

방사성 활액막 절제술용 의약품 ^{188}Re -주석 교질과 ^{188}Re -황 교질의 제조 및 비교

Comparison of ^{188}Re -Rhenium-tin Colloid and ^{188}Re -Rhenium-sulfur Colloid as a Radiation
Synovectomy Agent

이용진, 정재민, 김영주, 장영수, 이동수, 정준기, 송영욱, 이명철

서울대학교병원
서울시 종로구 연건동 28

요 약

베타선 방출 방사성 교질은 관절염 치료에 사용할 수 있다. 발생기에서 생산되는 베타선 방출 핵종으로 ^{188}Re 은 방사성 치료용으로 보급되어지고 있다. 우리는 ^{188}Re 에 표지된 방사성 교질로 ^{188}Re -주석 교질과 ^{188}Re -황 교질간의 특성을 방사화학적으로 비교하였다. ^{188}Re -주석 교질은 10 mg $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 와 ^{188}Re perrhenate를 반응하여 얻었으며, ^{188}Re -황 교질은 40 mg sodium thiosulfate, 0.8 mg Na_2EDTA 와 0.8 mg potassium perrhenate에 ^{188}Re perrhenate를 가한후 가열하여 표지하였다. 방사화학적순도는 고정상으로 ITLC-SG를 이동상으로는 생리식염수를 사용하여 측정하였다. 주석 교질은 2시간 반응시에 >98%의 표지효율이 나타났으며, 황 교질에서는 3시간 반응시, 89~94%의 표지효율이 나타났다. 주석 교질과 황 교질은 물, 혈청과 활액에서 72시간 동안 모두 안정하였다. 주석 교질은 높은 온도에서 표지시에 교질의 크기가 커지는 것을 알 수 있었다. 일회용 주사기로 마우스에 주사시 주사기에 남은 방사능의 양은 ^{188}Re -황 교질의 경우 $62.0 \pm 7.0\%$ 로 황 교질이 소수성의 성질로 기인하며, 반면에 ^{188}Re -주석 교질은 $2.9 \pm 1.6\%$ 로 나타났다. ^{188}Re -주석 교질을 관절염 유발 토끼에서 관절에 주사시 48시간동안 $92.9 \pm 6.0\%$ 가 관절낭에 남아 있었다. 이와 같은 결과는 in vitro에서 안정하며, 관절낭 내 투여시 관절낭 밖으로 유출되지 않아 동위원소 치료시에 적합하다는 것을 알 수 있었다. ^{188}Re -주석 교질이 높은 표지효율과 교질 크기 조정이 용이하며, 주사기에 남은 방사능의 잔량이 적어 ^{188}Re -황 교질보다 동위원소 치료에 용이하다.

Abstract

Beta-emitting radiocolloids have been used for the treatment of rheumatoid arthritis. As a generator produced beta-emitting radionuclide, the importance of Re-188 for radionuclide therapy is increasing rapidly. We compared the radiochemistry of two ^{188}Re labeled radiocolloids: ^{188}Re -tin colloid and ^{188}Re -sulfur colloid. ^{188}Re -tin colloid was obtained by reacting 10 mg $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and ^{188}Re perrhenate. ^{188}Re -sulfur colloid was labeled by boiling 40 mg sodium thiosulfate, 0.8 mg Na_2EDTA , and 0.8 mg potassium perrhenate with ^{188}Re perrhenate. Radiochemical purity was checked by ITLC-SG/ saline. Labeling efficiencies reached >98% for tin colloid at 2 hr and 89~94% for sulfur colloid at 3 hr. All the preparations were stable for 72 hr in water, serum, and synovial fluid. If labeled at higher temperature, particle size of tin colloid increased. Remained radioactivity of ^{188}Re -sulfur colloid in disposable polypropylene syringe after injecting to mice was high ($62.0 \pm 7.0\%$) due to its hydrophobic nature, although, tin colloid did not show high remained radioactivity ($2.9 \pm 1.6\%$). Biodistribution in Antigen induced arthrititis model rabbit after synovial space injection showed that ^{188}Re -tin colloid was well retained in synovial space for 48 hr. Although, both ^{188}Re -tin colloid and ^{188}Re -sulfur colloid might be useful for radionuclide therapy, we concluded that ^{188}Re -tin colloid is more advantageous over ^{188}Re -sulfur colloid, due to higher labeling efficiency, size-controllable property, and lower residual activity in syringe.

1. 서론

관절염 활액막 제거술에는 외과적 활액막 제거술과 화학적 활액막 제거술 등이 치료에 사용되고 있다. 방사성동위원소를 이용한 방사성 활액막 절제술이 이러한 활액막 제거술을 대체할 수 있다. 방사성 활액막 제거술에 사용하기 위해서는 기본적인 요건을 갖추어야 한다. 방출되는 베타선 에너지가 충분한 투과력을 갖추어야 하고, 관절연골과 피부 등의 정상조직에 손상을 주어서는 안된다. 동위원소에 결합된 교질 또는 입자가 각종 체액에서 안정해야 하며, 입자는 크기가 균일하고, 2~5 μm 로 작아서 식균작용이 일어날 수 있어야 한다. 그러나, 너무 작으면 식균작용이 일어나기 전에 다른 부위로 유출된다. 또한, 방사능이 붕괴된 후 관절낭 내에서 생분해가 되어야 한다.

베타선을 방출하는 여러 치료용 동위원소가 활액막 절제술에 사용되고 있다. 이러한 치료용 동위원소는 ^{152}Sm , $^{176\text{m}}\text{Lu}$, ^{162}Er 등이 사용하였으며, 높은 베타선을 방출하는 ^{32}P ($T_{1/2}=14.3$ day, $E_{\beta\text{-max}}=1.71$ MeV)와 ^{90}Y ($T_{1/2}=2.7$ day, $E_{\beta\text{-max}}=2.27$ MeV)은 활액막 제거술에

널리 사용되었다. 그러나, ^{32}P 와 ^{90}Y 은 영상화 할 수 있는 감마선을 방출하지 않아 정량분석과 관절 밖의 방사능 유출을 확인할 수 없는 단점이 있다. 이러한 점을 고려하여, 치료용 동위원소로 사용되는 방사성 핵종은 ^{166}Dy , ^{198}Au , ^{186}Re 등이 있다. ^{166}Dy -FHMA (ferric hydroxide macroaggregate)는 ^{198}Au 와 ^{90}Y 교질 보다 입자크기가 100배나 커서 관절내 유출이 적으나, ^{166}Dy 의 반감기가 2.4 시간으로 매우 짧은 단점이 있다. 최근 수년 동안 유럽에서는 ^{186}Re -황 교질을 사용하고 있으나, ^{186}Re 은 높은 베타선을 방출하며, 방사능 유출을 영상화 할 수 있는 감마선을 방출하지만 원자로에서 생산되어 방사성 핵종이 고가인 단점이 있다.

^{188}Re 은 무담체이며 $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ 발생기에서 생산되어 사용하기 편리하며, 긴 반감기를 가진 ^{188}Re ($T_{1/2}=17.0$ hr)은 치료용으로 적당한 베타선 ($E_{\beta\text{-max}}=2.12$ MeV)을 방출하여 조직 투과력이 평균 3.8 mm이며 동시에 영상화에 적당한 감마선 ($E_{\gamma}=155$ keV (15%))을 방출한다. 이러한 ^{188}Re 을 이용하여 황 교질 방사성 의약품 개발하고 있고, 정상 토끼와 관절염 유발 토끼에서 좋은 결과를 보여주고 있다. 그러나, 이러한 방사성 의약품의 제조가 용이하지 않은 단점을 가지고 있다.

이 연구에서는 ^{188}Re -주석교질과 ^{188}Re -황 교질을 제조하여 방사화학적 특성을 비교하였으며, ^{188}Re -주석 교질의 방사성 활액막 절제술에 사용 가능성을 조사하였다.

2. 대상 및 방법

2.1 ^{188}Re -주석 교질의 제조

주석($\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; Sigma-Aldrich, Korea)에 치료용 방사성 핵종인 ^{188}Re 을 표지하기 위하여 주석의 양(0.1 ~ 30 mg)을 달리하여 질소 충전된 0.1 HCl 0.5 l에 녹이고, pH 1로 조정하여 10 l 바이알에 넣은 후 질소로 충전 하였다. 각 바이알에 $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ -발생기(Oak Ridge National Laboratory)에서 용출한 ^{188}Re -perrhenate 0.5ml (~30 MBq)를 넣고 혼합하여 실온과 100°C 항온수조에서 2시간동안 각각 반응 시켰다. 표지 효율을 확인하기 위하여 이동상으로 생리식염수, 정지상으로 ITLC-SG Gelman 사)를 사용하여 크로마토그래피를 확인하고, 그 결과를 TLC스캐너(Imaging scanner system 2000, Bioscan)로 판독 하였다. 표지 후 ^{188}Re -주석 교질을 중화하고자 0.2 M sodium phosphate buffer pH=8) 1.5ml을 사용하여 중화하였다.

2.2 ^{188}Re -황 교질의 제조

^{188}Re -황 교질의 제조는 Wang 등의 방법을 변형하여 표지하였다. 40 mg sodium thiosulfate, 4.8 mg EDTA disodium salt와 0.8 mg potassium perrhenate로 제조한 바이알에 ^{188}Re -perrhenate (~75MBq/1.5ml)를 가한 후 1 N HCl를 이용하여 pH를 1로 조정하였다. 반응은 100°C 항온수조에서 30분간 반응하였다. 표지 효율은 ^{188}Re -주석 교질의 방법과

동일하게 시행하였다. 표지 후 ^{188}Re -황 교질을 중화하고자 0.2 M sodium phosphate buffer (pH=8)을 사용하여 중화하였다.

2.3 교질 크기 측정

교질 크기 분포를 보기 위하여 0.22 μm 필터(Millipore Co.)와 1, 5, 10 μm 필터(Nucleopore Co.)를 연결한 후 ^{188}Re -주석교질과 ^{188}Re -황 교질($\sim 35 \text{ MBq}/4 \text{ ml}$)을 10 μm 필터부터 통과 시킨 후 다시 생리식염수 4ml을 다시 통과 시켰다. 각 필터에 남아있는 방사능을 필터를 통과해서 나온 용액과 필터에 남아있는 방사능의 합에 대한 백분율(%)을 계산하였다.

2.4 안정성 검사

실온에서 안정성을 측정하고자 ^{188}Re -주석교질과 ^{188}Re -황 교질을 실온에서 24 시간 방치하며 방사화학적 순도를 측정 하였다. 또한 정상 사람 혈청과 사람 활액에서의 안정성을 확인 하고자 정상 사람 혈청과 사람 활액 2ml에 ^{188}Re -주석교질과 ^{188}Re -황 교질을 가하고, 37°C, 5% CO_2 배양기에서 방치하며, 72 시간동안 방사화학적 순도를 측정하였다.

2.5 정맥주에 의한 생체 내 분포 스크리닝

각 교질의 생체 내에서의 분포를 보기 위하여 ^{188}Re -주석교질과 ^{188}Re -황 교질(74 kBq/0.1 ml)을 마우스(ICR, 수컷, $22.2 \pm 3.2 \text{ g}$, n=10)의 꼬리정맥에 주사하였다. 1 시간 후 장기(혈액, 근육, 지방, 심장, 폐, 간, 비장, 위, 장, 신장, 뇌, 뼈)를 적출하여 무게를 측정하고, 각각의 장기에 대한 방사능(135~188 keV)을 감마선 계수기(Packard Co.)를 사용하여 측정한다.

2.6 항원 유발성 관절염 모델 토끼에서의 ^{188}Re -주석교질 분포

뉴질랜드 토끼(2~3 kg, 수컷)를 사용하여 ovalbumin (Sigma-Aldrich Korea) 1mg을 Freund's complete adjuvant (Sigma-Aldrich Korea) 일정량에 현탁시켜 등 5부위에 걸쳐 피하주사한 후, 14일째에 두번째 감작으로서 0.5 mg ovalbumin을 투여하고 24일째에 20 μg 의 ovalbumin으로 skin-test를 수행하여, 감작시킨 동물 중 positive response를 나타낸 동물을 선별하여 사용하였다. 30일째에 0.1mg ovalbumin을 멸균수에 용해시켜 무릎에 투여하고, 그 10일 후에 마취상태에서, ^{188}Re -주석교질(37 MBq/0.2ml)을 오른쪽 무릎관절에 또, 왼쪽 무릎관절에 생리식염수 0.2 ml을 투여한 다음 1 시간, 1 일, 2 일, 3 일에 감마 카메라(PRISM 3000, Picker Co.)로 측정하였다.

3. 결과

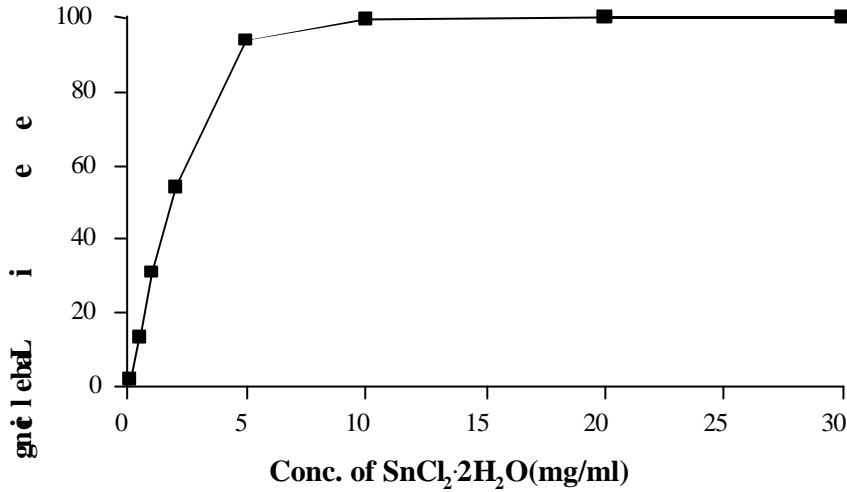
y

cl

3.1 방사성 교질의 표지 효율 측정

^{188}Re -주석 교질에서는 $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 의 농도가 증가 할 수록 표지 효율이 증가 하였으며, 10 mg/ml의 농도에서는 표지효율이 최고에 도달하였다(Fig. 1).

n



i b

Fig. 1. Labeling efficiency of ^{188}Re -tin colloid versus concentration of $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ is plotted

i

^{188}Re -황 교질은 100°C 에서 3 시간 반응 할 때 표지 효율이 95%이상으로 나타났으나 ^{188}Re -주석 교질은 100°C 와 실온에서 2 시간 반응 할 때 95%이상으로 나타났다(Fig. 2).

f

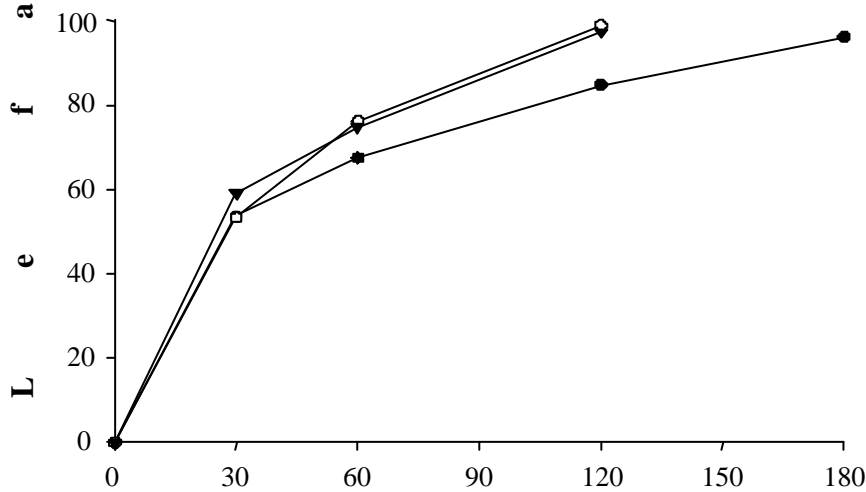


Fig. 2. Labeling efficiency of each ^{188}Re -labeled colloid versus time is plotted

●: Sulfur colloid(100℃), ○: Tin colloid(room temperature), ▼: Tin colloid(100℃)

3.2 교질의 크기 분포

¹⁸⁸Re-주석 교질은 실온에서 보다 100℃시에서 표지 할 때 교질의 크기가 증가 하였으며, ¹⁸⁸Re-황 교질의 교질 크기는 ¹⁸⁸Re-주석 교질의 크기보다 크게 나타났다(Fig. 3).

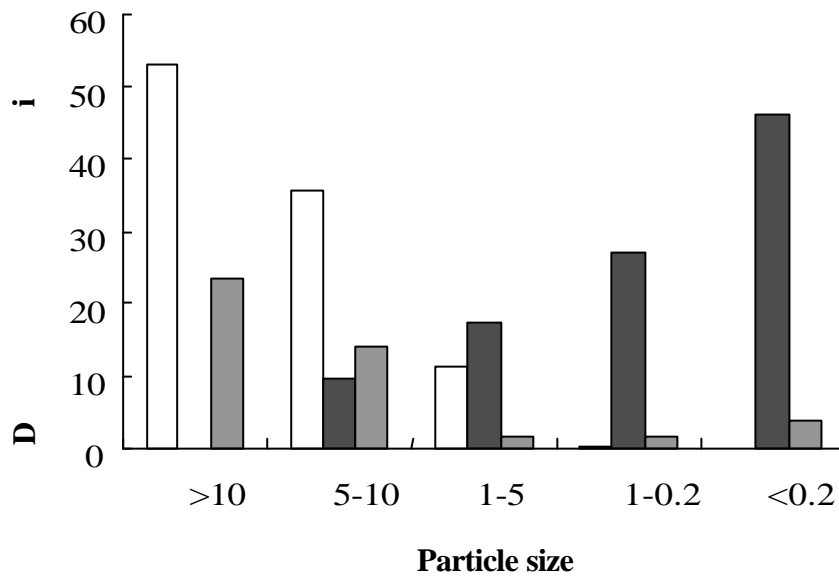


Fig. 3. Particle size distribution of ¹⁸⁸Re-labeled colloid.

□: Sulfur colloid(100℃), ■: Tin colloid(room temperature), ▒: Tin colloid(100℃)

3.3 안정성 검사

¹⁸⁸Re-주석 교질과 ¹⁸⁸Re-황 교질은 실온에서 24 시간동안 안정하였다. 물, 사람 혈청과 활액에서 72 시간까지 방사화학적 순도가 99% 이상으로 안정하였다.

3.4 정맥주에 의한 생체내 분포

마우스의 꼬리정맥에 주사하고 1 시간 후에 각 장기에 대한 섭취율을 측정한 결과 실온에서 표지한 ¹⁸⁸Re-주석 교질은 간에 섭취율이 높았으며, 100℃시에서 표지한 ¹⁸⁸Re-주석 교질은 폐에 50.7% ID/organ으로 높은 섭취율이 나타났다. ¹⁸⁸Re-황 교질은 폐에 37.3% ID/organ으로 섭취율이 나타났다(Table 1).

¹⁸⁸Re-주석 교질과 ¹⁸⁸Re-황 교질을 주사 후 주사기에 남은 방사능은 ¹⁸⁸Re-황 교질은 62.0 ± 7.0%, ¹⁸⁸Re-주석 교질은 2.9 ± 1.6%으로 나타났다.

Table 1. Biodistribution of ^{188}Re -Labeled Colloids in 1 hr after Tail vein Injection in Mice.

Organ	Tin colloid(RT)	Tin colloid(100°C)	Sulfur Colloid(100°C)
Blood	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.0
Muscle	5.8 ± 1.2	7.2 ± 4.3	6.6 ± 2.0
Fat	0.5 ± 0.1	0.9 ± 0.3	1.4 ± 0.7
Heart	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
Lung	21.4 ± 3.1	50.7 ± 6.8	37.3 ± 5.4
Liver	58.6 ± 0.6	27.0 ± 4.9	32.3 ± 5.8
Spleen	2.4 ± 0.9	0.9 ± 0.1	1.1 ± 0.3
Stomach	2.5 ± 0.8	0.4 ± 0.1	1.1 ± 0.1
Intestine	0.8 ± 0.1	1.1 ± 0.3	1.2 ± 1.4
Kidney	2.8 ± 1.1	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.3
Brain	0.2 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1

The value designate average percentage of injection dose per organ ± S.D.(n=4)

RT=room temperature

3.5 항원 유발성 관절염 모델 토끼에서의 ^{188}Re -주석교질 분포

^{188}Re -주석 교질을 관절염 모델 토끼와 정상 토끼의 관절낭에 주사시 72시간 동안 측정하였을 때 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 2).

Table 2. Retention of ^{188}Re -tin Colloid in the Synovial Space of Rabbits.

Time(hr)	Noamal	AIA model rabbit
1	96.3 ± 7.9	97.3 ± 4.3
24	96.4 ± 11.1	96.1 ± 4.2
48	93.9 ± 9.7	92.9 ± 6.0
72	90.7 ± 11.2	ND

Value denote percentage of remained radioactivity in Knee ± S.D.(n=3)

ND=not determined

4. 고찰

이 실험의 주요 목적은 류마티스성 관절염의 치료에 사용할 ^{188}Re -주석 교질을 제조하고자 하는 것이다. 우리는 앞서 발표된 ^{188}Re -황 교질보다 높은 효율로 ^{188}Re -주석 교질을 표지할 수 있었다. 재현성을 높이기 위해서는 산화되지 않은 stannous chloride가 필요한데,

이는 Sn(II)만이 Re(VII)을 환원시키는데 효과적이기 때문이다. ^{99m}Tc -주석 교질의 표지는 거의 즉시 일어나는데 비해 ^{188}Re -주석 교질은 표지에 거의 2시간이 소요된다. 또한 ^{99m}Tc -주석 교질 표지에는 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 가 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이면 충분하지만, ^{188}Re -주석 교질 표지에는 10 mg/ml 이 필요하다. 방사성의약품을 방사성 활액막 절제술에 사용하기 위해서 가장 중요한 특성 중 하나는 안정성이다. 우리는 ^{188}Re -주석 교질의 안정성을 물과 혈청, 활액에서 각각 측정하였다.

방사성 교질을 방사성 활액막 절제술에 사용하려면 교질의 입자크기가 2-30 μm 사이에 있어야 한다. 입자 크기가 1 μm 이하인 경우는 관절낭에서 빠져 나올 수 있고 활막 조직의 식작용을 받지 않게 된다. 그리고 입자 크기가 30 μm 보다 크게 되도 역시 활막 조직의 식작용을 받지 못한다. 우리의 실험 결과를 보면 100 $^\circ\text{C}$ 에서 ^{188}Re -주석 교질을 표지할 경우 방사성 활액막 절제술에 사용하기 적합한 입자 크기가 됨을 알 수 있었다.

교질 입자의 크기가 모세관보다 크게 되면 투여시 모세관 차단으로 폐에 축적이 되게 되며, 반면에 교질 입자가 너무 작으면 망상내피계의 식작용을 받아 간에 축적이 된다. 마우스에서의 생체내분포실험 결과는 이러한 가정에 잘 부합되었다.

관절낭내로 투여한 ^{188}Re -주석 교질은 정상과 관절염 유발 토끼 모두에서 72 시간 동안 관절낭내에 저류해 있었다.

^{188}Re -황 교질의 실험상 문제는 주사 후 주사기에 방사능이 많이 남는다는 것이다. 이것은 투여량의 추정을 어렵게 만들며, 방사성폐기물 처리 문제가 생기게 된다. 이러한 문제는 ^{188}Re -황 교질의 소수성 때문인 것으로 추정되며, 이를 방지하기 위해서는 조제시 gelatin과 같은 안정제의 부가가 필요하게 된다. 그러나 ^{188}Re -주석 교질은 안정제가 필요하지 않다.

이상의 실험결과 우리는 ^{188}Re -주석 교질은 활액막 절제술에 사용할 수 있는 이상적인 방사성의약품으로 생각한다.

5. 참고문헌

A. Ahlberg, P. Mikulowski, O. Odelberg-Johnson ; Intra-articular injection of radioactive gold in treatment of chronic synovial effusion in the knee ; (1969) Acta Rheum Scand 15, 81

B.M. Ansell, A. Crooke, J.R. Mallard ; Evaluation of intra-articular colloid gold ^{198}Au in the treatment of persistent knee-effusions ; (1963) Ann Rheum Dis 22, 435

K.G. Grillenberger, S. Glatz, S.N. Reske ; Rhenium-188 labeled hydroxyapatite and rhenium-188 sulfur colloid: in vitro comparison of two agents for radiation synovectomy ; (1997) Nukleomedizin 36, 71

J.M. Gumpel, E.D. Williams, H.I. Glass ; Use of yttrium-90 in persistent synovitis of the knee. I. Retention in the knee and spread in the body after injection ; (1973) Ann Rheum 32, 223

M.P. Howson, N.L. Shepard, N.S. Mitchell ; Colloidal chromic phosphate P32 synovectomy in antigen-induced arthritis in the rabbit ; (1988) Clin Orthopaedics Related Res 229, 283

S. Jalava ; Irradiation synovectomy: Clinical study of 67 knee effusions intraarticularly irradiated with ^{90}Y resin ; (1973) Curr Ther Res 15, 395

F.F. Knapp, S. Mirzadeh, A.L. Beets, R. Sharkey, G. Griffiths, M. Juweid, D.M. Goldenberg ; Curie-scale tungsten-188/rhenium-188 generators for routine clinical applications ; (1995) In Technetium Chemistry and Nuclear Medicine 4, eds M. Nicolini, B. Bandoli and U. Mazzi, pp.319-384 SGE-ditoriali, Padova

S.M. Lin, H.S. Winchell ; A kit method for the preparation of a technetium-tin(II) colloid and a study of its properties ; (1972) J Nucl Med 13, 58

T.E. Tully, M.E. Goldberg, M.K. Loken ; The use of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sulfur colloid to assess the distribution of ^{32}P -chromic phosphate ; (1974) J Nucl Med 15, 190

P.P. Venkatesan, S. Shortkroff, M.R. Zalutsky, C.B. Sledge ; Rhenium heptasulfide : a potential carrier system for radiation synovectomy ; (1990) Nucl Med Biol 17, 357

S.-J. Wang, W.-Y. Lin, B.-T. Hsieh, L.-H. Shen, Z.-T. Tsai, G. Ting, F.F. Knapp ; Rhenium-188 sulphur colloid as a radiation synovectomy agent ; (1995) Eur J Nucl Med 22, 505

S.-J. Wang, W.-Y. Lin, M.-N. Chen, B.-T. Hsieh, L.-H. Shen, Z.-T. Tsai, G. Ting, J.-T. Chen, W.-L. Ho, S. Mirzadeh, and F. F. Knapp ; Rhenium-188 microspheres: a new radiation synovectomy agent ;(1998) Nucl Med Comm 19, 427