

¹²⁵I-dUTP를 이용한 HCV의 RNA검출법의 개발

원자력병원 싸이크로트론응용연구실

이수진*, 안순혁, 최창운, 우광선, 정위섭, 임수정, 임상부

배경 Hepatitis C Virus(HCV)는 non-A, non-B hepatitis를 원인으로 하여 국내의 유병률도 높은 것으로 보고되고 있다. HCV에 대한 항체가 생기기 전에 HCV RNA를 PCR(Polymerase Chain Reaction)을 사용하여 직접적으로 증폭할 수 있어 환자의 면역 상태와 무관하게 HCV-혈중바이러스를 직접 검출하는 것이 가능하다. 본 실험에서는 PCR 과정 중에 ¹²⁵I-dUTP(deoxy Uridine TriPhosphate)가 dTTP와 경쟁적으로 반응되는 지를 확인하여 방사성 동위원소 및 감마카운터를 이용한 새로운 검출방법을 개발하고자 하였다.

방법 환자의 혈액에서 혈청을 분리하여 Acidguanidium-thiocyanate-phenyl-chloroform법으로 RNA 분리한 다음 reverse transcriptase을 이용하여 HCV complementary DNA를 합성하였다. 합성된 cDNA와 Langer등의 방법을 참고하여 합성한 5-mercuri 2'-deoxy Uridine TriPhosphate(dUTP)을 I-125를 표지하여 30cycle로 PCR을 시행하였다. PCR 생성물을 1.5% agarose gel에 전기영동하여 Ethidium bromide염색으로 band를 확인한 후 nylon-membrane에 transfer하여 X-ray film에 감광하여 ¹²⁵I-dUTP의 방사능을 확인하였다. PCR 생성물을 PCR product clean kit를 이용하여 정제 후 감마카운터로 계측하였다.

결과 및 결론 ¹²⁵I-dUTP를 이용하여 증폭된 HCV DNA band를 gel에서 확인하였고 같은 위치에서 자가방사 기록 영상을 얻을 수 있었다. 또한 PCR 생성물을 PCR product clean kit(Fiber matrix column)로 정제하여 감마카운터로 계측한 결과 negative control과 비교하여 높은 값을 얻을 수 있었다. HCV를 ¹²⁵I-dUTP를 이용하여 검출할 수 있어 기존의 검출법의 전기영동 과정을 생략하고 간편하게 정량화가 가능할 것으로 생각된다.

Tc-99m HMPAO 국소전달요법의 관상동맥 스텐트 재협착 억제효과전남대학교병원 핵의학과, 순환기내과¹정환정*, 범희승, 송호천, 안영근¹, 민정준, 김남호¹, 조장현¹, 정명호¹, 강정채¹

연구배경 및 목적: 관상동맥 스텐트 재협착 억제를 위해 방사성동위원소를 이용하는 방법에는 풍선에 담아 조사하는 경우와 방사성 스텐트를 통해 조사하는 경우가 있으나, 방사성동위원소 국소전달요법에 관해서는 아직 연구된 바 없다. 본 연구에서는 돼지 관상동맥 스텐트 재협착 모형에 국소전달된 Tc-99m HMPAO가 스텐트 재협착을 억제할 수 있는지를 알아보려고 하였다. 대상 및 방법: 돼지의 관상동맥에 Tc-99m HMPAO 1,110 MBq/2ml를 Dispatch catheterTM를 이용하여 국소전달한 후 스텐트를 이용해 과확장손상을 시켰으며, 같은 돼지의 국소전달하지 않은 관상동맥에 스텐트 과확장만을 시행하여 대조군으로 선택하였다. 대조군(n=4)과 치료군(n=10)에 대해 4주 후 다시 관상동맥 조영술을 시행하였다. 국소전달 직후와 4주 후 관상동맥조영술 소견에서 근위부 직경(P), 원위부 직경(D), 스텐트부위 직경(S) 등을 측정하고 %재협착직경[%DS]을 다음 식에 의해 구하였다. $\%DS = \frac{(P+D)-2S}{(P+D)/2} \times 100$ 결과: 대조군에서는 %DS가 스텐트삽입 직후 $-3.19 \pm 4.67\%$ 에서 4주후 $22.58 \pm 18.13\%$ 로 유의하게 협착정도가 증가하였으나(p=0.014), 치료군에서는 치료직후 $-3.77 \pm 3.02\%$ 에서 4주후 $5.66 \pm 7.31\%$ 로 협착정도가 유의한 차이를 보이지 않았다(p>0.05). 결론: 돼지 관상동맥 스텐트 재협착 모형에서 Tc-99m HMPAO를 이용한 국소전달요법으로 스텐트 재협착을 억제할 수 있었다.