

## 41

## 세포고사 영상화를 위한 Tc-99m-HYNIC-Annexin V의 제조 및 생체분포

원자력의학원 싸이클로트론응용연구실<sup>1</sup>, 핵의학과<sup>2</sup>이태섭<sup>1</sup>, 정혜경<sup>1</sup>, 우광선<sup>1</sup>, 정위섭<sup>1</sup>, 이정철<sup>1</sup>, 송옥별<sup>1</sup>, 김성은<sup>2</sup>, 천기정<sup>2</sup>, 최창운<sup>2</sup>, 임상무<sup>2</sup>

**목적:** AnnexinV는 세포고사 초기에 세포막밖으로 나타나는 phosphatidylserine에 특이적으로 결합하는 생체유래 단백질이다. 본 연구는 종양에 대한 치료방법으로 사용되는 방사선 조사나 약물의 투여에 의하여 발생하는 세포고사를 영상화하기 위하여 <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-AnnexinV를 제조하고, 시험관에서의 세포고사를 측정하는 것이 가능한지의 여부와 정상백서에서 생체분포를 평가하고자 하였다. **방법:** AnnexinV와 HYNIC을 1: 4의 몰비로 반응하여 HYNIC-Annexin V를 제조하였다. <sup>99m</sup>Tc-Tricine을 합성한 후, HYNIC-Annexin V와 실온에서 2시간까지 반응하면서 표지수율을 확인하였다. 표지수율의 확인은 고정상은 ITLC-sg, 이동상은 0.1M citrate buffer를 사용하였다. 시험관내 안정성을 평가하기 위하여 <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-AnnexinV와 동량의 사람 혈청을 섞어주고 37°C에서 24시간까지 안정성을 평가하였다. 시험관내에서 세포고사를 평가하기 위하여 4주령 BALB/c 마우스의 흉선 세포를  $1 \times 10^6$  cell(n=7)로 하고 Dexamethasone 0, 0.1, 1, 2, 4, 8ng/well을 24시간 처리한 후 유세포분석 군(n=3)은 Annexin V와 Propidium Iodide를 이용하여 세포고사를 평가하고, 세포접취군(n=4)은 <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-AnnexinV(0.1μg/6Ci/well)를 처리하여 방사능의 섭취율을 평가하였다. 또한 <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-AnnexinV(2μg/20Ci/0.1ml)(n=4)를 주사후 30분, 1시간 그리고 4시간에서의 생체분포를 평가하였다. **결과:** <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-AnnexinV 제조시 5분에서 2시간까지의 표지수율은 5분에 73.3%, 1시간에 94.1% 2시간에 96.8% 이었다. 시험관내 안정성은 6시간까지는 92.2%의 안정성을 나타내었으며, 24시간에는 89.6%의 안정성을 나타내었다. Dexamethasone의 농도증가에 따라서 유세포분석시 Annexin V의 섭취율이 증가하였으며 <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-AnnexinV의 섭취율과도 유의한 상관관계(R=0.97)를 나타내었다. 생체분포결과 간과 비장의 섭취가 높게 나타났으며 주로 신장을 통하여 혈중에서 제거되는 것으로 나타났다. **결론:** HYNIC를 이용한 AnnexinV의 표지방법은 매우 간편하며 높은 혈중내 안정성을 나타내고, 시험관내에서 세포고사를 평가하는데 유용한 것으로 확인되었다. 따라서 제조된 <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-AnnexinV를 이용하여 세포고사를 영상화하는 것이 가능할 것으로 기대된다.

## 42

## 간세포 지향 유전자전달벡터의 생체내 분포 영상화

원광대학교병원 핵의학과<sup>1</sup>, 서울대학교 농업생명과학대학<sup>2</sup>, 전남대학교병원 핵의학과<sup>3</sup>김은미\* , 정환정<sup>1</sup>, 박인규<sup>2</sup>, 조종수<sup>2</sup>, 범희승<sup>3</sup>, 김창근<sup>1</sup>

**목적:** 간세포 유전자전달벡터로 연구되고있는 galactosylated PEI에 Tc-99m을 표지하여 실험동물에서 유전자전달과 생체분포를 알아보고자 하였다. **방법:** PEI (polyethyleneimine)에 lactobionic acid를 이용하여 갈락토스를 10 mol%로 붙이고, PEG (polyethylene glycol)를 10, 50 mol%로 각각 반응시켜 화합물을 제조하였다. 갈락토스와 PEG는 모두 EDC와 NHS를 이용하여 합성하였다. 고분자의 세포내 독성은 MITT로 확인하였다. 각각의 고분자에 Tc-99m을 표지하여 생체내 분포를 관찰하였다. N/P ratio 3.0 에서 복합체를 만들어 그 크기와 전하를 측정하였다. 테크네슘이 표지된 복합체를 HepG2, Hela 세포주에 각각 처리한 후 free galactose (0-100 mM)에 의해 섭취억제가 되는지를 보았다. 또한 동일 세포주에 GFP유전자를 각각transfection 하였다. 테크네슘이 표지된 복합체를 간암을 가진 형질전환마우스에 주사 후 이들 뒤에 간조직을 떼어내어 형광현미경으로 보았다. **결과:** PEI에 갈락토스 합성 비율은 1.2 mol%이고, PEG는 각각 4.1, 7.6% 였다. gal-PEI에 PEG의 함량이 늘어날수록 세포내독성은 크게 감소하였고, 각각에 Tc-99m을 표지하여 토기에 주사후 생체내 분포를 본 결과 PEG 함량이 늘어날 수록 폐에서 보이는 activity가 크게 감소함을 보여 혈액 내에서 일어나는 비특이적인 반응을 감소 시킴을 영상을 통하여 확인할 수 있었다. 복합체의 크기와 전하는PEG함량이 증가할수록 크기는 증가하고 전하는 중성에 가깝게 감소하였다. HepG2에서 free galactose에 의해 50% 이상 섭취억제가 되는 것을 확인하였다. 또한HepG2에서만GFP가 발현하였다. 간암을 가진 형질전환마우스의 간조직 내에서도 종양세포 증식이 활발한 부위에 특이적으로 유전자가 발현되는 것을 확인할 수 있었다 (PCNA). **결론:** PEI에 테크네슘을 표지할 수 있어서 유전자전달벡터 뿐 만 아니라 생체내의 유전자 전달벡터의 분포를 확인할 수 있는 영상 제재로서도 사용될 수 있을 것으로 사료된다.