

$^{99m}\text{Tc-ECD}$ 와 $^{99m}\text{Tc-Sestamibi}$ 의 표지 방법 및 분할 사용(II)

아주대학교 병원 핵의학과 · 임상병리과*

배원규·이광철·전병길·이정임*·유기원*·박찬희

I. 서 론

핵의학검사에 사용되는 $^{99m}\text{Tc-ethyl cysteinat}$ e dimer(ECD)는 표지효율 안정성으로 인해 brain 검사에 많이 사용되는 방사성 의약품이다. $^{99m}\text{Tc-sestamibi}$ (MIBI)는 heart scan을 위해 개발된 방사성 의약품이고, 현재 계속 연구되어 brain tumor scan, scintimammography, tumor marker scan, multidrugresistance(MDR) study 등 사용범위와 사용 양이 핵의학 영상검사에서 점차 많아지는 방사성의약품이다.

그러나 국산이 상품화되어 있지 않고 수입되어 지는 까닭에 많은 비용을 지불하는 입장이다.

본 병원에서는 환자에게 검사비 절감과 예약하지 않고 즉시 검사할 수 있는 도움을 주기 위해서 진공을 이용한 냉동분주법을 1995년 7월에서 1996년 4월까지 실험을 하게 되었다. 그러나 $^{99m}\text{Tc-sestamibi}$ 는 일주일이 지나면 radio chemical purity(RCP) test시 표지효율이 떨어져, 이에 대한 보완으로 불활성가스(N_2 , Ar)를 이용한 가스냉동분주법을 1997년 4월에서 1997년 9월까지 실험하였다.

II. 검사기간 및 대상

진공냉동분주법(VFFM, vacuum fractionation and freezing method)은 1995년 7월 20일부터

1996년 4월까지 ECD, MIBI 합해 총 74 case를 냉동분주실험하고, 임상에 사용하였다. 가스냉동분주법(GFFM, gas fractionation and freezing method)은 불활성가스인 nitrogen gas를 이용하여 ECD 12회, MIBI 28회, argon gas를 이용하여 ECD 13회, MIBI 27회를 실험하였다. $^{99m}\text{Tc-ECD}$ 는 전부 임상에 사용하였으며, $^{99m}\text{Tc-sestamibi}$ 는 분주 일주일 이후부터 임상에 사용하였다.

III. 사용장비 및 기기

- ① Siemens사의 Multispect 3 gamma camera
- ② Siemens사의 Multispect 2 gamma camera
- ③ 제일화학사의 clean bench(model cbw2)
- ④ Biodex사의 atomlab 950 thyroid uptake system
- ⑤ 산천기술사의 water bath
- ⑥ Forma사의 deep freezer(model 8525)
- ⑦ 대우전자의 microwave oven(model kor-661ks)
- ⑧ J. T. Baker사의 silica gel IB-F TLC sheet (ECD용)
J. T. Baker사의 aluminum oxide IB-F TLC sheet(MIBI용)
- ⑨ Whattman사의 No. 1 chromatography paper
Whattman사의 No. 81 silicagel loaded absorbent paper
- ⑩ Beaker, 25gauge 1cc syringe, parafilm, 편셋, 연필, 가위, 자

용매 : acetone, ethyl alcohol, ethyl acetate

- ① Associates of cape cod, Inc.의 PyroTell® (LAL) kit
- ② Millipore사의 Millex-GV13 filter unit(0.22μm filter, 13mm)
- ③ Millipore사의 Millex-FG50 filter unit(0.2μm filter, 50mm)
- ④ Union(국산)사, Medilab Korea사의 bacteria culture용 blood agar plate
- ⑤ Gas용 regulator(harris, model 801, usa)
Nitrogen 의료용 gas(영동, 국산)
Argon 의료용 as(영동, 국산)

IV. 실험방법

진공냉동분주법과 개스냉동분주법은 모든 실험에 radio chemical purity(RCP) test, limulus amebocyte lysate(LAL) test, bacteria culture test를 하여 cold vial의 냉동 보관 분주시 안정성과 표지 효율을 검증하였다.

1) Radio chemical purity test (방사화학 순도 평가법)^{1,2,3)}

^{99m} Tc Kit	용매	지지체
ECD	ethyl acetate	Baker-flex silica gel IB-F TLC
MIBI	ethyl alcohol	Baker-flex aluminum oxide IB-F TLC

(1) TLC을 이용한 ^{99m}Tc-ECD 방사화학적 순도 평가법⁴⁾

- ① Beaker에 fresh한 ethyl acetate를 깊이 3~4mm정도 되게 붓고 parafilm으로 덮는다.
- ② 15~30분간 평형 상태를 이루도록 방치한다.
- ③ TLC sheet의 거칠은 부분에 밑에서 2cm, 4.5cm, 7cm되게 연필로 흠이나지 않게 선을 긋는다(그림 1).
- ④ 25G needle이 부착된 1cc syringe로 ^{99m}Tc-ECD

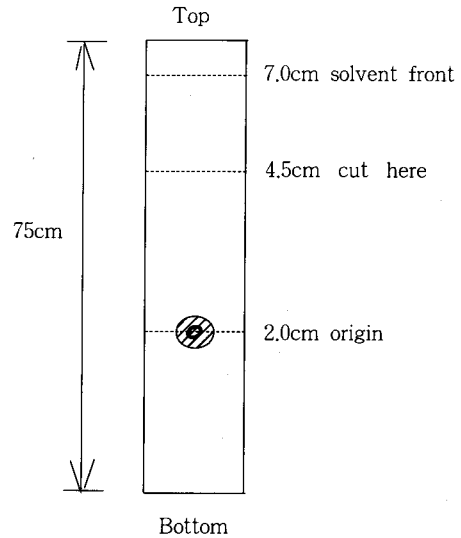


그림 1. ECD TLC plate diagram

를 바닥에서 2cm되는 중앙에 한방울(5μl) 떨어 뜨려 직경이 10mm를 넘지 않게 한다.

- ⑤ TLC 표면을 드라이기로 건조시킨다.
- ⑥ TLC를 beaker에 세우고 parafilm으로 덮은 뒤 전개시킨다(약 15분).
- ⑦ 전개된 TLC를 꺼내 드라이기로 다시 건조시키고 TLC 바닥에서 4.5cm 되는 곳을 잘라 count하여 표지효율을 구한다.

$$\text{표지효율(\%)} = \frac{A}{A+B} \times 100$$

A: 4.5cm 위쪽(top)
B: 4.5cm 아래쪽(bottom)

- ⑧ 표지효율이 90% 이상이어야 임상에서 사용할 수 있으며, 분석장비로는 thyroid uptake system, gamma camera, dose calibrator 등을 사용할 수 있다.

(2) TLC을 이용한 ^{99m}Tc-sestamibi 방사화학적 순도평가법⁵⁾

- ① Beaker에 fresh한 ethyl alcohol(ethanol)을 깊이 3~4mm정도 되게 붓고 beaker를 parafilm으로 덮은 뒤 방치해둔다.
- ② 10~30분간 평형 상태를 이루도록 방치한다.
- ③ TLC sheet의 거칠은 부분에 밑에서 1.5cm, 4.0cm, 6.5cm되게 연필로 흠이나지 않게 선을

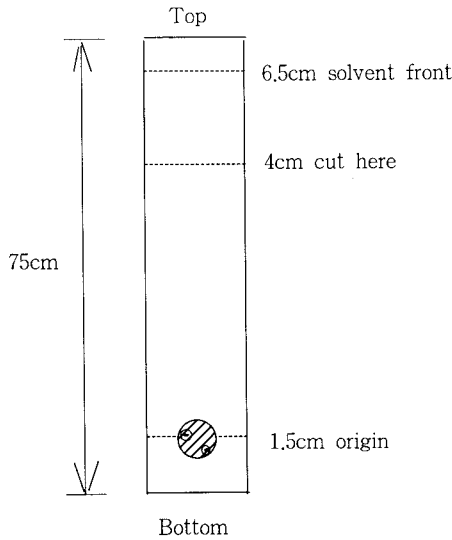


그림 2. MIBI TLC plate diagram

긋는다(그림 2).

- ④ TLC 표면을 전자렌지 또는 헤어드라이기로 건조시킨다
- ⑤ 25G needle이 부착된 1cc syringe로 바닥에서 1.5cm되는 중앙에 ethanol을 한방울 떨어뜨린다.
- ⑥ Ethanol이 마르기 전에 바로 표지된 ^{99m}Tc -MIBI를 21gauge 주사기 needle끝으로 나란히 두 방울을 ethanol 떨어뜨린 위에 떨어뜨린다.
- ⑦ TLC 표면을 전자렌지 또는 헤어드라이기로 건조시킨다.
- ⑧ TLC를 ethanol이 준비된 beaker에 세우고 parafilm으로 덮은 뒤 6.5cm 이상 solvent(ethanol)가 올라올 때까지 전개시킨다(약 15분).
- ⑨ 전개된 TLC를 꺼내 드라이기로 다시 건조시키고, TLC 바닥에서 4cm되는 곳을 잘라 count하여 표지효율을 구한다.

$$\text{표지효율}(\%) = \frac{A}{A+B} \times 100$$

A: 4cm 위쪽(top)

B: 4cm 아래쪽(bottom)

- ⑩ 표지효율이 90% 이상이어야 임상에서 사용할 수 있으며, 분석장비로는 thyroid uptake system, gamma camera, dose calibrator 등을 사용할수 있다.⁶⁾

2) Pyrogen test(발열 검사)¹¹⁾

Pyrogen test는 Associates of cape cod, Inc.의

PyroTell[®](LAL) kit를 사용하였으며 PyroTell tube에 0.2cc 시료 ^{99m}Tc -ECD나 ^{99m}Tc -MIBI를 주입후 10초간 흔든 후, $37^\circ\text{C} \pm 0.1^\circ\text{C}$ water bath에 1시간 incubation시켜서 꺼내어 gel이 형성되어 바닥에 붙어 있으면 양성이고, 양성인 시료를 찾아 다시 positive control tube에 0.2cc 시료를 주입한 후 10초간 흔들고 다시 $37^\circ\text{C} \pm 0.1^\circ\text{C}$ water bath에 1시간 incubation시켜 양성인지를 검증하였다.

3) Bacteria culture test(일반세균배양검사)¹⁾

Bacteria culture test는 임상병리과의 도움을 얻어 blood agar plate(5% sheep cell) 또는 chocolate agar plate에 ^{99m}Tc -ECD나 ^{99m}Tc -MIBI 시료를 심은 후 37°C incubator에 24시간, 48시간, 1주일 배양하여 plate의 변화를 실험하였다.

4) ^{99m}Tc -sestamibi microwave boiling method (전자렌지 가열법)⁷⁾

전자렌지 사양규격

Power output	600 watts
Microwave frequency	2450 MHz
Cavity volume	19 lite
Intensity level	요리·강 10초

전자렌지 가열법

MIBI vial에 $^{99m}\text{TcO}_4$ 3.7GBq~5.5GBq(1~3cc)를 주입한다.

10초간 vial을 흔든다

전자렌지 「요리·강」에서 10초간 가열한다.

15~35°C 상온에서 15분간 식혀서 보관한다.

제조 시간 : 10분 이내 시간

* 4)의 주의사항

전자렌지 안에서 가열시 vial 알루미늄에 styro-foam cap을 씌워 스파크가 생기는 것을 방지한다.

가열시 vial 파손시 방사능 오염방지를 위해 vial을 아크릴(원형, 사각형)로 만든 박스로 싸서 가열시켜도 된다.

V. 냉동 분주법

1) 진공냉동 분주법(VFFM, vacuum fractionation and freezing method)

(1) ECD 진공냉동 분주법(ECD_VFFM)

ECD A vial : Saline 1.5cc를 주입하고 주사기 바늘이 고무 패키징에 끼어 있는 상태에서 몇초간 흔든 후 거꾸로 들어 1cc를 빼내, 즉시 빈 진공 vial 2개에 각 0.5cc씩 분주한다. 각 vial에는 분주한 날짜, 양, ECD A라고 표식한 후, parafilm으로 진공 vial 입구를 완전 밀폐한 후 deep freezer에 급속냉동보관한다.

ECD B vial : 1cc buffer 용액 중 1cc(26G) 주사기로 0.6cc를 빼내 빈 진공 vial 2개에 각 0.3cc씩 나누어 주입하고 parafilm으로 막은 후 분주한 날짜, 양, ECD B라고 표기한 다음 즉시 deep freezer에 급속냉동보관한다.

* 주의사항

- ① 분주하고 남은 ECD A vial 0.5cc와 ECD B 0.3cc를 ^{99m}Tc 와 labelling하여 즉시 사용한다.
- ② 냉동 분주된 것을 사용할 때에는 상온에서 10분간 녹인 후 사용한다.

(2) MIBI 진공냉동 분주법(MIBI_VFFM)

MIBI vial에 1.5cc의 saline을 넣고 몇초간 흔든 후 1cc를 뽑아 진공 vial 2개에 각각 0.5cc를 나누어서 주입하고 parafilm으로 막은 후 MIBI, 양, 날짜 등을 표기한 후 즉시 deep freezer에 급속냉동보관한다.

2) N₂ 개스냉동분주법(N₂GFFM, nitrogen gas fractionation and freezing method)

(1) ECD N₂개스냉동 분주법(ECD_N₂GFFM)

다음 2번 MIBI N₂개스냉동 분주법과 방법은 동일하며, ECD A vial, B vial용을 각각 만들어 냉동분주 시킨다.

(2) MIBI N₂개스냉동 분주법(MIBI_N₂GFFM)¹⁰⁾

- ① 빈 vacuum vial을 3개 준비한다(generator elution vial 사용).
- ② clean bench 안에서 Millipore사 Millex-FG₅₀ filter unit앞에 needle gauge 26G×1/2"~23G×1/2"를 사용하여 vacuum vial 두꺼운 고무부분에 찢러 N₂ gas를 10~15초간 주입한다.¹³⁾ 이때 regulator는 15~20 psi 압력으로 조절한다.
- ③ MIBI vial에 1.5cc saline을 넣고 몇초간 흔든다.
- ④ 1cc 주사기로 1cc를 뽑아 N₂개스가 주입된 2개 vial에 각각 0.5cc를 나누어서 주입한다(압력이 높으므로 주사기 밀대를 꼭 잡는다.).
- ⑤ 주입 즉시 parafilm으로 막고, deep freezer에 급속 냉동 보관시킨다.

3) Ar 개스냉동분주법(Ar GFFM, argon gas fractionation and freezing method)

(1) ECD Ar개스냉동 분주법(ECD_ArGFFM)

아래 2번 Sestamibi Ar개스냉동 분주법과 방법은 동일하며, ECD A vial, B vial용을 각각 만들어 냉동분주 시킨다.

(2) MIBI Ar개스냉동 분주법(MIBI_ArGFFM)

- ① 빈 vacuum vial을 3개 준비한다(generator elution vial 사용).
- ② clean bench 안에서 Millipore사 Millex-FG₅₀ filter unit 앞에 needle gauge 26G×1/2"~23G×1/2"를 사용하여 vacuum vial 두꺼운 고무부분에 찢러 Ar gas를 10~15초간 주입한다.¹³⁾ 이때 regulator는 20~15 psi로 압력을 조절한다.
- ③ MIBI vial에 1.5cc saline을 넣고 몇초간 흔든다.
- ④ 1cc 주사기로 1cc를 뽑아 Ar개스가 주입된 2개 vial에 각각 0.5cc를 나누어서 주입한다(압력이 높으므로 주사기 밀대를 꼭잡는다.).
- ⑤ 주입즉시 parafilm으로 막고, deep freezer에 급속 냉동 보관 시킨다.

* 방법 1, 2의 주의

- ① 모든 작업은 clean bench 안에서 멸균작업을 하여야 한다.

- ② poly glove는 감마선 멸균품 또는 수술용 glove를 사용하여야 한다.
- ③ 주사기 바늘은 23~26G를 사용한다.
- ④ 진공 vial에 주입시 고무 패킹 가장자리에 주사기 바늘을 찌른다.
- ⑤ saline 및 진공 vial은 generator box에 포함된 것을 사용한다.
- ⑥ 냉동 보관시 순간 급냉시킨다(-85°C deep freezer).
- ⑦ 냉동 보관된 vial을 상온에서 녹인 후 $^{99m}\text{TcO}_4$ 와 labell후 Millipore사의 0.22 μm syringe filter를 사용하여 filtering하여 2차 감염을 방지한다.¹²⁾
- ⑧ 개스주입용 regulator는 Ar, N₂, O₂ 등 다목적용을 구입한다.

VI. 결 과

- 1) ECD 진공냉동 분주법은 냉동 보관 기간이 최고 18일까지 보관하였다가 사용하여도 안정되었고(그림 3), 표지효율이 좋으므로 ECD 개스 냉동분주법도 표지효율이 좋을 것이라는 가정하에 7일까지만 ECD 개스 냉동분주법을 실험하였다(그림 4, 5).

ECD 진공, N₂개스, Ar개스 냉동분주법은 모든 검사에서 90% 이상 표지효율을 보여 매우 안정되었다.

- 2) MIBI 진공냉동 분주법(그림 6)은, 냉동분주 7일째부터 표지효율이 떨어지므로, 이에 대한 보완으로 N₂개스 냉동분주법, Ar개스 냉동분주법을 이용하여 실험하였다.

N₂개스 냉동분주법은 냉동분주 36일까지 실험하였으며, 최하 표지효율이 93%를 보여 가장 안정된 방법임을 나타냈다(그림 7).

Ar개스 냉동분주법은 냉동분주 31일까지 실험하였다(그림 8).

표지효율은 실험실패로 인해 4회의 낮은 표지효율(83%, 84%, 84%, 85%)을 보였고, 나머지는 90% 이상의 표지효율을 보였으나, 표지효율의 편차가 N₂개스 냉동분주법보다 커서 약간 불안해 보였다.

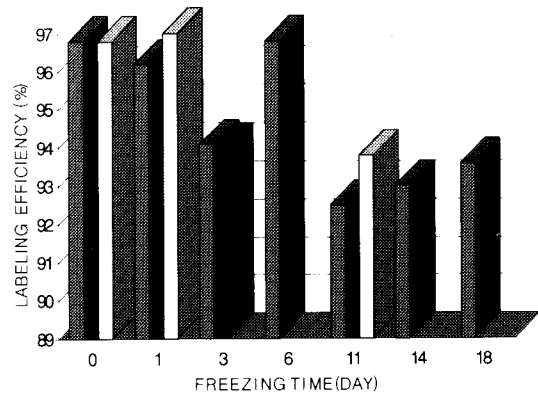


그림 3. ECD 진공냉동분주법

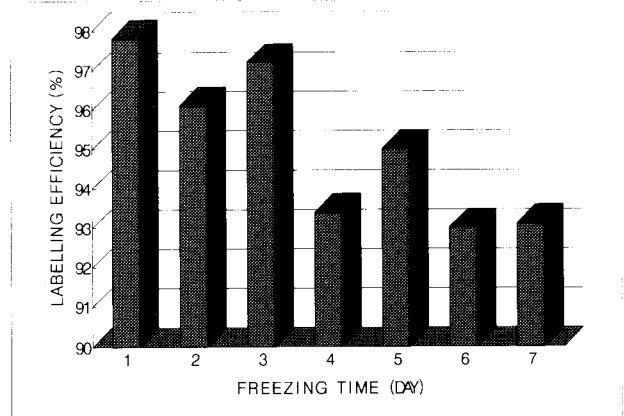


그림 4. ECD N₂개스냉동분주법

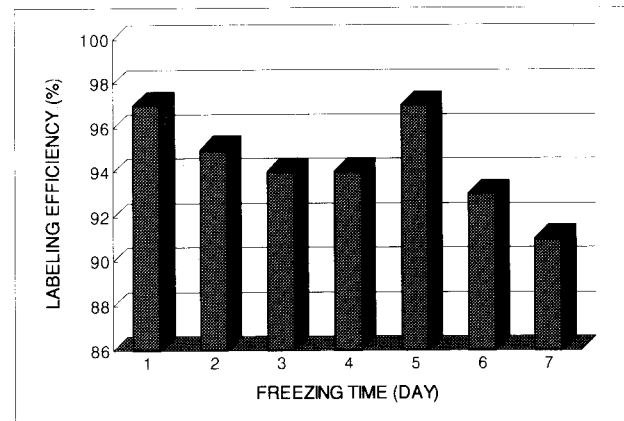


그림 5. ECD Ar개스냉동분주법

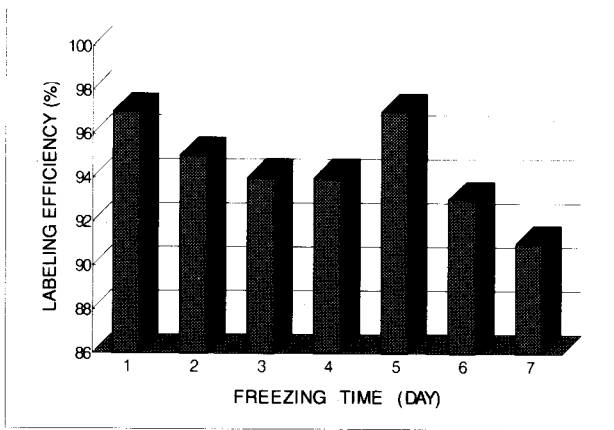


그림 6. MIBI 진공냉동분주법

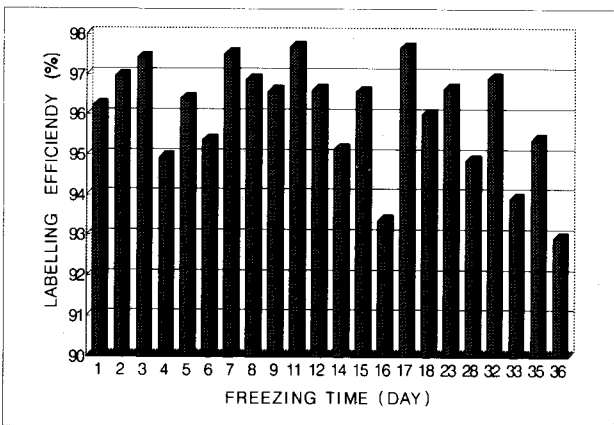


그림 7. MIBI N₂개스냉동분주법

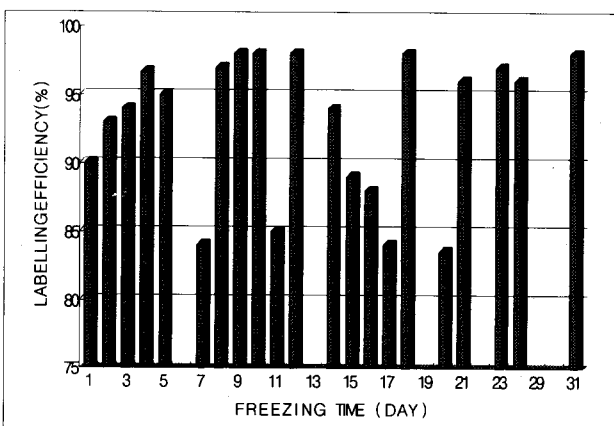


그림 8. MIBI Ar개스냉동분주법

- LAL법에 의한 pyrogen test 결과는 진공냉동분주법은 실험 중 기구에 의한 오염으로 추측되는 5개가 양성으로 나왔고, 나머지는 음성으로 나왔다(표 1). 개스냉동분주법은 36개 sample 전부 음성으로 나왔다(표 2).
- Bacteria culture test는 진공냉동분주법은 24시간, 48시간 배양이고(표 3), 개스냉동분주법은 1주일 배양(표 4)이다. 두 가지 전부 음성이었다.

표 1. 진공냉동분주법 LAL test 결과

RI Vial	음성	양성
40개 vial	35	5
positive control	-	5
0.22μm filtered	-	0

* LaL test는 96년 2월에서 5월까지 40개 vial sample만 실험하였다.

표 2. 개스냉동분주법 LAL test 결과

RI Vial(N ₂ , Ar)	음성	양성
ECD 11개 vial	11	0
MIBI 25개 vial	25	0

* LaL test는 97년 4월에서 9월까지 36개 vial sample만 실험하였다.

표 3. 진공냉동분주법 bacteria culture test 결과

ECD, MIBI vial	음성	양성
24시간 배양	40	0
48시간 배양	40	0

* Bacteria test는 96년 2월부터 5월까지 40개 vial sample만 실험하였다.

표 4. 개스냉동분주법 bacteria culture test 결과

1주일 배양	음성	양성
ECD vial	10	0
MIBI vial	20	0

* Bacteria test는 97년 4월부터 9월까지 30개 vial sample만 실험하였다.

Ⅶ. 결 론

ECD 냉동분주법(ECD_FFM)은 진공냉동분주법, 개스냉동분주법 두 가지 방법 모두 표지효율이 안정적이고, 실험, 임상검사 모두 잘되었다.

ECD 진공냉동 분주법(ECD_VFFM)은 진공만 잘 유지하면, 간편하게 사용할 수 있으며 A vial과 B vial이 분리되어 있어 냉동보관, RI 표지에 효과적이다.

ECD 개스냉동분주법(ECD_GFFM)은 ECD 진공냉동 분주법보다 표지효율이 높고, 안정적이거나 개스주입시 주의와 냉동분주 후 사용할 때 해동시킨 후 0.22 μm syringe filter(Millex-GV13)를 이용 제균 시켜야 한다.¹²⁾

MIBI 냉동분주법(MIBI_FFM)은 진공냉동분주법, N_2 개스냉동분주법, Ar 개스냉동분주법 중 N_2 개스냉동분주법(MIBI_ N_2 FFM)이 냉동분주 36일까지도 표지효율이 매우 안정적이고, 병원에서 가장 많이 사용하는 불활성가스이므로 N_2 개스냉동분주법을 사용하기를 적극 권한다.

MIBI 진공냉동분주법(MIBI_VFFM)은 간편하게 사용할 수 있으나, 냉동분주 1주일 후부터 표지효율이 떨어지므로, 1주일 안에 소모할 수 있는 대형병원에서 사용하기를 권한다.

MIBI Ar 개스냉동분주법(MIBI_ Ar FFM)은 냉동분주 31일까지도 안정적이거나 MIBI N_2 냉동분주법보다 표지효율편차가 크며, 개스구입이 용이하지 않은 단점이 있다.

개스냉동분주법(GFFM)을 사용하여 분할사용할 경우에는 N_2 개스냉동분주법(N_2 FFM)을 ECD, MIBI 모두 적용하기를 권하며, 각 kit vial을 3등분하여 1등분한 vial에 최대 3.7GBq~5.5GBq을 주입하여 사용하여도 된다.

이는 병원과 핵의학과 재료비감소와 환자 및 임상 각 과에게 즉시 서비스할 수 있는 좋은 방법이라 생각된다.

본 병원의 경우 ECD, MIBI 두 가지 kit 품목만으로도 두 달에 약 6백만원에서 8백만원 절약되며,

mag3, tetrofosmin까지 적용하여 절감액수가 점점 늘어나고 있다.

참 고 문 헌

1. Charles B. Sampson: Textbook of radiopharmacy theory & practice, 1990
2. J. Mark Green: Thin-layer chromatographic procedures for the characterization of Tc-99m bisphosphate, J. Nucl. Med. Technol., 1994; 22: 21-26
3. A. Michael Zimmer: Quality control procedures for newer radiopharmaceuticals, J. Nucl. Med. Technol., 1991; 19: 210-214
4. Dupont Radiopharmaceutical division: neuro-lite[®] manual.
5. Dupont Radiopharmaceutical division: cardiolite[®] manual.
6. Juan Fride: Gamma camera & computer-assisted chromatography: A simple method, J. Nucl. Med. Technol., 1992; 20: 80-83
7. Joseph C. Hung: Breakage of technetium-99m-sestamibi vial with use of a microwave oven, J. Nucl. Med. Technol., 1992; 33: 176-178
8. A. Gagnon: Fast labelling of Tc-99m-sestamibi with microwave oven heating, J. Nucl. Med., 1991; 19: 90-93
9. Biodex: Tec-control kit for cardiolite operation manual.
10. TJUH Nuc Pharm Lab: Sestamibi cardiolite fractionation and preparation of technetium-99m cardiolite manual.
11. Associates of Cape Cod, Inc.: LAL Update, 1996
12. Millipore: Millex-GV₁₃ Filter unit 0.22 μm catalogue.
13. Millipore: Millex-FG₅₀ Filter unit 0.22 μm catalogue.
14. 배원규: ^{99m}Tc -ECD와 ^{99m}Tc -SESTAMIBI의 표지 방법 및 분할 사용, K. J. Nucl. Med. Technol., 1997; 7: 17-20