大韓核醫學會誌 : 第 30 卷 第 3 號 1996

Iodine-131-Iodomethyluridine을 이용한 종양세포증식의 영상화에 관한 실험적 연구

원광대학교 의과대학 방사선과학교실
University of Texas, MD Anderson Cancer Center*

민경윤 · 김창근 · 김현정 · 임형근 · 노지영 · 정선관 · 원종진 · 양경문*

= **Abstract** =

Imaging of Tumor Proliferation Using Iodine-131-Iodomethyluridine

Kyung Yoon Min, M.D., **Chang Guhn Kim**, M.D., **Hyun Jeong Kim**, M.D.
Hyung Guhn Lim, M.D., **Ji Young Rho**, M.D., **Seon Kwan Juhng**, M.D.
Jong-Jin Won, M.D. and **David J. Yang**, Ph.D*

*Department of Radiology, Wonkwang University School of Medicine and University of Texas, MD Anderson Cancer Center**

Purpose : Noninvasive imaging of tumor cell proliferation could be helpful in the evaluation of tumor growth potential and could provide an early assessment of treatment response.

Radiolabeled thymidine, uridine and adenosine have been used to evaluate tumor cell proliferation. These nucleoside analogs are incorporated into DNA during proliferation. Iodine-131-Iodomethyluridine, an analog of Iodine-131-Iododeoxyuridine, is also involved in DNA/RNA synthesis. The purpose of this study was to develop Iodine-131-Iodomethylurdine and image tumor proliferation using Iodine-131-Iodomethyluridine.

Materials and Methods : Radiosynthesis of Iodine-131-5-Iodo-2′-O-methyluridine (Iodine-131-Iodomethyluridine) was prepared from 10 mg of 2′-O-methyluridine(Sigma chemical Co., St. Louis, Missouri) and 2.1 mCi(SP. 10Ci/mg) of Iodine-131-labeled sodium iodide in 100 μl of water using iodogen reaction.

Female Fischer 344 rats were inoculated in the thigh area with breast tumor cells (13765 NF, 10^5 cells/rat S.C.). After 14 days, the Iodine-131-Iodomethyluridine 10μCi was injected to three groups of rats(3/group). The percent of injected dose per gram of tissue weight was determined at 0.5-hours, 2-hours, 4-hours, and 24-hours respectively.

Tumor bearing rats after receiving Iodine-131-Iodomethyluridine(50μCi IV) were euthanized at 2 hours after injection. Autoradiography was done using freeze-dried 50 μm coronal section. After injection of Iodine-131- Iodomethyluridine (100μCi/rat, IV) in three breast tumor-bearing rats, planar scintigraphy was taken at 45 minutes, 90 minutes and 24 hours.

Results : Iodine-131-Iodomethyluridine was conveniently synthesized using iodogen reaction.

The biodistribution showed fast blood clearance and the tumor-to-tissue uptake ratios showed that optimal imaging time was at 2 hours postinjection. Autoradiogram and planar scintigram indicated that tumor could be well visualized.

Conclusion : The findings suggest that Iodine-131-Iodomethyluridine, a new radioiodinated nucleoside, has potential use for evaluation of active regions of tumor growth.

Key Words : Iodine-131-Iodomethyluridine, Tumor Imaging, Tumor Proliferation, Nucleoside, Autoradiography

서 론

종양세포의 증식을 비관혈적인 방법으로 영상화 할 수 있다면 종양의 악성도를 평가하는데 도움이 될 수 있고 종양 치료후 그 효과나 변화를 평가하는데도 CT, 또는 MRI에 의한 종양크기의 변화보다 더 초기에 진단 할 수 있을 것이다[1-4]. 종양세포의 증식에 대한 정보는 적절한 치료법을 선택하고 환자를 관리하는데 많은 도움을 줄 수 있다.

이러한 종양세포의 증식을 평가하기 위해서 Fluorine-18-Fluorodeoxyglucose, Fluorine-18-fluoroadenosine 그리고 Carbon-11-Thymidine을 이용한 영상진단이 많이 보고 되고 있다[1, 5-9]. Thymidine은 pyrimidine 뉴클레오시드(nucleoside)의 유사체로서 핵산(DNA)의 구성성분이고 세포증식시 핵산 내로 결합된다. Iododeoxyuridine 또한 thymidine의 유사체로서 세포증식의 S-phase에 DNA내로 결합 된다고 알려져 있다[10, 11].

본 연구는 Iododeoxyuridine 유사체인 131I-5-Iodo-2′-O-methyluridine (이하 Iodine-131-Iodomethyluridine)을 합성하여 종양세포의 증식을 영상화 하고자 시도하였다.

대상 및 방법

1. Iodine-131-5-Iodo-2′-O-methyluridine의 방사합성(Radiosynthesis)

2′-O-methyluridine(Sigma chemical Co., St. Louis, Missouri) 10mg과 2.1mCi의 131I-labeled NaI를 100μl의 증류수와 혼합한 후 iodogen 존재하에 40℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 이 용액을 300μl의 증류수로 희석한 후 0.45μ의 PTFE 필터를 통해 500mg C-18 silica 유리관(column)을 통과시켰다. 유리관을 10ml의 탈염수(deionized water)로 세척 후 1.5ml의 ethanol로 용출하여 1.3mCi(70%)의 최종 산물을 얻었다(Fig. 1). Ethanol을 기화시킨 후 절반은 생물학적 분포(biodistribution) 검사에, 나머지 절반은 자가방사영상(autoradiography)에 사용하였다.

2. 생물학적 분포(Biodistribution)

암컷 쥐(Female Fischer 344 rats)의 대퇴부에 유방암 세포(13765 NF, 10^5 cells/rat S.C.).를 접종한 후 2주 후에 Iodine-131-Iodomethyuridine 10μCi를 14마리의 쥐에 꼬리정맥을 통해 주사하였다. Iodine-131-Iodomethyluridine을 주사한후 30분, 2시간, 4시간, 24시간에 각각 3마리씩 희생시켰다. 각 쥐로부터 종양과 주요 장기를 떼어내어 무게를 측정하고 감

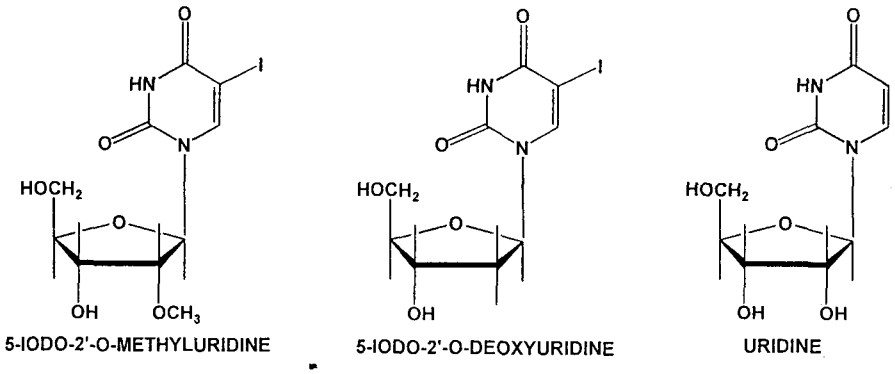

Fig. 1. Uridine analogues.

Table 1. Biodistribution of Iodine-131-Iodomethyluridine in Breast Tumor-Bearing Rats(Percent of Injected Dose/Gram; n=3/Time Interval)

Time	30 min	2 hours	4 hours	24 hours
Blood	0.522±0.0974	0.287±0.0571	0.217±0.0133	0.052±0.0099
Brain	0.038±0.0108	0.013±0.0036	0.017±0.0063	0.005±0.0010
Lung	0.421±0.0632	0.211±0.0469	0.171±0.0243	0.037±0.0065
Heart	0.249±0.0515	0.093±0.0220	0.101±0.0207	0.018±0.0023
Liver	0.568±0.0961	0.211±0.0190	0.176±0.0170	0.054±0.0050
Spleen	0.249±0.0335	0.157±0.0213	0.117±0.0145	0.027±0.0049
Kidney	2.087±1.0230	0.341±0.0615	0.218±0.0327	0.006±0.0079
Muscle	0.161±0.0245	0.045±0.0056	0.040±0.0143	0.001±0.0001
Intestine	0.377±0.1096	0.535±0.5704	0.256±0.1213	0.038±0.0059
Thyroid	20.457±14.774	104.30±87.478	121.43±10.943	435.66±68.034
Tumor	0.359±0.0438	0.268±0.0858	0.171±0.0267	0.040±0.0131
Tumor/Blood	0.693±0.0479	0.938±0.2822	0.719±0.0474	0.762±0.1188
Tumor/Muscle	2.234±0.1215	5.897±1.6990	4.455±0.7902	3.613±1.1927
Tumor/Liver	0.635±0.0455	1.269±0.3994	0.970±0.0832	0.742±0.02719

마 계수기로 방사능을 측정하였다. 조직 1g당 투여 방사능 백분비(Percent of injected dose per gram of tissue weight: %ID/g)를 구하였다.

3. 자가방사영상(Autoradiography)

종양을 지닌 쥐에 Iodine-131-Iodomethyluridine 50μCi를 꼬리 정맥에 주사한 후 2시간에 쥐를 희생시켜 4% carboxymethyl cellulose block에 고정하고 드라이 아이스로 약 2-3시간 동결시켰다. 냉동박절기(Cryomicrotome)를 사용하여 50μm 두께의 관상절편을 얻어 동결건조한후 X-ray 필름(X-OMAT AR, Eastman Kodak Co., Rochester, NY)위에 고정하여 24시간 노출시켰다.

4. 핵의학영상(Planar scintigraphy)

3마리의 쥐에 Iodine-131-Iodomethyluridine 100 μCi를 꼬리 정맥에 주입한후 45분, 90분, 24시간에 평행다공 조준기를 장착한 감마카메라(STARCAM, GE) 영상을 얻어 종양에 섭취되는지를 관찰하였다.

결 과

생물학적 분포 결과는 Table 1과 같다. 종양/근육 방사능 섭취비는 30분에 2.23, 2시간에 5.90, 4시간에 4.46, 24시간에 3.61이었으며 특히 2시간에 5.90으로 가장 높아 영상을 얻는데 좋은 시점이었고 4시간 이후에는 점차 감소하였다(Fig. 2, 3).

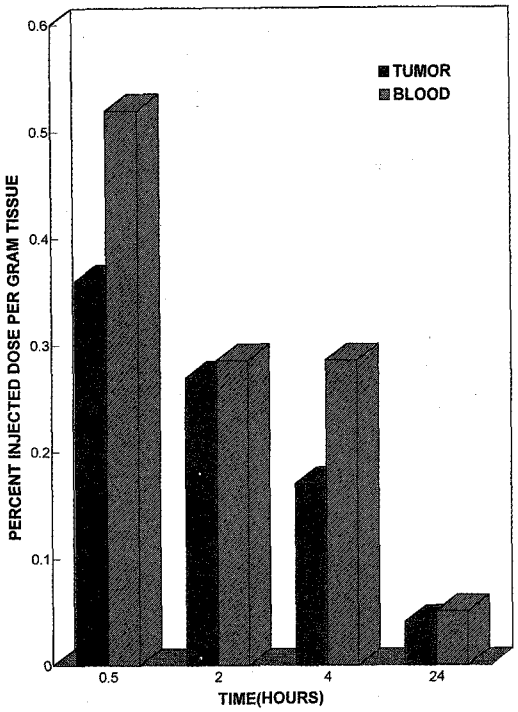

Fig. 2. Biodistribution of Iodine-131-Iodomethyluridine.

혈액의 투여방사능 백분비(%ID/g)는 30분에 0.52,

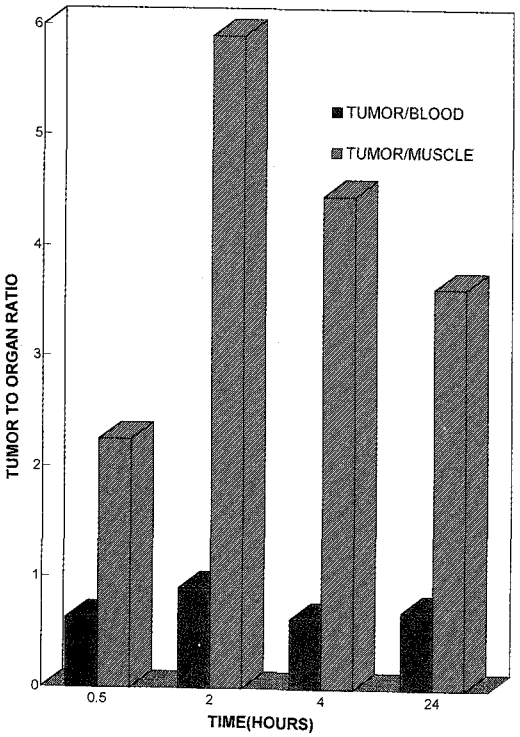

Fig. 3. Tumor to organ uptake ratio of Iodine-131-Iodomethyluridine.

2시간에 0.29, 4시간에 0.22, 24시간에 0.05 %ID/g로 혈중제거가 신속히 이루어졌다.

Iodine-131-Iodomethyluridine을 주사한 후 약 2시간에 얻은 자가방사영상 및 45, 90분, 24시간에 얻은 핵의학영상에서 종양에 방사능이 섭취됨을 관찰 할 수 있었다(Fig. 4, 5).

고 찰

최근 악성종양에 대한 치료가 발전함에 따라 수술, 항암제 및 방사선 치료 후에 종양의 변화에 대한 관심이 고조되고 있다. 즉 치료 후 생존 종양의 유무 또는 재발여부가 치료 후 섬유화와 같은 양성 병변과 감별하기 어렵기 때문이다[12-14]. CT나 MRI를 이용하여, 종양의 체적 감소를 관찰하거나 조영제를 주입한후 조영증강 유무를 관찰하는 방법이 이용되고 있으나 어느 정도 한계가 있다[13, 14]. 종양의 체적 변화는 시간이 걸리고 또 드물게 괴사부위에 출혈이 있을때는 오히려 체적이 증가 할 수도 있어서 대사의 변화 또는 종양세포 증식의 변화를 관찰하는 것이 조기진단을 위해 더 바람직 할 것이다.

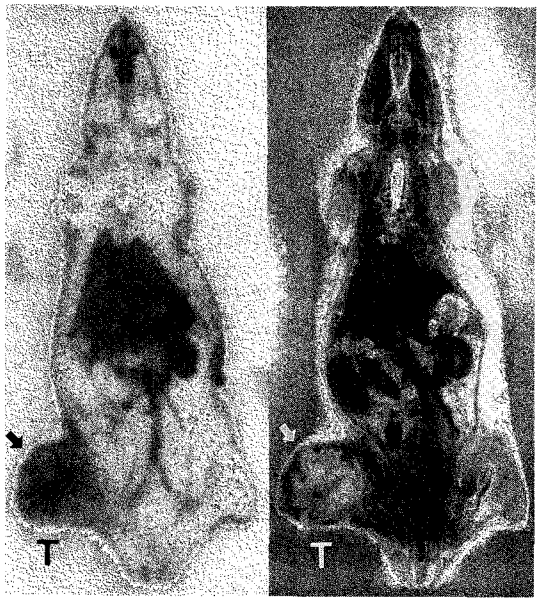

Fig. 4. Autoradiogram(left) of a breast tumor-bearing rat administered with Iodine-131-Iodomethyluridine(50μCi, iv. 2hrs. post injection). The tumor(on the right leg) can be well visualized. Matching photograph on the right.

Fluorine-18-Fluorodeoxyglucose나 thymidine을 이용한 양전자 방출 단층촬영(이하PET)이 이러한 목적으로 최근 많이 이용되고 있고 또한 Kim 등은 18F-Fluorodeoxyadenosine과 18F-Fluoroethyluracil을 이용하여 종양 세포 증식을 관찰 하였다[6-8]. 특히 thymidine 또는 uridine 유사체는 핵산의 구성 성분으로서 세포분열시 합성기(S-phase)에 DNA에 결합되므로 이러한 화합물을 이용하여 종양세포의 증식을 영상화하고자 하는 노력이 이루어지고 있다[3, 11].

그러나 PET 영상진단은 고가이고 아직 널리 보급되지 않아 국내에서는 시행하는데 어려움이 있다. C-11-Thymidine과 PET을 이용하는 방법은 thymidine의 대사가 신속히 이루어지고 방사성 핵종의 반감기가 짧기 때문에 배경방사능이 높아서 좋은 영상을 얻기 어려운 단점이 있다.

F-18-Fluorouridine 역시 반감기가 짧기 때문에 배경방사능이 충분히 제거되지 못하며 유리(dehalogenation)된 Fluorine이 골격에 섭취되는 단점이 있

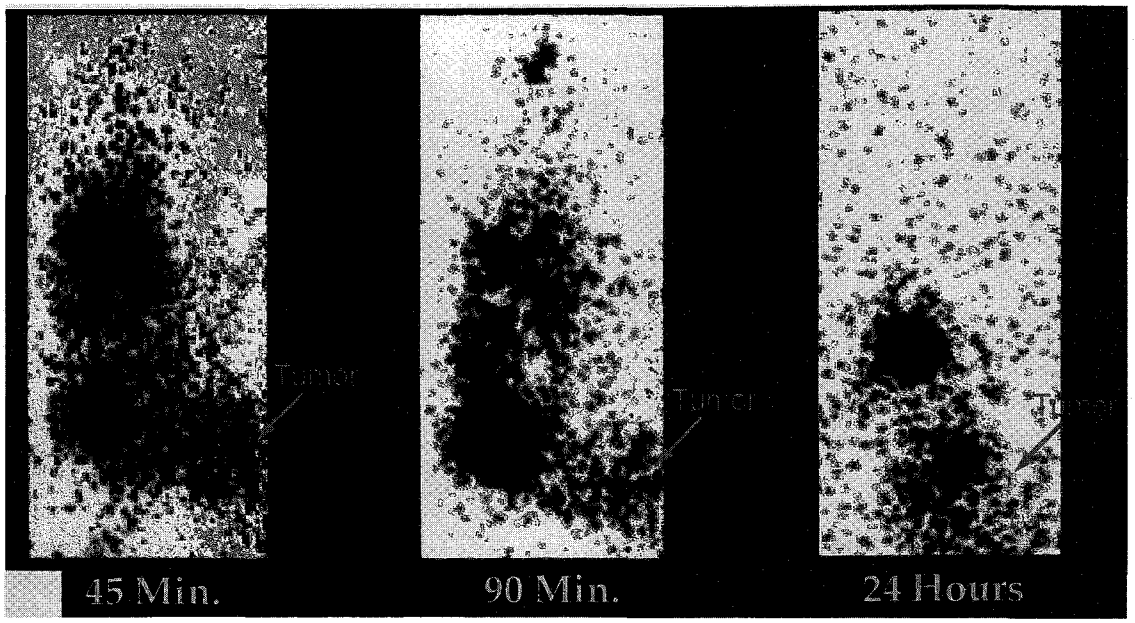

Fig. 5. Planar scintigraphy of Iodine-131-Iodomethyluridine(100μCi/rat, iv.) in three breast tumor-bearing rats. The tumor is located on the right leg.

는데 이는 F-18-Fluorodeoxyadenosine을 이용한 Kim 등의 실험에서도 관찰된바 있다[8].

Tjuvajev 등은 최근 양전자 방출 핵종대신 Iodine-131로 표지한 Iododeoxyuridine을 이용하여 종양 세포의 증식을 영상화하였다[11]. 뇌종양 환자를 대상으로한 연구에서 Iodine-131-Iododeoxyuridine (IUdR)이 종양부위에서 섭취되고, 특히 주사 후 24시간 영상에서 종양주변조직에 섭취가 증가됨을 관찰하였다. 그리고 주사 후 24시간에는 종양의 방사능이 2시간후 영상에 비해 현저하게 감소되었다. 본 연구에서도 주사 후 약2시간에 얻은 자가방사영상이나 핵의학영상에서 종양의 방사능을 잘 관찰 할 수 있었고 종양/근육 방사능 비가 5.90으로 이때가 가장 높았다. 그러나 종양주변부의 방사능 집적소견을 관찰하기는 어려웠다.

Tjuvajev 등의 동물실험과 뇌종양 환자를 대상으로한 보고에 의하면 IUdR 주사후 대사가 신속히 일어나서 약 20분 후에는 혈액방사능의 80%가 Iodine-131- Iodide이고 24시간 이내에 약 70%가 신장을 통해 배설된다고 하였다. 그러므로 주사 1시간 후에 종양세포의 DNA에 결합되는 IUdR은 10% 이하이고 종양방사능의 90% 이상이 Iodine-131-Iodide에 기인한다고 하였다. 그러나 주사 후 24시간에는 종양방사능의 93%가 DNA에 결합된 IUdR이고 혈액방사능의 3-5배라고 하였다. 또한 종양증식을 영상화하는데 24시간 또는 그 이후의 영상이 비록 특이도는 높을 수 있으나 종양방사능이 낮기 때문에(낮은 배경방사능에도 불구하고) 그 예민도는 낮다고 하였다[11, 15].

저자들의 경우 종양방사능은 시간이 지남에 따라 지속적으로 감소하였고 종양/근육 방사능비는 2시간에 5.90으로 가장 높았다가 4시간 이후에는 점차 감소하였는데 특히 24시간에 종양과 혈액의 방사능에 큰 차이가 없는 점이 Tjuvajev의 동물실험결과와 큰 차이가 있었다. 이는 IUdR 주사후 30-60분사이에 DNA와의 결합이 대부분 이루어지고 이후 탈요오드화가 지속적으로 일어나고, 종양세포의 괴사에 의해 IUdR이 분해, 탈요오드화되어 그 결과 24시간 이후에는 거의 혈액풀에 도달하지 않았나 생각된다. 본 연구에서 종양세포 접종 2주 후에 대부분 종양이 2-3cm 직경으로 자랐으며 종양을 절개했을 때 상당수에서 심한 종양의 괴사를 관찰하였기에 Tjuvajev의 보고와는 차이가 있을 수 있다고 생각되나 본 실험에 사용된

Iodine-131-Iodomethyluridine의 in vivo 불안정성에 의한 차이인지를 완전히 배제할 수는 없다고 본다. 추후 대조군 실험을 통해 확인할 필요가 있다고 생각된다.

Iodine-131로 표지한 방사성의약품의 장점은 반감기가 길기 때문에 대사산물인 Iodide가 신장을 통해서 배설되어 배경방사능이 충분히 감소되고 종양/배경방사능 비가 증가 할 뿐 아니라 감마카메라로 영상을 얻을 수 있다는 점이다.

본 연구에 사용된 Iodine-131-Iodomethyluridine은 Iododeoxyuridine의 유사체로서 화학구조상 오탄당의 2′ 위치에 methyl기가 첨가되어 있다. Kawai 등에 의하면 이러한 메틸화(methylation)에 의해 입체형태적 경직(conformational rigidity)을 갖게 되고 정확한 유전암호 인식을 도와준다고 한다[16]. 따라서 종양세포에서의 섭취를 증가 시킬 것이라 기대된다.

Iodine-131-Iodomethyluridine이나 Iododeoxyuridine의 단점은 세포증식이 활발한 정상 세포에도 섭취된다는 점이다[17]. 본 연구에서도 소장의 섭취정도가 다른 장기에 비해 상당히 높은 것도 이에 기인 한 것으로 생각된다(Table 1). 또한 갑상선에서의 섭취는 다른 장기에 비해 압도적으로 많고 또한 지속적으로 증가하는 것으로 보아 생체내에서 탈요오드화가 계속 이루어짐을 강력히 시사한다(Table 1). KI 또는 NaI를 미리 투여함으로써 유리 옥소의 갑상선 섭취를 예방하고, 혈장단백 및 조직의 내인성 요오드화를 감소시킴으로서 방사성 옥소의 신장배설을 항진시킬 수 있을 것이다.

요 약

Iododeoxyuridine의 유사체인 Iodine-131-5-Iodo-2′-O-methyluridine을 합성하여 종양세포의 증식을 영상화하고자 하였다. 2′-O-methyluridine을 이용하여 Iodine-131-Iodomethyluridine을 요오드발생반응(Iodogen reaction)으로 간편하게 합성하였고 이를 이용한 자가방사영상과 핵의학영상에서 종양세포의 증식을 영상화 할 수 있었다.

이상의 결과는 Iodine-131-Iodomethyluridine을 이용하여 종양세포의 증식을 감마카메라로 영상화하여 세포증식이 활발한 생존 종양조직이나 재발을 평가할 수 있는 가능성이 있음을 시사한다.

REFERENCES

1) Kubota K, Ishiwata K, Kubota R, Yamada S, Tada M, Sato T, Ido T: *Tracer feasibility for monitoring tumor radiotherapy: A quadruple tracer study with fluorine-18-fluorodeoxyglucose or fluorine-18-fluorodeoxyuridine, L-[methyl-14C]methionine, [6-3H]thymidine, and gallium-67. J Nucl Med 1991;32:2118-2123*
2) Strauss LG, Conti PS: *The applications of PET in clinical oncology. J Nucl Med 1991;32:623-648*
3) Tjuvajev J, Muraki A, Ginos J, Berk J, Ballon D, Beattie B, Finn R, Biasberg RJ: *Iododeoxyuridine uptake and retention as a measure of tumor growth. J Nucl Med 1993;34:1152-1162*
4) Canellos GP: *Residual mass in lymphoma may not be residual disease. J Clin Oncol 1988; 6:931-933*
5) Okada J, Yoshikawa K, Itami M, Imaseki K, Uno K, Itami J, Kuyama J, Mikata A, Arimuz N: *Positron emission tomography using fluorine-18-fluorodeoxyglucose in malignant lymphoma: A comparison with proliferative activity. J Nucl Med 1992;33:325-329*
6) Okada J, Yoshikawa K, Imaseki K, Minoshima S, Uno K, Itami J, Kuyama J, Maruno H, Arimizu N:. *The use of FDG-PET in the detection and management of malignant lymphoma: correlation of uptake with prognosis. J Nucl Med 1991; 32:686-691*
7) Minn H, Joensuu H, Ahonen A, Klemi P: *Fluorodeoxyglucose imaging a method to assess the proliferative activity of human cancer in vivo. Comparison with DNA flow cytometry in head and neck tumors. Cancer 1988;61:1776-1781*
8) Kim CG, Yang DJ, Kim EE, Cherif A, Kuang LR, Li C, Tansey W, Liu CW, Li SC, Wallace S, Podoloff DA: *Assessment of tumor cell proliferation using [^{18}F]fluorodeoxyadenosine and [^{18}F]fluoroethyluracil. J Pharm Sciences 1996; 85:339-344*
9) Shields AF, Lim K, Grierson J, Link J, Krohn KA: *Utilization of labeled thymidine in DNA synthesis: Studies for PET. J Nucl Med 1990;31:337-342*
10) Poupeye E, Counsell RE, Leenheer AD, Slegers G, Goethals P: *Synthesis of 11C-labelled thymidine for tumor visualization using positron*

emission tomography. Appl. Radiat. Isot. Vol. 40, No. 1, pp 57-61, 1989

11) Tjuvajev JG, Macapinlac HA, Daghighian F, Scott AM, Ginos JZ, Finn RD, Kothari P, Desai R, Zhang J, Beattie B, Graham M, Larson SM, Blasberg RG: *Imaging of brain tumor proliferative activity with iodine-131-iododeoxyuridine. J Nucl Med 1994;35:1407-1417*

12) Kim EE, Chung SK, Haynie TP, Kim CG, Cho BJ, Podoloff DA, Tilbury RS, Yang DJ, Alfred Yung WK, Moser RP, Ajani JA: *Differentiation of residual or recurrent tumors from post-treatment changes with F-18 FDG PET. Radiographics 1992;12:269-279*

13) Dooms GC, Hecht S, Brant-Zawadzki M, Berthiaume Y, Norman D, Newton TH: *Brain radiation lesions: MR imaging. Radiology 1986; 158:149-155*

14) Grabbe E, Winkler R: *Local recurrence after sphincter-saving resection for rectal and rectosigmoid carcinoma: value of various diagnostic methods. Radiology 1985;155:305-310*

15) Tjuvajev J, Muraki A, Berke J, et al.: *Iododeoxyuridine (IUdR) uptake and retention as a measure of tumor growth. Neurology 1992;42: 190-191*

16) Kawai G, Yamamoto Y, Kamimura T, Masegi T, Sekine M, Hata T, Iimori T, Watanabe T, Miyazawa T, Yokoyama S: *Conformational rigidity of specific pyrimidine residues in tRNA arises from posttranscriptional modifications that enhance steric interaction between the base and the 2'-hydroxyl group. Biochemistry 1992;31: 1040-1046*

17) O'Donoghue JA: *Strategies for selective targeting of Auger electron emitters to tumor cells. J Nucl Med 1996;37(suppl):3s-6s*