

資 料

|||||

ラジオアイソトープを用いた動物実験での文献調査

——飛散率について——[†]

戸塚善三郎, 土井正博*, 宮沢映次**, 川上猛雄***

藤沢薬品工業(株)薬物動態研究所, *藤沢テクニクス(株)放射線管理室
532-8514 大阪市淀川区加島 2-1-6**武田テクニクス(株)放射線管理室, ***武田薬品工業(株)大阪地区研究所
532-0024 大阪市淀川区十三本町 2-17-85Key Words: survey of literature, dispersion ratio, collection ratio,
expiratory excretion ratio, total recovery, radioisotope,
animal study

1. はじめに

放射性同位元素の飛散率は RI 施設の管理での、人が常時立ち入る場所の空气中濃度、排気口での放射性同位元素の濃度、放射線被ばく、放射性物質の最大使用数量、RI 施設の排気能力等の重要項目と相互に影響を及ぼす密接な関係にある¹⁾。1990年 ICRP 勧告の日本での受入れに関する中間報告^{2), 3)}で人が常時立ち入る場所、管理区域、公衆の場所での被ばくが改訂され従来の規制より厳しくなり、90年勧告の取入れによって、多くの核種につき空气中濃度限度の値が切り下げられることが予想されるので、

従来のような安全側にすぎると思われる飛散率ではなく、もっと現実的な数値を用いるべきと考える。飛散率に関する実験は ⁶⁰Co および ¹⁹²Ir 金属の飛散率⁴⁾、核分裂生成物の飛散率⁵⁾ および放射性物質の種々の取扱い条件での飛散率の概算法⁶⁾等が報告されている。

放射性同位元素 (RI) の標識体を用いた動物実験では投与された RI 標識体薬物の一部が気体として呼気中に排泄されるが、ほとんどが尿および糞中に排泄され、一部が生体内に残存する。投与された RI のほとんどが回収されている。しかし投与された RI の 100% が飛散する可能性があるとして申請書上では飛散率 100% で計算している。この法の運用は現実から大きくかけ離れていると考えられるので、RI 動物実験の文献調査を実施して、RI 施設の管理で使われる飛散率の実態を、放射能の総回収率 (捕捉率) および呼気排泄率から統計的に求め、それらの年度推移、動物種での差異、投与経路での差異、標識核種での差異を解析したので報告する。

1・1 飛散率に関する法律と運用

飛散率は人が常時立ち入る場所の空气中濃度 (8 時間平均濃度)* および排気に係わる放射性

[†] Survey of Literature on Dispersion Ratio and Collection Ratio of Radioisotopes in Animal Study Using Radioisotopes. Zenzaburo TOZUKA, Masahiro DOI*, Eiji MIYAZAWA** and Takeo KAWAKAMI***: Biopharmaceutical and Pharmacokinetic Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., LTD., *Contract Technical Division 3, Fujisawa Technical Services Co., LTD., 2-1-6, Kashima, Yodogawa-ku, Osaka-shi, 532-8514, Japan, **Radioisotopes, Takeda Technical Services Co., LTD., ***Radioisotopes, Pharmaceutical Research Division, Takeda Chemical Industries Co., LTD., 2-17-85, Juso-Honmachi, Yodogawa-ku, Osaka-shi, 532-0024, Japan.

同位元素の濃度(排気口での3月間平均濃度)**の計算に使われる¹⁾。

放射線障害防止法の施行規則に関連した課長通知¹⁾では、人が常時立ち入る場所における空气中濃度の計算の場合、フード内でのみ取り扱うとき、標識体が気体の場合の飛散率は10%、液体および固体の場合の飛散率0.1%と計算し、それ以外のフードを使用しない場合、標識体が気体の場合の飛散率は100%、液体および固体の場合の飛散率1%と計算する。排気口濃度の計算では標識体が気体の場合の飛散率は100%、液体および固体の場合の飛散率1%と計算する^{7), 8)}。医療施行規則⁹⁾に関連した課長通知では、標識体が気体の場合、ガストラップ装置を使用する場合の飛散率は10%、ガストラップ装置を使用しない場合の気体の飛散率は100%、液体および固体の場合の飛散率0.1%と計算する。

一方、1991年に厚生省より告示された薬物動態試験のガイドライン^{10), 11)}によると「放射性同位元素標識体を用いた尿、糞、呼気中排泄試験では、単回投与の場合、放射能の95%以上が排泄物中に回収されるか、もしくは7日間のいずれか短い期間にわたって測定することが望ましい。」と規制されている。このバランススタディは呼気もトラップできる代謝ケージを用いて実施され、対投与放射能で尿、糞、呼気排泄率、生体内残存率、ケージ洗浄液の含有率を合わせた総回収率を求める。一般に動物試験での飛散率は呼気中に排泄される放射性同位元素を法で定める標識体が気体のケースと考え、尿、洗浄液、糞や屍体中に含まれる放射性同位元素は法で定める標識体が液体・固体のケースと考える。しかし動物試験では標識体の形状は別として、総回収率を捕捉率とし、未回収率を

飛散率とする考え方もある。薬物動態試験のガイドラインで総回収率を95%以上を指導しほぼ遵守されている現状からみて飛散率は5%以下と考えられる。呼気排泄率を飛散率にするならばさらに低い値と考えられる。

しかし申請時に、RI動物試験を実施する多くの施設の空气中濃度および排気口濃度の計算で、放射線障害防止法の運用で、飛散率を使用放射能の100%とされている。一部のRI動物試験を実施する施設では厚生省より告示された薬物動態試験のガイドラインにそって飛散率を5%として計算されている。これらの不一致は飛散率の実態を示す資料がないためと考えられるので、この調査を実施した。

1・2 飛散率の実態での解釈

製薬放射線コンファレンス(PRC)で飛散率の解釈について討議したが、「飛散率は呼気排泄率である」、または「飛散率は未回収率である」という二通りの解釈がある。前者は動物実験施設での空气中濃度や排気口濃度に関与するのは主に放射能の呼気中排泄率であるという考え方であり、もしも代謝ケージやフードを使用せずに動物実験をした場合、放射性物質は呼気排泄により飛散すると考えている。この主張者は経験から「標識位置が代謝や分解の受けない部位を選択すれば、放射能の呼気排泄はほとんど検出限度以下であり、検出されても1%未満である。」と考えている。後者は総回収率は放射性物質が捕捉されたことを示し、未回収の放射性物質が飛散するのだという考え方である。この主張者の意見では「糖、アミノ酸、核酸や脂肪酸等からなる医薬品ではどこを標識しても呼気排泄をするのを経験した。しかしフード内で代謝ケージを使用して動物実験をした場合、呼気も完全に捕捉され、総回収率はほぼ100%であり、飛散率を未回収率とすれば0%であり、人のいる室内の放射能濃度は検出限度以下であった。」とのことである。両者とも飛散率の申請上の運用と実態との乖離に疑問を抱いて

* 人が常時立ち入る場所の空气中濃度(8時間平均濃度) = (1日最大使用数量 × 飛散率) / 8時間当たりの排気量

** 排気に係わる放射性同位元素の濃度(排気口での3月間平均濃度) = (3月間最大使用数量 × 飛散率 × 透過率) / 3月間の排気量

いる。今回の文献調査結果を呼気排泄率および総回収率について解析することにより、両者の主張の実態も検討できた。

2. 方 法

放射性同位元素で標識した薬物等を人を含む動物に投与した場合の放射能の回収率について、1985-1996年間のほとんどすべての薬物動態試験に関する論文を記載している 11 の文献（薬物動態，基礎と臨床，医薬品研究，化学療法の領域，化学療法学会誌，薬理と治療，農薬学会誌，Arzneim Forsch./Drug Res., Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet., Drug Metab. Disp., Xenobiotica）を対象に調査した。調査項目は薬物名，実施施設，標識核種，投与方法，試験期間，動物種，尿中放射能排泄率，糞中放射能排泄率，呼気中放射能排泄率，その他の放射能排泄率，総回収率，調査文献である。1996年に実施した第1回目の調査データを集積し解析した結果，調査員による調査項目の記載方法の差異のため解析できない項目が出たため，記載方法を統一することとデータの再確認も兼ねて1997年に再調査を実施した。各調査項目を表計算ソフトのエクセル（マイクロソフト社）のピボットテーブルで集計した。尿・糞・呼気中放射能排泄および体内残存やケージ洗浄液中放射能等すべてが揃ったバランススタディのみのデータを選択した解析もすべきであるが，今回はすべてのデータをエクセルで集計し，①実験ミスか集計ミスか判定できなく回収率が100%を大きく上回るもの，②排泄率に関する項目が偏り総回収率の計算が困難なもの，のみ

を除去して解析した。調査の対象とした総品目数は 650，総実施施設数は 358，総試験数は 1975 であった。

3. 結 果

3・1 飛散率および捕捉率（図1，表1）

総試験数 1975 の総平均で求めた捕捉率（総回収率）は 95%，未回収率は5%，呼気排泄は 2%であった。飛散率は，未回収率であれ呼気排泄率であれ，統計的には少なくとも 5%以下である。呼気排泄を詳細にみると，呼気排泄率 1%以上の試験数は少なく総試験数のわずか 8%であり，ほとんどの試験の呼気排泄率が 1%以下である。しかし呼気排泄率 50%以上の試験数が 30（総試験数の 1.5%）あり，これら試験で RI 標識体は糖，アミノ酸，核酸や脂肪酸からなる医薬品であり，生体内に備わった代謝機構によって炭酸ガスになって呼気排泄されるものである。また呼気排泄率 10 - 50% の試験数は 50（総試験数の 2.5%）あり，この中には RI 標識位置が合成しやすいが代謝や分解の受けやすい部分（たとえば O-メチル基）を選択したミスのものも多く，標識位置を変えて試験をやり直して呼気排泄を 1%以下にしている。上記の如く試験数は少ないものの呼気排泄率の値が大きいデータが呼気排泄率の総平均を 2%に引き上げている。未回収率に関しては，今回の調査では論文のすべてがバランススタディでないため，記載されていない項目がありその分が未回収に含まれて多めになるものの，未回収率が 10%以上の試験数は 374（総試験数の 12.6%）であった。呼気排泄率 50%以上の試

表 1 年度ごとの飛散率

年 度	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	総計
総回収率	92.9	93.1	95.0	95.5	94.5	95.0	95.3	95.6	94.8	95.3	95.6	95.2	94.9
尿中排泄率	53.0	50.4	51.0	49.1	40.7	47.8	44.0	38.8	37.4	45.3	47.4	35.5	45.2
糞中排泄率	33.8	36.8	37.7	40.7	49.8	39.0	46.1	47.4	47.9	40.4	40.2	34.5	41.6
呼気中排泄率	3.9	1.7	0.7	1.7	1.6	0.9	2.5	0.6	1.6	2.0	2.3	3.3	1.8
試験数	151	109	183	165	170	221	151	191	163	220	153	98	1975

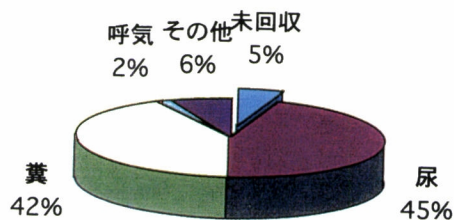
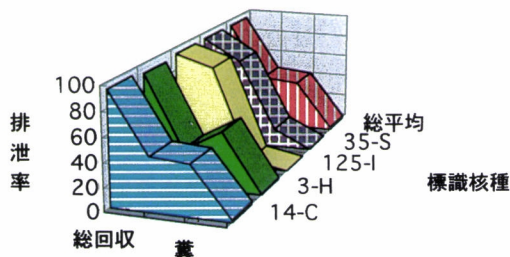


図1 飛散率および捕捉率



排泄経路

図3 主な標識核種と飛散率

験でも、捕捉率を示す総回収率は平均で93.3%であった。以上の結果は「放射線施設の遮蔽能力評価法等に関する調査報告」¹²⁾の結果と類似している。

3・2 年度ごとの飛散率 (表1, 図2)

1985 - 1996年間の全体の平均総回収率は95%であり、したがって捕捉率は95%以上で未回収の飛散率は5%以下である。各年度でみ

てもほぼ同様であるが、年度推移を詳細にみると、1987年頃から総回収率は95%が確保されている。その頃から日本 (1991年に厚生省より告示された薬物動態試験のガイドライン)^{10), 11)}、欧州 (OECD, 化学物質毒性試験指針 (1981))¹³⁾ および米国 (FDA, 毒性試験に関するガイドライン (1981))¹⁴⁾ とともに薬物動態試験のガイドライ

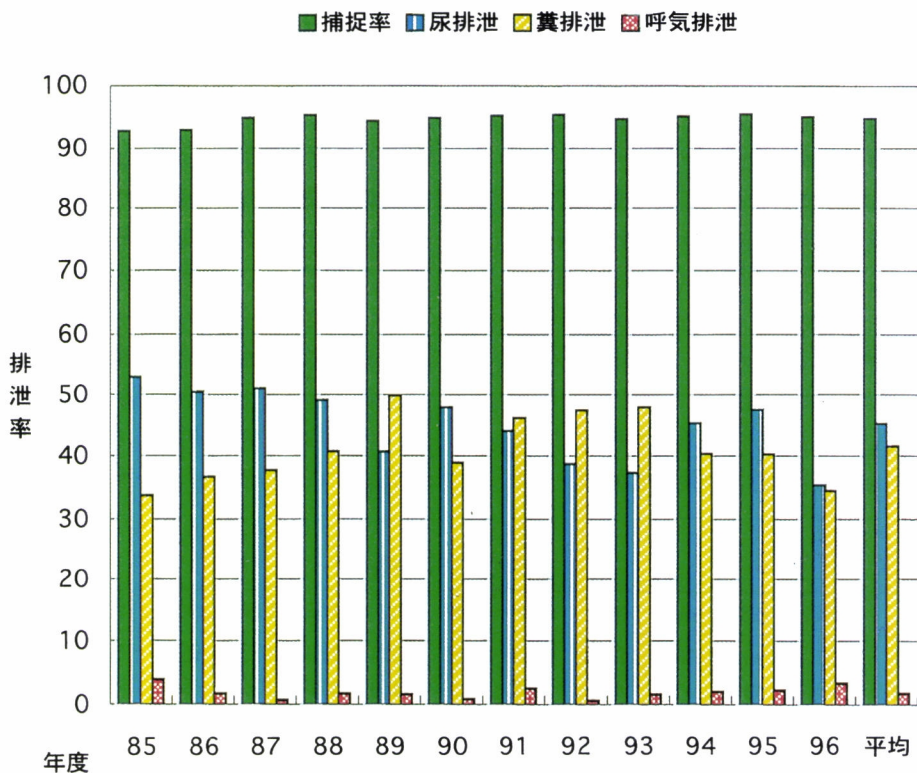


図2 年度ごとの飛散率

ンで 95% 以上の排泄率または 7 日間 (168 時間) の排泄率を求めたため, 試験期間を解析すると, 尿・糞・呼気の試料の採取時間を 168 時間に延ばしていること, 総回収率を解析すると排泄率を 95% 以上になるように努めていることがわかった。1985 - 1996 年間の全体の平均呼気排泄率は 1.8% であり, 各年度でみてもほぼ同様であるが, 年度推移を詳細にみると 0.6 - 3.9% である。

3.3 標識核種と飛散率 (表 2, 図 3)

主な標識核種を四つ (^{14}C , ^3H , ^{125}I , ^{35}S) 選んだのは, これら 4 核種の試験が全体の 99.4% を占め他の核種の試験数が少なく, 統計的にまとめられないと考えたからである。また飛散率の計算では液体および気体として扱われ飛散率 100% として計算するため飛散率の実態調査では特に意義がある。標識核種ごとの試験数は総試験数 1 975 のうち, 特に ^{14}C の試験数が約 83% を占め, ^3H の試験数 12%, ^{125}I の試験数 4%, ^{35}S の試験数 1% の順であった。 ^{14}C の平均総回収率は 94.9% で平均呼気中排泄率が 2.5%, ^3H の平均総回収率が 91% とやや低い

平均呼気排泄率は 0.7% と少なかった。 ^{125}I の平均総回収率は 94.7% で平均呼気中排泄が 0%, ^{35}S の平均総回収率は 93.4% で平均呼気中排泄が 1.3% であった。未回収率および呼気排泄率の実態からこれら 4 核種の飛散率は 5% 以下である。

3.4 動物種と飛散率 (表 3, 図 4, 5)

各動物種ごとの試験数は総試験数 1 975 の約 70% がラットで, イヌが 17%, マウス, サルが 4%, ウサギ, ヒトが 2% でありモルモットが 1% であった。ヒトは 2% であるが近年増える傾向にある。動物試験での平均総回収率は約 95% であり, 動物種ごとにみるとラットのご

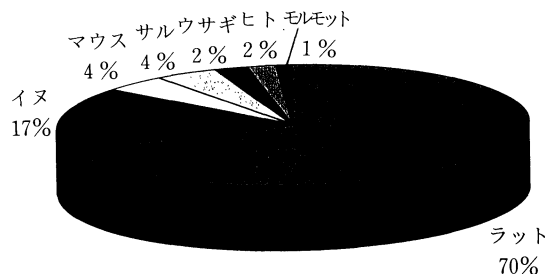


図 4 動物種の試験数比率

表 2 主な標識核種と飛散率

標識核種	^{14}C	^3H	^{125}I	^{35}S	総平均
総回収率	94.9	92.2	94.7	93.4	94.9
尿中排泄率	45.4	30.8	84.4	74.5	45.2
糞中排泄率	42.8	50.5	6.5	14.5	41.6
呼気中排泄率	2.5	0.7	0.0	1.3	1.8
試験数	1 642	240	67	15	1 975
試験数比率	83.1	12.2	3.4	0.8	100

表 3 動物種と飛散率

動物種	ラット	イヌ	マウス	サル	ウサギ	ヒト	モルモット	総平均
総回収率	95.7	94.0	93.2	90.2	93.1	91.9	93.9	94.9
尿中排泄率	42.9	47.6	48.3	53.6	55.4	61.8	57.0	45.2
糞中排泄率	42.9	44.5	42.8	31.8	17.8	28.5	33.6	41.6
呼気中排泄率	2.0	0.4	1.7	2.1	6.6	1.0	0.0	1.8
試験数	1 355	331	85	79	45	40	19	1 975
試験数比率	68.6	16.8	4.3	4.0	2.3	2.0	1.0	100

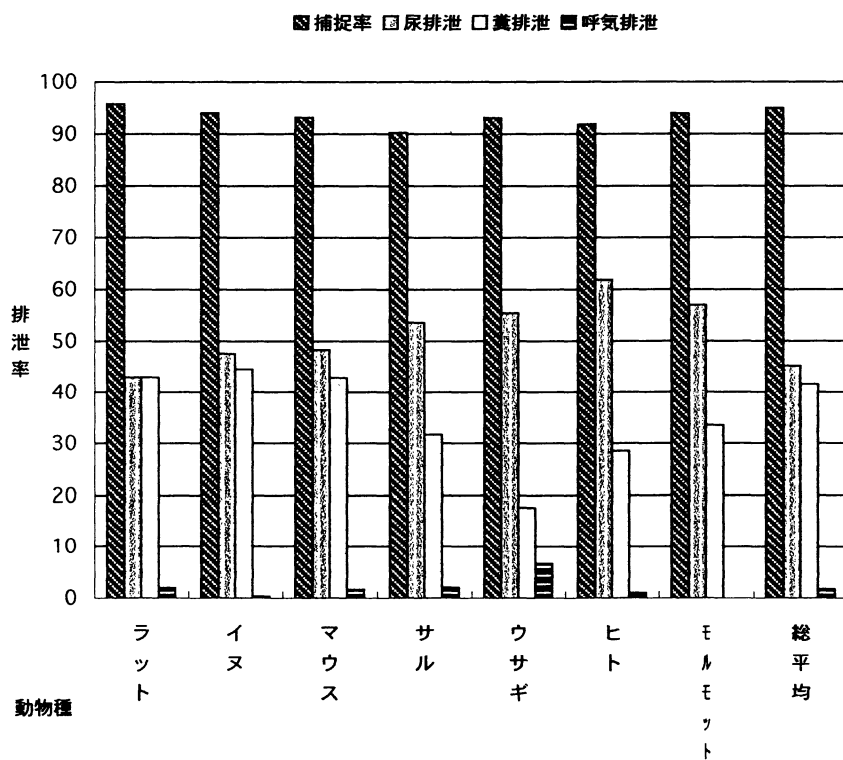


図 5 動物種と飛散率

表 4 投与経路と飛散率

投与経路	経口	静注	経皮	皮下	腹腔	筋注	総平均
総回収率	94.9	93.7	95.2	95.2	91.4	94.0	94.9
尿中排泄率	42.6	53.4	20.0	43.9	43.5	58.4	45.2
糞中排泄率	47.9	36.4	14.6	44.4	45.7	34.2	41.6
呼吸中排泄率	2.3	1.8	1.8	1.8	2.0	0.0	1.8
試験数	1 115	603	90	74	35	21	1 975
試験数比率	56.5	30.5	4.6	3.7	1.8	1.1	100

とく飼育しやすくバランススタディの回収率が高いものと、サルやヒトのごとく長期間の拘束が困難で回収率が低いものがある。呼吸中排泄率はウサギで6.6%とやや高いが、その他の動物では2%以下でほとんど呼吸に排泄されない。

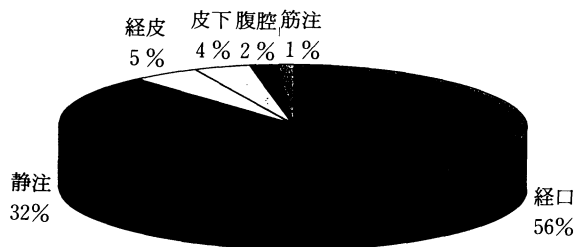


図 6 主な投与経路の試験比率

3・5 投与経路と飛散率 (表 4, 図 6, 7)

投与経路ごとの試験数は総試験数 1 975 の約 56% が経口投与で最も試験数が多く、次いで静脈内注射が全体の 32% であり、経皮吸収 5

%, 皮下注射 4%, 腹腔内注射 2%, 筋肉内注射 1% の順であった。総回収率 91.4 - 95.2%,

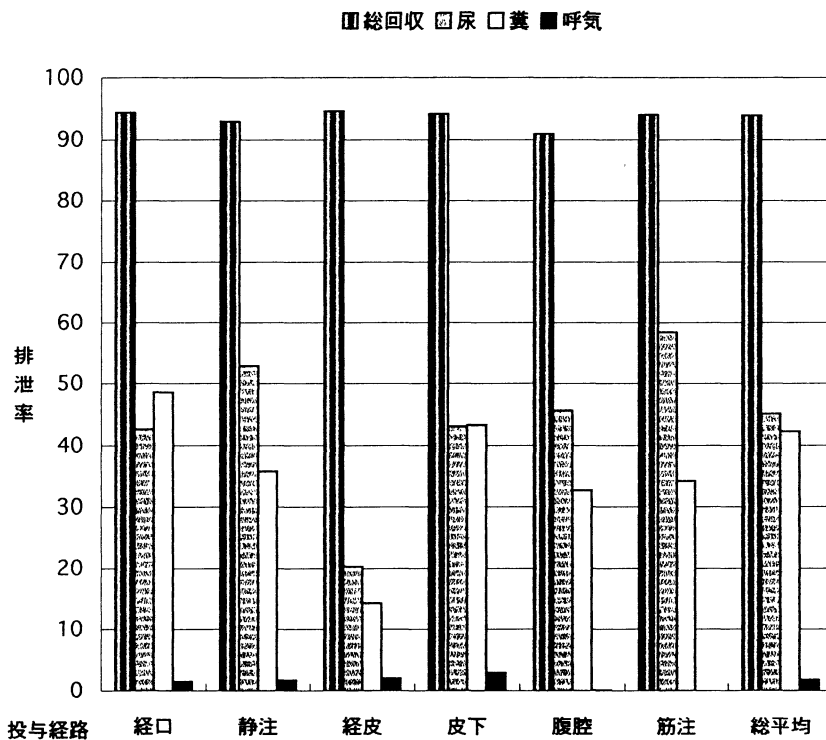


図 7 主な投与経路と飛散率

呼吸排泄 2.3% 以下と投与経路に関しては飛散率はほとんど変りないことがわかった。経皮吸収の回収率は予想では低いと思っていたが、実際の回収率は最も高かった。

4. 考 察

1985 - 1996年間の総試験数 1 975 での個々の薬物 (650) の捕捉率 (総回収率) の分布図を図 8 に示す。全体の捕捉率は $95.0 \pm 6.8\%$ (Mean \pm S.D.) であり、最頻値および中央値とも 95.0% であった。したがって未回収の飛散率は 5% である。

1985 - 1996年間の総試験数 1 975 での個々の薬物 (650) の呼吸排泄率の分布図を図 9 に示す。全体の呼吸排泄率は $1.8 \pm 9.4\%$ (Mean \pm S.D.) であり最頻値および中央値とも 0% であった。呼吸排泄率からみた飛散率は 1.8% である。呼吸排泄の最頻値および中央値はともに 0% であり、図 9 は 0 付近に総試験数 1 975 の

大部分のスポットが集中し高い山となっている。しかし平面の散布図ではばらつきの方が目立つ。これは 3・1 で述べた理由で、呼吸排泄率 50% 以上の試験数が 30 (総試験数の 1.5%), 呼吸排泄率 10 - 50% の試験数は 50 (総試験数の 2.5%) ある。しかし全体からみれば呼吸排泄率 1% 以上の試験数は少なく、総試験数のわずか 8% であり、ほとんどの試験の呼吸排泄率が 1% 以下である。

捕捉率と呼吸排泄率の相関図を図 10 に示す。これはたとえ呼吸排泄率が高くて RI の捕捉率は高いことを示している。薬物動態試験はまずバランススタディを実施し呼吸排泄の有無を確かめ、呼吸排泄があるならば、標識位置を変えてやり直すか、少なくとも代謝ケージで呼吸をトラップしてフード内で実験し、実験者の被ばくがないように義務づけ実施されている。

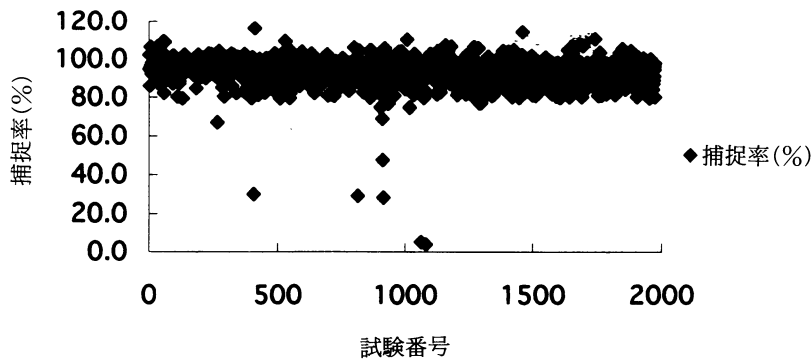


図 8 RI 標識薬物の捕獲率の分布図

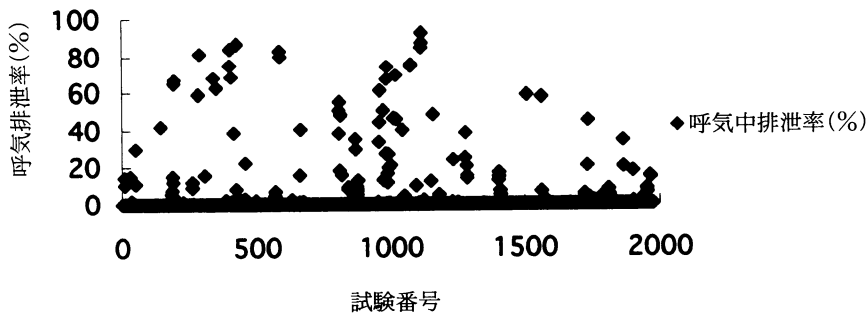


図 9 RI 標識薬物の呼気排泄率

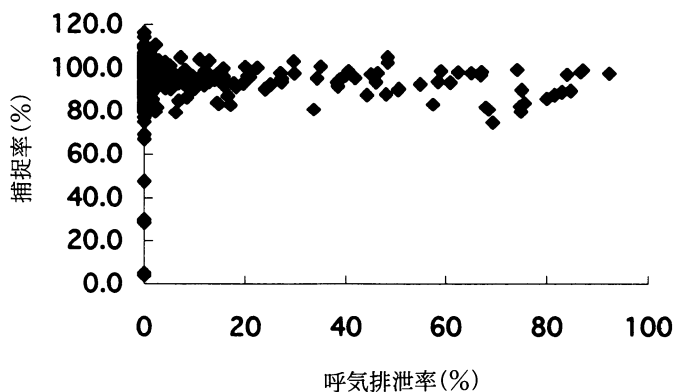


図 10 捕獲率と呼気排泄率の相関図

5. あとがき

飛散率の実態把握のため放射能の総回収率と呼気中排泄率について文献調査を立案（著者 4 名）し，PRC メンバー 18 名（表 5）で調査

し，立案者および国吉真勇（新日本科学）でデータ整理および解析を実施した。その結果については PRC 全体会議で 3 回討議し，PRC 委員会（著者 4 名および矢鋪祐司（日本たばこ産業㈱），三原隆一（味の素㈱），小野健司（第一

表 5 文献調査担当者

調 査 者	所 属	調査文献
池田 光政	クミアイ化学工業(株)生物科学研究所	日本農薬学会誌
今崎 一	山之内製薬(株)臨床薬理研究所	<i>Arzneim Forsch./Drug Res.</i>
宇田 文昭	アップジョンファーマシューティカル筑波研究所	<i>Xenobiotica</i>
岡部 博	塩野義製薬(株)新薬研究所	基礎と臨床
角田 成正	山之内製薬(株)東京研究所	<i>Arzneim Forsch./Drug Res.</i>
金丸 博	住友化学工業(株)生物環境科学研究所	基礎と臨床
川上 猛雄	武田薬品工業(株)大阪地区研究所	医薬品研究
小林 弘幸	協和醸酵工業(株)医薬研究所	<i>Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.</i>
鈴木 道夫	ゼリヤ新薬工業(株)中央研究所	化学療法の領域
戸塚善三郎	藤沢薬品工業(株)薬物動態研究所	薬物動態
中嶋 裕之	持田製薬(株)富士中央研究所	薬物動態
中村 功	根本特殊化学(株)ライフサイエンス研究所	<i>Xenobiotica</i>
反保 浩一	北陸製薬(株)研究所	医薬品研究
本宮 卓	全薬工業(株)研究所	化学療法学会誌
松熊 敏浩	大鵬薬品工業(株)製薬センター	化学療法の領域
馬淵 和範	三井東圧化学(株)生物科学研究所	<i>Drug Metab. Disp.</i>
森川 演夫	参天製薬(株)眼科研究所	薬理と治療
山下 憲昭	日本レダリー(株)生物研究所	薬理と治療

製薬(株), 角田成正 (山之内製薬(株)), 高市松夫 (第一化学薬品(株)) で検討を重ねた結果を報告するに至った。PRC の協力者全員に感謝する。

文 献

- 1) 国際放射線防護委員会新勧告 (ICRP Pub. 26) の取入れによる放射線障害防止法関係法令の改正について (通知), 科学技術庁原子力安全局放射線安全課長通知, 1988.10.1.
- 2) ICRP 1990 年勧告 Pub. 60) の国内制度等への取入れに関する審議状況について (中間報告), 科学技術庁ホームページ (www.sta.go.jp/shingi/houshasen/houkoku.htm), 1997.6.
- 3) ICRP Publication 60, 国際放射線防護委員会の1990年勧告, (株)日本アイソトープ協会編, 丸善, 東京 (1992)
- 4) (株)日本アイソトープ協会 ^{60}Co および ^{192}Ir 金属の飛散率測定検討委員会, *Radioisotopes*, **44**, 10-18 (1995)
- 5) 泉 幸男, 松井智明, 池沢芳夫, 田辺勇美: 保健物理, **13**, 295-299 (1978)
- 6) 高田, 他: *Radioisotopes*, **32**, 260 (1983)
- 7) 空気中及び水中の放射性同位元素の濃度の評価, 自主点検の手引き, pp. 150, 放射線障害防止中央協議会, (株)原子力安全技術センター, 東京 (1992)
- 8) 飛散率, 透過率及び混入率, 自主点検の手引き, pp. 151, 放射線障害防止中央協議会, (株)原子力安全技術センター, 東京 (1992)
- 9) 医療法施行規則第 30 条の 26
- 10) 医薬品の製造 (輸入) 承認申請に必要な薬物動態試験のガイドラインについて, 厚生省薬務局新医薬品課長通知, 薬新薬第 6 号, 1991.1.29.
- 11) “医薬品非臨床試験ガイドライン解説 1991”, pp. 91, 薬事日報社, 東京 (1991)
- 12) 未発表, 私信, (株)放射線計測協会 (1995)
- 13) 大森義仁: “OECD 化学物質毒性試験指針”, pp. 316, 663, 化学工業日報社, 東京 (1981)
- 14) “医薬品非臨床試験ガイドライン解説 1991”, pp. 3, 薬事日報社, 東京 (1991)