大韓核醫學會誌 : 第25卷 第 2 號 1991

I-131 표지 IgG를 이용한 염증 진단의 실험적 연구

경희대학교 의과대학 내과학교실

김 덕 윤

서울대학교 의과대학 내과학교실

김상은 · 이동수 · 안규리 · 정준기 · 이명철 · 고창순

= **Abstract** =

Experimental Study in Detection of Inflammation with I-131 labeled IgG

Deog-Yoon Kim, M.D.

Department of Internal Medicine, Kyung Hee University, School of Medicine, Seoul, Korea

Sang Eun Kim, M.D., **Dong Su Lee,** M.D., **Curie Ahn,** M.D.
June-Key Chung, M.D., **Myung Chul Lee,** M.D. and **Chang-Soon Koh,** M.D.

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

The purpose of this study is to investigate the ability of I-131 labeled polyclonal human immunoglobulin to localize an infection. In our country, indium-111 labeled leukocyte or Tc-99m labeled IgG are not readily available because of compex, time-consuming procedure and cost. So we tried to localize infection with I-131 labeled IgG which could be easily prepared. Six rats, infected with staphylococcus aureus in a thigh muscle, received I-131 labeled IgG intravenously and I-131 labeled bovine serum albumin (BSA) were injected to other 5 infected rats. Scintigrams were made at 1, 4, 24, 48, 72 hour later. The radiopharmaceutical demonstrated significant accumulation at the site of infection. The accumulation of I-131 labeled IgG at the site of infection was significantly ($P<0.05$) higher than that of I-131 labeled BSA at 48, 72 hour. Similar finding could be found at 24 hour imaging, but it was not significant statistically. Therefore it was found that vascular permeability alone could not account for the mode of action of I-131 labeled IgG and it was considered that specific binding played a role.

In conclusion, focal sites of inflammation can be detected with I-131 labeled nonspecific human polyclonal IgG and it seems that this method can also be applied to localization of human infection.

서 론

염증병소의 진단에 있어 유용한 검사로 알려진 gallium 스캔은 종양에도 침착하는 비특이적인 성격으로 임상적 이용에 많은 제한점이 있는 것으로 알려져 있다. 최근에는 백혈구나 비특이적인 인체면역글로부린(nonspecific polyclonal human immunoglobulin G, 이하 IgG로 약함)에 technetium-99m 이나 indium-111을 표지화한 신티그라피가 염증병소의 진단에 많이 이용되고 있으며 여러 종류의 염증병소를 대상으로 연구한 결과 이들 검사가 염증 병소의 진단에 있어 우수한 성적을 나

본 연구는 1991년 서울대학교병원 임상연구비의 보조로 이루어 짐.

타내는 것으로 보고되고 있다[1-6]. 그러나 technetium -99m에 백혈구나 IgG를 표지하는 것은 기술적으로 쉽지 않고 IgG의 경우에는 최근 kit로 쉽게 사용할 수 있게 개발되었으나 가격이 비싸 그 사용이 제한되어 있으며 indium-111도 가격 및 공급에 있어 국내에서의 사용이 수월하지 않아 쉽게 이용하기가 어려운 실정이다. 따라서 저자등은 쉽게 구할 수 있으며 표지화반응이 비교적 간편하고 경제적인 장점이 있는 I-131을 이용하여 IgG를 표지화하고 염증병소를 유발시킨 실험동물에서 염증병소의 스캔영상을 얻어 이의 분석을 통하여 I-131 표지 IgG 스캔이 염증병소의 진단에 유용하게 이용될 수 있는가를 알아보고자 본 실험적 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상 및 염증병소유발

동물은 무게 200 g 전후의 male Sprague-Dawley rat를 사용하였고 I-131 표지 IgG군 6마리와 I-131 표지 bovine serum albumin(BSA)군 5마리로 나누어 실험하였다. 균주는 포도상구균(staphylococcus aureus)을 nutrient broth agar plate에서 37℃ 조건하에 밤새 배양한 후에 생리식염수로 희석하여 2×10^9 organisms/ml이 되도록 하였다. 포도상구균 0.1 cc를 백서의 우측 대퇴부에 주사하였고 24시간후에 염증 병소를 육안으로 확인하였다.

2. IgG의 I-131 표지반응

IgG는 인체 주사용 감마 글로부린(녹십자)을 사용하였고 chloramine-T 방법을 이용하여 IgG를 I-131에 표지하였다. 즉 IgG 150 μg에 0.5 NaPB 1 μl와 0.05 M phosphate에 녹인 chloramine-T 2.5 μg를 첨가하고 I-131 150 μCi를 가하여 2분간 반응시킨 후 0.05 M phosphate에 녹인 NaTs 2.5 μg을 섞었다. IgG의 I-131표지반응은 실험동물당 100 μg/100 μCi의 비로 시행하였으며 microdialyzer system 500(Pierce, USA)을 이용하여 비결합형태의 iodide를 제거하였다. 표지율은 100 g로 5분간 원심분리한 후 표지된 IgG와 상층액의 방사선양을 각각 측정한 후 다음과 같이 표지율을 계산하였다.

$$\text{표지율}(\%) = \frac{\text{표지 IgG의 방사선양}}{\text{표지 IgG의 방사선양}+\text{상층액의 방사선양}}\times 100$$

3. 스 캔

포도상 구균을 주사한 후 24시간이 지나 꼬리정맥을 통하여 100~150 μCi의 I-131 표지 IgG를 주사하였고 100~125 mg/kg의 ketamin을 복강내 주사하여 마취시킨 후에 1, 4, 24, 48, 72시간의 스캔영상을 얻었다. 스캔은 Pho Gamma III 감마카메라를 이용하여 30,000계수의 전신영상을 얻었으며 pinhole, medium energy collimator를 사용하여 360 KeV photo-peak에서 20% window로 영상을 얻었다.

4. 대조군

I-131 표지 IgG의 염증병소 침착이 조직 투과성에 의해 영향을 받는 정도를 비교하고자 투과성에 의해 분포되는 것으로 알려진 bovine serum albumin(BSA)에 대상군에서와 같은 방법으로 I-131을 표지하여 포도상구균으로 대퇴부에 염증을 유발시킨 백서에 주사하고 I-131 표지 IgG 에서와 마찬가지로 1, 4, 24, 48, 72시간 전신 영상을 얻었다.

5. 분석 방법

스캔영상의 분석은 염증병소가 있는 대퇴부와 반대편의 대퇴부에서 관심영역(region of interest)을 구하여 각각 염증부위의 방사능(target)과 배부방사능(background)으로 정의하였고 다음과 같은 공식에 의하여 분석하였다.

(1) Figure of merit (FOM)
=(target−background)/background

(2) Percent residual activity/lesion (PRA)
$$=\frac{TLC-(BKG*NPL)}{TBC}$$

TLC: total lesion count

BKG: background cts/number of pixels in background

NPL: number of pixels in lesion

TBC: counts in the total body of the animal

통계분석은 student-t test와 Mann-Whitney test를 사용하여 $P<0.05$의 유의수준으로 검정하였다.

결 과

1. 표지율

I-131 표지 IgG의 표지율은 91~96%였으며 I-131 표지 BSA의 경우에도 93~97%의 표지율을 얻었다. 이는 microdialyzer system을 이용하여 30분간 비결합 형태의 I-131을 제거시킨 후 얻은 결과로 microdialyzer system을 이용하지 않는 경우의 표지율은 70~80% 정도였다.

2. 염증 병소의 확인

포도상 구균을 백서의 대퇴부에 주사후 전 예에서 24시간내에 발적과 종창을 육안으로 확인할 수 있었고 1, 4, 24, 48, 72시간 영상에서 염증이 있는 우측 대퇴부가 정상부위와 쉽게 구분되었다(Fig. 1).

3. I-131 표지 IgG영상과 I-131 표지 BSA영상의 비교

1, 4시간영상에서 figure of merit와 percent residual activity는 IgG군과 BSA 군간에 의미 있는 차이가 없었다. 24시간영상에서 IgG군에서 증가되어 있는 경향을 보였으나 통계학적 의미는 없었고, 48, 72시간 지연영상에서는 IgG군의 수치가 BSA군에 비하여 의미있게 증가되어 있어($P<0.05$) IgG군에서 염증병소에 I-131 표지 IgG가 더 특이적인 결합을 하고 있는 것으로 생각되었다(Fig. 2, Fig. 3).

고 찰

염증 병소를 조기에 정확하게 진단하는 것은 환자의 임상적 경과 및 예후에 결정적인 역할을 한다. 초음파 검사나 전산화 단층촬영등의 검사는 해부학적 변화가 나타나기까지 어느정도 시간이 경과되어야만 진단이 가능한 경우가 많아 염증병소의 조기진단이 쉽지않다. 동위

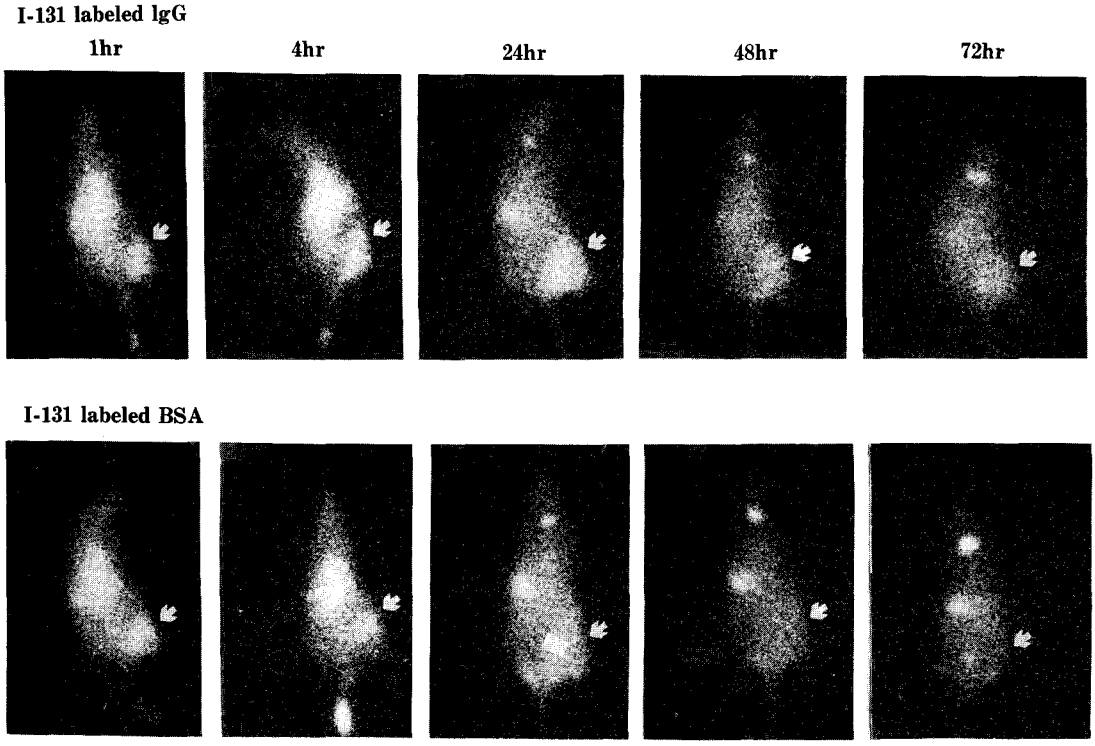

Fig. 1. Gamma camera images of rats with staphylococcus aureus deep thigh infections imaged at 1, 4, 24, 48, 72 hour after injection of I-131 labeled IgG and I-131 labeled BSA.

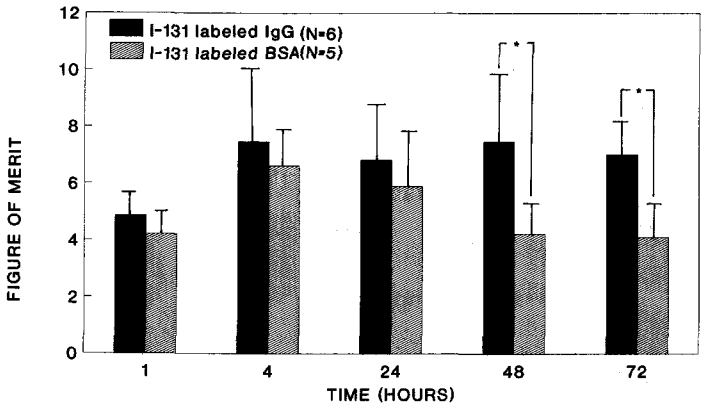

Fig. 2. Figure of merit for rats with staphylococcus aureus deep thigh infections imaged at 1, 4, 24, 48, 72 hr after injection of I-131 labeled IgG and I-131 labeled BSA. ; *P<0.05

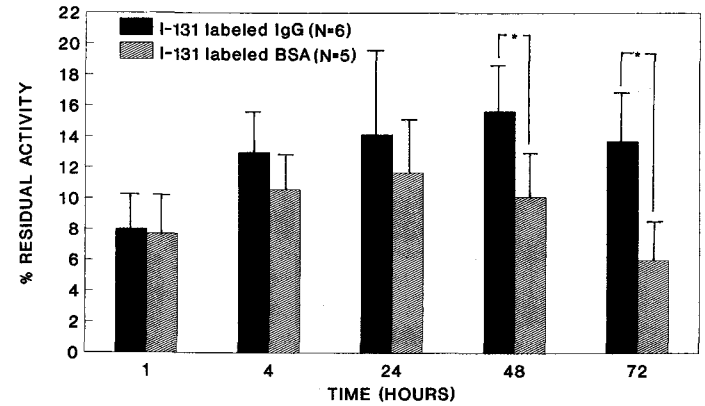

Fig. 3. Percent residual activity for rats with staphylococcus aureus deep thigh infections imaged at 1, 4, 24, 48, 72 hr after injection of I-131 labeled IgG and I-131 labeled BSA. ; *P<0.05

원소표지화합물을 이용한 전신스캔을 이용할 경우에는 염증 병소에 특이적으로 침착하고 염증부위의 조기변화를 반영하며 동시에 전신을 평가할 수 있는 장점이 있으므로 염증병소를 예민하게 진단하는데 도움이 되는 것으로 알려져 있다. 최근까지 염증진단에 많이 이용되어 왔던 ^{67}Ga-citrate는 종양에도 침착되는 비특이성과 검사시간이 오래 걸리는 점등이 단점으로 지적되고 있다. 1976년 Thakur, Segal등[7]이 indium-111로 표지한 백혈구를 이용하여 심부농양스캔에 성공한 후에 임상적으로 널리 이용되고 있으며[8,9,10], 최근에는 Tc-99m HMPAO표지백혈구를 이용한 염증진단도 많이 이용되고 있다[11,12,13]. 그러나, 동위원소표지 백혈구를 이용한 스캔은 표지반응이 복잡하고 많은 시간이 걸리며, 환자의 혈액을 채취해야 하는 불편함과 백혈구 감소증환자에서는 적용하기 어려운 단점이 있어 사용에 많은 제약이 되어왔다[1].

1987년, Rubin과 Fischman등[1]은 IgG에 I-123과 Indium-111을 표지하여 동물모델에서 염증병소를 스캔으로 쉽게 감별할 수 있음을 보고하였다. 최근에는 Tc-99m 표지 IgG를 이용한 염증스캔도 시행되고 있는데 이 방법은 동위원소표지백혈구스캔과는 달리 환자의 혈액을 채취해야하는 번거로움이 없고 백혈구감소증환자에서도 사용할 수 있으며[6] 표지반응도 비교적 간단하여 짧은 시간내에 시행할수 있는 장점이 있으므로 염증병소

진단에 점차 그 이용이 증가되고 있다. 또한, 항생제치료나 균종에 큰 영향을 받지 않고[6] 비세균성 염증도 진단이 가능하며[14] 인체단백질이므로 antigranulocyte monoclonal antibody에서 관찰될 수 있는 HAMA(human anti-mouse antibody)반응을 피할 수 있는 것으로 보고되었다[15,16,17]. IgG를 이용한 염증 스캔은 병원균의 항원에 대한 단세포군항체(monoclonal antibody)를 이용한 특이면역영상(specific immune imaging)과 본 연구에서 시행한 비특이적인 IgG스캔과 같은 일반적인 영상(generic imaging)으로 나눌 수 있으며[2] 특이면역영상의 예로는 pseudomonas type I specific polysaccharide에 대한 특이항체에 동위원소를 표지화하여 pseudomonas감염을 스캔상에서 확인하는 것을 들 수 있다[18]. 이와 같이 특정 병원균에 의한 감염을 특이항체에 대한 동위원소표지항원을 통하여 스캔상으로 확인할 수 있음이 증명되었으나 실제적인 면에 있어서는 염증병소의 병원균을 미리 예측해서 이에 대한 항체를 표지해야하고 예상한 병원균에 대한 감염이 아닐 때는 병소를 찾아낼 수 없으므로 일반적인 염증스캔으로 사용될 수 없다. 따라서 염증병소의 진단에는 이들 병소에서 일반적으로 관찰되는 공통적인 항원에 대한 항체에 동위원소를 표지화하여 이용하는 것이 여러가지 염증병소를 진단하는데 효율적인 것으로 생각되고 이런 목적에 IgG스캔이 적합한 것으로 알려졌다[2]. IgG를 표지하는 동위원소로는 indium과 Tc-99m이 주로 사용되는데 이들은 가격 및 공급에 있어 국내에서의 사용이 수월하지 않아 본 연구에서는 경제적이며 표지반응이 간단한 I-131을 사용하였다. 백서의 우측 대퇴부에 유발된 염증부위는 I-131 표지 IgG를 투여 1시간후부터 주위조직과 구분되었고 지연영상에서도 지속적으로 관찰되어 염증스캔으로 이용이 가능함을 알 수 있었다. 염증병소의 동위원소 침착을 평가함에 있어 figure of merit와 percent residual activity를 이용하였으며 전자의 수치가 높을수록 스캔영상에서 병소를 쉽게 찾아 낼 수 있음을 나타내고 후자는 전신에서 병소가 차지하는 동위원소침착의 정도를 나타내고자 하였다. 투과성의 변화에 의해서만 영향을 받는 I-131 표지 BSA의 경우에는 I-131 표지 IgG의 경우에 비하여 염증 병소에서의 상대적 농도가 48, 72시간 이후에는 의미있게 감소하여 I-131 표지 IgG가 I-131 표지 BSA에 비하여 염증 병소에 특이적으로 결합하고 있음을 시사하였다. 투과성에 의한 염증병소의 동위원소농도차이를 평가함에 있어 분자량 16,000 D의 IgG와 분자량 69,000 D의 BSA를 비교하면 분자량이 적은 BSA이 쉽게 투과되기 때문에 엄밀한 의미에서 동일한 조건하의 투과성비교가 되지 못하므로 본 연구에서 24시간까지 두 군간에 의미있는 차이가 없었던 원인으로 생각할 수 있었으며 이런 차이점을 극복하기 위해서는 알부민중합체를 사용하는 것이 도움이 될 것으로 생각되었다[6]. 본 연구의 결과는 Rubin등[2]이 indium-111 표지 IgG와 Tc-99m 표지 human serum albumin을 비교하여 indium-111 표지 IgG가 염증병소에 더 많이 남아있음을 보고한 것과 일치하는 소견으로 IgG스캔의 염증병소에 대한 친화력을 잘 나타내주고 있다.

동위원소로 표지된 IgG가 염증병소에 침착하는 기전은 현재까지 완전하게 밝혀져 있지 않으나 다음과 같은 기전등이 관여할 것으로 생각되고 있다. 첫째로 염증부위의 혈관 투과성이 관여하고[2,19], 둘째로 염증병소에 모여 있는 대식세포의 Fc 수용체에 IgG의 Fc부위가 결합하는 것이 증명되었으며[1,2,18,20], 셋째로 혈액중의 대식세포에 IgG가 결합하는 것도 연관이 있는 것으로 알려져 있다[18,21]. 네째로 최근 보고에 의하면 염증병소의 병원체에 직접 IgG가 결합하는 것이 알려져 있고 그 한 예로 포도상 구균에서 세포막 표면의 단백질A에 IgG의 Fc부위가 결합하는 것을 들 수 있다[6,22]. Fischman 등[23]은 indium-111로 표지된 IgG와 Fc fragment가 염증병소를 잘 나타내고 있음에 비하여 Fab fragment를 이용한 경우에는 염증병소를 잘 반영하지 못하는 것으로 보아 Fc부위가 IgG스캔에 중요한 역할을 하고 있음을 보고하였다. 그러나, 염증병소의 IgG 침착은 단순한 투과성의 증가만으로 설명될 수 없고 위의 기전들이 복합적으로 관여할 것으로 생각되고 있다.

I-131 표지 IgG스캔은 비교적 쉽게 이용할 수 있는 장점과 함께 염증부위를 잘 반영하는 것으로 생각되고 앞으로 그 임상적 이용이 기대된다.

결 론

염증병소의 진단에 I-131 표지 IgG가 도움이 되는지 알아보고자 대퇴부에 염증을 유발시킨 백서에 I-131 표지 IgG를 주사한 후 염증병소의 신티그라피를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. I-131 표지 IgG 투여후 1시간 영상부터 염증부위로 가는 IgG의 양이 증가되어 있

었고 시간이 경과함에 따라 배부방사능의 감소로 주위조직과 더 쉽게 구분할 수 있었다. 48, 72시간 영상에서 투과성에 의해 영향을 받는 I-131 표지 BSA군에 비하여 IgG군에서 의미있게 염증병소의 침착이 증가되어 있어 ($P<0.05$) I-131 표지 IgG가 염증부위에 침착하는 것은 투과성뿐만 아니라 염증병소와의 특이적인 결합과 관련이 있음을 시사하였다.

이상의 결과로 I-131 표지 IgG스캔은 비교적 간편하고 쉽게 이용이 가능하면서도 염증부위를 잘 반영할 것으로 생각되고 인체에서의 염증병소를 진단하는데도 이용될 수 있을 것으로 기대되며 향후 임상적 유용성에 대한 평가가 요망된다.

REFERENCES

1) Fischman AJ, Rubin RH, Khaw BA, Callahan RJ, Wilkinson R, Keech F, Nelelman M, Dragotakes S, Kramer PB, LaMuraglia GM: *Detection of acute inflammation with ^{111}In-labeled nonspecific polyclonal IgG. Semin Nucl Med 18:335-344, 1988*

2) Rubin RH, Fischman AJ, Needleman M, Wilkinson R, Callahan RJ, Khaw BA, Hansen WP, Kramer PB, Strauss HW: *Radiolabeled, nonspecific, polyclonal human immunoglobulin in the detection of focal inflammation by scintigraphy: comparison with gallium-67 citrate and technetium-99m-labeled albumin. J Nucl Med 30:385-389, 1989*

3) Oyen WJG, Claessens RAMJ, van Horn JR, van der Meer JWM, Corsens FHM: *Scintigraphic detection of bone and joint infections with indium-111-labeled nonspecific polyclonal human immunoglobulin G. J Nucl Med 31:403-412, 1990*

4) Blok D, van Ogtrop M, Arndt Jw, Camps JAJ, Feitsma RIJ, Goedemans W, Pauwels EKJ: *Detection of inflammatory lesions with radiolabelled immunoglobulins. Eur J Nucl Med 16: 649-655, 1990*

5) Buscombe JR, Lui D, Ensing G, de Jong R, Ell PJ: *^{99m}Tc-human immunoglobulin (HIG)-first results of a new agent for the localization of infection and inflammation. Eur J Nucl Med 16: 649-655, 1990*

6) Calame W, Feitsma RIJ, Ensing GJ, Goedemans WT, Camps JAJ, van Furth R, Pauwels EKJ: *Detection of a local staphylococcal infection in mice with ^{99m}Tc-labeled polyclonal human immunoglobulin. J Nucl Med 32:468-474, 1991*

7) Segal AW, Thakur ML, Arnot RN, Lavender JP: *Indium-111-labeled leukocytes for localization of abcesses. Lancet 2:105, 1976*

8) Peters MA, Saverrymuttu SH, Reavy HJ, Danpure HJ, Osman S, Lavender PJ: *Imaging of inflammation with indium-111 tropolonate labeled leukocytes. J Nucl Med 024:39-44, 1983*

9) 김병태, 이동수, 이경수, 최형식, 김명준, 양승오, 이재훈, 최창순, 김택규, 정준기, 이명철 , 고창순 : 복부농양진단을 위한 *Indium-111* 표지백혈구스캔. 대한핵의학회지 *24 (1):37-48, 1990*

10) Schmidt KG, Rasmussen JW, Frederiksen PB, Jensen CK, Pedersen NT: *Indium-111-granulocyte scintigraphy in brain abscess diagnosis: limitations and pitfalls. J Nucl Med 31:1121-1127, 1990*

11) Peters AM, Osman S, Henderson BL, Kelly JD, Danpure HJ, Hawker RJ, Hodgson HJ, Neirnckx RD, Lavender JP: *Clinical experience with ^{99m}Tc-hexamethylpropyleneamineoxime for labelling leucocytes and imaging inflammation. Lancet: 946-949, 1986*

12) Vorne M, Soini I, Lantto T, Paakkinen S: *Technetium-99m-HM-PAO-labeled leukocytes in detection of inflammatory lesions: comparison with gallium-67-citrate. J Nucl Med 30:1332-1336, 1989*

13) Roddie ME, Peters MA, Danpore HJ: *Inflammation: imaging with Tc-99m HMPAO-labeled leukocytes. Radiology 166:767-772, 1988*

14) Lubbe Van der PAHM, Arndt JW, Calame W, Ferreira TC, Pauwels EKJ, Breedveld FC: *Measurement of synovial inflammation in rheumatoid arthritits with technetium-99m labelled polyclonal immunoglobulin G. Eur J Nucl Med 18:119-123, 1991*

15) Bosslet K, Auerbach B, Hoffken H, Joseph K: *Frequency and relevance of the human anti-mouse immunoglobulin (HAMA) response in immunoscintigraphy. Nucl Med 28:149, 1989*

16) Lind P, Langsteger W, Koltringer P, Dimai HP, Passl R, Eber O: *Immunoscintigraphy of inflammatory processes with a technetium-99m-labeled monoclonal antigranulocyte antibody (MAb BW 250/183). J Nucl Med 31:417-423, 1990*

17) Sciuk J, Brandau W, Vollet B, Stucker R, Erlemann R, Bartenstein P, Peters PE, Schober O:

Comparison of technetium 99m polyclonal human immunoglobulin and technetium 99m monoclonal antibodies for imaging chronic osteomyelitis. Eur J Nucl Med 18:401-407, 1991

18) Rubin RH, Young LS, Hansen WP, Nedelman M, Wilkinson R, Nelles MJ, Callahan R, Khaw BA, Strauss HW: *Specific and nonspecific imaging of localized fisher immunotype 1 pseudomonas aeruginosa infection with radiolabeled monoclonal antibody. J Nucl Med 29:651-656, 1988*

19) Morrel EM, Tompkins RG, Fischman AJ: *Autoradiographic method for quantitation of radiolabeled proteins in tissues using indium-111. J Nucl Med 30:1538-1545, 1989*

20) Fischman Aj, Wilkinson R, Khaw BA, Callahan RJ, Ahmad M, Locke E, Rossif ND, Strauss HW, Rubin RH: *Imaging of localized bacterial infections with radiolabeled non-specific antibody fragments (Abstract). J Nucl Med 29:887, 1988*

21) Jasin HE: *Oxidative cross-linking of immune complexes by human polymorphonuclear leukocytes. J Clin Invest 81:6-15, 1988*

22) Calame W, Feitsma HIJ, Ensing GJ, Arndt JW, Furth RV, Pauwels EKJ: *Binding of ^{99m}Tc-labelled polyclonal human immunoglobulin to bacteria as a mechanism for scintigraphic detection of infection. Eur J Nucl Med 18:396-400, 1991*

23) Fischman AJ, Rubin RH, White JA, Locke E, Wilkinson RA, Nedelman M, Callahan RJ, Khaw BA, Strauss HW: *Localization of Fc and Fab fragments of nonspecific polyclonal IgG at focal sites of inflammation. J Nucl Med 31:1199-1205, 1990*