01’ 춘계학술발표회 논문집
한국원자력학회

지방육종진단을 위한 ^{123}I-BMIPP 의 종양세포 섭취와 정상백서의 생체분포

Tumor cell uptake and biodistribution in normal mice of ^{123}I-BMIPP for diagnosis of liposarcoma

이태섭 , 서용섭, 우광선, 정위섭, 임수정, 최창운, 임상무

원자력병원
서울광역시 노원구 공릉동 215-4

요약

123I 표지 지방산 유도체는 주로 국소적인 심근의 대사정도를 평가하는데 사용되고 있다. 본 실험은 방사성요오드가 표지된 지방산 유도체인 ^{123}I-BMIPP (^{123}I-15-(p-iodophenyl)-3-R,S-methylpentadecanoic acid) 를 이용하여 신경교종세포와 지방육종세포에 있어서의 시험관내 종양세포 섭취율을 비교하고 정상 백서에서 18 시간동안 금식한 경우와 식이를 한 경우의 생체분포를 평가하고 지방육종의 진단시약으로서의 가능성을 확인해 보았다. ^{123}I-BMIPP 의 표지수율은 95% 이상이었다. 신경교종세포인 9L 에서보다 지방육종세포인 SW872 세포에서 3 시간에서 1.5 배 이상의 섭취율을 나타내어 다른 종양세포보다 지방육종에서 보다높은 섭취율을 나타내는 것을 확인하였으며, 정상백서의 생체분포에서는 금식한 경우에서 체내 제거율이 지연되고 24 시간에서 지방에서의 섭취율이 1.25 배 증가함으로서 금식한 상태에서 ^{123}I-BMIPP 를 이용한 지방육종의 진단이용가능성을 제시하였다.

Abstract

^{123}I-BMIPP is a radioactive agent developed for evaluation of local fatty acid metabolism in cardiac muscle. Recently, 123I-BMIPP imaging showed area of increased uptake due to accumulation in the myxoid components of the liposarcoma. This studies were aimed to compare intracellular uptake with glioma(9L), liposarcoma(HTB-92) cells and biodistribution of normal *Balc/c* mice with fasting group (n=3) during 18hr and feeding group(n=3)for evaluation of posibility as tumor imaging agent. ^{123}I-BMIPP was radiolabeled with ^{123}I as labeling yield with above 95%. Liposarcoma, SW 872 showed increased uptake than glioma(9L) with 1.5 fold at 3hr. In normal *Balc/c* mice with fasting group during 18hr, In Vivi cleance was delayed and radioactivity uptake of fat was increased with 1.25 times at 24hr. ^{123}I-BMIPP may be used for the evaluation of fatty acid metabolism and imaging agent of liposarcoma tumors in fasting state.

서론

최근에 핵의학적인 방법으로 심장과 간질환을 신속하게 진단하기위한 방법으로 iodine 과 ^{11}C 표지 지방산에 관한 연구가 수행되어왔다(1-2). 자연 지방산의 경우 생체내에서 β-산화에 의한 과정을 통하여 물질대사에 사용됨으로서 빠르게 제거되어지는 단점을 가지고 있으며 (3), 이 때문에 미토콘드리아내의 β-산화에 관여하는 효소의 작용을 억제하기 위한 목적을 가지고 지방산에 메틸기를 치환하는 연구가 시도되었다(4-5). β-메틸 치환 지방산 유도체는 조직내에서 제거율이 늦추어지는 결과를 나타내었으며(6), 심근병변의 진단과 치료평가에 유용한 것으로 확인되었다(7-9). 종양의 진단을 위한 여러가지 물질을 탐색하던중 다양한 종양세포에서 지방산의 섭취율이 증가되는 것이 보고되어(10-11), β-메틸 치환 지방산 유도체로서의 종양 진단 가능성이 높은것으로 생각된다. 최근에 ^{123}I-BMIPP 의 지방육종에서의 진단 가능성을 평가하기위한 전임상 실험에서 지방육종의 myxoid 부위에 국소적인 집적이 관찰되었다(12-13). 본 실험은 ^{123}I-BMIPP 의 지방육종 진단 가능성을 평가하기 위하여 신경교종세포인 9L 과 지방육종세포인 SW872 세포에서 시간경과에 따른 세포내 섭취율을 비교하고, 정상백서에서 금식한 경우와 식이를 한 경우간의 ^{123}I–BMIPP 의 생체분포를 평가함으로서 ^{123}I -BMIPP 를 이용한 지방육종의 진단이용가능성을 제시하였다.

방법

1. ^{123}I–BMIPP 의 표지 및 분리정제

멸균된 2ml reacti-vial 에 Ar-gas 분위기를 유지하면서 cold-BMIPP (0.5mg/20 ㎕ EtOH), gentisic acid(4mg/450 ㎕ 70% EtOH), CuSO4 ·5H2O (48.7 ㎍/15 ㎕ of H2O)와 I-123 용액(10mCi/100 ㎕ of 0.01 NaOH)을 넣고 밀봉 후 120℃에서 80 분간 가열하여 표지하였다. 반응 후 반응액을 상온에서 식힌 후 TLC 와 HPLC 로 정량 정성 분석을 하고 표지수율이 95% 미만일때는 C-18 Sep-Pak 필터를 이용하여 정제하였다. 분리 후의 반응 용액은 에탄올 용액이므로 이를 주사액에 적합한 용액으로 만들기 위하여 5% HSA 에 녹여 에탄올의 농도가 5% 이하가 되게 한 후 0.22 ㎛ 막 필터로 여과하였다.

2. ^{123}I–BMIPP 의 시험관내에서의 종양세포 섭취율 비교

^{123}I 로 표지한 BMIPP 를 glioma 세포주인 9L 과 Liposarcoma 세포주인 HTB-92 에 처리하여 배양함으로서 세포 섭취능을 비교하였다. 방사성표지 BMIPP 를 처리후에 시간대별로 각각 5 분, 15 분, 30 분, 60 분, 120 분, 180 분마다 3 개의 플라스크를 사용하고, 각 세포주를 약 1×10^6 개씩 플라스크에 넣고 방사표지된 화합물을 well 당 20 μCi/50 μl 가 되도록 생리식염수로 희석하여 37℃ 항온 배양기에서 각 시간별로 배양한후에 세포를 세척한 다음 방사능을 γ-counter 를 사용하여 세포섭취능은 % injected Radioacitivity dose(%ID)로 나타내었다.

3. 정상백서에서 ^{123}I–BMIPP 의 생체분포 평가

정상 *Balb/c* 마우스를 18 시간전부터 금식(fasting)시킨경우(n=3×3)와 식이(non-fasting)를 한경우(n=3×3)로 구분하고, 마우스의 꼬리정맥에 ^{123}I-BMIPP 를 1.85MBq(50μCi)/0.1ml 씩 주사하고 30 분, 2 시간, 24 시간후에 장기를 적출하여 각각의 무게를 측정하고, 감마카운터를 사용하여 각 장기에 섭취된 방사능을 측정하고 주사량 대비 그람당 기관 섭취량(%ID/g)으로 나타내었다.

결과

^{123}I-BMIPP 의 표지반응에서 표지수율을 높이기 위한 중요한 요소는 반응의 전과정에서 공기의 접촉을 피하고 아르곤 또는 질소와 같은 불활성 기체 분위기하에서 표지가 이루어져야 한다. 또한 gentisic acid 와 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 용액은 표지시마다 새로운 용액을 사용하여야 하며, ^{123}I 용액의 부피가 100 μℓ 이하일 때 95% 이상의 수율을 얻을 수 있다. 표지 후 정제는 반응액을 식힌 후 C-18 Sep-Pak cartridge 에 흡착시킨 후 에탄올 용출액의 부피를 최소화하기 위하여 반대 방향으로 0.1N HCl, Saline 용액, H2O 을 각각 200 μℓ 씩 흘리고 EtOH 을 500 μℓ 흘려 free ^{123}I 을 제거한 후 약 EtOH 1 mℓ를 흘려 순수한 ^{123}I-BMIPP 를 얻었다. 분리한 후의 ^{123}I-BMIPP 순도는 TLC 를 이용하여 확인하였고 그 결과는 그림 **1, 2** 와 같다. ^{123}I-BMIPP 의 표지수율은 95% 이상이었다.

Reg. #	Start (cm)	Stop (cm)	Center (cm)	Rf	Region Counts	Region CPM	% of Tot Reg	% of Tot Cnt
1	1.53	4.09	2.86	-0.01	1947	7301	2.85	2.79
2	7.24	11.42	9.08	0.55	66300	2.486e+005	97.15	95.02
TOTAL					68240	2.559e+005	100.00	97.81

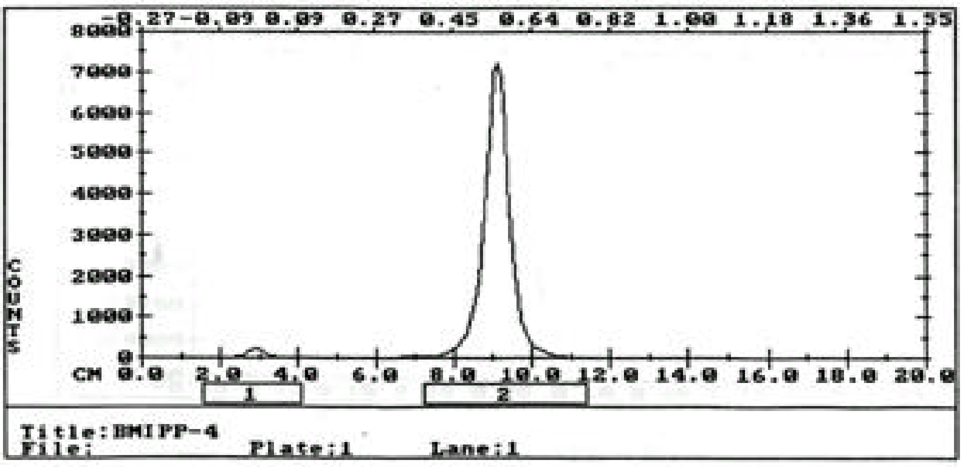

그림 1. The TLC chromatogram of ^{123}I-BMIPP before purification.

(정지상 : Silica gel, 이동상 : 6% MeOH-Chloroform)

Reg. #	Start (cm)	Stop (cm)	Center (cm)	Rf	Region Counts	Region CPM	% of Tot Reg	% of Tot Cnt
1	6.13	11.59	9.07	0.61	56550	2.828e+005	100.00	96.95
TOTAL					56550	2.828e+005	100.00	96.95

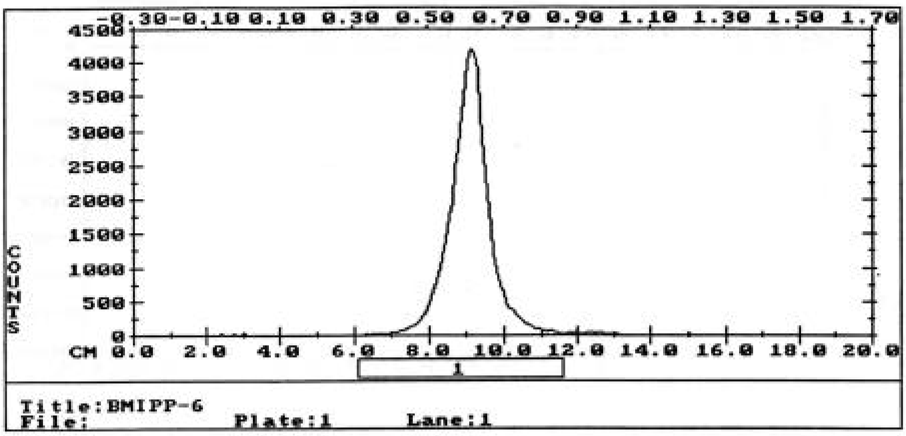

그림 2. The TLC chromatogram of [123I]BMIPP after purification.

(**정지상** : Silica gel, **이동상** : 6% MeOH-Chloroform)

시험관내에서의 종양세포 섭취율은 그림 3 **에 나타내었다**. 5 분, 10 분, 15 분, 30 분, 60 분, 120 분, 180 분의 **시간대별로** glioma **세포주인** 9L **은** 12.9%, 13.25%, 10.09%, 18.97%, 20.85%, 27.63%, 32.91%**의 섭취율을 나타내었고** liposarcoma **세포주인** SW872 **는** 11.49%, 13.13%, 12.83%, 16.34%, 17.43%, 19.36%, 21.99%**이었으며**, glioma **세포주인** 9L **은** 180 **분후에** 21%**의 섭취능을 나타내었고**, liposarcoma **세포주인** SW-872 **세포주의 경우에는** 32%**로서**, SW872 **세포주가** 9L **보다 시간대별로** 1.13 **배**, 1.00 **배**, 0.79 **배**, 1.16 **배**, 1.2 **배**, 1.43 **배**, 1.5 **배의 섭취능을 나타내어서 종양영상 물질로서의 사용가능성을 제시하였다**.

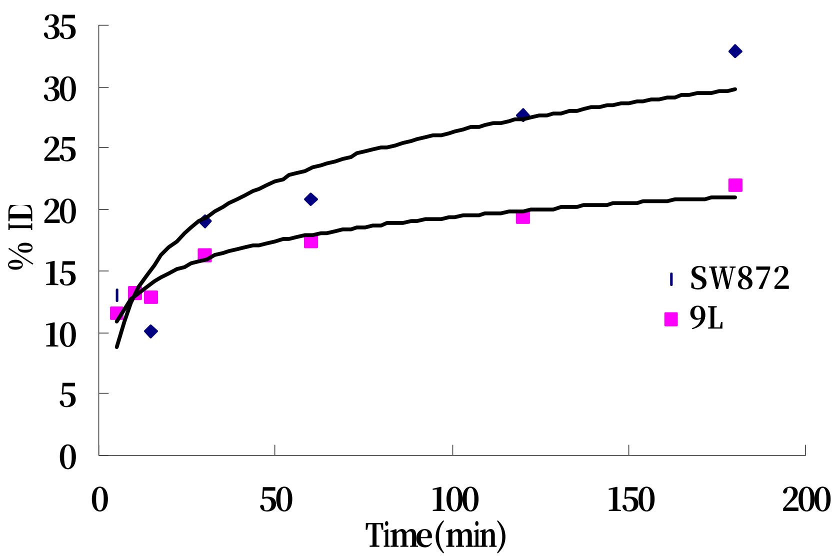

그림 3. intracellular uptake of ^{123}I-BMIPP in glioma(9L) and SW872(liposarcoma).

정상 *Balb/c* **마우스를** 18 **시간전부터 금식**(fasting)**시킨경우**(n=3)**와 식이**(feeding)**를 한 경우** (n=3)**에서** ^{123}I-BMIPP **의 생체분포를 각 장기의 시간대별** %ID/g **로 하여 그림** 4 **와 그림** 5 **에 나타내었다. 금식하지 않은 경우의 금식한 경우에서가 제거율이** 24 **시간 경과후에도 상당히 지연됨을 알수가 있었으며,** 2 **시간에서는 별 차이가 없는 것으로 나타났다. 주 배설장기는 위장관을 통해서 일어남을 알수가 있었으며 방사성요오드가 유리되어 갑상선에 집적되는 것이 나타났다. 혈중의 방사능비가** 24 **시간에서 식이를 한 경우에서는** 3 %ID/g **이었으며 금식한 경우에서는** 3.61 %ID/g **로서 증가되는 양상으로 나타났다. 지방육종의 경우 지방산의 섭취율이 정상조직 보다 높기 때문에 지방조직의 섭취율을 분석한 경우 식이를 한 경우보다 금식을 한경우에서** 24 **시간에서** 1.25 **배 증가하는 것을 확인하였다.**

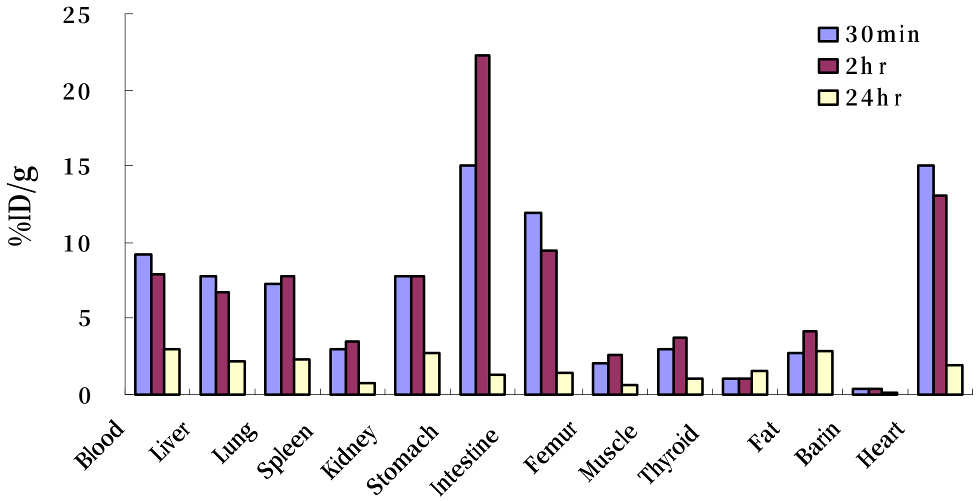

그림 4. Biodistribution of ^{123}I-BMIPP in feeding normal Balb/c mouse.

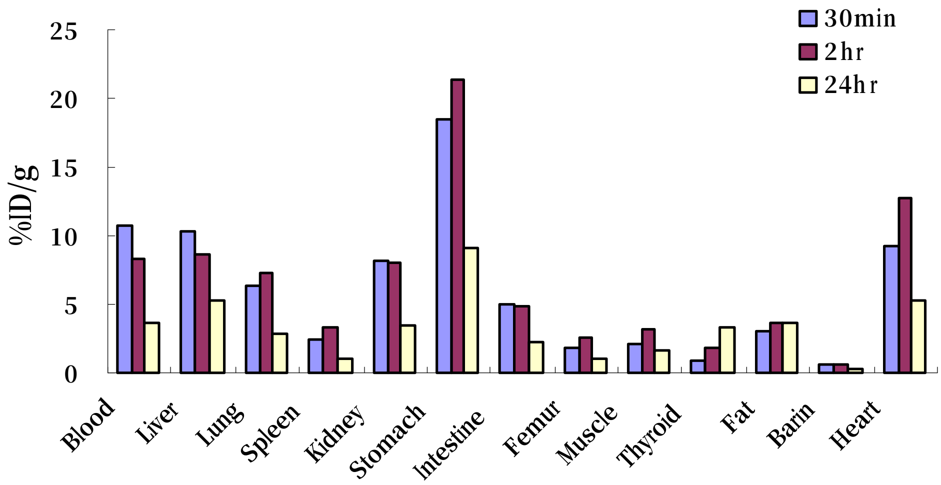

그림 5. Biodistribution of ^{123}I-BMIPP in fasting normal Balb/c mouse

결론

^{123}I-BMIPP 의 표지수율은 95% 이상이었다. 종양세포에서는 물질대사가 정상세포보다 높기 때문에 보다 많은 양의 지방산을 이용하고 원형질막의 형성과 관련되어 지질의 대사가 증가된 양상을 보인다. Liposarcoma(SW872)에서의 세포내 섭취율은 3 시간에서 glioma(9L)보다 1.5 배이상의 섭취율을 나타내었다. 다른 종양에서보다 높은 세포내섭취율을 나타내는것으로 보아 liposarcoma 가 보다 더 많은양의 지방산을 물질대사에 사용한다는 것을 알 수 있다. SW872 세포주는 비분화된 liposarcoma 세포주로서 비분화된 지방육종에서의 섭취율이 높다는 연구결과(12,14)와 일치한다고 할 수 있다. 생체분포 평가에서 24 시간에서 지방조직의 섭취율이 식이를 한 집단과 금식을 한 집단간의 차이가 1.25 배를 나타내었으며 금식을 한경우에서의 체내대사율이 지연되는것으로 나타나서, ^{123}I-BMIPP 를 이용한 지방육종의 진단시 금식을 한경우로 하여 실시할 경우 보다 좋은 실험결과가 기대된다.

참고문헌

1) Geltman EM, Smith JL, Beecher D, Ludbrook PA, Ter-Pogossian MM, Sobel BE Altered regional myocardial metabolism in congestive cardiomyopathy detected by positron tomography *Am J Med* 74: 773-785, 1983

2) Hock A, Spohr G, Schmitz M, Notohamikprodjo G, Porschen R, Vyska K, Freundlieb C, Shreeve WW, Feindegen LE 17-Iodine-123Iodoheptadecanoic acid for metabolic liver studies in humans *J Nucl Med* 27: 1533-1539, 1986

3) Hock A, Freundlieb C, Vyska K, Losse B, Erbel R, Feindegen LE Myocardial imaging and metabolic studies with [17-^{123}I] iodoheptadecanoic acid in patients with idiopathic congestive cardiomyopathy *J Nucl Med* 24: 22-28. 1983

4) Livini E, Elmaleh DR, Levy S, Brownell GL, Strauss WH Beta-methyl [1-^{11}C] heptadecanoic acid: a new myocardial metabolic tracer for positron emission tomography *J Nucl Med* 23: 169-175, 1982

5) Knapp FF, Goodman MM, Ambrose KR, Som P, Brill AB, Yamamoto K, Kubota K, Yonekura, Dudczak R, Angelberger P, Schmoliner R The development of radioiodinated 3-methyl-branched fatty acids for evaluation of myocardial disease by single photon techniques In : Wall EE editor *Noninvasive Imaging of Cardiac Metabolism* 159-201, 1987

6) Knapp FF, Goodman MM, Callahan AP, Kirsh G Radioiodinated 15-(p-iodophenyl)-3,3-

dimethylpentadecanoic acid: a useful new agent to evaluate myocardial fatty acid uptake *J Nucl Med* 27: 521-531, 1986

7) Yonekura Y, Brill AB, Som P, Yamamoto K, Srivastava S, Iwai J Regional myocardial substrate uptake in hypersensitive rats: a quantative autoradiographic measurement *Science* 227: 1494-1496, 1985

8) Kubota K, Som P, Oster ZH, Brill AB, Goodman MM, Knapp FF, Atkins HL, Sole MJ, Detection of cardiomyopathy in an animal model using quantative autoradiography *J Nucl Med* 29: 1679-1703, 1988

9) Som P, Oster ZH, Kubota K, Goodman MM, Knapp FF, Sacker DF, Weber DA Studies of new fatty acid analog(DMIVN) in hypertensive rats and the effect of verapamil using ARG microimaging *Nucl Med Biol* 16: 483-490, 1989

10) Mermier P, Baker N Flux of free fatty acid among host tissue, ascites fluid, and Ehrlich ascites carcinoma cells *J Lipid Res* 15: 339-351, 1974

11) Stremmel W, Diede HE Fatty acid uptake by human hepatoma cell lines represents a carrier-mediated uptake process *Biochem Biophys Acta* 1013: 218-22, 1989

12) Tanabe Y, Suto Y, Ohta Y Initial trial of tumor imaging using ^{123}I-BMIPP : Evaluation in soft tissue tumors *Nippon Acta Radiologica* 56: 982-984, 1996

13) Kubota K, Takahashi T, Fujiwara T, Yamada S, Sato T, Kubota R, Iwata R, Ishiwata K, Ido T, Matsuzawa T Possibility for tumor detection with fatty acid analogs *Nucl Med Biol* 18: 191-195, 1991

14) Suto Y, Tanabe Y, Ohta Y. Focal accumulation of iodine -123-BMIPP in liposarcoma of the thigh. *J Nucl Med* 37(6): 997-999, 1996