

^{99m}Tc -HMPAO를 이용한 자가백혈구표지 및 그를 이용한 염증병소의 스캔

가톨릭대학 의학부 방사선과학교실

양우진 · 정수교 · 신경섭 · 박용휘

내과학교실

김 훈 교

= Abstract =

Inflammation Scan Using ^{99m}Tc -HMPAO Labelled Leukocytes

Woojin Yang, M.D., Sookyo Chung, M.D., Kyungsub Shinn, M.D. and Yongwhee Bahk, M.D.

Department of Radiology, Catholic University Medical College, Seoul, Korea

Hoonkyo Kim, M.D.

Department of Internal Medicine

Inflammation scan using radiolabelled leukocytes has high sensitivity and specificity. Several methods for labelling leukocytes have been evaluated using P-32 diisopropyl fluorophosphate (DFP-32), H-3 thymidine, Cr-51 chromate, Ga-67 citrate and Tc-99m-sulfur colloid. In-111-oxine has proved so far to be the most reliable agent for labelling leukocytes.

In-111-oxine is, however, expensive, not easily available when needed, and its radiation dose to leukocytes is relatively high. Moreover, resolution of the resultant image is relatively poor. Tc-99m is still the agent of choice because of, as compared with the indium, its favorable physical characteristics, lower cost and availability. Now the technique for labelling the leukocytes with technetium is successfully obtained using the lipophilic HAPAO with higher efficiency for granulocytes than for other cells. With this technique it is possible to label leukocytes in plasma to improve the viability of the leukocytes.

Inflammation scan using Tc-99m-HMPAO has been evaluated in several laboratories, and difference in methods for separation and labelling accounts for difference in efficiency, viability and biodistribution of the labelled leukocytes.

We performed inflammation scan using leukocytes labelled with Tc-99m-HMPAO in three dogs 24 hours after inoculation of live E. Coli and S. Aureus in their right abdominal wall.

We separated mixed leukocytes by simple sedimentation using 6% hetastarch (HES) and labelled the leukocytes with Tc-99m-HMPAO in 20% cell free plasma diluted with phosphate buffer solution(Fig. 1).

Uptake was high in the liver and spleen but is was minimal in the lungs on whole body scan. Kidneys and intestine showed minimal activity although it was high in the urinary bladder(Fig. 2). Uptake of labelled leukocytes in the inflammation site was definite on 2 hour-postinjection scan and abscess was clearly delineated on 24 hour-delayed scan with high target-to-nontarget ratio(Fig. 3, 4).

Inflammation scan using mixed leukocytes labelled with Tc-99m-HMPAO is very sensitive and specific in early detection of inflammation.

서 론

1976년 McAfee와 Thakur가 처음 In-111-oxine을 이용하여 백혈구를 표지한 후 염증성병소를 진단하는데 있어서 표지백혈구 스캔의 유용성은 널리 알려져 있다¹⁻⁴⁾.

그러나 백혈구 표지에 가장 많이 사용하는 In-111-oxine은 백혈구에 대한 방사선 조사량이 높고 고가일 뿐 아니라, 우리나라에서는 Indium의 공급이 한정되어 있어 급성염증성질환등 응급을 요하는 백혈구스캔을 시행하는 것은 현실적으로 불가능하다⁵⁻⁷⁾. 이에 저자들은 언제나 손에 넣을 수 있는 Tc-99m으로 백혈구를 표지하여 급성 염증성 병소를 스캔하고자 하였다.

임상적으로 핵의학영상에 가장 많이 쓰이는 동위원소인 Tc-99m을 백혈구에 표지시키기 위해 한때는 Tc-99m-sulfur colloid등이 이용되었으나, 그 성과가 만족스럽지 못하였다¹⁻⁷⁾. 그러던 중 뇌혈류스캔용으로 개발된 HMPAO(hexamethyl propylene amine oxine)가 그 친지질성으로 말미암아 백혈구에 의해 섭취된 다음 내부

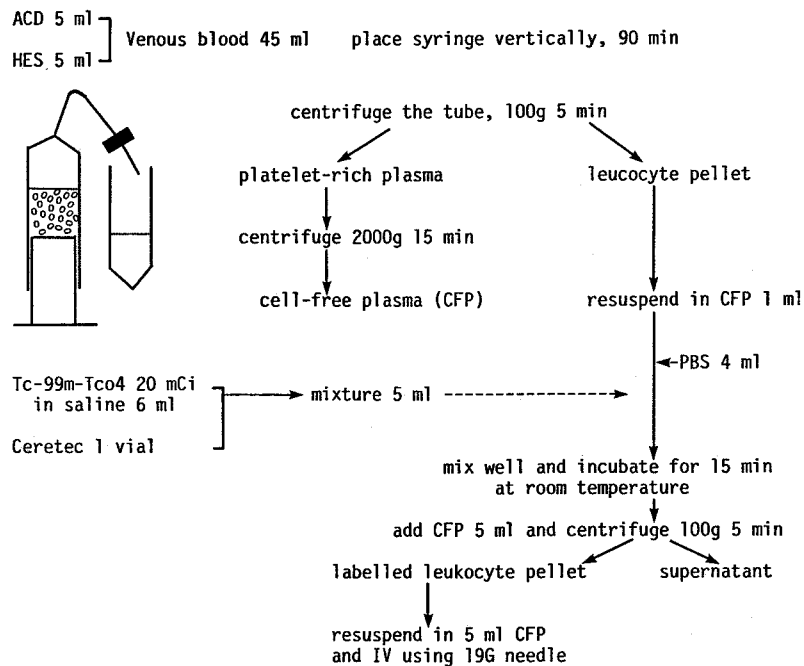
pH차에 의해 백혈구내에 고정된다는 사실이 규명되어 이 원리를 이용하여 백혈구의 Tc-99m표지가 가능하게 되었다⁵⁻⁷⁾. 그러나 저자들에 따라서 백혈구를 분리하고 표지하는 방법이 조금씩 다르고 이에 따라 표지백혈구의 생존능력, 체내분포 및 표지율 등이 달라질 뿐 아니라 자가백혈구를 체외표지하여 환자에게 재주사하기 위하여는 철저한 무균조작이 요구되므로 임상적으로 이용되기 전에 그 안전성과 유용성을 미리 시험할 필요가 있다.

저자들은 Tc-99m-HMPAO를 이용하여 자가백혈구를 표지하고 임상적으로 이를 염증성병소 스캔에 이용하기 전에 개를 이용하여 그 안전성과 확실성을 시험하여 보았다.

대상 및 방법

체중 10 kg 이상의 잠종견의 우측 복벽에 E. coli와 Staphylococcus aureus를 섞어 주사하여 인공적으로 염증병소를 만들었다.

약 18시간 후에 acid citrate in dextrose (ACD액) 5 ml가 들어 있는 60 ml짜리 일회용 주사기와 19G 주사



* All the procedures are performed in the laminar flow chamber aseptically.

Fig. 1. Summary of Process for Separation & Labelling Leukocytes.

바늘을 이용하여 정맥혈 45 ml를 채혈한 다음 여기에 적혈구 침강이 빨라지도록 6% hydroxyethyl starch (HES)를 5 ml 넣고 잘 섞은 다음 바늘이 위로 가도록 하여 1시간 30분동안 실온에 세워두어 적혈구를 자연침강시켰다.

19 G 나비바늘을 끼우고 피스톤을 서서히 밀어올려 적혈구가 올라오지 않도록 주의하면서 상층액과 백혈구연층을 소독된 튜브에 따라낸 다음 튜브의 내용물을 100 g로 5분간 원심분리하여 상층액과 백혈구압착결정 (pellet)으로 분리하고 상층액은 따라낸 후 다시 2,000 g로 15분간 원심분리하여 무세포혈장을 만들었다.

무세포혈장 1 ml를 백혈구압착결정에 넣고 조심스럽게 피펫팅 (pipetting) 하여 덩어리가 지지 않도록 잘 푼 다음 phosphate buffer solution (PBS) 4 ml를 섞는다. Ceretec® (0.5 mg HMPAO, 7.6 mg stannous chloride dihydrate & 4.5 mg sodium chloride under nitrogen) 1 vial과 6 ml의 생리적식염수에 들어있는 Tc-99m-TcO₄⁻를 잘 섞은 다음 즉시 이 중 5 ml를 뽑아 앞서 분리하여 놓은 백혈구에 넣고 실온에서 15분간 배양한다.

다시 무세포혈장을 10 ml 넣은 다음 100 g로 5분간 원심분리하여 상층액과 표지된 백혈구를 분리하여, 표지된 백혈구와 상층액의 방사선량을 각각 측정 한 후, 표지된

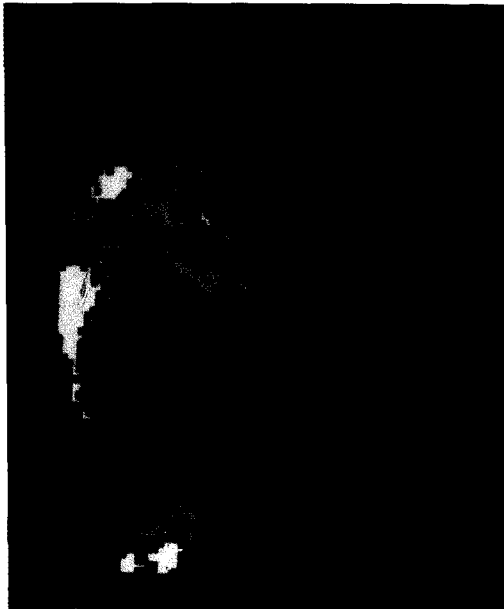


Fig. 2. Distribution of Radiolabelled Leukocytes. Uptake is noted in the liver, spleen and minimally in the lungs. Activity is noted in the urinary bladder but activity in the intestine and kidneys is negligible.

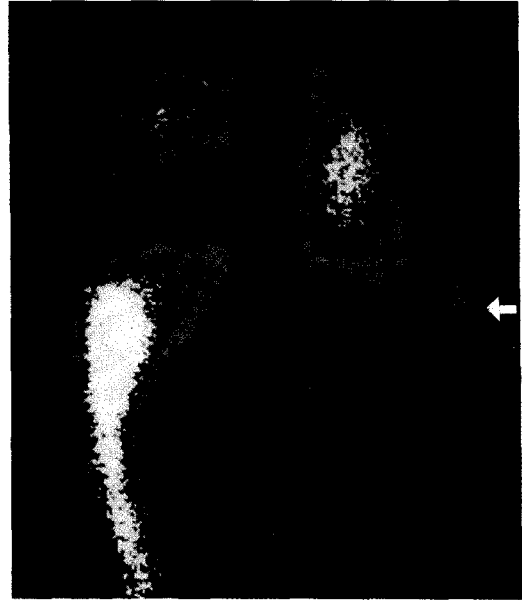


Fig. 3. Posterior Scan at 2 Hour-Postinfusion of Labelled Leukocytes. Uptake in the site of inflammation is definite (white arrow).



Fig. 4. 24 Hour-Delayed Posterior Scan. Abscess is clearly delineated with very high target-non-target ratio.

백혈구를 무세포혈장 5ml에 덩어리가 지지 않도록 잘 풀어 19G 주사바늘로 개의 상지 정맥에 서서히 주사하였다.

상층액과 표지백혈구의 측정된 방사선량으로부터 다음과 같이 표지율을 계산하였다.

백혈구표지율(%)

$$= \frac{\text{표지백혈구의 방사선량}}{\text{표지백혈구 방사선량} + \text{상층액의 방사선량}} \times 100$$

표지된 백혈구를 주사한 후 20분, 1시간, 2시간 및 24시간에 개를 복외위로 눕힌 뒤 배부전신스캔과 부분스캔 사진을 얻었다.

성 적

채혈부터 스캔까지 소요된 시간은 약 2시간 10분이었고 표지율은 40-49%이었다. 20분 스캔부터 우측복벽에 희미하게 병소가 나타나기 시작하여 2시간 스캔부터는 병소부위에 간의 방사능섭취보다는 약하나 매우 뚜렷한 열소가 관찰되었으며, 이때 개의 우측복벽에 균을 주사하였던 부위에는 다소 단단하고 따뜻한 덩어리가 만져졌다.

병소외에 간과 비장에 병소보다 높은 방사능집적이 보였으나, 폐, 두부, 골수 및 복부에는 미미한 방사능집적을 보였고, 방광에는 간과 비슷한 정도의 방사능 집적이 관찰되었다.

24시간 스캔에서는 간을 포함한 배후 방사능은 거의 인지할 수 없을 정도로 미미하였고, 병소에는 더욱 커지고 뚜렷해진 열소가 관찰되었다. 이때 우측복부에는 출렁거리는 농양이 촉진되었다.

고 안

방사표지된 자가백혈구를 이용한 스캔은 매우 예민하고 특이성이 높은 염증성병소의 진단방법이다. 백혈구를 표지하는데 P-32-phosphate, P-32-diisopropyl-fluorophosphate (DFP-32), H-3-thymidine 및 In-111-tropolonate 등 많은 핵제제들이 사용되었으나 최근까지는 In-111-oxine이 백혈구표지에 가장 적합한 것으로 인정되어 널리 쓰이고 있다.^{1-3,8,9)}

그러나 In-111은 백혈구에 주는 방사선조사량이 비교적 높고, 고가이며, 스캔영상이 뛰어나지 못할 뿐 아니라 필요한 때에 이용하기가 어려워 응급을 요구하는 염

증성병소의 진단에 사용하는 것이 현실적으로는 거의 불가능한 실정이다. 따라서 일반 핵의학실에서 쉽게 그리고 가장 많이 사용되며, 감마카메라를 이용한 영상 진단에 가장 적합하다고 인정되는 Tc-99m을 이용하여 백혈구를 표지하고자 Tc-99m-sulfur colloid, pyrophosphate나 Sn-tropolonate^{1-3,10)}와 같은 방법들이 시도되었으나 큰 성과가 없다가 1986년 너혈류스캔용으로 개발된 HMPAO를 이용하여 Tc-99m로 백혈구를 표지할 수 있는 방법이 발달되었다.

Tc-99m-HMAPO로 표지된 자가백혈구는 In-111-oxine으로 표지된 백혈구와 유사한 체내분포를 나타내며, 염증성병소를 진단하는데 있어서 이와 유사한 감수성 및 특이성을 보이는 것으로 보고되고 있다⁴⁻⁷⁾.

특히 In-111-oxine은 혈장단백에 결합되는 성질이 있어서 이를 이용하여 백혈구를 표지하는데 반하여 Tc-99m-HMAPO는 혈장단백과 거의 결합하지 않기에 백혈구를 혈장으로 부터 완전히 분리할 필요가 없을 뿐만 아니라 희석된 혈장 내에서 백혈구를 표지함으로써 표지백혈구의 생존능을 높일 수 있는 장점이 있다.

자가백혈구를 분리하는 방법은 저자에 따라 조금씩 다른데 우리들은 가장 간단한 단순 적혈구 침강법을 사용하여 백혈구의 체외조작시 발생할 수 있는 오염의 기회를 줄이고자 하였으며, 이 방법으로는 과립백혈구를 선택적으로 분리할 수는 없지만 일반 염증성병소를 진단하는데는 혼합백혈구를 사용하여도 큰 차이가 없기 때문에 이 방법을 선택하였다. 적혈구침강을 돕기 위하여 HES를 사용하였는데 dextran이나 methylcellulose보다 백혈구손상이 적고 인체에 무해하지만 고가인 점이 흠이다¹¹⁾.

저자에 따라서 적혈구침강제를 넣고 저속으로 원심분리하여 침강시간을 줄이기도 하지만¹¹⁾ 저자들은 백혈구의 손상을 되도록 줄이기 위하여 단순자연침강만을 사용하였고, 원심분리 자체가 백혈구의 생존능에 영향을 줄 수 있기때문에 백혈구 분리시 450 g까지 올리기도 하는 원심력을 저자들은 모두 100 g로 낮추어 사용하였는데, 침강시간까지 포함하여 채혈부터 정주까지 2시간 정도 소요되었으며, 적혈구용적비가 높은 경우와 같이 침강속도가 너무 느린 경우는 원심분리법을 사용해 볼 만 하다.

채혈시 항응고제로 많이 사용되는 heparin 대신 저자들은 acid citrate in dextrose (ACD액)을 사용하였는

데 이는 백혈구가 heparin내에서는 주사기나 주입기에 많이 달라 붙어 백혈구 소모가 많고 백혈구 꺼리도 엉겨 붙는 경향이 강한 반면, ACD액 내에서는 이러한 경향이 줄어들며¹⁾, 백혈구의 응집은 표지백혈구스캔상 폐에 많은 방사능집적을 유발하는 원인이기도 하여 백혈구표지시 ACD액을 주로 사용한다.

저자들은 자가백혈구 스캔을 임상적으로 이용하기 전, 인위적으로 개에게 염증병소를 만들어 안전성과 효용성을 시험하였는데 균을 주사하고 약 19시간이 경과하여 농양이 형성되기 전부터 스캔상으로 확인할 수 있을 정도로 표지백혈구가 병소에 집적되었으며 약 34시간이 경과하여 농양이 형성되었을 때는 스캔상 배후방사능이 거의 안보이고 병소부위의 열소만이 뚜렷이 나타났다.

Tc-99m-HMPAO를 이용한 자가백혈구표지법은 Tc-99m이 유리되어 나타나는 장의 방사능집적이 In-111-oxine을 이용한 표지법에 비하여 많은 것으로 보고되는데 저자들의 실험에서는 장의 방사능집적은 초기 스캔에서도 폐나 두부 및 근육등의 방사능집적과 비교하여 크게 증가되어 보이지 않았으며 24시간 스캔 상에서는 장을 포함한 배후방사능이 거의 인지할 수 없을 정도이었다.

사용된 개는 마지막 스캔이 끝나고 24시간이 경과된 후 부터 항생제를 투여하고 1주일간 관찰하였는데 병소부위의 통증으로 인하여 우측하지의 움직임이 약간 둔한 것 이외에는 이상소견이 관찰되지 아니하였다.

결 론

저자들은 Tc-99m-HMPAO를 이용한 자가백혈구 표지 및 이를 이용한 염증병소스캔을 임상적으로 시행하기 전에 저자들의 방법의 안전성과 유용성을 시험하기 위하여 개에서 자가백혈구를 표지주사하고 스캔을 시행한 바 좋은 성적을 얻었기에 이 방법을 이용하여 염증병소스캔을 시행하는데 도움이 되고자 문헌고찰과 함께 저자들의 방법을 자세히 소개하였다.

REFERENCES

- 1) McAfee JG, Subramanian G, Gangne G: *Technique of leukocyte harvesting and labelling: problems and perspectives. Seminars in Nuclear Medicine* 14:83-106, 1984
- 2) Thakur ML: *Cell labelling: achievements, challenges, and prospects. J Nucl Med* 22:1011-1014, 19
- 3) Laue A, Heinken U, Heinken DS, Hundeshagen H: *Leukocyte scanning: preparation and labelling of leukocytes with In-111-oxine and its clinical application. Eur J Nucl Med* 9:17-22, 1984
- 4) McDougall IR, Baumert JE, Lantieri RL: *Evaluation of In-111 leukocyte whole body scanning. AJR* 133:849-854, 1979
- 5) Peters AM, Danpure J, Osman S, Hawker RJ, et al: *Clinical experience with Tc-99m-Hexamethylpropyleneamineoxime for labelling leukocytes and imaging inflammation. Lancet* 25:946-949, 1986
- 6) Schumichen C, Scholmerich J, Freiburg Br: *Tc-99m-HMPAO labelling of leukocytes for detection of inflammatory bowel disease. NucCompact* 17:274-276, 1986
- 7) Roddie ME, Peters AM, Danpure HJ, Osman S, et al: *Inflammation: imaging with Tc-99m-HMPAO-labelled leukocytes. Radiology* 166:767-772, 1988
- 8) Peters AM, Saverymattu SH, Reavy HJ, Danpure HJ, et al: *Imaging of inflammation with Indium-111 tropolonate labelled leukocytes. J Nucl Med* 24:39-44, 1983
- 9) Danpure HJ, Osman S, Brady F: *The labelling of blood cells in plasma with In-111-tropolonate. BJR* 55:247-249, 1982
- 10) Kelbaek H, Fogh J: *Technetium-99m labelling of polymorphonuclear leukocytes: preparation with two different stannous agents. J Nucl Med* 26:68-71, 1985
- 11) Madyastha P, Madyastha KR, Wade T, et al: *An improved method for rapid layering of Ficoll-Hypaque double density gradient suitable for granulocyte separation. Methods* 48:281-286, 1982