

동위원소 표지 단세포균항체의 면역반응성과 방사면역계수법의 예민도 : 표지방법 및 비방사능이 미치는 영향

울산대학교 의과대학 서울중앙병원 핵의학과

류진숙 · 문대혁 · 천준홍 · 이명혜

서울대학교 의과대학 생화학교실

정 홍 근

= Abstract =

Immunoreactivity of Radiolabelled Monoclonal Antibody and Sensitivity of Immunoradiometric Assay: Effect of Labelling Method and Specific Activity

Jin-Sook Ryu, M.D., Dae Hyuk Moon, M.D., Jun Hong Cheon, M.D. and Myung Hae Lee, M.D.

Department of Nuclear Medicine, Asan Medical Center, College of Medicine, University of Ulsan, Seoul, Korea

Hong-Keun Chung, Ph.D.

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

When monoclonal antibodies are used in radioimmunoassay or immunoscintigraphic studies, post-labelling immunoreactivity is a critical parameter.

¹²⁵I was incorporated to CEA-79 (anti CEA monoclonal antibody developed in Korea) by chloramine T and iodogen method with variable specific activities from 0.1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ to 100 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$. We used a new method to evaluate the immunoreactivities of modified antibody relative to the unlabelled native antibody from competitive binding assay. The effect of immunoreactivity and specific activity to the sensitivity of radioimmunometric assay was also evaluated.

As a result, chloramine T method was better than iodogen method in radioiodination of CEA-79, because the immunoreactivity of antibody was relatively well reserved and more stable. New competitive binding assay was simple and effective to evaluate the change of immunoreactivity in radiolabelling. Antibody with high immunoreactivity and high specific activity improved the sensitivity of radioimmunometric assay, whereas antibody with high specific activity but low immunoreactivity didn't.

The immunoreactivity and specific activity should be optimized according to the clinical use, and competitive binding method is useful in selection of optimal radiolabelling assay.

Key Words: Monoclonal antibody, Radiolabelling, Immunoreactivity, Specific activity

*본 연구는 아산생명과학 연구소의 연구비 지원에 의해 이루어 졌음.

서 론

현재 의학분야에서는 많은 종류의 단세포군 항체들이 개발되어 방사면역계수법(immunoradiometric assay)에 널리 쓰이고 있으며, 방사면역신티그라피(radioimmunoscintigraphy), 방사면역치료법(radioimmunotherapy)등 그 이용이 점차 증대되고 있다.

국내에서도 이미 방사면역신티그라피가 시도된 바 있는데^{1,2)}, 이렇게 단세포군 항체를 임상에 이용하기 위해서는 단세포군 항체의 면역학적 성질을 평가하고 적절한 항체를 선택하는 것이 중요하다. 즉, 단세포군 항체는 생산, 분리, 정제하는 과정이나 방사성동위원소를 표지하는 과정에서 구조가 변화하거나 손상되어 본래의 특이적으로 항원에 결합하는 성질을 잃어버릴 수도 있기 때문에 면역반응성이 잘 보존된 항체를 선택하는 것이 요구되며, 용도에 적합한 비방사능(specific activity)을 지니면서 항체의 면역반응성을 잘 보존토록 하는 것은 동위원소 표지과정에 있어서 중요한 과제가 된다. 그러나 이제까지 많은 연구에서 다양하게 시도된 면역반응성의 평가방법들은 항원을 함유한 세포를 배양해야 하는 등 어려운 점이 많았고, 따라서 항체의 선택이나 표지방법의 선택은 경험적으로 이루어진 경우가 흔하였다.

본 연구는 국내에서 개발된 항 CEA 단세포군 항체를 chloramine T법과 iodogen법으로 옥소 표지하고, 비교적 간단한 새로운 방법을 고안하여 면역 반응성의 평가를 시도하였으며, 이를 기준으로 본 항체에 적절한 표지방법을 찾자 시행하였다. 표지항체의 비방사능을 변화시키거나 옥소 표지 후 시간이 경과함에 따른 면역 반응성의 변화도 평가하여 표지항체의 안정성을 보았으며, 이 표지항체들로 방사면역계수법을 시행하여 면역 반응성 및 비방사능의 차이가 방사면역계수법에 미치는 효과를 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 재 료

항 CEA 단세포군 항체는 서울대학교 의과대학 생화학교실에서 제조하여 제공받은 것으로 CEA-79를 이용하였다. 세포 결합 검사법으로 면역반응성을 평가하는데 필요한 CEA를 발현하는 대장암 세포는 1984년 서울

대학교 의과대학 암연구소에서 배양되고 있는 SNUC4를 사용하였다. 방사성옥소표지 및 비표지항체의 경쟁 반응을 이용하여 면역반응성을 평가하고, 방사면역계수법을 시행하는 데는 CIS사의 ELSA2-CEA kit를 이용하였다.

2. 항체의 방사성옥소표지

Greenwood 등의³⁾ chloramine T법과 Fracker와 Speckk이⁴⁾ 고안한 iodogen법에 따라 방사성옥소를 표지하였으며, 각각 표지항체의 비방사능이 0.1, 1.0, 10, 100 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 이 되도록 하였다.

3. 표지효율의 측정

옥소표지효율은 85% methanol을 용매로 전개시킨 즉석박층크로마토그라피(instant thin layer chromatography: ITLC)로 구하였다.

4. 방사성옥소 표지 항체의 면역반응성의 측정

1) 세포결합 검사법

정등의⁵⁾ 방법대로 CEA를 발현하는 SNUC4 대장암 세포주를 시험관에 100 μl 당 0.25×10^6 , 0.5×10^6 , 1×10^6 , 2×10^6 , 4×10^6 , 8×10^6 의 농도로 준비하였다. 각각의 시험관에 방사성옥소표지항체를 5 ng/75 μl 씩 가하여 실온에서 1시간 반응시키고 결합분획을 원침분리 후 방사능을 측정하여 세포와의 총결합도(total binding)를 구하였다. 세포와의 비특이결합(non-specific binding)은 5 ng/75 μl 의 표지항체를 첨가후, 방사성동위원소를 표지하지 않은 항체를 25 $\mu\text{g}/25 \mu\text{l}$ 씩 더 첨가하여 반응시킨 시험관의 방사능을 측정하여 얻었다. 항원 세포없이 표지항체만을 첨가한 시험관으로는 총방사능치(total count)를 측정하였고, 각 세포의 항 CEA 항체에 관한 특이결합(specific binding)은 다음 식에서 얻었다.

$$\text{특이결합(B\%)} = \frac{\text{총결합} - \text{비특이결합}}{\text{총방사능치}} \times 100$$

실험결과는 2번씩 반복 시행한 실험치의 평균값으로부터 구하였고 B%를 각 시험관의 세포농도에 관하여 도시하였다. 이를 다시 double inverse plot하여 세포와 결합하는 최대의 B%, 즉 면역반응분획(Immunoreactive fraction: IF)을 산출하였다.

2) 표지, 비표지항체의 경쟁반응을 이용한 표지 항체의 비표지항체에 대한 상대적인 면역반응성의 측정

방사성동위원소를 표지함으로써 항체의 면역반응성이 감소하면, 일정량의 항원에 표지항체와 비표지항체를 경쟁적으로 반응시킬때 표지항체의 결합비율은 상대적으로 감소하게 된다. 이 원리로 방사성동위원소 표지시에 생기는 항체의 면역 반응성의 변화를 보다 간편히 파악하기 위해서, CEA항원을 검출하기 위해 상품화되어 있는 방사면역계수법 kit를 이용하였다. 즉, 고형상에 결합한 일정량의 항원에 표지항체와 비표지항체를 여러 비율로 혼합물을 만들어 첨가하고 경쟁적으로 반응하게 하였다. ¹²⁵I-CEA 79항체와 비표지 CEA-79항체의 혼합비율을 100 : 0, 95 : 5, 85 : 15, 70 : 30, 50 : 50, 30 : 70, 15 : 85, 5 : 95로 변화시키고, 혼합항체의 농도는 1.5 μCi/ml로 일정하게 만들었다. ELSA 2-CEA kit의 1차 항체가 코팅된 시험관에, CEA 농도가 100 ng/ml인 표준용액 100 μl를 넣은 뒤, 위의 혼합항체를 300 μl씩 분주하였다. 45°C에서 3시간 반응시키고 2차례 세척하여 감마카운터에서 시험관의 총결합 방사능 (total binding)을 측정하였다. 0 ng/ml의 표준 시약을 사용하여 같은 실험을 하여 각 혼합비율에서의 비특이 결합(nonspecific binding)을 구하고, 총결합 방사능에서 비특이 결합을 뺀 값을 혼합 비율에서의 특이 결합 (specific binding)으로 보았다. 모든 실험값은 2번 반복 시행한 실험치의 평균값을 취하였다.

5. 시간에 따른 표지항체의 안정성 평가

표지방법 및 비방사능을 다르게 표지한 항체들을 표지 후 3주와 6주가 경과한 뒤 위에서 기술한 4. 2)의 방법대로 다시 면역반응성을 평가하여 안정성을 비교하였다.

6. 표지항체를 이용한 방사면역계수법의 시행

ELSA-CEA kit에 포함된 2차 항체 대신, 본 실험에서 표지한 비방사능 및 면역반응성에 차이가 있는 항체들을 2차 항체들로 사용하여 방사면역계수법을 구성하고, 표준곡선을 얻어서 비교하였다.

7. 표지항체를 이용한 면역계수법의 민감도 (Sensitivity) 비교

방사면역계수법의 민감도를 측정 가능한 최소농도로

정의하고, 0 ng/ml의 표준용액을 10번 반복측정하여 cpm의 평균과 표준편차를 구한 뒤, 평균 cpm으로부터 표준편차의 2배에 해당하는 cpm을 갖는 CEA 농도를 측정가능한 최소농도로 보았다. 이를 보기 위해 CEA 농도가 1.0 ng/ml, 0.5 ng/ml, 0.25 ng/ml, 0.125 ng/ml가 되도록 희석한 뒤 2번씩 반복측정하여 평균 cpm을 구하였다.

결 과

1. 표지효율

ITLC로 측정된 항체의 옥소표지효율은 모두 우수하였으며 그 결과는 Table 1과 같았다.

2. 방사성 옥소 표지항체의 면역반응성의 측정

1) 세포결합 검사법

Fig. 1에 나타난 바와 같이 iodogen법으로 비방사능을 100 μCi/μg으로 표지하였을 때, 면역반응분획 (immunoreactive fraction: IF) 13.0%로 특히 낮게 나타났다. 나머지 경우에는 표지방법이나 비방사능이 0.1 μCi/μg으로 부터 100 μCi/μg에 이르기까지 다르더라도 면역반응분획은 큰 차이가 없었다. 그러나, 면역반응분획은 25~30%로 전반적으로 낮았다.

2) 표지항체의 비표지항체에 대한 상대적인 면역 반응성

각기 혼합비율을 다르게 했을때의 특이결합 방사능치를 표지항체 비율이 100%일 때의 특이결합 방사능치에 대한 백분율로 나타내어 y 값으로 취하고, 혼합항체 중

Table 1. Labelling Efficiency by ITLC

Method	Specific activity (μCi/μg)	Labelling efficiency (%)
Chloramine T	0.1	89
	1.0	97
	10	95
	100	99
Iodogen	0.1	85
	1.0	97
	10	99
	100	90

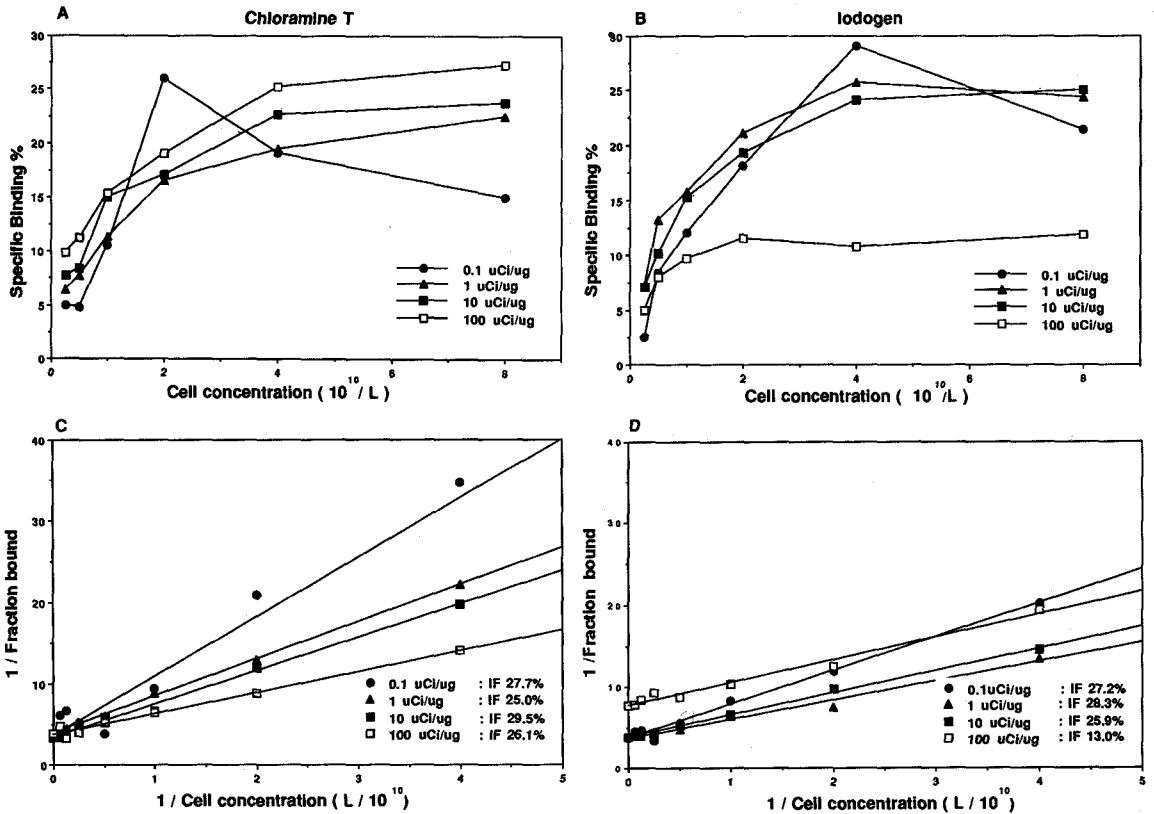


Fig 1. Cell binding assay of ¹²⁵I CEA-79 monoclonal antibody with SNUC4 colon cancer cell
A; chloramine T method, B; iodogen method, C and D; double inverse plot of A and B. (IF: immunoreactive fraction)

비표지항체의 비율을 x 값으로 취하여 도시하면, Fig. 2의 A, B와 같았다. 여기서 표지항체와 비표지항체의 면역반응성이 같다면, 이론적으로 y 축값 100%, x 축값 100%를 지나는 직선(Fig. 2의 점선)을 그리게 되는데, 실험적으로 구한 값이 곡선을 그리면서 왼쪽으로 치우치게 되면 표지항체의 면역반응성의 감소가 많이 일어나서 상대적인 결합률이 감소한 것으로 볼 수 있다. 즉, chloramine T법으로 표지한 경우는 모두 점선에 근접해 있었으나, iodogen법으로 표지한 경우는 비방사능이 10 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 일 때 왼쪽으로 치우친 곡선으로 나타났으며, 100 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 일 때는 오히려 특이결합보다 비특이결합이 더 높게 측정되어 도시하지 못할 정도로 표지항체의 결합이 적었다.

이 도표에서 면역반응성의 변화를 정량적으로 더 비교하기 쉽게 하기 위하여 다시 y 값을 logit로 ($\text{logit} = \log \frac{y}{100-y}$) 변환하고, 표지/비표지 항체 비율로 표시한 x

값을 log로 변환하여 곡선을 모두 직선화시켰다. (Fig. 2의 C, D) 각 실험치로부터 구한 직선의 회귀방정식에서 특이결합이 50%일 때의 x 값을 구하고(즉, $y = ax + b$ 에서, $y = \text{logit } 50 = 0$ 일 때 $x = -\frac{b}{a}$) 이를 면역반응성의 지표(immunoreactivity index: IR)로 삼아서 각 표지항체의 비표지항체에 대한 상대적 면역반응성을 구하였다.

그 결과 chloramine T법을 사용한 경우에는 IR은 모두 0.5이상으로 유지되어 있었으나, iodogen법으로 표지한 경우에는 비방사능이 높아질수록 IR이 감소하였고, 비방사능이 10 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 인 경우 IR은 0.3으로, 100 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 인 경우는 이보다 더 심하게 감소된 것을 알 수 있었다.

3. 시간에 따른 표지항체의 면역반응성의 변화

표지 후 1주 이내와 3주 6주가 경과한 후 일부항체의

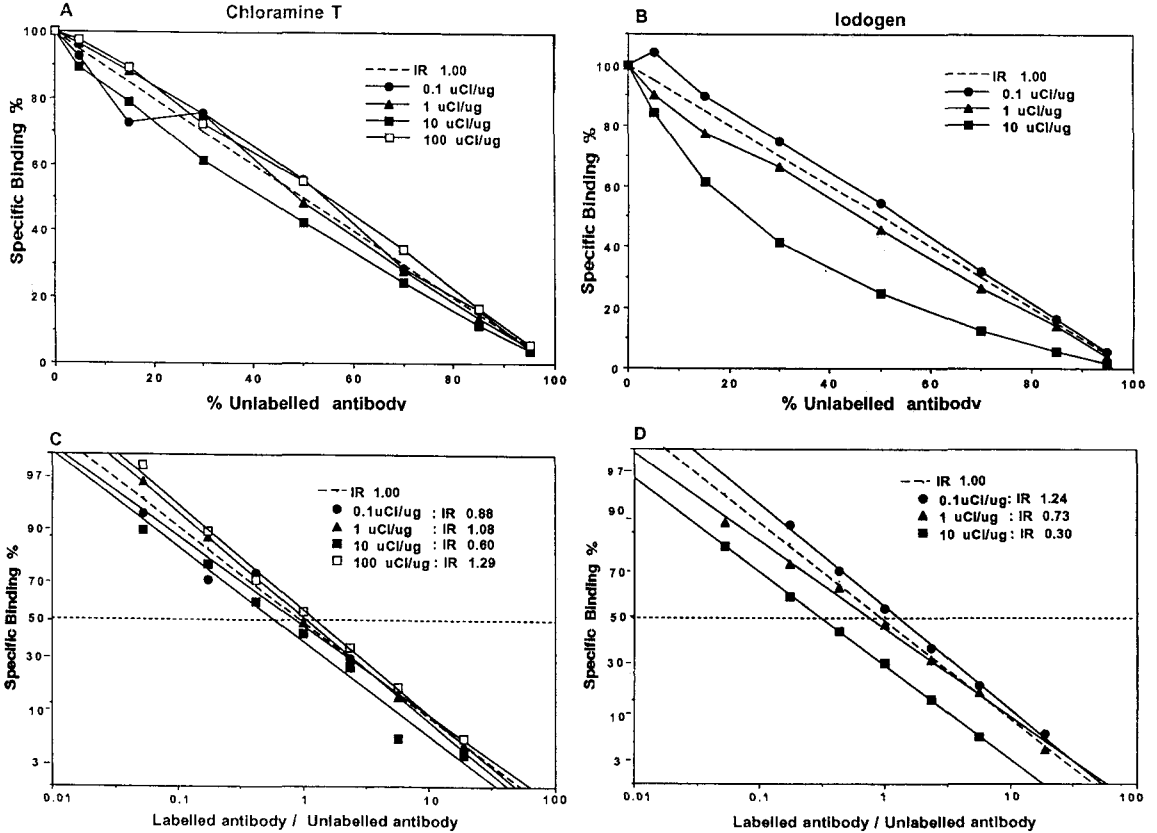


Fig 2. Competitive binding assay with mixture of ¹²⁵I-labelled and unlabelled CEA-79 antibody. A; chloramine T method, B; iodogen method, C and D; logit-log transformation of A and B. (IR: Immunoreactivity index)

면역반응성을 반복검사한 결과는 Fig. 3과 같았다. 도표에서 보듯이 비방사능이 1.0 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 인 경우 chloramine T법과 iodogen법 모두 면역반응성은 시간에 따른 변화가 적었다. 그러나 비방사능이 10 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 인 경우는 iodogen법으로 표지하였을 때, 시간이 경과함에 따라 현저한 면역반응성의 감소가 발생하였다. 즉, iodogen법으로 비방사능이 10 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 이 되게 표지하였을 때는 표지 직후 면역반응성의 감소가 발생할 뿐만 아니라, 불안정하여 시간에 따른 변화도 심하였다. 따라서, CEA-79 항체에 있어서는 iodogen법보다는 chloramine T법이 더 안정된 표지방법임을 알 수 있었다.

4. 표지항체를 이용한 방사면역계수법의 시행

본 실험에서 표지한 서로 다른 성질을 가진 표지항체를 2차 항체로 하여 방사면역계수법을 구성하고 표준곡선을 얻었을 때, 표지항체 중 비방사능이 0.1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 인

경우는 CEA의 농도와 cpm 사이에 직선성을 보이지 않았으며, 나머지 경우는 직선관계가 성립하는 상관성을 나타내었다.

5. 표지항체를 이용한 방사면역계수법의 민감도 비교

Table 2에 나타낸 것과 같이 chloramine T법으로 표지하여 면역반응성이 거의 동일했던 경우는 비방사능이 높을 때 민감도가 높았으나, iodogen법으로 표지하였을 때와 같이 비방사능이 높아짐에 따라 면역반응성이 감소된 경우에는 비방사능이 높아도 오히려 민감도는 낮았다.

고 찰

핵의학 분야에서 단세포항체의 이용이 증대되고,

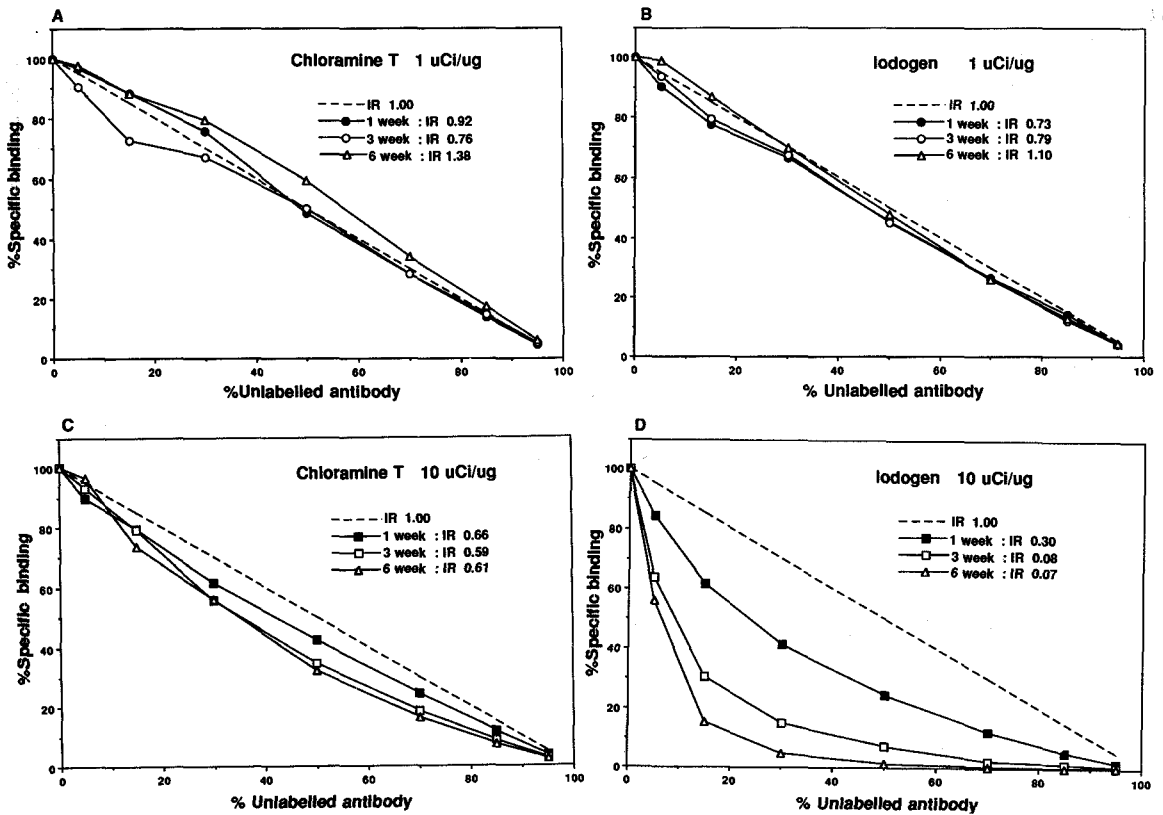


Fig 3. Repeated measurement of immunoreactivity by competitive binding assay at 1, 3 and 6 weeks after radioiodination.

Table 2. Comparison of Minimal Detectable Concentration of CEA in Radioimmunoassay

Specific activity ($\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$)	Chloramine T			Iodogen		
	1.0	10	100	1.0	10	100
Zero standard (cpm)	50.7	142.9	1119.4	25.1	172.2	1224.6
Mean of 10 replicate						
S.D (cpm)	4.9	12.9	100.2	2.5	27.3	137.1
Mean \pm 2SD (cpm)	60.5	168.7	1319.8	30.1	226.8	1498.8
CEA						
0.125 ng/ml (cpm)	53	95	1450	29	177	1351
0.25 ng/ml (cpm)	59	221	1810	32	188	1289
0.5 ng/ml (cpm)	72	301	2435	42	219	1336
1 ng/ml (cpm)	98	449	3785	64	273	1272
Minimal detectable concentration (ng/ml)	0.5	< 0.125	< 0.125	0.25	1.0	> 1.0

특히 최근 암세포에 대한 단세포군 항체를 이용한 방사면역신티그래피를 시행하여 대장암등의 진단에 사용하고자하는 연구가 활발해지면서 방사성동위원소표지 단세포군 항체의 면역학적 성질이 병변의 국소화에 중요한 요소로 인식되었고, 여러 연구에서 표지항체의 면역반응성을 측정함으로써 적정 항체를 선택해야 한다고 보고하였다⁶⁻⁸⁾.

그러나 항체의 면역반응성을 측정하는 방법은 매우 다양하게 시도되고 있으며⁹⁻¹³⁾ 여러가지 문제점들이 지적되고 있다. 면역반응성의 측정법으로는 Lindmo등⁹⁾이 처음 제안한 세포결합 검사법이나 이 방법의 변형으로 면역반응분획을 구하는 방법이 가장 널리 사용되었는데, 이 방법은 세포표면에 항원을 발현할 수 있는 세포를 배양해야하는 번거로움이 있다. Boonkittichoren 등¹⁴⁾은 세포배양을 하여 면역반응성을 검사하는 경우, 측정간 재현성에 영향을 미칠 수 있는 요인들로 검사에 쓰는 세포수, 배양방법등이 있으므로, 여러 조건을 표준화할 필요가 있다고 하였다. 또 표지항체의 면역반응성을 평가하려면 면역반응분획과 함께 항체의 항원에 대한 친화도를 평가해야 한다. 표지과정시 항체의 손상은 두가지 형식으로 일어날 수 있는데, 하나는 전체중의 일부항체가 비활성화되어 항원과 결합하는 성질을 잃어버림으로써 면역반응분획이 줄어드는 경우이고, 다른 하나는 전반적으로 항체가 변형되어 항원에 결합하는 친화도가 약해지는 경우이다. 따라서 세포결합검사법과 더불어 Scatchard 분석을 하여 항체의 친화상수를 구하기 위한 실험을 병행해야 한다. 그리고 이 방법들은 표지를 시행한 최종산물의 면역반응성을 평가할 수 있을 뿐, 항체의 생산과정을 제외한 표지 과정이 면역반응성의 변화에 미치는 영향을 평가하기에는 미흡하다고 여겨진다.

저자들이 표지항체와 비표지항체를 경쟁반응하게 하여 표지항체의 비표지항체 대한 상대적인 면역반응성을 평가하고자 시도한 방법은 Abraham¹²⁾의 방법을 변형한 것으로서 면역반응분획과 친화상수를 직접 구할 수는 없겠으나, 표지과정에서 일어나는 면역반응분획의 변화 및 친화상수의 변화를 총체적으로 반영하여 면역반응성의 변화를 평가할 수 있는 방법이다. 본 실험에서 세포결합 검사법으로 면역반응분획을 구했을 때 iodogen법으로 100 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 의 비방사능으로 표지한 경우 특히 면역반응분획이 낮았으며, 다른 경우에도 전반적으로 면역반응분획이 20~30%로 낮게 측정되어, 정등⁵⁾의 결과

에서 50~60%의 면역반응분획이 얻어졌던 것과는 차이가 심하였다. 이는 표지과정에서 면역반응성의 손상이 컸다고 여겨지기 보다는 주로 항체의 제조, 분리과정에서 순도에 문제가 생겼거나, 세포결합검사 시에 세포배양조건등의 실험조건 차이때문으로 생각된다. 그 이유는 경쟁반응검사법에서는 표지항체와 비표지항체간에 대체로 면역반응성의 차이가 적었기 때문이다. 다만, iodogen법으로 100 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 로 표지시에 세포결합검사법에서 특히 면역반응분획이 낮게 측정된 것은 경쟁반응검사법에서도 IR가 특히 낮았으므로 표지에 의한 면역반응성의 손상이 면역반응분획의 감소요인으로 추가되었을 것으로 여겨진다.

이와같이 경쟁반응검사를 이용하여 표지과정이 항체 손상에 미치는 영향을 쉽게 파악할 수 있었고, CEA-79 항체의 경우는 일반적으로 항체손상이 더 적은 것으로 알려진 iodogen법보다는 오히려 chloramine T법이 더 유리한 표지법임을 알 수 있었다. 또, 경쟁반응검사로 비방사능이 다를 때나, 표지 후 시간이 경과할 대의 면역반응성변화도 비교적 간단하게 파악할 수 있었는데, 이러한 시간에 따른 안정성 평가는 특히 비방사능이 높게 표지된 항체의 유효기간을 정하는데도 큰 도움이 될 것으로 생각된다.

본 연구에서 면역반응성과 비방사능이 방사면역계수법의 민감도에 미치는 영향을 살펴본 결과는 면역방사능의 저하가 없는 경우는 비방사능을 높이어서 민감도가 향상되었으나, 면역반응성이 감소된 경우는 오히려 민감도가 저하되었다. 일반적으로 방사면역측정법은 비방사능이 높을수록 검사의 민감도가 향상되는 것으로 알려져 있으나, 비방사능이 높으면 방사선분해(radiolysis)등이 잘 일어나 항체가 불안정하여 면역반응성의 감소가 일어날 수 있다는 것이 문제로 지적된다. 따라서 향후 국내에서 방사면역측정법을 개발하는데 있어서도 이러한 측면을 고려하여 적정 비방사능을 결정해야 될 것이다. 본 연구는 민감도 측면에서만 보았으나 검사의 특이도 등 다른 측면도 항체의 면역반응성이 영향을 미칠 것으로 생각된다.

또한 우수한 면역반응성을 가진 항체의 중요성은 무엇보다도 방사면역검출법의 효율을 좌우하는 주요 요건이 된다는 것이다. 표지항체는 대체로 높은 비방사능이 요구되나, 비방사능이 높으면 면역반응성이 감소되므로 방사면역 신티그래피에 있어서도 아직 여러가지 논란의

여지가 있다. 즉, 항체의 비방사능을 높일 경우 면역반응성이 저하되므로 면역반응성을 최대한 유지할 수 있도록 낮은 비방사능으로 표시하는 것이 병변의 대조도를 높여서 효과적으로 국소화할 수 있다는 견해가 있는 반면⁶⁾, 비방사능이 낮으면 병변으로 전달되는 방사능량의 감소가 면역반응성의 감소에 비하여 현저하므로 어느정도 면역반응성을 잃더라도 비방사능을 높여서 표적세포로의 방사능 전달을 높이는 것이 더 국소화에 효과적이라는 견해도 있다¹⁵⁾. 또 비방사능을 높이면 주사해야 되는 항체의 용량을 줄일 수 있으므로 HAMA 등의 부작용을 줄일 수 있는 장점이 있고, 방사면역치료를 위해서도 비방사능이 높은 항체를 소량 투여하는 것이 유리하다는 견해도 제시되고 있다¹⁶⁾. 가장 이상적인 것은 높은 비방사능에 높은 면역반응성을 지니게 하는 것인데, 일부에서는 비방사능을 높게하여 표시한 뒤 다시 HPLC¹⁷⁾나 친화 크로마토그래피(affinity chromatography)를 시행하여¹⁸⁾ 높은 면역반응성을 지니면서도 높은 비방사능을 지닌 항체를 분리하여 선택적으로 사용하는 것이 효과적이라는 보고도 있다.

결론적으로, 향후 방사면역계수법이나 방사면역신티그래피 등에 단세포군 항체를 이용하는데 있어서 면역반응성과 비방사능의 요소를 함께 고려하여 방사성 동위원소 표지를 시행하는 것이 병변의 진단율을 높이고 부작용을 줄이는데 매우 중요하며, 본 실험에서 사용한 간편한 면역반응성의 평가방법은 항체에 따라 적절한 표지방법을 선택하는데 간편하고 유용하게 쓰일 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

핵의학 분야에 사용되는 항체의 적절한 동위원소 표지방법을 선택하는데는 표지항체의 면역반응성을 평가하는 것이 매우 중요한 일이다.

저자 등은 국내에서 개발된 CEA-79 단세포군 항체를 표지방법 및 비방사능을 0.1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 으로부터 100 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 까지 달리하여 ¹²⁵I 표지를 시행한 후 면역반응성을 평가하고, 이 항체에 적절한 표지방법을 찾고자 하였다. 면역반응성의 평가에 있어서는 표지, 비표지 항체의 경쟁반응을 이용하여 표지항체의 비표지항체에 대한 상대적 면역반응성을 평가하는 새로운 방법을 시도해 보았다.

그 결과 CEA-79 항체의 경우, chlormine T법 이 iodogen법보다 우수하였는데, 즉, chloramine T법으로 표시시에는 비방사능을 100 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 까지 높여도 면역반응성이 잘 유지되고 시간경과에 따른 면역반응성의 변화도 적었다. 본 연구에서 시도한 새로운 경쟁반응방법은 동위원소표지에 의한 항체의 면역반응성의 손상을 평가하는데 효과적이었으며, 기존의 세포결합검사법보다 간편하였다. 또 항체의 면역반응성은 비방사능과 함께 방사면역계수법의 민감도에 영향을 미침을 확인할 수 있었다.

따라서 표지항체의 면역반응성과 비방사능은 그 용도에 따라 적정화되어야 할 것이며, 본 연구에서 시도한 경쟁반응방법은 적절한 동위원소 표지 방법을 선택하는데 유용할 것으로 사료된다.

REFERENCES

- 1) 신성해, 문대혁, 이명혜, 이동수, 정준기, 이명철, 고창순: 이종이식된 인체대장암에서 항 태아성암항원 단세포군 항체 IgG 및 F(ab)₂ 분절을 이용한 방사면역검출법. 대한내과학회잡지 40:188-197, 1991
- 2) 궁성수, 김승택, 이복희, 정준기, 이명철, 고창순, 정홍근: 누드마우스에 이식된 인체 대장암 모델에서 주입된 항 CEA 단세포군 항체의 종양내 침적에 관련하는 인자. 대한내과학회잡지 43:577-589, 1992
- 3) Greenwood FC, Hunter WM, Glover JS: The preparation of ¹³¹I-labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem J* 89:114-123, 1963
- 4) Fraker PJ, Speck JC Jr: Protein and cell membrane iodinations with a sparingly soluble chloramide, 1, 3, 4, 6-tetrachloro-3a, 6a-diphrenylglycoluril. *Biochem Biophys Res Commun* 80:849-857, 1978
- 5) 정준기, 이동수, 이명철, 정홍근, 고창순, 홍미경, 최석례, 서일택, 정준호: 국산 항 CEA 항체의 I-131, Tc-99m 표지법 확립 및 면역학적 특성분석. 대한핵의학회지 26:346-354, 1992
- 6) Pimm MV, Baldwin RW: Comparative tumor localization properties of radiolabelled monoclonal antibody preparations of defined immunoreactivities. *Eur J Nucl Med* 13:348-352, 1987
- 7) Yokoyama K, Reynolds JC, Paik CH, Sood VK, Maloney PJ, Larson SM, Reba RC: Immunoreactivity affects the biodistribution and tumor targeting of radiolabeled anti P97 Fab fragment. *J Nucl Med*

- 31:202-210, 1990
- 8) Larson SM: *A tentative biological model for localization of radiolabelled antibody in tumor: the importance of immunoreactivity.* Nucl Med Biol 13:393-399, 1986
 - 9) Lindmo T, Boven E, Fedorko FCJ, Bunn PA: *Determination of immunoreactive fraction of radiolabeled monoclonal antibodies by linear extrapolation to binding at infinite antigen excess.* J Immunol Methods 72:77-89, 1984
 - 10) Matzku S, Kirchgessner H, Dippold WG, Bruggen J: *Immunoreactivity of monoclonal anti-melanoma antibodies in relation to the amount of radioactive iodine substituted to the antibody molecule.* Eur J Nucl Med 11:260-226, 1985
 - 11) Rhodes BA, Buckelew JM, Pant KD, Hinkle GH: *Quality control test for immunoreactivity of radiolabeled antibody.* Biotechniques 8:70-75, 1990
 - 12) Abraham R, Moller D, Gable D, Senter P, Hellstrom I, Hellstrom KE: *The influence of periodate oxidation on monoclonal antibody avidity and immunoreactivity.* J Immunol Methods 1:77-86, 1991
 - 13) Yin Otis, Narula J, Mossiff N, Khaw BA: *Correlation of immunoreactivity and polymer formation to DTPA modification of a monoclonal antibody.* Nucl Med Biol 18:859-86, 1991
 - 14) Boonkitticharoen V, Laohathai K: *Variables influencing cell binding assays for antibody binding kinetics.* Nucl Med Commun 1:70-75, 1993
 - 15) Boonkitticharoen V, Laohathai K: *Analysis immunoradiological properties of radiolabelled monoclonal antibody for tumor localization.* Nucl Med Commun 13:32-38, 1992
 - 16) Mather SJ, Ward BG: *High efficiency iodination of monoclonal antibodies for radiotherapy.* J Nucl Med 28:1034-1036, 1987
 - 17) Temponi M, Pupa S, Ferrone S: *Purification of immunoreactive radiolabeled monoclonal antibodies with antiidiotypic monoclonal antibodies.* J Immunol Methods 126:223-229, 1990