

The production and application of therapeutic ^{67}Cu radioisotope in nuclear medicine

Gye-Hong Kim¹, Kyo Chul Lee², Ji-Ae Park², Gwang-II An², Sang Mo Lim², Jung Young Kim^{2*}, and Byung Il Kim¹²

¹Radiopharmaceuticals Production Center, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences; ²Molecular Imaging Research Center, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences, Seoul, Korea

ABSTRACT

Radioisotopes emitting low-range highly ionizing radiation such as β -particles are of increasing significance in internal radiotherapy. Among the β -particle emitting radioisotopes, ^{67}Cu is an attractive radioisotope for various nuclear medicine applications due to its medium energy β -particle, gamma emissions, and 61.83-hour half-life, which can also be used with ^{64}Cu for PET imaging. The production and application of the β -emitting radioisotope ^{67}Cu for therapeutic radiopharmaceutical are outlined, and different production routes are discussed. A survey of copper chelators used for antibody labeling is provided. It has been produced via proton, alpha, neutron, and gamma irradiations followed by solvent extraction, ion exchange, electrodeposition. Clinical studies using ^{67}Cu -labelled antibodies in lymphoma, colon carcinoma and bladder cancer patients are reviewed. Widespread use of this isotope for clinical studies and preliminary treatments has been limited by unreliable supplies, cost, and difficulty in obtaining therapeutic quantities.

J Radiopharm Mol Probes 1(1):23-30, 2015

Key Words: Cu-67, Cu-64, Copper, Chelator, Radioisotope, Radiopharmaceutical, Nuclear medicine

Introduction

방사성동위원소 ^{67}Cu 는 평균 에너지가 141 keV인 베타 선을 방출하는 핵종으로 반감기가 61.83 시간이다. 이 ^{67}Cu 는 저 에너지 감마선(7% 91.3 keV, 16.1% 93.3 keV, 48.7% 184.6 keV)을 방출하기 때문에 대표적 순수 베타 방출 치료용 방사성동위원소인 ^{90}Y 과 다르게 영상과 선량 평가에도 이용할 수 있다. 또한, 화학적으로 킬레이트 화합물과 결합하여 매우 안정한 형태의 금속 착물을 형성할 수 있기 때문에, 승화성과 불안정한 화학 결합을 지닌 방사성동위원소 ^{131}I 보다 환자와 의료진에 대한 불필요한 피폭선량을 줄일 수 있다.

구리(copper, Cu)는 방사화학적 개념을 적용하지 않더라도 생화학작용에 있어서 인체 안에서 장기간 잔류하지

않는 것으로 알려져 있다. 그리고, 구리는 물론 ^{67}Cu 의 딸 핵종인 아연(^{67}Zn)은 체내 독성물질이 아니며 인체에 필요한 필수 미량 영양소이다(1). 또한, 특정 장기에 대한 친화성이 적으며 생물학적 반감기가 물리적 반감기와 같은 수준이다(2,3).

하지만, 이 방사성동위원소는 앞에서 언급한 여러 장점에도 불구하고 치료용 방사성의약품으로써 핵의학 분야에서 연구 및 활용이 일반화 되지 않았다. 그 이유는 의학적 활용에 적합하고 신뢰할 수 있는 ^{67}Cu 의 공급 부족이 가장 큰 이유이다(4). 아울러 1970년대 이후부터 관련 연구자들은 ^{67}Cu 의 공급 불균형 및 정기적인 생산 결여에 대한 문제를 언급하였으며(5), ^{67}Cu 방사성동위원소의 고비용(6,7), 제한된 수입 가능성(4,7-10)과 핵의학 치료에 필요한 양을 확보하는데 어려움(4,7,10)을 언급하였다.

Received March 2, 2015 / Revised April 6, 2015 / Accepted April 8, 2015

Corresponding Author: Jung Young Kim

Molecular Imaging Research Center, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences, 75 Nowon-ro, Nowon-gu, Seoul 139-706, Korea
Tel: +82-2-970-1624, Fax: +82-2-970-2409, E-mail: jykim@kirams.re.kr

Copyright © 2015, The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

US DOE (Department of Energy)에서 2008년에 발간된 보고서에서는, 방사성동위원소 응용은 물론 연구 및 개발에 필요한 방사성동위원소의 자국 내 수요를 자세히 기술하였다. 이 조사에 따르면, Brookhaven National Lab (BNL), Los Alamos National Lab (LANL), Trace Life Sciences에서 당시 ^{67}Cu 의 공급은 초기 연구/개발에는 적당했지만, ^{67}Cu 방사성의약품이 US Food and Drug Administration (FDA)의 승인을 받았다면 방사성동위원소 ^{67}Cu 의 수요는 공급을 크게 앞설 것이라고 예측하고 있다. 또한, ^{67}Cu 가 의학 적 활용이 많아질 경우, 향상된 ^{67}Cu 의 생산 능력과 예비 생산기술 개발이 필요하다고 기술하고 있다(11). 이에 본 종설에서는 새로운 치료용 방사성의약품으로써 많은 잠재력을 지니고 있는 ^{67}Cu 방사성동위원소의 생산 방법과 활용방안에 대해 소개하고자 한다.

1. Production of ^{67}Cu

^{67}Cu 은 양성자에 의한 핵반응을 이용하는 $^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$, $^{70}\text{Zn}(p,\alpha)^{67}\text{Cu}$ 반응, 중양자를 이용하는 $^{68}\text{Zn}(d,2pn)^{67}\text{Cu}$, $^{67}\text{Zn}(d,2p)^{67}\text{Cu}$ 반응, 알파입자 핵반응을 이용하는 $^{64}\text{Ni}(\alpha,p)^{67}\text{Cu}$ 반응, 중성자 핵반응을 이용하는 $^{67}\text{Zn}(n,p)^{67}\text{Cu}$ 반응 등을 이용하여 생산할 수 있다. ^{67}Cu 을 생산하기 위한 현재까지 여러 방법들 중 연구 수준의 소량 방사선량을 실제 생산하는 사례와 향후 생산방법으로 응용 가능성이 높은 몇몇 방법들을 정리하면 다음과 같다.

1) $^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ nuclear reaction

$^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ 반응은 다른 핵반응보다 상당히 높은 ^{67}Cu 생산 수율 때문에 ^{67}Cu 을 생산하기 위한 가장 많이 선택되는 핵반응이다. 현재 고 에너지 양성자 빔이 필요한 $^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ 핵반응을 이용하는 ^{67}Cu 생산 방법이 북미에서 가장 큰 기여를 하고 있다. 이 생산 방법은 BNL의 Brookhaven Linac Isotope Producer (BLIP), Los Alamos National Lab (LANL)의 Los Alamos Neutron Science Center (LANSCE)와 Tri-University Meson Facility (TRIUMF)에서 이용되고 있다.

$^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ 반응에 대한 핵반응단면적은 Stoll에 의하면 문턱에너지 20 MeV에서 70 MeV까지 양성자 에너지가 증가함에 따라 10 mb에 근접하며(12), 양성자 에너지가 증가하여 425 MeV에서 25 mb에 이른다(12,13). 이 생산 방법에서는 양성자를 방출하고 비교적 반감기가 짧은 ^{64}Cu (반감기 12.07 시간)가 생성되는데, 이 ^{64}Cu 은 초기 생산물의 방사선학적 순도를 저하시키기 때문에 최종 분리 전에 붕괴를 위한 시간이 필요할 수도 있다. ^{67}Cu 과 함께 ^{61}Cu 역시 생산되지만 단반감기 양성자 방출 핵종 ^{61}Cu (반감기 3.35시간)은 처리과정과 운송하는 동안 거의 붕괴되기 때문에 불순물로서 잠재적인 문제점을 나타내지는 않는다. EOB(End of bombardment)에서 ^{64}Cu 의 상대적인 양은 조사 에너지와 조사 시간이 증가할수록 감소한다. 이런 결과의 첫 번째 이유는 $^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ 반응에 대한 반응단면적이 증가하기 때문이며, 두 번째는 ^{64}Cu 방사능이 포화되기 때문이다. 한편, 70MeV 이상의 에너지에서는 $^{68}\text{Zn}(p,\alpha)^{64}\text{Cu}$ 반응에 대한 반응단면적이 점점 감소하기 때문이다(13).

Novak-Hofer와 Schubiger는 ^{68}Zn 농축 표적을 사용하면 ^{67}Cu 생산수율을 4.5배 증가시킨다고 보고하였다(4). 이것은 천연 아연의 동위원소 조성과 관련 있다. ^{68}Zn 의 자연 존재비는 18.8%로, 농축 ^{68}Zn (순도 99.7%) 표적을 이용하면 비방사능을 5.3배 증가시킬 수 있다. 게다가, $^{66}\text{Zn}(p,2p)$, $^{66}\text{Zn}(p,2p2n)$, $^{64}\text{Zn}(p,2p)$ 핵반응을 통한 안정동위원소 $^{63,65}\text{Cu}$ 의 직접 생산을 차단할 수 있다. Table 1은 $^{68}\text{Zn}(p,2p)$ 반응을 이용한 생산방법에서 보고된 생산수율과 빔조사 조건을 요약하였다.

2) $^{70}\text{Zn}(p,\alpha)^{67}\text{Cu}$ nuclear reaction

$^{70}\text{Zn}(p,\alpha)^{67}\text{Cu}$ 핵반응을 이용하는 ^{67}Cu 을 생산하는 방법은 ≤ 20 MeV 양성자빔을 이용하는 방법이다. 이 방법의 장점은 낮은 에너지의 양성자 빔으로도 ^{67}Cu 생산이 가능하다는 것이며, 일반적인 의료용 사이클로트론에서 ^{67}Cu 생산이 가능하며 불순 핵종의 생성 비율이 다른 방법에 비해 낮다는 것이다. 하지만, ^{70}Zn 의 자연 존재비가 낮기 때문에 농축 ^{70}Zn 가 가격이 비교적 높고 $^{68}\text{Zn}(p,2p)$ 반응을 이

Table 1. Reported yields for the $^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ reaction

| Target | Enrich (%) | Mass or thickness | Beam energy | Dose | Reported yield | Reference |
|--------|------------|------------------------------------|-----------------|----------------------------|---|-----------|
| ZnO | Natural | 28-29 g | 200 MeV | 5179 - 9935 μAh | 13.6 $\mu\text{Ci}/\mu\text{Ah}$ | (14) |
| ZnO | | 40 g | 200 MeV | 5-6 d @ 43 μA | 10 GBq | (15) |
| ZnO | Natural | 17.9-358.5 mg/cm^2 | 166.2-192.2 MeV | 23-3851 μAh | 1.7-3.6 $\mu\text{Ci}/\mu\text{A}(\text{mg}/\text{cm}^2)$ | (16) |
| Zn | Natural | 5.783 g | 67.7 MeV | 2000 μAh | 1.4 MBq/ μAh | (17) |
| ZnO | 99 | 3-3.7 g | | 6 h @ 3 μA | 117 MBq | (18) |

Table 2. Reported Yields for the $^{70}(p,\alpha)^{67}\text{Cu}$ Reaction

| Target | Enrich (%) | Mass or thickness | Beam energy | Dose | Reported yield | Reference |
|--------|------------|-------------------|---------------|--|---|-----------|
| ZnO | 99.72 | 10.2 mg | 18.1-18.8 MeV | 20 min @ 2 μA 20 min @ 5 μA 50 min @ 4 μA | 8.14 kBq/mg/hr/ma 15.5 kBq/mg/hr/ma 8.88 kBq/mg/hr/ma | (19) |
| Zn | 71.8 | 10.7 mg | 18.8 MeV | 60 min @ 5.1 μA | 20 kBq/mg/hr/ma | |
| Zn | Natural | 10.8 mg | 18.8 MeV | 60 min @ 5.7 μA | 9.62 kBq/mg/hr/ma | |
| Zn | Natural | 283.5 mg | 18.8 MeV | 60 min @ 5.3 μA | 8.51 kBq/mg/hr/ma | |
| Zn | 85 | 15 mg | 18 MeV | 60 min @ 1 μA | 2.35 MBq/ μAh | (10) |
| Zn | 70 | 100 mg | 17-26 MeV | 10 h @ 10 μA | 0.1-0.14 MBq/ μAh | (20) |

Table 3. Reported Yields for the $^{67}\text{Zn}(n,p)^{67}\text{Cu}$ Reaction

| Target | Enrich (%) | Mass (g) | Neutron flux (n/cm ² /s) | Time | Reported yield | Reference |
|--------|------------|----------|---|---------------------------|---|-----------|
| Zn | natural | 0.1 | 8×10^{13} (fast) 1×10^{14} (thermal) 8×10^{13} (epi-thermal) | 4 h | 9 MBq/1g Zn | (22) |
| ZnO | 93.2 | | 6.4×10^{13} ~ 3×10^{14} (fast) 1.95×10^{14} ~ 8.25×10^{14} (thermal) | Saturation | 14.4~90.2 $\mu\text{Ci}/1\text{mg } ^{67}\text{Zn}$ | (16) |
| | Natural | 1~2 | 2×10^{13} | 1 h, 24 h, and saturation | 0.0851, 1.85, and 7.4 MBq/g Zn | (23) |

용한 방법보다 생산수율이 낮은 단점을 가지고 있다. Jamriska 등은 ^{nat}Zn 와 농축 ^{70}Zn foil을 이용하여 저 에너지 영역에서 핵반응 단면적을 평가하였으며 0.42-0.54 $\mu\text{Ci}/\mu\text{Ahg}$ 의 ^{67}Cu 을 생산하였다(19). 또한, 핵반응 단면적 측정은 Kastleiner에 의해서도 수행되었는데 양성자 빔 에너지 16.7 ± 0.2 MeV에서 14.8 ± 2.4 mb으로 평가되었다. Table 2는 $^{70}\text{Zn}(p,\alpha)$ 반응을 이용한 생산방법에서 보고된 생산수율과 빔조사 조건을 요약한 것이다.

3) $^{64}\text{Ni}(\alpha,p)^{67}\text{Cu}$ nuclear reaction

$^{64}\text{Ni}(\alpha,p)^{67}\text{Cu}$ 핵반응에 대한 반응단면적은 문턱에너지(약 5 MeV)에서 알파빔 에너지가 증가함에 따라 증가하여 22 MeV에서 34 mb 최대에 이르며, 이후에는 에너지가 증가함에 따라 감소한다. 생산 수율은 알파빔 에너지가 24 MeV일 때 544 KBq/ μAh (14.7 $\mu\text{Ci}/\mu\text{Ah}$)이며 40 MeV일 때 1098 KBq/ μAh (29.68 $\mu\text{Ci}/\mu\text{Ah}$)이다(21). 이 생산 방법은 다른 생산방법에 비해 생산수율이 낮으며, 농축 ^{64}Ni 가격(그램당 약 7-8천만원)이 고가이기 때문에 실제 임상 적용하기에는 극복해야 할 부분이 많다.

4) $^{67}\text{Zn}(n,p)^{67}\text{Cu}$ nuclear reaction

원자로에서 ^{67}Cu 를 생산하는 방법은 그 단순성 때문에 부분적으로 지속되고 있다. 원자로에서 ^{67}Cu 을 생산하기 위해서는 단순히 상업용 또는 연구용 원자로에 적당히 포장된 ^{67}Zn 표적을 위치시키면 된다. 그러나, 원자로 접

근성, 방사성폐기물 문제, 원하지 않는 핵반응은 이 방법을 이용해 장기간에 걸친 생산과 의료용에 적용하는데 어려움을 가지고 있다.

주요 논문에서 보고된 핵반응 단면적은 0.76-1.2 mb으로 보고되고 있다. 포화 조사 동안, 표적물질 1 g당 >25 mCi의 ^{67}Cu 생산이 가능하다. 만약, 천연 야연 표적을 이용하면 $^{64}\text{Zn}(n,p)^{64}\text{Cu}$ (~34 mb) 핵반응에 의해 생성되는 ^{64}Cu 양이 허용치를 벗어난다. 그렇기 때문에, 양성자를 이용한 생산과 달리 농축 표적을 사용하여 동시에 생산되는 동위원소의 양을 줄이고 최종 ^{67}Cu 양을 증가시킬 필요가 있다. Table 3은 $^{67}\text{Zn}(n,p)^{67}\text{Cu}$ 반응을 이용한 생산방법에서 보고된 생산수율을 요약하였다.

5) $^{68}\text{Zn}(\gamma,p)^{67}\text{Cu}$ nuclear reaction

광핵반응(photoneuclear reaction) 유발을 위한 고 에너지 제동방사선 발생 전자가속기가 ^{67}Cu 생산방법 하나로 증명되었다. 30-60 MeV의 전자를 인출할 수 있는 선형가속기는 가속된 전자를 변환 플레이트(표적이며, 보통 텅스텐 또는 탄탈륨)에 집중 시켜 광자를 발생시킨다. 이 반응단면적은 Osokina and Ratner에 의해 계산되었으며 ~25 MeV에서 30 mb으로 보고되었다.

2. Purification of ^{67}Cu

빔 조사 후 타겟에서 ^{67}Cu 을 분리하기 위하여 몇 가지

방법이 이용되었으며, 1차 분리 방법에 따라 크게 3가지 방법으로 요약할 수 있다. 1차적으로 ion exchange, electrodeposition, liquid-liquid extraction 방법을 이용하여 분리하였으며, 추가적으로 1-2 단계 분리 과정을 더 거쳐 생산된 ^{67}Cu 을 분리하였다. 이런 분리 방법은 대부분 마지막 정제 단계로 2차 이온 교환 과정을 거쳤으나, 3단계에서 이온 교환 방법을 이용하거나 2차 단계(이온 교환 방법)에 연이어 3차 분리 과정에서도 이용된 방법도 있다.

^{67}Cu 생산 방법에 따라 분리 및 정제 절차에 큰 영향을 미칠 수 있는데 초기 생산물에서 불순물들이 많을수록, 좀 더 많은 분리 과정이 필요하다. 다시 말하면 이것은 전체적인 분리 효율성을 감소시킬 수 있다는 것이다. 이온 교환과 liquid-liquid 추출 기술에서는 90% 이상의 수율이 보고되었으며 전착 방법은 연속적인 전착 과정이 필요하기 때문에 이보다 낮은 60% 이하의 회수율을 보여주고 있다.

조사된 세 가지 주요 방법은 완전히 표적을 용해하기 때문에 많은 양의 폐기물을 발생시키기 때문에 후 처리 과정을 거쳐 폐기되어야 한다. 농축 타겟을 사용하여 회수한 경우, 폐기물은 아연을 추출하기 위한 처리 과정을 거치고 선정된 표적 형태(산화아연 또는 순수 아연금속 등)로 다시 변환해야 한다.

세 가지 주요 분리 방법에 대한 내용은 다음과 같다.

1) Ion Exchange method

Dithizone을 주입한 수지(custom dithizone impregnated resin)를 이용한 방법을 제외하고(24) 보고된 대부분의 방법은 분리과정 중에서 음이온 교환 수지(Bio-Rad AG-1, MP-1 또는 Dowex-1)를 사용하였으며, 음이온 교환 컬럼과 킬레이션 컬럼(chelation column, Chelex-100) 또는 양이온 교환 컬럼(Bio-Rad AG-50W)을 결합하여 사용하였다. 이 방법을 이용한 ^{67}Cu 의 회수율은 모두 80% 이상이었으며 90% 보다 높은 사례도 있다.

이온 교환 수지만 사용한 몇몇 방법이 Jamriska 등(19)과 Mushtaq 등(23)에 의해 제안되었다. 이 방법은 대량의 Zn에서 미량의 ^{67}Cu 을 회수하기 위해 아주 큰 컬럼을 필요로 한다. 이 연구는 수 그램의 표적 물질을 사용한 반면, 더 많은 표적 물질을 이용해 실험한 경우에는 Chelex-100 컬럼을 이용하였다. 이 컬럼은 1차 분리 과정으로 ^{67}Cu 와 약하게 배위결합을 한다(15,17,18). 이것은 대량의 Zn가 컬럼을 통과하게 하고 ^{67}Cu 는 추가적인 과정을 통해 제거 및 정화된다.

현재까지 이온 교환 방법을 이용하여 표적을 분리 및

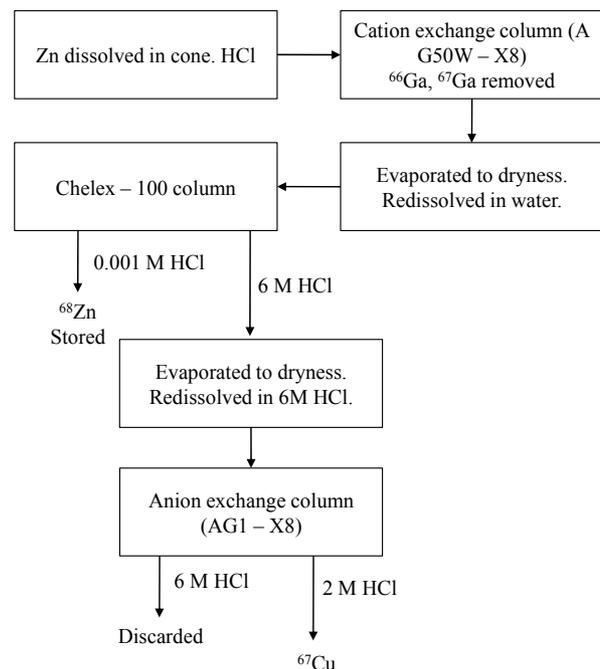


Figure 1. Flow chart of ^{67}Cu separation.

정제한 내용 중 Katabuchi 등(18)에 의해 수행된 내용 자세히 정리하면 다음과 같다. 생산된 ^{67}Cu 은 Schwarzbach 등(17)이 보고한 분리 절차에 기초하여 Chelex-100 chelating 이온교환 수지를 이용한 이온교환 크로마토그래피를 통해 Zn 표적을 분리하였다. 이 연구에서는 pH 조절 과정을 변형하여 수행하였으며 분리 절차는 Figure 1 흐름도에 요약되었다. 각각 AG50W-X8, Chelex-100, AG1-X8 resin으로 채워진 세 개의 column을 사용하였다.

조사된 quartz tube 안의 ^{68}ZnO 파우더는 염산용액으로 용해한다(다음 단계를 위해 8M 염산용액 이상 사용) 후, 표적에서 방사능의 대부분을 차지하는 ^{66}Ga 와 ^{67}Ga 를 제거하기 위하여 AG50W-X8 column을 이용하였으며 6M HCl로 세척하였다. 그 다음 용출액의 pH를 4까지 조절하였으며, 이 산 농도에서 Chelex-100 column과 배위결합력 차이에 의해 표적 물질인 Zn와 ^{67}Cu 을 분리하는 결과가 도출되었다.

2) Electrodeposition method

이 방법은 표적 물질인 Zn 용액에서 ^{67}Cu 분리는 백금 전극에 전착시킴으로써 수행될 수 있다. 이 방법을 이용한 연구 중에는 이온 교환 컬럼을 전혀 사용하지 않은 경우도 있다(17). Schwarzbach 등은 4시간에 걸친 세 번의 순차적인 전착을 이용하는 방법을 이용하였다. 이 방법에서

는 ^{67}Cu 는 전극에서 80%의 최종 수율을 획득하였으며, 전극에서 용해 후 67% 수율로 획득하였다. Mirzadeh 등은 (16) 최적화되었을 때 2.5시간 정도의 전착 시간이 필요하고 94%까지 회수됨을 최종적으로 입증하였다.

3) Liquid-liquid extraction method

Liquid-liquid 추출을 위해 가장 많이 사용된 절차는 Dasgupta이 이용한 방법이며 Stoll, Hilgers, Kastleiner등은 이 방법을 수정하지 않고 적용하였다(10,12,14,20). BNL의 Hot-cell 시설에서 이용하기 위해 최적화된 이 절차는 용해된 표적을 포함하고 있는 0.5 M HCl과 접촉하고 있는 사염화탄소 용매 중에 0.01% dithizone을 이용한 1차 추출로 구성된다. 이 추출은 유기층을 결합하여 네 번까지 수행할 수 있다. 7.2 M HCl 과 과산화수소의 유기 성분에서 ^{67}Cu 를 역추출한 후, 결과적으로 생성된 물층은 갈륨(Ga)을 제거하기 위해 비극성 유기용매와 접촉하게 된다. 최종적으로, Ni, Mn, Cr과 Co 동위원소들을 제거하기 위해 음이온 교환 컬럼을 통과하게 된다. Schwarzbach은 이 방법에서 유기용매 추출단계를 Ga을 효율적으로 제거하는 양이온 교환 컬럼(Bio-Rad AG 50M)으로 대체한 변형된 방법을 제안하였다(17). Spahn은 Dasgupta이 사용한 방법을 인용하였지만, 오직 liquid/liquid 추출만 수행하였다.

3. Labeling method of ^{67}Cu

치료용 방사성동위원소로서 ^{67}Cu 는 종양에 섭취되거나

표적 하는 생물학적 활성 분자와 직접적 결합을 할 수 있으나, 이것은 매우 약하거나 불안정한 화학결합으로 유지되어 체내에서 쉽게 해리될 가능성이 높다. 그러므로 체내 높은 안정성을 가지기 위한 ^{67}Cu 의 표지 방법은 고리형 킬레이트를 활용하는 것이며, 일반적으로 이러한 킬레이트는 생물학적 활성 분자에 우선적으로 공유결합을 시키고 나중에 ^{67}Cu 을 표지 방법을 선호한다. 따라서 ^{67}Cu 는 다른 방사성 금속들과 비교해 Figure 2와 같이 다양한 킬레이트 화합물이 개발되었고(25), 특히 Meares 등과 Moi 등은 처음으로 방사성 구리(^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu)에 최적화된 높은 화학적 안정성이 가진 고리형 킬레이트 화합물인 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane-1,4,8,11-tetraacetic acid (TETA)을 소개하였다(26,27). 또한 최근에는 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid (NOTA)을 개량한 1,4,7-triazacyclononane-1-glutaric acid-4,7-diacetic acid (NODAGA)의 개발과 더불어, Yoo 연구팀이 상기 TETA 보다 더 높은 체내 안정성을 지닌 1,8-*N,N'*-bis-(carboxymethyl)-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane (TE2A) 유도체의 합성법 및 활용을 발표하여(28) 방사성 구리에 적합한 킬레이트 개발의 새로운 방법을 제시하였다.

상기 킬레이트들은 4개의 질소 원자를 중심으로 거대 고리형 구조를 지니 방사성 구리와 착물을 형성하면 생리적 조건에서 높은 동역학적 안정성을 보인다. 이러한 킬레이트들의 개발로 인해 방사성 구리가 표지된 방사성 의약품이 종양에 대한 표적 능력이 향상되었다(Figure 3).

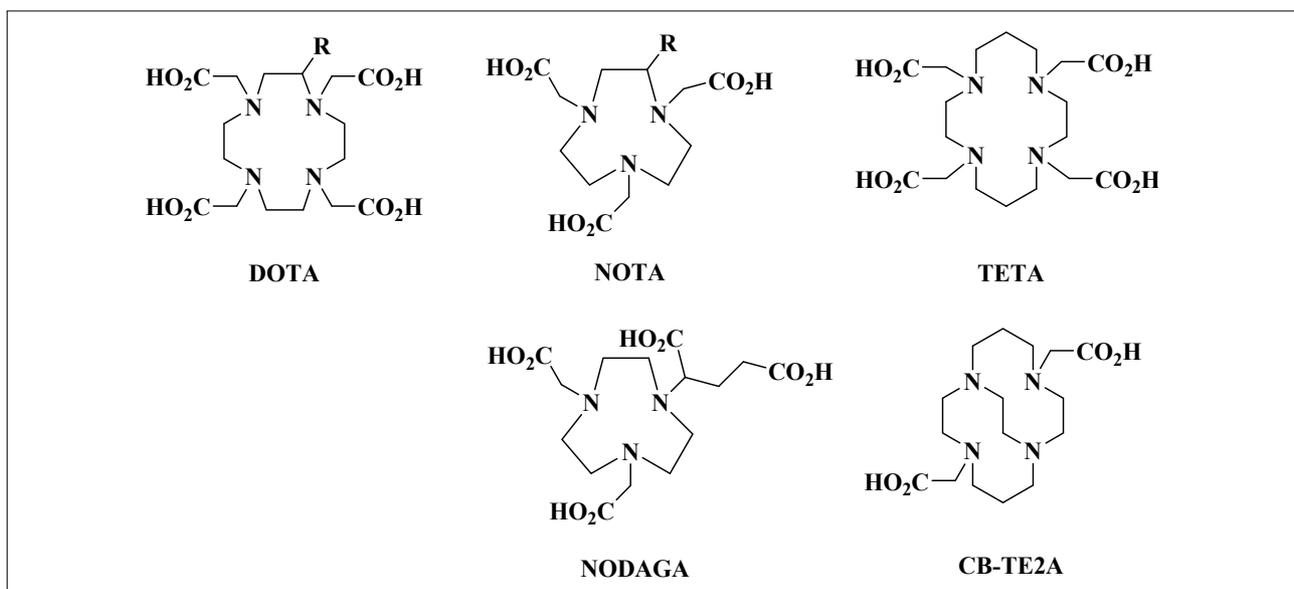


Figure 2. The kinds of chelator analogue for radioactive copper.

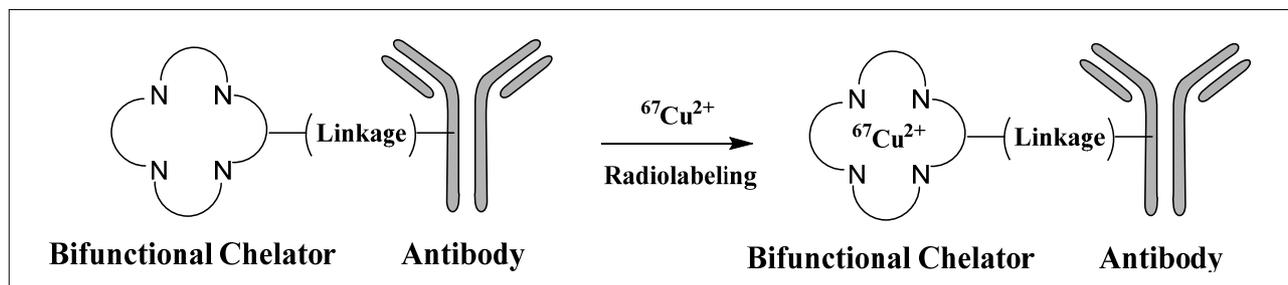


Figure 3. ^{67}Cu -radiolabeling scheme with a specific antibody.

현재 방사성 구리는 항체와 결합한 치료 및 진단용 방사성의약품으로 많이 연구되고 있으며, 방사성 구리와 친화력과 안정성이 높은 고리형 킬레이트의 연구는 매우 중요한 주제가 되었다. 이것은 항체가 약물동태학적으로 체내 혈액, 종양 등에서 긴 생물학적 반감기를 지녔기 때문에, 방사성 구리는 좋은 핵의학 영상이나 치료 효과를 얻기 위해서는 체내에서 72시간 이상 높은 안정성으로 유지되어야 한다. 또한 구리(Cu)는 화학적으로 수용액에서 Jahn-Teller 효과에 의해 구리 착물이 불안정하기 때문에, 방사성 구리와 결합하는 킬레이트도 방사성 구리 착물의 형성 이후 물분자와 결합을 가급적 하지 않는 것이 체내의 안정성에 도움이 된다(25).

4. Clinical Studies with ^{67}Cu -labelled antibodies

1) Targetting of non-Hodgkin's lymphoma with ^{67}Cu -2IT-BAT-Lym-1

University of California Davis Medical Center의 Denardo 등과 Denardo 그룹은 non-Hodgkin's lymphoma (NHL) 환자들을 대상으로 ^{67}Cu 이 표지 된 항체를 이용한 임상 연구를 수행하였다(8,29,30). 이 그룹은 선행 연구에서 ^{131}I 이 표지 된 anti-lymphoma Lym-1 항체를 이용한 방사선면역 치료가 치료 반응을 유도하고 장기 생존에 있어서 성공적임을 증명하였다. 또한, 이 그룹은 이전의 연구에서 ^{131}I 대체용으로 더 나은 물리적 특성을 갖는 ^{67}Cu 을 평가하기 위하여, ^{67}Cu -TETA가 표지 된 Lym-1 방사성의약품(^{67}Cu -2IT-BAT-Lym-1)을 개발하였다(31). ^{67}Cu -mAb (항체에 결합한 TETA 125 -267 μg 과 Lym-1 항체 40-70 mg) 치료량 (therapeutic amounts)을 반복 투약한 후 면역 반응을 추적 관찰 했을 때, 몇몇 사례에서 사람 항 마우스 항체(HAMA: human antimouse antibodies)가 검출(Lym-1: 마우스 단일클론 항체)되었다(32). 진행된 B-lymphocyte NHL 환자 세 명에 대한 예비 연구에서, 영상획득을 위해 ^{67}Cu -2IT-BAT-

Lym-1 (10 mCi) 투여한 후, 4주 간격으로 최대 네 번의 ^{67}Cu -항체(60 mCi)의 치료 용량을 투여하였을 때, 양호한 종양 영상과 방사선 선량평가는 물론 높은 치료 지수(골수에 대한 종양의 방사선량)를 확인할 수 있었다. 이 뒤를 이은 12명 NHL 환자에 대한 임상연구에서는 58%의 반응률을 확인하였다. ^{131}I 와 ^{67}Cu 표지 항체를 약동학과 선량측정 측면에서 평가하기 위하여 ^{131}I -Lym-1과 ^{67}Cu -2IT-BAT-Lym-1을 네 명의 환자에 대하여 순차적으로 투여하였는데, ^{67}Cu -2IT-BAT-Lym-1이 ^{131}I -Lym-1보다 더 높은 종양 흡수와 종양 내에서 더 긴 잔류 시간을 보였다. 정상 장기에 대한 선량은 ^{67}Cu -2IT-BAT-Lym-1이 더 높은 선량으로 평가된 간을 제외하고 두 방사성의약품에 대하여 유사하였다(9). 여기까지 얻은 결과는 ^{67}Cu -2IT-BAT-Lym-1이 ^{131}I -Lym-1보다 방사선면역치료 시에 안전하고 효율적이며 더 높은 선량을 종양에 전달함을 보여준다. 하지만, 향후 ^{131}I -Lym-1에 비해 ^{67}Cu -2IT-BAT-Lym-1이 더 좋은 치료 반응 또는 치료 결과는 내는지 확인하기 위하여 추가적인 임상연구가 수행되어야 한다.

2) Targetting of colon carcinoma with ^{67}Cu -CPTA-mAb35

스위스 University Hospital에서 6명의 직장암 환자에 대하여 ^{67}Cu -CPTA-와 ^{125}I -이 표지된 anti-CEA 항체 mAb35에 대한 체내동태 연구가 수행되었다(33). 환자는 원발성 직장암에 대하여 수술이 예정되어 있었으며, 수술 전에 5 mCi의 ^{67}Cu -CPTA-mAb35 (0.24 mCi)을 ^{125}I -mAb35와 동시에 주사하였다. 주사 1시간, 1일과 2일 후 전신스캔과 단일광자단층촬영을 시행하였다. 수술은 주사 후 2-8일 후에 시행하였고 종양 샘플, 정상 대장 점막, 지방, 혈액 샘플의 방사능을 측정하였다(34). 이 연구는 누드마우스에 이종 이식한 인간대장암에서 ^{131}I -mAb35와 비교해 ^{67}Cu -mAb35가 더 높은 종양 섭취와 좀 더 바람직한 혈액에 대한 종양 섭취 비를 보여준 전임상 연구결과를 확고히 하였다(34). 그러나, 환자에서 간 섭취는 동물 모델에서 보다 현

저하게 높았다. 종양 반응 또는 치유를 달성할 가능성은 ^{131}I - 또는 ^{67}Cu -이 표지 된 항체가 이용된 것과 관계없이 직장암과 같은 고품 종양에서는 제한적이었다고 결론 지었다.

3) Targeting of bladder cancer with ^{67}Cu -CPTA-C595

고형 종양의 방사선면역치료에서 최상의 결과는 수술과 방사선치료로 종양을 감소시킨 후 방사선동위원소를 표지 한 항체를 국소 투약하였을 때 획득할 수 있다. ^{131}I - 또는 ^{90}Y 가 표지 된 anti-tenascin 항체를 악성 뇌교종 병변 내 적용했을 경우와 난소암에 대해 ^{90}Y - 또는 ^{177}Lu -이 표지 된 항체를 복강 내에 적용한 후에 50% 이상의 반응률과 장기생존율을 얻을 수 있었다(35-37). 표재성 방광암 (superficial bladder cancer)의 경우, 재발과 진행을 제한하기 위하여 좀 더 효과적인 국소 치료가 모색되고 있다. 방사성 동위원소가 표지 된 종양 특이 단일클론 항체의 방광 내 적용은 세포 독성 방사선을 선택적으로 종양 조직에 표적화 하는 좀 더 효율적인 방식이 될 수 있다. 방광 내 항암화학요법은 제한된 효과와 심각한 부작용을 보여줬다. 사전연구가 방광 절제술 환자에서 수행되었는데 수술 직후 카테터를 통해 생체 외부에서 ^{67}Cu -CPTA-C595를 방광에 주입하였다. 한 시간 후에 결합이 풀린 항체는 씻겨지고 방광을 감마카메라로 영상화하였다. 생체 외부 영상은 조직학적으로 확인된 것과 같은 종양 위치에 해당하는 항체 국소화를 증명하였다. 이후에 표재성 방광암 진단을 받은 16명 환자에 대한 진단 연구가 진행되었다. ^{67}Cu -CPTA-C595 (대략 20 MBq)를 방광에 주입하였고 한 시간 이후에 방광을 세척하였다. 내시경 절제술로 획득한 종양과 정상 조직의 영상화와 조직에서의 방사선을 계수하였으며 tissue 15명의 환자 중 12명에서 성공적인 영상을 얻었다. 정상 조직에 대한 종양 섭취는 평균 15:1로 확인되었으나 환자에 따라 큰 차이를 보였다. 영국 Nottingham에 소재한 City Hospital과 University Hospital의 그룹에 의해 얻어진 결과는 ^{67}Cu -C595가 방광암 국소 치료에 상당한 가능성을 지니고 있음을 보여준다.

Conclusion

^{67}Cu 생산방법을 검토해 본 결과로, 국내의 대전류 양성자빔 또는 알파빔 의료용 가속기에서 생산하면 전임상 연구 지원은 가능할 것으로 판단된다. 따라서 ^{67}Cu 의 생산방법 및 분리정제법에 대한 연구가 필요하고, 향후에는 의료전용 70 MeV 가속기를 도입과 이를 기반으로 한

^{67}Cu 의 대량생산체계 구축이 필요할 것이다. 아울러 ^{67}Cu 표지 항체를 이용한 방사성의약품의 연구 및 임상적 활용은 임상적 유용성이 기대되지만, ^{67}Cu 의 공급부족으로 인해 아직까지 전임상과 임상연구가 국내외적으로 제한적이었다.

Acknowledgements

This work was supported by the Korea Institute of Radiological and Medical Sciences (No. 50556) grant funded by the Korea government (MSIP)

References

- Blower PJ, Lewis JS, Zweit J. Copper radionuclides and radiopharmaceuticals in nuclear medicine. *Nucl Med Biol* 1996;23:957-980.
- Johnson PE, Milne DB, Lykken GI. Effects of age and sex on copper absorption, biological half-life, and status in humans. *Am J Clin Nutr* 1992;56:917-925.
- Linder MC, Hazegh-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. *Am J Clin Nutr* 1996;63:797s-811s.
- Novak-Hofer I, Schubiger PA. Copper-67 as a therapeutic nuclide for radioimmunotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002;29:821-830.
- Polak P, Geradts J, Vlist R, Lindner L. Photonuclear production of ^{67}Cu from ZnO targets. *Radiochimica Acta* 1986;40:169-174.
- Andersson H, Elgqvist J, Horvath G, Hultborn R, Jacobsson L, Jensen H, Karlsson B, Lindegren S, Palm S. Astatine-211-labeled antibodies for treatment of disseminated ovarian cancer: an overview of results in an ovarian tumor model. *Clin Cancer Res* 2003;9(10 Pt 2):3914S-3921S.
- Connett JM, Anderson CJ, Guo LW, Schwarz SW, Zinn KR, Rogers BE, Siegel BA, Philpott GW, Welch MJ. Radioimmunotherapy with a ^{64}Cu -labeled monoclonal antibody: a comparison with ^{67}Cu . *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:6814-6818.
- DeNardo GL, Kukis DL, Shen S, DeNardo DA, Meares CF, DeNardo SJ. ^{67}Cu -versus- ^{131}I -Labeled Lym-1 antibody: comparative pharmacokinetics and dosimetry in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res* 1999;5:533-541.
- Kastleiner S, Coenen H, Qaim S. Possibility of production of ^{67}Cu at a small-sized cyclotron via the (p, α)-reaction on enriched ^{70}Zn . *Radiochimica Acta* 1999;84:107-110.
- O'Donnell RT, DeNardo GL, Kukis DL, Lamborn KR, Shen S, Yuan A, Goldstein DS, Carr CE, Mirick GR, DeNardo SJ. A clinical trial of radioimmunotherapy with ^{67}Cu -2IT-BAT-Lym-1 for non-Hodgkin's lymphoma. *J Nucl Med* 1999;40:2014-2020.
- Norenberg J, Staples P, Atcher R, Tribble R, Faught J, Riedinger L. *Workshop on the Nation's Needs for Isotopes: present and*

- Future*. Co-sponsored by US DOE Offices of Nuclear Physics and Nuclear Energy, Rockville, Maryland; 2008. P. 63.
12. Stoll T, Kastleiner S, Shubin YN, Coenen HH, Qaim SM. Excitation functions of proton induced reactions on ^{68}Zn from threshold up to 71 MeV, with specific reference to the production of ^{67}Cu . *Radiochimica Acta* 2002;90:309-313.
 13. Szelecsényi F, Steyn GF, Dolley SG, Kovács Z, Vermeulen C, van der Walt TN. Investigation of the $^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ nuclear reaction: New measurements up to 40MeV and compilation up to 100MeV. *Nucl Instrum Methods Phys Res B* 2009;267:1877-1881.
 14. Dasgupta AK, Mausner LF, Srivastava SC. A new separation procedure for ^{67}Cu from proton irradiated Zn. *Int J Rad Appl Instrum A* 1991;42:371-376.
 15. Mausner LF, Kolsky KL, Joshi V, Srivastava SC. Radionuclide development at BNL for nuclear medicine therapy. *Appl Radiat Isot* 1998;49:285-294.
 16. Mirzadeh S, Mausner LF, Srivastava SC. Production of no-carrier added ^{67}Cu . *Int J Rad Appl Instrum A* 1986;37:29-36.
 17. Schwarzbach R, Zimmermann K, Bläuenstein P, Smith A, August Schubiger P. Development of a simple and selective separation of ^{67}Cu from irradiated zinc for use in antibody labeling: A comparison of methods. *Appl Radiat Isot* 1995;46:329-336.
 18. Katabuchi T, Watanabe S, Ishioka NS, Iida Y, Hanaoka H, Endo K, Matsuhashi S. Production of ^{67}Cu via the $^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ reaction and recovery of ^{68}Zn target. *J Radioanal Nucl Chem* 2008;277:467-470.
 19. Jamriska DJ, Taylor WA, Ott MA, Heaton RC, Phillips DR, Fowler MM. Activation rates and chemical recovery of ^{67}Cu produced with low energy proton irradiation of enriched ^{70}Zn targets. *J Radioanal Nucl Chem* 1995;195:263-270.
 20. Hilgers K, Stoll T, Skakun Y, Coenen HH, Qaim SM. Cross-section measurements of the nuclear reactions $^{nat}\text{Zn}(d,x)^{64}\text{Cu}$, $^{66}\text{Zn}(d,\alpha)^{64}\text{Cu}$ and $^{68}\text{Zn}(p,\alpha)^{64}\text{Cu}$ for production of ^{64}Cu and technical developments for small-scale production of ^{67}Cu via the $^{70}\text{Zn}(p,\alpha)^{67}\text{Cu}$ process. *Appl Radiat Isot* 2003;59:343-351.
 21. Skakun Y, Qaim SM. Excitation function of the $^{64}\text{Ni}(\alpha,p)^{67}\text{Cu}$ reaction for production of ^{67}Cu . *Appl Radiat Isot* 2004;60:33-39.
 22. Hassanein MA, El-Said H, El-Amir MA. Separation of carrier-free $^{64,67}\text{Cu}$ radionuclides from irradiated zinc targets using 6-tungstocerate (IV) gel matrix. *J Radioanal Nucl Chem* 2006;269:75-80.
 23. Mushtaq A, Karim HMA, Khan MA. Production of no-carrier-added ^{64}Cu and ^{67}Cu in a reactor. *J Radioanal Nucl Chem* 1990;141:261-269.
 24. Dolley SG, van der Walt TN, Steyn GF, Szelecsényi F, Kovács Z. The production and isolation of Cu-64 and Cu-67 from zinc target material and other radionuclides. *Czech J Phy* 2006;56 Suppl:D539-D544.
 25. Park JA, Kim JY. Recent advances in radiopharmaceutical application of matched-pair radiometals. *Curr Top Med Chem* 2013;13:458-469.
 26. Meares CF, McCall MJ, Reardan DT, Goodwin DA, Diamanti CI, McTigue M. Conjugation of antibodies with bifunctional chelating agents: isothiocyanate and bromoacetamide reagents, methods of analysis, and subsequent addition of metal ions. *Analytical biochemistry* 1984;142:68-78.
 27. Moi MK, Meares CF, McCall MJ, Cole WC, DeNardo SJ. Copper chelates as probes of biological systems: stable copper complexes with a macrocyclic bifunctional chelating agent. *Analytical biochemistry* 1985;148:249-253.
 28. Pandya DN, Kim JY, Park JC, Lee H, Phapale PB, Kwak W, Choi TH, Cheon GJ, Yoon YR, Yoo J. Revival of TE2A; a better chelate for Cu(II) ions than TETA? *Chem Commun (Camb)* 2010;46:3517-3519.
 29. DeNardo SJ, DeNardo GL, Kukis DL, Shen S, Kroger LA, DeNardo DA, Goldstein DS, Mirick GR, Salako Q, Mausner LF, Srivastava SC, Meares CF. ^{67}Cu -2IT-BAT-Lym-1 pharmacokinetics, radiation dosimetry, toxicity and tumor regression in patients with lymphoma. *J Nucl Med* 1999;40:302-310.
 30. Denardo GL, Denardo SJ, Kukis DL, O'Donnell RT, Shen S, Goldstein DS, Kroger LA, Salako Q, Denardo DA, Mirick GR, Mausner LF, Srivastava SC, Meares CF. Maximum tolerated dose of ^{67}Cu -2IT-BAT-LYM-1 for fractionated radioimmunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma: a pilot study. *Anticancer Res* 1998;18:2779-2788.
 31. Kukis DL, DeNardo GL, DeNardo SJ, Mirick GR, Miers LA, Greiner DP, Meares CF. Effect of the extent of chelate substitution on the immunoreactivity and biodistribution of 2IT-BAT-Lym-1 immunoconjugates. *Cancer Res* 1995;55:878-884.
 32. DeNardo GL, Mirick GR, Kroger LA, O'Donnell RT, Meares CF, DeNardo SJ. Antibody responses to macrocycles in lymphoma. *J Nucl Med* 1996;37:451-456.
 33. Behr TM, Sharkey RM, Juweid ME, Dunn RM, Ying Z, Zhang CH, Siegel JA, Goldenberg DM. Variables influencing tumor dosimetry in radioimmunotherapy of CEA-expressing cancers with anti-CEA and antimucin monoclonal antibodies. *J Nucl Med* 1997;38:409-418.
 34. Delaloye AB, Delaloye B, Buchegger F, Vogel CA, Gillet M, Mach JP, Smith A, Schubiger PA. Comparison of copper-67- and iodine-125-labeled anti-CEA monoclonal antibody biodistribution in patients with colorectal tumors. *J Nucl Med* 1997;38:847-853.
 35. Riva P, Franceschi G, Riva N, Casi M, Santimaria M, Adamo M. Role of nuclear medicine in the treatment of malignant gliomas: the locoregional radioimmunotherapy approach. *Eur J Nucl Med* 2000;27:601-609.
 36. Alvarez RD, Partridge EE, Khazaeli MB, Plott G, Austin M, Kilgore L, Russell CD, Liu T, Grizzle WE, Schlom J, LoBuglio AF, Meredith RF. Intraperitoneal radioimmunotherapy of ovarian cancer with ^{177}Lu -CC49: a phase I/II study. *Gynecol Oncol* 1997;65:94-101.
 37. Nicholson S, Gooden CS, Hird V, Maraveyas A, Mason P, Lambert HE, Meares CF, Epenetos AA. Radioimmunotherapy after chemotherapy compared to chemotherapy alone in the treatment of advanced ovarian cancer: a matched analysis. *Oncol Rep* 1998;5:223-229.