

ORIGINAL ARTICLE

유방의 침윤성관암종에서 다약제내성관련단백 및 P-당단백 발현과 ^{99m}Tc -MIBI 세척률: 신보강화학요법에 대한 반응과의 상관관계

곽희숙 · 배영태 · 한군택 · 김인주

부산대학교 의과대학 외과학교실, ¹핵의학교실The Multidrug Resistance-related Protein and P-glycoprotein Expressions, and the Washout Rates of ^{99m}Tc -MIBI in Infiltrating Ductal Carcinoma of Breast, Correlation with the Response After Neoadjuvant ChemotherapyHi Suk Kwak, Young Tae Bae, Koon Taek Han, In Joo Kim¹Departments of Surgery, and ¹Nuclear Medicine, College of Medicine, Pusan National University, Busan, Korea

Purpose: Numerous non-invasive imaging methods for evaluating the chemotherapy response of breast cancer patients are currently being explored. The aim of present study was to investigate whether the washout rates (WRs) of ^{99m}Tc -MIBI could predict the response to chemotherapy in patients suffering with infiltrating ductal carcinoma using the expressions of multidrug resistance-related protein (MRP) and P-glycoprotein (Pgp).

Methods: From May 2002 and March 2004, the patients were randomly and consecutively selected according to the results of immunohistochemical analyses of breast carcinoma specimens before the administration of neoadjuvant chemotherapy. A total 45 infiltrating ductal carcinomas in 45 female patients were selected and they were separated into three groups: group A consisted of tumors with both negative Pgp and MRP expressions (n=15); group B consisted of the tumors that were positive for either a Pgp expression or a MRP expression (n=15); group C consisted of the tumors that were positive for both Pgp and MRP expressions (n=15). All the patients were referred for double phase ^{99m}Tc -MIBI mammoscintigraphy after the injection of 925 MBq of ^{99m}Tc -MIBI to

calculate the WR. The tumor response was evaluated after completion of neoadjuvant chemotherapy. The tumor response was classified as a complete or partial response (the responder group) and stable or progression (the non-responder group). All the patients underwent surgery.

Results: The response rate of group C was lower than that of the other groups, but the difference was not statistically significant ($p=0.283$). The WR of non-responder group was lower than that of the responder group, although the difference was not statistically significant ($p=0.674$). The washout rates of group C was the highest than other groups and the difference was statistically significant ($p=0.001$).

Conclusion: In conclusion, the WR of ^{99m}Tc -MIBI is helpful for in vivo determination of both the Pgp and MRP expressions for infiltrating ductal carcinoma of the breast. (*J Breast Cancer 2007;10:29-35*)

Key Words : Multidrug resistance-related protein, P-glycoprotein, ^{99m}Tc -MIBI Washout rates

중심단어 : 다약제내성관련단백, P-당단백, ^{99m}Tc -MIBI 세척률

책임저자 : 곽희숙

602-739 부산광역시 서구 아미동 1가 10, 부산대학교 의과대학 외과

Tel: 051-240-7238, Fax: 051-247-1365

E-mail : hskwakmd@pusan.ac.kr

접수일 : 2006년 10월 25일 게재승인일 : 2007년 2월 7일

서론

현재 유방암 환자들에게 있어서 전신 화학요법의 치료 역할은 매우 중요하며 신보강화학요법(neoadjuvant chemotherapy)

에 대한 반응 여부가 주요 예후 예측인자의 하나로 밝혀져 있다. (1) 유방암에서 화학요법의 치료 실패와 관련된 여러가지 요소들 중에서 화학요법에 대한 종양의 반응 여부가 중요하게 인식되고 있으며, 그 반응 여부를 예측하는 일은 임상의학자들의 관심의 대상이 되어있다.

약제의 내성에 관여하는 약물유출펌프(drug efflux pumps)를 제어하는 두 가지 주요 장치는 다약제내성관련단백질(multidrug resistance-related protein, MRP)과 P-당단백질(P-glycoprotein, Pgp)로서, (2) 이들의 발현 유무는 유방암의 약제에 대한 내성과도 밀접한 관계가 있다. (3-7)

^{99m}Tc-MIBI 스캔은 유방암의 진단에 사용되는 비침습적 검사 방법의 하나로서 본 병원의 보고에 의하면 그 민감도와 특이도는 각각 77.8%와 66.7%였다. (8) ^{99m}Tc-MIBI는 지방친화성이 있는 양이온 복합체로서 Pgp-유출펌프의 운반 기질로 사용된다. 약제 내성이 있는 경우에는 Pgp가 높은 수준으로 발현되고 약물의 세포막 투과성이 변화되어 ^{99m}Tc-MIBI의 세포밖 유출이 촉진되므로 세포내 ^{99m}Tc-MIBI의 축적은 기대치 이하로 감소한다. (9-11)

본 연구에서는 유방 침윤관암으로 신보강화학요법을 시행받은 환자들을 대상으로 종양의 ^{99m}Tc-MIBI 세척률(washout rates, WR)과 화학요법에 대한 종양의 반응 정도 사이의 관계를 분석하여 화학요법에 대한 반응의 예측에 있어서 ^{99m}Tc-MIBI 유방스캔의 유용성을 평가하고, 또한 종양 조직에서 Pgp와 MRP 발현과 ^{99m}Tc-MIBI의 WR과의 관계를 분석하여 분자 수준에서의 근거를 입증하고자 하였다.

방 법

1. 대상

2002년 5월 이후 부산대학교병원 외과에서 유방의 침윤관암

Table 1. Clinicopathologic characteristics of patients

| | No. of patients (%) | | |
|--------------------------------|---------------------|--------------|--------------|
| | Group A | Group B | Group C |
| Age (yr) | | | |
| Mean (range) | 49.1 (34-64) | 42.3 (25-66) | 44.5 (31-67) |
| Menopausal status | | | |
| Premenopause | 8 (53.3) | 10 (66.7) | 9 (60.0) |
| Postmenopause | 7 (46.7) | 5 (33.3) | 6 (40.0) |
| Tumor grade (nuclear) | | | |
| G1 | 3 (20.0) | 2 (13.3) | 1 (0.7) |
| G2 | 6 (40.0) | 6 (40.0) | 7 (46.7) |
| G3 | 6 (40.0) | 7 (46.7) | 7 (46.7) |
| Tumor size before chemotherapy | | | |
| T1 | 4 (26.7) | 6 (40.0) | 4 (26.7) |
| T2 | 10 (66.7) | 8 (53.3) | 9 (60.0) |
| T3 | 1 (0.7) | 1 (0.7) | 2 (13.3) |

중으로 신보강화학요법(cyclophosphamide, doxorubicin, 5-Fluorouracil 병합요법)을 받았던 환자들을 대상으로 면역화학 조직염색법을 이용하여 종양조직의 Pgp 및 MRP 발현 여부를 조사하고, 면역화학조직염색 결과에 따라 Pgp와 MRP 모두 발현이 없는 경우 15예(A군), Pgp 혹은 MRP 어느 하나의 발현이 있는 경우 15예(B군), Pgp와 MRP 둘 다 발현이 있는 경우 15예(C군)를 취하였다. 신보강화학요법 실시 전에 조기 및 지연 ^{99m}Tc-MIBI 유방스캔이 실시되지 못하였던 증례는 대상에서 제외하였다.

Table 1은 A, B 및 C군을 망라한 총 45예의 임상 및 병리적 특징을 보여주고 있다. 모두 여성으로서 평균 연령은 47세(25-67세)이었고 폐경 전 여성이 27예(60.0%)이었다. 이들의 종양조직 핵분화도는 grade 1이 6예(13.3%), grade 2가 19예(42.2%), grade 3이 20예(44.4%)였다. 신보강화학요법 실시 전 종양 시기는 T1이 14예(31.3%), T2가 27예(60.0%), T3가 4예(8.9%)이었다(Table 1).

2. 방법

1) 신보강화학요법에 대한 반응도 측정

화학요법 실시 전 유방 초음파 또는 자기공명영상 검사를 통하여 종양의 크기를 측정하였고, 3개월 후 수술 절제 조직에서 육안으로 종양의 크기를 측정하여 종양 크기의 변화를 관찰하였다.

화학요법에 대한 반응도는 WHO 기준에 의하여 4단계로 분류하였다(Table 2). (12) 직경이 25% 이상 증가한 경우를 '진행(progression)'으로, 직경이 25% 미만으로 증가하거나 50% 미만으로 감소한 경우를 '정지(stable)'로, 직경이 50% 이상 감소된 경우를 '부분관해(partial remission)'로, 종양이 완전히 소멸된 경우를 '완전관해(complete remission)'로 정하였다. '정지' 또는 '진행'을 '비반응군(non-responder)'으로 분류하였으며, '부분관해' 또는 '완전관해'를 '반응군(responder)'으로 분류하였다.

Table 2. Response to neoadjuvant chemotherapy

| Responsiveness | No. of patients |
|----------------------|-----------------|
| Complete remission* | 2 (4.4%) |
| Partial remission† | 14 (31.1%) |
| Stable disease‡ | 21 (46.7%) |
| Progressive disease§ | 8 (17.8%) |

*: no evidence of disease; †: $\geq 50\%$ decrease in the sum of the products of the maximum perpendicular diameters of all measurable lesions, no evidence of progression in any lesion and no new lesions; ‡: $< 25\%$ increase in the sum of the products of the maximum perpendicular diameters of all measurable lesions, no evidence of progression in any lesion and no new lesions; §: $\geq 25\%$ increase in the sum of the products of the maximum perpendicular diameters of all measurable lesions and/or the appearance of new lesions.

2) Pgp 및 MRP 발현의 평가

침생검으로 얻은 조직을 10% 중성 완충 포르말린에 고정, 파라핀에 포매한 조직을 4 μm 두께로 자른 후 크실렌으로 5분간 3회 탈파라핀화시켰다. 다시 100%, 95%, 70% 에탄올에 각각 2분간 처리하여 함수 과정을 거친 후 흐르는 물에서 10분간 수세시켰다. 면역조직화학염색 시 항원 노출을 향상시키기 위해 전자레인지 (700 W)로 5분간 끓인 10 mM/L 구연산 완충액(pH 6.0)이 담긴 용기에 조직 절편을 넣은 후 전자레인지를 이용하여 마이크로파 주사를 5분간 두 차례 더 실시하였다. 실온에서 냉각시킨 후, 흐르는 물에서 10분간 충분히 수세시키고, 내인성 과산화효소의 억제제를 위하여 0.3% 과산화수소수에 20분간 처리한 후 Tris buffered saline (TBS) (pH 7.6)으로 세척하였다. 일차항체로 MRP QCRL-1 (10 μg/mL, Signet Laboratories, Inc., Dedham, USA), JSB-1 (50 μg/mL, Boehringer Mannheim Biochemica, Germany)을 1:50의 농도로 희석하여 사용하였다. 이들 일차항체와 조직 절편을 4°C에서 하룻밤 동안 반응시켰다. 이후의 면역조직화학염색은 DAKO LSAB 2 system을 사용하였고, 일반적인 면역조직화학염색 과정과 동일하게 하였다. 면역염색 후, 발색에는 3-amino-9-ethyl-carbazole을, 대조 염색에는 Mayer 헤마톡실린을 사용하였다. Universal mount (DAKO, Carpinteria, USA)로 일차 봉입하고, 크실렌으로 희석시킨(50:50) malinol로 이차 봉입한 뒤, 광학 현미경으로 관찰하였다.

음성 대조군으로는 염색 때 일차항체를 사용하지 않고, 그 외 전 과정은 실험군과 동일하게 처리한 조직을 하였다. 양성 대조군으로는 MRP-1의 경우, 정상 기관지 또는 태반 조직을 사용하였으며, Pgp의 경우 정상 신장 조직을 사용하였다.

Pgp 및 MRP 발현은 임상적 정보없이 병리학자 1명이 판독하였다. 염색 강도와 염색되는 종양세포의 비율에 따라 발현을 평가하였다. 염색 강도는 0 (없음), 1+ (약함), 2+ (중간), 3+ (강함) 정도 4단계로 분류하였고, 염색되는 종양세포의 비율에 따라 0 (염색되는 종양세포가 없음), 1+ (24% 이하의 종양세포), 2+ (25-50%의 종양세포), 3+ (51% 이상의 종양세포) 4단계로 분

류하였다. 염색 강도가 2+ 이상이거나 염색되는 종양세포가 2+ 이상인 경우를 각각 '발현되는 것'으로 판정하였고, 그 외는 '발현되지 않는 것'으로 각각 판정하였다(Fig 1).

3) 조기 및 지연 ^{99m}Tc-MIBI 유방스캔과 종양의 ^{99m}Tc-MIBI 세척률 평가

병변이 있는 반대쪽 팔 또는 발에 ^{99m}Tc-MIBI (Cardiolite: Dupont Pharma, Billerica, USA) 925 MBq (25 mCi)를 정맥 내주사하고, 10분(조기 영상)과 3시간(지연 영상) 후에 영상을 얻었다. 유방스캔은 저에너지 고해상도의 조준기를 장착한 이중헤드 카메라(Vertex™, ADAC, Milpitas, USA)로 촬영하였다. 256×256 화소의 매트릭스를 사용하였고, 에너지 범위는 140

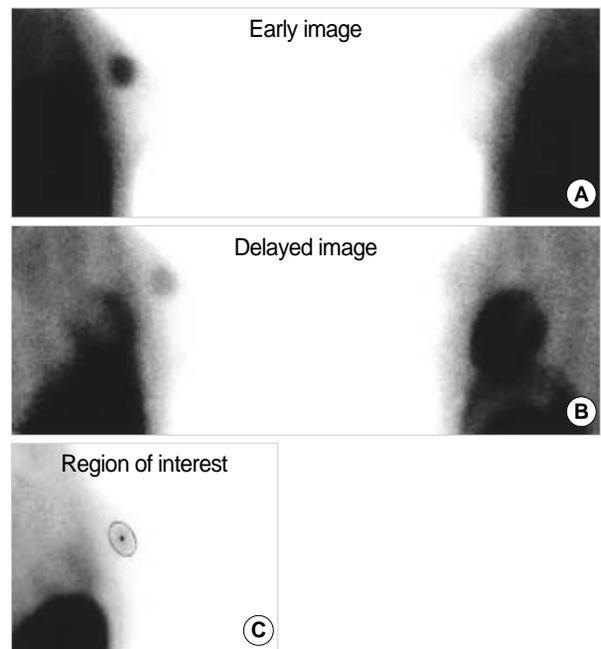


Fig 2. Double phase ^{99m}Tc-MIBI mammoscintigraphy (early and delayed images) Region of interest (ROI) (C) were applied on the lesion and contralateral normal breast to calculate L/B ratio and washout rates (%) of early and delayed images (A, B). (A 34-yr-old woman with infiltrating ductal carcinoma in right breast).

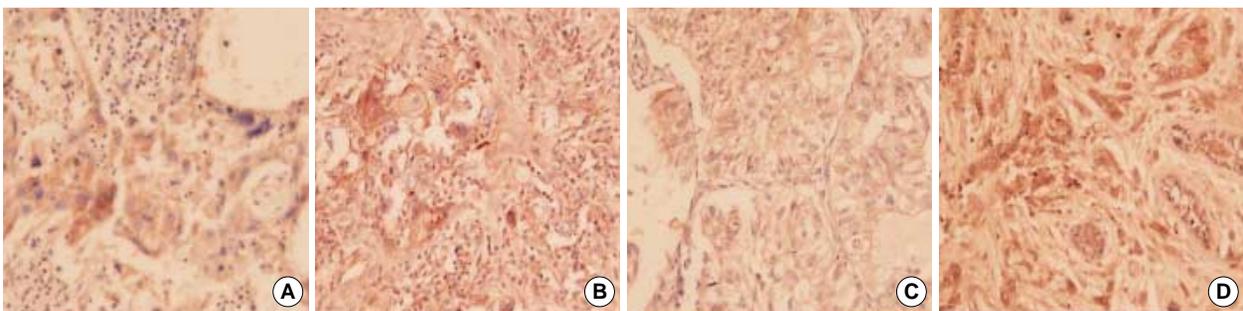


Fig 1. Immunohistochemical staining of Pgp and MRP in infiltrating ductal carcinomas. Examples of Pgp staining (A, non-expression; B, expression) and MRP staining (C, non-expression; D, expression) (×400).

keV에서 20%로 하였으며, 측면영상 획득에는 확대계수 1.5배를 이용하였다. 환자가 특별히 고안된 작업대에 앉드린 자세에서 유방을 아래로 처지게 하여 측면상을 얻었다. 반대쪽 유방으로 인한 허상을 배제하기 위해 두 유방 사이에 2.5 cm 두께의 납을 설치하였다. 양쪽 측면상을 찍은 후, 다시 바로 누운 자세에서 양 팔을 머리위로 올려 양쪽 액와부가 잘 노출되고 유방이 다소 위쪽으로 올라가게 하여 전면상을 얻었다(Fig 2A, B).

스캔 결과의 분석은 두 명의 핵의학과 의사가 환자에 대한 임상적 정보 없이 시행하였다. 유방영상에서 주위 정상조직과 비교하여 뚜렷한 국소 섭취 증가 소견이 관찰된 경우, 병소로 판정하였다.

병소 대 배후 방사능의 비율(Lesion/Background ratio, L/B ratio)은 국소적인 방사능 집적이 있는 경우, 종양 부위와, 같은 쪽 정상 유방 조직에서 같은 관심 영역(regions of interest, ROI)을 설정하여 섭취계수를 측정하였으며, 최소 크기로 ROI를 설정, 섭취계수를 측정하였다. 조기 및 지연영상의 차이를 구하고 다음의 공식을 이용하여 WR을 구하였다(Fig 2C).

$$\text{세척률} = \frac{[(\text{조기 영상 방사능 계수치} - \text{지연 영상 방사능 계수치}) \div \text{조기 영상 방사능 계수치}] \times 100}{}$$

4) 통계 분석

신보강화화학요법에 대한 반응과, Pgp 및 MRP 발현과의 관계는 교차분석(카이제곱검정)을 이용하여 검정하였고, 신보강화화학요법의 반응군에 따른 ^{99m}Tc-MIBI WR 비교는 Mann Whitney U test를 사용하였다. Pgp 및 MRP 발현과 ^{99m}Tc-MIBI WR과의 관계는 분산분석을 사용하였고, 사후검정은 Tukey 방법을 이용하였다. p 값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

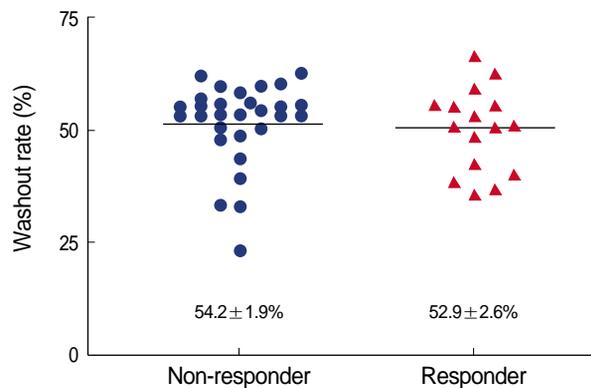


Fig 3. Washout rates of ^{99m}Tc-MIBI according to the response to neoadjuvant chemotherapy. The Washout rates of non-responder group was lower than that of the responder group, although the difference was not statistically significant (p=0.674).

결 과

신보강화화학요법에 대한 반응은 ‘반응’이 16예(35.6%) [‘완전 관해’ 2예(4.4%), ‘부분관해’ 14예(31.1%)], ‘비반응군’이 29예(64.4%) [‘정지’ 21예(46.7%), ‘진행’ 8예(17.8%)]였다(Table 2).

신보강화화학요법에 대한 반응과 ^{99m}Tc-MIBI의 WR은, ‘비반응’이 54 ± 1.9%이고, ‘반응’이 52.9 ± 2.6%이다. 비반응군에 비해 반응군의 WR이 낮게 나왔으나 통계적인 유의성은 없었다(p=0.674) (Fig 3).

Pgp 및 MRP 발현과 ^{99m}Tc-MIBI의 WR을 보면 A군에서 47.8 ± 3.0%, B군에서 52.6 ± 2.3%, C군에서 60.8 ± 1.2%로 나타났다. 즉, ^{99m}Tc-MIBI의 WR은 Pgp와 MRP 발현이 없는 군에서 가장 낮았고, Pgp와 MRP 모두에서 발현이 있는 군에서 가장 높았다(p=0.001). 사후검정에서 A군과 B군의 WR은 통계적으로 의미 있는 차이가 없었으나(p=0.317), C군은 나머지 A, B군과 비교 시 WR이 의미 있게 차이가 났다(p=0.001) (Fig 4).

A, B, C 각군에서의 Pgp 및 MRP 발현에 따른 신보강화화학요법에 대한 반응을 보면, A군에서 ‘비반응’이 8예(53.3%), ‘반응’이 7예(46.7%)였으며, B군에서 ‘비반응’이 9예(60.0%), ‘반응’이 6예(40.0%), C군에서 ‘비반응’이 12예(80.0%), ‘반응’이 3예

Table 3. Neoadjuvant chemotherapy response rates* in group A, B, and C

| Group | No. of patients | |
|---------|-----------------|-----------|
| | Non-responder | Responder |
| Group A | 8 (53.3%) | 7 (46.7%) |
| Group B | 9 (60.0%) | 6 (40.0%) |
| Group C | 12 (80.0%) | 3 (20.0%) |

p=0.283.

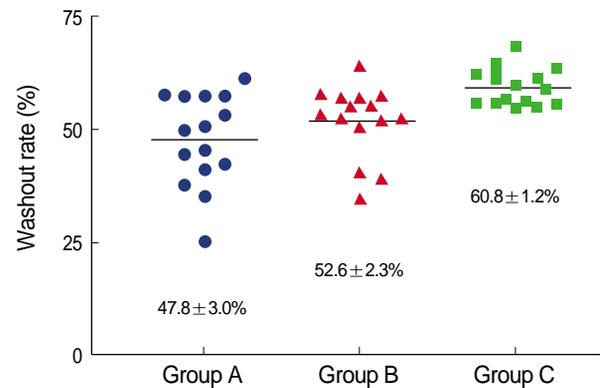


Fig 4. Washout rates of ^{99m}Tc-MIBI according to Pgp and MRP expression groups. The washout rates of group C was the highest than other groups and the difference was statistically significant (p=0.001).

(20.0%)였다. 즉, C군이 신보강화학요법에 대해 '반응'의 비율이 가장 낮았음을 보여 주었다. 그러나, 통계적인 유의성은 없었다($p=0.283$) (Table 3).

고 찰

2000년 American Society of Clinical Oncology의 연례회에서 국소 진행 유방암 환자들에게 있어서 신보강화학요법 후 반응 여부가 예후 예측인자 중 하나가 될 수 있다고 발표한 이후 화학요법 개시 전 미리 반응을 예측할 수 있는 인자들에 대한 연구가 진행되고 있다.

^{99m}Tc-MIBI는 1987년 Podreka 등이 처음으로 종양에서 섭취 증가 소견을 발표한 이후 여러 종양의 악성 여부 감별에 이용되어 왔다. (13) 1990년대부터 ^{99m}Tc-MIBI가 유방암 진단의 목적으로 사용되기 시작하였으며, Seok 등 보고에 의하면 유방암 진단에 있어서 ^{99m}Tc-MIBI 유방스캔의 민감도 및 특이도는 각각 77.8%와 66.7%였다. (8) 또한, ^{99m}Tc-MIBI 유방스캔에서 조기 영상의 L/B ratio의 절단값(cut-off value)을 1.27로 두었을 때, 민감도는 70.1%, 특이도는 68%였으며, 특히 종양의 크기가 3 cm 이하일 때 조기 영상의 L/B ratio가 유방암 진단에 더 의미가 있었다. (9) ^{99m}Tc-MIBI가 약제 내성과 관련이 있는 Pgp-유출 펌프의 운반 기질로 사용된다. ^{99m}Tc-MIBI는 약제 내성에 대한 예측인자로서 주목을 받고 있다. Pgp는 에너지 의존적인 유출 펌프 작용을 하며 다약제 내성 유전자가 발현되면 평형상태를 유지하는 약제 축적을 감소시키며 기질의 유출을 증가시킨다. 약물의 세포막 투과성에 변질이 일어나게 되는 결과 ^{99m}Tc-MIBI의 세포 밖 유출이 촉진되고 따라서 세포 내 ^{99m}Tc-MIBI의 축적은 기대치 이하로 감소한다. (10, 11, 14)

본 연구는 면역조직화학염색 결과 Pgp와 MRP 발현 여부에 따라 A, B, C 각 군마다 임상병리학적 특성에 따라 15예를 추출하여 증례 수를 균등화하였다. A군은 Pgp와 MRP 모두 발현이 없었던 군이고, B군은 Pgp나 MRP 어느 하나에만 발현이 있는 군, C군은 Pgp와 MRP 모두 발현이 있었던 군이다. Liu 등은 ^{99m}Tc-tetrofosmin 유방스캔을 이용하여 정량적 분석이 분자 수준의 Pgp와 MRP 발현을 예측할 수 있을 것인가 라는 논문에서 Pgp와 MRP 둘 다 발현이 있거나 발현이 없는 군은, Pgp 혹은 MRP 어느 하나에만 발현이 있는 군과 비교시 의미 있는 차이를 보였으나, Pgp만 발현되거나 혹은 MRP만 발현되는 경우에는 두 군 간의 차이가 없었다고 보고하였다. (15)

Larkin 등은 유방의 침윤관암종에서 Pgp 발현은 66%, MRP 발현은 61%에서 나타났고, Pgp와 MRP의 동시 발현은 47.4%, Pgp와 MRP 둘 다 발현을 보이지 않는 군은 20.0%라고 보고했

다. (16) 면역조직화학염색상 세포막과 세포질의 염색 발현과 종양세포군의 크기를 점수화하여 판독하였는데, 종양 세포의 발현이 없으면 0, 1-24% 종양 세포 발현이 있으면 1+, 25-50% 종양 세포 발현이 있으면 2+, 51% 이상의 종양 세포 발현이 있으면 3+로 판독하였고, 강한 정도는 없음, 약함, 중간, 강함으로 분류하였다. Larkin 등의 연구에서 MRP 발현이 종양 세포의 25% 이하인 경우에서 생존율이 통계학적으로 의미있게 향상됨을 보고하였다. (16)

Kostakoglu 등은 발현의 강한 정도와 종양 세포의 백분율을 10% 경계로 세 군으로 분류하였는데, 발현이 강하게 나타나고 10% 이상의 종양 세포에서의 염색 발현이 보이는 경우를 의미있는 군이라고 하였다. (17) 본 연구에서는 Larkin 등의 판독 분류를 사용하여 면역조직화학염색상 세포막과 세포질의 염색상 발현의 강도가 중간 이상이거나 25% 이상의 종양 세포에서 발현이 나타나는 경우를 발현이 있는 것으로 판독하였다. (16)

본 연구에서 ^{99m}Tc-MIBI의 WR을 사용하여 신보강화학요법에 대해 반응 여부와 Pgp, MRP 발현 정도와의 상관 관계를 보고하였다. 신보강화학요법에 대한 반응은 반응군이 16예(35.65%), 무반응군이 29예(64.4%)였다. Pgp, MRP 발현에 따른 신보강화학요법에 대한 반응을 보면 A군에서 반응군이 7예(46.7%), B군에서 반응군이 6예(40.0%), C군에서 반응군이 3예(20.0%)로 Pgp와 MRP 모두 발현이 없는 군이 신보강화학요법에 대해 반응군의 비율이 가장 높았으나 통계적인 유의성은 없었다($p=0.283$) (Table 3). Pgp, MRP 발현과 신보강화학요법에 대해 반응에 대한 이전의 연구를 보면 Peng 등은 3기 폐암 환자에서 화학요법에 대한 반응과 Pgp, MRP의 발현에 관한 보고에서, 화학요법 개시 전 Pgp, MRP 발현이 있는 경우 각각 44.4%, 28.6%의 화학요법 후 반응률을 보였다. (18)

명확하게 종양세포 내에서 ^{99m}Tc-MIBI의 배출기전을 설명할 방법은 없다. Matsui 등은 HeLa 세포를 이용하여 화학요법 약제와 ²⁰¹Tl, ^{99m}Tc-MIBI의 생체 조건 밖에서의 섭취 및 방출에 관한 연구에서, Actinomycin D 혹은 cisplatin을 투여하고 종양 세포를 배양시킨 후 세포 성장과 ²⁰¹Tl, ^{99m}Tc-MIBI의 동역학의 관계를 살펴보았는데, ²⁰¹Tl은 빨리 성장하는 종양 세포에서 WR의 감소를 보인 반면, ^{99m}Tc-MIBI는 HeLa 세포에서는 actinomycin D를 투여하여도 세포에서의 방출이 변하지 않았다고 하였다. 따라서 종양 세포 내에서 ^{99m}Tc-MIBI 배출 정도는 종양 세포의 성장 속도와는 관련이 없고 다약제 내성 Pgp의 양과 미토콘드리아의 잠재력에 영향을 받는다고 하였다. 그리고, 생체 내 종양세포의 ^{99m}Tc-MIBI 섭취 정도는 혈관 신생과 종양의 특성에 밀접한 관련이 있음을 발표하였다. (19)

본 연구에서는 조기(10분) 및 지연(3시간) ^{99m}Tc-MIBI 유방스

캔의 L/B ratio를 이용하여 ^{99m}Tc -MIBI의 WR을 구하였다. Fuster 등은 조기(10분) 영상의 병소 부위 방사능을 사용하였고, (20) Alonso 등(21)은 조기(10분) 및 지연(1시간) 영상의 L/B ratio를 사용하였으며, Kostakoglu 등(17)은 조기(30분) 및 지연(3시간) L/B ratio와 WR을 사용하였다. Ciarmiello 등(22)은 화학요법 후 반응 예측을 위해 ^{99m}Tc -MIBI의 WR을 구함에 있어서 4시간 이후의 영상은 시간 낭비이며 임상적으로 적합하지 않다고 하였으며, Takamura 등(23)은 조기 영상은 10분, 지연 영상은 2시간 뒤에 얻을 것을 주장하였다.

본 연구에서 ^{99m}Tc -MIBI의 WR과 화학요법에 대한 종양의 반응 정도와 대비시켜 보고자 하였다. WR은 비반응군이 $54 \pm 1.9\%$ 이고, 반응군이 $52.9 \pm 2.6\%$ 였다. 비반응군에 비해 반응군의 WR이 낮게 나왔으나 통계적인 유의성은 없었다($p=0.674$).

Fuster 등은 신보강화학요법을 시행한 40명의 유방암 환자를 대상으로 조기 영상(10분)의 ^{99m}Tc -MIBI 섭취와 Pgp 발현에 관해 연구하였다. Pgp 발현이 없는 군에서 조기 영상의 병소의 ^{99m}Tc -MIBI 섭취가 높은 것으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없었다. 화학요법에 대한 반응 여부에 있어서도 반응군에서 무반응군에 비해 ^{99m}Tc -MIBI의 섭취가 높은 것을 볼 수 있었다($p<0.001$). 또한 종양의 분화도가 좋을수록 섭취가 감소함을 볼 수 있었다. (20)

Alonso 등은 조기(10분) 및 지연(1시간) 영상을 이용하여 L/B ratio와 신보강화학요법에 대한 반응 예측 여부의 조사에서, 반응군이 조기 및 지연 영상의 L/B ratio가 의미있게 높음을 발표하였다. 조기 및 지연 영상의 L/B ratio를 측정하여 절단값을 각각 1.5, 1.4로 두었을 때 화학요법에 대한 ^{99m}Tc -MIBI 유방스캔의 예측능은 조기 영상에서 민감도 88.4%, 특이도 92.3%, 양성예측률 97.4%, 음성예측률 70.6%를 보였으며, 지연 영상에서 민감도 90.7%, 특이도 100.0%, 양성예측률 100.0%, 음성예측률 76.6%를 보였다. (21)

Kostakoglu 등에 의한 폐암에서 ^{99m}Tc -MIBI의 WR 및 L/B ratio와 Pgp 발현 정도의 비교 연구에서, Pgp의 발현 정도가 많을수록 L/B ratio가 작게 나타났다. 특히 Pgp 발현이 강하게 나타나는 군이 발현이 없거나 약한 군에 비해 L/B ratio가 의미있게 낮았으나($p=0.0006$), Pgp 발현 여부와 WR과의 직접적인 관련성을 찾기는 어렵다고 하였다. 이들은 암에 의해 괴사가 일어난 부위에서는 혈류가 부족하며 ^{99m}Tc -MIBI를 흡수하는데 충분한 미토콘드리아가 부족하므로 영상의학적 소견상 괴사가 있는 경우는 제외시켰다. (17)

^{99m}Tc -MIBI의 WR은 Pgp와 MRP 발현이 없는 군에서 가장 낮았고, Pgp와 MRP 모두에서 발현이 있는 군에서 가장 높았다($p=0.001$). 사후검정에서 A군과 B군의 WR은 통계적으로 의미 있는 차이가 없었으나($p=0.317$), C군은 나머지 A, B군과 비교시

WR의 차이가 의미있게 나타났다($p=0.001$). 이는 Pgp와 MRP의 발현이 보이는 경우 같은 운반 기질을 사용하는 ^{99m}Tc -MIBI의 세포밖 유출이 촉진되고 따라서 WR이 높을 것이라는 생각에 부합되는 것이다.

본 연구에서 유방의 침윤관암종에서 분자 수준의 Pgp와 MRP 발현 여부와 ^{99m}Tc -MIBI의 WR과의 상관 관계를 알아보고자 하였다. Pgp와 MRP가 모두 발현되는 군의 WR은 의미있게 차이가 났다. 향후 대규모 연구가 이루어진다면 ROC (receiver operating characteristic) 곡선 분석을 통하여 분자 수준의 Pgp와 MRP 발현 여부를 예측할 수 있는 ^{99m}Tc -MIBI의 WR의 절단값이 정해질 수 있을 것으로 생각된다. 이 값을 통하여 비침습적인 방법으로 Pgp와 MRP 발현을 예측하는데 어느 정도 도움을 줄 수 있을 것이다.

결론

유방의 침윤관암종으로 신보강화학요법을 시행한 환자들을 대상으로 조기 및 지연 ^{99m}Tc -MIBI 유방스캔을 실시하여 세척물을 구하고, 화학요법 후 종양의 반응, Pgp와 MRP의 발현을 조사하여 분자 수준에서 이와 관련한 근거를 탐구하고자 하였다.

본 연구에 유방의 침윤관암종 환자에서 신보강화학요법 후 반응 여부와 ^{99m}Tc -MIBI의 세척물과의 통계적인 유의성을 입증할 수는 없었으나 비반응군에서의 세척물이 반응군에 비해 더 높게 나타나는 경향을 보였다($p=0.674$). Pgp, MRP 발현 양상에 따른 ^{99m}Tc -MIBI의 세척물은 Pgp와 MRP 발현이 없는 군에서 가장 낮았고, Pgp와 MRP 모두에서 발현이 있는 군에서 가장 높았다($p=0.001$).

본 연구에서 유방의 침윤관암종 환자에서 ^{99m}Tc -MIBI의 세척물이 높게 나타나는 경우, 유방암 조직에서 Pgp와 MRP 모두 발현될 것으로 예측될 수 있을 것이나, ^{99m}Tc -MIBI의 세척물만으로 신보강화학요법 후 반응 여부를 예측하는 데에는 좀 더 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Wolmark N, Wang J, Mamounas E, Bryant J, Fisher B. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2001;30:96-102.
2. Endicott JA, Ling V. The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Annu Rev Biochem* 1989;58:137-71.
3. Dexter DW, Reddy RK, Geles KG, Bansal S, Myint MA, Rogakto

- A, et al. Quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction measured expression of MDR1 and MRP in primary breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 1998;4:1533-42.
4. Filipits M, Suchomel RW, Dekan G, Haider K, Valdimarsson G, Depisch D, et al. MRP and MDR1 gene expression in primary breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 1996;2:1231-7.
 5. Ito K, Fujimori M, Nakata S, Hama Y, Shingu K, Kobayashi S, et al. Clinical significance of the increased multidrug resistance-associated protein (MRP) gene expression in patients with primary breast cancer. *Oncol Res* 1998;10:99-109.
 6. Nooter K, Westerman AM, Flens MJ, Zaman GJ, Scheper RJ, van Wingerden KE, et al. Expression of the multidrug resistance-associated protein (MRP) gene in human cancers. *Clin Cancer Res* 1995;1:1301-10.
 7. Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ, Poplack DG, Gottesman MM, Pastan I. Expression of a multidrug-resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:265-9.
 8. Seok JW, Kim SJ, Kwak HS, Lee JW, Kim IJ, Kim YK, et al. Comparison of Ultrasound with ^{99m}Tc-MIBI scintimammography in the detection of breast cancer. *Kor J Nucl Med* 2002;36:177-84.
 9. Kim SJ, Kim IJ, Bae YT, Kim YK, Kim DS. Incremental diagnostic value of quantitative analysis of double phase Tc-99m MIBI scintimammography for the detection of primary breast cancer additive to visual analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2004;83:129-38.
 10. Chiu ML, Kronauge JF, Piwnica-Worms D. Effect of mitochondrial and plasma membrane potentials on accumulation of hexakis (2-methoxyisobutylisonitrile) technetium (I) in cultured mouse fibroblasts. *J Nucl Med* 1990;31:1646-53.
 11. Piwnica-Worms D, Chiu ML, Budding M, Kronauge JF, Kramer RA, Croop JM. Functional imaging of multidrug-resistant P-glycoprotein with an organotechnetium complex. *Cancer Res* 1993;53:977-84.
 12. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer* 1981;47:207-14.
 13. Podreka I, Suess E, Goldenberg G, Steiner M, Brucke T, Muller C, et al. Initial experience with technetium-99m HM-PAO brain SPECT. *J Nucl Med* 1987;28:1657-66.
 14. Rao VV, Chiu ML, Kronauge JF, Piwnica-Worms D. Expression of recombinant human multidrug resistance P-glycoprotein in insect cells confers decreased accumulation of technetium-99m-sestamibi. *J Nucl Med* 1994;35:510-5.
 15. Liu TJ, Shiau YC, Tsai SC, Wang JJ, Ho ST, Kao A. Predicting multidrug resistance-related protein and P-glycoprotein expression with technetium-99m tetrofosmin mammoscintigraphy. *Breast* 2003;12:58-62.
 16. Larkin A, O'Driscoll L, Kennedy S, Purcell R, Moran E, Crown J, et al. Investigation of MRP-1 protein and MDR-1 P-glycoprotein expression in invasive breast cancer: a prognostic study. *Int J Cancer* 2004 1;112:286-94.
 17. Kostakoglu L, Kiratli P, Ruacan S, Hayran M, Emri S, Ergun EL, et al. Association of tumor washout rates and accumulation of technetium-99m-MIBI with expression of P-glycoprotein in lung cancer. *J Nucl Med* 1998;39:228-34.
 18. Peng ZM, Luo J, Wang WB, Wang XH, Chen JH, Lan SM. Predictive value of drug resistance-related genes expression in neoadjuvant chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer of stage III. *Ai Zheng* 2004;23:963-7.
 19. Matsui R, Komori T, Namba R, Shimizu T, Sueyoshi K, Sano K, et al. In vitro uptake and release of Tl-201 and Tc-99m-MIBI in cultured tumor cells and effect of anticancer drug. *Radiat Med* 1998;16:187-94.
 20. Fuster D, Munoz M, Pavia J, Palacin A, Bellet N, Mateos JJ, et al. Quantified ^{99m}Tc-MIBI scintigraphy for predicting chemotherapy response in breast cancer patients: factors that influence the level of ^{99m}Tc-MIBI uptake. *Nucl Med Commun* 2002;23:31-8.
 21. Alonso O, Delgado L, Nunez M, Vargas C, Lopera J, Andruskevicius P, et al. Predictive value of ^{99m}Tc sestamibi scintigraphy in the evaluation of doxorubicin based chemotherapy response in patients with advanced breast cancer. *Nucl Med Commun* 2002;23:765-71.
 22. Ciarmiello A, Del Vecchio S, Silvestro P, Potenza MI, Carriero MV, Thomas R, et al. Tumor clearance of technetium 99m-sestamibi as a predictor of response to neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:1677-83.
 23. Takamura Y, Miyoshi Y, Taguchi T, Noguchi S. Prediction of chemotherapeutic response by Technetium 99m-MIBI scintigraphy in breast carcinoma patients. *Cancer* 2001;92:232-9.