

## 서울아산병원의 적혈구 표지 방법에서 교반 시간 차이에 따른 표지 효율의 분석

서울아산병원 핵의학과

정은미 · 정우영 · 류재광 · 심동오 · 이영희

### Analysis of Labelling Efficiency According to Differences of Rotating Time in a Asan Medical Center (AMC) RBC Labelling Method

Eun Mi Chung, Woo Young Jung, Jae Kwang Ryu, Dong Oh Shim and Yeong Hee Lee

Department of Nuclear Medicine, Asan Medical Center, Seoul, Korea

**Purpose:** In our nuclear medicine department, we suggested AMC RBC labeling method improved by modifying a part of existing modified in-vitro method to raise the efficiency of  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC labeling. However, it needs to be more additional time and efforts than existing modified in-vitro method because the AMC RBC labeling method has to carry out the centrifugal separation process for 3~5 minutes. Therefore, in this study, we conducted researches to aim to maintain stable labeling effects and supplement a problem about additional time by reducing rotating time when labeling  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC. **Materials and Methods:** This research has been conducted the object of 30 patients who examined study using  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC and agreed to this research at our hospital from May 2009 to September 2009. We made 4 blood samples which consisted of ACD 1 cc along with 5 cc blood from each patient and used the AMC RBC labeling method. At this moment, each labeling efficiency was calculated by different rotating time 5 min, 10 min, 15 min, and 20 min and then we compared differences. **Results:** As a result, When comparing the  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC labeling method efficiency by using the AMC RBC labeling method which differs from rotating time, each labeling efficiency were  $92.3 \pm 5.0\%$  in 5 min,  $95.9 \pm 5.0\%$  in 10 min,  $97.4 \pm 4.9\%$  in 15 min and  $97.7 \pm 4.8\%$  in 20 min. We analyzed differences of the labeling efficiency from change of rotating time by using an one-way ANOVA and verified that in Duncan method. There was relatively efficiency low in 5min rotating time and no statistically significant change in over. **Conclusions:** When comparing a existing method, the AMC RBC labeling method which goes through the centrifugal separation process again offers more favorable condition to combine RBC with  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  by eliminating an plasma ingredient. When using the modified in-vitro method, we have almost 20 min to rotate to acquire stable labeling efficiency. But, when using the AMC RBC labeling method, we acquire labeling efficiency well what we want within only 10 min to rotate. Decrease of rotating time can complement the AMC RBC labeling method which goes through the centrifugal separation process again and also provide more rapid study such as G-I bleeding study due to fast labeling. (Korean J Nucl Med Technol 2010;14(1):90-93)

**Key Words :** Rotating Time,  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC, AMC RBC Labelling method, Modified in-vitro method

## 서론

- Received: April 12, 2010. Accepted: April 26, 2010.
- Corresponding author: **Woo Young Jung**  
Department of Nuclear Medicine, Asan Medical Center, 388-1  
Pungnap-2dong Songpa-gu, Seoul, 138-736, Korea  
Tel: +82-2-3010-4562, Fax: +82-2-3010-3588  
E-mail: wyjung@amc.seoul.kr

$^{99m}\text{Tc}$ -RBC는 주석이온을 이용하여  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 에 적혈구를 표지하여 만들게 되며, 심혈관계의 해부학적인 평가나 기능적인 평가, 간내 혈관종, 잔류비장, 위장관출혈 등을 진단하는 핵의학 검사에 널리 이용되고 있다.<sup>2-3)</sup>

$^{99m}\text{Tc}$ -RBC의 표지 방법에는 대표적으로 체내(*in-vivo*) 표

지 방법, 체외(*in-vitro*) 표지 방법, 변형 체외(modified *in-vitro*) 표지 방법 등이 있다. 일반적으로 체외 표지 방법은 체내 표지 방법에 비하여 표지 효율이 좋으나<sup>5)</sup> 표지 과정 중 감염 우려와 친수성(hydrophilic)  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 가 생성될 수 있어 요즘은  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC 표지 시 체내 표지 방법과 체외 표지 방법의 장점만을 결합시킨 변형 체외 표지 방법을 주로 사용하고 있다.<sup>2)</sup>

$^{99m}\text{Tc}$ -RBC를 이용한 검사에서 가장 중요한 것은  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 를 적혈구에 완전히 표지하여 유리된  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 이 최소가 되도록 하는 일이다. 특히 위장관 내의 혈액 누출을 찾는 G-I bleeding scan은 표지 효율에 의해 검사의 성패가 좌우되는 경우가 종종 있다.<sup>2)</sup>

서울아산병원 핵의학과에서는 2007년  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC의 표지 효율을 높이기 위한 방법으로 기존의 변형 체외 표지 방법을 좀더 변형시킨 서울아산병원(AMC) 적혈구 표지 방법을 제시하고 실무에 적용하고 있다. AMC 적혈구 표지 방법은 거의 모든 과정이 변형 체외 표지 방법과 거의 유사하지만, 채혈 후 원심 분리 과정을 한 번 더 거쳐 혈장 성분을 제거한 뒤  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 를 추가한다. 이는  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC 표지 시  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 과 RBC가 더 잘 결합할 수 있는 환경을 만들어 주어  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC의 표지 효율을 증가시킨다. 그러나 AMC 적혈구 표지 방법은 3-5분의 원심 분리 과정을 한 번 더 시행함으로써 기존의 변형 체외 표지 방법보다 추가적인 노력과 시간을 필요로 한다. 이에 본 연구는 AMC 적혈구 표지 방법을 통한  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC 표지 시 교반 시간을 줄임으로써 추가 시간 소요의 문제점을 보완하고 안정적인 표지 효율을 유지하는 것에 목적을 두고 연구를 시행하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 연구 대상 및 분석 방법

2009년 4월부터 9월까지 서울아산병원 핵의학과에서  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC를 사용하여 검사받은 환자 중 실험 참여에 동의한 남자 21명, 여자 9명, 총 30명을 대상으로 하였다. 교반 시간 변화에 따른  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC의 표지 효율 산출을 위하여 30명을

Table 1. Population of study

	Hemangioma	G-I bleeding	Total
Male	8	13	21
Female	7	2	9
Total	15	15	30

대상으로 각각 4개씩, 모두 120개의 혈액 샘플을 얻었다.

교반 시간의 변화에 따른 표지 효율 차이 및 유의성 검증을 위하여 One-way ANOVA, Duncan's test, Independent Samples *t*-test로 분석하였다. 이상의 모든 통계처리는 SPSS 12.0을 사용하였다.

### 2. 재료 및 사용기기

$^{99m}\text{Tc}$ -RBC 표지를 위하여 stannous chloride ( $\text{SnCl}_2$ ): nycomed-amersham (U.K), anti-coagulant : acid-citrate-dextrose (ACD), centrifuge, rotator, 10 cc syringe, vacutainer tube, 20 G scalp vein set, 3-way stopcock을 사용하였다.

### 3. $^{99m}\text{Tc}$ -RBC 표지 방법

AMC 적혈구 표지 방법은 환자에게 stannous chloride ( $\text{SnCl}_2$  10 ug/kg)를 투여하고 약 20분 정도 지나 ACD 1 cc 용액에 혈액 5 cc를 채혈한다. 이것을 vacutainer tube에 넣은 뒤 첫번째 원심 분리 후 혈장 성분을 제거한 후,  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 를 약 1,480 MBq 추가한 뒤 약 20분간 교반시킨다. 제거한 혈장성분의 양만큼의 saline을 투여한 후 두번째 원심분리 과정을 거쳐  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC만을 추출한다. 이에 반해 변형 체외(modified *in-vitro*) 표지 방법은 환자에게 stannous chloride ( $\text{SnCl}_2$  10ug/kg)를 투여하고 약 20분 정도 지나 ACD 1 cc 용액에 혈액 5 cc를 채혈한다. 이것을 vacutainer tube에 넣은 뒤  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 를 약 1,480 MBq 추가한다. 약 20분간 교반시킨 다음 원심 분리 과정을 거쳐  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC만을 추출한다.

비교해 볼 때 변형(modified *in-vitro*) 표지 방법과 AMC 적혈구 표지 방법의 가장 큰 차이점은 원심 분리 시행횟수이다. AMC 적혈구 표지 방법의 모든 과정은 변형(modified *in-vitro*) 표지 방법과 거의 같지만 채혈 후  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 를 추가하기 전 원심분리 과정을 한 번 더 거쳐 근본적으로 혈장 성분을 제거함으로써  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 와 RBC가 잘 결합할 수 있는 환경을 만들어 준다.

본 연구에서  $^{99m}\text{Tc}$ -RBC 표지 시 AMC 적혈구 표지 방법을 이용하여 모든 표지를 진행하였으며, 한 환자당 1 cc의 ACD 용액에 혈액 5 cc를 채취한 혈액샘플 각각 4개를 획득하였다. 모든 조건은 최대한 동일하게 유지시킨 뒤 교반 시간만을 각각 5분, 10분, 15분, 20분으로 달리하여 표지를 진행하였으며 각각의 표지효율을 산출하였다.

## 결 과

### 1. 교반 시간 차이에 따른 표지 효율

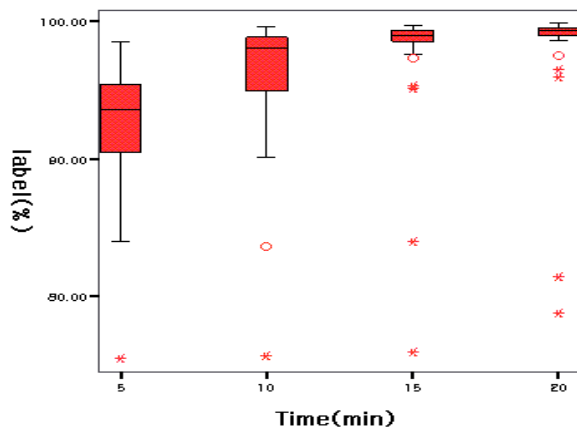
AMC 적혈구 표지 방법을 사용하여 교반 시간 차이에 따른 <sup>99m</sup>Tc-RBC 표지 효율을 비교한 결과, 각각의 표지 효율은 5분에서 92.3±5.0%, 10분에서 95.9±5.0%, 15분에서 97.4±4.9%, 20분에서 97.7±4.8%이었다. 일원분산분석(One-Way ANOVA)을 사용하여 교반 시간 변화에 따른 표지 효율의 차이를 분석하고, Duncan 방법으로 사후 검증 하였다. 5분의 교반 시간에서는 표지 효율이 상대적으로 낮았으며, 그 이상에서의 표지 효율은 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

### 2. 검사 종류에 따른 교반 시간의 차이

전체 환자를 각각 검사 종류별로 구분하여 Independent Samples *t*-test를 이용하여 교반 시간의 차이에 따른 표지 효율의 차이를 검증하였다. 5분에서는 G-I bleeding과 hemangioma 두 검사 간의 표지 효율의 차이가 있는 것으로 나타났으며 그 이상에서의 표지 효율은 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

**Table 2.** Differences of the labeling efficiency from change of incubating time

	5 min (A)	10 min (B)	15 min (C)	20 min (D)
n	30			
Mean	92.3	95.9	97.4	97.7
SD	5.0	5.0	4.9	4.8
F	7.396			
Duncan's test	(A) < (B) · (C) · (D)			



**Fig. 1.** Boxplots of AMC RBC labeling method in different incubating time

## 고찰 및 결론

<sup>99m</sup>Tc-RBC를 사용하는 검사에서 <sup>99m</sup>Tc-RBC의 표지 효율은 환자의 상태, 환자에게 투여된 약제(환자의 수혈, 디피리다몰, 헤파린, 싸이클로스포린, methyldopa, propranolol, hydralasine, quinidine, doxorubicine 등),<sup>6,9)</sup> 염화주석의 양, 교반시간, tinning 시간, 혈액의 양, 항응고제의 종류 등 다양한 요인에 의해 영향을 받는다.<sup>2-4)</sup>

일반적으로 변형체내 표지 방법으로 <sup>99m</sup>Tc-RBC를 표지 시 사용하는 주석 이온의 양은 0.5~1.0 mg, tinning시간은 20분, 혈액의 양은 3 mL, 10분간 배양하도록 권고하고 있다.<sup>3)</sup> 일반적으로 항응고제는 ACD를 사용하는데 이는 헤파린보다 우수한 결합 효율을 보인다고 밝혀져 있다.<sup>7)</sup> 또한 tinning 시간의 경우 20분을 권고하고 있는데, 이는 tinning 시간이 20분 정도가 되어야 염화 주석이 충분히 적혈구 내로 침투가 이루어져 과산화 테크네슘이 충분히 환원될 수 있기 때문이다.<sup>8)</sup> 혈액은 5 cc를 채혈하였는데 혈액이 5 cc에서 가장 높은 결합 효율을 보여 충분한 혈액양이 결합 효율을 높이는 데 필요하기 때문이다.<sup>3)</sup> 또한 <sup>99m</sup>Tc-RBC를 표지 시 사용하는 <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>은 용출한 지 4시간 이내의 것을 사용하였다. <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>도 일정시간이 경과 후 <sup>99</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>의 딸 핵종을 만들게 되며, 이것은 염화주석의 환원력을 약화시켜 적혈구와 과산화 테크네슘의 결합을 저하시킨다.<sup>3)</sup>

본 연구에서는 <sup>99m</sup>Tc-RBC 표지 시 최상의 표지 효율을

**Table 3.** Incubating time in study (5 min)

Study	N	Mean	SD	<i>t</i>	<i>p</i>
G-I bleeding	15	90.2	5.6	2.54	0.017
Hemangioma	15	94.4	3.2		

**Table 4.** Incubating time in study (10 min)

Study	N	Mean	SD	<i>t</i>	<i>p</i>
G-I bleeding	15	94.4	6.6	1.97	0.066
Hemangioma	15	97.7	1.8		

**Table 5.** Incubating time in study (15 min)

Study	N	Mean	SD	<i>t</i>	<i>p</i>
G-I bleeding	15	96.0	6.7	1.55	0.141
Hemangioma	15	98.7	1.1		

**Table 6.** Incubating time in study (20 min)

Study	N	Mean	SD	<i>t</i>	<i>p</i>
G-I bleeding	15	96.3	6.8	1.66	0.118
Hemangioma	15	99.2	0.8		

유지시키기 위하여 교반 시간을 제외한 조건들은 위에 제시한 조건을 최대한 만족시키고 일정하게 유지하기 위하여 노력하였다. 그러나 환자의 상태, 환자에게 투여된 약제와 그에 따른 혈액의 적혈구 수의 저하, 검상 적혈구 등의 통제 불가능한 인자에 관해서 고려하지 못하였다. 따라서 추후 연구에서는 이에 관한 점검이 좀 더 필요하겠다.

AMC 적혈구 표지 방법은 기존의 변형 표지 방법과 비교할 때 원심분리 과정을 한 번 더 거쳐 혈장 성분을 제거함으로써 RBC가  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 와 결합하는 데 더 유리한 환경을 제공할 수 있다.  $^{99m}\text{Tc-RBC}$  표지 시 교반 시간은 항응고제와 혈액 사이에 충분한 혼합이 이루어지도록 하기 위한 과정으로서 변형 체외 표지 방법을 사용할 경우 20분 정도의 교반 시간을 주어야 안정적인 표지 효율을 획득할 수 있는 반면, AMC 적혈구 표지 방법을 적용 할 경우 교반 시간을 1분만 시행하여도 해당 검사에서 원하는 충분한 표지 효율을 얻을 수 있었다. 교반 시간의 감소는 원심분리 과정을 한 번 더 거쳐야 하는 AMC 적혈구 표지 방법을 보완할 수 있으며, 보다 빠른 시간 내에  $^{99m}\text{Tc-RBC}$ 의 표지를 가능하게 하여 G-I bleeding과 같은 응급 환자에게 좀 더 빠른 검사를 제공할 수 있을 것이라 사료된다.

## 요 약

서울아산병원 핵의학과에서는  $^{99m}\text{Tc-RBC}$ 의 표지 효율을 높이기 위한 방법으로 기존의 변형 체외 표지 방법(modified in-vitro)의 일부를 변형하여 개선시킨 AMC 적혈구 표지 방법을 제시한 바 있다. 그러나 AMC 적혈구 표지 방법은 3-5분의 원심분리 과정을 한 번 더 시행함으로써 기존의 변형 체외 표지 방법보다 추가적인 노력과 시간을 필요로 한다. 이에 본 연구는 AMC 적혈구 표지 방법을 통한  $^{99m}\text{Tc-RBC}$  표지 시 교반 시간을 줄임으로써 추가 시간 소요의 문제점을 보완하고 안정적인 표지 효율을 유지하는 것에 목적을 두고 연구를 시행하였다.

2009년 5월부터 9월까지 서울아산병원 핵의학과에서  $^{99m}\text{Tc-RBC}$ 를 사용하여 검사받은 환자를 무작위로 선정하여 실험 참여에 동의한 30명을 대상으로 하였다. 환자당 1 cc의 ACD에 5 cc의 혈액을 채취하여 4개의 혈액 샘플을 만들었으며, AMC 적혈구 표지 방법을 사용하여 표지를 진행하였다. 이때 교반 시간을 5분, 10분, 15분, 20분으로 다르게 하여 각각의 표지 효율을 산출하였고 그에 따른 차이를 비교하였다.

AMC 적혈구 표지 방법을 사용하여 교반 시간 차이에 따

른  $^{99m}\text{Tc-RBC}$  표지 효율을 비교한 결과, 각각의 표지 효율은 5분에서  $92.3 \pm 5.0\%$ , 10분에서  $95.9 \pm 5.0\%$ , 15분에서  $97.4 \pm 4.9\%$ , 20분에서  $97.7 \pm 4.8\%$ 였다. 일원분산분석(One-Way ANOVA)을 사용하여 교반 시간 변화에 따른 표지 효율의 차이를 분석하고, Duncan 방법으로 사후 검증하였다. 5분의 교반 시간에서는 표지 효율이 상대적으로 낮았으며, 그 이상에서의 표지 효율은 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

AMC 적혈구 표지 방법은 기존의 변형 표지 방법과 비교할 때 원심분리 과정을 한 번 더 거쳐 혈장 성분을 제거함으로써 RBC가  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 와 결합하는 데 더 유리한 환경을 제공할 수 있다. 변형 체외 표지 방법을 사용할 경우 20분 정도의 교반 시간을 주어야 안정적인 표지 효율을 획득할 수 있는 반면, AMC 적혈구 표지 방법을 적용할 경우 교반 시간을 10분만 시행하여도 해당 검사에서 원하는 충분한 표지 효율을 얻을 수 있었다. 교반 시간의 감소는 원심 분리 과정을 한 번 더 거쳐야 하는 AMC 적혈구 표지 방법을 보완할 수 있으며, 보다 빠른 시간 내에  $^{99m}\text{Tc-RBC}$ 의 표지를 가능하게 하여 G-I bleeding과 같은 응급 환자에게 좀 더 빠른 검사를 제공할 수 있을 것이라 사료된다.

## REFERENCES

- 고창순. 핵의학(제3판). *교리의학*. 2008;624-625
- 류재광, 심동오, 정우영, 신상기, 조시만, 동경래. 변형체외 표지법과 AMC 표지법간  $^{99m}\text{Tc-RBC}$  표지효율의 분석, *대한핵의학기술학회지* 2007;11(1).
- 서한경, 김민우, 임태석, 손명희. 변형 체내 표지법에 의한 적혈구 표지시 결합효율에 영향을 미치는 인자 평가. *대한핵의학학회지* 2004;38(4).
- 김호성, 오승준, 정우영, 박승용, 신상기, 조시만, 정운영. 적혈구 표지에 영향을 미치는 요소에 대한고찰, *대한핵의학기술학회지* 2000;5(1).
- Renate Kuehne and Eckart Reuter, High RBC labeling Efficiency By Controlling Pretinning with the modified in vivo/vitro labeling Method, *J Nucl Med Technol* 1999;27:222-226.
- Callahan RJ, Rovit CA. Radiolabeling of erythrocytes with technetium-99m; role of band-3 protein in the transport of pretechnate across the cell membrane. *J Nucl Med* 1990;31:2004-2010.
- Porter WC, Dees SM, Freitas JE, Dworkin HJ. Acid-citrate- dextrose compared with heparin in the preparation of in vivo/in vitro technetium-99m red blood cells. *J Nucl Med*. 1983;24:383- 387.
- Srivastava SC, Chervu LR. Radionuclide-labeled red blood cells: current status and future prospects. *Semin Nucl Med*. 1984;14: 68-82.
- Hussam Bustani, Ceile Colavolpe, Isavelle Imbert-Joscht. Chocolate intake associated with failed labeling of  $^{99m}\text{Tc}$  red blood cells. *J Nucl Med Technol* 2009;37:107-110.