

담체가 Re-188-Hydroxyethylidene diphosphonate (HEDP)의 표지와
생체내 분포에 미치는 영향

Effect of Carrier on Labeling and Biodistribution of
Re-188-Hydroxyethylidene diphosphonate (HEDP)

장영수, 정재민, 조정혁*, 김보광, 이동수, 정준기, 이명철

서울대학교병원

서울시 종로구 연건동 28

한국과학기술연구원*

서울시 성북구 하월곡동 39-1

요 약

Re-188-hydroxyethylidene diphosphonate(HEDP)는 뼈전이암 통증 치료용으로 사용할 수 있는 방사성의약품이다. 우리는 HEDP 키트(HEDP 15 mg, gentisic acid 4 mg and $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4.5 mg)를 사용하여 담체(KReO_4 0.1 mg)가 Re-188-HEDP의 표지와 생체내 분포에 어떠한 영향을 미치는지를 확인하였다. HEDP 키트에 발생기에서 용출한 Re-188 액을 넣고 끓는 수욕에서 15 분간 반응시켜 표지한 후 담체를 넣은 것과 넣지 않고 조제한 Re-188-HEDP의 표지효율과 안정성을 비교하였다. 마우스(1.85-3.7 MBq/0.1 ml)와 랫트(74.1-85.2 MBq/0.5 ml)에 투여하여 생체내 분포와 영상을 얻었다. 담체를 넣어 표지한 Re-188-HEDP의 표지효율은 pH 5에서 95%로 높았으며, 혈청내에서의 안정성도 높았다(3 시간에 88%). 반면에 담체를 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP의 표지효율은 pH 5에서 59%였으며, 안정성도 낮았다(3 시간에 43%). 생체내분포 실험 결과 담체를 넣어 표지한 Re-188-HEDP는 뼈에 높은 섭취율을 보이고 위와 신장의 섭취율이 낮은 반면, 담체를 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP는 뼈의 섭취율이 낮고 위와 신장의 섭취율은 높게 나타났다. 랫트의 영상은 담체를 넣어 표지한 Re-188-HEDP는 담체를 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP보다 골격에 높은 섭취율을 보이며 다른 장기에는 섭취가 적게 나타났다. 이러한 실험결과 HEDP를 표지할 때 담체의 부가는 표지효율과 안정성의 향상 및 영상의 질을 향상시킬 수 있었다.

Abstract

Re-188-hydroxyethylidene diphosphonate(HEDP) is a new cost-effective agent for systemic radioisotope therapy of metastatic bone pain. We investigated the influence of carrier for labeling and biodistribution of Re-188-HEDP using HEDP kit(HEDP 15 mg, gentisic acid 4 mg and $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4.5 mg) with or without carrier(KReO_4 0.1 mg). The kits labeled with Re-188 solution available from an in-house generator by boiling for 15 min. The generator provides high 70–80% equi yields and has an indefinite self-life. We compared the stability of carrier-added(CA) and carrier-free(CF) preparations of Re-188-HEDP. Biodistribution and imaging studies of each preparation were performed in ICR mice(1.85–3.7 MBq/0.1 ml) and SD rats(74.1–85.2 MBq/0.5 ml). The CA preparation showed high labeling efficiency(95% at pH 5) and high stability in serum(88%, 3 hr). However, the CF preparation showed low labeling efficiency(59% at pH 5) and low stability(43%, 3 hr). The CA preparation showed high uptake in bone and low uptake in stomach and kidneys. However, the CF preparation showed lower uptake in bone and higher uptake in both stomach and kidney, which is supposed to be due to released perrhenate. The CA preparation also showed better images with higher skeletal accumulation, lower uptake in other organs and lower soft tissue uptake than the CF preparation of carrier perrhenate is required for high labeling efficiency, stability, bone uptake and good image quality of Re-188-HEDP.

1. 서 론

핵의학분야에서 치료용 방사성핵종으로는 I-131, P-32, Sr-89, Y-90 등이 많이 사용되고 있으며 최근에는 Re-186, Re-188, Ho-166 등과 같은 방사성핵종이 많은 관심을 받고 있다^{1,2)}. 특히 방사성핵종을 발생기(generator)를 사용하여 무담체 형태로 얻을 수 있는 핵종에 많은 연구가 진행되고 있다. 치료용 방사성동위원소를 생산하는 발생기로는 현재 strontium-90/ yttrium-90 발생기, lead-212/bismuth-212 발생기, tungsten-188/rhenium-188 발생기 등이 관심을 받고 있는데, 이것은 Y-90, Bi-212, Re-188 등의 방사성핵종이 치료용으로 좋은 여러 가지 물리적, 화학적 특성들을 갖고있기 때문이다³⁾. Re-188($t_{1/2}=16.9$ h)은 W-188($t_{1/2}=69$ d)이 베타붕괴를 하면서 생산되며, 높은 베타에너지($E_{\max}=2.1$ MeV)뿐만 아니라 영상화에 적합한 155 keV의 감마에너지(15%)를 방출한다. Re-188은 치료용으로 적합한 물리적성질과 진단용으로 널리 사용되는 Tc-99m과 화학적성

질이 유사하여 Tc으로 표지되는 화합물을 Re으로 표지할 수 있다³⁾.

Diphosphonic acid 계열의 Tc-99m 표지 화합물은 뼈질환을 영상화 할 수 있는 방사성의약품으로 널리 사용되고 있다⁴⁾. Hydroxyethylidene diphosphonate(HEDP)는 Tc-99m을 표지하여 뼈영상용 방사성의약품으로 사용되고 있으며, Re-186을 표지하면 뼈전이암 통증치료용 방사성의약품으로 사용할 수 있다고 보고하고 있다^{5,6)}.

이 논문에서는 HEDP에 Re-186보다 사용이 용이한 Re-188을 표지하여 실험동물 체내에서의 분포를 확인하고자 한다. 특히 담체가 섞여서 생산되는 Re-186과는 달리 무담체로 생산되는 Re-188의 경우 HEDP 표지에 담체가 어떠한 영향을 미치는지를 관찰하였다.

2. 대상 및 방법

2.1 HEDP 키트 제조

각 바이알에 합성한 HEDP 15 mg를 넣고 NaOH(Sigma co.)를 HEDP 양에 대하여 0, 1, 2 당량이 되게 넣었다. 여기에 gentisic acid(Aldrich co.) 4 mg, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich co.) 4.5 mg을 넣은 후 담체로 KReO_4 (Aldrich co.) 1 mg을 넣은 것과 넣지 않은 HEDP 키트를 준비하였다.

2.2 Re-188-HEDP의 표지조건

담체를 넣은 것과 넣지 않은 HEDP 키트에 W-188/Re-188 발생기(Oak Ridge National Laboratory)로부터 만들어진 Re-188 perrhenate 약 1 ml을 넣고 끓는 수욕에서 15 분간 반응시켰다. 이것을 상온에서 식힌 다음 0.3 M sod. acetate(Sigma co.) 1 ml을 가하여 pH를 4~5로 조절하였다. 각 키트의 pH 조절 전후의 방사화학적 수율은 고정상으로 ITLC-SG(Gelman co.), 이동상으로 acetone과 saline을 사용하여 크로마토그래피를 실행하고 그 결과를 TLC 스캐너(Imaging Scanner System 200, Bioscan)로 판독하였다.

2.3 안정성

실온에서의 안정성을 알아보기 위하여 담체를 넣은 것과 넣지 않은 HEDP 키트를 Re-188 perrhenate 로 표지한 후 48 시간까지의 방사화학적 순도를 크로마토그래피를 실행하여 확인하였다. 혈청에서의 안정성은 사람혈청 2 ml에 Re-188-HEDP 18.5 MBq/0.2 ml을 넣고 37°C에서 48 시간까지 측정하였다.

2.4 마우스에서의 생체내분포

담체를 넣은 것과 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP의 마우스 체내에서 생체내 분포를 보기위하

여 마우스(ICR, 수컷, 20.3 ± 2.4 g)의 꼬리정맥에 Re-188-HEDP 1.85~3.7 MBq/0.1 ml을 주사하였다. 1, 3, 6, 24, 48 시간 후에 장기(혈액, 근육, 지방, 심장, 폐, 간, 비장, 위, 장, 신장, 뇌, 뼈)를 적출하여 무게를 측정하고, 감마카운터를 사용하여 135~188 keV의 범위에서 각각의 장기에 남아있는 방사능을 측정하였다. 측정결과는 주사한 양에 대한 각 장기의 단위무게당 섭취백분율(percent injection dose/g, %ID/g)로 나타내었다.

2.5 랫트의 영상

뼈영상용 방사성의약품인 Tc-99m-MDP, Tc-99m-HEDP의 랫트 영상과 담체를 넣은 것과 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP의 랫트 영상 각각의 경우를 비교하였다. 랫트(SD, 수컷, 약 300 g)의 꼬리정맥으로 테크네슘 표지 방사성의약품인 경우 37~74 MBq, Re-188-HEDP는 111~185 MBq를 주사한 후 약 3 시간 후에 LEM(Siemens, high resolution collimator) 카메라를 사용하여 영상을 얻었다.

3. 결과

3.1 Re-188-HEDP의 표지

여러조건에서 Re-188-HEDP의 표지효율을 Table 1과 Table 2에 나타내었다. 담체를 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP의 표지효율은 pH 5에서 59% 였으며(Table 1), 담체를 넣어 표지한 Re-188-HEDP의 표지효율은 pH 5에서 95%로 높았다(Table 2)

3.2 안정성

담체를 넣은 것과 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP의 안정성을 보기위하여 실온 방치(Fig. 1)와 사람혈청에서 반응(Fig. 2)시킨 후 Re-188-HEDP의 방사화학적 순도를 측정하였다. 담체를 넣고 표지한 Re-188-HEDP는 담체를 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP보다 안정성이 높게 나타났다.

3.3 생체내 분포

마우스에서의 생체내분포 실험결과 담체를 넣어 표지한 Re-188-HEDP는 뼈(1 시간에 19.5 ± 8.9 , 3 시간에 25.9 ± 9.1 , 6 시간에 18.5 ± 9.8 , 24 시간에 26.5 ± 11.5 , 48 시간에 18.7 ± 5.6 %ID/g)에 높은 섭취율을 보이고 위와 신장의 섭취율은 낮은 반면, 담체를 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP는 뼈(1 시간에 17.6 ± 4.0 , 3 시간에 14.3 ± 2.6 , 6 시간에 11.7 ± 1.8 , 24 시간에 11.9 ± 1.1 , 48 시간에 10.0 ± 0.9 %ID/g)의 섭취율이 낮고 위와 신장의 섭취율은 높게 나타났다(Fig.3, Fig. 4).

3.4 랫트의 영상

Tc-99m 표지 뼈영상용 방사성의약품의 랫트영상을 Fig. 5에 나타내었다. 담체를 넣은 것과 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP의 랫트영상을 Fig. 6에 나타내었다. 랫트의 영상은 담체를 넣어 표지한 Re-188-HEDP는 담체를 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP보다 골격에 높은 섭취율을 보이며 다른 장기에는 섭취가 적게 나타났다.

Table 1. Labeling efficiency of carrier-free Re-188-HEDP.

(A) Labeling efficiency of carrier-free Re-188-HEDP before adjusting ph by adding sodium acetate

time(h)	NaOH equivalent		
	0 (HEDP, pH 1)	1 (NaHEDP, pH 1.5)	2 (Na ₂ HEDP, pH 2)
0.17	96	98	93
0.5	85	98	97
1	96	91	83
2	96	96	92
3	96	93	89

(B) Labeling efficiency of carrier-free Re-188-HEDP after adjusting ph by adding sodium acetate

time(h)	NaOH equivalent		
	0 (HEDP, pH 4)	1 (NaHEDP, pH 4.5)	2 (Na ₂ HEDP, pH 5)
0.17	90	77	59
0.5	62	43	24
1	37	24	13
2	41	24	12
3	43	24	11

Table 2. Labeling efficiency of carrier-added Re-188-HEDP.

(A) Labeling efficiency of carrier-added Re-188-HEDP before adjusting ph by adding sodium acetate

time(h)	NaOH equivalent		
	0 (HEDP, pH 1)	1 (NaHEDP, pH 1.5)	2 (Na ₂ HEDP, pH 2)
0.17	>99	>99	>99
0.5	>99	>99	>99
1	>99	>99	>99
2	>99	>99	>99
3	>99	>99	>99

(B) Labeling efficiency of carrier-added Re-188-HEDP after adjusting ph by adding sodium acetate

time(h)	NaOH equivalent		
	0 (HEDP, pH 4)	1 (NaHEDP, pH 4.5)	2 (Na ₂ HEDP, pH 5)
0.17	>99	>99	95
0.5	>99	>99	95
1	>99	98	95
2	>99	98	94
3	>99	98	94

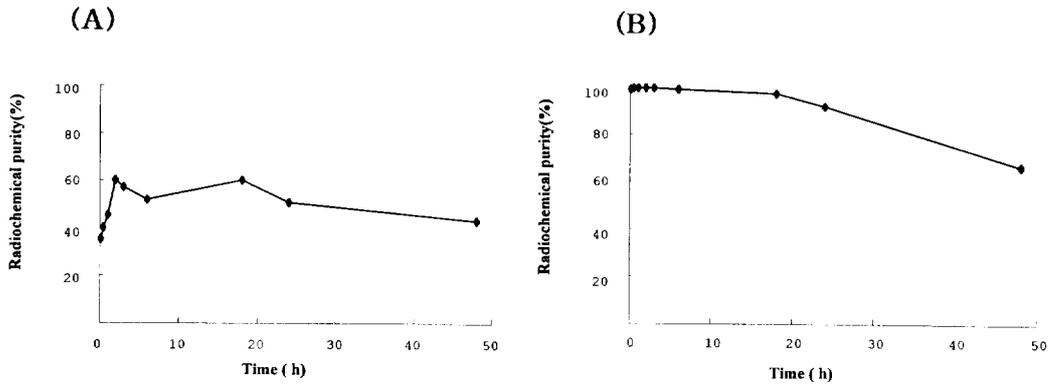


Fig. 1. Stability study after incubation at room temperature.
 (A) carrier-free Re-188-HEDP (B) carrier-added Re-188-HEDP

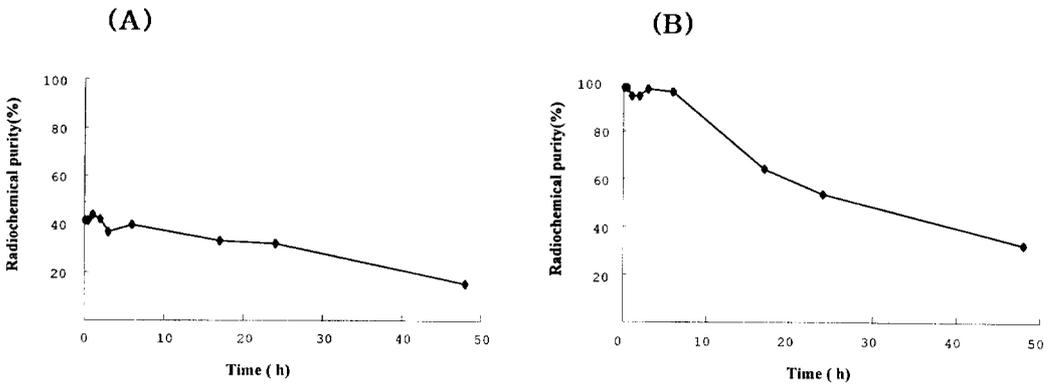


Fig. 2. Stability study after incubation at 37°C in human serum.
 (A) carrier-free Re-188-HEDP (B) carrier-added Re-188-HEDP

4. 고찰

전립선암이나 폐암, 유방암 등 여러 가지 악성종양의 이차적인 뼈전이로 인하여 발생하는 뼈의 통증에 있어서 많은 경우 방사성핵종을 체내에 투여하는 치료법은 뼈의 통증을 감소시키고 이것은 환자의 삶의 질을 개선시켜 준다. 광범위한 뼈전이가 일어나 일반적인 치료가 어려운 경우, 배위자로 phosphate 음이온(HEDP, EDTMP 등)을 사용한 phosphorous-32, iodine-131, strontium-89, yttrium-90, samarium-153, rhenium-186 등 다양한 방사성동위원소가 사용된다^{1,2,4}. 이들은 각기 고유한 물리적, 생체동력학적 특성을 갖으며, 다른 투여량과 투여방법이 요구되지만, 모두 뼈통증을 감소시킬 수 있을만큼의 충분한 양이 전이된 골아세포 영역에 섭취된다. 그러나 방사성동위원소를 사용함에 있어서 제한 요소가 되는 것은 골수독성으로서 이 독성을 감소시킨 약제의 개발이 필요하다.

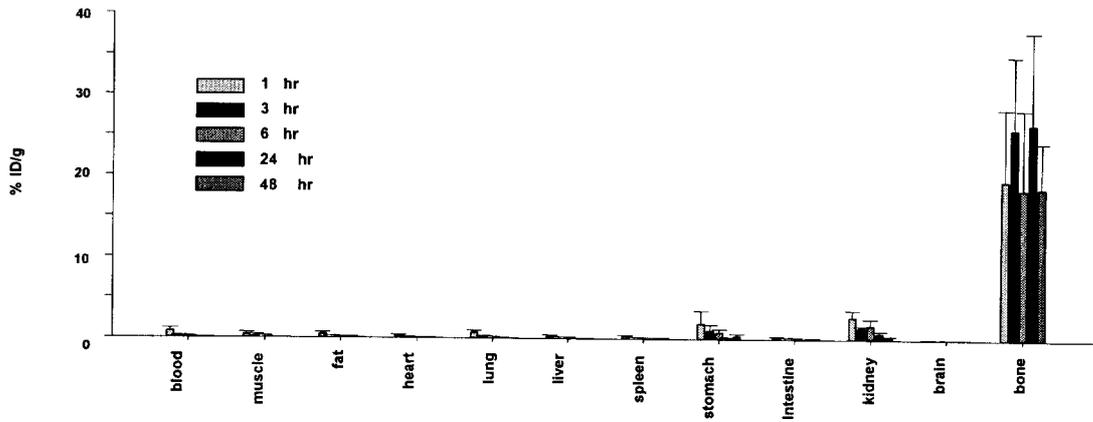


Fig. 3. Biodistribution of carrier-added Re-188-HEDP in mice.

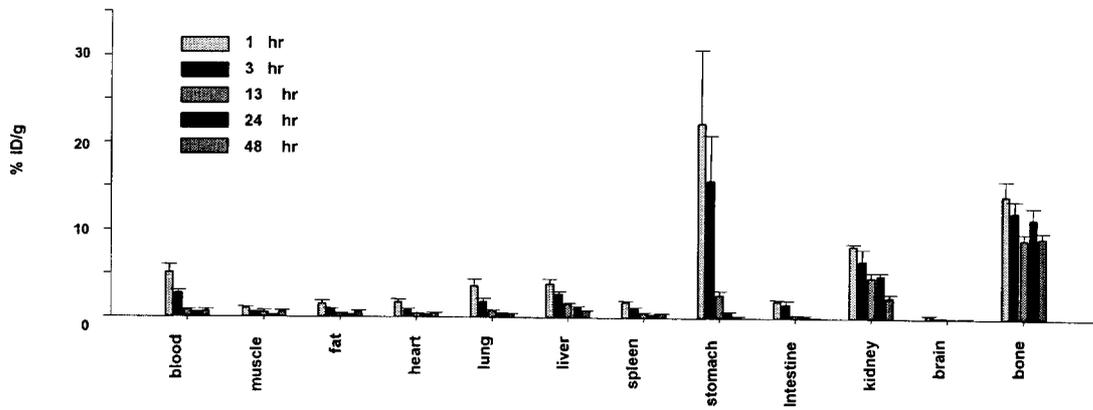


Fig. 4. Biodistribution of carrier-free Re-188-HEDP in mice.

Rhenium의 동위원소중 rhenium-186, rhenium-188 은 치료용으로 적당한 베타선과 영상화가 가능한 감마선을 동시에 방출하는 특성이 있어, 현재 미국 등 여러나라에서 방사성동위원소로 rhenium을, 배위자로 phosphate 음이온(HEDP, EDTMP 등)을 사용한 방사성의약품의 개발과 임상적용을 위해 노력하고 있다⁶⁾.

Rhenium의 경우 technetium과는 달리 표지시 담체(carrier)가 있어야 표지효율 및 안정성이 높아진다는 보고가 있다⁷⁾. 따라서 Re-188-HEDP 표지시 담체의 유무가 표지에 어떠한 영향을 미치는지를 확인하고, 실험동물에 투여하였을 때 분포의 차이를 확인할 필요가 있다. 이 연구에서는 Re-188-HEDP 표지에 담체로 $KReO_4$ 를 사용하여 표지효율에 대한 영향을 확인하고, 마우스를 실험동물로 사용하여 시간별 체내분포를 확인하여 뼈전이암 통증치료용 방사성의약품으로서의 가능성을 확인하였다.

담체를 넣고 표지한 Re-188-HEDP가 담체를 넣지 않고 표지한 Re-188-HEDP보다 표지효율 및

안정성이 높게 나타났으며, 뼈의 섭취율도 높게 나타났다. 이상의 실험결과는 HEDP를 표지 할 때 담체의 부가가 표지효율과 안정성의 향상 및 영상의 질을 향상시킴을 알 수 있었다.

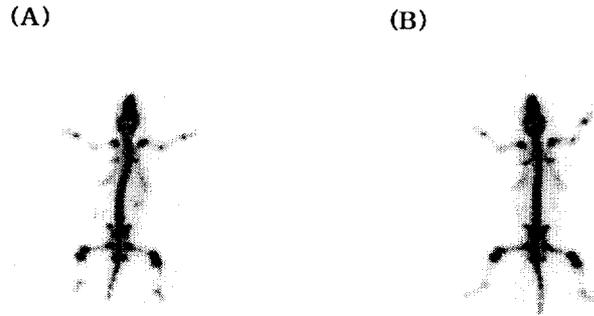


Fig. 5 Rat images of bone agents. (A) Tc-99m-MDP (B) Tc-99m-HEDP

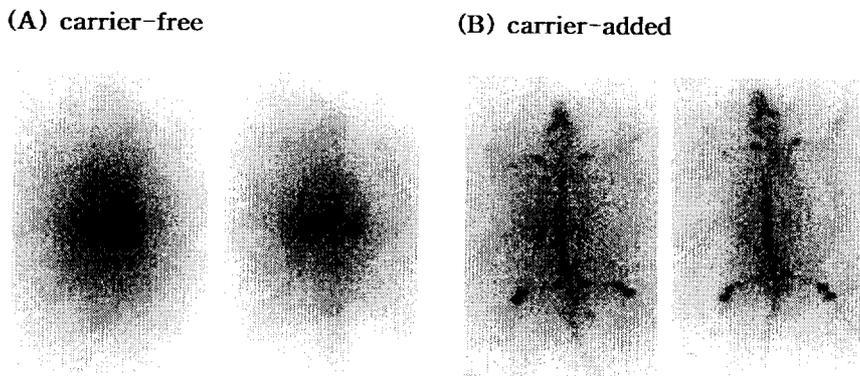


Fig. 6 Rat images of Re-188-HEDP.
(A) carrier-free Re-188-HEDP (24, 40 hr) (B) carrier-added Re-188-HEDP (24, 40 hr)

5. 참고문헌

1. V. J. Lewington ; Cancer therapy bone-seeking isotopes ; *Phys Med Biol* 41 (1996) 2027-2042
2. V. J. Lewington ; Targeted radionuclide therapy for bone metastases ; *Eur J Nucl Med* (1993) 20:66-74
3. Knapp FF Jr., Mirzadeh S. The continuing important role of radionuclide generator systems for nuclear medicine. *Eur J Nucl Med* 1994;21:1151-65.
4. A. N. Serafini ; Current status of systemic intravenous radiopharmaceuticals for the treatment of painful metastatic bone disease ; *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 30(5):1994;1187-1194
5. A. J. B. McEwan ; Unsealed source therapy of painful bone metastases : an update ; *Semin Nucl Med* ; 27(1997)165-182
6. W. Lin, C. Lin, S. Yeh, B. Hsieh, Z. Tasi, G. Ting, T. Yen, S. Wang, F. F. Knapp jr., M. S. Stabin ; Rhenium-188 hydroxyethylidene diphosphonate : a new generator-produced radiotherapeutic drug of potential value for the treatment of bone metastases ; *Eur J Nucl Med* (1997)24:590-595
7. K. Hashimoto, S. Baciawati, M. Izumo, K. Kobayashi ; Synthesis of Re-188-MDP complex using carrier-free Re-188 ; *Appl Radiat Isot* 47(1996)195-199