

염기성 ^{99m}Tc -DMSA의 Walker 256 암육종 이식백서에서 종양섭취율에 관한 연구

원자력병원 핵의학과

임 상 무 · 홍 성 운

한국에너지연구소 동위원소실

오 욱 두

서울대학교 의과대학 내과학교실

이 명 철 · 고 창 순

= Abstract =

Tumor Uptake Rate of Alkaline ^{99m}Tc -DMSA in Walker Carcinosarcoma 256 Bearing Wistar Rats

S.M. Lim, M.D. and S.W. Hong, M.D.

Department of Nuclear Medicine, Korea Cancer Center Hospital

O.D. Awh, M.D.

Isotope Division, Korea Advanced Energy Research Institute

M.C. Lee, M.D. and C.S. Koh, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Seoul National University

High affinity complexes for the tumor were obtained by changing pH and composition in the preparation of ^{99m}Tc -DMSA. The purpose of this study was to investigate the tumor affinity, and in vitro and in vivo characteristics of these complexes. The results obtained were as follows;

1) Tumor imaging agent was formed successfully at pH 6.0~9.0 and renal imaging agent at pH 2.0~5.0.

2) The serum protein binding of ^{99m}Tc -DMSA was 89.1~92.8% at pH 2.0~5.0 and 11.8~30.5% at pH 6.0~9.0 respectively, and it was not changed with time.

3) The T 1/2 of tumor affinity complex in blood between 3 and 6 hours after injection was 187 ± 29 minutes (mean \pm SD).

4) In the blood, the radioactivity was mainly in the plasma, and less than 1% was in the cellular components.

5) In the Walker carcinosarcoma 256 bearing Wistar rats, the radioactivity in the kidney increased, and decreased in the skeleton with time. The radioactivity in the tumor showed the peak in 6 hours after injection and decreased thereafter.

6) In the tumor cell, the radioactivity localized mainly in the cytosol, the soluble fraction of the

cytoplasm.

This study provides the basic knowledge about tumor affinity and usefulness of ^{99m}Tc-DMSA in the diagnosis of malignant disease.

서 론

핵의학 분야에서의 오래된 과제 중의 하나로 방사성 동위원소를 이용한 악성 종양의 조기 진단 및 경과 추적적이다. 새로운 종양 표지자의 개발은 대개 생화학적, 생리학적 또는 면역학적 특성으로 종양에 직접 축적되는 화합물을 중심으로 연구되었다. 이는 기존의 간접적인 촬영법과 대조되는바, 정상조직에만 있고 종양에는 없는 국소적 기능에 의한 방사능의 축적의 차이를 이용하는 것으로, 이의 예로는 ^{99m}Tc-sulfur colloid를 이용한 간 신틸로그램, ^{99m}Tc-DMSA를 이용한 신 신틸로그램, 및 ¹³¹I을 이용한 갑상선 신틸로그램등이 있다. 그러나 이 경우에는 종양부위에 방사능의 섭취가 감소하는 냉소(cold lesion)로 나타나기 때문에 민감도가 떨어지고 찾아낼 수 있는 최소 용적이 커지는 단점이 있다. 한편 종양에만 섭취되는 표지자는 종양부위가 열소(hot lesion)로 나타나, 신틸로그래피의 해상능이 향상되게 될 것인 바, 이러한 표지자는 크게 나누어 대사 기질, 항암 화학 요법제, 양이온 그리고 종양에 대한 항체의 4가지가 있다. 종종 악성종양에서는 당 분해 작용과 핵산 합성이 항진되는데, 이를 이용하여 다른 관혈적인 검사법으로는 불가능한 경우에 핵의학적인 방법으로 진단을 할 수 있다. 이에 처음 이용된 핵종은 ³²P로 안구내 흑색종(melanoma)의 진단에 소듐 인산염(sodium phosphate) 형태로 사용되었으나 이는 감마선의 방출이 없어 외과적 시술에 의한 방사능 측정용 probe의 삽입이 필요한 단점이 있다¹⁾.

⁷⁵Se는 sodium selenite 또는 sselenomethionine으로 단백질 합성이 높은 세포에 섭취되며, selenite는 sulfhydryl기에 강한 친화성을 보이고 세포내 단백질에 결합하여 뇌 및 골격계 종양 또는 백혈구에의 섭취에 의한 농양, 육아종 등의 진단에 사용되었다²⁾. 그리고 selenomethionine은 단백질합성시 편입되어 부갑상선종, 림프종, 흉선종, 간암, 전이성 흑색종등에 섭취를 보이나, 이들은 주변 방사능이 높고 종양의 해상능이 낮아 거의 사용되지 않고 있다^{3,4)}. ¹²⁵I iodoquine은 chloroquine 유사물질로 melanin에 강한 친화성을 보이며, 악성흑색

종에 잘 섭취되고 melanin을 합성하지 않는 무흑색소성 흑색종에도 섭취가 되나, melanin을 합성하는 색소흑지(pigmented mole) 등에는 섭취 되지 않음이 관찰되어 있으나 비교적 높은 주변 방사능과 느린 종양섭취 및 low energy photon이 단점이었다. 여러가지 포도당 유사물질에 대하여도 많은 연구가 있었으며, 가장 전망이 밝은 것이 ¹⁸F-FDG(2-deoxy 2-¹⁸[F] fluoro-D-glucose)이다. 이는 뇌와 심장조직에 섭취되어 hexokinase에 의해 FDG-6-phosphate로 인산화(phosphorylation)되나, 포도당과는 달리 더 이상 대사되지 않는다. 이는 낮은 세포막 투과성 때문에 종양대 정상 조직의 섭취비가 9 : 1, 또는 종양대 혈액의 방사능비가 18 : 1까지 되어^{5,6)}, 염증성 병변과 종양을 구별할 수 있으며 전이성 대장암⁷⁾, 뇌신경교종⁸⁾ 등의 진단에 이용된 바 있으나, cyclotron과 PET(positron emission tomography)등의 고가 장비가 필요하여 아직 일반화되지 못하고 있다. Bleomycin은 동(copper) 함유항생제로 항암효과가 있는 Streptomyces verticillus균의 산물로 동을 제거하여 항암효과가 증가되어 metal chelate로 작용하며 ⁵⁷Co, ⁶⁷Ga, ¹¹¹In, ^{99m}Tc, ¹²³I, ¹³¹I 등으로 표지가능한 데 핵종에 따라 생체내 분포가 변화한다⁹⁾. 이중 ⁵⁷Co bleomycin이 가장 안정되고 표지하기 쉬우며 종양 내 섭취도 우수하여 두경부암¹⁰⁾, 폐암¹¹⁻¹⁴⁾ 등에 좋은 진단율을 보이나, 아직 상품화되어있지 않다. 종양 친화성을 가진 양이온으로는 Ga³⁺, In³⁺, Hg²⁺, Bi³⁺, K⁺, Ru³⁺, NH⁴⁺, Tl⁺ 등이 있으며, 혈청단백에 결합을 잘하고 종양 또는 특이적 세포 수용체에의 결합 등에 의하여 섭취될 것으로 추측되며, 종양 특이도(tumor specificity)가 낮아 염증성 병변에도 비슷한 정도로 섭취된다. 이중 ⁶⁷Ga 만이 임상적으로 이용되고 있는데, gallium은 주기율표에서 indium이나 aluminum 등이 속한 IIIA군에 속하며 산성 용액에서 용해되기 때문에 구연산염(citrate)의 용액으로 이용된다. 무담체(carrier free) ⁶⁷Ga은 ⁶⁸In 표적(target)에 양자(proton)를 조사하여 생산되며, 93 KeV(38%), 184 KeV(24%), 300 KeV(16%) 등의 gamma선을 방출하고 반감기가 78시간이다. ⁶⁷주사된 Ga은 대부분 transferrin, haptoglobin 등의 혈청단백과 결합하며, 산성조건에서 lactoferrin과 강력하게 결합한다¹⁵⁾. 종양세

포내에서는 주로 세포질(cytoplasm)에 존재하며 lysosome과 관련된 electron denseorganelles에서 관찰되는 바 ⁶⁷Ga은 철 유사물질로 작용하는 것으로 추측되고 있다¹⁶⁾. 임상적으로는 악성림프종 및 폐암에서 우수한 진단율을 보이나, 혈중 제거율이 느리고 염증성 질환 및 기타 양성질환에서도 높은 섭취를 보이며 cyclotron에서 생산되어 값이 비싼것이 단점이다. 1950년대에 방사표지항체가 생체내에서 충분한 면역반응을 유지함이 관찰된 이래^{17,18)}, 인체에의 첫 시도는 fibrin과 fibrinogen에 대한 방사표지항체가 급속히 성장하는 종양에 집적되는 것이었으며¹⁹⁾, 임상적으로 충분한 신티그라피는 CEA(carcinoembryonic antigen)에 대한 ¹³¹I 표지 항체를 이용한 것이었다^{20~22)}. 고전적으로는 적당한 동물에 정제된 항원을 접종하여 얻은 gamma globulin을 affinity chromatography로 정제하고 ¹³¹I로 방사표지하는 복잡한 방법이나, denaturation과 면역반응능의 소실을 피하기 어렵다. 백서에 종양특이항원을 접종한 후, 비장림프구를 골수중세포와 HAT(hypoxanthine-aminopterin-thymidine medium)에서 결합시킨 hybridoma 세포의 배양 및 분지 후 면역글로불린의 동정에 의한 항원특이항체생산골수중세포의 배양으로 다량의 단세포군 항체를 얻게 되어^{23,24)} 많은 발전이 이루어지게 되었다. 그러나 백서단백에 대한 항체 형성 및 과민반응이 임상적인 문제로 제기되어, 면역원성 Fc 부분을 단백질분해효소로 제거한 Fab, F(ab')₂ 부분의 사용으로 혈청제거율이 빨라졌으며^{25,26)}, 인체의 골수중세포와 암환자의 림프구를 결합시킨 단세포군항체의 생산으로 종양대 주변방사능비가 향상되었다²⁷⁾. 사용되는 핵종으로는 ¹³¹I이 구하기 쉬워 많이 쓰였으며, ¹²⁵I이 더 좋은 감마선을 방출하나 cyclotron 생산으로 값이 비싸고 반감기가 비교적 짧은 결함이 있고, DTPA(diethylene triaminepentaacetic acid)의 접합에 의한 ¹¹¹In, ⁶⁷Ga, ^{99m}Tc 등의 핵종에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 종양특이항원도 CA 19-9, α-FP(alpha fetoprotein) TDT(terminal deoxynucleotidyl transferase), PAP(prostatic acid phosphatase) 등이 연구되고 있으며, 정상조직항원과의 교차반응, RES(reticuloendotelial system) 특히 골수조직에의 방사능의 축적등이 해결되어야 할 문제점들이다.

이상에서 살펴본 기존의 핵의학적 종양진단법은 각기 문제점을 안고 있음을 알 수 있으며, 핵종들의 물리적 특

성에 의해 해상능과 포적대 주변 방사능비가 만족스럽지 못하여, 현재 사용되는 핵종중 가장 이상적이라고 생각되는 ^{99m}Tc의 방사표지화합물의 개발에 관심이 집중되고 있다. ^{99m}Tc의 장점은 140 KeV의 단일 감마선 방출과 6시간의 적당한 반감기, 입자방출이 없다는 물리적 특성에 있으며 또한 값이 싸고 구하기 쉬워 널리 이용되고 있다. Technetium은 주기율표의 VIIA 군에 속하는 핵종으로 망간아래의 molybdenum과 ruthenium 사이에 있으며, 산화상태 7가의 pertechnetate로 존재한다. 표지가 이루어지기 위하여는 낮은 산화상태로 환원되어야 하는데, 대개 주석이온 또는 dithiolato가 필요하다^{28,29)}. 환원된 상태의 electron and vibrational spectroscopy, X-ray crystallography, nuclear magnetic resonance 등의 방법에 의하여 같은 출발시약으로도 산화상태가 기하학적 구조가 다른 화합물들이 합성가능하며 생체내 분포도 다를 수 있음이 점차 밝혀지고 있다^{30~32)}.

DMSA(dimercaptosuccinic acid)는 중금속의 접합체(chelate)로 Lin 등³³⁾(1974)이 ^{99m}Tc으로 방사표지하여 신신티그라피에 사용한 이래 여러 형태의 technetium 화합물이 존재함이 관찰되었다^{29,34~37)}. 이들은 평형상태에서 함께 존재하기도 하며, pH, ^{99m}Tc carrier, 시약의 조성비, 방사표지후의 시간경과, 표지시 대기중의 산소농도 등의 영향을 받는다. 신신티그라피에 사용되는 화합물은 4가의 산화상태로 추측되며, 2가의 주석(Sn)이 선회질에 정제되는 것과 비례하여 신장에 축적되며, 단백질결합을 많이 할수록 신장내 방사능 축적이 좋은 것으로 알려져 있고, 혈청단백에 결합하지 않는 DMSA의 혈중제거율은 사구체여과율(glomerular filtration rate; GFR)보다 약간 크다³⁸⁾. DMSA/Sn⁺² 화합물은 pH의 변화에 의하여 구조적 변화가 가능하나, ^{99m}Tc으로 표지시킨 이후에는 pH의 변화에도 영향을 받지 않으며 UV spectroscopy상 DMSA와 Sn⁺²의 비는 pH 4에서 2 : 1, pH 8에서 1 : 1로, 전자에서는 DMSA 분자의 한 mercapto 기가 Sn과의 접합에 관여하며 후자에서는 한 분자의 두 mercapto 기가 관여한다³⁴⁾. Ikeda 등³⁵⁾(1977)은 DMSA의 방사표지시 Tc-Sn-DMSA의 복합체가 아닌 Tc-DMSA 또는 Sn-DMSA만의 화합물임을 gel chromatography를 이용하여 관찰하였고 Spies 등²⁹⁾은 ^{99m}Tc-DMSA의 기하학적 구조 이성체들이 생체내에서 서로 다른 분포를 하며, meso-DMSA는 골친화성이 있으나 racemic-DMSA는 생체내에서 빨리 제거

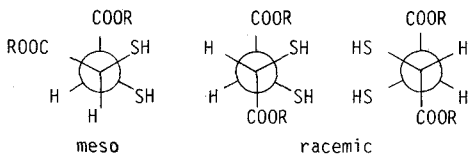
되는데 carboxyl기의 위치변화에 의한 구조의 차이가 이러한 결과를 가져온다 하였다(Fig. 1). Yokoyama 등^{39,40)}은 DMSA를 pH 8.0~8.5의 염기성 용액에서 SnCl₂의 양을 제한하여 ^{99m}Tc으로 방사표지하여 5가의 산화상태인 화합물을 가토에 주사하여 ⁶⁷Ga-citrate 보다 더 높은 종양내 섭취를 관찰하였다. Lamki 등⁴¹⁾은 전립 선암의 골전이 병소에 ^{99m}Tc-DMSA의 섭취를 관찰하고 방사능이 주사후 2시간 보다 7시간에서 더 강함이 혈액내 방사능의 효과에 의한 것이 아니며, 그 섭취 기전은 심피질 세포관 세포의 cytosol 단백질과 비슷한 중금속 결합단백인 metallothionein에 결합되어^{42,43)} 종양 세포의 cytosol에 도달하는 것으로 추측하였다. 이것은 5가의 산화상태의 Tc core에 DMSA가 결합된 화합물로 혈청단백에 결합하지 않으며, RBC에도 섭취되지 않고, SnCl₂의 양보다는 pH가 더 중요하며, 방사 표지 후 24시간 까지 안정되고 TLC(thin layer chromatography)로 신신티그라피에 사용되는 것과는 다른 Rf치를 가짐이 알려져 있다⁴⁴⁾. Ohta 등^{45~48)}은 인체 연조직의 악성 종양에 5가의 산화 상태인 ^{99m}Tc-DMSA의 섭취를 관찰하였고, ⁶⁷Ga-citrate 보다 우수하며, transferrin과 무관한 섭취기전을 추측하였으며, 횡문근육종 악성 신경성종양, 악성혈관종, 악성조직구종 지방육종 그리고 갑

상선수질암 등에 섭취됨을 보고하였다. 본 연구는 기존 핵의학적 종양진단법의 단점을 개선한 새로운 종양 표지자인 염기성 용액의 ^{99m}Tc-DMSA의 방사성 동위원소 표지수율, 혈청단백결합, 실험동물체내 분포 및 종양세포 내 분포를 관찰하여, 그 이용방법 및 임상적응을 확립하기 위한 기초자료를 제공하여주고, 종양내 섭취기전을 밝히는 연구의 기본이 될 것으로 기대하였다.

재료 및 방법

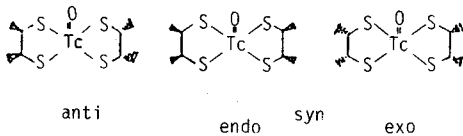
1. 재 료

Na^{99m}Tc-04는 한국에너지연구소 제품을 사용하였으며, dimercaptosuccinic acid(DMSA), ascorbic acid, inositol, glucose, sodium bicarbonate 등은 미국 Sigma사 제품, stannous chloride는 미국 Fisher사 제품을 사용하였다. ^{99m}Tc-DMSA의 제조는 Table 1과 같은 조성으로 Fig. 2의 제조과정을 거쳐 조제하였다^{35,44,49)}. 이때 한번 제조시 100 kit 분을 제조하였으며, pH 변화 실험을 위해서는 pH 2.0~9.0까지 변화시켜 제조하였고, 그외는 pH 7.4에서 제조된 ^{99m}Tc-DMSA를 사용하였다. 실험동물은 체중 150~250 gm 사이의 Wistar 계통백서를 사용 하였으며, ^{99m}Tc-DMSA 투여 후 3시간, 6시간, 9시간 각군 7마리씩 나누어 실험하였다. 일본 국립암연구소에서 도입한 후 계대 이식 성장된 Walker 암육종 256을 경부에 투관침(trocar)을 사용하여 이식한 후 10~14일간 종양을 성장시켜 실험하였다. 혈청단백결합 실험에 사용한 혈청은 원자력병원 핵의학과에 각종 검사를 위하여 의뢰된 혈청의 혼주혈청(pooled serum)이었고, trichloroacetic acid(TCA)는 독일 Merck사 제품을 사용하였다.



R=H DMSA, R=CH₃:DMSAesler

Complexes with meso ligands



Complexes with racemic ligands

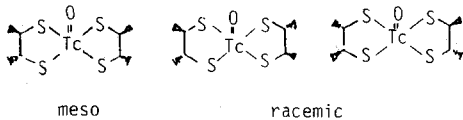


Fig. 1. Structure of ^{99m}Tc-DMSA. Representation of stereochemistry.

Table 1. Composition of ^{99m}Tc-DMSA Kit

Component	mg/ml	Mol used
Meso-DMSA	1.0	5.49 × 10 ⁻⁶
SnCl ₂	0.1	4.43 × 10 ⁻⁷
NaHCO ₃	1.0	1.19 × 10 ⁻⁵
Glucose	10	5.55 × 10 ⁻⁵
Ascorbic acid	0.7	3.97 × 10 ⁻⁶

DMSA : SnCl₂ = 12.4 : 1

—임상부 외 4인 : 염기성 ^{99m}Tc -DMSA의 Walker 256 암육종 이식백서에서
중양섭취율에 관한 연구—

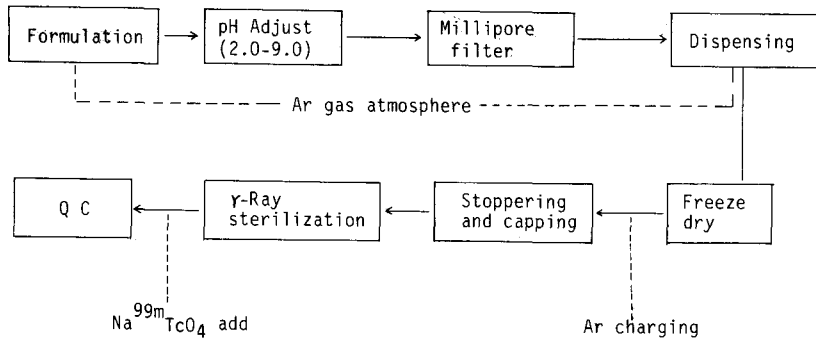


Fig. 2. Scheme of procedures preparing ^{99m}Tc -DMSA complexes.

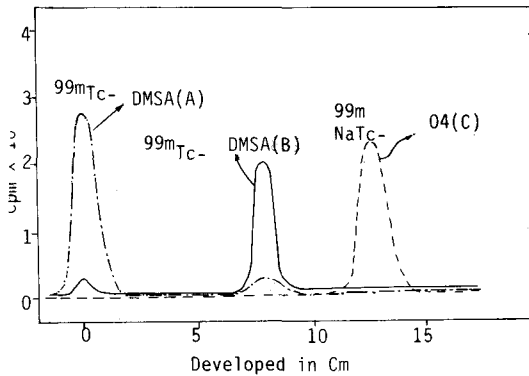


Fig. 3. Typical radiochromatogram of acidic (A), Basic (B) ^{99m}Tc -DMSA and $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ (C) developed with n-butanol; acetic acid; H_2O (3:2:2.5, v/v) of the 혼합전개용매를 사용하였으며, 독일 Merck사 제품 Kissiel Gel-60 glass plate TLC(thin layer chromatography)를 사용하였다(Fig. 3). 혈청단백 결합을 측정은 인혈청 2ml에 여러가지 pH범위 (pH 2.0~9.0)에서 제조된 ^{99m}Tc -DMSA 0.2ml를 섞어 37°C에서 60, 120, 180분 incubation 후, 30% TCA 2.2ml를 넣고 잘 섞은 다음 1500 g에서 10분간 원심분리하여 침전 (B)과 상층액 (F)을 분리하고 140 KeV에 20%의 window를 설정하여 감마선 계측기로 방사능을 계측한 후 B/T(%)값으로 부터 혈청단백 결합율을 구하였

2. 방 법

1) ^{99m}Tc -DMSA의 방사표지수율 및 혈청단백결합

^{99m}Tc -DMSA의 방사표지수율(labeling yield) 결정 및 정도관리를 위하여 n-butanol; acetic acid; H_2O (3:2:2.5, v/v)의 혼합전개용매를 사용하였으며, 독일 Merck사 제품 Kissiel Gel-60 glass plate TLC(thin layer chromatography)를 사용하였다(Fig. 3). 혈청단백 결합을 측정은 인혈청 2ml에 여러가지 pH범위 (pH 2.0~9.0)에서 제조된 ^{99m}Tc -DMSA 0.2ml를 섞어 37°C에서 60, 120, 180분 incubation 후, 30% TCA 2.2ml를 넣고 잘 섞은 다음 1500 g에서 10분간 원심분리하여 침전 (B)과 상층액 (F)을 분리하고 140 KeV에 20%의 window를 설정하여 감마선 계측기로 방사능을 계측한 후 B/T(%)값으로 부터 혈청단백 결합율을 구하였

다^{35,44,50,51}.

2) ^{99m}Tc -DMSA의 혈중제거

Walker carcinosarcoma 256을 이식성장시킨 7마리의 Wistar 계통성백서의 미부정맥(tail vein)에 ^{99m}Tc -DMSA 100 uCi를 주사하고 60, 120, 240분에 0.5~0.6 ml의 혈액을 채취하였으며, Siemens 사의 ZLC 3700S gamma camera로 전신영상을 frame당 256초씩 5시간 동안 Scintiview SP computer에 수록하여 뇌에 관심영역을 그려 시간-방사능 곡선을 얻고, 채취한 혈액을 Abbott사의 ANSR gamma counter로 측정하여 % of injected radioactivity/gram of blood를 산출하여 시간-방사능 곡선을 보정하였다⁵².

3) ^{99m}Tc -DMSA의 혈액성분내 분포

^{99m}Tc -DMSA 10 mCi를 자원 정상인에 투여하여, 3시간후에 ACD 용액을 부피당 1:9로 섞은 전혈 10ml을 채취하여, 이중 4ml의 전혈에 4ml의 Hank's 용액을 첨가한 뒤 Ficoll-Hypaque 4ml 위에 가만히 넣어 실온에서 400 g로 40분간 원심분리하였다. L-C band를 pipet로 채취하고 생리식염수를 5ml 가하여 잘 섞어 다시 400 g로 10분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 같은 조작을 2번 더 하였다. 그리고 남은 pellet을 생리식염수 1ml로 희석하여 방사능을 측정된 것을 백혈구의 방사능으로 하였다. 그리고 L-C band를 제거한 남은 부분에서 RBC를 분리하여 계측하고 전혈위 방사능에서의 비율을 산출하였다. 4ml의 전혈을 180 g에서 15분간 원심분리하여 얻은 PRP(platelet rich plasma)를 1800 g에서 7분간 원심분리하여 얻은 pellet을 백혈구의 경우와 같이 세척한 후 방사능을 측정하여 전혈에 대한 혈소판의 방사능비를 산출하였다⁴⁴.

4) ^{99m}Tc-DMSA의 주사후 시간경과에 따른 중앙이식 백서 체내분포

중앙이 이식되어 성장한 Wistar계 웅성백서를 7마리씩 3군으로 나누어, 미부정맥(tail vein)에 ^{99m}Tc-DMSA 100 μCi를 주사하고 3,6,9시간후에 채혈 후 경부 탈구 시켜 해부하여 각 장기를 분리한 후 무게를 잰다. 전신 및 장기별 방사능을 Aloka 사의 동물전신 방사능측정기로 140 KeV에서 20%의 window를 계측하여, % of injected radioactivity/gram of tissue를 산출하였다.

5) ^{99m}Tc-DMSA의 중앙세포내 분포

^{99m}Tc-DMSA 100 μCi를 Walker 암육종 256이 이식

성장된 wstar계 웅성백서 6마리에 미부정맥(tail vein)으로 주사하고 6시간 뒤에 중앙조직을 분리하여, petridish에 올려놓고 수술용 칼로 잘게 부순 후 pH 7.3, 50 mM tris HCl buffer로 씻고, 무게를 잰뒤, Brinkman 사의 PT 10/35 Homogenizer로 균등분산하여, buffer로 무게를 조절하여, whole homogenate를 1 ml씩 남기고 DuPont사의 RC₅C 원심분리기로 4°C 700 g 에서 10분간 원심분리하여 침전물을 남기고, 상층액을 1 ml씩 남기고 다시 4°C 7000 g에서 10분간 원심분리하여 침전물과 상층액 1 ml씩을 남긴 후, 상층액을 다시 Beckman 사의 L8-70 M ultracentrifuge로 4°C 105000 g로 60분

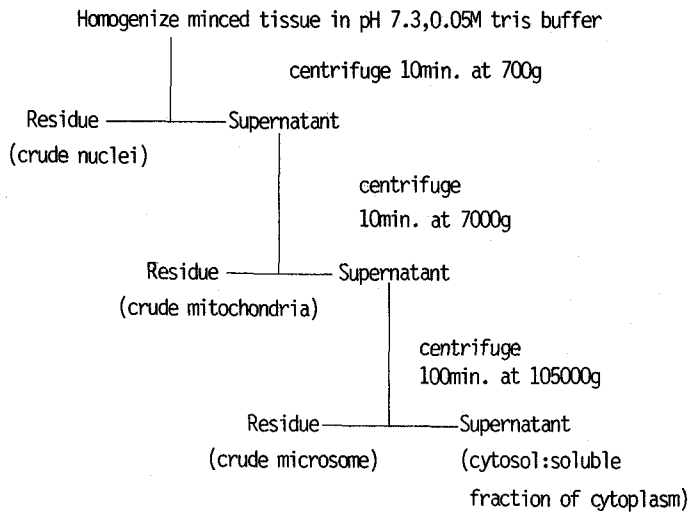


Fig. 4. A typical cell fractionation scheme. All preformed at 0 to 4°C.

Table 2. Labeling Yield and Protein Binding Activity of Meso-DMSA at Various pH and Na ^{99m}Tc-04. (Percentage of Total Radioactivity)

pH	Complex A	Complex B	Protein binding		
			1 hr.	2 hr.	3 hr.
2	100	0	92.9	85.1	86.7
3	100	0	88.3	85.8	91.4
4	100	0	89.1	87.0	83.9
5	100	0	77.5	85.0	76.6
6	8.5	91.5	19.9	30.5	17.1
7	6.5	93.5	13.1	28.4	21.4
8	3.8	96.2	17.2	16.7	16.4
8	4.7	95.3	11.8	29.1	22.1
9	4.2	95.8	14.6	29.3	17.2
Na ^{99m} Tc-04	0	0	13.5	12.7	15.1

* complex A ; acidic ^{99m}Tc-DMSA, complex B ; basic ^{99m}Tc-DMSA.

간 원심분리하여, 각 침전물과 상층액 및 whole homogenate를 Abbott사의 gamma counter로 측정하여 핵, mitochondria, microsome 및 cytosol의 방사능 비를 산출하였다⁵²⁻⁵⁵(Fig. 4).

연구 성적

1. ^{99m}Tc-DMSA의 방사표지수 및 혈청 단백질 결합

TLC(thin layer chromatography)상 pH 2~5에서 제조된 ^{99m}Tc-DMSA는 제자리에 있었고, pH 6~9의 것

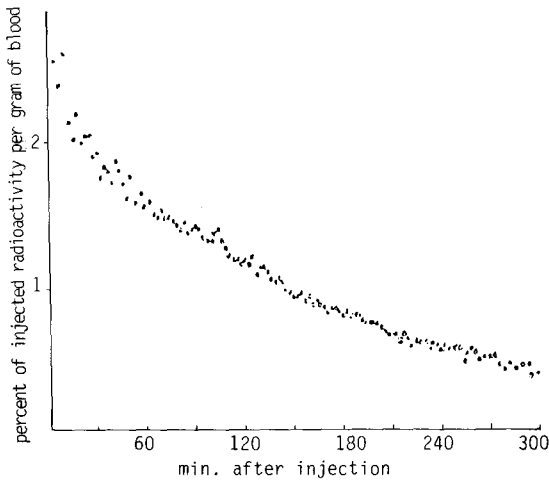


Fig. 5. Time-activity curve of ^{99m}Tc-DMSA in blood pool.

은 저내되어 두 화합물의 물성이 다를 수 있었고, 혈청단백결합을 역시 pH 5와 6 사이에서 크게 변화하였으며 시간의 경과에 의한 차이는 관찰되지 않았다(Table 2).

2. ^{99m}Tc-DMSA의 혈중제거

Fig. 5에서 보는 바와 같이 혈액내 방사능은 첫 부분의 급격한 감소와 뒤의 완만한 감소를 관찰할 수 있으며, 3시간에서 6시간 사이의 반감기는 187±29분이었다.

3. ^{99m}Tc-DMSA의 혈액내 분포

대부분의 방사능이 혈장내에 존재하며 1% 정도만이 혈액내의 세포성분에 존재 하였다(Table 3).

4. ^{99m}Tc-DMSA의 주사후 시간경과에 따른 종양의 식백서 체내분포

시간의 경과에 따라 신장의 방사능은 유의하게 증가하였으며 (p[t]<0.005), 혈액 및 골격내 방사능은 점차 감

Table 3. Distribution of ^{99m}Tc-DMSA in Blood Component at 3 Hours after Injection

Plasma	98.9%
RBC	0.9%
WBC	0.1%
Platelet	0.1%
Total	100 %

Table 4. Organ Distribution of Injected ^{99m}Tc-DMSA in Tumor Bearing Wistar Rats at Various Time Interval After Injection. (% of Injected Radioactivity/Gram of Tissue)

	3 hr.		6 hr.		9 hr.	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Blood	0.89	0.16	0.45	0.15	0.24	0.07
Brain	0.05	0.01	0.03	0.01	0.02	0.01
Heart	0.37	0.06	0.24	0.04	0.19	0.06
Lung	0.68	0.12	0.32	0.13	0.36	0.13
Kidney	9.15	2.52	12.8	2.85	22.3	6.54
Liver	0.64	0.13	0.77	0.14	0.61	0.23
Spleen	0.42	0.05	0.37	0.04	0.47	0.16
Bone	5.34	1.77	3.05	0.48	1.54	0.53
Muscle	0.19	0.06	0.17	0.07	0.10	0.03
Tumor	0.79	0.16	0.97	0.17	0.58	0.23

Table 5. Tumor to Blood Radioactivity Ratio of ^{99m}Tc-DMSA at Various Time Interval After Injection

	3 hr.		6 hr.		9 hr.	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Tumor	0.79	0.16	0.97	0.17	0.58	0.23
Blood	0.89	0.16	0.45	0.15	0.24	0.07
Tumor/Blood	0.89	0.23	2.15	0.41	2.42	0.47

Table 6. Intracellular Localization of ^{99m}Tc-DMSA in Tumor Tissue of Walker Carcinosarcoma 256

	Cytosol	Microsome	Mitochondria	Nucleus
1.	0.63	0.07	0.14	0.17
2.	0.86	0.03	0.03	0.08
3.	0.74	0.08	0.07	0.12
4.	0.76	0.03	0.05	0.16
5.	0.66	0.04	0.06	0.23
6.	0.72	0.06	0.08	0.14
Mean	0.73	0.05	0.07	0.15
SD	0.08	0.02	0.04	0.05

소하였고(p[t]<0.005), 종양내 방사능은 6시간에 최고치에 이른 후 감소하였다(Table 4). 종양내 혈액의 방사능비는 6시간에 3시간에서보다 유의하게 높았으나(p<0.001), 6시간과 9시간에는 유의한 차이는 없었다(p[t]>0.05)(Table 5).

5. ^{99m}Tc-DMSA의 종양세포내 분포

세포내 방사능은 주로 cytoplasm의 가용성 부분 즉 cytosol에 존재하였다(Table 6).

고 찰

종양의 진단에 사용되는 방사표지화합물은, 현재 가장 이상적인 핵종으로 생각하는 ^{99m}Tc에 결합할 수 있고, 종양에 선택적으로 섭취되며, 혈중제거율이 빨라 종양내 주변의 방사능비가 우수하면 이상적이라 하겠으며, ^{99m}Tc-DMSA는 이러한 가능성을 가진 시약이라 할 수 있다. 본 연구는 이 화합물의 종양친화성 및 체내동태를 평가하기 위한 것이다. 실험에 사용한 ^{99m}Tc-DMSA kit는 pH의 변화에 관한 실험을 제외하고는 pH 7.4에서 만든 같은 군의 제품을 사용하였는데, 이 kit의 조성비는

Table 7. Differences in Organ Distribution with Several Kits at Various Time Interval After Injection (Radioactivity Ratio to Blood)

		Kidney	Bone	Tumor
		Author	3hr.	10.3
	6hr.	28.4	6.8	2.15
	9hr.	92.9	6.4	2.42
Yomoda	3hr.	19.7	47.1	2.06
Yokoyama	1hr.	4.42	8.91	1.02
	2hr.	15.38	29.67	2.00
	3hr.	125.0	138.0	6.50
Jeghers	1hr.	2.05	2.68	—

신신티그라피용 kit보다 SnCl₂가 훨씬 적은, DMSA와 SnCl₂의 비율이 Ohta 등^{45,48), Jeghers 등⁴⁴⁾이 사용한 Daiichi 사의 제품과 유사한데 glucose가 적게 포함되었으며 ascorbic acid가 첨가되어 있다. Yomoda 등⁴⁹⁾은 inositol이나 mannitol보다 glucose가 종양내 혈액의 방사능비가 높게함을 주장하였고, 이는 혈중제거속도와 관련이 있는 듯하다. TLC상 산화상태가 5개인 종양친화성이 강한 화합물과 4개인 신신티그라피에 사용되는 화합물과 뚜렷이 구별된 Jeghers 등^{44), Yomoda 등⁴⁹⁾의 결과와 일치하며, 전립선암의 골전이 병소에 섭취됨을 보고한 Lamki 등⁴¹⁾이 사용한 신신티그라피용의 ^{99m}Tc-DMSA kit에 5가의 산화 상태인 화합물이 들어있을 가능성을 시사한다. 저자들의 예비 실험에서 meso-DMSA와 racemic-DMSA의 방사표지수율이 현저히 다름이 관찰되었는데, racemic-DMSA는 pH 3에서 종양친화성이 강한 화합물과 같은 TLC상의 Rf치를 가지는 화합물이 100% 가까이 방사표지되며, pH의 상승에 따라 급격히 표지수율 감소하나(pH 4에서 21), 신신티그라피용의 화합물과 같은 Rf치를 가지는 화합물이 안생김이 meso-DMSA와 다른바, Spies 등²⁹⁾이 관찰한 기}}

하학적 구조이성체들의 물성이 다름이 그 원인으로 추측되며, 앞으로 racemic-DMSA 및 d 또는 l 이성체들의 종양친화성에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다. 혈청단백 결합율에 관한 실험방법은 ammonium sulfate, uranium acetate, alcohol, TCA, perchloric acid 등의 단백침전시약과 sephadex 또는 반투막을 이용한 투과법(filtration)이 있으며, 각 방법에 따라 성적에 차이가 있을 수 있으며⁵⁰⁾, Yee 등³⁸⁾의 TCA를 이용한 성적과 저자의 pH 2~5의 화합물의 성적이 비슷하나, Jeghers 등⁴⁰⁾의 Sephadex G50을 이용한 성적과 저자의 pH 6~9의 화합물의 성적이 약간의 차이가 있음은 방법의 차이에 의한 것으로 생각되며, 5가의 산화상태인 화합물이 혈청단백에 결합하지 않음과, 적혈구에 거의 섭취되지 않음은 일치하는 관찰이다. 장기별 분포는 사용한 kit에 따라 다른데(Table 8), Daiichi 사의 kit를 사용한 골친화성이 적음을 관찰할 수 있으며, 이는 Spies 등²⁹⁾이 관찰한 meso-DMSA와 racemic-DMSA의 차이점과 유사하여, 기하 이성체간의 물성의 차이를 시사한다 하겠으며, 추후 이에 관한 연구가 계속되어야 할 것이다. 인체 악성종양의 섭취는 Ohta 등⁴⁶⁾의 관찰과 유사한 질환에서 관찰되며, 각 질환에서의 진단율에 관한 광범위한 연구가 필요하다. 저자가 상요한 핵종은 ^{99m}Tc 이나 ^{111}In 또는 ^{67}Ga 등으로 방사표지하였을 경우, 체내동태가 다를 가능성도 있어 racemic-DMSA 및 d 또는 l-DMSA에 관한 연구와 함께 꼭 이루어져야 할 과제로 생각된다.

결 론

DMSA를 제조방법을 변화시켜 ^{99m}Tc 으로 방사표지하여 표지 수율 및 단백질결합을 관찰하고, Wistar계의 음성백서에 Walker 암육종 256을 이식하여 성장시킨 후, ^{99m}Tc -DMSA를 주사하여 시간의 경과에 따른 체내 분포의 변화와 종양내 분포를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) ^{99m}Tc -DMSA의 정맥주사후 3시간에서 6시간 사이의 반 감기는 187 ± 29 분(평균 \pm 표준편차)이었다.
- 2) ^{99m}Tc -DMSA의 혈청내 단백질결합율은 pH 5이하와 6이상의 군 사이에서 유의한 차이를 보였으나($p[t] < 0.001$), 시간의 경과에 따른 변화는 없었다($p[t] > 0.05$).
- 3) ^{99m}Tc -DMSA는 대부분이 혈장내에 있었고, 혈액

내 세포성분에는 전체 혈액 방사능의 1% 이하로 분포하였다.

4) 시간의 경과에 따라 신장의 방사능은 증가하였으며, 골내 방사능은 점차 감소하였고, 종양내 방사능은 6시간에 최고치에 이른 후 감소하였다.

5) 종양 세포내 방사능은 주로 세포질의 가용성 부분 즉 cytosol에 존재하였다.

이상의 결과로 ^{99m}Tc -DMSA는 제조방법의 변화에 따라 악성 종양에 섭취됨을 관찰할 수 있었으며, 앞으로 섭취기전에 관한 연구와 구조이성체에 따른 체내동태의 변화 및 다른 핵종으로 표지할 때에 관한 연구가 있어야 하겠으며, 임상적응에 관한 연구도 병행되어야 할 것으로 생각되었다.

REFERENCES

- 1) Thomas CI, Bovington MS, Macintyre WJ, et al: *Experimental investigations on uptake of radioactive phosphours in ocular tumors. Arch Ophthalmol* 61: 464-90, 1959
- 2) Cavalieri RR, Steinberg M: *Selenite (75Se) as a tumor scanning agent. J Surg Oncol* 3:617-23, 1971
- 3) DiGiulio W, Beierwaltes WH: *Parathyroid scanning with selenium-75 labeled methionine. J Nucl Med* 5: 417-27, 1964
- 4) Haynie TP, Ottie WK, Wright JC: *Visualization of a hyperfunctioning parathyroid adenoma using Se-75 selenomethionine and the photoscanner. J Nucl Med* 5:710-4, 1964
- 5) Weber G, Cantero A: *Glucose-6-phosphatase activity in normal, precancerous and neoplastic tissues. Cancer Res* 15:105-8, 1955
- 6) Som P, Atkins HL, Bandyopadhyay D, et al: *A fluorinated glucose analog, 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (F-18): Nontoxic tracer for rapid tumor detection. J Nucl Med* 21:670-5, 1980
- 7) Yonekura Y, Benua RS, Brill B, et al: *Increased accumulation of 2-deoxy-2-[18F]-Fluoro-D-glucose in liver metastases from colon carcinoma. J Nucl Med* 23:1133-7, 1982
- 8) Dichiro G, De LaPaz R, Smith B, et al: *28F-2-fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography of human cerebral gliomas. J Comput Assist Tomogr* 5:937-43, 1981

- 9) Grove RB, Reba RC, Eckelman WC, Goodyear M: *Clinical evaluation of radiolabelled bleomycin for tumor detection. J Nucl Med* 15:386-90, 1974
- 10) Woolfenden JM, Alberts DA, Hall JW, Patton DD: *Cobalt-57 bleomycin for imaging head and neck tumors. Cancer* 43:1652-7, 1979
- 11) Kahn PC, Milunsky C, Dewanjee M, Rudders RA: *The place of ⁵⁷Co bleomycin scanning in the evaluation of tumors. Am J Roentgenol* 129:267-73, 1977
- 12) Rasker JJ, Van de Poll MACP, Beekhuis H, et al: *Some experience with ⁵⁷Co-labeled bleomycin as a tumor seeking agent. J Nucl Med* 16:1058-69, 1975
- 13) Nieweg OE, Beekhuis H, Paans AMJ, et al: *Detection of lung cancer with ⁵⁵Co bleomycin using a positron camera. A comparison with ⁵⁷Co bleomycin and ⁵⁵Co bleomycin single photon scintigraphy. Eur J Nucl Med* 7:104-7, 1982
- 14) 유용운, 김강휘, 이진오 : ⁵⁷Co-BLM을 이용한 종양진단 신틸그라피에 관한 연구. 대한핵의학회지 21(1):61-8, 1987
- 15) Hoffer PB, Huberty JP, Khayam-Bashi H: *The association of ⁶⁷Ga and lactoferrin. J Nucl Med* 18:713-7, 1977
- 16) Larson SM: *Mechanisms of localization of Gallium-67 in tumors. Sem Nucl Med* 8(3):193-203, 1978
- 17) Pressman D: *The zone of activity of antibodies as determined by the use of radioactive tracers. Ann NY Acad Sci* 11:203, 1949
- 18) Bale WF, Spar IL, Goodland RL, et al: *In vivo and in vitro studies of labeled antibodies against rat kidney and Walker carcinoma. Proc Soc Exp Biol Med* 89:564-8, 1955
- 19) McCardle RJ, Harper PV, Spar IL, et al: *Studies with iodine-131-labeled antibody to human fibrinogen for diagnosis and therapy of tumors. J Nucl Med* 7:837-47, 1966
- 20) Mach JP, Carrel S, Merenda C, et al: *In vivo localization of radiolabeled antibodies to carcinoembryonic antigen in human colon carcinoma grafted into nude mice. Nature* 248:704-6, 1974
- 21) Reif AE, Curtis LE, Duffield R, et al: *Trial of radiolabeled antibody localization in metastases of patients with tumor containing carcinoembryonic antigen (CEA). J Surg Oncol* 6:133, 1974
- 22) Goldenberg DM, Deland F, Kim E, et al: *Use of radiolabelled antibodies to CEA for the detection and localization of diverse cancers by external photoscanning. N Engl J Med* 298:1384-8, 1978
- 23) Kohler G, Millstein C: *Continuous culture of fused cells secreting antibodies of predefined specificity. Nature* 256:495, 1975
- 24) Milstein C: *Monoclonal antibodies. Sci Amer* 243:56-64, 1980
- 25) Larson SM, Carrasquillo JA, Krohn KA, et al: *Localization of I-131-labeled P97-specific Fab fragments in human melanoma as a basis for radiotherapy. J Clin Invest* 72:2101-14, 1983
- 26) Moldofsky PJ, Powe J, Mulhern CB, et al: *Metastatic colon carcinoma detected with radiolabeled F(ab')₂ monoclonal antibody fragments. Radiology* 149:549-55, 1983
- 27) Olsson L, Kaplan HS: *Human-human hybridomas producing monoclonal antibodies of predefined antigenic specificity. Proc Natl Acad Sci USA* 77:5429-31, 1980
- 28) Spies H, Johannsen B: *Oxotechnetium (V) bis (dithiolato) complexes. Inorganica Chimica Acta* 48:255-8, 1981
- 29) Spies H, Scheller D: *Chemical and NMR spectroscopic investigations of stereoisomeric Tc(V)-DMSA complexes. Inorganica Chimica Acta* 116:1-4, 1986
- 30) Jones AG, Davison A: *The chemistry of technetium I, II, III and IV. Int J Appl Radiat Isot* 33:867-74, 1982
- 31) Davison A, Jones AG: *The chemistry of technetium V. Int J Appl Radiat Isot* 33:875-81, 1982
- 32) Eckelman WC, Volkert WA: *In vivo chemistry of ^{99m}Tc-chelates. Int J Appl Radiat Isot* 33:945-51, 1982
- 33) Lin TH, Khentigan A, Winchell HS: *A ^{99m}Tc-chelate substitute for organoradiomercurial renal agents. J Nucl Med* 15:34-35, 1974
- 34) Krejcarek GE, Wicks JH, Heerwald PE, et al: *The structure of stannous DMSA chelates. J Nucl Med* 17:565, 1976
- 35) Ikeda I, Inoue O, Kurata K: *Preparation of various ^{99m}Tc-dimer-captosuccinate complexes and their evaluation as radiotracers. J Nucl Med* 18:1222-9, 1977
- 36) Taylor AJ, Lallone RL, Hagen PL: *Optimal handling of dimercaptosuccinic acid for quantitative renal scanning. J Nucl Med* 21:1190-3, 1980
- 37) Moretti JL, Rapin JR, Saccavini JC, et al: *2.3-Dimercaptosuccinic-acid chelates. I Structure and pharmacokinetic studies. Int J Nucl Med Biol* 11:

- 270-4, 1984
- 38) Yee CA, Lee HB, Boaufox MD: ^{99m}Tc -DMSA Renal Uptake Influence of Biochemical and Physiological Factors. *J Nucl Med* 22:1054-8, 1981
- 39) Yokoyama A, Hata N, Saji H, et al: Chemically designed ^{99m}Tc -radiopharmaceuticals for the tumor diagnosis: ^{99m}Tc -DMSA. *J Nucl Med* 22:P69, 1981
- 40) Yokoyama A, Hata N, Horiuchi K, et al: The design of a pentavalent ^{99m}Tc -dimercaptosuccinate complex as a tumor imaging agent. *Int J Nucl Med Biol* 12: 273-9, 1985
- 41) Lamki L, Sheare R: ^{99m}Tc -DMSA uptake by metastatic carcinoma of the prostate. *J Nucl Med* 25:733-4, 1984
- 42) Chervu LR, Blaufox MD: Renal radiopharmaceutical-an update. *Semin Nucl Med* 12:224-45, 1982
- 43) Kagi JHR, Himmelhoch SR, Whangner PD, et al: Equine hepatic and renal metallothioneins purification molecular weight amino acid composition and metal content. *J Biol Chem* 249:3537-42, 1974
- 44) Jeghers O, Puttemans N, Urbain D, et al: Comparison of two $^{99m}\text{Tc}(V)$ -dimercaptosuccinic acid preparations. *Int J Appl Radiat Isot* 38(1):13-8, 1987
- 45) Ohta H, Yamamoto K, Endo K, et al: A new imaging agent for medullary carcinoma of the thyroid. *J Nucl Med* 25:323-5, 1984
- 46) Ohta H, Endo K, Fujita T, et al: Imaging of soft tissue tumors with ^{99m}Tc 5 DMSA. A new tumor-seeking agent. *Clin Nucl Med* 10:568-72, 1984
- 47) Ohta H, Ishii M, Yoshizumi M, et al: Is ECT imaging with $^{99m}\text{Tc}(V)$ -DMSA useful to detect lung metastases of osteosarcoma? *Clin Nucl Med* 10:13-4, 1985
- 48) Ohta H, Ishii M, Yoshizumi M, et al: A comparison of the tumorseeking agent $^{99m}\text{Tc}(V)$ -DMSA and the renal imaging agent ^{99m}Tc -DMSA in humans. *Clin Nucl Med* 10:167-70, 1985
- 49) Yomoda I, Horiuchi K, Hata N, et al: The development of new tumor imaging $^{99m}\text{Tc}(V)$ -DMS kit preparation and labeling condition studies. *Radioisotopes* 24(1):77-82, 1987
- 50) Schumichen C, Koch K, Kraus A, et al: Binding of ^{99m}Tc to plasma proteins influence on the distribution of ^{99m}Tc phosphate agents. *J Nucl Med* 21:1080-5, 1980
- 51) Imre J: Chromatographic and biological comparison of ^{99m}Tc -DMSA preparation by direct labelling and ligand exchange reaction. *J Radioanal Nucl Letters* 87(5):301-10, 1984
- 52) Hammersley PAG, Cauchi MN, Taylor DM: Uptake of ^{67}Ga in the regenerating rat liver and its relationship to lysosomal enzyme activity. *Cancer Res* 35:1154-8, 1975
- 53) Kojima S, Hana Y, Miyashita K, et al: Uptake of ^{67}Ga in the liver of rats treated with ^{14}CC . *Radioisotopes* 19(1):67-74, 1982
- 54) 홍성운 : 사염화탄소 투여후 백서간세포에서 ^{67}Ga 섭취율과 ^3H -thymidine 결합율 및 단백질대사와의 관계에 관한 연구. 대한핵의학회지 19(1):83-93, 1985
- 55) Brown DH, Byrd BL, Carlton JE, et al: A quantitative study of the subcellular localization of ^{67}Ga . *Cancer Res* 36:956-63, 1976
- 56) Endo K, Ohta H, Hamminaka D, et al: Accumulation of $^{99m}\text{Tc}(V)$ -dimercaptosuccinic acid in the medullary thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 24:p66, 1983
- 57) Goldenberg DM (Ed): Radioimmunodetection of cancer workshop. *Cancer Res* 40:2957-8, 1980
- 58) Hata N, Yokoyama A, Horiuchi K, et al: New $^{99m}\text{Tc}(V)$ -DMSA tumor imaging radiopharmaceuticals with distinctive behavior from renal ^{99m}Tc -DMSA. *J Nucl Med* 24:126-7, 1983
- 59) Hayes R: The interaction of gallium with biological systems. *Int J Nucl Med Biol* 10(4):257-61, 1983
- 60) Jeghers O, Puttemans N, Urbain D, et al: ^{99m}Tc -DMSA uptake by metastatic carcinoma of the prostate. *J Nucl Med* 27:1223-4, 1986
- 61) Larson SM, Brown JP, Wright PW, et al: Imaging of melanoma with ^{131}I -labeled monoclonal antibodies. *J Nucl Med* 24:123-9, 1983
- 62) Mach JP, Carrel S, Forni M, et al: Tumor localization of radiolabeled antibodies against carcinoembryonic antigen in patients with carcinoma. *N Engl J Med* 303:5-10, 1980
- 63) Shields JA, Hagler WS, Federman JL, et al: The significance of the ^{32}P uptake test in the diagnosis of posterior uveal melanomas. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 79:297, 1975
- 64) Vanlic-Razumenic NM, Gorkic DA: Studies of chemical and biological properties of ^{99m}Tc -DMS-renal imaging agent. *Eur J Nucl Med* 1:235-42, 1976
- 65) Vanlic-Razumenic N: Comparative examinations of ^{99m}Tc -DMS preparations obtained by labeling dimercaptosuccinate kits with different formulation.

- I Comparison of chemical and biological characteristics of Tc P-5 and TCK-12 kits. J Nucl Med 19:37-40, 1980*
- 66) Vanlic-Razumenic N, Petrovic J: *Biochemical studies of the renal radiopharmaceutical compound dimercatosuccinate I. subcellular localization of ^{99m}Tc-DMS complex in the rat kidney in vivo. Eur J Nucl Med 6:169-72, 1981*
-