2001 추계학술발표회 논문집
한국원자력학회

복강내 전이암의 방사성동위원소 치료를 위한 Re-188 주석 교질의 연구

Development of Re-188 tin colloid for intraperitoneal seeding cancer radiation therapy

이용진, 정재민, 이동수, 정준기, 이명철

서울대학교병원
서울시 종로구 연건동 28

요 약

방사성 교질은 복강내 전이암, 관절염 활액막 절제술 등의 방사성 동위원소 치료에 사용된다. Re-188(T1/2=17.0시간)은 치료용으로 적당한 베타선과 영상화에 적당한 감마선을 방출한다. 이 연구에서는 Re-188을 표지한 주석 교질이 복강내 전이암 치료에 사용 가능한지를 알아보았다. 주석 교질 킷트 (Stannus chloride 10 mg, pH 1)에 Re-188를 가하여 실온에서 2시간 반응 후 표지 효율을 측정하였다. Re-188 주석 교질의 안정성을 관찰하고, 교질의 크기는 필터를 사용하여 확인하였다. Re-188 주석 교질을 마우스의 정맥으로 주사 후 1 시간에 체내분포를 측정하고, 마우스 복강내 주사 후 3일 동안에 소변과 대변을 취해 체외 배설량을 측정하였다. Sarcoma-180으로 유발된 복강 내 전이암 마우스에 Re-188 주석 교질 1.5, 3, 6 MBq를 복강에 투여 후 마우스의 체중과 생존 기간에 Re-188 주석 교질이 미치는 영향을 평가 하였다. Re-188 주석 교질의 표지 효율은 실온에서 99%이였으며, 실온과 혈청에서 70시간 동안 안정하였다. Re-188 주석 교질의 입자크기 분포는 0.2 μm이하가 46.1%이고 0.2-1 μm가 27.0%, 1-5 μm가 17.2%, 5 μm 이상이 9.7%이었다. 정맥 주사후 Re-188 주석 교질의 체내분포 (% ID/g)는 간이 72.0±5.4로 가장 높았고, 비장에서는 31.0±6.2이었다. 3일 동안 배설된 총량은 소변에서 2.5±0.5% 이고, 대변에서는 1.0±0.7% 이었다. 복강암 유발 마우스에서 15일째에 마우스의 무게는 처리 안 한 군에서는 26.5±9.1 g 이였고 1.5 MBq Re-188 주석 교질을 처리한 군에서는 25.3±6 g으로 나타났다. 3과 6 MBq Re-188 주석 교질을 처리한 군에서는 무게 변화가 나타나지 않았다. Re-188 주석 교질을 투여한 군에서는 처리하지 않은 군에 비해 평균 생존기간을 2.1일 연장시켰다. Re-188 주석 교질은 실온과 체액에서 안정하고, 교질을 복강내 투여시 복강에서 복강밖 장기에 옮겨가지 않아 복강내 전이암 치료에 사용 가능하다.

Abstract

Radiocolloids have been used to control malignant ascites. Re-188 has ideal physical properties for radionuclide therapy. This experiment was designed to validate the usefulness of Re-188-tin colloid for the treatment of malignant peritoneal effusion. Re-188-tin colloid was prepared by reacting generator-eluted Re-188-perrhenate (0.5 ml) with 10mg $SnCl_2$ (0.5 ml, pH 1) for 2 h at room temperature. Particle-size distribution of Re-188-tin colloid was measured by various pore-size filters. To obtain peritoneal effusion models, 4 $\times 10^6$ Sarcoma-180 cells were injected intraperitoneally into each ICR mouse. The next day after injection, the mice were treated with Re-188-tin colloid by intraperitoneal injection. The doses were 1.5, 3, and 6 MBq. Each group was consisted with 10 mice. The effect of Re-188-tin colloid to their survival time and body weight was monitored. Labeling efficiencies of Re-188-tin colloid preparations were higher than 99%. Stability in human serum at 37℃ was >99% for 70 h. Particle-size distribution of the Re-188-tin colloid was <0.2 μm (46.1%), 0.2~1 μm (27.0%), 1~5 μm (17.2%), and >5 μm (9.7%). After intraperitoneal injection in normal mice, excretions of radioactivity through urine and feces were only 2.5 ±0.5 and 1.0 ±0.7% for 72 hr, respectively. In peritoneal tumor model, body weight-increment of normal group was 8.9 ±1.9 g after 15 days. Untreated control and low-dose (1.5 MBq) groups showed significantly increased body weight-increment (26.5 ±9.1 and 25.3±6.0 g, respectively) after 15 days. However, high-dose (3 and 6 MBq) groups showed body weight-increment only 11.0 ±8.3 and 13.1 ±5.3 g, respectively. The body weight-increment in the tumor-inoculated mice was due to the build up of ascites. Increased mean-survival times were found in all treated groups. Re-188-tin colloid is an effective new agent for the suppression of ascites and the extension of life in tumor-inoculated mice.

1. 서 론

복강내 전이암 치료를 위한 치료용 방사성 교질을 사용하여 악성 복강내 파종과 난소암에 사용되며, 외과적 수술후 보조제 치료(adjuvant therapy)와 미시적 잔류 종양 치료에 주로 사용된다. 치료용 방사성의약품은 반감기가 비교적 짧은 베타선원 등이 사용되나 아직 진단에 비해 사용량과 빈도는 적은 편이다. 악성종양치료에 방사성 교질을 이용한 것은 1945년 Muller가 악성삼출액 저류치료에 사용한 것이 처음이다. 그 후 국부 조사법으로 각종 종양, 그중에서도 자궁경부암, 전립선암, 방광암 및 폐암등에 사용되었으나, 일반적으로 사용되지 않고 다만 체강내 주입요법만 이용되나, 최근에는 다양한 치료용 핵종 개발과 방사성의약품의 개발로 방사성 활액막 절제술 등에 시도되고 있으며, 유럽 등 여러 국가에서는 임상에서 사용되고 있다.

초기에는 방사성 금 교질(Au-198 colloid)을 이용하여, 복부와 흉부의 양성 종양에 사용되어져 왔다. 현재는 사용되지 않고, P-32 인산 크롬(chromic phosphate)교질이 사용되어 임상적 시도가

이루어지고 있다. Kaplan 등은 난소와 자궁 내막암 환자에게 P-32 인산 크롬를 사용였다. 또한, 초기 난소암 환자에게 P-32 인산 크롬을 투여하여 환자의 생존률을 증가시킨 보고가 있다. 복강내 암전이 치료에 사용되는 치료용 방사성 핵종으로 많이 사용되는 P-32는 높은 베타선(1.71 MeV)을 방출하여 조직 투과력이 7.9 mm로 방사성 치료에 많이 사용되나, 영상화 할 수 있는 감마선를 방출하지 않아 치료용 방사성의약품의 정량적 평가에 어려움이 있다.

최근에 Re-188은 방사성 활액막 절제술, 뼈 전이암 통증 치료제등 다양한 방사성 치료에 시도되고 있다. Re-188은 치료용 방사성 핵종으로 적당한 베타선(2.12 MeV)과 영상화가 가능한 감마선(155 keV(14.9%))을 동시에 방출하여 조직 투과력은 11 mm로 Y-90과 같고, 발생기에서 생산되어 사용할 때 용이한 장점을 가지고 있다. 이러한 Re-188의 방사성 핵종을 이용한 복강내 암전이 치료용 방사성의약품을 개발하려 한다.

2. 대상 및 방법

2.1. 치료용 방사성 Re-188 주석 교질 제조

① 주석 양에 따른 방사화학적 수율 측정

주석(SnCl2 ; Aldrich사)에 치료용 방사성 핵종인 Re-188을 표지하기 위하여 주석의 양(0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 30 mg)을 달리하여 질소 충전된 0.1N HCl 0.5ml에 녹이고 pH 1로 보정하여 10ml 바이알에 넣은 후 질소로 충진하였다. 각 바이알에 188ReO4-(74MBq/0.5ml)를 넣고 혼합하여 실온에서 2시간동안 반응 시켰다. 방사화학적 수율을 확인하기 위하여 이동상으로 생리식염수, 고정상으로 ITLC-SG(Gelman 사)를 사용하여 크로마토그라피를 확인하고 그 결과를 TLC스케너(Imaging scanner system 2000, Bioscan)로 판독하였다.

② 시간에 따른 방사화학적 수율 측정

시간에 따른 방사화학적 수율의 변화를 보기 위하여 치료용 방사성 핵종인 Re-188에 표지된 주석 교질을 실온에서 반응 시키며 각 시간별(30, 60, 90, 120 분) 방사화학적 수율을 측정하였다.

③ pH 변화에 따른 방사화학적 수율 및 교질 크기 분포 측정

치료용 방사성 핵종인 Re-188과 주석의 표지시에 pH의 영향을 조사하기 위해 반응시의 pH(1, 3, 5)를 달리하여 주석 교질 킷트를 제조 후 Re-188(74MBq/0.5ml)와 혼합 후 실온에서 2시간 반응 시켰다. 방사화학적 수율을 ITLC로 측정하고 바이알에 생성된 주석 교질의 입자 크기를 주사기용 여과장치(pore 크기 ; 0.22, 1, 5 μm)로 여과한 후 남아있는 방사능을 Dose calibrater로 측정하였다.

2.2. 치료용 방사성 주석 교질의 안정성 검사

실온에서 안정성을 측정하고저 Re-188주석교질을 실온에서 24 시간 방치하며 방사화학적 순도를 측정 하였다. 또한 생리 식염수와 사람 혈청에서의 안정성을 확인 하고저 생리 식염수와 사람 혈청 2ml에 Re-188주석교질을 가하고, 37℃, 5% CO2 배양기에서 방치하며, 72 시간동안 방사화학적 순도를 측정하였다

2.3. 생체내 분포와 체외 대사량

① 정맥주사에 의한 생체내 분포 스크리닝

Re-188 주석 교질의 생체 내에서의 분포를 보기 위하여 Re-188 주석 교질 74 kBq/0.1 ml을 마우스(ICR, 숫컷, 22.2±3.2 g, n=5)의 꼬리정맥에 주사하고, 1 시간 후에 장기(혈액, 근육, 지방, 심장, 폐, 간, 비장, 위, 장, 신장, 뇌, 뼈)를 적출하여 무게를 측정하였다. 그리고 장기에 대한 방사능(135 188 keV)을 감마 카운터(Packard)를 사용하여 측정하였다.

② 체외 배설량 스크리닝

마우스(ICR, 숫컷, 25.7±0.6 g, n=4)의 복강내에 Re-188 주석교질 3.7 MBq/0.1 ml을 주사한 후 24, 48, 70 시간에 각각의 뇨과 대변을 취해 감마 카운터로 방사능을 측정하고, 그 결과를 주사한 양에 대한 백분율(%)로 계산하여 나타내었다.

2.4. 종양 모델 마우스에서 Re-188 주석 교질의 효능 검정

Re-188 주석 교질의 제암 효능을 관찰하고저 ICR 마우스에 sarcoma-180 종양 세포주(2×107cell/0.2ml)를 복강 내에 이식한다. 24시간 경과 후 Re-188 주석 교질(1.5, 3, 6 MBq /0.2 ml)을 복강 내에 투여하였다. 대조군(control)으로는 생리 식염수 0.2 ml을 투여하였다. 각 군간의 마우스 무게를 측정하고 생존 곡선을 작성하였다. 이러한 결과를 이용하여 방사성 치료의 효능을 평가하였다.

3. 결과

3.1 치료용 방사성 Re-188 주석 교질의 제조

① 주석 양에 따른 방사화학적 수율 측정

Re-188 주석 교질을 제조한 결과 주석의 양이 0.1 mg/ml에서 5 mg/ml로 증가함에 따라 방사화학적 수율이 높아졌으며, 10 mg/ml에서는 방사화학적 수율이 99.5%로 나타났고 20 mg/ml과 30 mg/ml에서는 방서화학적 수율이 각각 100%로 나타났다(Fig. 1). 본 실험에서는 주석의 양을 10 mg/ml로 사용하였다.

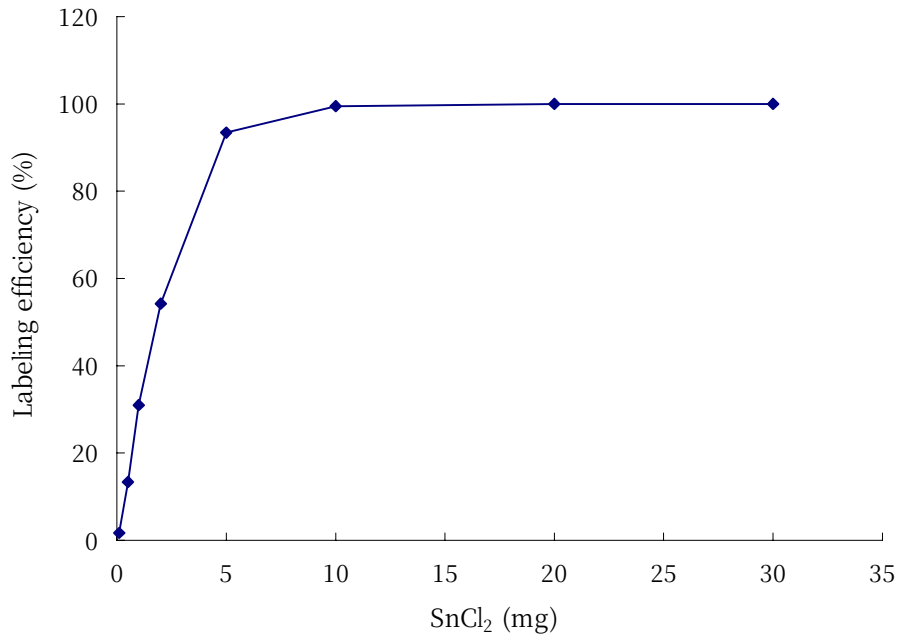


Fig. 1. Labeling efficiency of Re-188 tin colloid versus concentration of $SnCl_2.H_2O$ is plotted

② 시간에 따른 방사화학적 수율 측정

시간에 따른 방사화학적 수율의 변화는 실온에서 반응후 30분에 53.3%으로 나타나 120분에서는 98.9%로 나타났다(Fig. 2).

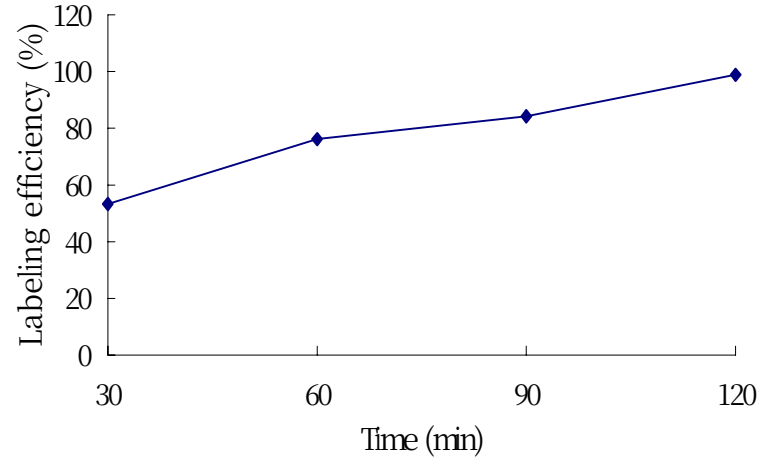


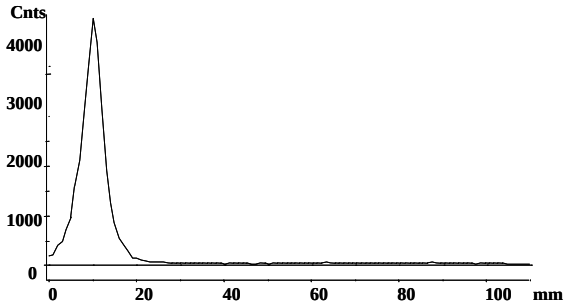
Fig. 2. Labeling efficiency of Re-188 tin colloid versus time is plotted

③ pH 변화에 따른 방사화학적 수율 및 교질 크기 측정

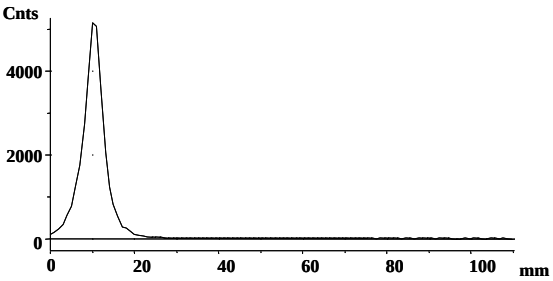
치료용 방사성 핵종인 Re-188과 주석의 표지시에 pH의 영향을 조사하기 위해 반응시의 pH(1, 3, 5)를 달리하여 주석 교질 킷트를 제조 후 Re-188(74MBq/0.5ml)와 혼합 후 실온에서 2시간 반응시에 각 pH에서는 방사화학적 수율이 100%로 나타났다. pH 1에서 표지한 Re-188 주석 교질의 크기는 0.2 ㎛ 이하가 46.1%로 높게 나타났고, 0.2-1 ㎛ 가 17.2%, 5 ㎛ 이상은 9.7%

로 나타났다(Fig. 3, Table 1).

1) pH 1



2) pH 3



3) pH 5

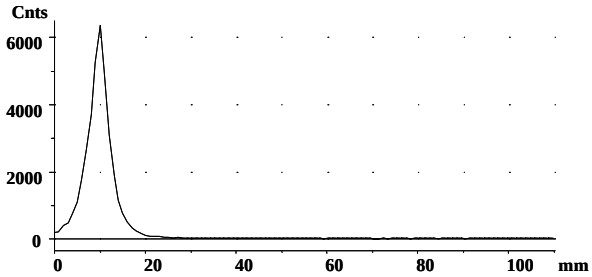


Fig. 3. Labeling efficiency of Re-188 tin colloid versus pH is chromatography

Table 1. Particle size distribution of Re-188 tin colloid

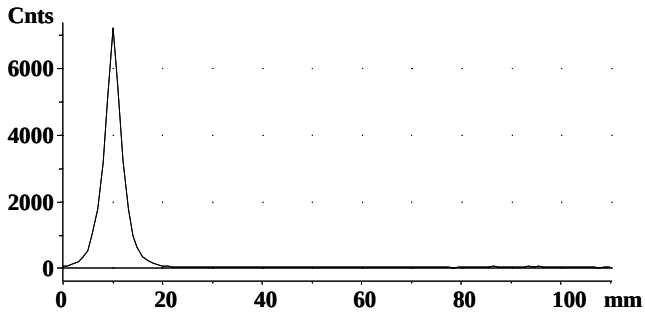
Size	Percentage (%)
> 5 ㎛	9.69

5-1 ㎛	17.21
1-0.2 ㎛	27.03
< 0.2 ㎛	46.08

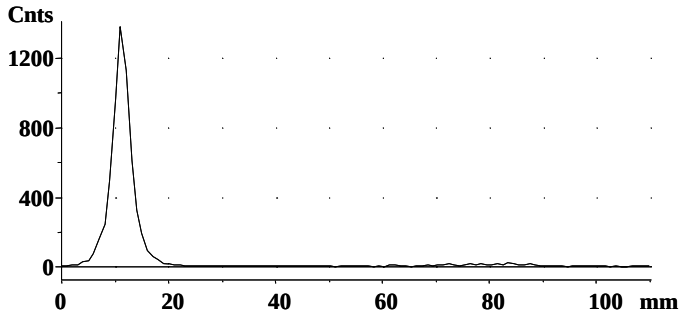
3.2 치료용 방사성 주석 교질의 안정성 검사

Re-188주석 교질은 실온과 생리 식염수에서 24 시간동안 안정하였다. 사람 혈청에서 72 시간까지 방사화학적 순도가 99% 이상으로 안정하였다(Fig. 4).

1) Room Temperature, 24 hr



2) Saline, 24 hr



3) Human serum, 72 hr

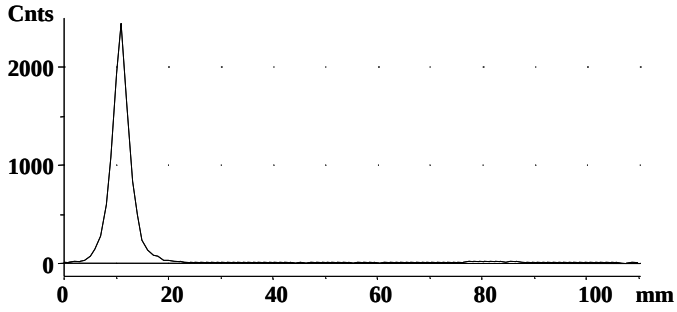


Fig. 4. *in vitro* Stability test of Re-188 tin colloid

3.3 생체내 분포와 체외 대사량

① 정맥주사에 의한 생체내 분포 스크리닝

Re-188 주석 교질의 생체 내에서의 분포는 간과 비장에서 높은 섭취율(% ID/g)을 보였고 폐에서의 섭취는 교질이 응집되어서 나타난 것으로 추측된다(Fig. 5).

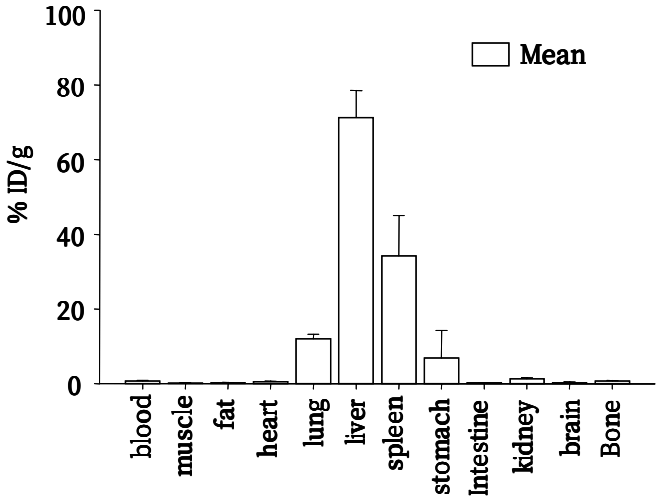


Fig. 5. Biodistribution of Re-188 tin colloid in 1 hr after tail vein injection in mice

② 체외 배설량 스크리닝

Re-188 주석 교질 3.7 MBq/0.1 ml을 마우스 (ICR, 숫컷, 25.7±0.6 g, n=4)의 복강내에 주사한 후 뇨과 대변에서 방사능이 배설되는 양을 측정하였다. 투여 후 3일 째에 뇨에서는 2.5±0.5%와 대변에서는 1.0±0.7%로 배설되는 것을 알 수 있었다(Table. 2).

Table 2. Excretion of Re-188 tin colloid in normal mice

Day	Urine	Feces
1	1.7±0.3*	0.8±0.4
2	2.1±0.4	0.9±0.4
3	2.5±0.3	0.8±0.4

* : percentage

3.4 종양 모델 마우스에서 Re-188 주석 교질의 효능 검정

정상군의 체중의 증가는 15일에 8.9±1.9 g이였다. 대조군과 Re-188 주석 교질 1.5 MBq을 투여한 군에서의 체중 증가는 15일에 26.5±9.1과 25.3±6.0 g으로 각각 나타났다. 그러나, Re-188 주석 교질 3과 6 MBq을 투여한 군에서의 체중 증가는 11.0±8.3 과 13.1±5.3 g으로 각각 나타났다(Fig. 6). 생존 곡선은 정상군에서는 실험 동안 사망한 실험쥐는 없었으며, Re-188 주석 교질을 3 과 6 MBq로 투여한 군에서는 대조군과 비교시에 생명이 연장되는 것을 알 수 있었다(Fig. 7).

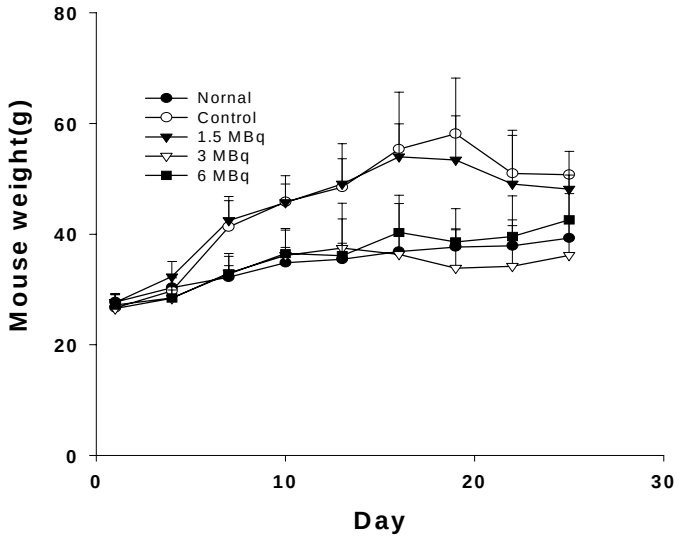


Fig. 6. Change of body weights after Re-188 tin colloid treated mice

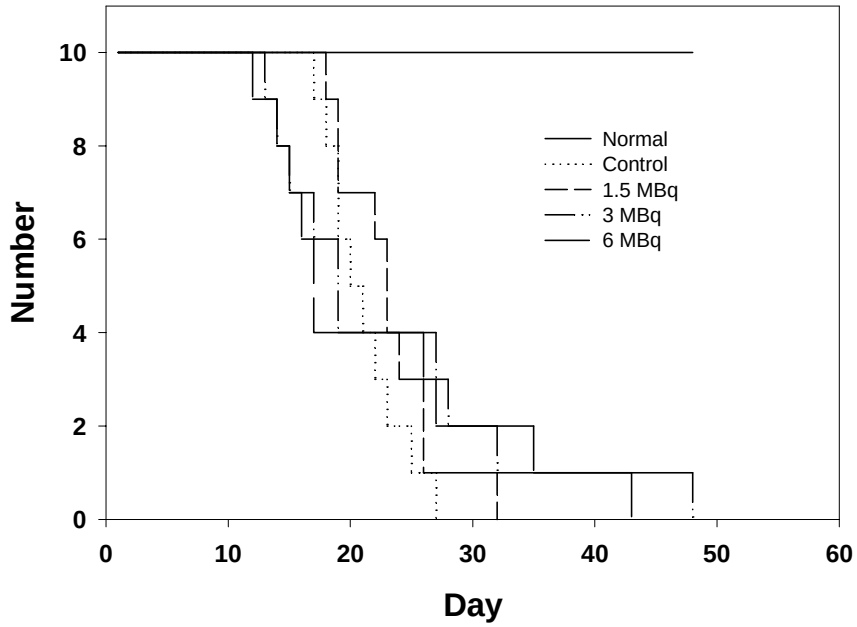


Fig 7. Survival curves of Re-188 tin colloid treated mice

4. 고찰

이 실험의 주요 목적은 Re-188의 방사성 핵종을 이용하여 복강내 전이암 치료용 방사성의 약품을 개발 하고저 복강밖의 유출을 최소화 할 수 있는 주석교질에 Re-188을 표지하여 치료용 Re-188 주석교질을 제조하여 표지가 쉽고, 제조된 교질은 생체내에서 안정하여야 하며 복강내 전이암 동물모델에 대해 방사성 Re-188 주석교질의 치료 효과를 검증하고자 하는 것이다. 우리가 개발한 Re-188 주석교질은 Tc-99m 주석교질과 비교시, Tc-99m 주석교질 표지에 사용되는 $SnCl_2 \cdot 2H_2O$는 40 μg/ml 이면 충분하지만 Re-188 주석교질은 10 mg/ml 이 필요로 한다. 또한 표지에 거의 2시간이 소요된다. 방사성의약품을 복강내 전이암 치료에 사용하기 위해서는 가장 중요한 특성 중 하나는 안정성이다. 우리는 Re-188 주석교질의 안정성을 실온과 생리 식염수, 사람 혈청에서 각각 측정하였을 때 모두 안정하였다.

체내에 투여되는 치료용 방사성 교질의 조건은 1) 인체에 무해한 물질이며, 2) 주입 부위에서 유출이 거의 없는 크기이며, 3) 침강 등을 일으키지 않고, 4) 교질 상태가 안정하여야 하며, 5) 반감기가 적당히 짧아야 한다. 이러한 조건을 충족하기 위하여 많은 교질의 개발이 이루어져 오고있다. 체외 유출을 알아 보고자 Re-188 주석 교질을 마우스 복강내 주사 후 3일 동안에 소변과 대변을 취해 체외 배설량을 측정하였때, 3일 동안 배설된 총량은 소변에서 2.5±0.5%

이고, 대변에서는 1.0±0.7% 로 복강내 유출이 적어 복강내 전이암의 치료에 적합하다는 것을 알 수 있었다. Re-188 주석교질의 효능을 측정하고자 Sarcoma-180으로 유발된 복강 내 전이암 마우스에 Re-188 주석 교질 1.5, 3, 6 MBq과 대조군으로 생리 식염수를 복강에 투여 후 마우스의 체중과 생존 기간에 Re-188 주석 교질이 미치는 영향을 평가 하였다. 복강암 유발 마우스에서 15일째에 마우스의 무게는 처리 안 한 군에서는 26.5±9.1 g 이였고 1.5 MBq Re-188 주석 교질을 처리한 군에서는 25.3±6 g으로 나타났다. 3과 6 MBq Re-188 주석 교질을 처리한 군에서는 복강내의 복수액이 형성 되지 않았고, 무게 변화가 정상 마우스와 비교시에 거의 동일하게 나타났다. 복강암 모델 마우스에 Re-188 주석교질을 투여 후 25일간 키우며 생존 기간을 측정하였을 때, 3 MBq을 투여한 군에서는 처리하지 않은 군에 비해 평균 생존기간을 2.1일 연장시켰다.

이상의 실험 결과 Re-188 주석 교질은 실온과 체액에서 안정하고, 교질을 복강내 투여시 복강에서 복강밖 장기에 옮겨가지 않아 복강내 전이암 치료에 사용 할 수 있는 방사성의약품으로 생각한다.

5. 참고문헌

Deutsch E, Brodack JW, Deutsch KF. Radiation synovectomy revisited. Eur J Nucl Med 20:1113-1127, 1993.

Divgi CR, Larson SM. Radiolabeled monoclonal antibodies in the diagnosis and treatment of malignant melanoma. Semin Nucl Med 19:252-261, 1989

Hnatowich DJ, Chinol M, Siebecker DA. Patient distribution of intraperitoneally administered yttrium-90-labelled antibody. J Nucl Med 29:1428-1434, 1988.

Hoefnagal CA. Radionuclide therapyrevisited. Eur J Nucl Med 18:408-431, 1991.

McAfee JG, Subramanian G, Aburano T. A new formulation of Tc-99m minimicroaggregated albumin for marrow imaging: Comparison with other colloids, In-111 and Fe-59. J Nucl Med 23:21-28, 1982.

Soper JT, Berchuck A, Dodge R. Adjuvant therapy with intraperitoneal chromic phosphate (32P) in women with early ovarian carcinoma after comprehensive surgical staging. Obstet Gynecol 79:993-997, 1992.

Spanos WJ, Day T, Jose B. Use of P-32 stage III epithelial carcinoma of the ovary. Gynecol Oncol 54:35-

39, 1994.

Varia M, Rosenman J, Venkatraman S. Intraperitoneal chromic phosphate therapy after second-look laparotomy for ovarian cancer. Cancer 61, 919-927, 1988

Vergote IB, Winderen M, DeVos LN. Intraperitoneal radioactive phosphorus therapy in ovarian carcinoma. Cancer 71:2250-2260, 1993.

Yoshihara K, Omori T. Technetium and Rhenium: Their chemistry and its applications. springer press. 1996

고창순 편저. 핵의학 제 2판. 고려의학 출판사. 1997.

서울대학교 의과대학 편. 종양학. 서울대학교 출판부. 1996.