

四鹽化炭素投與후 白鼠肝細胞에서 ^{67}Ga 攝取率과 ^3H -thymidine 結合率 및 蛋白代謝와의 關係에 關한 研究

원자력병원 핵의학과

洪 性 質

= Abstract -

A Study on the Relationship between the Uptake of ^{67}Ga -citrate and the Incorporation Rate of ^3H -thymidine and Metabolism of Protein in the Rat Livers Treated with CCl_4

Seong Woon Hong, M.D.

Department of Nuclear Medicine, Cancer Center Hospital

The ability of ^{67}Ga , administered carrier free as the citrate complex, to localize in human and animal tumors to an extent sufficient to permit visualization of the lesion by scanning is well established. However, neither the mechanism of ^{67}Ga uptake by tumors or inflammatory cells nor its relationship to cell type or to the biochemical status of the cell is yet understood.

Author investigated the uptake of ^{67}Ga -citrate using subcellular tissue fractionation of rat livers treated with CCl_4 associated with the ^3H -thymidine incorporation rate to detect subcellular localization of ^{67}Ga and it's relationship in DNA synthesis.

Large amounts of ^{67}Ga associated with the soluble portion of tissue homogenate rather than with isolated cell organelles and not related nuclei residue in the regenerating period after hepatocellular injury caused by CCl_4 .

The elevated uptake of ^{67}Ga in the livers of CCl_4 treated rats was also inhibited when protein synthesis was stopped by cyclohexamide. Thus protein and the soluble portion of issue homogenates seems to play an important role in the elevated uptake of ^{67}Ga in liver injury induced by CCl_4 treated rats.

서 론

방사성동위원소를 이용하면 조직에서 방사능 검출이 용이하고, 예민도가 높고, 병소의 크기 및 형태를 영상화할 수 있어 질병의 진단에 많이 이용되고 있는데¹⁾ 1940년 후반부터 어떤 조직의 형태나 원발성에 관계없이 종양조직에 특이성을 가진 방사성 동위원소들이 발견되어 암의 조기발견의 가능성을 보여주므로 그 이용에 대해 많은 연구가 이루어지고 있다.^{2~6)} 이러한 특성을 가진 방사성 동위원소중 Gallium(^{67}Ga)은 1949

년 생체실험을 통해 알려 졌는데⁷⁾ 처음에는 동물암에 대해 국재화(localization) 및 림프의 신티그래프를 위해 사용하였고⁸⁾ 그 후 1969년 Edward 와 Hayes^{3,4)}에 의해 ^{67}Ga -citrate 가 Hodgkin 병에 축적되는 것이 알려진 후 다른 암조직에도 축적되는 것이 보고되었다.^{2,9, 10)} 따라서 ^{67}Ga 은 진단이 어려운 잠재암, 암의 연부조직의 침범부위, 병기결정, 전이암을 찾는 전신검사¹¹⁾ (total body survey), 암치료후 효과판정 및 경과관찰 등에 매우 유용한 동위원소^{3,4,6)}로 사용되고 있다. ^{67}Ga 은 종양이외에도 염증병소^{12~14)} 수유유선¹⁵⁾, 과잉활성의 골수¹⁶⁾에도 선택적으로 축적된다고 알려져 장

기내 병소의 원발부위 및 신체이상부위를 발견하는 진단 목적으로도 이용되고 있다.

그러나 ^{67}Ga 가 정상조직보다 염증병소나 종양조직에 고농도로 축적되는 기전에 대해서는 아직 확실히 알려지지 않고 있다. 보고들 중에는 농양등 세포활성도가 강한 경우에 ^{67}Ga 축적이 많이 일어나므로 세포증식과 ^{67}Ga 섭취와의 관계에 대한 연구가 많은 것을 볼 수 있다.^{16~22)}

Bichel¹⁶⁾ 및 여러보고자^{17, 20~21, 23~26)}에 의하면 조직내 ^{67}Ga 축적은 피사된 간세포의 재생 및 수복과정에서 세포증식과 관련이 있다고 하였고 Hemmersley¹⁸⁾는 세포증식시 ^{67}Ga 축적이 DNA 합성과는 무관하며 단백질합성과 lysosome의 활성화와 관련이 있다고 하였으나 Orii²⁶⁾ 및 Hill과 Wagner²⁷⁾는 세포증식과 ^{67}Ga 축적은 무관하다고 하여 아직 확실한 결론에 이르지 못한 상태이다.

따라서 저자는 세포내 ^{67}Ga 축적이 세포증식과 관련이 있는지, 또 ^{67}Ga 축적이 DNA 합성과 관련이 있는지, 혹은 세포내 단백질과 관련이 있는지를 규명하고자 백서에서 CCl_4 를 투여하여 간 손상을 준후²⁸⁾ ^{67}Ga 섭취율과 ^3H -thymidine 결합력을 조사하고, 단백질억제제인 cyclohexamide²⁹⁾를 투여한 후 ^{67}Ga 섭취율과 ^3H -thymidine 결합력을 비교조사하였으며 각 경우의 간세포내 세포 분획간의 ^{67}Ga 섭취율을 분석관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

실험재료 및 방법

실험동물

체중이 약 170 ± 20 gm 인 생후 6주의 Sprague-Dawley 계 웅성백서 120 마리를 24 시간 동안 금식 시킨 후 1) 정상대조군, 2) CCl_4 만 투여한군: CCl_4 군, 3) CCl_4 로 전치치한 후 cyclohexamide를 투여한군: CCl_4 -CYH 군 등 3군으로 나누고 각 군마다 2시간, 24시간, 48시간, 72시간 및 96시간에 각각 5마리씩 관찰하였다.

1) 정상대조군은 liquid paraffin 0.5 ml를 위장내로 가는 삼입관을 통하여 투입하였다.

2) CCl_4 군은 CCl_4 를 liquid paraffin에 녹여 20% CCl_4 로 만든후 체중 100 gm 당 0.5 ml씩 위장내로 투여하였다.

3) CCl_4 +CYH 군은 20% CCl_4 를 같은 방법으로 투여한 후 다시 ^{67}Ga -citrate 주입 30분전에 cyclohexamide (0.1 mg/100 gm of wt. Sigma Chemical Co.

London, England)를 복강내로 주입하였다.

실험방법

1) 각 3군을 30분후 carrier free ^{67}Ga (New England Nuclear Boston Mass)을 0.08 M sodium citrate에 희석한 후 50 $\mu\text{Ci/ml}$ 가 되도록 하여 표준용액으로 정하고 동물당 ^{67}Ga -citrate 10 μCl 씩 정맥내 주사하였다.

2) 간손상도를 보기 위한 SGPT 측정에 필요한 혈액은 단후후 직접 침침자에 의해 얻었고 원심분리로 혈청을 분리하여 냉동실에 보관하였다가 모든 시료가 모두 모인후 SGPT는 Reitman Frankel법³¹⁾에 의하여 Perkin-Elmer 55 B 분광편광계로 측정하고 Karmen Unit로 표시하였다.

3) ^3H -thymidine을 복강내로 투여하였을 때 간에서는 2시간 후에 최대로 DNA와 결합하므로³²⁾ 희생 2시간 전에 ^3H -thymidine을 백서 1 마리당 10 μCi (specific activity: 23 Ci/m. mole, Radio chemical Centre, Amersham, England)를 복강내 주입한 후 간을 재빨리 분리하여 냉생리 식염수로 세척하고 간조직을 절편화한 후 1 gm 정도를 0.32 M sucrose에 0.02 M tris buffer(pH: 7.6)와 $3 \times 10^{-3}\text{M}$ MgCl_2 를 1 part 당 3 part 정도로 넣고 3~4겹의 거즈로 여과한 후 0.25 M sucrose 12.5 ml를 넣어 총용량 20 ml로 만든 후 homogenizer로 분쇄하여 세포균등액을 만든다.

4) 세포균등액은 초원심분리기(Backman L-65)를 사용하여 700 g에서 10분간 원심분리하여 잔류액을 포함한 침전액을 취한다.

5) 4)의 상청액을 다시 혼합한 후 7,000 g에서 10분간 원심분리하여 lysosome 및 mitochondria를 포함한 침전액을 취한 후.

6) 다시 5)의 상청액을 105,000 g에서 60분간 원심분리하여 그 상청액인 세포질용액(cytosole)을 얻었다.

7) 이상 3), 4), 5), 6)을 각각 well type scintillation counter (Abott, ANSR-7175)로 ^{67}Ga 방사능을 측정하고.

8) 나머지 3), 4), 5), 6)을 다시 10 ml의 Scintillation 용액에 녹여 liquid scintillation counter(Packard, tri Carb-300, liquid scintillation counter)로 계측하였다(Fig. 1).

실험 성적

1. 간의 병리학적 소견

정상대조군에서는 특이한 변화를 나타내지 않는 반

—Seong Woon Hong: A Study on the Relationship between the Uptake of ^{67}Ga -citrate and the Incorporation Rate of ^3H -thymidine and Metabolism of Protein in the Rat Livers Treated with CCl_4 —

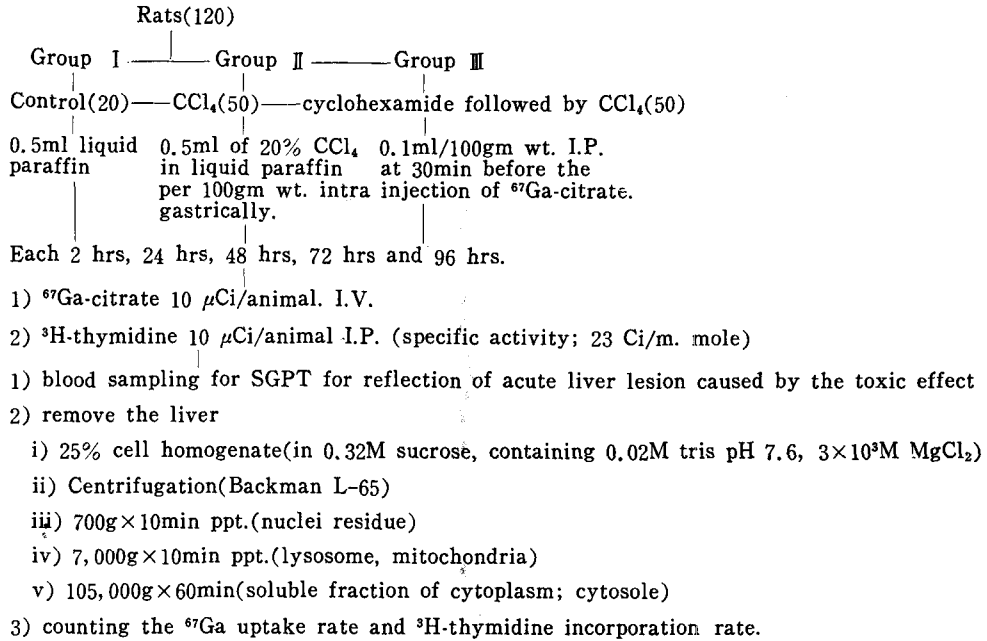


Fig. 1. Scheme of experiment 120 Sprague-Dawley male rats were divided into the group of control, CCl_4 treated and cyclohexamide pretreatment followed by CCl_4 administration and cell fractionation. Number in parenthesis indicates the number of rats used in each experiments.

Table 1. Changes of SGPT(Karmen Unit) Levels after CCl_4 and CCl_4 -cyclohexamide Group

SGPT level	Control	CCl_4 group				
		2hrs	24hrs	48hrs	72hrs	96hrs
	27 \pm 8	46 \pm 6	80 \pm 19	137 \pm 19	60 \pm 12	48 \pm 11
		CCl_4 -cyclohexamide group				
	27 \pm 8	46 \pm 11	86 \pm 18	145 \pm 24	61 \pm 19	45 \pm 10

Table 2. ^{67}Ga Concentration in each Cell Fractionation by Ultracentrifugation in Normal Group ($\times 10^4$ cpm/ml)

Hrs	Cell homogenate	700g ppt.	7,000g ppt.	105,000g
2hrs	0.62 \pm 0.43	0.05 \pm 0.01	0.22 \pm 0.12	0.27 \pm 0.07
24hrs	0.82 \pm 0.32	0.18 \pm 0.03	0.38 \pm 0.07	0.47 \pm 0.12
48hrs	1.68 \pm 0.47	0.27 \pm 0.01	0.47 \pm 0.12	1.18 \pm 0.38
72hrs	1.82 \pm 0.51	0.21 \pm 0.04	0.50 \pm 0.04	1.15 \pm 0.22
96hrs	1.71 \pm 0.39	0.28 \pm 0.09	0.38 \pm 0.13	1.21 \pm 0.42

면 CCl_4 군이나 CCl_4 -cyclohexamide 군에서는 24시간 후에 소엽중심성 급성 간세포 괴사와 문맥로에서 염증 세포의 침윤이 나타나고 부분성 전격괴사를 나타내었

고 48시간 및 72시간에는 중심정맥 주위로 괴사병변이 현저하여 문맥부 주위의 간세포에서는 재생활동이 뚜렷하였다. 재생성간세포는 핵의 농염도가 현저하고 다

Table 3. ⁶⁷Ga Concentration in each Cell Fractionation by Ultracentrifugation in CCl₄ Group(×10⁴ cpm/ml)

Hrs	Cell homogenate	700g ppt.	7,000g ppt	105,000g
2hrs	0.67±0.13	0.05±0.03	0.31±0.13	0.34±0.11
24hrs	2.04±0.98	0.24±0.01	0.72±0.20	1.01±0.12
48hrs	3.44±0.20	0.28±0.07	1.09±0.12	2.27±0.18
72hrs	4.47±0.15	0.27±0.08	1.12±0.38	3.21±0.38
96hrs	2.07±0.13	0.22±0.05	0.89±0.16	1.07±0.22

Table 4. ⁶⁷Ga Concentration in each Cell Fractionation by Ultracentrifugation in CCl₄-cyclohexamide Group(×10⁴ cpm/ml)

Hrs	Cell homogenate	700g ppt.	7,000g ppt.	105,000g
2hrs	0.61±0.12	0.07±0.03	0.28±0.12	0.34±0.16
24hrs	1.58±0.27	0.19±0.07	0.62±0.15	0.71±0.27
48hrs	1.72±0.71	0.21±0.11	0.89±0.18	0.78±0.32
72hrs	1.97±0.98	0.28±0.13	0.91±0.17	0.97±0.39
96hrs	1.36±0.19	0.23±0.19	0.72±0.17	0.47±0.43

Table 5. ³H-thymidine Incorporation Rate in each Cell Fraction by Ultracentrifugation in Normal Control Group(×10⁴ cpm/ml)

Hrs	Cell homogenate	700g ppt.	7,000g ppt.	105,000g
2hrs	0.24±0.12	0.12±0.07	0.05±0.03	0.07±0.02
24hrs	0.28±0.11	0.18±0.02	0.04±0.01	0.06±0.01
48hrs	0.24±0.12	0.15±0.12	0.05±0.02	0.05±0.01
72hrs	0.26±0.16	0.14±0.09	0.06±0.01	0.07±0.01
96hrs	0.31±0.15	0.19±0.11	0.04±0.02	0.06±0.01

Table 6. ³H-thymidine Incorporation Rate in each Cell Fractionation by Ultracentrifugation in CCl₄ Group(×10⁴ cpm/ml)

Hrs	Cell homogenate	700g ppt.	7,000g ppt.	105,000g
2hrs	0.25±0.16	0.14±0.05	0.05±0.01	0.06±0.01
24hrs	1.85±0.25	1.37±0.12	0.23±0.03	0.05±0.01
48hrs	2.76±0.64	2.32±0.16	0.41±0.03	0.05±0.01
72hrs	4.97±0.15	3.92±0.38	0.62±0.06	0.07±0.04
96hrs	2.95±0.58	2.31±0.19	0.31±0.05	0.03±0.01

핵이며 세포질의 팽배 및 부분적으로는 재생성 결절 등의 소견을 보였다.(Fig. 6, 7, 8)

2. 혈청 SGPT

독성반응으로 나타나는 간의 손상정도를 간접방법중

가장 민감한 SGPT로 측정된 결과 CCl₄군은 24시간, 48시간 및 72시간 후에 각각 80±19, 137±19, 60±12 unit로 정상대조군 27±8 unit에 비해 모두 유의하게 증가되었으나(p<0.001) 2시간 및 96시간 후의 CCl₄군은 46±6, 48±11 unit로 유의한 차이가 없었다.

Table 7. ^3H -thymidine Incorporation Rate in each Cell Fractionation by Ultracentrifugation in CCl_4 -cyclohexamide Group ($\times 10^4$ cpm/ml)

Hrs	Cell homogenate	700g ppt.	7,000g ppt.	105,000g
2hrs	0.39±0.19	0.26±0.01	0.08±0.01	0.05±0.01
24hrs	1.43±0.43	1.32±0.12	0.10±0.01	0.05±0.02
48hrs	2.97±0.22	2.52±0.16	0.31±0.03	0.06±0.02
72hrs	4.38±0.43	4.09±0.48	0.36±0.02	0.06±0.01
96hrs	3.37±0.38	3.02±0.36	0.17±0.01	0.05±0.02

($p < 0.05$).

또한 CCl_4 -cyclohexamide 군에서도 24시간, 48시간 72시간 후에는 86 ± 18 , 145 ± 24 , 61 ± 19 unit 로 모두 정상대조군에 비해 유의하게 증가되었다($p < 0.001$).

2시간 및 96시간 후에는 46 ± 11 , 45 ± 10 unit 로 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$) 즉 SGPT 치는 24시간 후 증가하기 시작하여 48시간에 최대치를 보이고 72시간 후 저하되기 시작하여 96시간에 정상으로 되었고 CCl_4 군과 CCl_4 -cyclohexamide 군간의 유의한 차는 없었다($p > 0.05$) (Table 1).

3. ^{67}Ga 섭취율

1) 정상군 : 정상군에서의 2, 24, 48, 72, 96시간 후에 각각 세포균등액, 700 g 침전액, 7,000 g 침전액 및 105,000 g 상청액에서 ^{67}Ga 방사능을 측정 한 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 핵이 포함된 700 g 침전물에서는 매우 낮고 lysosome 및 mitochondria가 포함된 7,000 g 침전물에서 약간 방사능이 측정되며 105,000 g 의 세포질용액에서는 많이 측정됨을 볼 수 있었다 (Table 2).

2) CCl_4 군 : CCl_4 투여군에서 2, 24, 48, 72 및 96시간 후 각각 분획에서 ^{67}Ga 방사능을 측정 한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 세포균 등액에서는 24시간에 증가하기 시작, 72시간에 최대로 증가하고 96시간에는 감소하기 시작하여 세포손상 및 재생과 ^{67}Ga 이 관련이 있음을 보았으나 핵이 포함된 700 g 침전물에서는 거의 섭취되지 않았고 7,000 g 침전물 및 cytosole에서 높은 것을 보았다(Table 3).

3) CCl_4 -cyclohexamide 군 : CCl_4 및 단백합성억제제인 cyclohexamide 투여군에서 2, 24, 48, 72 및 96시간 후 ^{67}Ga 방사능을 측정하여 보면 Table 4에서 보는 바와 같이 세포균등액에서 24시간 후 증가하기 시작 72시간에 최대로 증가하였으나 CCl_4 군에 비해 현저히 낮아 단백질이 ^{67}Ga 섭취에 중요한 영향을 가짐을 알 수 있

었으며 700 g 침전물에서는 거의 섭취가 없고 7,000 g 침전물 및 105,000 g cytosole에서도 CCl_4 군에 비해 ^{67}Ga 섭취율이 감소되었다(Table 4).

4. ^3H -thymidine 결합율

1) 정상군 : 정상군에서 2, 24, 48, 72 및 96시간 후 각각 세포균등액, 700 g 침전액, 7,000 g 침전액 및 105,000 g 상청액에서 ^3H -thymidine 방사능을 측정하여 본 결과, Table 5와 같이 핵이 포함된 700 g 침전물에서 가장 높았으며 7,000 g 침전물 및 105,000 g cytosole에서는 거의 측정되지 않았다(Table 5).

2) CCl_4 군 : CCl_4 군에서 2, 24, 48, 72 및 96시간 후 각각의 원심분리액에서 ^3H -thymidine 결합력을 측정 한 결과 Table 6과 같이 세포손상 후 24시간 후에 ^3H -thymidine 결합력이 증가되기 시작하여 72시간 후에 최대치를 보이며 96시간에 약간 감소하나 높은치를 유지하여 DNA 합성이 강한 것을 알 수 있었으며 ^{67}Ga 과 달리 핵이 포함된 700 g 침전물에서 높은 방사능이 측정되고 7,000 g 침전물 및 105,000 g에서는 거의 측정되지 않았다(Table 6).

3) CC_4 -cyclohexamide 군 : CCl_4 및 cyclohexamide 투여군에서는 2, 24, 48, 72 및 96시간 후 ^3H -thymidine 방사능을 측정하여 본 결과 Table 7에서 보는 바와 같이 24시간 후에 ^3H -thymidine 결합율이 증가되기 시작하였고 72시간 후에 최대치를 보이며 96시간에 약간 감소하였고 700 g 침전물인 핵물질에서도 CCl_4 군과 같이 결합율이 증가되었고 lysosome 및 mitochondria가 포함된 7,000 g 침전물에서도 ^3H -thymidine 결합율이 약간 증가를 보였으며 105,000 g cytosole에서는 거의 방사능이 측정되지 않았다(Table 7).

5. ^{67}Ga 섭취율과 ^3H -thymidine 결합율

1) 세포균등액 : Fig. 2에서 보는 바와 같이 CCl_4 군 은 ^{67}Ga -citrate 섭취율과 ^3H -thymidine 결합율이 24

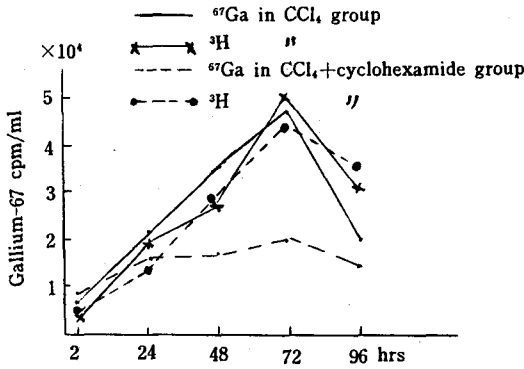


Fig. 2. Comparison of concentration of ⁶⁷Ga and ³H-thymidine in cell homogenate in CCl₄-cyclohexamide groups.

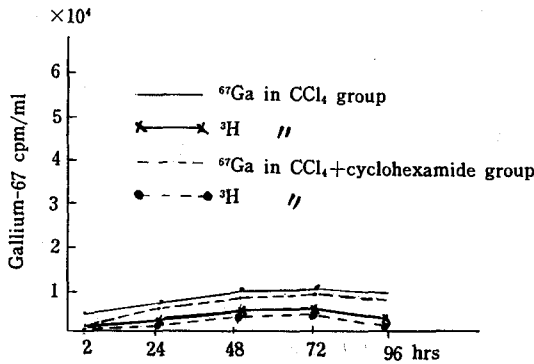


Fig. 3. Comparison of concentration of ⁶⁷Ga and ³H-thymidine in 700 g precipitates CCl₄ and CCl₄-cyclohexamide groups.

시간 후에 증가되기 시작하여 72시간 후에 최대로 증가됨을 보아고 96시간에 감소하는 경향을 보여 간조직학적 병리소견에 재생활동을 보이는 시기와 일치하였다. 이에 비해 CCl₄-cyclohexamide 군은 2시간 및 24시간 후에는 CCl₄군과 차이가 없으나 48시간 후엔 ³H-thymidine 결합율은 CCl₄군과 차이가 없이 증가하는데 비해 ⁶⁷Ga 섭취율이 현저히 감소됨을 보았다($p > 0.05$) (Fig. 2).

2) 700 g 침전물 : Fig 3에서 보는 바와 같이 잔류핵을 포함한 700 g 침전물에서는 CCl₄군은 ⁶⁷Ga-citrate는 거의 측정되지 않은데 비해 ³H-thymidine 결합율은 증가되는 것을 보아 핵내 ⁶⁷Ga 섭취율이 거의 없었으며 CCl₄-cyclohexamide 군에서도 CCl₄군에 비해 ³H-thymidine 결합율은 차이가 없이 증가됨을 보았으며 ⁶⁷Ga 섭취율이 거의 없는 것을 확인하였다(Fig. 3).

3) 7,000 g 침전물 : Fig 4에서 보는 바와 같이 lys-

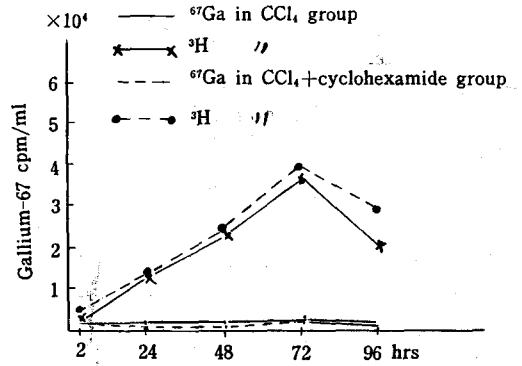


Fig. 4. Comparison of concentration of ⁶⁷Ga and ³H-thymidine in 7,000 g precipitate in CCl₄ and CCl₄-cyclohexamide group.

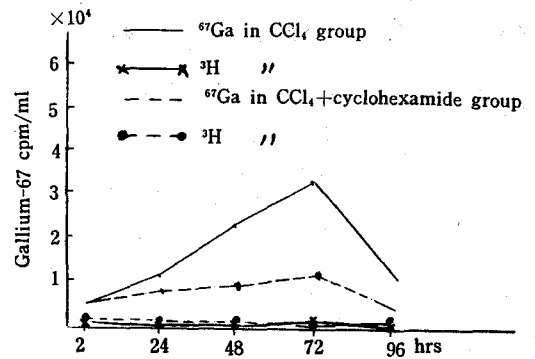


Fig. 5. Comparison of concentration of ⁶⁷Ga and ³H-thymidine in 105,000g precipitate in CCl₄ and CCl₄-cyclohexamide groups.

osome 및 mitochondria를 포함한 7,000 g 침전물에서는 CCl₄군에서는 ³H-thymidine 결합율은 거의 변화가 없어 DNA 합성이 없음을 볼 수 있었고 ⁶⁷Ga 섭취율은 약간 증가되는 것을 보았으나 통계학적인 차이는 볼 수 없었으며($p > 0.05$) CCl₄-cyclohexamide 군에서도 ³H-thymidine 결합율 및 ⁶⁷Ga 섭취율은 CCl₄군에 비해 차이가 없었다($p > 0.05$) (Fig 4).

4) 105,000g(cytosole)용액 : Fig. 5에서 보는 바와 같이 cytosole 용액에서는 ³H-thymidine 결합율은 거의 없는데 비해 ⁶⁷Ga 섭취율이 현저히 증가됨을 확인하였고 CCl₄-cyclohexamide 군에서는 CCl₄군과 같이 ³H-thymidine 결합율이 거의 없는데 비해 ⁶⁷Ga 섭취율이 매우 낮음을 보아 ⁶⁷Ga 섭취는 cytosole 과 유한 관련이 있음을 보았다($p < 0.05$).

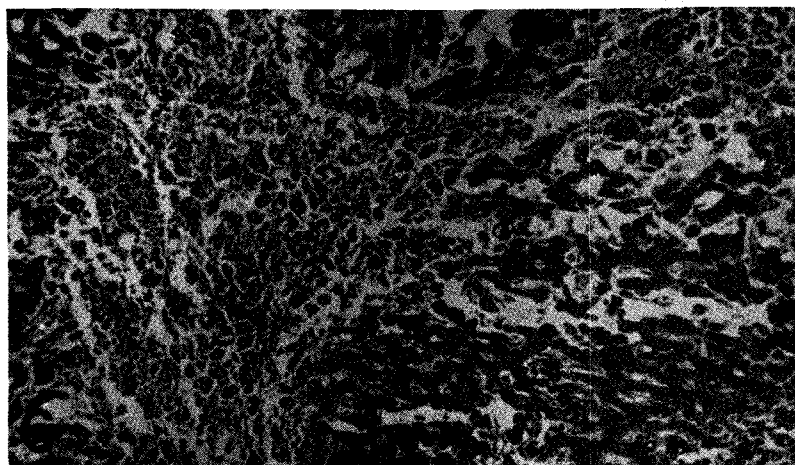


Fig. 6. Photograph of spotty necrosis and regenerative activity of hepatocyte in centrilobular area in the rat 48hrs after CCl_4 administration, H-E, $\times 100$.

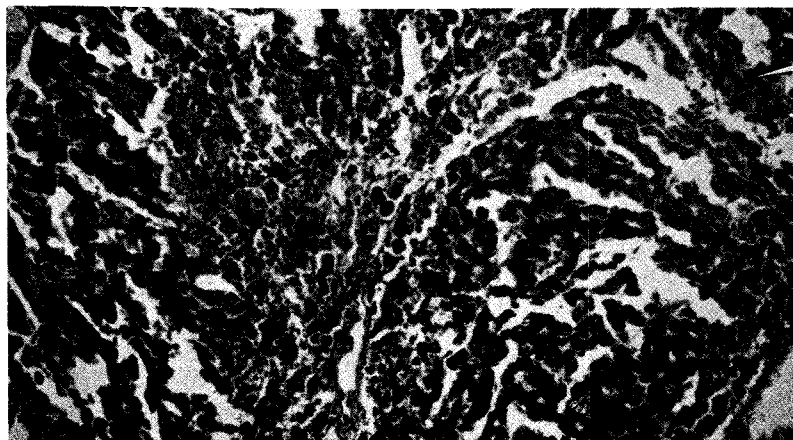


Fig. 7. Photograph of infiltration of inflammatory cells in necrotic area and active regenerating hepatocytes forming nodular configuration in the rat 72hrs after CCl_4 administration, H-E, $\times 100$.

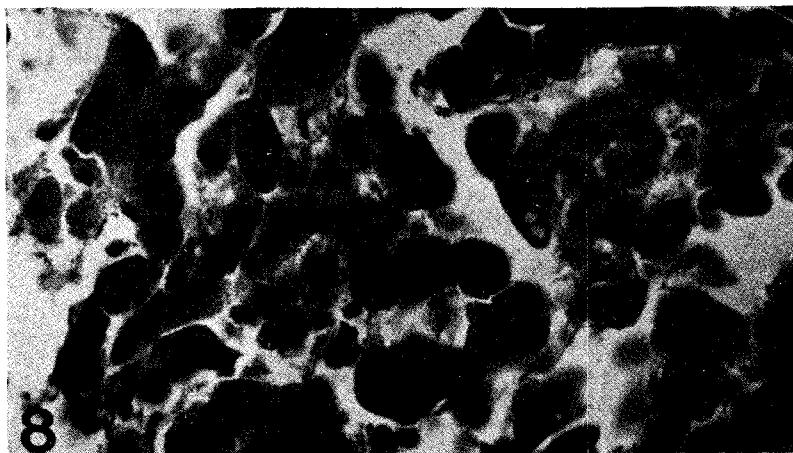


Fig. 8. Photograph of high power view exhibits hyperchromatic double nuclei and plump eosinophilic cytoplasm of regenerative hepatocyte in the rat 72hrs after CCl_4 administration, H-E, $\times 400$.

고 안

진단에 이용되는 ^{67}Ga 은 양자와 중수소를 사용하여 농축아연(Zinc target)에서 나오는 핵반응에 의해 만들어지는 세개의 방사성동위원소³³⁾로 halide, sulfide 및 nitrate 와 함께 화합물을 이루나 생리적인 pH에서 용해되는 ^{67}Ga -citrate 나 ^{67}Ga -chloride 가 임상적으로 쓰인다.³⁴⁾

^{67}Ga 를 주사하였을 때 혈액내에서는 30%가 주로 transferrin³⁵⁾ 및 haptoglobin^{36,37)}과 같은 단백질과 결합하여 ^{67}Ga -transferrin 과 같은 복합체를 형성하므로 혈청 제거율이 비교적 느려 24시간 뒤엔 10%만 혈청에 남아있고 24%는 뼈에, 5%는 간에 농축되고 약 33%가 신장 및 위장으로 배설³⁸⁾되며 그의 타액선, 유선등으로 배설되어 48시간 후에는 5%만 뼈에 남아있다^{38~39)}. ^{67}Ga -transferrin 은 ^{67}Ga -citrate 나 ^{67}Ga -chloride 복합체의 안정상수보다 몇배 크기 때문에 평형상태가 된 뒤에도 ^{67}Ga -transferrin 으로 존재하므로 ^{67}Ga -citrate 나 ^{67}Ga -chloride 는 주사후 생체내에서 비슷한 동태를 보인다.

^{67}Ga -citrate 의 조직분포에 영향을 주는 인자로는 종양 또는 염증의 존재여부, 연령, 성호르몬상태, 유즙분비, 임신, 이온화방사선의 분포 및 주입양에 따라 다르다⁴⁰⁾.

또한 안정된 ^{67}Ga 은 병소에 축적되지 않으나 무담체 ^{67}Ga (carrier free)만이 병소등 조직에 축적되며⁴¹⁾ ^{67}Ga 을 정맥주사하였을 때⁴²⁾ 24시간내 조직분포가 완전히 이루어지고 조직세포형에 따라 축적율이 차이가 있고 같은 환자에서도 종양이 존재기관의 기능에 따라 다르며 피사된 조직보다 살아있는 조직에 축적되는데⁴⁰⁾ 이때 세포내 유입에 영향을 주는 국소인자로는³⁹⁾ 종양세포의 활성도, 혈관분포의 변화, 종양세포벽의 투과성 증가 및 종양 탐식세포에 의한 세포내 이입⁴³⁾(endocytosis), 종양세포의 분화도 및 주위조직보다 낮은 종양부위의 pH 로 추정되며 그의 ^{67}Ga -결합-transferrin 과 종양의 lactoferrin 과의 교환에 의한것 등이 보고되고 있다.^{44~46)} 그러나 세포형에 따라 ^{67}Ga 섭취가 차이를 보이는 것, ^{67}Ga 섭취시의 생화학적 상태 및 종양 또는 농양세포등 활성도가 강한 병소에만 ^{67}Ga 이 축적되는 기전등은 밝혀지지 않고 있다.

Merz²⁰⁾는 PHA(Phytohemagglutinin)으로 자극한 임파구에서 ^{67}Ga 섭취율이 높고 ^{67}Ga 섭취율이 세포주기의 특정기에 따라 다르며 특히 중심세포의 세포막에

변화가 있을때 ^{67}Ga 이 세포내로 이동되거나 세포막에 축적된다고 주장하였다.

Dudley⁴⁶⁾등은 방사선을 동물에 전신조사한후 ^{67}Ga 축적율이 감소됨을 관찰하고 세포증식억제시 ^{67}Ga 축적이 감소되어 세포증식과 ^{67}Ga 축적이 관계가 있음을 주장하였다.

Bichel¹⁶⁾은 세포증식과 신진대사활성도가 증가될때 ^{67}Ga 섭취율이 증가된다고 하였으며 Kojima¹⁹⁾ 등은 CCl_4 와 같은 간독성물질 투여시 피사된 간세포가 재생하는 과정에서 간섭효소의 지표인 G-6-PDH 증가와 함께 ^{67}Ga 이 증가됨을 보고하고 ^{67}Ga 축적이 세포증식과정에서 일어나는 섭유화 현상과 관계가 있다고 하였고 Ravinovicci⁴⁷⁾ 역시 ^{67}Ga 축적은 세포의 증식 및 재생과 관련이 있으며 섭유화 특히 collagen 과 관련이 있다고 하였다.

그러나 Orii²⁶⁾등과 Hill 및 Wagner²⁷⁾는 세포증식과 ^{67}Ga 축적과의 관계를 보기위해 간의 부분절제를 시행하여 간세포증식시에 ^{67}Ga 섭취율을 주사하여 ^{67}Ga 축적과 세포증식과는 무관하다고 하였다. 본실험에서는 CCl_4 를 투여하여 간세포손상을 준후 72시간후에 ^3H -thymidine 결합율이 최대로 증가되었고 간조직검사 소견에서도 재생활동이 왕성하였으며 이때 ^{67}Ga 섭취율이 최대로 증가하는 것을 보아 ^{67}Ga 축적이 세포증식과 관련이 있다고 한 Bichel¹⁶⁾과 Dudley¹⁷⁾의 결과와 일치하였다.

또한 세포증식시 ^{67}Ga 섭취가 핵부분과 관련이 있는지 비핵부분과 관련이 있는지에 대해서도 이견이 많다.^{5, 18, 28, 41, 48~50)}.

Hammersley¹⁸⁾는 간의 부분절제후 재생초기에 간세포증식과 ^{67}Ga 섭취율 및 ^3H -thymidine 결합력을 조사하여 ^{67}Ga 축적과 DNA 합성과는 무관하며 단백질 합성과 관련이 있다고 하였고 이때 lysosome 이 관여한다고 하였다.

Swartzendruber²⁸⁾는 정상조직과 암조직에서 ^{67}Ga 의 자기방사기록법을 실시하여 ^{67}Ga 섭취가 lysosome 과 관련이 있다고 하였으며 ^{67}Ga 이 lysosome 및 microvesicle 에 의해 섭취되고 이때 acid-phosphatase 및 β -glycerophosphatase 가 관여한다고 하였다.

또 Dianzani⁵⁰⁾는 CCl_4 를 투여한 백서에서 변성세포의 lysosome 이 늦게 소실됨을 관찰하고 염증이나 종양조직의 lysosome 이 ^{67}Ga 축적에 관여한다고 하였고 그의 Brown 등⁴⁹⁾과 Haubold⁵¹⁾ 및 Aulbert 등⁴⁸⁾도 세포분획화를 실시하여 ^{67}Ga 섭취가 lysosome 과 관련이 있다고 하였다.

그러나 Ito⁵¹⁾와 Hayes⁵²⁻⁵⁵⁾는 ⁶⁷Ga의 대부분이 세포 분획화에서 lysosome 보다 세포질용액과 관련이 있다고 하였다.

본 실험에서 세포분획화하여 ⁶⁷Ga 섭취율을 보았을 때 700칩전물(nuclei residue)에서는 CCl₄군 및 CCl₄-cyclohexamide 군에서 ⁶⁷Ga 섭취가 거의 없는데 비해 ³H-thymidine 결합력은 증가된 것을 보아 ⁶⁷Ga 축적이 DNA 합성과는 무관함을 보였고 7,000 g 칩전물(lysosome 및 mitochondria)에서는 ⁶⁷Ga 섭취가 약간 증가되었고 CCl₄군의 105,000 g(cytosole)에서 ⁶⁷Ga 섭취가 가장 증가되었고 단백질합성억제제인 cyclohexamide 투여시 ⁶⁷Ga 섭취가 현저히 감소된 것을 보아 ⁶⁷Ga 섭취가 cytosole 과 관련이 있음을 보였는데 이는 Hayes의 보고와 일치하는 것이다.

이 cytosole의 어느 성분이 ⁶⁷Ga 섭취와 관련이 되는지는 고분자 당단백질이라는 주장도 있으나 이에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

손상조직내 ⁶⁷Ga 축적이 세포증식과 관련이 있는지 또한 세포의 어느 부분과 관련이 있는지 알아보기 위해 120마리의 Sprague-Dawley 웅생백서를 3군으로 나누고(정상대조군: 20마리, CCl₄투여군: 50마리, CCl₄ 및 cyclohexamide 투여군: 50마리) 이들에게 각각 ⁶⁷Ga-citrate 10 μCi 와 ³H-thymidine 10 μCi 를 투여한 후 2시간, 24시간, 48시간, 72시간 및 96시간에 각각 5마리씩 각군에서 간을 분리하여 ⁶⁷Ga 섭취율과 ³H-thymidine 결합율을 조사하고 원심분리기를 이용하여 세포균등액, 700 g 칩전물(nucleiresidue), 7,000 g 칩전물(lysosome 및 mitochondria) 및 105,000 g 용액(cytosole)으로 분획한 후 이들에게서 ⁶⁷Ga 섭취율과 ³H-thymidine 결합율을 측정하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) 세포균등액: CCl₄투여군에서는 ³H-thymidine 결합율이 72시간에 최대치(4.97±0.15×10⁴cpm/ml)이었으며 이때 ⁶⁷Ga 섭취율도 가장 높았으며(4.47±0.15×10⁴cpm/ml) CCl₄-cyclohexamide 투여군에서는 ³H-thymidine 결합율은 72시간에 최대 (4.38±0.43×10⁴cpm/ml)이었으나 이때 ⁶⁷Ga 섭취율은 시간에 따른 증가를 보이지 않았다(1.36±0.19×10⁴cpm/ml).

2) 700 g 칩전물에서는 CCl₄투여군이나 CCl₄-cyclohexamide 투여군에서 ³H-thymidine 결합율은 증가하여 72시간에 최대치를 (3.92±0.38, 4.09±0.48, ×10⁴

cpm/ml)보였는데 ⁶⁷Ga 섭취율은 거의 측정되지 않았다(0.22±0.05×10⁴cpm/ml, 0.28±0.13×10⁴cpm/ml).

3) 7,000 g 칩전물에서는 CCl₄투여군이나 CCl₄-cyclohexamide 투여군에서 ³H-thymidine 결합율 및 ⁶⁷Ga 섭취율은 시간에 따른 증가를 보이지 않았다(1.12±0.38, 0.91±0.17×10⁴cpm/ml, 0.62±0.06, 0.36±0.02×10⁴cpm/ml).

4) 105,000 g 중 CCl₄투여군 및 CCl₄-cyclohexamide 투여군에서 ³H-thymidine 결합력은 거의 측정되지 않았고(0.06±0.01, 0.05±0.01×10⁴cpm/ml) ⁶⁷Ga 섭취율은 CCl₄투여 72시간에 최대로 증가(3.21±0.38×10⁴cpm/ml)하였고, CCl₄-cyclohexamide 투여군에서는 시간에 따른 증가가 없었다(0.97±0.39×10⁴cpm/ml).

이상의 결과를 통하여 ⁶⁷Ga 축적이 세포증식과 관련이 있는 것을 확인하였으나 DNA 합성과는 무관하고 단백질대사와 관계를 가지며 특히 세포분획중 세포질용액과 관련이 있음을 확인하였다.

REFERENCES

- 1) Wagner, H.N. Jr.: *Introduction of Nuclear Medicine. Principles of Nuclear Medicine*. W. B. Saunders, p. 11, 1968.
- 2) DeLand, E.H., Ssaverbrunn, B.J.L., Boyed, C., Wilkinson, R.H., et al.: *⁶⁷Ga-citrate imaging in untreated primary lung cancer. Preliminary report of cooperative Group*. *J. Nucl. Med.*, 15:408, 1974.
- 3) Edward, C.L. and Hayes, R.L.: *Tumor scanning with ⁶⁷Ga-citrate*. *J. Nucl. Med.*, 10:103, 1970.
- 4) Edward, C.L. and Hayes, R.L.: *scanning malignant neoplasm with ⁶⁷Ga*. *J.A.M.A.*, 121:1182, 1970.
- 5) Haubold, U. and Aulbert, E.: *Gallium-67 as a tumor scanning agent, clinical and physiological aspect*. In *Medical Radioisotope Scintigraphy*. Vienna IAEA., p.553, 1973.
- 6) Vaidya, S.G., Chandri, M.A., Morrison, R., et al.: *Localization of Gallium-67 in malignant neoplasm*. *Lancet*, 2:911, 1970.
- 7) Dudley, H.C., Maddox, G.E. and Ra Rue, H.C.: *Studies of metabolism of Gallium*. *J. Pharmacol.*

- Exp. Ther.*, 96:135, 1949.
- 8) Bruner, H.D., Perkinson, Jr. J.D., King, E.R., et al.: *Distribution studies on Gallium in rat. Radiology*, 61:555, 1953.
 - 9) Greenlaw, R.H., Weinstein, M.B., Brill, A.B., McBain, J.K., Merphy, L. and Kniseley, R. M.: *^{67}Ga citrate imaging in untreated malignant lymphoma. Preliminary report of cooperative group. J. Nucl. Med.*, 15:404, 1974.
 - 10) Johnston, G., Benua, R.S., Teates, C.D. Edward, C.L. and Kniseley, R.M.: *^{67}Ga -citrate imaging in untreated Hodgkins disease.: Preliminary report of cooperative group. J. Nucl. Med.*, 15:399, 1974.
 - 11) Winchel, H.S., Sanchez, P.S., Watanabe, C.K., et al.: *Visualization of tumors in humans using ^{67}Ga -citrate and the Anger whole body scanner scintillation camera and tomographic scanner. J. Nucl. Med.*, 11:459, 1970.
 - 12) Gerlrud, L.G., Arseneau, J.C., Milder, M.S., et al.: *The use of ^{67}Ga -incorporation into inflammatory lesions: Experimental and clinical studies. J. Lab. Clin. Med.*, 83:49, 1974.
 - 13) Littenberg, R.L., Takeda, R.M., Alazaki, N. P., et al.: *Gallium-67 for localization of septic lesion. Ann. Int. Med.*, 79:403, 1973.
 - 14) Lomas, E. and Wagner, H.N.: *Accumulation of ionic ^{67}Ga in empyema of gall bladder. Radiology*, 105:689, 1972.
 - 15) Larson, S.M.: *Mechanism of localization of ^{67}Ga -citrate in tumor. Seminar of Nucl. Med.*, 8:193, 1978.
 - 16) Bichel, I.P. and Hausen, H.H.: *The incorporation of ^{67}Ga in normal and malignant cells and its dependense on growth rate. Brit. J. Radio.*, 45:182, 1972.
 - 17) Dudley, H.C., Imrie, G.W. Jr. and Ostock, J.T.: *Deposition of radiogallium in proliferating tissue. Radiology*, 55:571, 1950.
 - 18) Hammersley, P.A.G., Gauchi, M.N. and Taylor, D.M.: *Gallium uptake in the regenerating rat liver and its relationship to lysosomal activity. Cancer Res.*, 35:154, 1975.
 - 19) Kojima, S., Hama, Y., Mivashita, K. and Kubodera, A.: *Uptake of ^{67}Ga in the rat liver treated with CCl_4 . Jap. J. Nucl. Med.*, 19:67, 1982.
 - 20) Merz, T., Mckusick, K.A., Malude, L.S., et al.: *Enhance by phytohemagglutinin. J. Nucl. Med.*, 14:428, 1973.
 - 21) Otten, J.A., Tyndall, R.L. Estes, P.C., et al.: *Localization Gallium-67 during embryogenesis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 142:92, 1973.
 - 22) Zivarovic, M.A. and Hammersley, P.A.G.: *Gallium-67 uptake in the regenerating liver. J. Nucl. Med.*, 17:226, 1976.
 - 23) Anghileiri, I.J. and Heidbreder, M.: *On the mechanism of accumulation of ^{67}Ga by tumors. Oncology*, 34:74, 1977.
 - 24) Anghileiri, I.J.: *The effects of Gallium(^{67}Ga) on radiocalcium metabolism in tumors. J. Nucl. Biol. Med.*, 12:1, 1973.
 - 25) Anghileiri, I.J.: *Role of the tumor phospholipids in the accumulation of ^{67}Ga -citrate. J. Nucl. Biol. Med.*, 11:21, 1972.
 - 26) Orii, H.: *Tumor scanning with Gallium(^{67}Ga) and its mechanism studied in rats. Strahlentherapie.*, 144:192, 1972.
 - 27) Hill, J.H. and Wagner, H.N.: *^{67}Ga uptake in the regeneratingrat liver. J. Nucl. Med.*, 15: 818, 1974.
 - 28) Swartzendruber, D.C., Nelson, B. and Hayes, R.L.: *Gallium-67 of leukemic localization in lysosomal like granules of leukemic and nonleukemic murine tissues. J. Natl. Cancer Inst.*, 46:941, 1972.
 - 29) Klatskin, G.: *Toxic and drug induced hepatitis. Disease of the liver. Leon Schiff. 4th ed. J.B. Lippincott* 610, 1975.
 - 30) Trakatellis, A.C., Montjar, M. and Alexandrod., A.E.: *Effect of cyclohexamide on polysome and protein synthesis in mouse liver. J. Biochem.*, 4:2065, 1965.
 - 31) Reitman, S. and Frankel, S.: *A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am. J. Clin. Path.*, 28:56, 1957.
 - 32) Schmidt, G. and Thauhauser, S.J.: *A method*

- for the determination of deoxyribonucleic acid, phosphoproteins in animal. *J. Biochem.*, 161:83, 1945.
- 33) Erown, D.H., Callahan, A.P., Skimore, M.R., et al: *High yield Zinc-68 Cyclotron targets for carrier free Gallium 67 production.* *Intl. J. Appl. Radio. Isotopes*, 24:651, 1973.
- 34) Thakur, M.L.: *Gallium-67 and Indium-111 radiopharmaceuticals. Radiopharmaceuticals and other compounds labelled with short lived radionuclide.* Pergamon Press. 1st. ed. 183, 1977.
- 35) Vallabhajosula, S.R., Harwig, J.F., Siemens, J.K., et al.: *Radiogallium localization in tumors: Blood binding and transport and the rate of transferrin.* *J. Nucl. Med.*, 21:650. 1980.
- 36) Clausen, J., Edeling, C.J. and Fogh, J.: *⁶⁷Ga binding to human serum protein and tumor components.* *Cancer Res.*, 34:1941, 1974.
- 37) Hartman, R.E. and Hayes, R.L.: *The binding of gallium by blood serum.* *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 168:193, 1969.
- 38) Br ner, H.D., Gray, J., Root, S.W., et al.: *Studies of the urinary excretion of ⁶⁷Ga in man.* *Radiology*, 61:588, 1953.
- 39) Larson, S.M. and Shall, G.L.: *Gallium-67 concentration in human breast milk, Letter to the editor.* *J.A.M.A.*, 218:271, 1971.
- 40) Nelson, B., Hayes, R.L. and Edward, C.L.: *Distribution of Gallium in human tissues after intravenous administration.* *J. Nucl. Med.*, 13:92, 1972.
- 41) Hayes, R.L.: *The tissue distribution of Gallium radionuclides.* *J. Nucl. Med.*, 18:740, 1977.
- 42) Lang, F.R.: *A study of the use of radioactive Gallium in medicine.* *Am. Int. Med.*, 33:1237, 1951.
- 43) Hammplardh, D. and Morgan, E.H.: *The role of endocytosis in transferrin uptake by reticulocytes and bone marrow cells.* *Brit. J. Hematol.*, 36:85, 1977.
- 44) Harris, A.W. and Septon, R.G.: *Transferrin promotion of ⁶⁷Ga and ⁶⁷Ga uptake by cultured mouse myeloma cells.* *Cancer. Res.*, 37:3634, 1977.
- 45) Hoffer, P.B., Hubert, J. and Khayan, B.H.: *The association of Gallium-67-Lactoferrin.* *J. Nucl. Med.*, 18:713, 1977.
- 46) Dudley, W.P., Anderson, P.O. and Eddelman, W.C.: *⁶⁷Ga tumor uptake in animals after whole body irradiation.* *J. Nucl. Med.*, 19:204, 1978.
- 47) Ranovici, N. and Wiener, E.: *Collagen and ribonucleic acid concentration during regeneration in the hepatectomized cirrhotic liver.* *Gastroenterology*, 4:251, 1961.
- 48) Aulbert, E., Gebhart, A., Schulz, E., et al.: *Mechanism of ⁶⁷Ga accumulation in normal rat liver lysosome.* *Nuklear Medizin*, 15:185, 1976.
- 49) Brown, D.H., Byrd, B.L., Carlton, J.E., et al: *A quantitative study of the subcellular localization of ⁶⁷Ga.* *Cancer Res.*, 36:956, 1976.
- 50) Dianzani, M.V.: *Lysosome change in liver injury.* *Chiba Foundation Symposium. London.*, J & E Churchill Ltd., 335, 1963.
- 51) Ito, Y., Okuyama, S., Sato, K., et al.: *⁶⁷Ga tumor scanning and its mechanisms studied in rabbits.* *Radiology*, 100:357, 1971.
- 52) Hayes, R.L. and Carlton, J.E.: *A study of the macromolecular binding of ⁶⁷Ga in normal and malignant animal tissues.* *Cancer Res.*, 33:3265, 1973.
- 53) Hayes, R.L.: *Factors affecting uptake of radioactive agent by tumor and other tissue. In tumor localization with radioactive agent. IAEA. Vienna IAEA-MG-50/14:29, 1976.*
- 54) Hayes, R.L. and Brown, D.H.: *Biokinetics of radiogallium.* *Nucl. Med.*, (Stuttg). 14:837, 1975.
- 55) Hayes, R.L. and Edwards, C.L.: *New application of tumor localizing radiopharmaceuticals. In Medical Radioisotope Scintigraphy. IAEA. Vienna p.531, 1973.*