

shRNA를 이용한 다약제내성 유전자 Silencing

경북대학교병원 핵의학과¹, 경북대학교병원 내분비내과²

안순주^{*}, 류민정¹, 윤선미¹, 최승희¹, 안병철¹, 이인규², 이재태¹, 이규보¹

목적: 다약제내성(MDR) 유전자의 발현은 항암요법 실패의 중요 원인 가운데 하나로 알려져 있다. 본 연구는 RNA interference를 이용하여 MDR 유전자를 발현하는 세포에서 MDR 유전자의 silencing을 유도하고, 다약제내성 유전자의 발현 억제 효과를 분자영상기법으로 확인할 수 있는 유전자 construct를 구축하고자 시행되었다. **방법:** 사용한 세포주는 인위적으로 다약제내성을 발현 정도를 증가시킨 인체대장암세포주인 HCT 15/CL02 세포주를 RPMI 1640 media, 10% FBS 조건에서 배양하여 사용하였다. 먼저 MDR1 유전자에 대한 shRNA (5-GGAAAAGAAACCAACUGUCdTdT (sense), dTdTCCUUUU CUUUGGUUGACAG-5 (antisense))을 제작하였고, GFP가 발현되는 pRNAT H1.1 벡터에 넣어 HCT 15/CL02 세포에 transfection 시켰다. 대조군 세포인 HCT 15/CL02 세포와 MDR shRNA이 transfection된 HCT 15/CL02 세포를 24hr, 48hr 배양한 뒤 mRNA 수준에서 다약제내성 발현을 차이를 알아보기 위해 RT-PCR을 시행하였다. 또한 MDR shRNA transfection에 의해 항암제 저항성 변화를 알아보기 위하여 25 μ mol의 Doxorubicin을 처리 한 후 1hr, 2hr 뒤 GFP의 발현 정도를 비교하였다. **결과:** MDR shRNA 유전자를 클로닝하였으며, MDR shRNA와 GFP가 동시에 발현되는 pRNAT H1.1 벡터를 제작하였다. MDR shRNA가 transfection된 HCT 15/CL02 세포는 그렇지 않은 세포에 비하여 MDR1 mRNA level이 감소하였다. 또한 MDR shRNA가 transfection된 HCT 15/CL02 세포는 그렇지 않은 세포에 비하여 25 μ mol doxorubicin 처리 시 green fluorescence가 감소하였다. g resistance가 있는 cell에 비해 GFP 발현 cell이 감소함을 확인할 수 있었다. 이 결과로 MDR gene silencing에 의해 항암제에 대한 감수성이 증가되었음을 알 수 있었다. **결론:** MDR shRNA를 이용하여, 다약제내성 유전자의 silencing을 유도할 수 있음을 알 수 있었고, 다약제내성 유전자를 post-transcription step에서 knock down시키면 다약제내성 발현 악성세포가 항암제 치료시 감수성이 높아짐을 알 수 있었다. 또한 GFP를 분자영상기법을 동시에 이용하면 다약제내성 억제효과를 쉽게 평가할 수 있음을 알 수 있었다.

N-13 Ammonia를 이용한 관류섭취율과 심근혈류의 불일치 측정

전남대학교병원 핵의학과¹, 서울대학교병원 핵의학과², 전남대학교병원 순환기내과³

이병일^{*}, 김수진², 김정영¹, 김계훈³, 민정준¹, 송호천¹, 범희승¹

목적: N-13 암모니아는 심근혈류 측정에 유용한 방사성의약품으로 최근 국내에 도입된 PET/CT를 이용하여 비침습적으로 정량적인 검사를 시행 할 수 있다. 이 연구에서는 PET/CT를 이용하여 게이트영상과 동적영상으로부터 심근관류영상과 혈류를 측정하고, 관류섭취율의 분포 및 혈류량의 분포에 대해 평가하였으며, 두 지표사이에 불일치에 대해 분석하였다. **방법:** 다혈관질환으로 스탠트 시술을 받은 환자 7명(남, 59 \pm 10세)을 대상으로 N-13 암모니아를 이용하여 검사를 시행하였다. 영상획득을 위하여 N-13 암모니아 0.3 mCi/kg를 15초간 순간주사하면서 동시에 동적영상을 6분간(5초씩 12회, 10초씩 6회, 20초씩 3회, 30초씩 6회) 획득하고 이어서 게이트 영상을 13분간 획득하였다. 부하기 영상에 미치는 영향을 제거하기 위해 50분 후에 부하기 영상을 얻었다. 아데노신을 이용하여 약물부하를 시행하였으며, 부하 후 3분부터 동일한 방식으로 영상을 획득하였다. QGS와 QPS에서 심근관류와 심기능평가를 수행하였고, ROI 방법을 이용하여 9개 영역에서 시간-방사능 곡선을 추출하여 추적자 동역학에 의한 심근혈류를 분석하였다. **결과:** 대상자의 구혈률은 부하기에서 41.3 \pm 13.8%, 휴식기에서 44.3 \pm 15.4%였다. 영역별 관류는 휴식기에서 74.0 \pm 13.8%, 부하기에서 66.8 \pm 17.9% 였으며, 심벽움직임은 휴식기에서 5.17 \pm 2.6 mm, 부하기에서 4.9 \pm 2.9 mm이었다. 영역별 휴식기 심근혈류와 부하기 심근혈류는 각각 0.87 \pm 0.43 ml/min/g, 2.02 \pm 1.00 ml/min/g 로 유의한 차이가 있었다(P<0.0001). 전체 63분절 중에서 휴식기 관류가 60% 보다 크면서 휴식기 심근혈류가 0.5 ml/min/g 보다 작은 영역은 9.5% (n=6, MBF=0.36 \pm 0.11 ml/min/g, perfusion=71.0 \pm 9.0%)였으며, 부하기 관류가 60%보다 크면서 부하기 심근혈류가 1.5 ml/min/g 보다 작은 영역은 22% (n=14, MBF=1.08 \pm 0.31 ml/min/g, perfusion=73.4 \pm 7.1%)였다. **결론:** 심근관류섭취율을 나타내는 관류점수가 정상으로 평가되면서 심근혈류가 낮은 영역이 휴식기보다 부하기에서 더 많았다. 관류의 상대적인 평가가 혈류가 낮은 영역에 대해 불일치하고 있음을 알 수 있었다. 이는 상대적으로 가장 높은 관류섭취를 보이는 심근에서도 심근혈류량이 낮기 때문에 나타나는 현상이며, 따라서, 다혈관질환 환자의 심근관류를 정확하게 평가하기 위해서는 심근혈류량을 측정하는 것이 필요하다고 판단되었다.