

마우스 CT26 종양에서 Tc-99m 표지 플루란유도체의 저류 특성

전남대학교병원 핵의학과,¹ 조선대학교 약학대학,² 충남대학교병원 핵의학과³

허영준,¹ 송호천,¹ 범희승,¹ 나건,² 김성민³

Retention Characteristics of Tc-99m-Pullulan-Derivatives in CT26 Tumor of Mice

Young-Jun Heo, M.D.,¹ Ho-Chun Song, M.D.,¹ Hee-Seung Bom, M.D.,¹ Kun Na., Ph.D.,² Seong Min Kim, M.D.,³

Department of Nuclear Medicine, Chonnam National University Hospital, Gwangju, Korea,¹ College of Pharmacy, Chosun University,² Department of Nuclear Medicine, Chongnam National University Hospital, Daejeon, Korea³

Abstract

Objective: Pullulan derivatives (PD) can be used to make self-assembled hydrogel nanoparticles which are responsive to ionic strength. The aim of this study is to evaluate the potential of PD as a retaining carrier of radioisotope inside tumors. **Materials and Methods:** Four types of PD were evaluated which included pullulan acetate (PA), succinylated PA (SPA), PA-DTPA and SPA-DTPA conjugates. They were radiolabeled with Tc-99m. Labelling efficiencies were determined at 30 min, 1, 2, 4 and 12 hours after radiolabeling. CT-26 colon cancer cells were subcutaneously injected into Balb/c mice. After 2 weeks of subcutaneous injection, Tc-99m-labelled PD (Tc-99m-PD) were injected into the tumors. Whole body images of mice were obtained at 30 min, 1, 2, and 12 hr after intratumoral injection. All twenty mice were grouped into four groups by largest diameter; control A (largest diameter = 5 mm, n = 5), control B (largest diameter = 10 mm, n = 5), pullulan A (largest diameter = 5 mm, n = 5), pullulan B (largest diameter = 10 mm, n = 5). Dynamic images were obtained for 1 hour after intratumoral injection. Static images were obtained at 1 hr, 2 hr, 3 hr and 4 hr after intratumoral injection with Tc-99m pertechnetate and Tc-99m-PA. Target-to-background ratios and retention rates were calculated. **Results:** Labeling efficiencies of PA, SPA, PA-DTPA and SPA-DTPA were $94.5 \pm 5.9\%$, $97.8 \pm 3.5\%$, $94.2 \pm 3.8\%$, and $92.5 \pm 6.2\%$, respectively ($p > 0.05$). Percent retention rates (%RR) of PA and PA-DTPA were significantly higher than those of control, however, those of SP-DTPA and SPA became similar to control at 4 and 12 hr, respectively. %RR of pullulan A and pullulan B at 1, 4 and 8 hr is significantly higher than that of control ($p < 0.05$). However, %RR between pullulan A and pullulan B were similar. **Conclusion:** The ionic strength dependent PD-nanoparticles are retained in the tumor. No difference of %RR according to tumor size was noted. Therapeutic application of PD labelled with beta- or alpha- emitting radionuclides can be expected.

Key Words: Pullulan derivatives; Tc-99m; mouse; CT26; retention.

Received December. 1, 2003; accepted December. 18, 2003

Corresponding author: Hee-Seung Bom, M.D.,

Department of Nuclear Medicine, Chonnam National University Hospital,

Tel: 062-220-5641 Fax: 062-232-0232 E-mail: hsbom@jnu.ac.kr

이 연구는 과학기술부 원자력 중장기 연구비(M20333010001-03A0726-00113)보조로 수행되었음

Running Title: Tc-99m-Pullulan-Derivatives in CT26 Tumor

서 론

플루란(pullulan)은 흑효모라고 불리는 *Aureobasidium pullulans*가 세포외로 생산하는 수용성 다당류이다. *A. pullulans*은 검은 색소를 생산하는 양조장에서의 오염균이고 주변식물이나 가옥의 벽면, 지붕기와 등에 잘 번식하는 미생물이다. 플루란은 주로 3개의 글루코스가 α -1, 4 결합된 말토트리오스가 α -1, 6 결합으로 반복 결합된 직쇄상의 글루칸이며, 플루란은 무미무취하고 부정형의 백색분말로 각종 독성, 변이원성 시험결과에 아무 문제가 없어 일본에서는 식품으로 인가되었다.¹⁾ 플루란은 화학적으로 합성된 일반 고분자 재료와는 달리 장내세균의 pullulanase나 isopullulanase 등에 의해 쉽게 생분해되어 포도당으로 바뀌는 무독성 고분자이다.²⁾

플루란으로 제조한 나노 입자는 이온 세기에 따라 민감하게 모양이 달라진다. 즉 플루란 나노입자들은 이온 세기가 없는 증류수 (이온강도 = 0)에서는 안정한 상태로 존재하지만, 혈액이나 다른 인체 내 분비액 (이온강도 = 0.15)의 이온 세기에서는 분해된다.³⁾

중양 조직이 커짐에 따라 pH가 낮아지고 이에 따라 이온세기가 높아지기 때문에 저자는 플루란 나노입자를 중양 조직 내에 주사하면 이들이 서로 뭉치게 되어 오랫동안 머물러 있을 수 있으리라는 가설을 세우고, 이 가설을 증명하기 위해 플루란 나노입자를 technetium-99m (Tc-99m)으로 표지하여 생쥐에 이식한 CT26 대장암 조직 내에 주사한 후 종양 조직내에서 이들이 얼마나 머무르는지 평가해보았다.

대상 및 방법

1. 생체적합성 나노물질, pullulan 유도체 합성

가. Pullulan acetate (PA) 합성

Na 등⁴⁾의 방법에 따라 pullulan을 아세틸화하기 위해 pullulan 2 g을 formamide 20 ml에 분산시킨

후 50℃에서 격렬히 교반하여 용해한 다음, pyridine 60 ml 과 acetic anhydride 150 ml를 첨가하여 54℃에서 48시간 동안 반응시켰다. 증류수 200 ml를 이용하여 침전시킨 다음, 원심분리하고 세척 및 투석 단계를 거쳐 플루란 아세테이트를 제조하였다. 합성된 PA는 fourier transform infrared (FT-IR, Nicolet, Magna IR 50) spectroscopy, nuclear magnetic resonance (NMR), 그리고 gel permeation chromatography (GPC)를 통해 합성여부를 판단하였으며 pullulan의 글루코스 한 unit 당 1.16 unit의 아세틸그룹이 반응되었다. PA의 화학적 구조식은 Fig. 1a와 같다.

나. Succinylated pullulan acetate (SPA) 합성

PA에 carboxyl group을 도입하기 위해, succinic anhydride를 이용하여 SPA를 제조하였다. PA 5 g을 정제된 1,4-dioxane 200 ml에 용해한 후 succinic anhydride 2.2g과 4-dimethylaminopyridine 2g 그리고 triethyl amine 1.8g을 첨가하였다. 제조된 혼합물은 질소가스 하에서 24시간 동안 실온으로 반응한 다음, 회전 증발기를 이용하여 1,4-dioxane을 제거하였다. 반응하지 않은 succinic anhydride를 제거하기 위해 carbon tetrachloride 300 ml에 용해하였으며 여과를 거친 후 100~150 ml로 농축한 다음 4℃ diethyl ether를 이용하여 침전시켰다. Succinylation의 정도는 PA의 글루코스 한 unit 당 0.54 unit의 carboxyl group이 반응되었음을 H-1-NMR과 GPC를 통해 확인하였다. SPA의 화학적 구조식은 Fig. 1d와 같다.

다. PA 및 SPA와 diethylenetriamine pentaacetate (DTPA)의 접합체 합성

DTPA는 N,N-dimethyl-3-aminophenol (DMAP)을 이용한 에스테르 반응에 의해 PA와 SPA내로 도입하였다. PAe 1g 또는 SPA 1g을 dimethyl sulfoxide (DMSO) 50 ml에 용해 한 후 anhydrous DTPA 500 mg와 DMAP 100 mg 그리고 triethyl amine 50 mg을 첨가하였다. 실온에서 24시간 동안 반응시킨 다음 여과시킨 후 3일 동안 투석막(molecular cut-off 12,000)을 이용하여 3-6시간 간격으로 증류수를 바꾸어가며 투석하였다. Diethyl ether와 증류수를 이

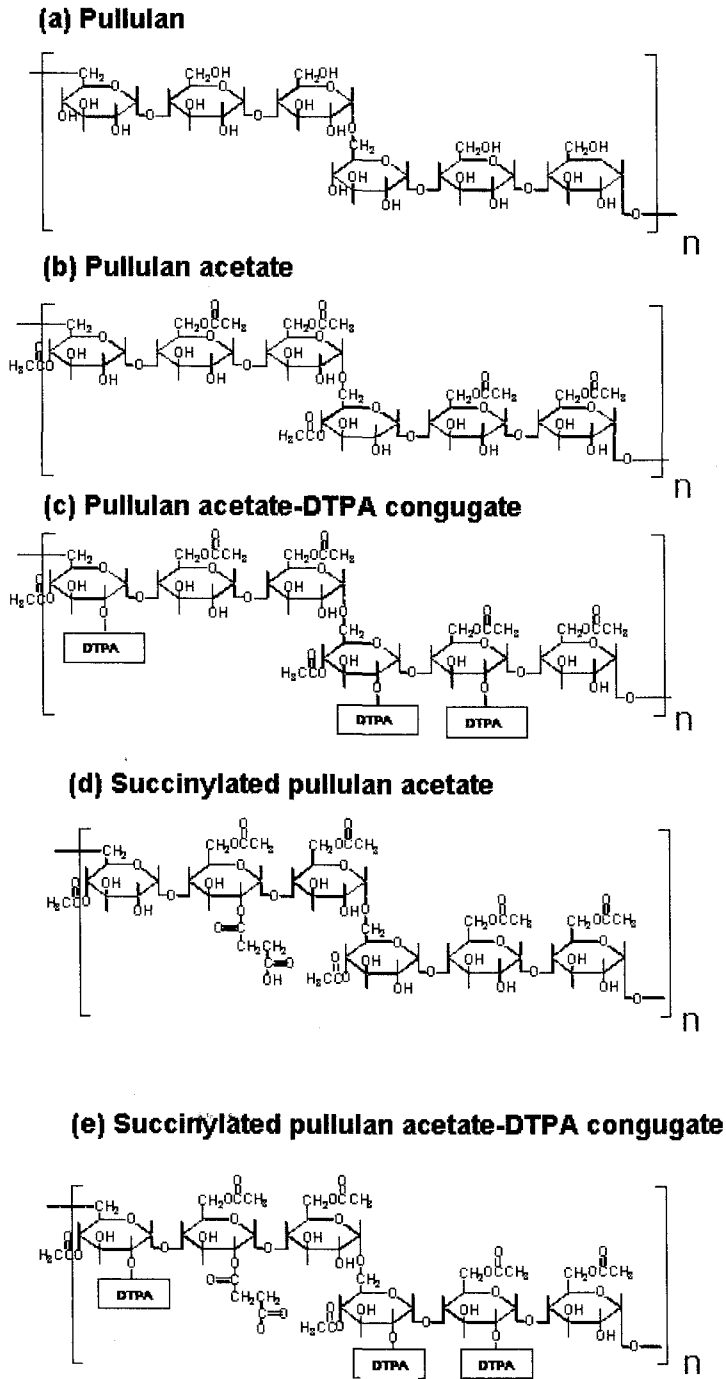


Fig 1. Chemical structures of (a) pullulan, (b) pullulan acetate (PA), (c) PA-DTPA conjugate, (d) succinylated pullulan acetate (SPA), and (e) SPA-DTPA conjugate.

용하여 세척을 반복하고, 여과 과정을 거친 다음 동결건조하였다. 미반응물을 완전히 제거하기 위해 얻어진 반응물을 다시 DMSO에 용해하고 증류수로 투석하는 과정을 3번 반복하여 실행하였다. PA 및 SPA와 DTPA 접합체의 화학적 구조식은 Fig. 1c 및 1e와 같다.

라. PA 유도체를 이용한 자가응집 나노입자의 제조

나노입자는 diafiltration method (molecular cut-off 12,000)를 이용하여 제조하였다. 치환도가 다른 PA를 각각 50 mg씩 DMSO 20 ml에 용해하고 3일동안 실온에서 증류수로 투석을 행한 다음 0.45 μm 여과지를 이용하여 여과하였다.

마. 입자 크기와 분포 측정

제조된 나노입자의 크기는 dynamic light scattering (Zetasizer 3000, Malvern Instruments LTD., UK)를 이용하여 측정하였고, argon ion laser beam의 파장은 488 nm이었으며, 접촉각은 90°였다. 각 시료는 0.45 μm 여과지로 여과하여 cylindrical cell (직경 10 mm)에 담아 1.0 mg/mL 농도로 측정하였다.

2. Pullulan 유도체에 Technetium-99m pertechnetate (Tc-99m-O⁴⁻)의 표지

주석산(stannous agent)가 들어있는 RBC 표지용 바이알 (Nycomed Amersham plc., Amersham, UK)에 Tc-99m-O⁴⁻ 4 ml (75 mCi)를 첨가하고, 준비된 PA를 2.5 ml씩 새 진공 바이알에 넣었다. 여기에 이미 만들어 놓은 주석산과 Tc-99m-O⁴⁻ 혼합액 1 ml를 PA가 들어있는 진공바이알에 넣고, 상온에서 10분간 반응시켰다. 반응시킨 바이알에서 0.2 ml (3.75 mCi)를 1 ml 주사기에 담아 주사하였다. PA, SPA와 SPA-DTPA도 같은 방법으로 표지하였다. 표지효율은 생리식염수와 아세톤을 각각 이용하여 thin layer chromatography (ITLC-SG, Gelman Sciences, Ann Arbor, MI)로 표지 직후, 30분, 1시간, 2시간, 4시간과 12시간째 각각 측정하였다.

3. 동물실험 및 영상

가. 종양모델

마우스 대장선암으로부터 유도된 CT26 세포들이

5% CO₂와 95% 공기의 37°C에서 fetal bovine serum 10%, penicillin-streptomycin 2 unit/ml, vitamins, sodium pyruvate 1 mM, L-glutamine 2 mM 그리고 비필수아미노산들로 채워진 modified Eagle's medium (MEM)에서 배양하였다. 세포들은 5분 동안 trypsin-EDTA로 처리한 후 실온에서 5분 동안 1000xg에서 원심 분리한 후 1×10⁴ viable cell/50 μl HBSS의 마지막 농도로 재부유화 하였다. 모든 세포 배양 시약은 Life Technologies, Inc. (Grand Island, NY, USA)로부터 구입하였다.

사용된 마우스는 모두 음성으로 Balb/C 마우스 (주령 약 10주, 몸무게 20~30g)를 사용하였다. CT26 세포 1 × 10⁵개를 마우스 우측 등에 피하주사하고 약 2주간에 걸쳐 종양이 생긴 것을 관찰하였다.

나. 종양이식 백서의 scintigraphy

1) Pullulan 유도체의 종양 내 저류

Pullulan 유도체의 종양 내 방사성동위원소의 전달 정도를 알아보기 위하여 총 30마리에서 6마리씩 5개 군으로 나누었다. 대조군은 종양 내 Tc-99m-TcO⁴⁻ 0.45 mCi를 주사하였고, 나머지 4개 군은 Tc-99m 표지 PA, PA-DTPA, SPA, SPA-DTPA를 각각 0.45 mCi 씩 종양 내로 주사하였다. 쥐를 실험용 판에 고정된 후 저에너지 평행구멍조준기가 장착된 감마카메라(ZLC, Germany)를 이용하여 주사 직후, 1시간, 2시간, 4시간과 12시간째 각각 50만 계수의 정적 영상을 얻었다.

2) 종양의 크기에 따른 PA의 종양내 저류 비교

음성 Balb/C 마우스(주령 약 10주, 몸무게 20 ~ 30g)에 CT26 세포 1 × 10⁵개를 마우스 우측 등에 피하 주사하고 종양의 장경이 5 mm 일 때와 10 mm 일 때에 Tc-99m-TcO⁴⁻와 Tc-99m-PA를 각각 0.45 mCi 를 종양 내로 주사하였다. 실험용 판에 고정된 후 저 에너지 평행구멍조준기가 장착된 감마카메라 (ZLC, Germany)를 이용하여 주사하여 1시간동안 각 프레임당 30초 간격으로 연속영상을 얻은 후 1시간, 2시간, 3시간과 4시간째 각각 50만 계수의 정적 영상을 얻었다.

다. 영상분석

주사 직후, 1시간, 2시간, 4시간과 12시간째 얻어진 5개 군의 영상에서 관심영역(region of interest, ROI)을 종양, 갑상선, 위, 방광과 배후방사능은 좌측 대퇴부에 비슷한 크기의 관심영역을 그려, 각각 방사능계수를 얻었다. 얻어진 방사능계수를 이용해 장거나 종양 대 배후방사능 비를 구하였다. 종양 내 방사성동위원소의 %저류율(% retention rate, %RR)은 검사 직후 초기 방사능계수, 1시간, 2시간, 4시간과 12시간째 얻어진 방사능계수를 주사 직후 종양 내 방사능계수에서 빼서 이것을 처음 방사능계수로 나누어 100을 곱하여 구하였다.

종양 크기에 따라 나누어진 4개 군의 동적영상을 이용하여 시간 방사능 곡선을 얻어, 각각의 군간에서 %RR을 비교하였다.

4. 통계처리

각 자료는 평균 \pm 표준편차로 기술하였다. 모든 자료는 윈도우용 SPSS 소프트웨어(Version 11.0, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA)를 이용하여 각 자료의 정규분포여부와 각 기술통계를 시행하였다. 그리고 각 군간의 종양 크기 차이는 Students' t-test를

이용하였고, 표지효율과 방사성동위원소의 저류율은 ANOVA를 이용하여 비교하였다. 모든 통계적 검정에서 p 값은 0.05 미만인 경우를 유의하다고 평가하였다.

결 과

1. Pullulan 유도체를 이용한 나노입자의 제조

Dynamic light scattering (DLS)으로 측정된 입자의 크기는 60~280 nm이었다. PA 및 SPA 나노입자의 크기는 각각 60~230 및 200~240 nm였다. PA-DTPA 및 SPA-DTPA 나노입자의 크기는 각각 200~240 및 180~280 nm였다(Fig 2).

2. Pullulan 유도체의 표지효율(Fig 3)

Tc-99m 표지 직후, 30분, 1시간, 2시간, 4시간과 12시간에 측정된 표지효율은 다음과 같았다. 즉, PA는 97%, 96%, 98%, 94%, 99%와 83%였고, SPA는 97%, 100%, 99%, 100%, 100%와 91%였다. PA-DTPA는 98%, 96%, 95%, 87%, 96%와 93%였고, SPA-DTPA는 96%, 94%, 90%, 97%, 97%와 81%였다. Tc-99m 표지효율은 pullulan 유도체 간에

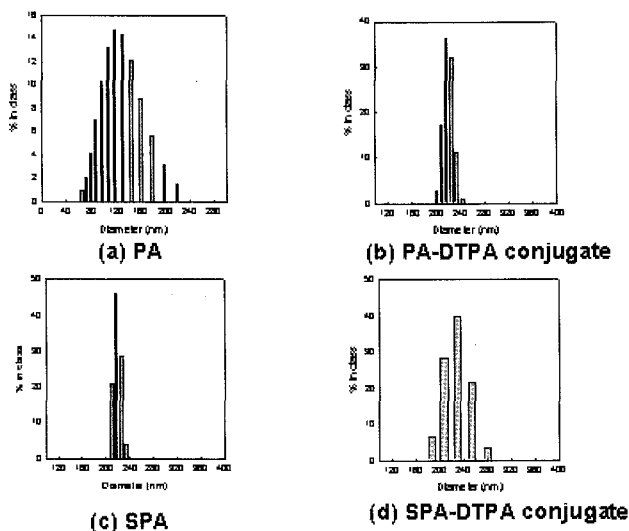


Fig 2. The size distribution of pullulan-derivatives with dynamic light scattering. Abbreviations: See Fig. 1.

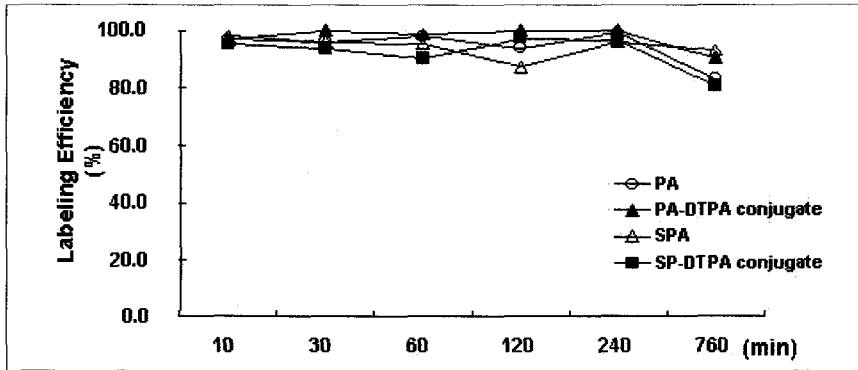


Fig 3. Labelling efficiencies (LE) of PA, PA-DTPA, SPA and SPA-DTPA with Tc-99m pertechnetate for 12 hours. There was no significant difference of LE among them. Abbreviations: See Fig. 1.

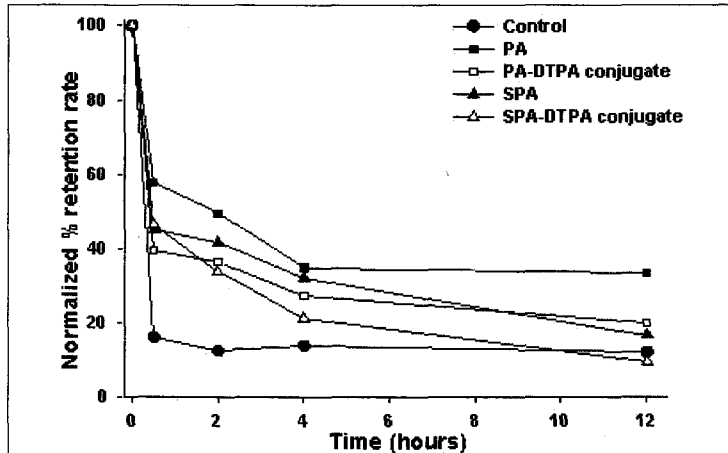


Fig 4. Tumor-to-background radioactivity ratios after intratumoral injection of Tc-99m pertechnetate as control (n = 4), Tc-99m-PA (n = 4), Tc-99m-PA-DTPA (n = 4), Tc-99m-SPA (n = 4) and Tc-99m-SPA-DTPA (n = 4). Abbreviations: See Fig. 1.

통계적인 차이가 없었다($p = 0.597$).

3. 마우스에 이식된 CT26 종양에서 pullulan 유도체의 저류 특성

Tc-99m- O^4 을 주사한 대조군에서 주사 직후 영상에서 종양 내 방사능과 함께 갑상선, 위 그리고 방광 내 방사능이 관찰되었고, 12시간 지연영상에서 종양 내 방사능은 거의 남지 않아 매우 빠른 배출이 관찰되었다.

Pullulan 유도체의 경우, 12시간 지연영상까지 갑상선과 위의 방사능은 전혀 보이지 않았으나 방광

내와 배설된 방사능만 관찰되었다. 종양 내 방사능은 12시간까지 관찰되었다.

Tc-99m-PA와 Tc-99m-PA-DTPA의 %RR은 대조군에 비해 유의하게 높았으나($p < 0.05$), SPA는 4시간까지 그리고 SP-DTPA는 2시간까지만 대조군보다 %RR이 높았을 뿐 그 이후에는 대조군과 유사한 %RR을 보였다(Fig 4).

종양의 크기에 따라 pullulan 유도체의 %RR이 다른지 알아보기 위하여 Tc-99m-Tc O^4 와 Tc-99m-PA 주사후 4시간까지 촬영한 정적영상의 예를 Fig. 5에 보였다. 1시간 동안 동적영상을 이용하여 측정하

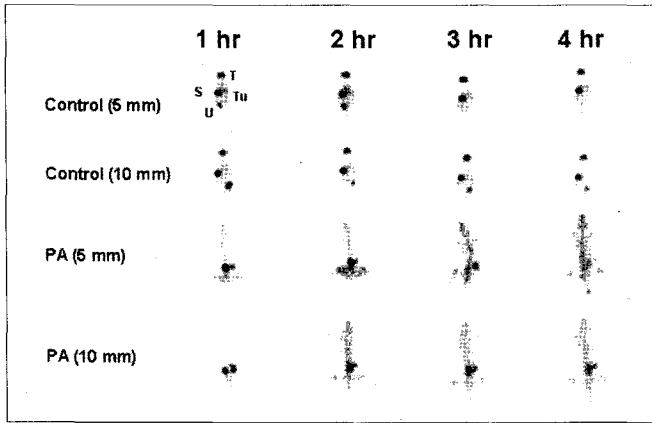


Fig 5. Planar images of mice after intratumoral injection of Tc-99m pertechnetate (control) and Tc-99m-PA according to the size of tumor (diameters of 5 mm and 10 mm). PA: pullulan acetate; T: thyroid; S: stomach; U: urinary bladder; Tu: tumor.

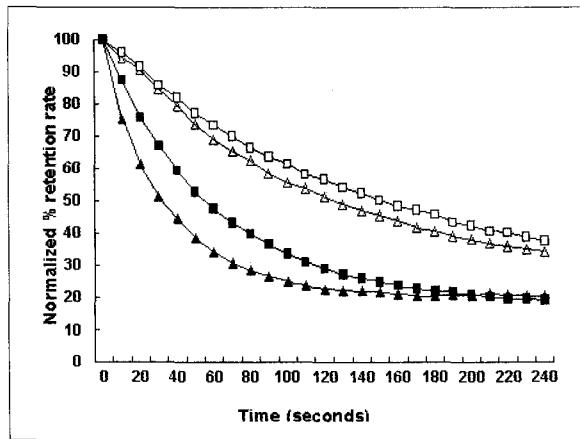


Fig 6. The normalized %retention of tumor after intratumoral injection of Tc-99m pertechnetate and Tc-99m-PA according to the size of tumor (diameters of 5 mm and 10 mm). PA: pullulan acetate. Normalized percent retention rates (NPRRs) PD were significantly higher than that of control($p < 0.05$) NPRRs of PA-5 mm and PA-10 mm were similar ($p > 0.05$).

%RR의 변화를 보면 종양의 크기와 상관없이 Tc-99m-PA군에서 높은 %RR을 보임을 알 수 있었다(Fig 6).

고 찰

이 논문에서는 pullulan 유도체를 다양하게 제작

하여 Tc-99m으로 표지하였으며, 이를 이용하여 Balb/c 마우스에 이식한 CT26 종양 조직 내에 이들이 저류됨을 관찰하였다. 따라서 이온강도가 높은 신체 조직 내에 PD가 응집하여 저류할 것이라는 본 논문의 가설은 성립하는 것으로 판단된다.

많은 환경 친화적인 생분해성 고분자 중에서 pullulan은 우수한 기계적 물성과 필름 형성 능력이 뛰

어난 장점과 식용인 점 때문에 식품 포장은 물론 접착 용 필름, 건축자재용, 제지용, 광 민감 수지, 의료용과 같은 다양한 분야에 이용할 수 있어 생산성 문제로 비록 경제성이 떨어짐에도 불구하고 일본 등에서 실용화가 이루어지고 있다.^{5,11)} 본 연구에서 제작한 pullulan 유도체의 크기는 60-280 nm으로 나노입자가 형성되었음을 알 수 있었고, 합성된 물질이 많을수록 입자의 크기는 증가된다는 사실도 알 수 있었다. 이렇게 제작된 pullulan 유도체 나노입자는 실온에서 그냥 섞어주기만 하여도 Tc-99m 표지효율이 95% 이상이었으며, 12시간까지 80% 이상의 높은 표지효율이 지속되었다. 이는 Dansereau 등¹³⁾이 보고한 dextran을 이용한 Tc-99m 표지 효율과 방사성의약품의 안정성(stability)의 결과와 비슷한 양상을 보인다. PD 나노입자가 높은 Tc-99m 표지효율을 보이는 이유는 플루란 유도체의 카르복실기(COO⁻)의 비공유전자쌍(lone electron pair)이 환원된 테크네슘과 배위공유 결합(coordinate covalent bond)을 형성하여 착화(chelating)하기 때문¹⁴⁾이라고 사료된다.

Pullulan은 이온강도가 높아지면 저절로 서로 응집하는 성질을 보이기 때문에 이를 체내에 투여하면 조직내에서 응집하여 다른 곳으로 이동하지 않을 것이라는 가정을 세울 수 있다. 실제로 본 연구에서 Tc-99m 표지 PD 나노입자를 Balb/c 마우스에 이식한 CT26 종양 조직 내에 직접 투여하고 12시간까지 관찰한 결과 이들이 종양조직 내에 안정적으로 저류한다는 사실을 알 수 있었다.

이 연구에서 몇가지 다양한 PD를 제작하여 Tc-99m 표지효율과 종양내 저류율을 비교해보았는데, 이 중에서 PA의 저류율이 가장 높았다. 종양크기가 커지고 조직의 괴사가 일어나면 이온강도가 더 높아질 것으로 예측하고, 종양크기에 따라 Tc-99m 표지 PA 나노입자가 저류하는 정도가 달라지는지 알아보았으나, 본 연구결과에서는 종양 지름이 5 mm, 10 mm로 2배 차이가 있었음에도 서로간에 Tc-99m 표지 PA 나노입자의 저류율에 차이가 없었다. 송 등[3]은 같은 종류의 PA를 이용한 시험관 실험에서, PA가 증류수에서는 수십에서 수백 nm 정도의 크기를 보이다가 사람 체액의 이온강도인 0.15에서는 응집이 일어나며, 그 이상 이온강도

가 증가해도 응집하는 정도가 큰 차이를 보이지 않는다고 보고하였다. 따라서, 본 연구에서와 같이 종양의 크기에 약간의 차이가 나는 정도에 따라 종양 내부의 이온강도가 큰 차이가 나지 않을 수 있고, 또 약간의 이온강도 차이에 의해서 PA 나노입자의 응집력에 큰 차이가 나지 않을 것이므로, 실제로 종양의 크기에 따라서 PA 나노입자의 저류율에는 차이가 나지 않을 것이 당연할 것으로 판단되지만, 보다 정확한 설명을 위해서는 추후 실험적인 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

플루란유도체(PD)로 만든 나노입자는 이온강도에 따라 뭉치는 수용성겔이다. 본 연구에서는 네 종류의 PD 즉, pullulan acetate (PA), succinylated PA (SPA), PA-DTPA와 SPA-DTPA 결합체를 합성한 후 Tc-99m으로 표지하고 표지효율과종양 내의 PD의 저류율을 측정하였다. PD는 종류에 관계없이 95% 이상의 높은 Tc-99m 표지효율을 보였고, 12시간 이상 안정적으로 높은 표지효율이 지속되었다. 종양내 저류율은 Tc-99m만 주사한 군에 비해 PD군에서 모두 유의하게 높았으나, PD군 사이에는 차이가 없었다. 종양 크기에 따라 PA군에서 측정된 저류율은 대조군보다는 의의있게 높았으나, 서로 간에는 통계적인 의의는 없었다. 결론적으로 PD가 종양 조직 내에 저류될 수 있음을 알았으며, 향후 방사성핵종을 이용한 종양치료에 활용이 기대된다.

요 약

배경: 플루란유도체(PD)로 만든 나노입자는 이온강도에 따라 뭉치는 수용성겔이다. 본 연구에서는 PD가 방사성핵종을 종양 조직 내에 효과적으로 머무르게 할 수 있는지 알아보려고 하였다. **방법:** 네 종류의 PD 즉, pullulan acetate (PA), succinylated PA (SPA), PA-DTPA와 SPA-DTPA 결합체를 합성한 후 테크네슘-99m(Tc-99m)으로 표지하고 표지효율을 측정하였다. Balb/c 생쥐에 CT26 대장암세포를 피하주사하고 2주 후에 Tc-99m 표지 PD(Tc-PD)를 종양 내에 주사하였다. 주사직후와 30분, 1, 2, 4, 12 시간 후에 감마카메라로 생쥐를 촬영하여 종양 내의 Tc-PD의 저류율을 측정하였다. 종양크기에 따라

각각의 암의 직경이 5 mm와 10 mm일 때 Tc-99mper-technetate와 Tc-99m 표지 PA를 종양 내 주사하여, 주사 직후 1시간 동적영상을 얻고, 1시간, 2시간, 3시간 그리고 4시간 후에 감마카메라로 생쥐를 촬영하여 종양 내의 저류율을 측정하였다. 결과: PA, SPA, PA-DTPA 및 SPA-DTPA의 Tc-99m 표지율은 각각 $94.5 \pm 5.9\%$, $97.8 \pm 3.5\%$, $94.2 \pm 3.8\%$, $92.5 \pm 6.2\%$ 로 서로간에 유의한 차이가 없었다 ($p>0.05$). Tc-99m-PA와 Tc-99m-PA-DTPA의 %RR은 대조군에 비해 유의있게 높았으나($p<0.05$), SPA는 4시간 까지 그리고 SP-DTPA는 2시간까지만 대조군보다 %RR이 높았을 뿐 그 이후에는 대조군과 유사한 %RR을 보였다. 종양의 크기에 따라 PA군에서 측정된 저류율은 대조군보다는 유의있게 높았으나, 직경이 5 mm와 10 mm일 때의 저류율 간에는 차이가 없었다. 결론: PD가 종양 조직 내에 저류될 수 있음을 알았으며, 종양 크기에 따른 저류율의 차이는 없었다. 향후 PD와 치료용 방사성핵종을 이용한 종양 치료에 활용할 가능성을 기대할 수 있을 것으로 사료되었다.

References

- 1) 이기영, 조종수 역. *생분해성 고분자*. 광주, 전남대학교 출판부, 1998. p. 105-113.
- 2) Yeun S. Japanese develop starch-derived palstic. *Chem Eng News* 1973;24:40-4.
- 3) 송호천, 허영준, 신찬호, 나진, 범희승, 이창문, 이기영. CT-26 대장암 마우스모델에서 종양 내 주입된 Rhenium-188 표지 생분해성 플루란 나노입자의 치료효과(Abstract). *대한핵의학회지* 2003;37:82P.
- 4) K. Na, Y.H. Bac. Self-assembled hydrogel

nanoparticles responsive to tumor extracellular pH from pullulan derivative/sulfonamide conjugate: Characterization, aggregation and adriamycin release in vitro. *Pharmacol. Res.* 2002;19:681-7.

- 5) Yeun S. Pullulan and its applications. *Process Biochem* 1974;22:7-15.
- 6) Sakano Y, Masuda N, Kobayashi T. Production of pullulan from starch substrate. *Agri Bio Chem* 1973;35:971-82.
- 7) Ohta K, Mitsuyuki H, Miyamoyo H, Kwawahara K. Prolonged dissolution of tablets prepared from pullulan mixed konjac mannan. *Kobunshi Rundunchu* 1985;42:817-22.
- 8) Buneel D, Schact E. Chemical modification of pullulans: 1. Periodate oxidation. *Polymer.* 1993;34:2628-32.
- 9) Buneel D, Schact E. Chemical modification of pullulans: 2. Chloroformate activation. *Polymer.* 1993;34:2633-40.
- 10) Li ZC, Fu F, Hwang MZ, Lian N. Functionalization of C.A.B for pro-drug delivery systems. *J Macromol Sci-Chem.* 1988;25:1487-92.
- 11) Brandrup J, Immergut EH. *Polymerhandbook*, Chap.3, 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York, USA. 1975
- 12) Boam JM, Jacques M, LeDuy A. Pullulans from peat hydrate fermentation kinetics. *Biotechnol Bioeng* 1984;30:463-70.
- 13) Dansereau NR. Clinical production of pharmaceutical grade Tc-99m dextran 70 for lymphoscintigraphy. *Clin Nucl Med* 2000;25: 179-81.
- 14) Saha GB. *Fundamentals of nuclear pharmacy*. 3th ed. New York: Springer; 1998. p.80-111.