

Single-chain Fv와 IgG lym-1 항체의 면역반응성 및 동물모델에서 생체분포 비교

원자력의학원 핵의학연구소

정재호 *, 최태현, 김은정, 우광선, 정위섭, 이태섭, 이동형, 임상무, 최창운

목적: 재조합 scFv lym-1 항체의 면역반응성을 측정하고 Raji 림프종 이식 SCID 모델에서 IgG lym-1 항체와 비교하여 생체내 분포를 평가하고자 하였다. **방법:** Human Burkitt's lymphoma 세포주인 Raji cell을 이용하여 시험관내에서 I-125 표지 항체의 세포결합실험과 Scatchard 분석을 실시하여 각각의 면역반응성과 친화상수를 구하였다. 생체분포는 20 g의 정상 Balb/c 마우스에서 I-125 표지 항체를 각각 10 uCi를 꼬리정맥에 주사하였으며 마리 당 0.5 ng의 표지항체를 투여하였다. 주사 후 1, 4, 24 시간에 마우스의 각 장기를 적출하여 무게를 재고 감마카운터를 이용하여 각 장기의 방사능을 측정하여 측정량에 대한 장기 무게 당 섭취율 (%ID/g) 즉 percent injected dose per tissue weight (%ID/g = 장기의 cpm/총주입량/장기의 중량)을 계산하여 비교 분석하였다. 자가방사 영상은 I-131 표지항체 100 uCi를 꼬리 정맥에 주입하고 48 시간 후 C57BR/cdJ SCID 마우스를 희생시켜서 4% carboxymethyl cellulose로 블록을 만든 뒤 드라이아이스로 얼려서 동결미세절편기 (Auto cryotome NA-200F, Nakagawa Seisakusho co., Japan)를 사용하여 30 um 두께의 관상절편을 얻어서 동결 건조시킨 후 X-선 필름 (X-Omart AR, Kodak)에 7 일 간 노출시켰다. **결과:** I-125 IgG lym-1 항체의 세포에 대한 최고 특이결합율인 면역반응성은 54.0%였으며 I-125 scFv lym-1 항체의 면역반응성은 53.7%였다. Scatchard plot에서 회귀직선의 기울기인 친화상수는 각각 $1.83 \times 10^9/M$, $1.46 \times 10^9/M$ 이었다. ScFv Lym-1 항체를 주사한 생체분포 모델의 경우 초기 1 시간부터 빠른 체내 대사율을 보이며 모든 장기에서 IgG 모델에 비해 매우 낮은 장기 섭취율을 보임을 알 수 있었다. 감마카메라 영상에서 IgG 모델은 초기 1시간의 종양영상을 확인할 수 없었으나 scFv 모델은 같은 시간에 영상이 확인되기 시작했으며 주사 4 시간 후에는 뚜렷한 영상을 획득하였다. IgG 와 scFv 모델 두 그룹 모두 주사 후 48시간에 얻은 자가방사영상에서 종양의 항체 섭취를 관찰할 수 있었으며 장기를 포함 한 섭취부위는 gamma camera 영상에서 고신호 강도를 보이는 부위와 일치하였다. **결론:** 동물 영상을 통해 IgG보다 분자량이 작은 scFv lym-1 항체가 빠른 체내대사율과 종양섭취율을 보여 방사면역진단에 유용할 것으로 보여진다.

In vivo prediction of anti-tumor effect of 3-bromopyruvate in Hepatocellular Carcinoma using Tc-99m labeled Annexin-V imaging

Department of Internal Medicine and Liver Research Institute¹, Seoul National University College of Medicine, and Department of Nuclear Medicine², Korea Institute of Radiological and Medical Sciences

Won Kim¹ *, Jung-Hwan Yoon¹, Gi Jeong Cheon², Tae Sup Lee², Kwang Sun Woo², Wee Sup Chung², Chung Yong Kim¹

Purpose: We have recently demonstrated that hypoxia stimulates hepatocellular carcinoma (HCC) cell growth through hexokinase II induction, and its inhibition induces apoptotic cell death through activating mitochondrial apoptotic signaling cascades. In this study, we were apt to evaluate the antitumoral effect of 3-bromopyruvate (3-BP) on in vivo model of HCC by apoptotic imaging using Tc-99m labeled annexin V. **Methods:** In vivo model of HCC was established in C3H mice intradermally implanted with MH134 cells, a mouse HCC cell line, and 3-BP (0, 5, 10 mg/kg) was subsequently administered intraperitoneally. Tc-99m-HYNIC-annexin V (185 KBq) was injected via tail vein at one and three days after the 3-BP treatment, planar scan was acquired at a hour after the injection using gamma camera. The anti-tumor effect was evaluated by measuring tumor volumes and quantification of apoptotic cells using terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) staining. **Results:** Tumor volume was significantly reduced in mice treated with 3-BP in a dose-dependent manner (mean tumor volume 1.07 vs. 0.58 vs. 0.39 cm³ in 3-BP 0, 5, 10 mg/kg, respectively; p=0.047). The percentage of TUNEL staining-positive cells was significantly increased in 3-BP-treated mice (0.53 vs. 1.40 vs. 1.84% in 3-BP 0, 5, 10 mg/kg, respectively; p=0.018). On Tc-99m-HYNIC annexin V imaging, tumor-to-background uptake ratio (UR) was 1.92 at one day and 4.23 at three days after 3-BP treatment of 5 mg/kg (non-treated tumor showed UR of 2.93). **Conclusion:** Apoptosis-inducing anti-tumor effect of 3-BP was able to be demonstrated in in vivo model of HCC by apoptotic in vivo imaging using Tc-99m-HYNIC annexin V.