

IMACIS-1을 이용한 위장관 종양의 방사면역신티그램

가톨릭대학 의학부 방사선과학교실

손 형 선 · 김 춘 열 · 박 용 휘

= Abstract =

Radioimmunoscintigraphy Using IMACIS-1 in Gastrointestinal Cancer

Hyung Sun Sohn, M.D., Choon-Yul Kim, M.D. and Yong Whee Bahk, M.D.

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

Most of the diagnostic methods currently used for the detection of neoplastic masses provide indirect evidence. To obtain greater specificity in the interpretation of neoplasias by in vivo methods, the immunological approach appears to be most promising. Two problems that interfered with progress in this field were the lack of tumor specific antigen and the lack of well-defined and reproducible antibodies.

To improve the sensitivity and specificity of radioimmunoscintigraphy as a technique for tumor localization, the use of monoclonal antibodies, fragments of antibodies and single photon emission computerized tomography (SPECT) are reasonable.

The obvious advantages of monoclonal antibodies are their homogeneity, their specificity for the immunizing antigen and the reaction with a single determinant-thus no large immunocomplexes with antigen are formed.

Monoclonal antibody technique has recently provided an opportunity to reevaluate the role of nuclear medicine for the diagnosis of malignant diseases by using the immunological approach.

Our first results by means of radioimmunoscintigraphy of CEA and CA 19-9 producing tumors using a cocktail of fragments $F(ab')_2$ of monoclonal antibodies to CA 19-9 and CEA labeled with ^{131}I (IMACIS-1) are reported.

The aims of this investigation was to evaluate the role of immunoscintigraphy in patients with colorectal and other cancers for diagnosis of local recurrences and metastasis.

This report contains results of the first 8 colorectal and pancreas cancer patients with the elevation of the level of serum CEA and/or CA 19-9.

IMACIS-1 was injected intravenously during 30 minutes in 100 ml saline solution after skin test. Planar scintigrams were recorded 3, 5 and 7 days after the injection of the IMACIS-1. Anterior, lateral and posterior views of the liver as well as anterior and posterior views of the pelvis were obtained in each patients as an ^{131}I -antibody image.

We were able to localize exactly the malignant process with the double-nuclide double-compound ^{99m}Tc ^{131}I (Tc+I) scintigrams. In Tc & I double-nuclide scintigraphy, computer subtraction display provided more clear localization of the tumor. We compared the results of radioimmunoscintigraphy with CT, ultrasonograms, conventional scintigrams.

The results were as follows:

- 1) The sensitivity and specificity of radioimmunoscintigraphy using the fragments $F(ab')_2$ of the cocktails of CEA and CA 19-9 monoclonal antibodies were 80% and 100% respectively.
- 2) Tumor detection rate was not proportionated to the level of serum tumor markers.

- 3) Second tracer technique was essential for tumor localization as an anatomic landmark using double-nuclide scintigraphy.
- 4) A slow infusion of the antibodies was necessary to prevent the formation of large immune complexes.
- 5) Tumor/non-tumor radioactivity was most elevated at 7 days delayed imaging.
- 6) Using planar scintigraphic technique of ¹³¹I labeled monoclonal antibodies are possible for imaging most of the tumors.

서 론

과거 수십년간 종양항원에 대한 항체에 적절한 에너지를 갖는 방사선 동위원소를 표지하여 종양의 진단과 치료에 이용하려는 시도가 많이 있어왔다^{1,2)}. 그러나 과거의 여러 방사면역 종양 영상화의 시도는 종양항원의 선택, 분리 및 순수도의 정도가 부족하여 진단율을 높일 수 없었으나 Gold와 Freedman³⁾에 의해 위장관 종양의 혈중종양 표식자로 발견된 CEA (carcinoembryonic antigen)의 다세포군 항체를 이용하여 종양영상화율을 높일 수 있었다^{4,5)}.

그후 1975년 Kohler와 Milstein이 쥐의 myeloma cell을 이용하여 선택적 특이도를 갖는 단세포군 항체를 대량 만들어 낼 수 있는 Hybridoma technology를 개발하여⁶⁾ 종양의 방사면역신티그램을 이용한 종양진단의 특이도를 높이는 데 크게 기여하였다⁷⁻⁹⁾.

이에 저자들은 종양진단의 민감도와 특이도를 더욱 높일 목적으로 위장관 종양의 종양 표식자인 CEA (carcinoembryonic antigen)와 Koprowski에 의해 발견된 위장관 종양의 또 다른 혈중 종양 표식자인 CA 19-9 (monosialoganglioside)¹⁰⁾의 단세포군 항체 fragments F(ab')₂에 ¹³¹I을 결합시킨 IMACIS-I을 이용하여 8예의 직장, 대장암 및 췌장암 환자를 대상으로 방사면역 신티그램을 시행하여 좋은 성적을 얻었기에 그 결과를 보고하고자 한다.

대상 및 방법

방사면역영상검사의 대상은 CT, 초음파 및 핵의학 영상검사상 비교적 큰 종괴를 보이며, 수술 및 조직 생검상 선암(adenocarcinoma)으로 확인된 예중 혈중 CEA나 CA 19-9치가 높은 환자들이었다. 원발부위는 직장암 4예, 대장암 3예, 췌장암 1예(Table 1)이었으

며, 이중 간으로의 전이가 2예, 대뇌로의 전이가 1예, 골반 연부조직 및 골반골로의 전이가 1예, 수술후 원발병소에서 재발이 2예, 대동맥 주위 임파절로의 전이가 1예이었다. 남은 1예는 수술후 재발 및 전이가 없었다.

환자의 나이는 48세에서 74세까지 다양하였으며 성비는 남자 4예, 여자 4예이었다.

방사면역영상 검사시 환자의 갑상선에서의 육소 섭취를 방지하기 위하여, 핵제재 투여 2시간전에 과염화카리 1 gm과 요도화카리 480 mg을 경구 투여하기 시작하여 계속 과염화카리 250 mg을 2회, 요도화카리 120 mg을 3회씩 7일동안 투여하였다(Table 2).

IMACIS-1은 CEA와 CA 19-9의 단세포군 항체 fragments F(ab')₂를 무균, 무독성, 비발열성으로 정제하여 ¹³¹I에 Iodogen방법으로 표지한 것으로서 냉동상태로 보관하였고, 투여 2시간전부터 실온에서 녹게 하여 방사능량을 측정된 뒤(74-111 mBq) 100 ml 생리식염수에 혼합한 후 이중 0.1 cc를 피내에 투여하여 이중 단백질에 대한 과민반응 여부를 확인한 후 30분 동안 서서히 정맥주사하였다.

방사면역신티그램은 고 에너지 조준기(collimator)와 large field of view (LEOV) 감마카메라를 이용하

Table 1. Primary Tumors

Rectal cancer	4 cases
Colon cancer	3 cases
Pancreas cancer	1 case

Table 2. Preparation to Block Thyroid Uptake of Iodine

	Perchlorate	Potassium Iodine
2 hours before injection	1 g	480mg
D1 to D7 every day	Two times a day 250 mg	3 times a day 120mg

Table 3. Serum Tumor Marker Levels, Tumor Status, Immunoscintigraphy Results, Radiolocalization Index in 8 Patients with Carcinoma

No	Age/sex	CEA (ng/ml)	CA19-9 (u/ml)	Tumor status	US, CT & Scintigram	ISG	Radiolocalization index (tumor/nontumor)			
							D3	D5	D7	
1	74/F	42	56	Pancreas (P)	+	-				
				Liver (M)	+	+	1.31	1.52	1.86	
2	75/F	54	32	Colon (P)	+	+	1.25	1.33	1.45	
3	60/F	22	20	Paraortic L/N (M)	+	±	1.18	1.24	1.30	
4	58/M	45		Brain (M)	+	+	1.35	1.67	1.95	
5	57/M	9.7	27	Rectum (P)	+	+	1.28	1.32	1.51	
6	65/F	162.5	35	Rectum (R)	+	+	1.34	1.47	1.82	
				Liver (M)	+	+	1.52	1.85	2.12	
7	42/M	16.0	25	-	-	-	-	-	-	
8	48/M	12.3	48	Perirectal	+	+	1.82	2.12	2.41	
				Soft tissue (M)						
				Pelvic bone (M)	+	+	-	-	-	

*1.38 1.57 1.80
 **±0.189 ±0.281 ±0.346

Normal value CEA < 7.5 ng/ml, CA 19-9 < 37 u/ml

P : primary, M : metastasis, R : recurrence, ISG : Immunoscintigraphy

D3, 5, 7 : 3, 5, 7 days post-injection.

* : mean value of radiolocalization index

** : ± S.D.

여 실시하였다. IMACIS-1 주사후 3일, 5일, 7일째에 단순(planar) 신틸그램을 시행하였다. 3일과 5일째에는 검사시행 5분전에 ^{99m}Tc-tin colloid와 ^{99m}Tc-DTPA를 각각 투여한 후 감마카메라와 환자의 위치를 일정하게 하여, 동일정도의 방사능 영상을 이중으로 얻어(I+Tc), pixel by pixel방법으로 I영상에서 Tc영상을 감산처리하여(I-TC) 혈중 유리방사능과 위장 및 방광에 분비된 유리 요오드 방사능(free iodine activity)을 제거하여 종양영상화 정도를 증가시켰고, 동시에 간, 비장, 골수, 신장, 방광 등의 위치를 확인함으로써 종양발생 부위를 진단하였다. 7일째에는 감산처리 없이 ¹³¹I 지연 영상만을 얻어 감산처리된 영상과 비교함으로써 종양여부를 확인하였다. 간의 영상은 전면, 후면, 측면 영상을, 골반은 전면 및 후면영상을 각각 시행하였고 그의 필요한 경우에는 흉부와 두부에서 각각 동일한 영상을 얻었다.

방사면역영상에서 종양 진단을 할 수 있는 경우는 편의상+, 의심은 가나 불확실한 경우는 ±로, 전혀 주위 영상과 감별이 안되는 경우는 -로 나누어 표시하였다. 한편 종양영상 정도를 수치로 표시하기 위

하여 종양부위와 인접부위의 동일면적 방사능 정도를 측정(ROI display)하여 그 비(tumor/nontumor)를 종양 집적의 정도(radiolocalization index)로 표시하였다(Table 3).

결 과

종양이 영상화된 모든 예에서 주사 3일째 검사에서 종양부위가 주위조직 보다 뚜렷이 핵제제의 침착이 증가되었다. 8예의 원발성 위장관 종양환자중 수술 및 조직생검으로 확인된 전체 종양부위는 10병소이었으며 이중 원발성 종양이 3예, 수술후 재발된 종양이 1예, 나머지 6예는 전이병소이었다. 방사면역 신틸그램상 8병소에서 뚜렷이 종양병변이 확인되었으며(sensitivity 80%) 양성조건을 보인 병소에서 위양성으로 나온 예는 없었다(specificity 100%). 전예에서 혈중 CEA치가 최저 9.7 ng/ml에서 162.5 ng/ml로 다양하게 상승되었으며 혈중 CA 19-9치는 3예에서 상승되어 있었다(Table 3). 증례 1은 체장암으로써 간의 전이가 되었던 예로서, 원발부위는 발견되지

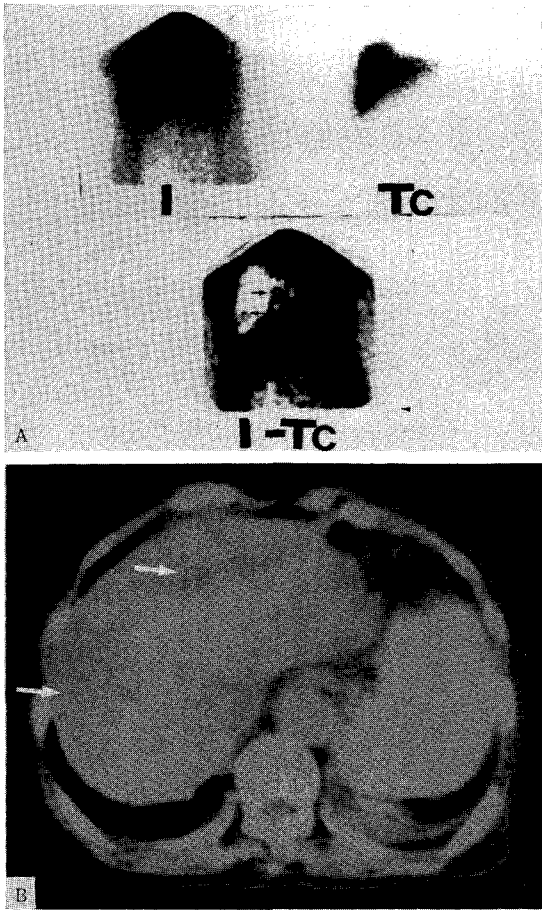


Fig. 1. 3 days postinjection, processed immunoscintigraphy (A) and CT image (B), 2 hepatic foci.

않았으나, 간으로의 전이부위는 뚜렷하게 볼 수 있었다(Fig. 1). 증례 2는 우측 결장암으로써 전이는 없었으나 원발부위에 뚜렷한 종양섭취를 보였다(Fig. 2). 증례 4는 대장암을 수술한 환자로써 뇌로의 전이가 뚜렷이 주위조직과 구분되었다(Fig. 3). 증례 6은 직장암 환자로써 간에 전이된 환자인데 혈중 CEA level이 162.5 ng/ml로 가장 높았고 CA 19-9도 35 u/ml로 상승되어 있었으나, 면역 신티그램상 원발부위와 전이부위가 발견되었다(Fig. 4). 증례 8은 직장암 환자로써 직장주위 연부조직과 골반골로의 전이가 뚜렷이 발견된 경우이다(Fig. 5). 전예에서 검사 3일, 5일, 7일째에 일정면적의 종양과 종양주위 조직과의 방사능 집적비의 평균은 각각 1.38 ± 0.189 , 1.57 ± 0.281 ,

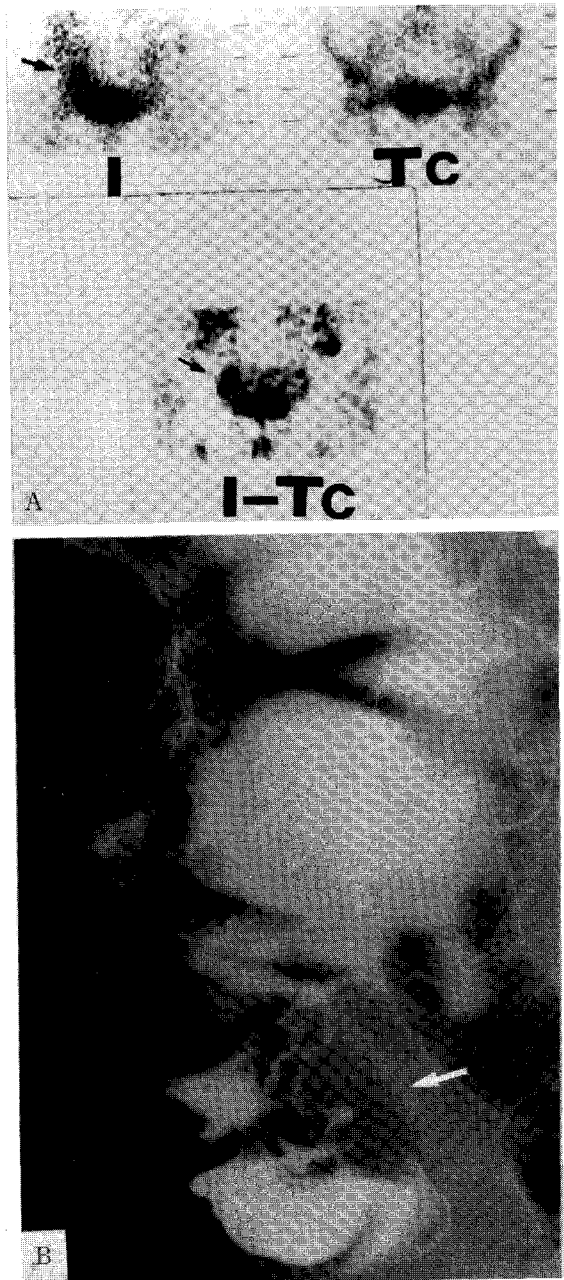


Fig. 2. 3 days postinjection, processed immunoscintigraphy (A) and Barium enema (B), primary tumor at cecum.

1.80 ± 0.346 으로 시일이 지날수록 background activity가 감소되어 종양/비종양의 비가 상승되었다.

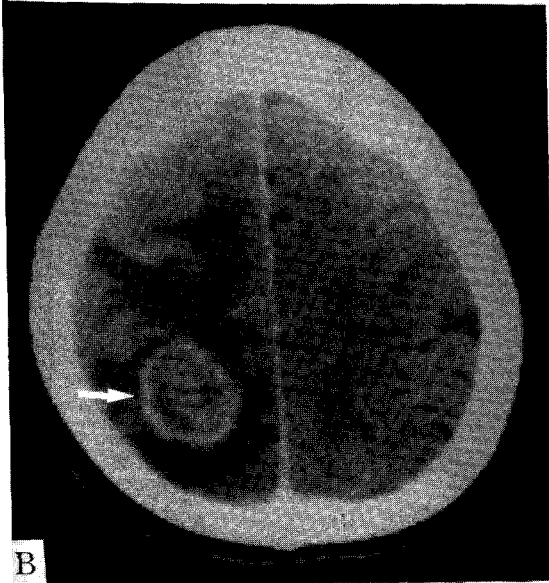
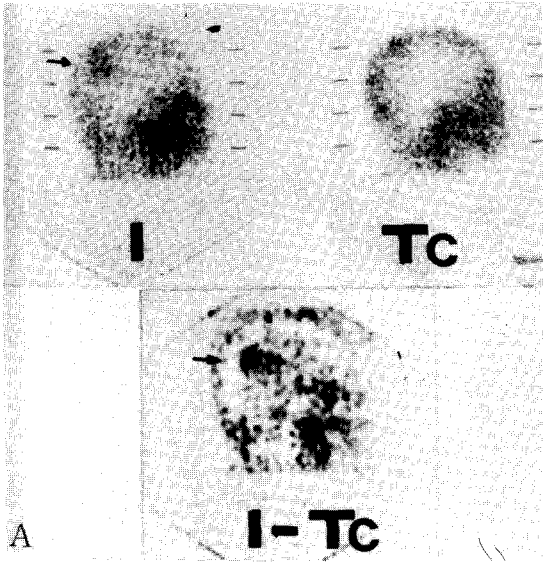


Fig. 3. 5 days postinjection, processed immunoscintigraphy (A) and CT image (B), intracranial metastasis at right parietal lobe.

고 안

항체를 이용한 종양영상화의 진단율을 높이기 위해서는 항체의 특이도와 민감도가 높아야 하고 순수한 종양항원의 분리, 적절한 표기핵종의 선택 및 핵종의 표지화 방법 등이 중요하다.

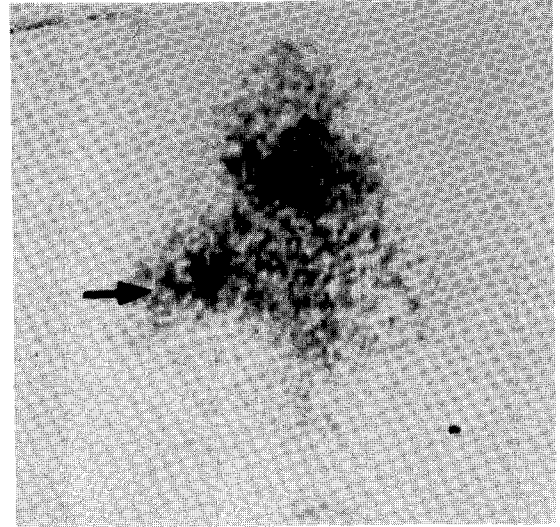


Fig. 4. 7 days postinjection, unprocessed immunoscintigraphy image, hepatic metastasis at left lobe.

Kohler와 Milstein (1975)은 면역화된 쥐 (immunized mice)에서 얻은 림파구(B-cell)와 쥐의 myeloma tumor cell을 화학적으로 융합하는 방법을 개발하여⁶⁾ Clone hybrid cell이 계속적으로 선택적 특이도와 동일한 반응성을 가지는 일정한 단세포군항체를 생산해 낼 수 있게 하였다.

단세포군 항체는 면역유발 항원에 대한 항체의 균질성(homogeneity)과 특이도(specificity)를 높일 수 있으며 single determinant와 반응함으로써 large immune complex를 형성하지 않는다⁷⁾.

항체는 2개의 heavy chain과 2개의 light chain이 disulphide에 의해 결합되어 Y모양을 이루는데 면역 반응을 일으키는 부위는 상완(upper arm)에 해당하는 2개의 fragments (Fab')₂이며 축(axis)을 이루는 crystallization fragment (Fc)는 여러세포에 비특이적으로 결합을 한다. 그러나 pepsin으로 화학적 처리를 하면 항원결합능을 가진 fragments (Fab)₂와 crystallization fragment (Fc)로 각각 분리되며 이중 F(ab')₂만을 이용함으로써 하나의 fragment (Fab) 사용시 보다 종양에 대한 친화력을 높일 수 있으며, 완전한 항체(intact antibody)를 사용할 때 보다 종양에 더 빨리 집적되고 혈중배설이 더 빠르게 되어 background activity를 줄일 수 있으며 간에서의 비특이적 집적을 감소시킬 수 있다⁸⁾.

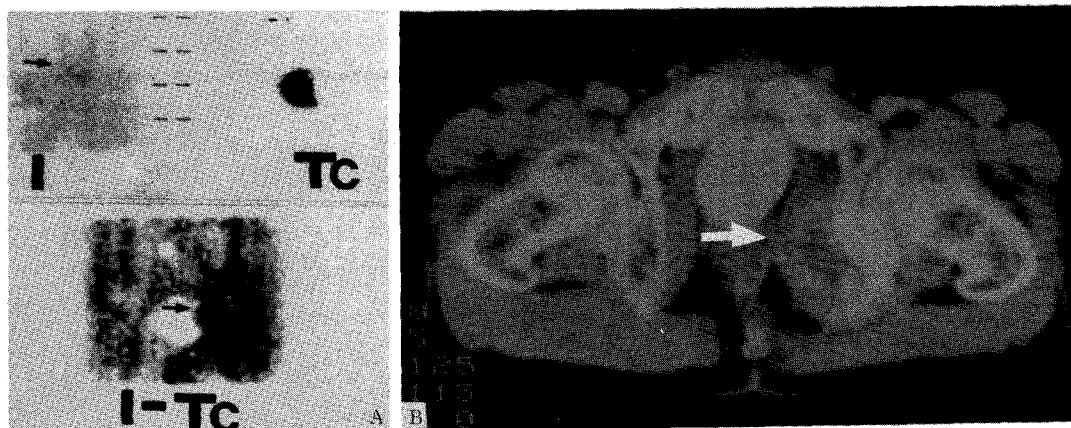


Fig. 5. 3 days postinjection, processed immunoscintigraphy (A) and CT image (B), tumor recurrence at left pararectal soft tissue and pelvic bone.

지금까지 많은 혈중종양 표식자가 발견되었으며 그 중 대표적인 것들이 α -fetoprotein (oncofetal Ag), Human chorionic gonadotropin (HCG), acid phosphatase (enzyme)와 melanoma (tumor associated antigen) 등이다.

1965년 Gold와 Freedman³⁾이 Carcinoembryonic antigen (CEA)을 대장암의 혈중종양 표식자로 보고한 후, 여러 연구에서 CEA는 tumor cell surface항원으로써 혈중 순환항체와 쉽게 결합할 수 있으나^{11,12)}, 한편 CEA에 대한 자가항체가 존재하여 이러한 자가항체가 CEA에 결합하여 방사성 표지된 항체와의 결합을 방해할 수 있다는 보고도 있었으나¹³⁾, 이러한 자가항체가 CEA항체를 이용한 종양영상화에 크게 영향을 주지 못한다^{3~5)}.

혈중 종양항원의 농도가 높으면 투여한 항체가 혈중에서 항원 항체 반응을 일으키는데 소모되어 종양 영상화율이 떨어지므로 이때는 투여 항체량이 많아야 종양 집적율을 높일 수 있다고한 연구¹⁴⁾도 있으나 최고 350 ng/ml의 높은 혈중 CEA항체를 보인 예에서도 종양영상화에 지장이 없었다¹⁵⁾. 본 연구에서도 종양항원의 농도와 종양영상화 정도사이의 상관관계는 보이지 않았다. 따라서 종양집적율과 혈중항원 및 항체 농도와의 상관성에 대하여는 앞으로 더욱 연구하여야 되리라 믿는다.

Iodine 131은 364 KeV의 에너지를 갖고 반감기가 8 일로써 이상적인 핵제제이나 감상선섭취를 차단시켜

도 일정량이 감상선에 축적되며, 순환혈류내의 단백질과 결합하기도 하며, 반감기가 길다는 단점이 있어 Indium을 사용하기도 하나 Indium은 세망내피계에 섭취되어 대사되므로 간으로의 전이병소를 보는데에는 지장이 있다. 핵종을 항체에 표지시키는 방법은 Fraker등이¹⁶⁾ 새로이 소개한 산화제인 Iodogen을 이용함으로써 대량의 항체를 빠르고 간편하게 항체에 옥소를 표지할 수 있다. 혈액내 유리방사성옥소는 위와 방광내에 모이게 되는데 ^{99m}Tc 영상을 동시에 얻어 기술적으로 ¹³¹I영상에서 ^{99m}Tc 영상을 pixel by pixel방법으로 감산처리함으로써¹⁷⁾ 종양을 더욱 뚜렷이 나타낼 수 있게 되며 종양의 발생위치를 정확히 추정할 수 있다. 그러나 감산처리 영상에서는 위, 심장의 좌하면, 좌측폐의 우하면, 간우엽 하부의 경계면 등에 위양성음영이 나타날 수 있으나 7일째 단순자연 영상을 얻음으로써 감별할 수 있다. 한편 최근에는 Back ground activity를 감소시키기 위해서 항체에 대한 이차항체(secondary antibody)를 투여함으로써 항체-항체 복합체를 형성하여 간의 세망내피계에서 탐식제거 되게 함으로써 종양진단의 정확성을 높이게 하는 방법이 시도되고 있다¹⁸⁾.

최근 종양영상화의 민감도를 높이기 위해서 두가지 이상의 항체를 혼합(cocktail)하여 면역 신틸그램을 얻으려는 시도가 있어왔다. Chatal등¹⁹⁾과 김등²⁰⁾은 대장직장암 환자를 대상으로 anti CEA와 anti CA19-9 단세포군 항체를 혼합한 핵제제로 시행한 방

사면역신티그램에서 각각 77%와 90.5%의 진단율을 보였다. 본 연구에서도 80%의 진단율을 보였다. 따라서 두가지 종양표식자의 단세포균 항체를 혼합하여 이용하면 암 진단율을 더욱 높일 수 있다.

이와같은 연구결과를 종합하여 볼때 종양특이 단세포균항체를 이용한 방사면역 신티그램은 종양진단의 특이도가 높으므로 종양의 예후추정 및 치료에 중요한 지표가 된다. 따라서 앞으로 더욱 많은 종양표지 항원의 발견 및 항체의 순수도를 유지함으로써 종양 진단율의 향상 및 선택적 종양치료에 이용할 수 있으리라 생각된다.

결 론

최근 2년간 가톨릭대학 의학부 부속 성모병원에서 조직생검 및 수술로 확인된 직·대장암 및 췌장암환자 8명을 대상으로 위장관종양 항원인 CEA와 CA 19-9의 단세포균 항체에 ¹³¹I을 부착한 핵제제 (IMACIS-1)를 이용하여 방사면역 신티그램을 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 두가지 항원(CEA와 CA 19-9)의 항체를 fragments F(ab)₂ 형태로 투여하여(cocktail) 예민도(80%)와 특이도(100%)를 더욱 높일 수 있다.

2) 혈중 종양표식자의 농도와 종양영상올과는 반드시 비례하지 않는다.

3) Second tracer technique을 이용한 double nuclide scintigraphy (¹³¹I과 ^{99m}Tc)를 하여 종양의 해부학적 위치를 확인할 수 있다.

4) 항체를 서서히 투여함으로써(30분) large immune complex를 형성하지 않아 세망내피계(RES)에 의해서 탐식되지 않는다.

5) 종양대 비종양의 방사능 축적비는 투여 후 7일 째에 가장 높았다.

6) SPECT 검사없이 단순 신티그램만으로도 종양 영상화가 가능하다.

REFERENCES

1) Pressman D, Keighley J: *The zone of activity of antibodies as determined by the use of radioactive tracers; the zone of a activity of nephrotoxic antikid-*

ney serum. J Immunol 50:141, 1948

2) Pressman D, Dau ED, Blau M: *The use of paired labeling in the determination of tumor localizing antibodies. Cancer Res. 17:845-859, 1957*

3) Gold P, Freedman SO: *Demonstration of tumor specific Antigens in human colonic carcinoma by immunological and adsorption technique. J Exp Med 21:439, 1965*

4) Mach JP, Carrel S, Merenda C, Sordat B, Cerroton JC: *In vivo localization of radiolabeled antibodies to carcinoembryonic antigen in humen colon carcinoma grafted in nude mice. Nature 248:704-706, 1974*

5) Goldenberg DM, Preston DF, Primus EJ, Hansen HJ: *Photoscan localization of GW-39 tumors in hamster using radiolabeled anti carcinoembryonic antigen immunoglobulin G. Cancer Res. 34:1-9, 1974*

6) Kohler G, Milstein C: *Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256:495, 1975*

7) Baum RP, Maul FD, Senekowitsch R, Lorenz M, Hottenrtl C, Happ J, Standke R, Chatal JF, Saccavipi JC, Kreigel H, Hor G: *Radioimmuno scintigraphy of CA 19-9/CEA producing tumor using ¹³¹I-labeled F(ab)₂ fragments of monoclonal antibodies (Anti CA 19-9/Anti CEA Radioimmuno-cocktail) Nuclear Medicine in Clinical oncology by Edited wickel. Sept: 197, 1987*

8) Wahl RL, Parker CW, Philpott GW: *Improved radioimaging and tumor localization with Monoclonal F(ab)₂, J Nucl Med 24:316-324, 1983*

9) Mach JP, Carrel S, Forni M, Ritschard J, Donath A, Alberto P: *Tumor localization of Radiolabelled antibody aganist carcinoembryonicantigen in patients with carcinoma. A critical evaluation. N Engl J Med 303:5, 1980*

10) Koprowski J, Steplewski E, Mitchell K, et al: *Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. Somatic cell Genet 5:957, 1979*

11) Gold P, Gold M, Freedman SO: *Cellular location of carcinoembryonic antigen of the human digestive system. Cancer Res. 28:1331-1334, 1968*

12) Rosenthal KL, Palmer JL, Harris JA: *Antibody-induced redistribution of CEA on the cell surface: utilizaiton in separation of CEA and isoantigen. A. J Immunol 115:1049-1053, 1975*

13) Gold P: *Circulating antibodies against carcinoembryonic antigens of the human digestive system.*

- Cancer* 20:1663-1667, 1967
- 14) Larson SM: *Radiolabeled Monoclonal antitumor antibodies in diagnosis and therapy. J Nucl Med* 26: 538, 1984
- 15) Goldenberg DM, Delang F, Kim EE: *Use of Radiolabeled antibodies to carcinoembryonic antigen for detection and localization of diverse cancers by external photoscanning. N Engl J Med* 298:1384, 1978
- 16) Fraker PJ, Speck JC: *Protein and cell membrane iodinations with a sparingly soluble chloramide 1, 3, 4, 6-tetrachloro-3a, 6a-diphenylglycouril. Bioche* 17: 4808-4817, 1978
- 17) Green DJ, Begent RHJ, Keep PA, Bagshawe RD: *Analysis of Radioimmuno-detection of tumors by subtraction technique. J Nucl Med* 25:96, 1984
- 18) Goldenberg DM, Sharkey RM, Ford E: *Anti-Antibody enhancement of Iodine-131 Anti-CEA Radioimmuno-detection in experimental and clinical studies. J Nucl Med* 28:1604-1610, 1987
- 19) Chatal JF, Saccavini JC, Fumoleau P, Douillard JY, Curtet C, Kremer M, Le Mevel B, Koprowski H: *Immunoscintigraphy of colon carcinoma. J Nucl Med* 25:307, 1984
- 20) 장대환, 최덕주, 이범우, 박원, 한창순, 김학산, 김종순 : 대장직장암 및 기타 소화기 암에서의 단세포군 항체를 이용한 방사면역신티그라피의 진단. 대한핵의학회지 제22권 1호, 1988