

유방암에서 I¹²³ Estradiol을 이용한 에스트로젠 수용체 스캔의 적용

원자력병원 외과, ¹핵의학과

박광인 · 노우철 · 이령아 · 최창운¹ · 방호윤 · 황대용 · 최동욱 · 이종인 · 백남선 · 문난모

Imaging of Estrogen Receptors with Iodine-123-labeled Estradiol in Primary Breast Cancer Patients

Kwang-In Park, M.D., Woo-Chul Noh, M.D., Ryung-Ah Lee, M.D., Chang-Woon Choi, M.D.¹, Ho-Yoon Bang, M.D., Dae-Yong Hwang, M.D., Dong-Wook Choi, M.D., Jong-Inn Lee, M.D., Nam-Sun Paik, M.D. and Nan-Mo Moon, M.D.

Departments of Surgery and ¹Nuclear Medicine, Korea Cancer Center Hospital, Seoul, Korea

Purpose: We evaluated the feasibility of non-invasive imaging of estrogen receptors (ER) in primary breast cancer with iodine-123-labeled ER specific ligand (17 α ,20E)-21-[¹²³I] iodo-19-nonpregna-1,3,5-(10), 20-tetraene-3, 17-diol using conventional nuclear medicine technique.

Methods: Before they underwent surgical management, planar scintigraphy and single-photon emission computed tomography (SPECT) were performed in 18 patients with proven primary breast cancer, after single IV injection of 5~10 mCi I-123-estradiol. The results were compared with those of immunohistochemical staining against ER of the surgical specimens.

Results: Planar and SPECT imaging showed hot uptake in nine of eighteen (50%) breast cancer patients. The results of ER immunohistochemistry were all positive in these patients. In the 9 cases of negative scintigraphy, 8 showed negative staining results but one showed positive staining results. Therefore, the overall concordance rate of ER scintigraphy and ER immunohistochemistry was 94.4% (17/18).

Conclusion: ER scintigraphy using I-123-estradiol is a highly predictable *in vivo* technique to detect ER-positive breast cancer preoperatively. It has potential application as a re-

liable diagnostic modality and indicator of hormone therapy for breast cancer patients. (*Journal of Korean Breast Cancer Society* 2002;5:108-112)

Key Words: Breast cancer, Estrogen receptor, Scintigraphy
중심 단어: 유방암, 에스트로젠 수용체, 영상검사법

서론

에스트로젠 수용체(ER)는 핵막에 위치하는 스테로이드 수용체의 일종으로 에스트로겐의 영향을 받아 유방 세포의 분화와 증식을 조절한다. 따라서 유방암에서 ER의 상태는 중요한 예후인자이며 또한 보조 호르몬 요법의 효과를 예측하는 중요한 요소이다. ER이 양성인 경우 수술 후 호르몬 요법에 대한 반응이 좋고, 무병 생존기간이 ER 음성인 경우보다 길며 생존율도 높은 것으로 보고되어 있다.(1-3)

ER의 측정은 일반적으로 면역조직화학법(Immunohistochemistry, 이하 IHC)이나 Dextran Coated Charcoal Assay (이하 DCCA) 법이 사용되고 있다. DCCA법은 정량적으로 ER의 양을 측정하게 되는데 민감도가 높은 반면 많은 양의 조직이 필요하고 수술 직후 급속 냉각하지 않으면 변성이 되므로 특수 저장 장치가 필요하므로 번거롭다는 단점이 있다.(4,5) 이에 비해 IHC는 소량의 조직으로도 검사가 가능하며 암세포의 heterogeneity를 알 수 있다는 장점이 있으나 DCCA법에 비해 민감도가 낮다.(6-8) 또한 이 두 가지 방법은 모두 조직의 절제 후에 이루어지는 *in vitro* technique으로 생체상태에서의 ER의 발현 양상을 반영하는 것은 아니다. 또한 절제나 생검 등 조직을 일부 채취하여야만 검사를 할 수 있으므로 이런 기술이 어려운 경우나 수술 후의 추적 조사기간에는 그 변화를 확인할 수 없다. 따라서 영상진단 등의 비침습적인 방법으로 ER 상태를 파악할 수 있다면 호르몬 치료에 대한 반응을 monitoring할 수 있으므로 보다 효과적인 치료방침을 세울 수 있을 것으로 생각된다.

(17 α ,20E)-21-[¹²³I]iodo-19-nonpregna-1,3,5-(10),20-tetraene-3,17-diol (이하, I-123-estradiol)은 본원에서 합성한 방사성 동위원소인 ¹²³I을 덧붙인 에스트로겐의 유도체로서 rat에서 그 섭취율을 보고한 바 있다.(9)

책임저자 : 노우철, 서울시 노원구 공릉동 215-4

☎ 139-240, 원자력병원 외과

Tel: 02-970-1221, Fax: 02-978-2005

E-mail: nohwoo@kcch.re.kr

접수일 : 2002년 2월 18일, 게재승인일 : 2002년 3월 26일

이 논문은 과학기술부 원자력 중장기사업지원금의 보조로 수행되었음.

이 논문의 요지는 2001년 제3회 아시아 유방암학회에서 구연발표하였음.

저자들은 I-123 estradiol을 정주 후 scintigraphy를 실시하여 실제로 유방암 환자에서 ER 상태를 측정해 보고 그 결과를 절제 조직을 이용한 IHC 방법의 결과와 일치하는지 확인하여 추후 임상적 유용성이 있는지 확인하고자 본 연구를 실시하였다.

방 법

1) 연구대상

1999년 6월부터 2000년 3월까지 원자력병원 외과에서 유방암으로 진단받은 환자 중에서 무작위로 18명을 연구대상으로 선정하였다. 환자들은 수술 전 세침흡입검사를 이용하여 모두 유방암으로 확진된 경우로 유방수술의 과거력이 있거나 재발된 경우, 원격 전이가 의심되는 경우, 수술적 절제가 불가능한 경우는 제외하였다.

2) I-123 estradiol scintigraphy

I-123 estradiol scintigraphy는 근치적 수술이 시행되기 2일 전에 실시되었다. 상완부 정맥을 이용하여 I-123 estradiol을 5~10 mCi를 서서히 정맥주사하고 1시간 동안 안정을 취한 뒤 감마카메라를 이용하여 흉부전면상 및 SPECT 사진을 촬영하였다. 사진의 판독은 핵의학과 전문의에 의해 실시되었으며 사진에서 종양 부위가 주위 조직에 비하여 진하게 나타나는 경우(hot nodule)를 양성으로 판정하였으며 중앙부위가 주위조직과 차이가 없거나(warm nodule) 냉결절(cold nodule)로 나타나는 경우를 음성으로 판정하였다.

3) 면역조직화학 염색

대상 환자들의 근치수술 후 절제 조직에 대한 파라핀 포매 조직을 이용하여 ER에 대한 면역조직화학법을 통상적인 방법으로 실시하였다. 사용된 항체는 ER에 대한 단클론 항체(Dako Co)였다. 파라핀 조직을 4 μ m 두께로 절편하여 유리 슬라이드에 부착하고 xylene으로 탈파라핀화한 후 0.3% H₂O₂ 용액으로 재가수화하였다. 10⁻³ M sodium citrate buffer에 담근 후 pressure cooker에 한 시간 동안 두었다가 서서히 냉각시키고 PBS로 세척하였다. Biotylated anti-mouse immunoglobulin과 streptavidin을 상온에서 30분간 반응시킨 후 발색을 위해 Alkaline phosphatase enzyme conjugate로 염색하고 hemotoxilin으로 대조염색을 실시하였다. 진한 적색으로 발색된 부위를 양성으로 판정하였는데 판독은 해부병리 전문의가 시행하였다. ER 상태는 보편적인 판독 기준에 근거하여 전체 조직당 5% 이상의 염색이 된 경우를 ER양성으로 판독하였고 그 정도를 1+에서 3+로 표기하였으며 5% 미만의 염색률을 보인 경우를 음성으로 판독하였다.

통계적인 방법은 Student t-test를 이용하였고, P값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 의미가 있는 것으로 간주

하였다.

결 과

환자들은 모두 여자였으며 연령분포는 28세에서 67세까지였고 평균연령은 48.5세였다. 종양의 크기는 직경 1 cm부터 9 cm까지 분포되어 있었으며 평균 크기는 3.41 cm이었다. 조직학적으로는 17예가 침윤성 관상피암이었고 1예는 침윤성 관상피암과 소엽암이 혼재된 복합형인 경우였다. AJCC 체계에 따른 병기는 I기가 2예(11.1%), IIA기가 4예(22.2%), IIB기가 6예(33.3%), IIIA기가 5예(27.8%), IIIB기가 1예(5.6%)였다(Table 1). 환자들의 임상병리적 특징과 I-123 estradiol scintigraphy 결과 그리고 ER에 대한 면역조직화학 염색 결과를 Table 2에 요약하였다.

I-123 estradiol scintigraphy 시행 중 검사에 대한 부작용은 관찰되지 않았고 18예에서 모두 만족할 만한 영상을 얻을 수 있었다. 흉부영상에서는 폐에서의 I-123 estradiol 섭취율이 낮아 유방 부위의 ER 발현 양상을 용이하게 비교 확인할 수 있었으며 전신영상에서는 간, 담낭, 장관에서 I-123

Table 1. The associated condition of the patients

	n (%)
Age	
<50	9 (50)
≥50	9 (50)
Menstrual status	
Pre-menopause	11 (61)
Post-menopause	7 (39)
Mass size	
<2 cm	3 (17)
2~5 cm	12 (66)
>5 cm	3 (17)
Type of surgery	
Total mastectomy	17 (94)
Partial mastectomy	1 (6)
Axillary lymphnode metastasis	
Negative	5 (28)
Positive	13 (72)
Disease stage	
I	2 (11.1)
II _A	4 (22.2)
II _B	6 (33.3)
III _A	5 (27.8)
III _B	1 (5.6)
Pathology	
Infiltrating ductal ca.	17 (94)
Mixed type*	1 (6)

*mixed infiltrating lobular and ductal ca.

Table 2. Characteristics of patients with a primary breast cancer and results of I-123 estradiol scintigraphy

Patient no.	Age, years	Tumor size (cm)	Classification*	ER IHC [†]	ER Scan [‡]
1	54	3.5	T1N0M0	++	+
2	72	3	T2N1M0	++	+
3	58	1	T1N0M0	-	-
4	38	2.5	T2N1M0	+++	+
5	38	2	T2N0M0	-	-
6	48	3	T2N0M0	-	-
7	51	2	T2N1M0	-	-
8	35	7	T4N2M0	-	-
9	67	2	T2N1M0	++	+
10	41	3	T2N2M0	+++	+
11	58	2.5	T2N0M0	-	-
12	51	4	T2N1M0	+++	+
13	57	1	T1N1M0	+++	+
14	44	3	T2N2M0	++	-
15	28	8	T3N2M0	-	-
16	41	3	T2N2M0	-	-
17	61	4	T2N1M0	++	+
18	31	9	T3N2M0	+++	+

*T1 = ≤ 2 cm; T2 = $>$ to 5 cm; T3 = > 5 cm; T4 = tumor of any size with direct extension to chest wall or skin; N0 = no axillary lymph node metastasis; N1 = spread to movable ipsilateral axillary lymph node; N2 = spread to ipsilateral axillary lymph node fixed to one another or to other structures; [†] - = negative staining; ++ = intermediate staining; +++ = strong staining; [‡] - = warm nodule or cold nodule; + = hot nodule; [§] mixed infiltrating lobular and ductal ca.

estradiol의 섭취율이 높아서 미만성 열결절을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). I-123 estradiol scintigraphy을 시행한 18명 중 9명(50%)의 예에서 종괴에 ER 양성염영을 관찰할 수 있었으나 나머지 9명에서는 유방 부위에 섭취의 증가가 관찰되지 않아 음성으로 판독되었다(Fig. 2). 면역조직화학 염색에 의한 ER 상태와 비교해 볼 때 I-123 estradiol scintigraphy에서 양성으로 판정된 9명의 경우는 면역조직화학검사 결과 모두 ++ 이상의 양성으로 판독되었으며 음성으로 판정된 9명 중 8명은 음성으로, 1명은 ++의 양성으로 판독되었다. 이 결과에 따라 면역조직화학검사와 I-123 estradiol scintigraphy의 일치율은 94.4% (17/18)로 매우 높게 측정되었다. 두 검사 소견이 일치하지 않았던 한 예는 44세의 종괴의 크기가 4.5 cm인 우측 유방암 환자로 근치적 유방절제술을 시행받았으며 림프절 전이는 양성이었으며 주위조직에 고정된 양상을 보여 T2N2M0의 병기 IIIA인 경우였다. 환자의 I-123 estradiol scintigraphy 사진에서는 유방 부위의 섭취율 증가가 확인되지 않았으나 조직의 면역조직화학적 염색 소견에

Table 3. Expression of I-123 estradiol scintigraphy related to known prognostic factors

	ER scanning		P-value
	Positive scanning (%) (n=9)	Negative scanning (%) (n=9)	
Age			<0.01
< 50	3 (33.3)	6 (66.7)	
≥ 50	6 (66.7)	3 (33.3)	
Lymph node involvement			<0.01
Negative (n=5)	1(20)	4 (80)	
Positive (n=13)	8 (61.5)	5 (38.5)	
Tumor size			<0.01
< 5 cm (n=15)	8 (53.3)	7 (46.7)	
≥ 5 cm (n=3)	1 (33.3)	2 (66.7)	

서는 양성 소견을 보였다(증례 14). I-123 estradiol scintigraphy 결과에 따른 유방암의 예후 인자에 대한 분석을 하였다. 50세 이상인 경우 양성률이 유의하게 높게 나타났으며, 액와 임파절 전이가 있거나 종양의 크기가 5 cm 이하인 경우 양성률이 유의하게 높은 결과를 보였다(Table 3).

고 찰

유방암이 호르몬 의존성 암이라는 것이 1835년 Atley cooper에 의해 밝혀지고, Jensen (1972) 등이 '유방조직내의 estrogen binding protein의 존재여부를 측정하면 치료효과를 판정하는 데 도움이 될 것이다' 라고 보고한 이래로, ER은 정상 유방조직의 성장과 분화에 필수적인 조절인자이며, ER은 정상유방조직에서는 낮게 측정되지만 유방암조직에서는 높게 측정될 수 있으며, ER의 존재 유무는 호르몬 치료를 결정하는 기준이 되고 유방암의 중요한 예후인자임이 알려졌다.(1,10,11) 전체 유방암 환자의 55~65%에서 ER이 발현되며 전이성 유방암 환자에서는 50% 내외에서 ER이 발현된다고 한다.(1) 현재 ER의 측정은 DCCA와 면역조직화학적 검색법 두 가지가 보편적으로 사용되고 있다. DCCA는 ER을 정량적으로 측정하는 방법으로, ER에 대한 호르몬의 결합능력을 femtomole (10^{-15} mole) 단위로 표시한 것이다. 이 방법은 최소한 1 gm의 유방암 조직이 필요하고 암을 적출한 후 변성을 막기 위해 -70°C 이하의 냉동보관이 필요하다. 면역조직화학적검색법은 소량의 검체에서도 검사가 가능하고 세침흡입술로 얻은 검체에서도 가능한 검색법이며 이용도가 증가하고 있으나 주관적, 비정량적 방법이고 DCCA보다 민감도가 떨어진다는(12) 결국, 이 두 가지 검사법 모두 검체로서 조직이 필요하고 in vitro 검사라는 단점이 있으며 또한 이 두 검사의 일치율이 60~80% 정도로 보고되며(국내, 노 등(13)은 69%를 보고), ER 양성

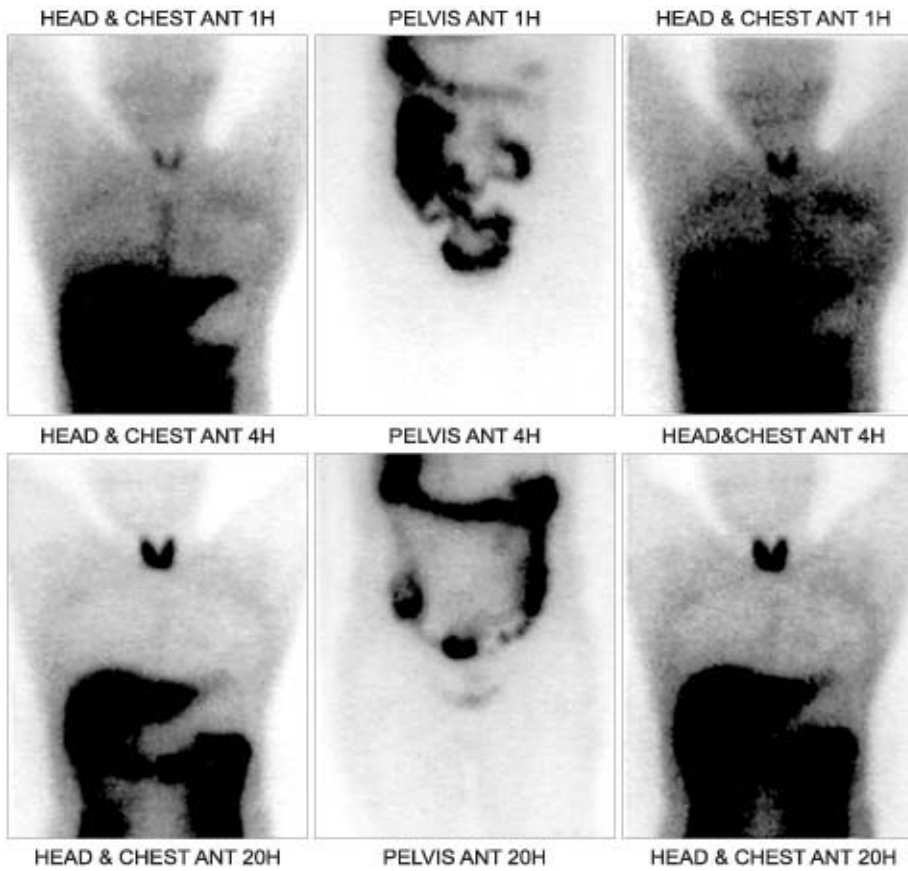


Fig. 1. Normal I-123 estradiol scintigraphy (1 hour after injection of I-123 estradiol).

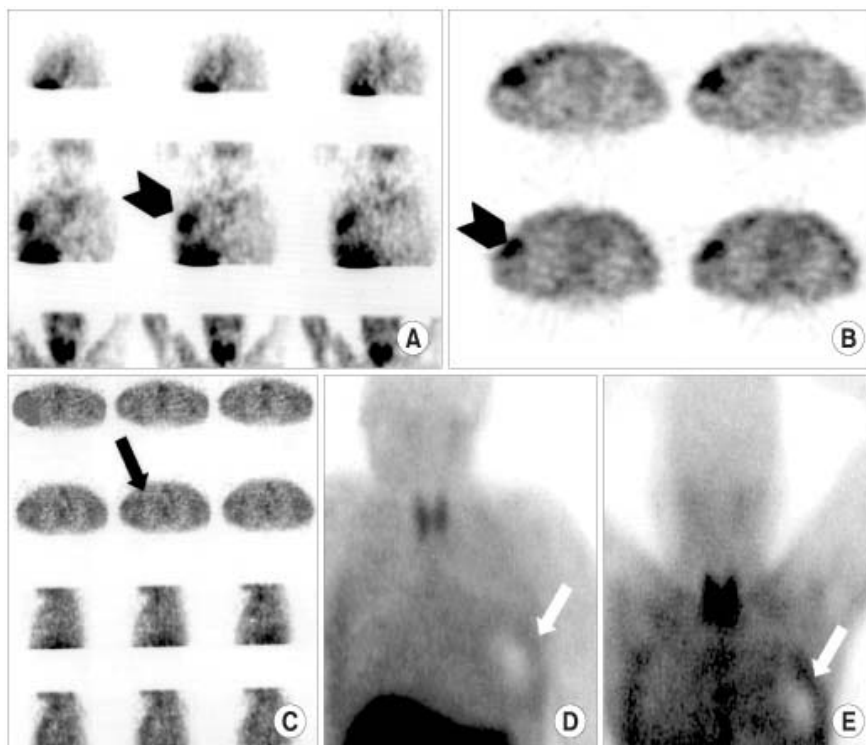


Fig. 2. I-123 estradiol scintigraphy. (A) Coronal and (B) Transverse SPECT images (1 hour after injection of I-123 estradiol) show hot uptake in the primary breast cancer (arrow head), (C) Transverse and sagittal view of negative ER image (warm nodule indicated by black arrow). (D, E) Coronal view of negative ER image (cold nodule indicated by white arrow).

환자 중 55% 정도만 호르몬 치료에 반응을 보이며 ER 음성인 환자 중에서도 10% 정도는 호르몬 치료에 효과를 나타내는 것으로 보아서 지금까지의 검사방법이 유방암의 ER 상태를 완전히 반영한다고는 할 수 없다. 이러한 결과를 보완하기 위한 방법으로 지금까지 비침습적이고 기능적인 영상진단에 의한 원발암 및 전이성 유방암의 ER 상태를 평가하기 위한 많은 논문들이 보고되고 있다. Dehdashti 등(14)은 16α - ^{18}F fluoro- 17β estradiol (^{18}F -FES)를 이용한 Positron emission tomography (PET)와 in vitro ER 검사의 일치율이 원발암에서 82%, 전이성 유방암에서 94%였다고 보고하였다. 또, McGuire 등(15)은 ^{18}F -FES PET 검사가 원발성 유방암과 전이성 유방암의 발견에 유용하고 ER 검색에도 높은 민감도를 보였으며, 이들 병소의 호르몬 치료에 대한 반응 여부를 판정하는 데 효과적인 방법이 될 수 있다고 보고하였다. 그러나 높은 검사비용과 ^{18}F 의 짧은 반감기 때문에 효용성이 제한적이라 할 수 있다. Rijks 등(16)은 원발성 유방암에서 저자들과 비슷한 ^{123}I 표지된 estradiol 유도체를 이용한 ER 스캔 결과 IHC와 90%의 일치율을 보고하였으나, 유방암조직과 주위 정상조직 간의 대조도 면에서 저자들이 사용한 본원에서 합성된 I-123 estradiol을 이용한 ER 스캔이 좀 더 나은 결과를 보였다. 이러한 결과는 ^{123}I 표지된 estradiol 유도체들의 ER 양성 세포에 대한 흡수율의 차이에서 기인한다 할 수 있다. 저자 등은 I-123 estradiol을 이용한 스캔에서 우수한 대조도 및 94.4%의 IHC와의 일치율을 얻을 수 있었지만, 더 많은 대상에 대한 연구 분석이 필요하다고 생각되며, 앞으로 수술 전 액와임파절 전이, 전이 병소 및 호르몬 치료의 반응양상에 대한 ER 스캔의 효용성에 대한 연구가 이루어진다면 I-123 estradiol을 이용한 ER 스캔이 유방암 치료에 유용하게 이용될 수 있으리라 기대한다.

결 론

I-123 estradiol scintigraphy는 유방암 환자에서 ER 상태를 확인할 때 조직을 생검할 필요없이 in vivo 상태에서 비침습적으로 실시할 수 있는 새로운 영상방법이다. 이 방법을 이용하여 유방암 환자의 수술적 치료 전에 ER 상태를 확인할 수 있으며 근치 수술 이후 호르몬 치료의 효과 판정 등에도 사용이 가능하므로 ER 양성 환자의 치료에 큰 도움이 될 수 있으리라 생각된다.

REFERENCES

- 1) The Korean Breast Cancer Society. The Breast 1st ed. Seoul: Ilchokak; 1999.
- 2) Wagner RK, Jungbult PW. Oestradiol and dihydrotestosterone receptors in normal and neoplastic human mammary tissue. *Acta Endocrin* 1976;82:105-9.
- 3) King WJ, Greene GL. Monoclonal antibodies localize oestrogen receptor in the nuclei of target cells. *Nature* 1984;307:745-7.
- 4) Jungbult PW, Hughes S, Hughes A, Wagner RK. Evaluation of various methods for the assay of cytoplasmic oestrogen receptors in extracts of calf uteri and human breast cancer. *Acta Endocrin* 1972;70:185-91.
- 5) Andersen JT, Orntoft, Poulsen JS. Semiquantitative oestrogen receptor assay in for malin-fixed paraffin sections of human breast cancer tissue using monoclonal antibodies. *Br J Cancer* 1986;53:691-4.
- 6) King WJ, DeSombre ER, Jensen EW, Greene GL. Comparison of immunocytochemical and Steroidbinding assays for estrogen receptor in human breast tumors. *Cancer Res* 1985;45:293-304.
- 7) Gorm S, Pedersen KO, Paulsen SM. Estrogen receptor analysis in breast cancer. Comparison of monoclonal immunohistochemical and biochemical methods. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989;25:1425-9.
- 8) Louis PP, Einsberg KB, Carter AC, Eeldman JG. Immunohistologic localization of estrogen receptors in breast cancer with monoclonal antibodies. *Cancer* 1985;55:1513-8.
- 9) Kim SW, Yang SD, Suh YS, Chun KS, Ahn SH, Lim SJ, et al. A study on the synthesis, labeling and its biodistribution of estradiol derivatives. *Korean J Nucl Med* 2000;34:403-9.
- 10) Clark GM, Sledge GW Jr, Osborne CK, McGuire WL. Survival from first recurrence. Relative importance of prognostic factors in 1,015 breast cancer patients. *J Clin Oncol* 1987;5:55-61.
- 11) Rose C, Thorpe SM, andersen KW, Pedersen BV, Mouridsen HT, Toft MB, et al. Beneficial effect of adjuvant tamoxifen therapy in primary breast cancer patients with high oestrogen receptor values. *Lancet* 1985;1:16-9.
- 12) Jorn A, Thore SM, King WJ, Rose C, Christensen I, Rasmussen BB, Paulsen HS. The prognostic value of immunohistochemical estrogen receptor analysis in paraffin-embedded and frozen sections versus that of steroid-binding assays. *Eur J Cancer* 1990;26:442-9.
- 13) Noh DY, Han SH, Choe KJ, Kim JP, Lee MC, Park SH. Comparison of biochemical assay and immunohistochemical assay of estrogen receptor in breast carcinomas. *Journal of Korean Cancer* 1991;23(4):749-54.
- 14) Dehdashti F, Mortimer JE, Siegel BA, Griffeth LK, Bonasera TJ, Fusselman MJ, et al. Positron tomographic assessment of estrogen receptors in breast cancer. Comparison with FDG-PET and in vitro receptor assays. *J Nucl Med* 1995;36:1766-74.
- 15) McGuire AH, Dehdashti F, Siegel BA, Lyss AP, Brodack JW, Mathias CJ, et al. Positron tomographic assessment of 16α - ^{18}F fluoro- 17β -estradiol uptake in metastatic breast carcinoma. *J Nucl Med* 1991;32:1526-31.
- 16) Rijks LJM, Bakker PJM, Tienhoven G, Noorduyt LA, Boer GJ, Rietroek RC, et al. Imaging of Estrogen Receptors in Primary and Metastatic Breast Cancer Patients with Iodine-123-Labeled Z-MIVE. *J Clin Onc* 1997;15(7):2536-45.