

## Re-188과 Tc-99m 표지 단일클론항체 CEA79.4의 생체외 특성과 생체내 분포

서울대학교 의과대학 핵의학교실,<sup>1</sup> 암연구소,<sup>2</sup> 방사선의학연구소,<sup>3</sup> 이화여자대학교 약학대학<sup>4</sup>  
홍미경<sup>1,3</sup> · 정재민<sup>1,3</sup> · 여정석<sup>1</sup> · 김경민<sup>1</sup> · 장영수<sup>1,3</sup> · 이용진<sup>1,2</sup>  
이동수<sup>1,3</sup> · 정준기<sup>1,2</sup> · 이명철<sup>1,3</sup> · 이승진<sup>4</sup>

### In Vitro Properties and Biodistribution of Tc-99m and Re-188 Labeled Monoclonal Antibody CEA79.4

Mee Kyoung Hong, B.S.,<sup>1,3</sup> Jae Min Jeong, Ph.D.,<sup>1,3</sup> Jeong Seok Yeo, M.D.,<sup>1</sup> Kyung Min Kim, M.D.,<sup>1</sup>  
Young Soo Chang, M.S.,<sup>1,3</sup> Yong Jin Lee, M.S.,<sup>1,2</sup> Dong Soo Lee, M.D.,<sup>1,2</sup> June-Key Chung, M.D.,<sup>1,2</sup>  
Myung Chul Lee, M.D.,<sup>1,3</sup> and Seung Jin Lee, Ph.D.<sup>4</sup>

*Department of Nuclear Medicine,<sup>1</sup> Cancer Research Institute,<sup>2</sup> Institute of Radiation Medicine,<sup>3</sup>  
Seoul National University College of Medicine, Ewha Womans University College of Pharmacy,<sup>4</sup> Seoul, Korea*

#### Abstract

**Purpose:** Radiolabeled CEA79.4 antibody has a possibility to be used in radioimmunosciintigraphy or radioimmunotherapy of cancer. We investigated the in vitro properties and biodistribution of CEA79.4 antibody labeled with Re-188 or Tc-99m. **Materials and Methods:** CEA79.4 was reduced by 2-mercaptoethanol to produce-SH residue, and was labeled with Re-188 or Tc-99m. For direct labeling of Tc-99m, methylene-diphosphonate was used as transchelating agent. CEA79.4 in 50 mM Acetate Buffered Saline (ABS, pH 5.3) was labeled with Re-188, using stannous tartrate as reducing agent. In order to measure immunoreactivity and the affinity constant of radiolabeled antibody, cell binding assay and Scatchard analysis using human colon cancer cells SNU-C4, were performed. Biodistribution study of labeled CEA79.4 was carried out at 1, 14 and 24 hr in ICR mice. **Results:** Labeling efficiencies of Tc-99m and Re-188 labeled antibodies were  $92.4 \pm 5.9\%$  and  $84.7 \pm 4.6\%$ , respectively. In vitro stability of Tc-99m-CEA79.4 in human serum was higher than Re-188-CEA79.4. Immunoreactivity and affinity constant of Tc-99m-CEA79.4 were 59.2% and  $6.59 \times 10^9 M^{-1}$ , respectively, while those of Re-188-CEA79.4 were 41.6% and  $4.2 \times 10^9 M^{-1}$ , respectively. After 24 hr of administrations of Re-188 and Tc-99m labeled antibody, the remaining antibodies in blood were 6.32 and 9.35% ID/g respectively. The biodistribution of each labeled antibody in other organs was similar because they did not accumulate in non-targeted organs. **Conclusion:** In vitro properties and biodistribution of Re-188-CEA79.4 were similar to those of Tc-99m-CEA79.4. It appears that Re-188-CEA79.4 can be used as a suitable agent for radioimmunotherapy. (Korean J Nucl Med 1998;32:6:516-24)

**Key Words:** Direct labeling method, Re-188, antibody, Radioimmunotherapy, Generator, Immunoreactivity, Affinity constant

Received Sep. 15, 1998; revision accepted Nov. 26, 1998

Corresponding Author: Jae Min Jeong, Ph.D., Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, 28 Yunkun-Dong Chongno-Ku, Seoul 110-744, Korea, Tel: (02) 760-3805, Fax: (02) 745-7690, E-mail: jmjng@snu.ac.kr

※ 이 논문은 원자력 중장기 연구개발사업 연구비의 지원을 받았음.

## 서 론

핵의학에서 단일클론항체를 종양 병소를 표적하는 수단으로 사용하고 있다. 감마선 방출핵종을 항체에 표지하여 방사면역신티그라피에 사용하며, 알파 혹은 베타입자 방출핵종을 표지하여 방사면역치료에 사용한다. 방사면역신티그라피와 치료에서 중요한 것은 특이성이 높은 항체와 목적에 적당한 물리적 특성을 가진 방사성 핵종이다. 현재 영상진단에 사용되는 방사성 핵종으로는 Tc-99m이 특성상 단연 우수하며, 여러 가지 단일클론항체에 표지하여 종양 등의 진단에 임상적으로 이용되고 있다.<sup>1-5)</sup> 또한 방사면역치료에 단일클론항체를 적용하고자 많은 연구가 진행되고 있다.<sup>6)</sup> 치료에 적당한 베타선을 방출하는 방사성 핵종으로는 iodine-131 (I-131), yttrium-90 (Y-90), rhenium-186 (Re-186), rhenium-188 (Re-188) 등이 있다. I-131은 베타에너지( $E_{\beta\max}=0.6$  MeV)가 낮아 치료목적으로는 많은 양을 사용하여야 한다. 또한 높은 감마 에너지( $E_{\gamma}=364$  keV) 때문에 불필요한 피폭이 많아지는 문제점이 있다. Y-90 ( $E_{\beta\max}=2.2$  MeV)의 경우에는 양기능성 착화제인 DTPA를 사용하여 표지하기 때문에 표지 과정이 복잡하다. 또한 Y-90 표지항체는 종양의 섭취율과 잔류율이 iodine 표지항체 만큼 높기는 하지만 뼈에 집적되어 골수억제를 일으킬 수 있다는 단점이 있다.<sup>6)</sup>

Re-186은 치료용으로 적당한 물리적 성질을 갖고 있으나 원자로에서 생산되며 담체가 포함되어 있다.<sup>7)</sup> Re-188은 높은 에너지의 베타선( $E_{\beta\max}=2.12$  MeV)과 영상화에 적당한 감마선( $E_{\gamma}=155$  keV (15%))을 방출하여 치료효과와 영상을 동시에 얻을 수 있는 장점이 있다. Re-188은 tungsten-188/rhenium-188 (W-188/Re-188) 발생기로부터 무담체로 쉽게 얻을 수 있으며 Tc-99m과 같은 족으로 화학적 성질이 비슷하여 항체에 표지하는데 효과적이다. 이미 개발된 Tc-99m 표지방법을 이용하여 항체에 Re-188을 직접 표지하거나 양기능성 착화제를 항체에 붙인 후 표지하는 간접법으로 표지할 수 있다.<sup>12,13)</sup> 최근 Re-188은 방사면역치료에 응용할 수 있는 방

사성핵종으로 주목받고 있으며<sup>8,9)</sup> 많은 연구자들에 의해 Re-188 표지항체에 대한 연구가 진행되고 있다. Griffiths 등<sup>10,11)</sup>은 단일클론항체에 Re-188을 직접 표지하는 방법을 발표하였으며, Gog 등<sup>12)</sup>은 양반응성 착화제인  $MAG_3$ 를 사용하여 간접법으로 표지한 Re-188 표지항체의 체외, 체내 특성을 보고하였다. 직접법을 이용한 경우에는 높은 비방사능을 갖는 Re-188 표지항체를 얻을 수 있는 장점이 있다. 그러나 Re-188은 원소의 특성상 Tc-99m 보다 반응성이 떨어지며 많은 양의 환원제가 필요하다.

표지에 사용된 항체 CEA79.4는 CEA에 대한 단일클론항체로서 사람의 과립구 세포막 및 세포질에 정상적으로 발현하는 NCA-95와 결합하는 성질을 가지고 있다. Tc-99m을 표지한 CEA79.4는 골수성 백혈병이나 림프종의 방사면역신티그라피에 이용할 수 있다.<sup>5,14)</sup> 따라서 Re-188-CEA79.4 표지항체를 이들 질병의 방사면역치료에 이용할 수 있을 것으로 생각한다.

우리는 Re-188 표지항체의 직접표지법을 연구하고, 표지과정을 단순화시켜 Re-188 perrhenate만을 첨가하여 표지가 가능한 방법을 개발하였다. 이 연구에서 Re-188 표지항체의 체외와 체내에서의 특성을 직접법으로 표지한 Tc-99m 표지항체와 비교하고자 하였다.

## 대상 및 방법

Tc-99m와 Re-188의 표지를 위해 서울대학교 의과대학 생화학교실에서 만든 CEA79.4 단일클론항체를 사용하였다. Tc-99m pertechnetate는 Amersham과 DUPONT사의 Mo-99/Tc-99m 발생기에서 얻었으며 Re-188 perrhenate는 Oak Ridge National Laboratory (USA)의 W-188/Re-188 발생기에서 얻었다. 표지방법은 항체를 환원하여 생성시킨 SH-기에 방사성핵종을 직접 붙이는 직접표지법을 사용하였다. 표지효율은 박층크로마토그래피를 시행한 후 TLC 스캐너(Imaging Scanner System 200, Bioscan)로 판독하여 측정하였다.

1. Tc-99m 항체의 표지

Tc-99m 항체의 표지는 이전에 보고한 바 있는 직접 표지법을 이용하였다.<sup>5)</sup> β-mercaptoethanol로 환원시킨 항체를 PD-10 칼럼을 이용하여 phosphate buffered saline (PBS, pH 6.5)으로 정제하였다. 환원시킨 항체를 0.5 mg씩 바이알에 분주하고 질소 가스를 충전하여 -70℃에 냉동 보관하여 사용하였다. 리간드 교환반응을 수행하기 위해 Amersham사의 methylene-diphosphonate (MDP) 키트 바이알을 사용하였다. MDP 바이알을 생리식염수 5 mL을 가해 녹이고 그 중 300 μl를 취하여 앞에서 환원시킨 항체의 바이알에 넣어주고 10~20 mCi (370~740 MBq)/1 ml의 Tc-99m pertechnetate를 넣어 실온에서 30분간 반응시켜 표지하였다.

2. Re-188 항체의 표지

항체의 환원은 β-mercaptoethanol을 사용하고 PD-10 칼럼을 이용하여 50 mM acetate buffered saline (ABS, pH 5.3)으로 buffer를 교환하였다. 환원된 항체를 0.5 mg씩 분주하고 질소 가스를 충전하여 -70℃에 냉동보관하여 사용하였다. Re-188의 환원제로는 stannous tartrate (1/9=tin/tartrate molar

ratio)를 제조하여 사용하였다. Re-188의 항체 표지는 환원된 항체 바이알을 실온에서 녹여 stannous tartrate를 농도별(140~1500 μg)로 가하고 반응시간에 따라 표지효율을 보았다. Fig. 1과 2의 결과에 따라 stannous tartrate 700 μg과 2~5 mCi (74~185 MBq)/2 ml의 Re-188 perrhenate를 가하고 실온에서 1시간동안 반응하여 표지하였다. 표지한 항체를 PD-10 컬럼으로 분리하여 여러 가지 체외검사를 실시하였다.

3. 표지효율 측정

항체의 표지효율은 박층크로마토그래피를 시행하고 TLC 스캐너를 이용하여 측정하였다. Tc-99m 표지항체는 고정상으로 ITLC-SG를 이용하여 아세톤 (Acetone)과 생리식염수를 전개용매로 크로마토그래피를 실시하여 각각 Tc-99m pertechnetate (Rf=1.0)와 Tc-99m-MDP (Rf=1.0)의 양을 결정하였다. 또한 Re-188 표지항체는 ITLC-SG를 고정상으로 사용하여 아세톤과 Umezawa (10% ammonium acetate/methanol=1/1)에서 각각 Re-188 perrhenate와 Re-188 결합항체(Rf=0.0)를 구하였고 Whatman paper를 사용하여 생리식염수에서 전개시켜 콜로이드(Rf=0.0)를 측정하였다.

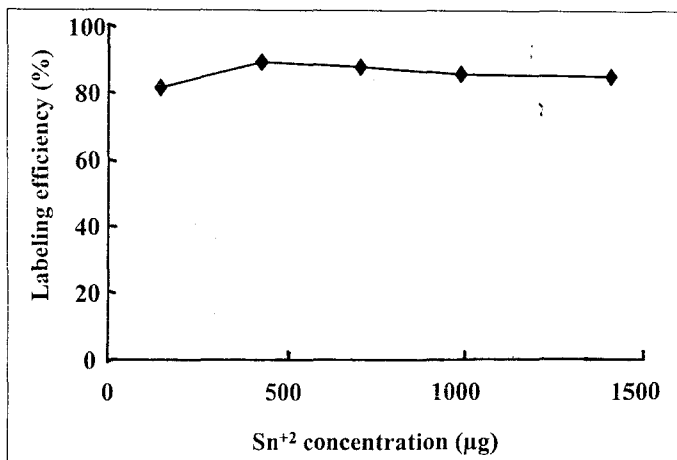


Fig. 1. Effect of the concentration of stannous ion on the radiolabeling yield of Re-188-CEA79.4. Reduced antibody vials were treated with different amounts of stannous tartrate (0.14~1.4 mg) followed by the addition of Re-188 perrhenate and were incubated at room temperature for 1h.

4. 표지항체의 안정성 검사

분리한 Tc-99m와 Re-188의 표지항체에 안정제로서 사람혈청 알부민(1%)과 비타민 C(1%)를 넣어 산화를 방지하고 실온과 사람혈청에서 안정성 검사를 실시하였다. 실온에 방치하여 15, 30분, 1, 3, 6, 24, 48시간에 박층크로마토그래피를 시행하여 방사화학적 수율을 측정하였고, 사람혈청에 표지항체를 섞어 5% CO<sub>2</sub>, 37℃ 조건으로 보관하면서 시간별로 방사화학적 순도를 측정하였다.

5. 세포결합검사(Cell binding assay)

사람 대장암세포주 SNU-C4를 이용하여 시험관 내에서 Tc-99m과 Re-188 표지항체의 포화결합실험(Saturation binding assay)와 Scatchard 분석을 실시하여 각각의 면역반응성과 친화상수를 구하였다.<sup>5)</sup> 포화결합실험은 세포를 시험관에 100 μl당 0.25 × 10<sup>6</sup>, 0.5 × 10<sup>6</sup>, 1 × 10<sup>6</sup>, 2 × 10<sup>6</sup>, 4 × 10<sup>6</sup>, 8 × 10<sup>6</sup> 농도로 준비하였다. Tc-99m, Re-188 표지항체를 5 ng/75 μl씩 가하여 세포와의 총 결합 %를 측정하고 표지하지 않은 항체 25 μg/25 μl를 가하여 세포와의 비특이결합 %를 측정하여 특이결합 %를 얻었다. 면역반응성은 항체가 항원과 결합하는 최고 결합력으로 특이결합 %에서 산출하였다. Scatchard 분석은 1

× 10<sup>6</sup>/100 μl 세포와 3.6~300 ng/75 μl의 동위원소 결합항체를 사용하였다. 항원에 결합한 항체의 농도와 결합항체/유리항체의 비를 산출하여 결합항체의 농도를 가로축으로 결합항체/유리항체의 비를 세로축으로 도시한 그래프에서 점들을 연결하는 직선의 기울기인 친화상수를 구하였다.

6. 생체내 분포

정상 ICR 마우스에 Tc-99m 표지항체와 Re-188 표지항체를 각각 10 μCi (0.37 MBq)/100 μl를 꼬리정맥에 주사하였으며, 마리당 0.5 ng의 표지항체를 투여하였다. 주사 후 1, 14, 24시간에 마우스의 각 장기를 적출하여 무게를 재고 감마카운터를 이용하여 각 장기의 방사능을 측정하여 측정량에 대한 장기 무게당 섭취율(% ID/g)을 계산하였다.

결 과

1. 표지효율

Tc-99m 표지항체의 표지효율은 92.4 ± 5.9% (n=15)였으며 Re-188 표지항체는 84.7 ± 4.6% (n=4)로 우수한 표지효율을 보였다. Re-188은 Tc-99m보다 반응성이 떨어져 환원제를 더 많이 넣어야 표지되었다. 항체 0.5 mg을 표지하는데 사용한 주석이온은

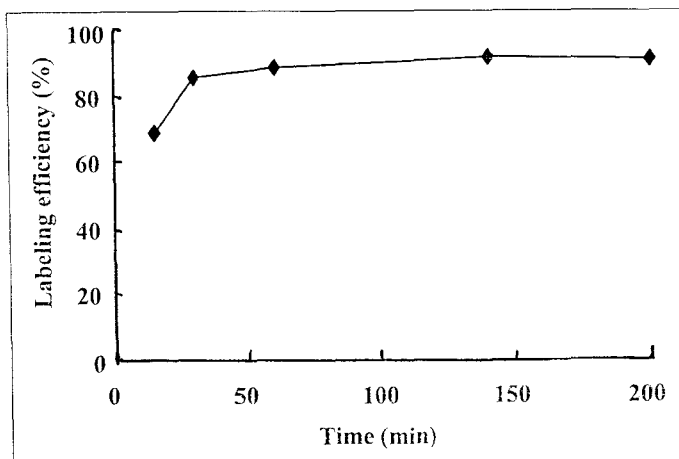


Fig. 2. Effect of reaction time on radiolabeling yield of Re-188-CEA79.4. Reduced antibody vial with 0.7 mg of stannous ion(stannous tartrate) and Re-188 perrhenate (~185 MBq (~5 mCi))were sampled at various time points.

Tc-99m의 경우에는 17  $\mu\text{g}$  이었으나 Re-188은 422  $\mu\text{g}$  이상이 필요하였다(Fig. 1). 700  $\mu\text{g}$ 의 주석이온을 사용하여 시간별로 반응시켜 보았을 때 30분 후에는 85% 정도의 표지효율을 보였다(Fig. 2).

## 2. 세포반응검사

포화결합실험에서 대장암세포주 SNU-C4에 대한 Re-188 표지항체의 결합률은 Fig. 3과 같았다. Re-188 항체의 세포에 대한 최고 특이결합률인 면역반응성은 41.6% 이었으며, Scatchard plot (Fig.

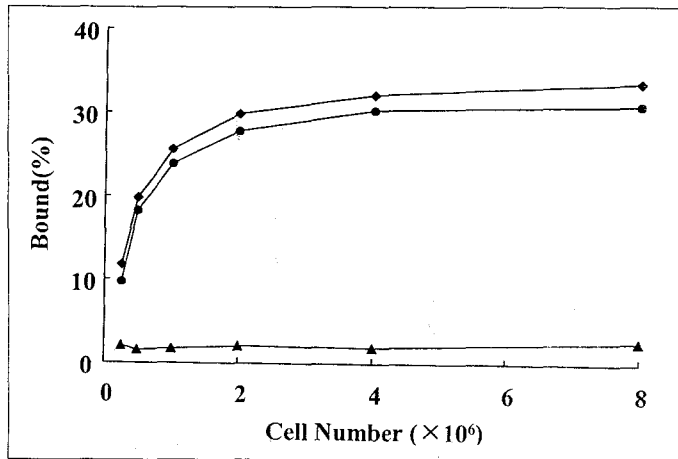


Fig. 3. Binding assay of Re-188-CEA79.4 to SNU-C4 cells for measuring immunoreactivity. The specific binding (●) was obtained by subtracting non-specific binding (▲) from total binding (◆).

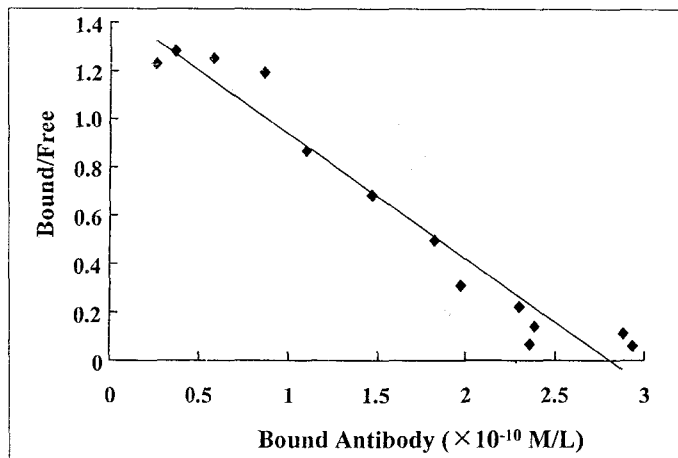


Fig. 4. Scatchard plot of in vitro binding of Re-188-CEA79.4 to SNU-C4 cells. The proportion of specifically bound antibody to SNU-C4 cells is plotted against the molar concentration of bound antigen. The affinity constant,  $K_a$  ( $4.20 \times 10^9$  L/mole) is the slope of the straight line obtained by regression analysis of the plot.

**Table 1.** Immunoreactivity and Affinity Constant of CEA79.4 Antibody Labeled with Tc-99m and Re-188

	Tc-99m-CEA79.4	Re-188-CEA79.4
Labeling efficiency	92.4±5.9%*	84.7± 4.6% <sup>†</sup>
Immunoreactivity	59.2%	41.6%
Affinity constant	6.59×10 <sup>9</sup> L/M	4.20×10 <sup>9</sup> L/M

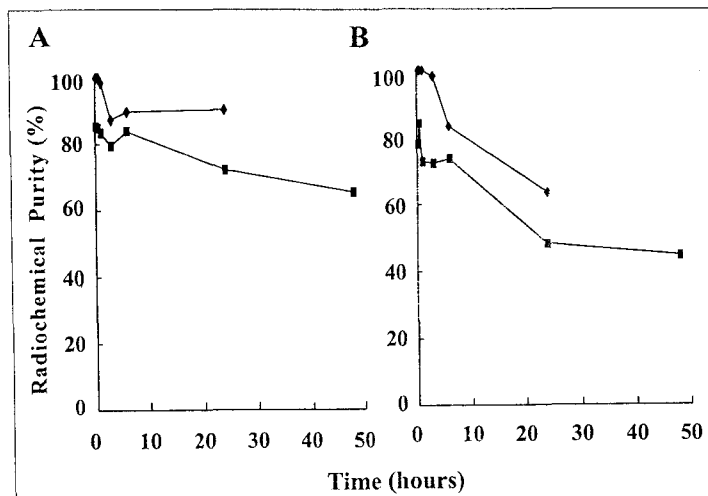
\*, n=15; <sup>†</sup>, n=4.

**Table 2.** Biodistribution Data of Re-188-CEA 79.4 and Tc-99m-CEA79.4 in Normal ICR Mice

(Unit : %ID/g)

Organ	Re-188-CEA79.4			Tc-99m-CEA79.4		
	1 h	14 h	24 h	1 h	14 h	24 h
Blood	29.2±3.7	11.3±2.8	6.3±1.2	31.3±5.1	12.4±1.0	9.4±2.1
Muscle	1.1±0.5	0.9±0.2	0.7±0.2	0.8±0.1	1.3±0.1	1.1±0.1
Fat	2.4±0.4	1.5±0.2	1.1±0.2	1.4±0.3	1.7±0.1	1.3±0.3
Heart	4.0±0.5	2.3±0.6	1.3±0.2	4.0±0.9	2.5±0.3	2.0±0.3
Lung	8.3±2.4	4.5±1.6	2.4±1.0	7.2±1.2	3.1±2.1	3.2±0.8
Liver	10.4±1.7	3.6±0.9	2.7±0.5	6.6±0.5	2.9±0.5	2.2±0.4
Spleen	6.5±1.2	2.8±0.9	1.6±0.4	4.4±0.7	3.2±0.4	2.2±0.4
Stomach	3.3±1.6	0.7±0.3	1.1±0.3	1.7±0.6	0.9±0.3	0.9±0.3
Intestine	2.6±0.6	0.8±0.2	0.6±0.2	2.6±1.5	0.8±0.2	0.9±0.2
Kidney	30.0±6.7	8.4±1.4	7.8±1.9	10.4±1.8	9.6±0.3	6.8±2.4
Bone	3.2±0.6	1.4±0.9	1.0±0.2	4.1±1.2	2.5±0.3	2.7±0.4

All the values represent mean±S.D., n=4.



**Fig. 5.** In vitro stability of Re-188(■) and Tc-99m labeled CEA79.4 (◆). The radiochemical purity of labeled antibody was measured by TLC after incubating at room temperature (A) or in human serum with 5% CO<sub>2</sub> at 37°C (B).

4)에서 회귀직선의 기울기인 친화상수는  $4.2 \times 10^9 M^{-1}$  이었다(Table 1). Tc-99m 표지항체의 면역반응성은 59.2%이었고, 친화상수는  $6.59 \times 10^9 M^{-1}$  이었다.

### 3. 안정성 검사

표지항체의 체외 안정성 검사를 실시한 결과 실온에서는 Tc-99m 표지항체의 경우 24시간까지 90% 이상을 유지하였으며 Re-188은 70% 정도였다(Fig. 5A). 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 사람혈청을 첨가하였을 경우에는 Tc-99m 표지항체는 24시간에 60% 이상 이었고 Re-188의 경우에는 50% 이하 이었다(Fig. 5B).

### 4. 정상 마우스에서의 생체내 분포

정상 ICR 마우스에서 Tc-99m과 Re-188 표지항체의 주사 후 1, 14, 24시간에 생체내 분포를 Table 2에 나타내었다. 투여한지 1시간 후에 간섭취는 Re-188 표지항체가 10.4% ID/g으로서 Tc-99m 표지한 경우(6.6% ID/g)보다 높았다( $p < 0.05$ ). 신장의 경우도 투여 1시간 후에 Re-188 표지항체가 30.0% ID/g으로서 10.4% ID/g인 Tc-99m 표지항체보다 높았다( $p < 0.05$ ). 그러나 시간이 지나면서 차이가 줄어들어 24시간에는 유의성있는 차이가 나타나지 않았다( $p > 0.5$ ).

## 고 찰

레늄은 테크네슘과 비슷한 화학적 성질을 가지고 있으므로 양기능성 착화제가 필요없이 항체에 직접 표지법으로 표지할 수 있으며<sup>7,8)</sup> 최종 대사물이 비표적 정상조직에 축적되지 않는 장점이 있다. Re-186은 담체가 포함되어 있어 항체에 대한 비방사능을 높게 표지할 수 없기 때문에 인체에 많은 양의 항체가 투여되는 문제가 있다.<sup>10)</sup> 반면 Re-188은 무담체로 얻을 수 있으므로 높은 비방사능의 항체로 표지가 가능하며, 높은 에너지의 베타선과 영상에 적당한 감마선(155 keV)을 함께 방출하므로 치료를 하면서 동시에 영상을 함께 얻을 수 있다. 레늄은 테크네슘과 비슷한 화학적 성질을 가지고 있기 때문에

이미 확립된 Tc-99m의 항체 표지법을 이용하여 Re-188을 표지할 수 있다. 그러나 Re-188은 Tc-99m에 비하여 반응성이 떨어지므로 Re-188을 환원시키기 위해 많은 양의 환원제가 요구되며 더 오랜시간 반응시켜야 한다.<sup>10)</sup> Tc-99m을 환원시키기 위한 주석이온의 양은 항체에 대한 몰농도비가 1:50 이었으나<sup>5)</sup> Re-188의 경우에는 1:1,250 이상으로 Tc-99m의 경우보다 훨씬 더 많은 양이 필요하였다. 환원시켜 얻은 항체의 SH-기에 Tc-99m을 직접표지하는데 필요한 시간은 30분이면 충분하였으나 Re-188의 경우에는 1시간을 반응시켜야 완전히 표지되었다. 항체와의 반응시간을 더 길게하면 perrhenate는 감소하지만 콜로이드가 증가하여 표지효율은 더 이상 좋아지지 않았다. Rhodes 등<sup>10)</sup>에 의해 보고된 17시간 반응에 비해 짧은 시간에 반응을 완료시킬 수 있었다. Tc-99m을 항체에 표지시키기 위하여 pH 6.5의 PBS를 반응액으로 사용하였으나 Re-188의 경우에는 PBS를 사용하였을 때에는 표지되지 않아 pH 5.3의 ABS에서 반응시켰다. 단일클론항체 CEA79.4는 급성 골수성 백혈병에서 골수세포의 T 림프구와 결합하므로 Tc-99m과 표지하여 골수관련 혈액질환의 진단을 위한 방사면역신티그래피에 이용되고 있다.<sup>11)</sup> 그러므로 Re-188 표지항체는 급성 골수성 백혈병, 림프종 등의 방사면역치료에 이용될 수 있을 것이다.

Re-188 표지항체를 마우스에 투여한 후 1시간에서 신장의 섭취율은 30.0% ID/g로 높게 나타나는데(Table 2), 이것은 표지항체를 PD-10 칼럼을 사용하여 분리하여도 약 10% 가량의 Re-188 perrhenate가 섞여 있었기 때문인 것 같다. Griffiths 등<sup>8)</sup>은 동물실험에서 Tc-99m과 Re-188표지항체(Mu-9)를 투여 후 24시간에서 혈액에 남아있는 양이 9.2% ID/g으로 I-131 표지항체 15.4% ID/g보다 낮음을 보고하였다. 우리가 실험한 Re-188과 Tc-99m-CEA 79.4의 마우스 생체내 분포에서는 투여 후 24시간에 혈액에 남아있는 양이 각각 6.32, 9.35% ID/g로 Re-188 표지항체가 Tc-99m 표지항체보다 빨리 빠져나갔으며 비표적 장기에 축적되지 않아 시간에 따른 비표적 장기의 섭취율은 큰 차이를 보이지 않았다. NCA 95는 사람의 골수성 세포와 그 전구체에만 있

는 항원으로 마우스의 골수세포에는 없기때문에 CEA79.4는 마우스의 골수에 섭취되지 않았다.

이상의 실험결과로 볼 때 우리는 Tc-99m의 항체 직접표지법과 같은 원리로 Re-188을 직접표지할 수 있었고, Re-188 표지항체의 특성 또한 Tc-99m 표지항체에 비해 뒤떨어지지 않았다. 이 Re-188 항체 표지법은 다른 특이항체의 표지에 응용할 수 있으며, Re-188 표지항체는 여러 질병의 치료에 적용할 수 있을 것으로 생각한다.

## 요 약

**목적:** 현재 Re-188 표지 단일클론항체는 종양의 방사면역치료제로서 주목받고 있으며 많은 연구가 진행되고 있다. 이 연구에서는 골수성 백혈구 세포에 존재하는 NCA-95에 대한 단일클론항체 CEA79.4를 사용하여 Re-188의 항체 표지법을 개발하고 그 특성을 분석하여 Tc-99m 표지항체와 비교하고자 하였다. **대상 및 방법:** 표지는 항체에 방사성 핵종을 직접 붙이는 직접법을 사용하였다. 환원제인 β-mercaptoethanol로 단일클론항체 CEA79.4를 환원하여 SH-기를 생성시키고 여기에 발생기로부터 얻은 Tc-99m과 Re-188을 표지 하였다. Tc-99m의 표지를 위해서는 pH 6.5인 PBS에서 반응시켰으며 착화제와 환원제로 MDP kit를 사용하였다. Re-188은 50 mM acetate buffered saline (ABS, pH 5.3)에서 stannous tartrate를 환원제로 사용하여 표지 하였다. 표지효율은 ITLC로 확인하였으며 표지항체는 PD-10 칼럼을 이용하여 분리하였다. 분리한 표지항체를 1% 사람혈청 알부민과 비타민 C를 넣어 산화를 방지하고 실온과 사람혈청(5% CO<sub>2</sub>, 37°C)에서 안정성 검사를 실시하였다. 대장암세포주인 SNU-C4와 세포결합검사를 실시하여 면역반응성과 항원에 대한 친화상수를 측정하였다. 또한 정상 ICR 마우스에 꼬리정맥으로 주사하여 1, 14, 24시간에 체내분포를 보았다. **결과:** Tc-99m의 항체 표지효율은 92.4±5.9% (n=15)이고 Re-188은 84.7±4.6% (n=4)로 우수한 표지효율을 보였다. 표지항체의 체외 안정성검사를 실시한 결과 실온에서는 Tc-99m 표지항체의 경우 24시간까지 90% 정도로 안정하였으

나 Re-188 표지항체는 70% 정도를 유지하였다. 사람혈청에서는 Tc-99m 표지항체는 24시간에 60% 이상이었으나 Re-188은 50% 이하로 낮았다. Tc-99m과 Re-188의 표지항체의 면역반응성은 각각 59.2%, 41.6%, 친화상수는 6.59×10<sup>9</sup> M<sup>-1</sup>, 4.2×10<sup>9</sup> M<sup>-1</sup> 이었다. 또한 정상 마우스에서 체내 분포는 비특이적으로 집적되지 않고 배설되어 유사한 경향을 보였다. **결론:** 기존의 Tc-99m 표지법과 같은 원리를 이용하여 단일클론항체 CEA79.4를 Re-188과 표지하였다. Re-188-CEA79.4는 면역반응성과 친화력 등 체외 면역학적 특성과 체내분포에서 Tc-99m 표지항체와 큰 차이를 보이지 않았다. 따라서 Re-188-CEA79.4는 골수성 백혈병, 림프종 등 질병의 방사면역치료에 적용 할 수 있을 것이다.

## 참 고 문 헌

- 1) Chung J-K, Yeo JS, Lee DS, Park SY, Lee MC, Kim BK, et al. Bone marrow scintigraphy using <sup>99m</sup>Tc-anti-granulocyte antibody in hematologic disorders. *J Nucl Med* 1996;37:978-82.
- 2) Thakur ML, DeFulvio J, Richard MD, Paik CH. <sup>99m</sup>Tc labeled monoclonal antibodies: evaluation of reducing agent. *Nucl Med Biol* 1991;18:227-33.
- 3) Mather SJ, Ellison D. Reduction-mediated <sup>99m</sup>Tc labeling of monoclonal antibodies. *J Nucl Med* 1990;31:692-7.
- 4) Childs RL, Hnatowich DJ. Optimum condition for labeling of DTPA-coupled antibodies with technetium-99m. *J Nucl Med* 1985;26:293-9.
- 5) Hong MK, Jeong JM, Chung J-K, Choi SR, Kim CK, Lee YJ, et al. <sup>99m</sup>Tc labeling kit preparation and characteristics of anti-NCA-95 monoclonal antibody. *Korean J Nucl Med* 1996;30:541-7.
- 6) Kozak RW, Raubischek A, Mirzadeh S, Brechbiel MW, Jung-haus R, Gansow OA. Nature of the bifunctional chelating agent used for radioimmunotherapy with yttrium-90 monoclonal antibodies: critical factors in determining in vivo survival and organ toxicity. *Cancer Res* 1989;49:2639-44.
- 7) John E, Thakur ML, DeFulvio J, McDevitt MR, Damjanov I. Rhenium-186-labeled monoclonal antibodies for radioimmunotherapy: preparation and evaluation. *J Nucl Med* 1993;34:260-7.



- 8) Rhodes BA, Lambert CR, Marker MJ, Knapp FF, Jr., Harvey EB. Re-188 labelled antibodies. *Appl Radiat Isot* 1996;47:7-14.
  - 9) Sykes TR, Somayaji VV, Bier S, Woo TK, Kwok CS, Snickus V, et al. Radiolabeling of monoclonal antibody B43.13 with rhenium-188 for immunotherapy. *Appl Radiat Isot* 1997;48:899-906.
  - 10) Griffiths GL, Goldenberg DM, Knapp FF, Jr., Callahan AP, Chang CH, Hansen HJ. Direct radiolabeling of monoclonal antibodies with generator-produced rhenium-188 for radioimmunotherapy: labeling and animal biodistribution studies. *Cancer Res* 1991;51:4594-602.
  - 11) Griffiths GL, Goldenberg DM, Diril H, Hansen HJ. Technetium-99m, rhenium-186, and rhenium-188 direct-labeled antibodies. *Cancer Supplement* 1994;73:761-8.
  - 12) Gog FB, Visser GWM, Klok R, Schors R, Snow GB, Dogen GAMS. Monoclonal antibodies labeled with rhenium-188 using the  $MAG_3$  chelate: relationship between the number of chelated groups and biodistribution characteristics. *J Nucl Med* 1996;37:352-62.
  - 13) Lim SM, Woo KS, Chung WS, Awh OD. Polymer formation and altered biodistribution of IgG labeled with Tc-99m and cyclic DTPA. *Korean J Nucl Med* 1993;27:270-76
  - 14) Choi CW, Chung JK, Lee MC, Kim BK, Koh CS, Jung HK. Development of bone marrow scintigraphy using Tc-99m-labeled antigranulocyte monoclonal antibody. *Korean J Med* 1994;46:100-109.
-