

Dimethylnitrosamine 유발 급성 간 손상 흰쥐에서 ^{99m}Tc-Lactosylated Serum Albumin을 이용한 간 기능의 평가

경북대학교 의과대학 핵의학교실, 서울대학교 의과대학 핵의학교실¹, 영남대학교 의과대학 약리학교실²
정신영, 이재태, 서명량, 유정아, 배진호, 안병철, 황재석, 정재민¹, 하정희², 이규보

Evaluation of Liver Function Using ^{99m}Tc-Lactosylated Serum Albumin Liver Scintigraphy in Rat with Acute Hepatic Injury Induced by Dimethylnitrosamine

Shin Young Jeong, Jaetae Lee, Myungrang Seo, Jeong Ah Yoo, Jin Ho Bae, Byeong Cheol Ahn, Jae Seok Hwang, Jae Min Jeong¹, Jeong-Hee Ha², Kyu Bo Lee

Department of Nuclear Medicine, Kyungpook National University School of Medicine, Seoul National University School of Medicine¹, Department of Pharmacology, Youngnam University School of Medicine², Daegu, Korea

Abstract

Objects: ^{99m}Tc-lactosylated human serum albumin (LSA) is a newly synthesized radiopharmaceutical that binds to asialoglycoprotein receptors, which are specifically presented on the hepatocyte membrane. Hepatic uptake and blood clearance of LSA were evaluated in rat with acute hepatic injury induced by dimethylnitrosamine (DMN) and results were compared with corresponding findings of liver enzyme profile and these of histologic changes. **Materials and Methods:** DMN (27 mg/kg) was injected intraperitoneally in Sprague-Dawley rat to induce acute hepatic injury. At 3(DMN-3), 8(DMN-8), and 21(DMN-21) days after injection of DMN, LSA injected intravenously, and dynamic images of the liver and heart were recorded for 30 minutes. Time-activity curves of the heart and liver were generated from regions of interest drawn over liver and heart area. Degree of hepatic uptake and blood clearance of LSA were evaluated with visual interpretation and semiquantitative analysis using parameters (receptor index : LHL3 and index of blood clearance : HH3), analysis of time-activity curve was also performed with curve fitting using Prism program. **Results:** Visual assessment of LSA images revealed decreased hepatic uptake in DMN treated rat, compared to control group. In semiquantitative analysis, LHL3 was significantly lower in DMN treated rat group than control rat group (DMN-3: 0.842, DMN-8: 0.898, DMN-21: 0.91, Control: 0.96, p<0.05), whereas HH3 was significantly higher than control rat group (DMN-3: 0.731, DMN-8: 0.654, DMN-21: 0.604, Control: 0.473, p<0.05). AST and ALT were significantly higher in DMN-3 group than those of control group. Centrilobular necrosis and infiltration of inflammatory cells were most prominent in DMN-3 group, and were decreased over time. **Conclusion:** The degree of hepatic uptake of LSA was inversely correlated with liver transaminase and degree of histologic liver injury in rat with acute hepatic injury.

Key Word: lactosylated human serum albumin, dimethylnitrosamine, liver scintigraphy, asialoglycoprotein receptor

Received November. 25, 2003; accepted December. 18, 2003

교신 저자: 이재태

경북대학교 의과대학 핵의학교실 대구광역시 중구 삼덕 2가 50번지,

우편번호) 700-721

전화) 82-53-420-5586 전송) 82-53-422-0864 email) jaetae@knu.ac.kr

※ 본 연구는 한국 과학 재단 지정 경북대학교 생체 분자 공학 실용화 연구 센터의 지원에 의한 것입니다.

서론

간기능의 평가를 위한 영상진단법으로 간초음파와 방사성교질을 이용한 간신티그래피 등이 주로 이용되어 왔다. 간초음파는 간기능보다는 간의 해부학적인 정보를 제공하여 주어서 간종양의 발견이나 간경변, 지방간 등의 진단에 사용되고 있고, 방사성교질을 이용한 간신티그래피는 방사성교질의 간섭취 정도가 간기능을 간접적으로 나타내어주나, 이는 간실질 세포의 기능이 아닌 쿠퍼 세포 기능 정도를 나타내 주는 것으로 한계가 있다.¹⁾ 또한 ^{99m}Tc -IDA (iminodiacetic acid) 유도체를 이용한 간신티그래피는 간실질 세포에 비특이적으로 섭취되어 빠른 시간 내에 담도로 배설되므로 간기능의 정량적인 평가에는 적당하지 않고 간담도의 이상유무 판단에 사용되고 있다.²⁾

간세포막에 있는 아시알로 당단백 수용체 (asialoglycoprotein receptor, ASGP-R)는 체내 단백질의 이화작용에 관련되어 있고, ASGP-R을 영상화할 수 있는 ^{99m}Tc -gactosylated human serum albumin (GSA)이 개발되어 임상에 도입되었다. ^{99m}Tc -GSA의 간섭취 정도는 ASGP-R의 수를 반영하며 정상기능을 하고 있는 간세포의 수를 측정하는 예민한 지표가 될 수 있어, 급성 및 만성 간질환의 진단과 경과를 추적하고 간질환을 할 수 있는 간예비능을 측정할 수 있는 방법으로 알려져 있다.³⁻⁵⁾ 또한 ^{99m}Tc -GSA의 간섭취 정도는 간효소치의 변화 정도와 간조직 검사 소견과도 잘 일치하는 것으로 알려져 있다. 하지만 ^{99m}Tc -GSA는 합성상 불안정성이 있고, ^{99m}Tc 과 표지하기가 불편하여, DTPA 제제를 사용함으로써 인한 면역학적 반응이 문제로 제기되어 왔다.⁶⁻⁸⁾

갈락토스에 포도당이 붙어있는 락토스를 알부민에 접합시킨 화합물이 lactosylated human serum albumin (LSA)이다. LSA는 사람 혈청 알부민에 락토스를 결합하고 알부민의 다이설파이드를 환원하여 ^{99m}Tc 을 직접 표지하는 방법으로 새로이 개발되었다.⁹⁾ 이에 저자들은 ^{99m}Tc -LSA의 간섭취가 간기능 정도를 반영하는가를 평가하기 위해 간실질 세

포에 피사를 유발하는 dimethylnitrosamine (DMN)으로 간손상을 유발한 흰쥐에서 ^{99m}Tc -LSA의 간섭취의 측정값과 간효소와 간조직 검사 소견을 비교하였다.

대상 및 방법

실험동물 및 간손상 약제

실험동물로는 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley, 약 200g, 평균 연령 8주) 12마리를 사용하였다. 실험을 시행하기 전까지 실험동물들은 온도 $23\pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $55\pm 5\%$ 로 유지되는 항온항습 사육실에서 충분한 양의 먹이와 물을 공급받으면서 사육되었다. 간손상을 유발하기 위해 생리식염수에 녹인 DMN (Sigma Chemical Co, USA) 27 mg/kg을 복강내 주사하였으며, 대조군은 같은 용량의 생리식염수를 복강 내로 주사하였다.

방사성의약품

LSA는 0.2 M의 인화칼슘 buffer 50 mg에 680 mg의 사람 혈청 알부민을 완전히 녹인 후, 1 g의 α -lactose를 용해하였다. 그 후 1 g의 sodium cyanoborohydride를 혼합한 후 여과기로 여과하였다. 여과된 용액은 14일간 반응시켰고, 원심 분리하여 상층액을 모았다.

락토즈의 환원기는 항체에 ^{99m}Tc 을 표지할 때 사용하는 방법과 유사한 방법을 사용하였다.^{10,11)} 먼저 LSA 1 ml에 0.3 M의 EDTA 40 μl 와 1 M의 sodium bicarbonate 40 μl , 1.5 M의 β -mercaptoethanol을 첨가하여 섭씨 37° 에서 60분간 반응시킨 다음, 환원형 LSA를 Sephadex G-25 column을 이용하여 분리하였다. 분리된 용액은 단백질이 3 mg이 되도록 바이알에 나누어서 냉동건조를 시행한 다음 냉장고에 보관하였다.

냉동 건조된 3 mg의 환원형 LSA가 들어있는 바이알에 ^{99m}Tc 260 MBq를 3.6 ml의 생리식염수에 혼합하여 상온에서 15분간 반응시켜 표지하였다. ITLC (Umezawa) 및 50% bovine serum albumin impregnated paper chromatography/saline을 이용하여 측정된 표지효율은 95% 이상이었다. 영상촬영을

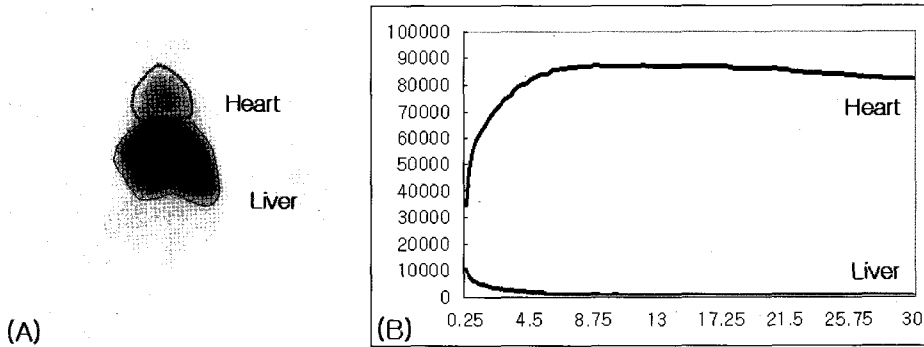


Fig 1. ^{99m}Tc-lactosylated human serum albumin images with heart and liver regions of interest (A) and time-activity curve obtained after the intravenous injection of a ^{99m}Tc-lactosylated human serum albumin in normal rat(B).

위해 ^{99m}Tc-LSA를 1665 ug/kg, 400 ul, 29 MBq를 흰쥐의 꼬리정맥을 통하여 순간 주사하였다.

실험 방법

염화케타민과 럼폰을 4:1로 섞은 마취약을 75 mg/kg의 용량을 복강내 주사하였다. 영상의 획득은 마취 후 복외위로 고정된 후 ^{99m}Tc-LSA를 꼬리정맥을 통하여 주사하며 동시에 바늘구멍 조준기를 장착한 단일헤드 감마카메라 (Basicam, Siemens, Germany)를 사용하여 화면당 15초의 속도로 30분 동안 동적 영상을 얻었으며, 화면당 90초의 연속적인 정적 영상도 동시에 획득하였다. 구하여진 동적 영상에서 심장과 간부위에 관심영역을 설정하고, 시간-방사능 곡선을 구하였다(Fig 1).

영상 획득 후 가슴을 절개하여 우심실을 통하여 혈액을 채취하였으며, 간을 적출하였다. 간손상을 평가하기 위해 채취한 혈액은 자동화학검사기 (HITACH 7170A Auto analysis, Japan)을 이용하여 aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT)를 측정하였고, 적출한 간은 hematoxylin-eosin 염색을 실시하여 간손상 정도를 조직학적으로 평가하였다.

분 석

12마리의 흰쥐에서 3마리는 대조군으로 DMN 대신 생리식염수를 주사하였으며, 각 3마리를 DMN

주사후 3일, 8일 그리고 21일에 영상을 획득한 후 간조직 및 혈액을 채취하였다.

각 군에서 얻어진 영상을 시각적 분석을 시행하였으며, 각 군에서 심장에서 방사능의 제거되는 정도와 간의 섭취를 비교하였다. Sasaki 등¹¹⁾이 제시한 간섭취지수와 혈액제거지수를 반정량적인 분석으로 사용하였다. 1분과 3분의 심장과 간의 방사능치를 이용하여 간섭취지수(receptor index: LHL3)를 혈액 제거지수(index of blood clearance: HH3)를 구하였고, 대조군과 DMN 처치군을 비교하였다. LHL3은 ^{99m}Tc-LSA의 간섭취 정도를 판단하는 것으로 3분 영상에서 간의 방사능 수치와 심장의 방사능 수치를 이용하여 간의 방사능 수치를 간과 심장의 방사능 수치의 합으로 나눈 값이고, HH3는 LSA의 혈중 제거 정도를 나타내는 지표로 3분 영상에서 심장의 방사능 수치를 1분 영상에서 심장의 방사능 수치로 나눈 값이다.

$$\text{receptor} \equiv \text{dex(LHL3)} = \frac{\text{LA at 3min}}{\text{LA at 3min} + \text{HA at 3min}}$$

$$\text{blood clearance} \equiv \text{dex(HH3)} = \frac{\text{HA at 3min}}{\text{HA at 1min}}$$

LA : liver activity

HA : heart area activity

Table 1. The Changes of Hepatic Enzymes in Rat with Dimethylnitrosamine-Induced Hepatic Injury.

Hepatic Enzyme	Control(n=3)	DMN-3(n=3)	DMN-8(n=3)	DMN-21(n=3)
AST	94.5±30.1	304±94.6*	93.7±31.8	122.3±36.3
ALT	31.8±5.9	113±34*	43.4±5.1*	44±1.7*

Data are Mean ± SD (standard deviation).

*: p<0.05, statistically significant difference, compared to control group

Control: normal rat

DMN-3: rat sacrificed 3 days after injection of DMN

DMN-8: rat sacrificed 8 days after injection of DMN

DMN-21: rat sacrificed 21 days after injection of DMN

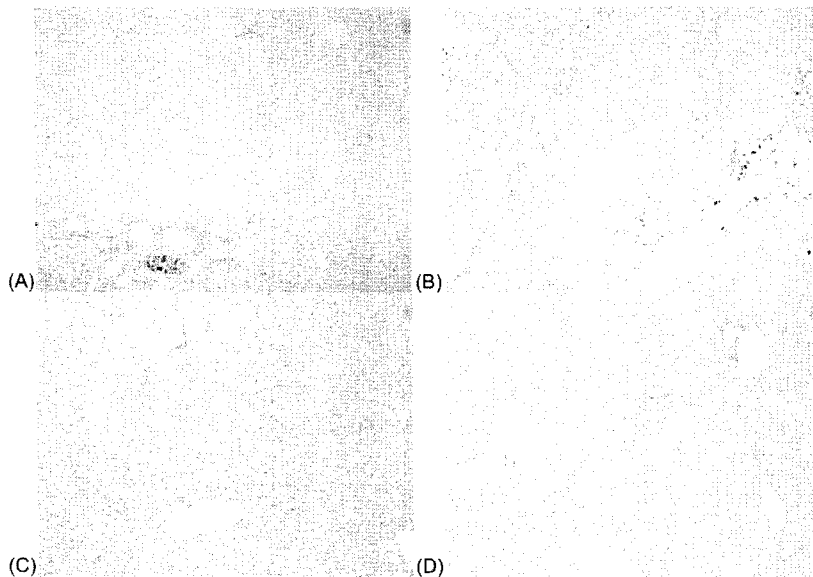


Fig 2. Light microscopy of the liver from normal rat and DMN treated rat. Light microscopy of liver shows normal hepatic parenchymas in normal rat (A). In rat sacrificed 3 days after administration of DMN, light microscopy of liver shows massive hepatic necrosis and hemorrhage around central vein (B). In rat sacrificed 8 (C), 21 (D) days after administration of DMN, light microscopy of liver show focal centrilobular necrosis. (Hematoxylin-eosin stain. X100)

시간 방사능 곡선은 Prism 프로그램(Graphpad, LA, USA)을 이용하여 역동학적 결합 자료 분석을 수행하고 곡선의 최적화로 얻어진 곡선에서 구하여진 수식 $Y = Y_{max} (1 - e^{-kx})$ 에서 섭취 그래프의 기울기를 유추할 수 있는 상수 K 값과 간방사능 섭취 값의 50% 방사능 섭취값에 도달하는 시간 $T_{1/2}$ 을 구하였고 이를 대조군과 DMN 투여군을 비교하였다.

결 과

DMN 투여 후 흰쥐에서 간효소치와 조직학적 간손상의 변화

DMN을 투여한 흰쥐의 간효소치는 대조군의 간효소치 AST 94.5±30.1 IU/L, ALT 31.8±5.9 IU/L와 비교하여 DMN 투여후 3일째에는 AST 304±94.6 IU/L, ALT 113±34 IU/L로 유의하게 증가하였고 (ALT: p= 0.047, AST: p=0.005), 8일째에는 AST

(ALT: $p=0.047$, AST: $p=0.005$), 8일째에는 AST 93.7 ± 31.8 IU/L, ALT 43.4 ± 5.1 IU/L로 호전되었으며, 21일째에는 AST 122.3 ± 36.3 IU/L, ALT 44 ± 1.7 IU/L로 8일째의 간효소 수치와 유사하였고, 대조군과 비교하여 AST는 유의하게 증가되었으나 ALT에서는 유의성은 관찰되지 않았다(8일 ALT: $p=0.058$, AST: $p=0.219$, 21일 ALT: $p=0.043$, AST: $p=0.019$)(Table 1).

병리 간조직의 광학현미경 소견상 DMN 투여후 3일째의 조직학적 간소견은 중심 정맥 주위에 염증 세포 침윤이 관찰되었으며, 간세포의 괴사 소견과 출혈 소견이 관찰되었다. DMN 투여후 8일째의 조직학적 간소견은 출혈소견은 관찰되지 않고 중심 정맥 주위로 미약한 정도의 염증 세포 침윤이 관찰되었으며, 21일째의 조직학적 간소견은 8일째의 간소견과 유사하게 나타나 염증 반응이 감소하면서 간세포가 재생되어 간실질이 회복되는 소견을 보여주었다(Fig 2).

시각적인 분석

대조군에서는 꼬리정맥을 통하여 ^{99m}Tc -LSA 주사 후 1분 30초 영상에서 높은 ^{99m}Tc -LSA 간섭취가 관찰되었으며, 6분 영상에서 심장부위의 방사능은 거의 소실되었다. DMN 투여후 3일째 흰쥐에서는 ^{99m}Tc -LSA 주사 후 1분 30초 영상에서 간부위보다 심장부위의 방사능이 높았으며, 낮은 ^{99m}Tc -LSA 간섭취가 관찰되었고, 심장부위의 방사능의 소실이 늦었다. DMN 투여후 8일째 흰쥐에서는 ^{99m}Tc -LSA 주사 후 1분 30초 영상에서 간부위와 심장부위의 방사능이 유사했으며, 9분 영상에서 심장부위의 방사능은 거의 소실되었다. DMN 투여후 21일째 흰쥐에서도 8일째 흰쥐와 비슷한 양상을 나타냈다. ^{99m}Tc -LSA 주사 후 1분 30초 영상에서 간부위와 심장부위의 방사능이 유사했으며, 9분 영상에서 심장부위의 방사능은 거의 소실되었다. 대조군에서는 빠른 ^{99m}Tc -LSA의 간섭취와 혈중 소실이 관찰되었으나 DMN 투여후 3일째 흰쥐에서는 ^{99m}Tc -LSA의 간섭취가 늦었고 혈중 방사능치가 높게 지속되었다. DMN 투여후 8일, 21일째 흰쥐에서는 3일째보다는 빠른 ^{99m}Tc -LSA의 간섭취와 혈중 소실이 관찰되었

으나 대조군에 비해서는 여전히 늦었다(Fig 3).

반정량적인 분석 (간섭취지수와 혈중제거지수)

간섭취지수의 비교에서 DMN 투여군에서는 대조군의 간섭취지수 0.989 ± 0.01 과 비교하여 3일째에는 0.865 ± 0.02 , 8일째에는 0.898 ± 0.02 , 21일째에는 0.910 ± 0.01 으로 유의하게 낮게 나타났으며(3일 $p=0.002$, 8일 $p=0.022$, 21일 $p=0.004$), DMN-3군이 가장 낮게 관찰되었고 DMN-8, DMN-21군에서 점진적으로 상승하는 양상이 관찰되었다.

혈중제거지수의 비교에서 DMN 투여군에서는 대조군의 혈중제거지수 0.473 ± 0.09 과 비교하여 3일째에는 0.730 ± 0.02 , 8일째에는 0.654 ± 0.02 , 21일째에는 0.604 ± 0.03 로 유의하게 높게 관찰되었으며(3일 $p=0.002$, 8일 $p=0.038$, 21일 $p=0.015$), DMN-3군이 가장 낮았고 DMN-8, DMN-21군에서 점진적으로 낮아지는 양상이 관찰되었다(Table 2).

시간-방사능 곡선 분석

시간-방사능 곡선의 최적화로 구하여진 결합 상수 K 값은 대조군이 0.97 ± 0.14 이었으나, DMN 투여후 3일째에서는 0.28 ± 0.05 로 감소하였고, 8일째에서는 0.41 ± 0.12 , 21일째에서는 0.46 ± 0.01 으로 조금씩 증가하였으나, DMN 처리군에 비해 유의하게 컸다(3일 $p=0.000$, 8일 $p=0.008$, 21일 $p=0.002$). 간의 최대방사능섭취의 50% 방사능 섭취량에 도달하는데 소요되는 시간인 $T_{1/2}$ 값은 대조군이 0.73 ± 0.10 로 나왔으며, DMN 투여후 3일째에는 2.50 ± 0.52 , 8일째에는 1.70 ± 0.47 , 21일째에는 1.50 ± 0.05 로 대조군의 값이 DMN 처리군에 비해 유의하게 작았다(3일 $p=0.000$, 8일 $p=0.005$, 21일 $p=0.000$, Fig 4).

DMN 간손상군에서는 ^{99m}Tc -LSA의 간섭취 정도가 낮았고, 그 정도는 3일에 가장 심하였고, 시간이 경과할수록 회복되는 양상을 보였다. 이러한 변화는 간효소치의 증가 정도나 병리학적 간손상 소견을 반영하였다.

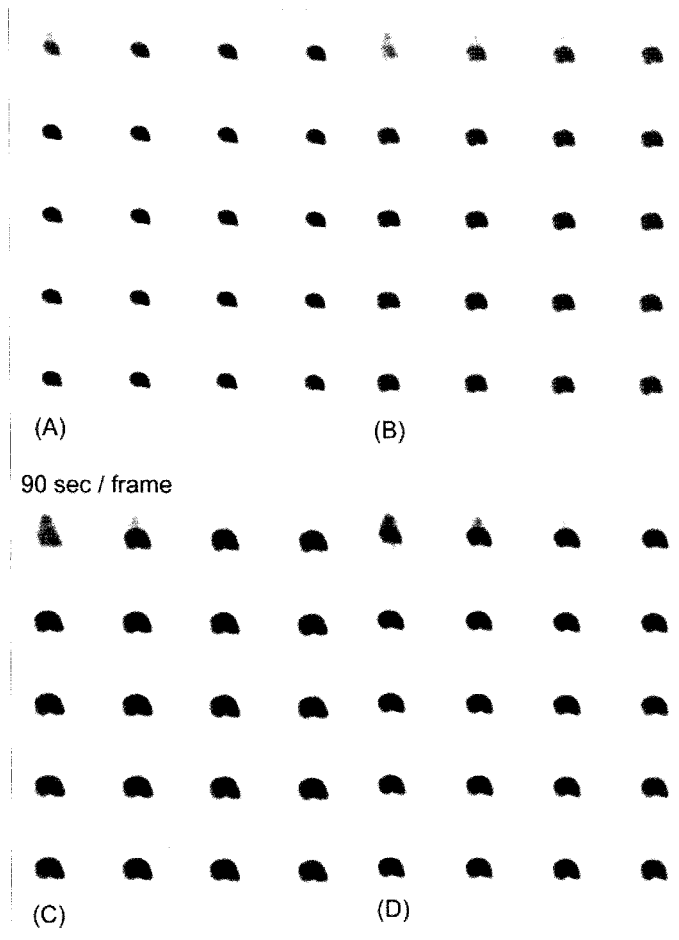


Fig 3. ^{99m}Tc -LSA rat liver scintigraphy in normal rat and DMN treated rat. Liver scintigraphy in normal rat (A) shows rapid wash out of blood pool activity in heart area and rapid liver uptake of ^{99m}Tc -LSA. Liver scintigraphy in DMN treated rats (B,C,D) show delayed wash out of blood pool activity in heart area and delayed liver uptake of ^{99m}Tc -LSA.
 (A) normal rat
 (B) rat sacrificed 3 days after intraperitoneal injection of DMN
 (C) rat sacrificed 8 days after intraperitoneal injection of DMN
 (D) rat sacrificed 21 days after intraperitoneal injection of DMN

고 찰

ASGP-R은 포유류의 간세포막에 특이적으로 존재하는 수용체로서 당단백의 대사와 연관되어 있어 asialoglycoprotein과 특이적으로 결합하고, 갈락토즈가 말단에 위치한 당단백을 인식하고 결합하여 수용체를 통한 세포내 이입으로 당단백을 세포내로 이동시켜 대사시키는 역할을 하는 것으로 알려져

있다.¹²⁻¹⁴⁾ ASGP-R의 양은 간의 손상정도에 비례하여 감소되므로, 간의 질병에 의해 수가 감소하며, ASGP-R을 정량적 측정하면 간의 질병으로 인한 간기능의 손상 정도를 직접적으로 평가할 수 있다.^{3,4)}

^{99m}Tc -GSA는 ASGP-R에 특이적으로 결합하는 방사성의약품으로 ^{99m}Tc -GSA를 이용한 신틸그래피에서 간섭취 정도를 측정하면 ASGP-R의 정량적 변화를 반영하므로 간기능 평가에 유용하게 사용될

Table 2. Receptor Index and Blood Clearance Index in DMN Treated Rat and Normal Rat

Parameters	Control(n=3)	DMN-3(n=3)	DMN-8(n=3)	DMN-21(n=3)
LHL3	0.989±0.01	0.865±0.02*	0.898±0.02*	0.910±0.01*
HH3	0.473±0.09	0.730±0.02*	0.654±0.02*	0.604±0.03*

Data are Mean ± SD (standard deviation)

*: p<0.05, statistically significant difference, compared to control group

Control: normal rat

DMN-3: rat sacrificed 3 days after injection of DMN

DMN-8: rat sacrificed 8 days after injection of DMN

DMN-21: rat sacrificed 21 days after injection of DMN

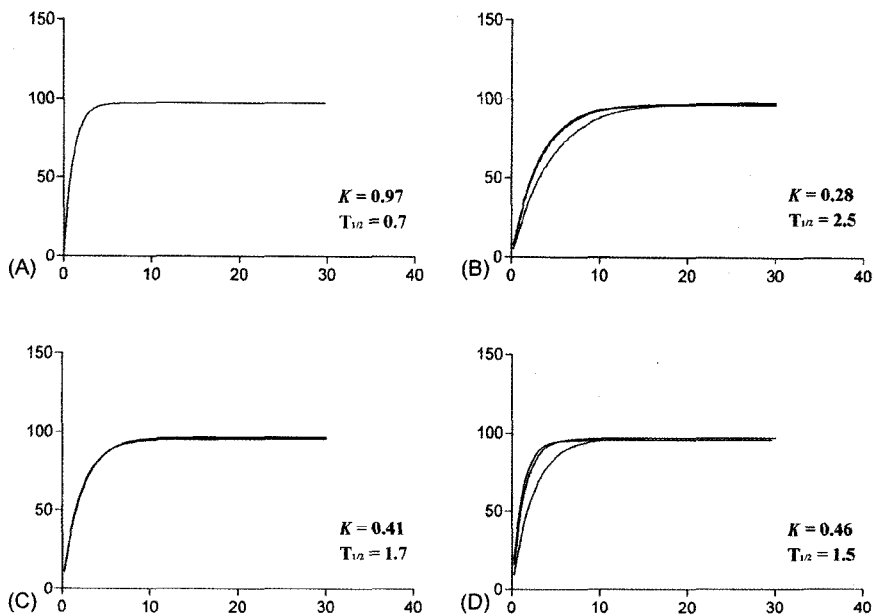


Fig 4. K , $T_{1/2}$ and fitted time-activity curve in DMN treated rats and normal rat. Fitted time-activity curve in normal rat shows rapidly reached to peak value. Fitted time-activity curves in DMN treated rats shows slowly reached to peak value.

Control Group: normal rat

DMN-3 Group: rat sacrificed 3 days after injection of DMN

DMN-8 Group: rat sacrificed 8 days after injection of DMN

DMN-21 Group: rat sacrificed 21 days after injection of DMN

화를 반영하므로 간기능 평가에 유용하게 사용될 수 있다.^{12,15)} 또한 ^{99m}Tc-GSA 신티그래피는 혈청 알부민, 빌리루빈치, 프로트롬빈 시간, indocyanine green 혈청 소실률, Child-Turcotte 지수 등의 간기능 평가지표들과 일치한다고 알려져 있다.^{12,16,17)} Hyun 등¹⁸⁾의 thioacetamide를 이용한 생쥐 실험에서도 간

섬취 정도가 급성 간손상을 잘 반영하여 주었고 섬취 정도의 변화는 조직학적 검사상 간이 회복되는 것을 반영하여 주었다고 보고하였다. 인간에서는 간기능의 평가뿐만 아니라 간경변증의 예후 판정, 급성 간부전에서의 추적관찰 및 예후 평가, 간엽절제술을 시행할 환자에서 잔여 간기능의 예측 및 간엽

절제술 후 예후 평가, 간부분이식술 후 추적관찰 그리고 간세포암에서 전이병소 발견 및 치료 효과 판정에도 유용하다는 보고가 있었다.^{11,12,15,19,21)}

그러나 Nihon-Medipysics 회사에서 상용화하고 있는 ^{99m}Tc -GSA는 chelator인 DTPA의 강염기와 ^{99m}Tc 의 약산이 연결되어 다소 불안정성이 제기되어 왔고, 일부의 ^{99m}Tc 은 단백질 자체에 결합하는 것으로 알려져 있으며, DTPA가 담체 단백질과 결합 후에 발생할 수 있는 면역학적 반응이 야기된다는 보고가 있었다.^{6,8)} 또한 현재 상용화된 GSA 키트는 ^{99m}Tc 표지시 섭씨 50°C에서 30분간의 반응시간이 필요하다는 단점이 있다. LSA는 알부민의 디설파이드 결합을 β -mercaptoethanol을 이용하여 환원시킨 후 ^{99m}Tc 과 직접 반응을 유도하여, DTPA를 사용하지 않음으로 면역학적인 문제를 해결하였고 글루코즈의 알데하이드기와 알부민의 아민기와의 비가역적인 공유 결합을 형성하여 안정성을 유도하였다는 장점을 가진다.⁹⁾ 또한 실온에서 ^{99m}Tc 표지가 가능하며 1분간의 표지 반응으로도 98%이상의 표지 효율을 가진다고 보고되었다.⁹⁾

N-nitrosomethylamine은 N-nitroso compounds족의 하나로 포유동물에게 심한 간독성을 가지며, 인간에게 암을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있다.²²⁾ DMN은 주로 cytochrome P450 이나 간 모노아민 산화효소(hepatic monoamine peroxidase)에 의해 간에서 대사가 되며 대사된 중간 산물들, hydroxyl radicals, formaldehyde, reactive oxygen intermediates 등은 간세포 손상의 원인이 된다. 이런 중간 산물들은 사람이나 쥐에서 특징적으로 간 중심 정맥 주위의 간세포 괴사를 유발하게 된다.^{23,24)} 간세포 괴사 이후 섬유화가 일어나거나 간세포 재생 반응이 일어난다. 5주 이상 장기간 저용량으로 투여시 알코올과 관련된 사람의 만성 간질환과 유사한 형태의 간경변 소견이 관찰된다. 저자들의 실험에서 DMN 투여 후 3일째 흰쥐에서 중심 정맥 주위로 간세포 괴사와 염증 세포 침윤이 관찰되었으며 DMN 투여 후 8일, 21일째 흰쥐에서는 간세포 재생 반응이 관찰되었다. 이러한 결과는 DMN에 의한 급성 간 손상이 일어난 후 간조직의 회복이 일어나고 있는 것으로 판단된다.

저자들은 DMN을 이용하여 간독성을 일으킨 흰쥐에서 ^{99m}Tc -LSA의 간섭취와 혈중 제거 정도를 반정량적으로 측정하기 위해 Sasaki 등¹¹⁾이 제시한 간섭취지수와 혈중제거지수를 사용하였으며, 시간-방사능 곡선의 최적화를 시행하여 역동학적 지표들을 비교 분석하였다. Sasaki 등¹¹⁾이 제시한 간섭취지수와 혈중제거지수는 15분과 3분의 간과 심장부위의 방사능치를 이용하였으나 저자는 3분과 1분의 간과 심장의 방사능치를 사용하였다. 정상적인 사람에서는 15분 이내에 최고 간섭취의 95% 이상이 간에 섭취되게 되나 저자가 실험한 정상 생쥐에서 3분내에 최고 간섭취의 95% 이상이 간에 섭취되어 3분과 1분의 간과 혈액의 방사능치를 이용하였다. 이는 생쥐와 사람에서 대사속도의 차이로 판단되며, 생쥐등을 이용한 체내분포 실험에서도 10분내에서 최고섭취가 관찰되었다.

3분과 1분의 간과 심장의 방사능치를 이용한 간섭취지수와 혈중제거지수는 DMN 투여 후 3일째에 간섭취지수가 낮고 혈중제거지수가 높아 가장 심한 정도의 간손상을 나타냈으며 DMN 투여 후 8일, 21일째에는 간섭취지수가 다소 높아지고 혈중제거지수가 다소 낮아졌으나 대조군에 비해 간섭취지수는 낮고 혈중제거지수는 높게 관찰되어 반정량적인 지표인 간섭취지수와 혈중제거지수가 급성 간손상과 간의 회복되는 과정을 반영하여 주었다.

최적화된 시간-방사능 곡선에서 ^{99m}Tc -LSA의 빠른 간섭취 정도를 나타내는 결합 상수 K 값과 $T_{1/2}$ 도 DMN 투여 후 3일째에 K 값이 작고 $T_{1/2}$ 가 길어진 가장 심한 간손상을 나타냈으며 DMN 투여 후 8일, 21일째에는 K 값이 다시 커지며 $T_{1/2}$ 가 짧아지는 양상을 보였으나 대조군에 비하여는 K 값이 작고 $T_{1/2}$ 가 길어진 상태를 나타내어 급성 간손상에서 회복하는 양상을 나타내었다. 이는 조직학적 소견에서 보인 급성 반응과 회복되는 수순을 잘 반영하는 것으로 보인다. 또한 간효소 검사에서 보여준 급성 간손상과도 비교적 잘 일치하는 소견이었다. 즉 ^{99m}Tc -LSA의 간섭취 정도의 회복과 빠른 혈중 제거는 조직학적 소견 및 간효소치의 호전과도 비례하였다. 이러한 결과로 볼 때 ^{99m}Tc -LSA를 이용한 ASGP-R의 정량적 측정은 간기능의 손상과 회복정

도를 잘 반영하며, 급성 간손상을 진단할 수 있는 방법이 될 것이라는 사실을 제시하여 주는 소견으로 판단할 수 있을 것이다.

결론적으로 ^{99m}Tc-LSA가 간손상 정도를 외부 영상술을 통하여 정량적으로 평가할 수 있는 간수용체 영상용 방사성의약품으로 사용될 수 있으며 간 질환의 기능적 평가와 추적 관찰에 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

목적: ^{99m}Tc-lactosylated serum albumin (^{99m}Tc-LSA)은 간세포에 특이적으로 결합하는 간수용체 영상용 방사성의약품으로 새로이 합성되었다. 간섭유화를 유발하는 dimethylnitrosamine (DMN)을 투여한 간손상 흰쥐 모델에서 ^{99m}Tc-LSA의 역동학적인 간섭취를 조사하고 간효소치의 변화와 조직학적 소견을 비교하여, LSA의 간섭취가 간기능의 변화를 반영하는지를 연구하였다. **대상 및 방법:** SD계 흰쥐에 DMN를 27 mg/kg으로 복강 내 주사하여 급성 간손상을 유도하고 대조군과 비교하였다. DMN을 주사한 흰쥐를 3일(DMN-3), 8일(DMN-8), 21일(DMN-21)에 ^{99m}Tc-LSA (1,665 mg/kg) 29 MBq를 정맥 주사하여, 30분 동안 동적 영상을 획득하고 간과 심장부위에 관심영역을 설정하여 간과 심장부위의 시간방사능 곡선을 얻었다. 간기능 평가를 위해 시간방사능 곡선을 이용하여 간섭취지수와 혈중제거지수를 구하였고 곡선 최적화를 시행하였다. DMN 투여군과 대조군의 간효소치의 변화와 간조직의 광학현미경 소견을 비교하였다. **결과:** 대조군에서는 ^{99m}Tc-LSA가 빠르게 간에 섭취되고 혈중에서 제거되었으나 DMN을 처리한 군에서는 간섭취가 낮았다. 간섭취지수의 비교에서 대조군에 비해 DMN 처리군에서 유의하게 간섭취지수가 낮았다 (DMN-3: 0.842, DMN-8: 0.898, DMN-21: 0.91, 대조군: 0.96, p<0.05). 혈중제거지수의 비교에서도 대조군에 비해 DMN 처리군에서 혈중제거지수가 유의하게 높았다(DMN-3: 0.731, DMN-8: 0.654, DMN-21: 0.604, 대조군: 0.473, p<0.05). 비선형 회귀분석에서 R₂값은 0.9이상으로 좋은 일치성을 보였

고, 대조군에서 K값이 DMN처리군에 비해 크고 (DMN-3: 0.28, DMN-8: 0.41, DMN-21: 0.46, 대조군: 0.97, p<0.05), T_{1/2}값은 작았다(DMN-3: 2.5, DMN-8: 1.7, DMN-21: 1.5, 대조군: 0.7, p<0.05). 간효소치의 변화는 DMN-3군에서는 대조군에 비해 상승하였으나 DMN-8, DMN-21군에서는 간효소치의 상승이 관찰되지 않았다. 간조직 소견의 경우 DMN-3군에서 중심정맥 주위에 괴사가 관찰되었으나 DMN-8군, DMN-21군에서는 미약한 정도의 염증세포 침윤만이 관찰되었다. **결론:** ^{99m}Tc-LSA 간신티그래피의 간섭취 정도는 간손상과 반비례하였으며 간섭취의 변화는 조직학적 손상이 심한 정도와 간손상후 회복되는 과정을 반영하여 주었다. ^{99m}Tc-LSA 간신티그래피가 간손상을 평가하고 간손상후 회복되는 과정을 추적하는 간수용체 영상용 방사성 의약품으로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고 문헌

- 1) Gelfand MJ, Saha S, Aron BS. Imaging of irradiated liver with ^{99m}Tc-sulfur colloid and ^{99m}Tc-IDA. *Clin Nucl Med* 1981;6:399-402.
- 2) Brunot B, Petras S, Germain P, Vinee P, Constantinesco A. Biopsy and quantitative hepatobiliary scintigraphy in the evaluation of liver transplantation. *J Nucl Med* 1994;35:321-7.
- 3) Pimostone NR, Standalnik RC, Vera DR, Hutak DP, Trudeau WL. Evaluation of hepatocellular function by way of receptor-mediated uptake of a technetium-99m-labeled asialoglycoprotein analog. *Hepatology* 1994;20:917-23.
- 4) Tomiguchi S, Kira T, Oyama Y, Nabeshima M, Nakashima R, Tsuji A, et al. Correlation of Tc-99m GSA hepatic studies with biopsies in patients with chronic active hepatitis. *Clin Nucl Med* 1995;20:717-20.
- 5) Kubota Y, Kitagawa S, Inoue K, Ha-Kawa SK, Kojima M, Tanaka Y. Hepatic functional scintigraphic imaging with ^{99m}Tc-galactosyl serum albumin. *Hepatology* 1993;40:32-6.
- 6) Huheey JE. Acid-Base Chemistry. In: Wasserman

- M, editor. *Inorganic Chemistry: Principle of Structure and Reactivity*. 3rd ed. New York: Harper & Row Publishers, Inc; 1996. p. 286-327.
- 7) Rearden DT, Meares CF, Goodwin DA, McTigue M, David GS, Stone MR, et al. Antibodies against metal chelates. *Nature* 1985;316:265-7.
 - 8) DeNardo GL, Mirick GR, Kroger LA, O'Donnell RT, Meares CF, DeNardo SJ. Antibodies responses to macrocycles in lymphoma. *J Nucl Med* 1996;37:451-6.
 - 9) Jeong JM, Hong MK, Lee J, Son MW, So Y, Lee DS, et al. Tc-99m Neolactosylated human serum albumin (LSA) for imaging the hepatic asialoglycoprotein receptor. *Nucl Med Biol*. In press, 2003.
 - 10) Mather, SJ, Ellison, E. Reduction-mediated technetium-99m labeling of monoclonal antibodies. *J Nucl Med* 1990;31:692-7.
 - 11) Sasaki N, Shiomi S, Iwata Y, Nishiguchi S, Kuroki T, Kawabe J, et al. Clinical usefulness of scintigraphy with ^{99m}Tc -galactosyl-human serum albumin for prognosis of cirrhosis of the liver. *J Nucl Med* 1999;40:1652-6.
 - 12) Lee J. Quantitative evaluation of liver function with hepatic receptor scintigraphy using Tc-99m galactosylated serum albumin (GSA). *Korea J Nucl Med* 1998;32:305-13.
 - 13) Ha-Kawa SK, Tanaka Y, Hasebe S, Kuniyasu Y, Koizumi K, Ishii Y, et al. Compartmental analysis of asialoglycoprotein receptor scintigraphy for quantitative measurement of liver function: a multicenter study. *Eur J Nucl Med* 1997;24:130-7.
 - 14) Imaeda T, Kanematsu M, Asada S, Seki M, Doi H, Saji S, et al. Utility of Tc-99m GSA SPECT imaging in estimation of functional volume of liver segments in health and liver disease. *Clin Nucl Med* 1995;20:322-8.
 - 15) Sakahara H, Kiuchi T, Nishizawa S, Saga T, Nakamoto Y, Sato N, et al. Asialoglycoprotein receptor scintigraphy in evaluation of auxiliary partial orthotopic liver transplantation. *J Nucl Med* 1999;40:1463-7.
 - 16) Kudo M, Todo A, Ikekubo K, Hino M. Receptor index via hepatic asialoglycoprotein receptor imaging: correlation with chronic hepatocellular damage. *Am J Gastroenterol* 1992;87:865-70.
 - 17) Kubota Y, Kitagawa S, Inoue K, Ha-Kawa SK, Kojima M, Tanaka Y. Hepatic functional scintigraphic imaging with ^{99m}Tc -galactosyl serum albumin. *Hepatogastroenterology* 1993;40:32-6.
 - 18) Hyun DW, Lee J, Chun KA, Lee SW, Kim SK, Kang DY, et al. Hepatic asialoglycoprotein receptor scintigraphy using ^{99m}Tc -galactosylated serum albumin (GSA): biodistribution study in mice with thioacetamide-induced hepatic injury. *Korea J Hepatol* 1998;4:151-61.
 - 19) Shiomi S, Kuroki T, Enomoto M, Ueda T, Masaki K, Ikeoka N, et al. Fulminant hepatic failure monitored by technetium-99m-DTPA-galactosyl-human serum albumin scintigraphy. *J Nucl Med* 1996;37:641-3.
 - 20) Hwang EH, Taki J, Shuke N, Nakajima S, Kinuya S, Konishi S, et al. Preoperative assessment of residual hepatic functional reserve using ^{99m}Tc -DTPA-galactosyl-human serum albumin dynamic SPECT. *J Nucl Med* 1999;40:1644-51.
 - 21) Sueyoshi K, Narabayashi I, Aratani T, Doi K, Komori T, Ogura Y, et al. Utility of Tc-99m GSA whole-body scintigraphy in detection bone metastasis from hepatocellular carcinoma. *Clin Nucl Med* 2001;26:221-4.
 - 22) Craddock VM. Nitrosamines and human cancer: proof of an association? *Nature* 1983;306:638.
 - 23) Montesano R, Bartsch H. Mutagenic and carcinogenic N-nitroso compounds: possible environmental hazards. *Mutat Res* 1976;32:179-228.
 - 24) Mayer MJ, Schook LB. Immunotoxicity of nitrosamines. In: Smialowicz RJ, Holsapple MP, editors. *Experimental Immunotoxicology* CRC Press, Boca Raton;1996, p. 351-66.