

^{99m}Tc -MDP 標識率の経時的变化(標識後 0.25~24 時間)を検討すると、標識後静置した条件では、いずれのキットにおいても放射能濃度にかかわらず標識率は 97% 以上であり、良好な安定性を示した。また、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の容量に関しては、骨スキャンの件数が多いことを想定し各キットの許容量を越えた 10 ml まで検討した。しかし、free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の増加は認められず、試薬の濃度は規定濃度の 1/2 程度まで標識率に影響しないものと考えられた。 ^{99m}Tc -MDP を患者に投与する場合、バイアルビン中に空気を注入してから ^{99m}Tc -MDP 溶液を注射器に吸入することを想定し、空気の bubbling の標識率におよぼす影響を検討した。アスコルビン酸を含んだ MDP (A) キットにおいては空気の bubbling の影響は全く認められなかった。しかし、MDP (B) と (C) キットにおいては、空気の bubbling によって標識率が低下し、free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ が増加した。この free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成は、bubbling から時間が経過する程、バイアルビン中の ^{99m}Tc の放射線量が多い程、bubbling する空気の量が多くなると激しく bubbling する程増加する傾向が認められた。

一般に ^{99m}Tc 標識放射性医薬品は ^{99m}Tc の放射能が大になるにつれて分解され、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の量が増加することが報告⁴⁾ されている。この $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成は酸素の存在によって促進され、標識に使用したスズイオンの量が大になると抑制される。また、Tofe ら⁵⁾ は低濃度のスズ量を用いた bone-imaging agent の不安定性の主な原因は、 ^{99}Mo - ^{99m}Tc ジェネレータから高濃度の ^{99m}Tc を安定して抽出するために加えられている酸化剤や MDP キット中の酸素

の量であると報告している。今回、われわれが検討した臨床使用を前提とした ^{99m}Tc の放射能が 200~300 mCi 程度の条件では、 ^{99m}Tc の γ 線単独では ^{99m}Tc -MDP の分解はほとんど認められず、free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成の主な原因は空気の bubbling による酸化反応によるものと推定される。

free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成を防ぐには、まず第一に還元剤である Sn (II) の量を増加する方法が考えられる。しかし、キット中の Sn (II) の増加は *in vitro* における $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成を防止するが、生体に投与した場合に ^{99m}Tc の colloid を形成して肝の集積が増加するなどの ^{99m}Tc -MDP の生体内挙動に変化をおよぼす。したがって、Tofe ら^{5),6)} は bone-imaging agent の生体内分布に影響しない酸化防止剤として、アスコルビン酸やゲンチジン酸の有用性を報告している。本研究の条件においても、空気の bubbling による free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成はアスコルビン酸の添加により完全に防止することができた。

^{99m}Tc は物理的半減期が 6 時間と短いため、通常、 ^{99m}Tc -MDP 標識後 3 時間以内に患者へ投与する。この条件では、激しい空気の bubbling さえしなければ、いずれの MDP キットを用いても、放射性医薬品として基準値 (95% 以上の標識率)⁷⁾ 内の標識率がえられるものと考えられる。しかし、アスコルビン酸が含まれる MDP キットにおいては、*in vitro* における free $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の生成はほとんど無視でき、日常の骨の核医学検査、特に 1 本のバイアルビンで多人数の検査をする場合には便利であると考えられる。

文 献

- 1) 伊藤安彦, 村中 明, 大塚昌嗣, 内田昌宏, 梶原康正, 横林常夫: ^{99m}Tc -methylene diphosphonate の骨集積性に関する基礎的, 臨床的検討. *Radioisotopes* 26: 382-388, 1977
- 2) 村中 明, 伊藤安彦, 大塚信昭, 長井一枝, 寺島秀彰, 柳元真一, 加地辰美, 中野靖子, 林 美規, 葉枝 正明: ^{99m}Tc -hydroxymethylene diphosphonate の骨集積性に関する基礎的, 臨床的検討— ^{99m}Tc -MDP との比較を中心に—. *核医学* 18: 273-281, 1981
- 3) 横山 陽: 標識化合物の標識化学とその品質管理. *日本校学誌* 38: 66-72, 1982

- 4) Billingham, M. W., Rempel, S. and Westendorf, B. A.: Radiation decomposition of technetium-99m radiopharmaceuticals. *J. nucl. Med.* 20: 138—143, 1979
- 5) Tofe, A. J. and Francis, M. D.: *In vitro* stabilization of a low-tin boneimaging agent (^{99m}Tc -Sn-HEDP) by ascorbic acid. *J. nucl. Med.* 17: 820—825, 1976
- 6) Tofe, A. J., Bevan, J. A., Fawzi, M. B., Whitehouse, H. S. and Francis, M. D.: Antioxidant stabilization of bone agents. *In Radiopharmaceuticals II*, ed. by Sorenson, J. A. New York, Society of Nuclear Medicine. 1979, pp. 637—644
- 7) 厚生省薬務局審査課編: 放射線性医薬品基準ハンドブック. 東京, 日本アイソトープ協会 1979, p. 42