

생쥐 종양모델에서 ⁵⁷Co-Vitamin B₁₂의 종양 친화성에 관한 연구

전북대학교 의과대학 핵의학과¹, 진단방사선과², 내과³, 의과학연구소⁴

손명희^{1,4} · 박순아¹ · 김수현² · 정경호^{2,4} · 임창열^{3,4}

= Abstract =

Affinity for ⁵⁷Co-Vitamin B₁₂ by a Wide Histologic Variety of Tumor Types in Mice

Myung-Hee Sohn, M.D.^{1,4}, Soon-A Park, M.D.¹, Su-Hyun Kim, M.D.²
Gyung-Ho Chung, M.D.^{2,4} and Chang-Yeol Yim, M.D.^{3,4}

*Department of Nuclear Medicine¹, Diagnostic Radiology², Internal Medicine³,
and Institute for Medical Sciences⁴, Chonbuk National University Hospital*

The search for tumor-avid agents for use in nuclear medicine imaging is an ongoing field of importance. The purpose of this study was to determine the affinity for radiolabeled vitamin B₁₂ by a wide histologic variety of tumor types in mice. Seventeen different types of tumor were grown subcutaneously in female Balb/C or Balb nu/nu(nude) mice. When the tumors reached about 1 cm in diameter, mice were injected intraperitoneally with ⁵⁷Co-vitamin B₁₂. Twenty-four hours later, the mice were sacrificed. Organs and tissues were removed, weighed, and activity per mg determined by gamma counter. Values represented cpm/mg tissue that was normalized to 20 grams body weight for each mouse. A wide variety of tumor types showed significant uptake and concentration of ⁵⁷Co-vitamin B₁₂, as evidenced by tumor:tissue activity ratios. For many tissues of great importance in terms of background(bone, muscle, blood), the tumor:tissue activity ratios of uptake were high. These data strongly suggest that further efforts to evaluate the utility of radiolabeled adducts of vitamin B₁₂ for clinical use in oncologic imaging are warranted. (Korean J Nucl Med 1998;32:89~98)

Key Words: ⁵⁷Co, Vitamin B₁₂, Tumor, Mice

서 론

책임저자: 손명희, 전북 전주시 덕진구 금암동 634-18,
전북대학교병원 핵의학과
Tel: (0652) 250-1174, Fax: (0652) 72-0481
E-mail: mhsohn@moak.chonbuk.ac.kr.

* 이 논문은 1997년도 전북대학교병원 임상연구비에 의하여 연구되었음.

종양영상과 치료에 이용할 수 있는 새로운 종양 친화성 물질을 발견하는 것은 핵의학 분야에 중요한 연구과제이다. 현재까지 종양영상에 가장 많이 쓰이는 방사성동위원소는 ⁶⁷Ga-citrate이며¹⁻³, 최근에는 ²⁰¹Tl-chloride^{4,7}, ^{99m}Tc-MIBI⁸⁻¹⁰, 방사표지 단세포

포군항체¹¹⁻¹³⁾의 이용이 증가하고 있다. 그러나 이런 물질들은 정상조직에도 비특이적으로 반응함으로써 종양진단에 사용시 많은 제한점과 문제점이 제기되어 왔다. 따라서 조직학적 형태가 다른 모든 종양에 유용한 한가지 종양친화성 물질은 없으며 이에 대한 계속적인 연구가 요구된다.

Vitamin B₁₂는 thymidylate 생합성과정에서 DNA 합성에 필수적인 조효소로서¹⁴⁾ 분열속도가 빠른 세포와 조직 즉 태생기세포와 일부 종양에 많은 양이 축적되는 것으로 알려져 왔다¹⁵⁻¹⁹⁾. 생쥐 육종모델에서 ⁵⁷Co-vitamin B₁₂의 종양섭취 정도가 ⁶⁷Ga이나 ²⁰¹Tl에 비해 높고, 그 종양대 정상조직의 섭취비도 높아서 방사표지 vitamin B₁₂가 ⁶⁷Ga이나 ²⁰¹Tl에 비해 좋은 종양영상 물질이 될 수 있음이 제시되었으나¹⁵⁾ 다양한 종류의 종양에서는 방사표지 vitamin B₁₂의 섭취에 대해 아직까지 연구된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 방사표지 vitamin B₁₂가 조직학적 형태가 다른 여러 종류의 종양과 어느 정도 친화성이 있는지를 결정하고 정상조직과의 대비도를 비교하여 ⁵⁷Co-vitamin B₁₂가 종양영상에 가능한 종양친화성 물질인지를 규명하려고 한다.

대상 및 방법

1. 세포주

이용한 세포주는 American Type Culture Collection(ATCC)으로 부터 구입하였다. 그 중 NIH/3T3/BPV(BPA) 세포는 미국 유타의대의 핵의학과 Dr. Morton으로 부터 기증받은 것으로 Bovine Papilloma Virus(BPV) 유전자의 변형부위를 포함하고 있는 plasmid를 생쥐 NIH/3T3 세포에 형질변형시킨 것이다²⁰⁾. 세포들은 ATCC에서 제시된 배양액에서 단일층 혹은 부유상태로 자랐으며 37℃, 8% CO₂로 유지되는 배양기에서 배양하였다(Table 1).

2. 종 양

배양프라스크에서 단일층으로 자란 세포는 세포가 융합을 보이기 직전에 5 ml의 인산완충용액으로 씻은 후 트립신처리(0.15 % trypsin in PBS [0.01 M K₂H₂PO₄, 0.15 M NaCl, 0.15 M KH₂PO₄, pH 7.8]

)하여 10 ml의 인산완충용액에 세포를 모은 후 1500 rpm에서 15 분간 원심분리하였고, 부유상태로 자란 세포는 바로 원심분리하여 세포 덩어리를 얻어서 마우스 1마리당 1×10⁹개 세포를 왼쪽 서혜부에 피하 주사하였다. 종양의 크기가 약 1.0 cm³가 되었을 때(약 1-3주 후) 방사성동위원소를 주사하였다.

3. 실험쥐

세포가 동일 종족인 경우 Balb/C 마우스를 사용하였고, 동일 종족이 아닌 경우는 Balb nu/nu 누드마우스를 사용하였으며 모든 마우스의 몸무게는 약 20 g 내외였다. 실험쥐는 각 종양마다 4마리씩 사용하였다.

4. 방사성동위원소

종양의 크기가 약 1.0 cm³로 자랐을 때 100 ul의 생리식염수에 0.5 uCi(1.85×10² MBq)의 ⁵⁷Coc-methylcobalamin(Amersham)을 복강 내로 주사하였다.

5. 자료분석

방사성동위원소 주사 후 24 시간에 실험쥐를 희생시킨 후 신장, 간, 종양, 비장, 뼈(우측 대퇴골), 장, 지방조직(복강내), 근육, 혈액(100 ul), 취장을 적출하여 무게를 잰 후 gamma counter(Packard)로 방사능을 측정하여 cpm/mg tissue로 표시하였다. 같은 종양의 실험쥐로 부터 얻은 자료는 평균화하였고 마우스 무게에 따른 차이를 없게 하기 위해서 20 g 몸무게로 표준화하였다. 또한 각 종류의 종양마다 종양대 정상조직의 방사능의 비를 구하였다.

면역성의 차이가 방사능의 분포에 영향이 있는지를 보기위해서 Balb/C 마우스와 선천적으로 면역성이 결핍된 누드마우스에 MMSV/3T3 종양을 주사하여 방사능의 분포와 종양대 정상조직의 방사능비를 비교하였다. MMSV/3T3 종양외의 다른 종양에서는 MMSV/3T3 종양을 주사한 Balb/C 마우스와 비교하였다. 감마카메라 영상은 MMSV/3T3 종양을 주사한 Balb/C 마우스를 저에너지 평행구멍즈준기를 사용하여 백만계수로 얻었다.

Table 1. Cell Types Used

Histology	Name of tumor	Mouse of origin	Mouse injected	Growth charact*	Medium
1 Transformed embryonic	NIH/3T3BPV(BPA)	Swiss webster	Nude	M	DMEM+10%HSS
2 Embryonic	MMSV/3T3	Balb/C & Nude	Balb/C	M	DMEM+10%HSS
3 Myeloma	XS63	Balb/C	Balb/C	S	DMEM+10%HSS
4 Trnasformed liver	BNL1MEA.7R.1	Balb/C	Balb/C	M	DMEM+10%HSS
5 Hepatoma	Hepa 1-6	C57L	Nude	M	DMEM+10%FCS
6 Renal cell adenoca	RAG	Balb/cd	Balb/C	M	DMEM+10%FCS
7 Melanoma	Cloudman S91 clone M-3	Balb/C X DBA	Nude	M	F-10+15%HorseS+ 2.5%FCS
8 Sarcoma	CCRF S-180II	CFW	Nude	M	DMEM+10%HSS
9 Transformed con. tissue	NCTC clone 2472	C3H/HeN	Nude	M	NCTC+10%HorseS
10 Neuroblastoma	Neuro 2-A	Stain A albino	Nude	M	DMEM+10%FCS
11 Transformed myoblast	G-7	Swiss Webster	Nude	M	DMEM+10%HorseS
12 Squamous cell adenoca	KLN 205	DBA/2	Nude	M	DMEM+10%FCS
13 Lymphoma B-cell	A20	Balb/C AnN	Balb/C	S	RPMI+10%FCS
14 Lymphoma T-cell	RAW 8.1	Balb/C	Balb/C	S	DMEM+10%FCS
15 Lymphocytic leukemia	L1210	DBA/2	Nude	M	DMEM+10%HorseS
16 Medullary thyroid	MTC-M	Balb/C	Balb/C	S	RPMI+10%HorseS+ 5%FCS
17 Osteogenic sarcoma	UMR-108	Sprague Dawley rat	Nude	M	DMEM+10%FCS

* "M" designates monolayer, "S" designates suspension

Table 2. Tissue Distribution of ⁵⁷Co-Vitamin B₁₂ and Tumor/Tissue Ratios in MMSV/3T3 Tumor Bearing Balb/C and Nude Mouse

	Radioactivity*		Tumor/Tissue Ratio	
	Balb/C	Nude	Balb/C	Nude
Tumor	74.1±17.0	113.0±13.1	1.0	1.0
Kidney	152.7±67.4	199.9±46.4	0.5	0.6
Liver	78.5±20.7	113.8±8.0	0.9	1.0
Spleen	38.6±6.4	58.3±4.8	1.9	1.9
Bone	14.1±1.9	26.8±5.8	5.3	4.2
Intestine	27.2±9.4	70.0±9.5	2.7	1.6
Fat	67.6±21.4	113.7±8.1	1.1	1.0
Muscle	7.5±1.3	12.6±1.7	9.9	9.0
Blood	19.1±2.6	28.3±8.4	3.9	4.0
Pancreas	118.8±17.3	152.5±15.6	0.6	0.7

Differences in distribution of radioactivity and tumor/tissue ratios between nude and Balb/C mice were not of statistical significance(P>0.05). * Values shown represent cpm/mg tissue that was normalized to 20 grams body weight(±s.e.m: standard error of the mean).

Table 3. Tissue Distribution of ⁵¹Co-Vitamin B₁₂ in Various Tumor-Bearing Mice

Tumor	Kidney	Liver	Spleen	Bone	Intestine	Fat	Muscle	Blood	Pancreas
MMSV, B	152.7±67.4	78.5±20.7	38.6±6.4	14.1±1.9	27.2±9.4	67.6±21.4	7.5±1.3	19.1±2.6	118.8±17.3
XS63	302.7±101.5	119.1±6.4	53.4±4.2	16.6±1.7	45.0±8.0	73.1±9.0	9.6±2.3	29.8±1.3	117.5±19.3
BNL1MEA	430.0±143.7	102.3±21.2	43.8±8.3	14.4±2.3	34.3±8.1	52.8±11.0	8.9±1.3	22.5±3.4	76.1±19.7
KLN-205	322.6±60.5	116.8±3.4	55.7±3.3	22.4±2.5	37.9±5.7	49.1±13.3	11.6±1.4	30.5±0.2	97.0±15.1
RAG	1110.4±236.324	139.2±23.2	56.5±11.4	25.7±3.2	46.1±10.0	67.6±18.3	10.6±1.7	26.2±4.9	126.6±7.5
BPA	9.5±47.4	107.0±9.0	53.7±4.7	25.5±1.1	45.8±9.0	42.8±8.0	13.6±0.8	32.6±1.6	93.2±12.4
CCRF	197.9±48.0	71.90±12.0	35.6±6.9	14.2±4.8	30.0±11.0	22.0±3.6	8.4±1.9	19.1±4.7	64.7±14.1
Hepal-6	234.9±18.7	124.8±14.7	61.7±4.6	31.6±3.1	44.5±6.1	49.7±15.7	14.1±0.8	27.8±6.3	113.6±23.7
L1210	248.4±84.6	104.1±6.3	57.8±11.2	24.6±3.9	42.8±1.5	46.8±11.2	12.0±0.9	27.3±3.3	98.5±25.9
G-7	245.0±36.8	105.6±12.4	54.2±3.5	24.8±1.9	41.6±3.5	37.5±16.6	11.8±1.0	26.8±3.1	98.3±18.6
MTC-M	339.6±25.9	64.9±2.8	25.7±1.4	9.7±0.9	16.0±0.8	43.5±3.5	6.1±1.3	13.3±4.9	57.0±19.7
A-20	727.7±111.1	113.9±4.3	53.5±1.7	18.4±0.9	33.5±1.7	56.6±6.1	10.6±0.7	27.1±1.9	97.3±9.1
Neuro2A	186.8±32.9	98.7±13.5	57.4±10.5	21.0±2.7	47.5±5.3	45.6±6.5	11.3±1.5	32.6±4.5	102.9±11.7
RAW8.1	174.4±35.1	90.7±15.8	51.0±11.6	16.5±2.8	42.6±17.2	55.1±12.9	9.0±1.6	19.6±2.8	82.4±18.3
UMR108	208.5±11.8	116.6±1.5	74.9±8.6	27.6±3.1	46.0±5.7	38.2±10.2	14.7±0.8	34.2±3.0	134.8±10.5
NCTC	218.5±40.3	103.9±11.3	53.5±8.3	28.1±0.6	41.5±4.2	93.4±35.2	12.3±1.7	26.1±3.8	99.5±14.9
Clone M-3	269.7±25.9	111.8±9.4	53.9±2.8	20.5±1.4	38.7±8.3	51.6±10.3	11.8±0.5	36.0±3.7	88.7±10.6

The concentration of radiolabeled vitamin B₁₂ by tumors occurs over a wide variety of histologic tumor types. However the degree of it does vary somewhat with each different type of tumor. Values shown represent cpm/mg tissue(±s.e.m.; standard error of the mean) that was normalized to 20 grams body weight for each mouse because of variation in the weight of each individual mouse. *P<0.05

결 과

MMSV/3T3 종양을 주사한 Balb/C와 누드 마우스의 비교에서 종양 및 정상조직에서 ⁵⁷Co-vitamin B₁₂의 섭취정도에 약간의 차이를 보였으나 통계학적으로 의의는 없었으며 종양대 정상조직의 방사능비도 전장에서 거의 비슷하여 두 종사이에 방사능 분포의 차이가 없었다($p > 0.05$)(Fig. 1, Table 2).

대상이 되었던 17 종류의 서로 다른 조직학적 형태의 종양에서 ⁵⁷Co-vitamin B₁₂의 다양한 축적이 있었다(Table 3). 갑상선수질암(MTC-M), B형임파종(A-20), 흑색종(Clone M-3)에서만 MMSV/3T3 종양과 비교하여 적게 축적되었으나 통계학적 의의는 없었다. 그외에 나머지 종양에서는 MMSV/3T3와 비교하여 같거나 대부분이 높게 축적되었으며 특히 변이성배성암(BPA), 간암(Hepa1-6), 골육종(UMR-108), 섬유육종(NCTC)에서는 조절군에 비해 유의하게 높은 섭취를 보였다($p < 0.05$). 정상조직

에서도 ⁵⁷Co-vitamin B₁₂의 다양한 축적을 보였다(Table 3). 특히 신장은 종양에 비해 약 2-10 배까지 다양하게 높은 vitamin B₁₂의 축적이 있었으며 모든 장기 중에서 가장 높은 방사능 축적을 보였고, 다음은 간으로서 변이성배성암(BPA), 육종(CCRF)과 갑상선수질암(MTC-M)을 주사한 마우스의 간에서만 약간 낮을 뿐(통계학적 의의는 없음) 모두 높은 방사능 축적을 보였다.

종양대 정상조직의 섭취비는 정상조직중 가장 많은 축적을 보인 신장에서는 낮았지만 이를 제외한 대부분의 조직에서 같거나 높았고 B형임파종(A-20)과 흑색종(Clone M-3)을 주사한 마우스에서는 많은 장기에서 종양대 정상조직의 섭취비가 조절군보다 유의하게 낮았다(Table 4). 갑상선수질암(MTC-M) 종양을 주사한 마우스에서는 종양의 축적은 적었지만 종양대 정상조직의 방사능의 비는 비교적 높았다. 종양 축적이 비교적 적었던 B형임파종(A-20)과 흑색종(Clone M-3)을 제외한 나머지 예에서 종양대 정상조직의 섭취비는 뼈, 근육, 혈액에서 비교적 높

Fig. 1. Ratios of radioactivity of MMSV/3T3 tumors to various tissues for Balb/C and nude mice: The pattern of the tumor:tissue activity ratios in the Balb/C mice was essentially the same as for the nude mice. Error bars represent the standard error of the mean(s.e.m.). P values were calculated. There were no significant difference between Balb/C and nude mice for all tissues.

Table 4. Ratios of Radioactivity of Tumors to Tissues in Various Tumor-Bearing Mice

	Kidney	Liver	Spleen	Bone	Bowel	Fat	Muscle	Blood	Pancreas
MMSV,B									
XS63	0.5	0.9	1.9	5.3	2.7	1.1	9.9	3.9	0.6
BNL	0.4	0.9	2.0	6.4	2.4	1.5	11.1	3.6	0.9
1MEA	0.2*	0.7	1.7	5.3	2.2	1.4	8.6	3.4	1.0
KLN-205	0.3	0.9	1.9	4.6	2.7	2.1	8.9	3.4	1.1
RAG	0.1	0.8	2.0	4.3	2.47	1.7	10.6	4.3	0.9
BPA	0.6	1.5	3.0	6.3	3.5	3.8	11.9	4.9	1.7
CCRF	0.5	1.5	3.0	7.5	3.5	4.8	12.7	5.6	1.6
Hepal-6	0.7	1.4	2.9	5.6	4.0	3.5	12.5	6.3	1.5
L1210	0.5	1.2	2.2	5.1	2.9	2.7	10.5	4.6	1.3
G-7	0.3	0.8	1.5	3.2*	1.9	2.1	6.8	3.0	0.8
MTC-M	0.2	0.9	2.3	6.1	3.7	1.4	9.6	4.4	1.0
A-20	0.1*	0.6*	1.3*	3.7*	2.0	1.2	6.4*	2.5*	0.7
Neuro2A	0.6	1.2	2.1	5.7	2.5	2.6	10.5	3.6	1.2
RAW8.1	0.5	0.9	1.6	4.9	1.9	1.5	9.0	4.2	1.0
UMR108	0.7	1.3	2.0	5.5	3.3	4.0	10.4	4.5	1.1
NCTC	0.6	1.2	2.4	4.6	3.1	1.4	10.6	5.0	1.3
Clone M-3	0.2	0.5*	1.2*	2.7*	1.4	1.1	4.8*	1.6*	0.6

The tumor to normal tissue ratios of activity were significantly greater in various tumor-bearing mice than in MMSV/3T3 tumor-bearing mice except for A-20 and Clone M-3. Calculation are based on data shown in Table 3. * $p < 0.05$

았으며 간과 비장, 장, 지방, 췌장에서도 대부분이 조절군보다는 높았고 낮은 경우도 그 차이가 크지 않았으며 통계학적 의의는 없었다($p > 0.05$).

MMSV/3T3 종양을 주사한 마우스의 감마카메라 영상에서 중중도의 방사능의 축적을 보였던 종양이 화살표로 표시되어 있으며 인접한 간의 방사능과 비슷한 정도의 방사능을 보여 주었으며 이는 ^{57}Co -vitamin B₁₂의 MMSV/3T3 종양과 간섭취가 각각 74.1 ± 17.0 , 78.5 ± 10.7 cpm/mg tissue(몸무게 20 g으로 표준화함) 이고, 간의 종양대 정상조직의 섭취비가 0.9인 결과와는 잘 일치하는 소견이었다(Fig. 2).

고 찰

Vitamin B₁₂는 cobalamin이라고 하는 몇가지 보조효소형으로 존재하며 corrin 고리구조를 가지고 그 종양에는 cobalt가 존재한다. Cobalamin의 보조효소형태로는 cyanide가 5'-deoxyadenosine으로 대

치된 5'-deoxyadenosylcobalamin과 cyanide가 methyl기로 대체된 methylcobalamin이 있으며 합성되는 cyanocobalamin이 있는데¹⁴⁾ 본 연구에서는 methylcobalamin형태의 vitamin B₁₂를 사용하였다. Vitamin B₁₂의 방사표지형태와 방사표지가 안된 안정형태의 체내분포는 같으며 방사표지 vitamin B₁₂는 체내에서 방사능이 분리되지 않는 안정된 물질로서 체내검사를 하기에 좋은 방사성물질로 알려져 있다¹⁹⁾.

정상조직에서 vitamin B₁₂의 분포는 간이 중요한 저장소이나 동물의 경우 특히 마우스²¹⁾, 닭^{22,23)}, 개²⁴⁾에서는 간보다 신장에 더 많이 축적되며, 돼지²⁵⁾에서는 간과 신장에서 동일하며, 기니어 피그²¹⁾에서는 간에 가장 많은 축적을 보여 사람과 유사하다. 이 같은 차이는 동물에 따라 vitamin B₁₂의 흡수방법²⁶⁾과 생물학적 회전²⁷⁾에 차이가 있기 때문이다. 본 연구에서도 실험동물로 마우스를 사용하였기 때문에 간보다 신장에서 가장 높은 vitamin B₁₂의 축적이

cholanthrene으로 유도된 육종과 쥐의 Walker 암에 방사표지 vitamin B₁₂의 축적을 보고하였고, Flood와 Ullberg¹⁸⁾도 4종류의 서로 다른 종양에서 방사표지 vitamin B₁₂의 축적이 많음을 보고하여 vitamin B₁₂가 종양조직의 대사에 중요한 역할을 한다고 하였다. 그러나 Cooperman¹⁹⁾은 신생아의 신경모세포종 조직에서 vitamin B₁₂의 축적이 낮은 것을 관찰하여 신경모세포종은 낮은 vitamin B₁₂의 농도에서도 분열할 수 있고 핵산을 합성할 수도 있음을 보고하였다.

본 연구에서도 갑상선 수질암(MTC-M), B형 임파종(A-20), 흑색종(Clone M-3)에서는 조절군에 비해 약간 낮은 vitamin B₁₂의 섭취가 있었지만 통계학적 의의가 있는 차이를 보이지는 않았고 그외의 각종 종양에서 다양한 정도의 vitamin B₁₂의 섭취가 있었다. 특히 변이성배성암(BPA), 간암(Hepa1-6), 골육종(UMR-108), 섬유육종(NCTC)에서는 조절군에 비해 vitamin B₁₂의 높은 종양섭취를 보였다. 즉 종양에 의한 방사표지 vitamin B₁₂의 축적은 대부분의 종양에서 정도의 차이는 있지만 상당한 정도의 섭취율을 보여 종양친화성을 보였다. 신경모세포종에 대한 방사표지 vitamin B₁₂의 섭취는 보고자마다 일정치가 않았는데 이들은 서로 다른 신경모세포를 사용하였다^{17, 19)}. 본 연구에서는 신경모세포종의 방사표지 vitamin B₁₂의 섭취가 조절군에 비해 약 1.5 배 높았고 저자의 경우 생쥐의 신경모세포를 사용하였다. 이같이 신경모세포종의 방사표지 vitamin B₁₂의 섭취가 차이가 나는 것은 서로 다른 종족에서 발생한 신경모세포를 사용한 것도 한 원인이 될 것으로 생각되며 앞으로 이에 대한 연구가 더 요구된다.

종양대 정상조직의 섭취비는 정상조직중 vitamin B₁₂의 가장 많은 섭취를 보인 신장에서는 전 예에서 낮았지만 신장 다음으로 축적이 많았던 간에서는 종양대 정상조직의 섭취비가 대부분의 정상조직에서 섭취가 낮았던 임파종(A-20)과 흑색종(CloneM-3)을 제외하고는 같거나 높았다. 특히 뼈, 근육, 혈액에서의 종양대 정상조직의 섭취비는 매우 높았고 비장, 장, 지방조직에서도 비교적 좋은 종양대 정상조직의 섭취비를 보였다. 이들 장기들은 배후방사능에 중요한 영향을 미치는 것들로 영상을 얻을 때 중요

Fig. 2. Scintigraphic image of MMSV/3T3 tumor-bearing Balb/C mouse: The ventral image of MMSV/3T3 tumor-bearing mice was obtained by gamma camera 24 hours after intraperitoneal injection of ⁵⁷Co-vitamin B₁₂. Image was of 1 million counts. The tumor are evident as a focus of morderately increased activity (arrow). Uptake in soft tissue and viscera is also apparant.

있었고 종양에 비해서도 약 2-10 배 정도 높았다. 또한 뇌하수체가 동물과 사람에서 vitamin B₁₂의 축적이 높은것으로 보고^{19, 28)}되어 있으나 본 연구에서는 확인하지 못했다.

사람과 동물에서 정상조직에서의 vitamin B₁₂의 체내분포는 차이가 나나 vitamin B₁₂는 thymidylate 생합성과정에서 DNA 합성에 필수적인 조효소로서 사람과 동물에 관계없이 공히 종양조직의 대사에는 매우 중요한 역할을 하며 분열속도가 빠른 종양 세포와 태생기 세포에 많은 양의 vitamin B₁₂가 축적된다. Rigby와 Bodian¹⁶⁾은 C1300 신경모세포종과 PWAZ 섬유육종에서 방사표지 vitamin B₁₂의 축적을 보고하였고, Miller 등¹⁷⁾은 hamster methyl-

한 역할을 하리라 생각된다. 조절군으로 사용되었던 MMSV/3T3 종양을 주사한 마우스영상에서는 종양의 vitamin B₁₂의 섭취정도나 종양내 정상조직의 섭취비가 전부 중중도 정도를 보여 사진상은 구별이 뚜렷하게 되지는 않으나 그 결과치와는 잘 일치하였으며 이를 다른 종양과 비교할 때 대조영상으로 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

종양에 vitamin B₁₂의 섭취가 많이 됨이 보고된 반면 그 종양이 있는 주변의 정상조직보다는 섭취가 적다. Stein^{29, 30}은 갑암을 주사한 쥐에서 종양의 방사표지 vitamin B₁₂의 섭취가 정상 간보다 적었으며 간에 전이암에 있었던 환자에서 암세포의 방사표지 vitamin B₁₂의 섭취가 정상 간조직보다 적었음을 보고하였고, Cooperman¹⁹도 췌장과 부신종양에서 vitamin B₁₂의 섭취가 정상조직에 비해 적었음을 보고하여 vitamin B₁₂의 대사가 악성조직에서와 분열하고 있는 정상조직에서 차이가 남을 제시하였다. 본 연구에서도 상당수의 종양에서 종양에 비해 간의 섭취가 많음을 볼 수 있었다. 이런 차이가 면역성의 차이로도 생각해 볼 수 있겠다. 하지만 본 연구에서 Balb/C 마우스와 선천적으로 T 세포가 부족하여 면역결핍이 있는 누드 마우스에 MMSV/3T3 종양을 주사하여 종양 및 정상조직의 방사능섭취 분포를 비교한 결과 섭취정도는 약간의 차이가 있었으나 섭취 형태는 유사하였으며 종양내 정상조직의 방사능의 비는 거의 동일하여 종양 및 정상 조직에 vitamin B₁₂가 축적하는데에는 T 세포의 기능에는 관계가 없는 것으로 생각되었다. 또한 종양이 동일 종족이 아닌 경우 본 실험에서 사용된 누드마우스는 vitamin B₁₂의 종양섭취를 비교하는데 유효한 실험모델로 생각되었다.

방사표지된 vitamin B₁₂를 종양영상에 이용하게 되면 몇가지 잇점이 있는데 vitamin B₁₂는 인체에 과잉 사용해도 독성이 없으며 Bodian^{31, 32}은 신경모세포종을 가지고 있는 많은 소아에서 대량의 vitamin B₁₂를 사용하여 종양이 현저하게 퇴화함을 보고했으며 종양조직의 성숙을 증가시켜 신경절성 세포종으로 진행시킬 수도 있다고 하였다. 또한 cobalamin에는 여러가지 방사성동위원소를 부착시킬 수 있다. Cobalt의 동위원소중 ⁵⁷Co(EC: no β; γ

14.37, 121.94, 136.31 KeV)은 반감기(270일)가 길어서 실제로 종양영상을 위해 사용하기에는 적당하지 않으나, ⁵⁵Co는 반감기가 17 시간이고 발생기에서 모핵으로부터 얻어질 수 있고 β' 선 방출체로서 양전자방출단층촬영영상에 훌륭한 물질이 될 수도 있다. 또한 cobalamin 분자는 ¹⁹F와 불화(flourination)도 될 수 있어서 양전자방출단층촬영이나 핵자기공명 분광검사법을 하기에 훌륭한 물질이 될 수도 있다.

본 연구의 결과 방사표지 vitamin B₁₂는 종양에 많이 축적되는 종양친화성 물질로 종양내 정상조직의 방사능 비도 좋을 뿐만 아니라 위에 기술된 여러 가지 잇점과 함께 종양영상에 이용이 가능한 물질로서 사료된다.

요 약

종양영상과 치료에 이용할 수 있는 새로운 종양 친화성 물질을 발견하는 것은 핵의학 분야에서 중요하다. Vitamin B₁₂는 thymidylate 생합성과정에서 DNA 합성에 필수적인 조효소로서 분열속도가 빠른 세포와 조직 즉 태생기 세포와 일부 종양에 많은 양이 축적된다. 본 연구의 목적은 마우스에서 다양한 조직학적 형태의 종양에 의한 방사표지 vitamin B₁₂의 종양 친화성을 결정하여 ⁵⁷Co-vitamin B₁₂가 종양영상 물질로서 가능한지를 규명하려고 하였다.

17 종류의 종양을 Balb/C와 Balb nu/nu 누드마우스에 피하주사하였다. 종양이 직경 약 1.0 cm³ 되었을 때 ⁵⁷Co-methylcobalamin을 복강 내로 주사하였다. 24시간 후에 마우스를 희생하여 신장, 간, 종양, 비장, 뼈(우측 대퇴골), 장, 지방조직(복강내), 근육, 혈액(100 ul), 췌장을 제거하여 무게를 잰 후 gamma counter로 방사능을 측정하였고 cpm/mg tissue로 표시하였다. 이때 마우스 무게에 따른 차이를 없게 하기 위해 20g 몸무게로 표준화 하였다.

다양한 종류의 종양에서 ⁵⁷Co-vitamin B₁₂가 의 있게 축적되었고 종양내 정상조직의 섭취비도 대부분의 조직에서 높았으며 특히 배후 방사능에 중요한 영향을 미치는 뼈, 근육, 혈액에서 뚜렷하게 높았다.

본 연구의 결과 vitamin B₁₂는 종양친화성 물질로서 종양영상에 사용이 가능한 물질로 생각되며 앞으로 종양영상면에서 임상적 이용에 대한 더 많은 연구가 이루어져야겠다.

참 고 문 헌

- 1) Manuel LB, John BO, James HT, May LV, John WK: Gallium-67 Scintigraphy in Untreated and Treated Non-Hodgkin Lymphoma. *J Nucl Med* 1978;19:875-879
- 2) Susan RD, Robert GS, Gary DK, Joseph M, John LC: Evaluation with Ga-67 Imaging and CT Correlation. *Radiology* 1990;174:171-175
- 3) Front D, Ben-Hain S, Israel O: Lymphoma: Predictive Value of Ga-67 scintigraphy after treatment. *Radiology* 1990;182:359-363
- 4) Raynaud C, Comar D, Brusson M: Radioactive thallium: A new agent for scans of the renal medulla In Blaufox MD, Funck-Brenano JL, eds. *Radionuclides in Nephrology*. pp 289-294, Philadelphia, Grune and Stratton, 1972
- 5) Sehweil AM, Mckillop JH, Milroy R, Wilson R: Mechanism of Tl-201 in tumors. *Eur J Nucl Med* 1989;15:374-379
- 6) Hironobu O, Hisashi S, Teruo F: Thallium-201-Chloride Thyroid Scintigraphy to Evaluate Benign and/or Malignant Nodules: Usefulness of the Delayed Scan. *Cancer* 1982;50:236-240
- 7) Hisada K, Tonami H, Miyamae D: Clinical Evaluation of Tumor Imaging with Tl-201 Chloride. *Radiology* 1978;129:497-500
- 8) Aktolun C, Bayhan H, Kir M: Clinical Experience with Tc-99m MIBI Imaging in Patients with Malignant Tumors: Preliminary Results and Comparison with Tl-201. *Clin Nucl Med* 1992;17: 171-176
- 9) Kao CH, Wang SJ, Lin WY, Hsu, CY, Liao SQ, Yeh SH: Differentiation of Single Solid Lesions in the Lungs by means of Single-Photon Emission Tomography with Technetium-99m Methoxyisobutylisonitrile. *Eur J Nucl Med* 1993;20(3):249-254
- 10) Scott AM, Fracp MB, Larson SM: Tumor Imaging and Therapy. *Rad Clin N Am* 1993;31(4): 859-879
- 11) Freeman LM, Blaufox MD: Monoclonal Antibodies I and II. *Seminar in Nuclear Medicine*. 1989;19(3,4)
- 12) Woolfenden JM, Larson SM: Tumor Imaging using Radiolabeled Monoclonal Antibodies. In Gottschaek A, Hoffer PB, Potchen EJ, eds *Diagnostic Nuclear Medicine*, 2nd Edition, pp 1090-1097, Baltimore, Williams and Wilkins, 1988
- 13) DeLand FH, Goldenberg DM: Radiolabeled Antibodies: Radiochemistry and Clinical Applications. In Freeman LM, eds. *Freeman and Johnson's Clinical Imaging*. Orlando, Grune and Stratton, 1986
- 14) Babior BM: Cobalamin: Biochemistry and Pathophysiology. pp 289-333, *John Wiley and Son Inc*, 1975
- 15) Warnock SH, Collins DA, Morton KA: Comparison of tumor uptake and nuclear medicine imagines of gallium-67, thallium-201, and [Co-57]-vitamin B-12 in sarcoma-bearing mice. Proceedings, *Western Division, AFCR, Carmel, CA*, 1992
- 16) Rigby CC, Bodian M: Experimental Study of the Relationship between Vitamin B₁₂ and Two Animal Tumour Systems. *Brit J Cancer* 1963;17: 90-99
- 17) Miller A, Gaull G, Lemon HM, Ross JF: Studies on the Uptake of Vitamin B₁₂ in Carcinosarcoma. *Cancer Res* 1956;16:842-847
- 18) Flodh H, Ullberg S: Accumulation of Labelled Vitamine B₁₂ in Some Transplanted Tumours. *Intern J Cancer* 1968;3:694-699
- 19) Cooperman JM: Distribution of Radioactive and Nonradioactive Vitamin B₁₂ in Normal and Malignant Tissues of an Infnat with Neuroblastoma. *Cancer Res* 1972;32:167-172
- 20) Morton KA, Jones BJ, Sohn MH, Schaefer AE, Phelps RC, Datz FL, Lynch RE: Uptake of Cadmium Is Diminished in Transfected Mouse NIH/3T3 Cells Enriched for Metallothionein. *J Biol Chem* 1992;267(5):2880-2883
- 21) Miller A, Gaull JF, Lemon HM: The Distribution of Parenteral ⁶⁰Co Vitamin B₁₂ in Mouse, Hamster, Rat and Guinea Pig. *Proc Soc Exptl Biol Med* 1956;93:33-35
- 22) Cooperman JM, Tabenkin B, Drucker R: Growth Response and Vitamin B₁₂ Tissue Levels in Vitamin B₁₂ Deficient Rats and Chicks Fed Riboflavin, 5,6-Dimethylbenzimidazole and Related Compounds. *J Nutr* 1952;46:467-478
- 23) Couch JR, Orlando O: The Vitamin B₁₂ Content

- of Chick Tissues as Influenced by Diet. *J Nutr* 1950;42:337-345
- 24) Cooperman JM, Luhby AL, Teller DN, Marley JF: Distribution of Radioactive and Nonradioactive Vitamin B₁₂ in the Dog. *J Biol Chem* 1960; 235:191-194
- 25) Kline EA, Kastelic J, Ashton GC: Effect of Vitamin B₁₂, Cobalt and Antibiotic Feeding on the Composition of Pork Tissue of 100-pound Pigs. *J Nutr* 1955;56:321-334
- 26) Glass GBJ: Gastric Intrinsic Factor and Its Function in the Metabolism of Vitamin B₁₂. *Physiol Rev* 1963;43:529-849
- 27) Rosenthal WS, Glass GBJ: Vitamin B₁₂ and the Liver. In Popper H and Schaffner F, eds. *Progress in Liver Disease*. Vol.3, pp 118-146, NY, Grune and Straton Inc, 1970
- 28) Cooperman JM, Luhby AL, Teller DN, Marley JF: Distribution of Radioactive and Nonradioactive Vitamin B₁₂ in the Dog. *J Biol Chem* 1960; 235:191-194
- 29) Stein O, Stein Y, Aronovitch J, Grossowicz N, Rachmilewitz M: Isotope and Microbiological Studies of Vitamin B₁₂ Distribution in Normal and Hepatoma-bearing Rats. *Cancer Res* 1958;18:849-852
- 30) Stein Y: Detection of Space Occupying Lesions of the Liver by Directional Counting of ⁶⁰Co-Labelled B₁₂. *J Lab Clin Med* 1960;56:290-293
- 31) Bodian M: Neuroblastoma. An Evaluation of Its Natural History and the Effects of Therapy with Particular Reference to Treatment by Massive Doses of Vitamine B₁₂. *Arch Diseases Childhood* 1963;38:606-619
- 32) Bodian M: Neuroblastoma. *Pediat Clin N Am* 1959;6:449-472