

放射性医薬品で用いられる放射性核種の HPLC 分析の 信頼性保証手法の確立と標準化

所属 第一ラジオアイソトープ研究所
研究者 北島昭人

研究要旨 医薬品の定量や純度試験においては、分析法バリデーションを実施して分析精度を評価する必要がある。放射性医薬品も例外ではないが、半減期の短い放射性核種では、放射能の減衰のため、減衰補正を行ったとしても繰り返し測定から精度を正しく評価することが難しい。そのため、放射能の減衰を無視できる時間内に精度を推定することが必要である。本研究では、FUMI(Function of Mutual Information)理論¹⁾を用い、¹²⁵I及び¹²³I標識化合物のHPLC-RI分析における精度の評価を検討した。FUMI理論は、ベースラインの揺らぎ(ノイズ)とシグナルの確率論的性質から分析精度を予測する理論であり、繰り返し測定なしで1回の測定から精度を推定できる。

A. 研究目的

放射性医薬品は、臓器や骨、腫瘍等に集積する性質を持つ化合物を放射性同位元素(RI)により標識した医薬品である。放射性医薬品を用いる検査は核医学(RI)検査と呼ばれ、 γ 線放出核種を利用するSPECT(Single Photon Emission computed tomography)検査とポジトロン核種を利用するPET(Positron emission tomography)検査の2つの方法がある。

ここで、 γ 線とポジトロンについて説明する。 γ 線とは、原子が崩壊して α 線、 β 線を放出した後もなお原子核が励起状態にある場合、さらに基底状態へ移行するときに原子核から余分なエネルギーとして放出される電磁波のことである。 γ 線は、高い透過力を有する性質を持っている。一方、ポジトロンは、陽電子と呼ばれ正の電荷をもった電子であり、負の電荷をもつ普通の電子と互いに引き寄せ合う性質がある。原子核から放出されたポジトロンと電子が結合した瞬間にポジトロンも電子も消滅し、511KeVの電磁波を互いに180°方向に放出する性質がある。

SPECT検査では、¹²³I($T_{1/2}$:13.27h, 159KeV)や^{99m}Tc($T_{1/2}$:6.01h, 141KeV)といった放射性同

位元素が用いられ、PET検査には¹⁸F($T_{1/2}$:110m, 511KeV)等が用いられる。

医薬品の定量や純度試験においては、分析法バリデーションを実施して分析精度を評価する必要がある。分析精度の評価は、同一試料をくり返し分析した結果の標準偏差(SD)あるいは相対標準偏差(RSD)に基づいて行われる。分析法バリデーションの必要性は放射性医薬品も例外ではない。だが、SPECT検査やPET検査に用いられる多くの放射性同位元素は、健康への影響を最小限に押さえるために、半減期が短い核種が使われている。このため、繰り返し測定間に放射線量が減衰してしまうことから、くり返し測定による方法では、正しい精度の評価が行えない。便宜的な方法として、測定データに対して減衰補正を行い、全ての測定値を設定した基準日時での放射能に変換して精度を計算している。しかし、この減衰補正する方法では測定誤差自体を変化させるために、分析精度を正しく評価できるとは言い難い。医薬品規格は分析法バリデーション結果も考慮して定められるために、不正確な精度の推定値は、放射性医薬品の品質規格の設定に影響を与える。

1 回の測定から正しい精度を求めることができれば、減衰補正を用いる必要がなくなる。このようなくり返しに寄らない精度推定方法として、FUMI(Function of Mutual Information)理論がある。FUMI 理論は、ベースラインの揺らぎ(ノイズ)とシグナルの確率論的性質から、分析精度を予測する理論であり、すでに HPLC-UV²⁾、GC³⁾など多くの分析機器においてその妥当性が示されている。本研究では、放射性医薬品分析で用いられるラジオアイソトープ HPLC (HPLC-RI)法の精度を正しくかつ効率よく評価するために、FUMI 理論の応用可能性を検討した。長半減期核種である ¹²⁵I(T_{1/2}:60.1d)と放射性医薬品で用いられる短半減期核種の ¹²³I を用い、FUMI 理論から推定した分析の精度と、実際の HPLC-RI 分析のくり返しで求めた精度を比較し、FUMI 理論の評価を行った。

B. 研究方法

実験に用いた HPLC 装置及び検出器は、次の通りである。

装置：Waters 社製 LC Module I Plus

検出器：RAYTEST 社製 NaI(Tl)検出器(GABI)

セル容量：200 μ L

試験の実施前には、¹³⁷Cs によるエネルギー校正にて光電子増倍管への最適な印加電圧(H.V.)を決定し、次に測定放射性核種のスペクトルスキャンにて測定感度の最適化を行った。精度を求める測定値には面積値を用いた。FUMI 理論の解析には、専用ソフトである MAY2000(ヤザワ)を用いた。

長半減期核種の測定

¹²⁵I 標識化合物の分析は、次の条件で行った。

試料：¹²⁵I-DRM099

カラム：関東化学 Mightysil 3.0mmI.D \times 50mm

移動相：水/アセトニトリル混液(7:3)

試料の放射能濃度：44.5kBq/mL, 89.0kBq/mL, 133.5kBq/mL, 267.0kBq/mL

RI 検出器の検出エネルギー範囲：13-200keV
各試料につき、それぞれ 6 回の繰り返し測定を行った。

短半減期核種の測定

¹²³I 標識化合物の分析は、次の条件で行った。

試料：Na¹²³I

カラム：関東化学 Mightysil 3.0mmI.D \times 50mm
移動相：水/アセトニトリル混液(1:1)

試料の放射能濃度：26.3kBq/mL, 65.7kBq/mL, 136.3kBq/mL, 277.7kBq/mL

RI 検出器の検出エネルギー範囲：50-200keV
各試料につき、それぞれ 6 回の繰り返し測定を行った。

C. 研究結果

長半減期核種の測定結果

最初に HPLC-RI 分析への FUMI 理論の応用可能性を検討するために、長半減期核種の標識化合物を試料として測定を行い、繰り返し測定から統計学的に計算した精度(RSD)と FUMI 理論から推定した精度が一致するかを検討した。長半減期核種は核医学検査には用いられないが、通常の HPLC 条件でくり返し測定を行った場合にも、放射能の減衰が少なく、測定精度への影響が無視できることから、FUMI 理論の応用性を評価するために使用した。

今回の測定条件における RI 検出器のベースラインを図 1 に示す。



図 1 ベースラインノイズ(¹²⁵I 測定)

このベースラインノイズには、スパイクノイズが現れるという特徴があり、このノイズの形状は MS⁴⁾や GC/MS³⁾のものと似ている。このベースラインノイズをフーリエ変換して得られたパワースペクトルを、図 2 に示す。

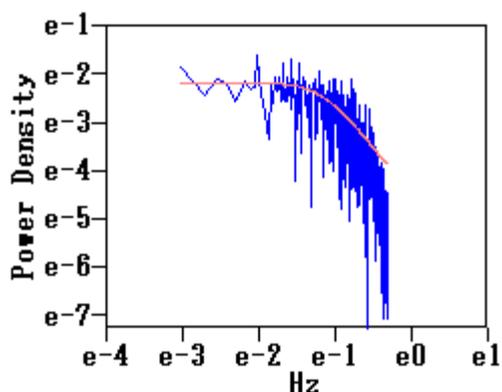


図 2 Power Spectrum(¹²⁵I 測定)

実測パワースペクトル（ギザギザの線）に FUMI 理論のノイズモデルの式（滑らかな線）を最小 2 乗フィッティングしたところ、図に示すようにフィッティングの度合いは良かった。フィッティングにより計算されたパラメータは、ホワイトノイズの SD は 0、マルコフ過程の SD は 4.02×10^{-2} 、マルコフ過程の自己相関係数は 0.39 であった。ホワイトノイズ成分が 0 となるのは、MS 等のノイズと同様の性質である。¹²⁵I-DRM099 のクロマトグラム（同じ条件での繰り返し測定の結果）を図 3 に示す。このときの試料の放射能濃度は、133.5kBq/mL である。

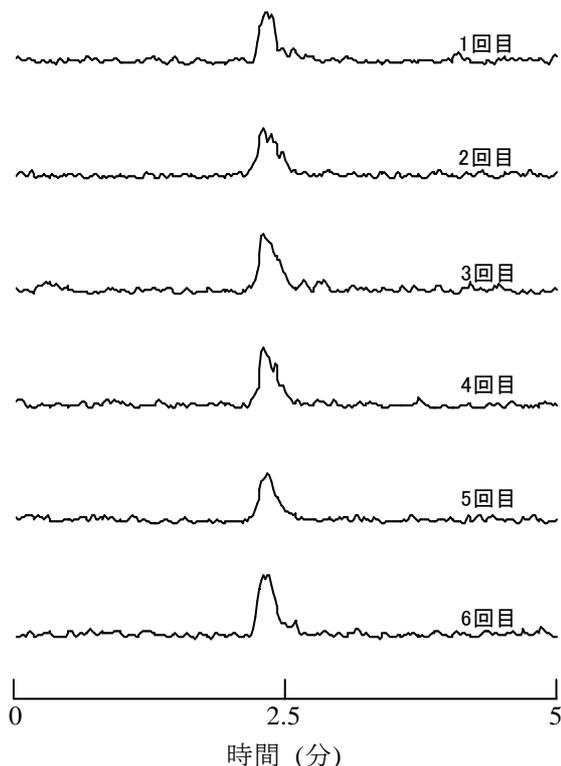


図 3 ¹²⁵I-DRM099 のクロマトグラム
(試料の放射能濃度：133.5kBq/mL)

ピーク形状が毎回少し異なるのは、ベースラインノイズが主な原因であると考えられる。ベースラインノイズが測定値のばらつきの主要原因であることが FUMI 理論の前提であるが、この前提は満たされていると考えられる。¹²⁵I-DRM099 の 4 濃度 6 回の繰り返し測定の結果を表 1 に示す。濃度が高くなるに従って、測定値の RSD は小さくなるのが分かる。

表 1 ¹²⁵I-DRM099 の測定結果

	放射能濃度(kBq/mL)			
	44.5	89.0	133.5	267.0
1	2.88	6.20	13.1	20.7
2	3.50	6.83	10.4	19.9
3	1.75	7.29	10.7	20.1
4	2.35	8.52	13.0	19.2
5	1.71	8.10	11.6	20.1
6	2.11	9.20	10.9	21.0
mean	2.38	7.69	11.6	20.2
SD	0.70	1.12	1.18	0.62
%RSD	29.4	14.5	10.1	3.06

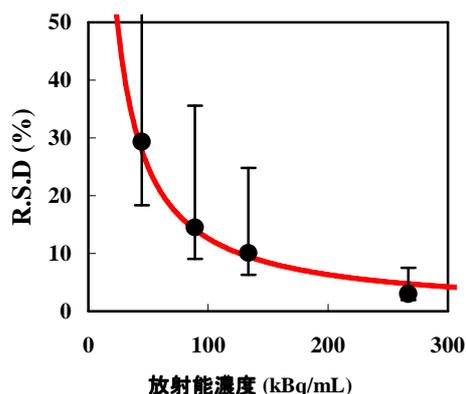


図4 ^{125}I -DRM099 を測定したときの FUMI 理論による精度予測と繰り返し測定から求めた精度の比較

測定値の RSD の濃度に対するプロットは、精度プロファイルと呼ばれている。図4の曲線は FUMI 理論から推定した RSD を表し、●は繰り返し測定による RSD であり、バーは χ^2 分布から計算した繰り返しによる RSD の 95% 信頼区間である。

図4より、FUMI 理論から推定した精度と実測から推定した精度は良好に一致することが分かる。

短半減期核種の測定結果

次に、実際に用いられる核種である ^{123}I ($T_{1/2}$:13.27h) の標識化合物の測定を行い、長半減期核種の測定と同様の検討を行った。試料は、逆相の HPLC カラムに保持しない Na^{123}I とした。実際には、このような化合物を HPLC-RI で測定することはないが、減衰の影響が無視できる十分に短い時間内での繰り返し測定を行うためのモデル測定として、この系を設定した。 Na^{123}I の測定条件における RI 検出器のベースラインは図5の通りであった。



図5 ベースラインノイズ(^{123}I 測定)

長半減期核種測定条件のベースライン (図1) と同様に、スパイクノイズが現れる特徴的な形状を示した。このベースラインノイズをフーリエ変換して得られたパワースペクトルを、図6に示す。

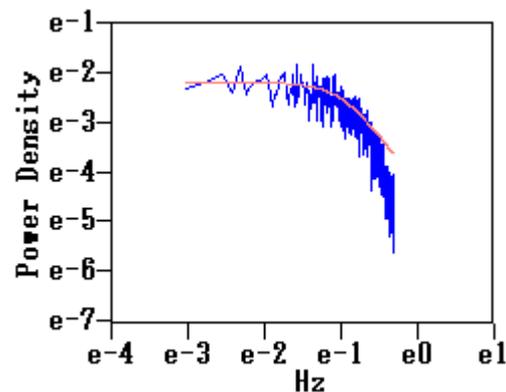


図6 Power Spectrum(^{123}I 測定)

このパワースペクトルにも ^{125}I の測定と同様に FUMI 理論のモデルをフィッティングした。得られたパラメーターは、ホワイトノイズの SD は 0、マルコフ過程の SD は 3.20×10^{-2} 、マルコフ過程の自己相関係数は 0.56 であった。ホワイトノイズの SD は、長半減期核種の測定の場合と同様で 0 であった。

今回の測定で得られた Na^{123}I のクロマトグラムを図7に示す。このときの試料の放射能濃度は、136.3kBq/mL である。

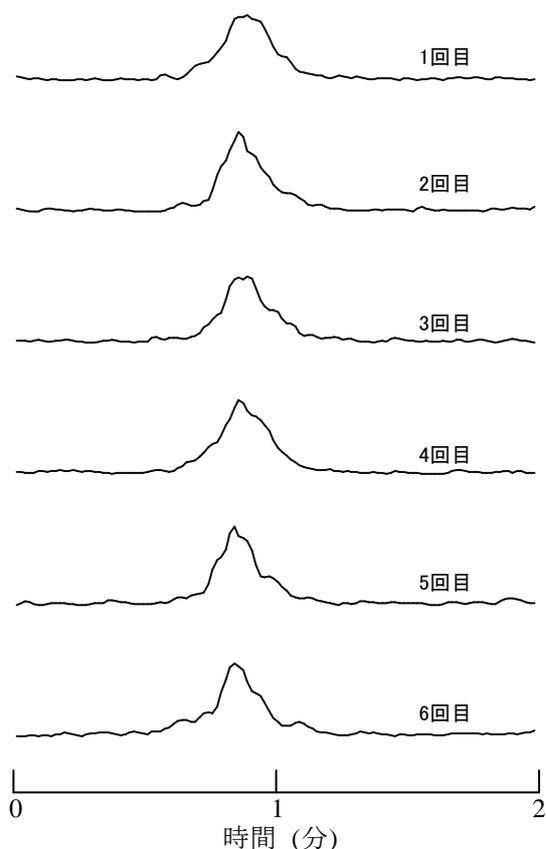


図 7 Na^{123}I のクロマトグラム
(試料の放射能濃度：136.3kBq/mL)

4 濃度 6 回の繰り返し測定の結果は表 2 に示す通りであった。図 8 は、この結果のプロットである。長半減期核種の実験結果と同様な右下がりの精度プロファイルが得られた。

	放射能濃度(kBq/mL)			
	26.3	65.7	136.3	277.7
1	5.36	12.6	28.7	60.1
2	4.70	11.3	27.7	54.9
3	2.77	12.7	29.0	63.8
4	6.93	14.0	28.3	62.4
5	4.66	10.1	29.4	60.4
6	2.21	13.3	30.1	58.4
mean	4.44	12.3	28.9	60.0
SD	1.73	1.39	0.83	3.13
%RSD	39.0	11.3	2.88	5.22

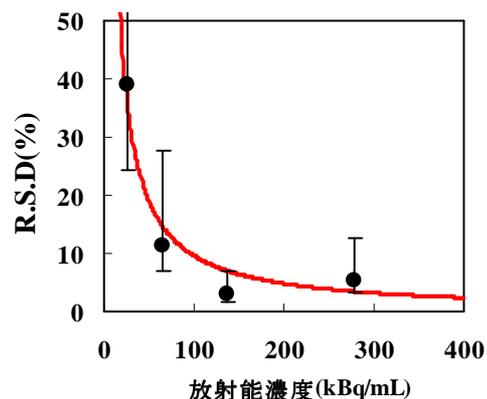


図 8 Na^{123}I を測定したときの FUMI 理論による精度予測と繰り返し測定から求めた精度の比較

繰り返し測定から求めた精度と FUMI 理論から計算された精度とを比較すれば、図 4 の場合と全く同様に、この場合も FUMI 理論の推定精度と実測精度は良好に一致することが分かる。

D. 考察

HPLC-RI のベースラインノイズのパワースペクトルは右下がりであり、FUMI 理論に基づくパラメーター(ホワイトノイズの SD、マルコフ過程の SD、マルコフ過程の自己相関係数)でノイズの確率論的性質を記述できることを確認した。本研究に用いた HPLC 分析のベースラインは FUMI 理論では扱っていないスパイクノイズを含んでいる。しかし、図 2 と 6 のモデルでのフィッティングの良さ、図 4 と 8 の理論と実験の一致から、図中に含まれているスパイクノイズは無視できる程度であり、FUMI 理論で精度推定が可能であると結論できる。

短半減期核種の標識有機化合物の HPLC-RI 分析における精度推定における FUMI 理論の応用可能性を検討するにあたり、実験の都合上、次の試料を用いた。長半減期核種の試料としては ^{125}I の標識有機化合物、短半減期核

種の試料としては Na¹²³I である。どちらの場合も FUMI 理論の推定精度と実測精度とが一致したことから、3 段論法により、HPLC-RI 分析での短半減期核種の標識有機化合物の精度は、1 回の測定から推定できることが分かった。

長半減期核種の実験では、6 回の繰り返しに必要な測定時間は 30 分 (=6×5 分) であり、この間の放射能の減衰は約 0.024% である。一方、高濃度での試料の測定値の RSD は約 3% であったので、この放射能の減衰は測定値のばらつきにはほとんど影響しないと考えられる。短半減期核種の実験では、6 回の測定時間 (12 分 = 6×2 分) における放射能の減衰は約 1% である。高濃度での試料の測定値の RSD は約 5% であり、放射能の減衰は無視できる。

E. 結論

FUMI 理論の利用により、HPLC-RI 分析での正確かつ効率的な精度推定が可能となった。

【参考文献】

- 1) 林 譲, 松田りえ子: HPLC 分析の精度—分析の信頼性を知るために—, 林純薬工業 (1999)
- 2) Hayashi, Y., Matsuda, R.: Deductive Prediction of Measurement Precision from Signal and Noise in Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry*, 66, 2874-2881 (1994)
- 3) 岩木和夫, 大羽宏, 勝峰万里, 小沢さやか, 松田りえ子, 林譲: ダイオキシン類の GC/HRMS 測定による検出下限の推定法の比較, *環境化学*, 11, 173-180 (2001)
- 4) Takayama, M., Hayashi, Y.: Prediction of Measurement Precision Based on FUMI Theory for Quantitative Mass Spectrometry with Electron Ionization. *J. Mass Spectrum*.

Soc. Jpn., 48, 248-253 (2000)

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第 48 回放射化学討論会

放射性医薬品分析における FUMI 理論に基づいた分析値の信頼性評価

(第一 RI 研究所、国立衛研)○北島昭人、田沢周作、初芝清徳、南澤孝夫、松田りえ子、林譲

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし