

## 농양진단을 위한 IgG-<sup>188</sup>Re 표지화합물 제조

연세대학교 임상병리학과, 원자력병원 싸이클로트로론 응용연구실\*

오옥두† · 최태현 · 임상무\*

국문초록: 농양진단을 위한 방사성표지화합물의 제조에 관한 기초실험을 수행하였다. IgG를 2-mercaptoethanol로 환원하여 분자당 1.5개의 -SH가 유도된 IgG를 얻을 수 있었다. 이것을 <sup>188</sup>Re과 표지 반응시켜 99%의 높은 표지반응수율로 IgG-<sup>188</sup>Re를 얻었으며, 여기에 인 혈청을 안정제로 가해줌으로써 1시간까지 약 90%의 방사화학적 순도를 유지할 수 있었다. 포도상구균으로 유발한 농양이식 맥서에서 IgG-<sup>188</sup>Re의 생체분포실험을 통해 농양의 진단이 가능한 것으로 확인하였다. 이상의 결과를 적용하면 여러 가지 단클론 항체의 <sup>188</sup>Re 표지화합물 제조에 적용할 수 있을 것으로 기대되었다.

### 서 론

방사선 치료방법은 방사선을 체외에서 조사(irradiation)하는 체외방법과 방사성물질을 체내에 투여하여 치료하는 체내방법으로 대별된다. 후자의 방법에서 항체를 방사성동위원소와 표지하여 이용하는 방법은 오래 전부터 연구되었다<sup>5,7,14</sup>. 체내 방사선치료의 방법을 선택하는데 있어, 신중히 고려해야 할 것은 방사성핵종의 선택<sup>8</sup>과 치료하고자 하는 종양에 대해 특이성 있는 전달수단의 선택이다. 일반적으로 정상조직과 종양조직과의 집적률 차이를 이용한 방법들이 제시되어 왔으며, 종양의 발현시 호르몬 수용체의 증가, 특이한 항원의 발현, 비정상적인 metabolism의 증가 등이 알려져 있다<sup>7,12</sup>. 특히 종양세포에서 특이하게 발현되는 항원에 대한 단 클론 항체를 개발하여 종양의 위치와 크기를 결정하는 영상분석이 임상적으로 이용되고 있다<sup>17</sup>. <sup>99m</sup>Tc은 종양 영상화 분석에 널리 사용되는 방사성동위원소로서, <sup>99</sup>Mo/<sup>99m</sup>Tc generator를 이용하여 손쉽게 얻을 수 있으며, 환원제를 이용한 각종 protein/peptides의 표지방법들이 알려져 있다<sup>4,13,19</sup>.

<sup>188</sup>Re은 <sup>188</sup>W/<sup>188</sup>Re generator를 이용하여 얻을 수 있으며, 물리화적인 반감기가 16.98시간이고,

β선의 에너지가 E<sub>max</sub> 2.12MeV (E<sub>Ave</sub> 765KeV)로 치료에 적당하며, 동시에 155KeV의 γ선을 방출하므로 진단 또한 가능하며 방사성동위원소와 항원-항체 반응을 이용한 방사면역치료 (radioimmunotherapy)에서도 <sup>188</sup>Re은 큰 장점이 있는 것으로 알려져 있다<sup>9</sup>. 방사면역치료에 주로 사용되었던 방사성동위원소인 <sup>131</sup>I (β선; E<sub>max</sub> 0.6MeV)는 낮은 베타선 에너지를 가지며, <sup>90</sup>Y (β선; E<sub>max</sub> 2.2 MeV)는 체내 투여시 골 조직에 흡착되는 등의 단점이 있는 것으로 알려져 있다<sup>9</sup>.

<sup>188</sup>Re의 화학적인 성질을 보면 주기율표의 7A 족에 속하고 0~+7가의 다양한 산화상태를 가져 같은 족에 속하는 <sup>99m</sup>Tc와 유사한 성질을 가진다. 그러나 -NH<sub>2</sub>, -SH, -COOH 등과 같은 유기 리간드와 결합하여 chelate를 형성하기 위해서는 +7가 이하의 산화상태를 가져야만 하는 것으로 알려져 있다. <sup>188</sup>Re이 protein과 결합하기 위해서는 S-S bond를 가지는 protein을 환원시켜 -SH (sulfhydryl 기)를 만들고<sup>5,20</sup>, +7가인 산화상태를 +4 또는 +5로 환원시켜야 한다<sup>8,9</sup>. 또한 사람의 비특이 IgG를 <sup>99m</sup>Tc와 표지하여 체내에 투여하면 염증병소에 집적되는데, 그 집적원리는 염증세포의 Fc 수용체에 IgG의 Fc 부위가 결합하는 것으로 알려져 있다<sup>1,2,3</sup>.

본 실험에서는 <sup>99m</sup>Tc와 유사한 성질을 가진 <sup>188</sup>Re을 human IgG에 표지시키기 위하여 먼저 IgG를 환원시켜 -SH기를 유발시키고, Ellman's reaction을 통하여 유발된 -SH기의 개수를 결정하

\* 논문접수 1997년 10월 27일, 수정재접수 1997년 12월 22일

† 별책요청저자

였다. 그리고 -SH기가 유발된 IgG와  $^{188}\text{Re}$ 과 표지시키기 위하여, -SH기가 유발된 IgG를  $^{188}\text{Re}$ 과 섞고 환원제인 stannous ion을 가하여 IgG- $^{188}\text{Re}$ 을 제조하였다. 또한 제조된 IgG- $^{188}\text{Re}$ 의 안정성을 In vitro에서 실험하였으며, *Staphylococcus aureus* 유발 농양을 이식한 백서에서 그 생체분포 실험을 통해 농양진단을 위한 기초를 확립하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 환원된 IgG의 제조 실험

Ar purging한 재증류수로 10mM PBS buffer를 만들고, 여기에 nonspecific human IgG (Sigma Co.)를 10mg/ml의 농도가 되게 녹여 24시간동안 4℃에 보관하면서 사용하였다. IgG의 S-S 결합을 환원시키기 위해 환원제인 2-mercaptoethanol (2-ME)에 대한 IgG의 물비가 1000:1 이 되도록 하여 4℃에서 10분간 반응시켰다. 반응이 끝난 용액을 Centricon-30 (Amicon Div.)에 넣고 5,000 ×g로 15분간 원심분리한 후, acetate buffered saline (ABS, pH5.3)을 가하여 다시 원심분리하였다. 이와 같은 ABS를 가하는 과정을 4~5회 반복 교환하여 원심분리하여 줌으로서 최종 용액의 액성이 pH5.3이 되게 하여 주었다. 이와 같이 얻은 환원된 IgG를 100μl씩 소분하여 -70℃로 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 2. 환원된 IgG의 농도 측정

IgG 10mg/ml가 되게 만든 용액을 5mg/ml와 1mg/ml가 되게 희석한 다음, 이들을 다시 각각 10배 희석한 용액들을 만들어 표준물질로 사용하였다. 이들 용액들의 280nm에서의 흡광도를 UV분광기에서 측정하여 표준곡선을 작성하였다. 환원된 IgG를 10배 희석한 후, 280nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선에 적용함으로써 환원된 IgG의 농도를 측정하였다.

### 3. 환원된 IgG에서 -SH개수 결정 실험

2-Mercaptoethanol에 의해 환원된 IgG당 -SH기의 개수를 확인하기 위하여 Ellman's reaction<sup>13)</sup>을 적용하였다. 이 반응은 DTNB (5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoic acid))가 -SH와 반응하여 5-mercapto-2-nitrobenzoic acid를 만듦으로서 발생하는 발색 정도를 측정함으로써 -SH기를 측정할 수 있다.

표준물질로 L-cysteine을 0.0125~0.1mM의 농도가 되게 만들고 이들 용액에서 각각 50μl씩 분취한 다음 DTNB (2mg/ml) 50μl와 섞고 다시 0.1M phosphate buffer 200μl를 가하고 실온에서 15분간 반응하였다. 반응이 끝난 용액들을 UV분광기에서 412nm에서의 흡광도를 측정하여 표준곡선을 작성하였다. 앞의 반응에서 L-cysteine 대신 환원된 IgG를 가하여 DTNB와 반응하게 한 용액에 대한 412nm에서의 UV흡광도를 측정하여 표준곡선에 적용함으로써 -SH기의 숫자를 결정하였다.

### 4. IgG- $^{188}\text{Re}$ 의 제조 실험

Stannous tartrate 50mg을 4ml의 ABS (pH 5.3)에 녹인 후, 진한 염산을 사용하여 pH 3-4가 되게 하고 전체부피가 5ml되게 하였다. 이 용액을 다시 0.22μm filter로 여과하여 반응에 사용하였다. 환원된 IgG 100μl에 stannous tartrate용액 (10mg/ml) 100μl을 넣고, perrhenate 300μl (<5mCi)를 넣은 다음, 4℃에서 30분간 반응시켰다. 여기에 포화 NaHCO<sub>3</sub> 수용액 10μl를 가해 반응을 정지시킨 후, 표지반응용액을 PD-10 column에 넣고 0.1% BSA함유 10mM PBS (pH 7.4)로 용출시켜 IgG- $^{188}\text{Re}$ 을 얻었다.

이때 표지반응 수율을 결정하기 위하여, Gelman Science Inc.의 ITLC-SG에 표지반응시료를 점적하고 acetone으로 전개하는 방식크로마토그래피를 실시하여 IgG- $^{188}\text{Re}$ 의 표지반응액에서 미반응의 perrhenate의 양을 백분율로 결정하였다. 또한 표지반응 생성물에서 콜로이드의 양을 확인하기 위하여 2.5% BSA를 chromatography용 paper에 점적한 후 생리식염수로 전개시켜 콜로이드의 백분율량을 결정하고, 앞에서 결정된 perrhenate의 양과 합하여 IgG- $^{188}\text{Re}$ 의 표지반응수율을 결정하였다.

### 5. IgG- $^{188}\text{Re}$ 의 체외 안정성 실험

IgG- $^{188}\text{Re}$ 용액 1ml에 인 혈청 4ml를 섞은 다음, 37℃ 항온유지하면서 1시간, 4시간, 16시간, 24시간 간격으로 시료를 취하여 HPLC (Waters Co.)를 실시하였다. 이때 TSK-GEL 4000 column을 사용하였으며, PBS (pH 7.4)를 용출액으로 사용하여 용출속도 0.7ml/min으로 용출시켰다. 이때 방사능검출기는 Steffi사의 Raytest (NaI detector)를 사용하였으며, U.V. 검출기를 사용하였다. 이들 두 검출기를 동시에 적용하여 chromatogram을 얻어

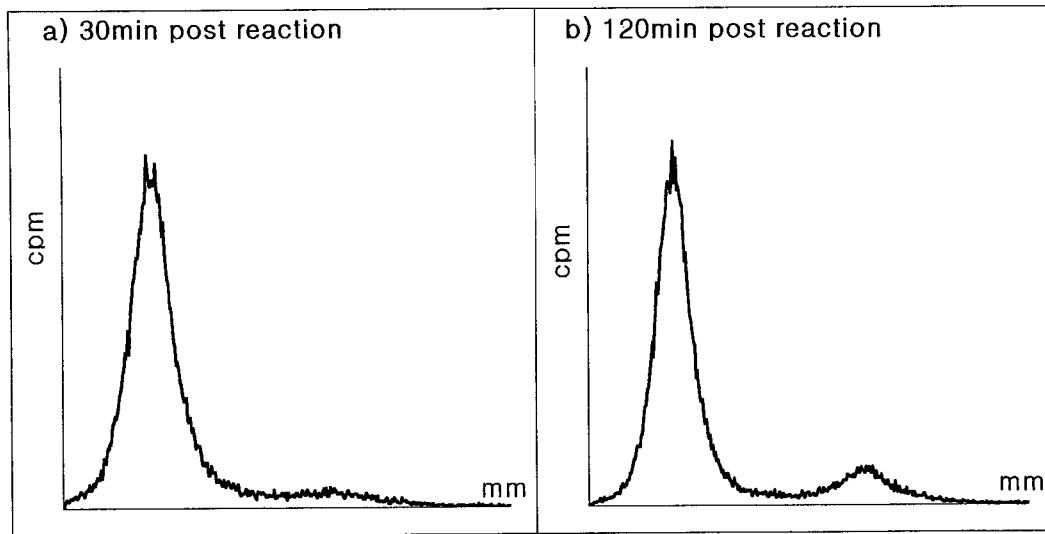


Fig. 1. ITLC-SG chromatogram of  $^{188}\text{Re}$ -IgG reaction mixture developed with acetone.

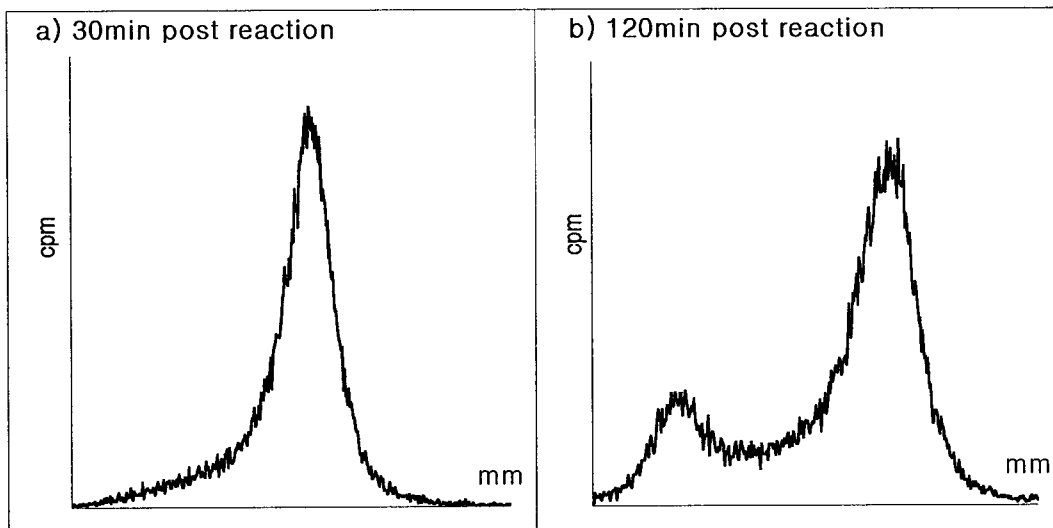


Fig. 2. Paper chromatogram of  $^{188}\text{Re}$ -IgG reaction mixture developed with saline.

방사 화학적 순도를 결정하였으며, UV분광기에서 적용된 파장은 280nm이었다. 방사능검출기를 이용한 방사크로마토그램에서 피크면적을 환산하여 방사화학적 순도를 구하였다. 이와같이 얻은 방사화학적 순도를 비교하여  $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ 의 체외 안정도를 확인하였다.

#### 6. $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ 의 농양 이식 백서에서의 생체분포 실험

포도상 구균 (*S. aureus* ATCC 25923)을 맥팔란

트 탁도로 맞추어 이 세균이 약  $2 \times 10^{10}$ 개/200 $\mu\text{l}$  생리식염수액이 되게 만들고, 이 용액을 Sprague Dowley Rats의 왼쪽 허벅지 근육에 주사한 다음 24~48시간 경과되게 하여 농양이 이식된 백서를 준비하였다. 이와 같이 준비된 실험동물에  $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ 액 100 $\mu\text{Ci}/200\mu\text{l}$ 씩을 꼬리정맥 주사를 한 후 4시간과 24시간 간격으로 농양이식 백서 (n=3)를 도살하고 각 장기들을 적출하여 장기들의 무게와 이들의 방사능을 계측하여 % injected dose/gram tissue (%I.D./g · tissue)를 환산하

였다. [ $^{188}\text{Re}$ ]Perrhenate와  $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ 을 농양이 이식되지 않은 정상백서 ( $n=3$ )에  $100\mu\text{Ci}/100\mu\text{l}$ 씩 주사 후 24시간에서의 생체분포실험을 수행하여 서로 비교하였다.

## 결 과

### 1. 환원된 IgG의 제조

$\text{IgG}$ 의 환원에 의한  $-\text{SH}$ 를 유발하기 위하여 환원제로서 2-mercaptoethanol을 사용하였다. 환원된  $\text{IgG}$ 용액의 농도를 결정하는 UV분광기를 이용한 실험에서는  $7\text{mg/ml}$ 의 농도를 나타내었다.

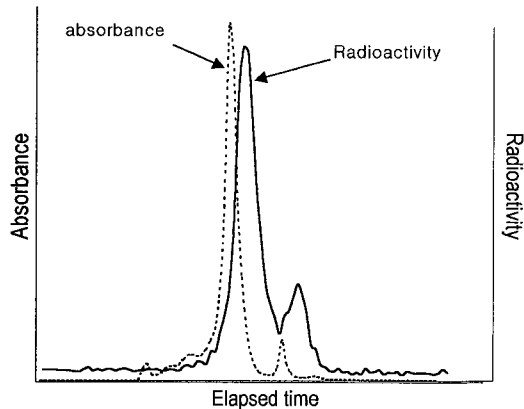


Fig. 3. Typical high performance liquid chromatogram of  $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ .

또한 환원된  $\text{IgG}$ 에서  $-\text{SH}$ 의 개수를 결정하기 위해 Ellman's reaction을 이용하였으며, 그 결과  $\text{IgG}$  한 분자당  $-\text{SH}$ 기의 개수는 약 1.5개가 생성된 것으로 확인되었다.

### 2. $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ 의 제조 및 체외 안정성

반응혼합물을 반응시간별 (30분, 2시간)로, ITLC-SG와 paper chromatography를 실시하여 그 표지반응수율을 결정하였다. 그 결과 반응시간 30분에서는 콜로이드가 형성되지 않았으며, [ $^{188}\text{Re}$ ]perrhenate 또한 1% 이하로 관찰되어  $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ 의 표지수율이 99% 이상임을 확인하였다 (Fig. 1.a, Fig. 2.a). 반응시간 2시간에서는 [ $^{188}\text{Re}$ ]perrhenate가 14%, 콜로이드가 24%로 관찰되어 표지반응수율이 62%임을 확인하였다 (Fig. 1.b, Fig. 2.b).

$\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ 의 체외 안정성 보기 위하여 HPLC로 그 방사화학적 순도를 결정하여 본 결과 (Fig. 3),  $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$  용액에 인 혈청을 가한 경우 한시간 경과 후 까지 약 90% 이상의 방사화학적 순도를 보였으나 (Table 1), 인 혈청을 가하지 않으면 30분만 경과되어도  $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ 의 방사 화학적 순도가 약 80% 정도로 감소되었다.

### 3. $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ 의 농양 이식 백서에서의 생체분포

포도상구균을 이식한 백서에  $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$ 을 주사하고 각 장기를 적출하여  $\% \text{I.D./g.tissue}$ 값을 Fig. 4에 나타내었다. 또한 control로 포도상 구균을 이

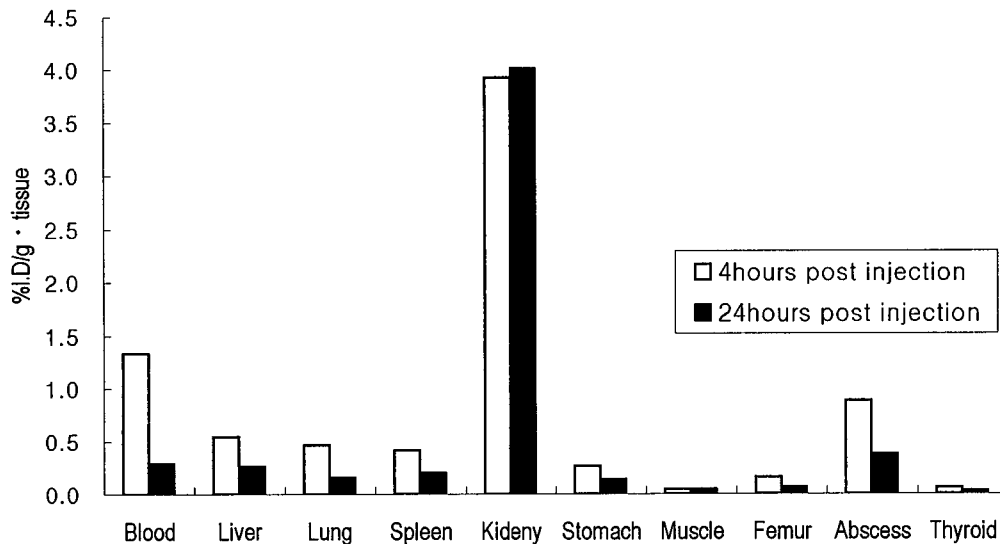


Fig. 4. Biodistribution of  $\text{IgG-}^{188}\text{Re}$  in abscess bearing rats.

**Table 1.** Radiochemical purity of IgG-<sup>188</sup>Re

Elapsed time	IgG- <sup>188</sup> Re (%) [ <sup>188</sup> Re] Perrhenate (%)	
10 min	92.63	7.37
1 hrs	87.78	12.22
2 hrs	83.70	16.30
4 hrs	74.85	25.15
8 hrs	62.72	37.28
16 hrs	49.11	50.89
24 hrs	43.53	56.47

식하지 않은 정상백서에 [<sup>188</sup>Re]perrhenate와 IgG-<sup>188</sup>Re를 주사하고 24시간 경과 후 장기별 분포를 Table 2에 나타내었다.

## 고 찰

Mercaptoethanol을 환원제로 사용하여 -SH가 유도된 IgG의 활성을 최대한 유지하기 위해서는 IgG 한 분자당 -SH의 개수가 1-2개 정도이어야 한다는 보고<sup>9)</sup>가 있어 mercaptoethanol의 양을 조절함으로써 IgG 한 분자당 1.5개의 -SH가 유도된 IgG를 얻어 <sup>188</sup>Re과 표지반응을 시켰다.

단백질의 방사성동위원소 표지조건에서 pH는 중요한 요건이다. 일반적으로 stannous ion을 환원제로 사용할 경우 낮은 pH 조건에서는 콜로이드의 생성이 작아 안정된 표지수율을 보이지만, IgG의 활성손상이 예상된다. 따라서 본 실험에서는 pH 3-4의 액성에서 IgG의 <sup>188</sup>Re 표지반응을 수행하여 약 99%의 높은 표지수율을 얻을 수 있었다. 단백질에 <sup>99m</sup>Tc, <sup>111</sup>In, <sup>188</sup>Re 등과 같은 방사성 동위원소를 표지하는 방법으로는 직접표지법, bi-functional chelate법, prelabelled ligand법 등이 주로 이용되고 있다. 직접표지법은 간단하나, 면역활성과 안정성에서 불규칙성의 단점을 가지며, bi-functional group을 단백질과 반응시켜 방사성동위원소로 표지하는 방법은 실험과정에 단백질의 활성이 손상되는 단점이 있다. 활성 기능을 가진 화합물에 방사성동위원소를 먼저 표지시키고, 이 활성기를 가진 표지화합물을 다시 단백질과 반응시켜 단백질의 표지화합물을 만드는 prelabelled ligand는 활성손상이 비교적 적으며 높은 비방사능의 표지화합물을 얻을 수 있다는 장점은 있으나, 실험에 많은 단계를 거쳐야 하므로 번거로운 단점이 있다.

**Table 2.** Biodistribution of [<sup>188</sup>Re]perrhenate and IgG-<sup>188</sup>Re in normal rat

Organ	Unit; % I.D./g · tissue (n=3)	
	[ <sup>188</sup> Re]Perrhenate	IgG- <sup>188</sup> Re
Blood	0.017±0.004	0.317±0.012
Liver	0.037±0.001	0.294±0.031
Lung	0.022±0.007	0.164±0.016
Spleen	0.013±0.004	0.188±0.024
Kidney	0.025±0.007	3.998±0.198
Stomach	0.215±0.109	0.149±0.055
Muscle	0.007±0.002	0.032±0.009
Femur	0.014±0.004	0.057±0.008
Thyroid	0.002±0.006	0.025±0.014

본 실험에서 사용한 방법은 직접표지법으로 IgG를 mercaptoethanol을 사용하여 환원시킴으로써 -SH기가 유도된 IgG를 만들어 <sup>188</sup>Re을 표지하였다. 이 방법은 IgG를 mercaptoethanol로 환원시킴에 따라 야기되는 활성손상은 낮은 F<sub>(ab)2</sub> 분절로 인한 것으로 알려져 있다<sup>8)</sup>. 고전적으로 <sup>99m</sup>Tc이나 <sup>188</sup>Re을 환원시키는 환원제로 stannous chloride의 사용이 일반적이거나, 반응도중 또한 보관중에 colloid 형성이 관찰되는 것으로 보고되고 있다<sup>15)</sup>. 이를 극복하는 방법으로 hydroxycarboxylic acid인 gluconic acid, tartaric acid, citric acid 등의 첨가가 효과적인 것으로 알려져 있다<sup>16)</sup>. 따라서 본 실험에서는 stannous ion을 가지며 동시에 tartrate가 있는 stannous tartarate를 stannous chloride 대신 환원제로 사용하였다.

IgG-<sup>188</sup>Re의 체외 안정성이 매우 낮아 이를 높이기 위하여 안정제로서 혈액의 주성분인 인 혈청을 선택하여 실험하였다. 인 혈청은 체내투여시 인체에 아무런 장애도 주지 않아 효과적인 안정제로 생각하였다. 인 혈청을 IgG-<sup>188</sup>Re용액에 첨가함으로써 약 1시간까지는 90% 이상의 방사화학적 순도를 보여 비교적 우수한 안정제로 생각하였다. 그러나 이 보다 효과적인 IgG-<sup>188</sup>Re의 안정제를 찾기 위한 실험을 계속하여야 할 것으로 토의하였다.

포도상구균으로 농양을 유발시킨 뒤 주입 후 4시간 경과한 장기 분포에서는 신장, 혈액, 농양순으로 높았으며, 24시간 경과에서는 신장 다음으로 농양에서 높은 % I.D./g.tissue를 보였다. 농양 대 혈액의 방사능비는 4시간에서는 0.67이고,

24시간에서 1.29로 나타났다. 이상의 결과를 종합하면, 신장 이외에서 농양이 있을 경우 농양의 진단이 가능함을 제시해 준다. 사람의 비특이 IgG과 albumin을  $^{99m}\text{Tc}$ 와 같은 방사성동위원소로 표지하여 농양부위에 대한 집적을 보았을 때, IgG의 표지화합물이 알부민의 표지화합물보다 높은 집적을 보이는 것은 IgG의 경우 혈류의 증가나 모세혈관의 투과성 증가외에, Fc분절이나 IgG가 병원균과 염증세포의 Fc수용체에 결합하는 기전에 의한 것으로 보는 견해가 많다<sup>3)</sup>. 그리고 IgG가 mercaptoethanol에 의해 환원되어 생긴 F(ab)<sub>2</sub>분절이 생길 수 있어 이것이  $^{188}\text{Re}$ 과 표지된 표지화합물이 신장으로의 집적이 높을 것으로 생각된다. 또한 [ $^{188}\text{Re}$ ]perrhenate에 비해 IgG- $^{188}\text{Re}$ 이 신장에서 집적율이 높은 현상 (Table 2)은 IgG의 생물학적 반감기가 20~22시간으로 IgG가  $^{188}\text{Re}$ 과 표지되었다 하더라도 22시간까지는 약 절반밖에 체외로 배설되지 않아 상당량이 체내에 잔류하게 됨에 따라 나타나는 현상으로 보인다. 그리고 사람의 IgG를 백서의 면역체계에서 외부항원으로 인식되어 enzyme과 면역세포 등에 의한 분해가 복합적으로 이루어져 신장으로 집적이 높게 나타난 것으로 생각된다.

이상과 같이, IgG를 mercaptoethanol로 환원하여 IgG 한 분자당 1.5개의 -SH가 유도된, 면역 활성이 최대한 유지될 것으로 기대되는, 환원된 IgG를 얻을 수 있었다. 이것을  $^{188}\text{Re}$ 과 표지반응시켜 99%의 높은 표지반응수율로 IgG- $^{188}\text{Re}$ 을 얻었으며, 여기에 인 혈청을 안정제로 가해줌으로써 1시간까지 약 90%정도의 방사 화학적 순도를 가지게 유지할 수 있었다. 포도상구균으로 농양을 유발한 백서에서 IgG- $^{188}\text{Re}$ 의 생체분포실험을 통해 농양의 진단이 가능할 것으로 보였다. 또한 이상의 결과를 여러 가지 단클론 항체의  $^{188}\text{Re}$  표지화합물 제조에 적용할 수 있다는 기초 실험 결과를 얻었다.

## 참 고 문 헌

1. 김덕윤 외 6인 (1991): I-131 표지 IgG를 이용한 염증진단의 실험적 연구. 대한핵의학회지, **25**: 259-265.
2. 오옥두 외 5인 (1992):  $^{123}\text{I}$ ,  $^{99m}\text{Tc}$  사람 비특이 IgG 및  $^{67}\text{Ga}$ -Citrate의 실험동물에서의 염증병소 섭취율의 비교. 대한핵의학회지, **26**(1) 별책.
3. 임상무 외 4인 (1995):  $^{123}\text{I}$ ,  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$  표지 사람 비특이항체와  $^{111}\text{In}$  Oxine 표지 혈구의 포도상구균 농양유발 백서에서의 동태비교. 대한핵의학회지, **29**(1) 별책.
4. Alauddin et al. (1992): An Improved Method of Direct Labeling Monoclonal Antibodies with  $^{99m}\text{Tc}$ . *Nucl Med Biol*, **19**: 445-454.
5. Goldenberg et al. (1995): Cancer Therapy with Radiolabeled Antibodies. *CRC Press Inc*.
6. Goldrosen et al. (1990): Biodistribution, Pharmacokinetic, and Imaging Studies with  $^{186}\text{Re}$ -labeled NR-LU-10 Whole Antibody in LS174T Colonic Tumor-bearing Mice. *Can Res*, **50**: 7973-7978.
7. Gopal et al. (1975): Radiopharmaceuticals. *The Society of Nuclear Medicine, Inc*. New York
8. Griffiths et al. (1991): Direct Radiolabeling of Monoclonal Antibodies with Generator-produced Rhenium-188 for Radioimmunotherapy: Labeling and Animal Biodistribution Studies. *Can Res*, **51**: 4594-4602.
9. Griffiths et al. (1994): Technetium-99m, Rhenium-186, and Rhenium-188 Direct-Labeled Antibodies. *Cancer*, **73**: 3 supp.
10. Hnatowich et al. (1987): Investigation of Avidin and Biotin for Imaging Applications. *J Nucl Med*, **28**: 1294-1302.
11. Jeong et al. (1994): Application of High Affinity Binding Concept to Radiolabel Avidin with Tc-99m Labeled Biotin and the Effect of pI on Biodistribution. *Nucl Med Biol*, **21**: 935-940.
12. Kubota et al. (1993): Cellular accumulation of  $^{18}\text{F}$ -labelled boronophenylalanine depending on DNA synthesis and melanin incorporation: a double-tracer microautoradiographic study of B16 melanomas in vivo. *Br J Cancer*, **67**: 701-705.
13. Mather et al. (1990): Reduction-Mediated Technetium-99m Labeling of Monoclonal Antibodies. *J Nucl Med*, **31**: 692-697.
14. Pettit et al. (1980): Radiolabeling of Affinity-purified Goat Anti-Carcinoembryonic Antigen Immunoglobulin G with Technetium-99m. *Can Res*, **40**: 3043-3045.
15. Pettit et al. (1980): Improved Protein Labeling

- By Stannous Tartrate Reduction of Pertechnetate.  
*J Nucl Med*, **21**: 59-62.
16. Russell et al. (1980): Complexes of Technetium Hydroxycarboxylic Acids: Gluconic, Glucohep- tonic, Tartaric, and Citric. *J Nucl Med*, **21**: 1086-1090.
  17. Sampson (1994): Text book of Radiopharmacy Theory and Practice. Gordon and Breach Science Publishers.
  18. Sykes et al. (1997): Radiolabeling of Mono- clonal Antibody B43.13 with Rhenium-188 for Immunoradiotherapy. *Appl Radiat Isot*, **48**: 899-906.
  19. Yoo et al. (1997): Technetium-99m Labeling and Biodistribution of Anti-TAC Disulfide-Stabilized Fv Fragment. *J Nucl Med*, **38**: 294-300.
  20. Yoshihara et al. (1996): Technetium and Rhen- ium Their Chemistry and Its Applications. *Springer-Verlag* Berlin Heidelberg.

**=Abstract=**

**Preparation of IgG-<sup>188</sup>Re Conjugate for Diagnosis of Abscess**

**Ok-Doo Awe<sup>†</sup>, Tae-Hyun Choi and Sang-Moo Lim\***

*Department of Medical Technology Science, College of Health Science,  
Yonsei University, Maeji-ri, Hungup-myun, Wonju, Kangwon-do, Korea*

*\*Korea Cancer Center Hospital, 215-4, Gongneung-dong, Nowon-ku, Seoul, Korea*

IgG-<sup>188</sup>Re conjugate was prepared for the diagnosis of abscess. The IgG molecules reduced by 2-mercaptoethanol contained 1.5 free sulfhydryl groups per IgG molecule. The reduced IgG molecule was labelled with <sup>188</sup>Re through chelate to 99% of labelling yield. The radiochemical purity of IgG-<sup>188</sup>Re conjugate was maintained at 90% in the presence of human serum for 1 hour.

The IgG-<sup>188</sup>Re was intravenously administered into staphylococcal abscess-bearing rats and their biodistribution was monitored at 4 and 24 hours post injection. The IgG-<sup>188</sup>Re conjugate was moderately localized in the abscess tissue. This result implies that the IgG-<sup>188</sup>Re conjugate can be a tool for abscess diagnosis. This technique can be applied for the preparation of various monoclonal antibody labelled with <sup>188</sup>Re.

**Key Words:** IgG-<sup>188</sup>Re, Stannous tartrate, Diagnosis of abscess, <sup>188</sup>Re chelate

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 3(2): 131-138, December, 1997]

---

<sup>†</sup> Corresponding author