

## 다양한 사람 종양세포주에서 F-18-FDG의 섭취와 Hexokinase 활성 및 Glut-1 발현과의 상관관계

서울대학교 의과대학 핵의학교실,<sup>1</sup> 암연구소<sup>2</sup>

김보광<sup>1,2</sup> · 정준기<sup>1,2</sup> · 이용진<sup>1,2</sup> · 최용운<sup>1,2</sup> · 정재민<sup>1,2</sup> · 이동수<sup>1</sup> · 이명철<sup>1</sup>

### The Relationship between F-18-FDG Uptake, Hexokinase Activity and Glut-1 Expression in Various Human Cancer Cell Lines

Bo Kwang Kim, M.S.,<sup>1,2</sup> June-Key Chung, M.D.,<sup>1,2</sup> Yong Jin Lee, M.S.,<sup>1,2</sup> Yong Woon Choi, B.S.,<sup>1,2</sup>  
Jae Min Jeong, Ph.D.,<sup>1,2</sup> Dong Soo Lee, M.D.<sup>1</sup> and Myung Chul Lee, M.D.<sup>1</sup>

Department of Nuclear Medicine,<sup>1</sup> Cancer Research Institute,<sup>2</sup>  
Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

#### Abstract

**Purpose:** To investigate the mechanisms related to F-18-FDG uptake by tumors, F-18-FDG accumulation was compared with glucose transporter-1 (Glut-1) expression and hexokinase activity in various human cancer cell lines. **Materials and Methods:** Human colon cancer (SNU-C2A, SNU-C4, SNU-C5), hepatocellular carcinoma (SNU-387, SNU-423, SNU-449), lung cancer (NCI-H522, NCI-H358, NCI-H1299), uterine cervical cancer (HeLa, HeLa 229, HeLa S3) and brain tumor (A172, Hs 683) cell lines were used. After 24 hr incubation of  $5 \times 10^5$  cells, 37 kBq F-18-FDG was added and the uptake by cells at 10 min was measured using a gamma counter. Hexokinase activity was measured by continuous spectrophotometric rate determination. To measure mitochondrial hexokinase activity, mitochondrial fraction was separated by a high speed centrifuge. Immunohistochemical staining of Glut-1 was performed, and graded as 0, 1, 2, or 3 according to expression. **Results:** There was difference among F-18-FDG uptake, total and mitochondrial hexokinase activity, and Glut-1 expression with different cancer cell lines. The correlations of F-18-FDG with total hexokinase and mitochondrial hexokinase activity were low ( $r=0.27$  and  $0.26$ , respectively). Glut-1 expression showed a good correlation with F-18-FDG uptake ( $\rho=0.81$ ,  $p=0.0015$ ). Previously, we reported no correlation of F-18-FDG uptake with hexokinase activity in colon cancer cell lines. Thus, when colon cancer cells were excluded, F-18-FDG uptake showed higher correlation with total hexokinase and mitochondrial hexokinase activity ( $r=0.81$ ,  $p=0.0027$  and  $r=0.81$ ,  $p=0.0049$ , respectively). **Conclusion:** Both Glut-1 expression and hexokinase activity were contributing factors related to F-18-FDG accumulation in human cancer cell lines. The relative contribution of Glut-1 expression and hexokinase activity, however, was different among different cancer cell types. (**Korean J Nucl Med 2000;34:294-302**)

**Key Words:** Cancer cells, F-18-FDG, Hexokinase, Glucose transporter, Mitochondria

Received Apr 21, 2000; revision accepted Aug 10, 2000

Corresponding Author: June-Key Chung, M.D., Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, 28 Yongon-dong Chongno-gu, Seoul 110-744, Korea

Tel: 02-760-3376, Fax: 02-745-7690, E-mail: jkchung@plaza.snu.ac.kr

## 서 론

종양세포는 정상세포보다 해당작용이 항진되어 있어 포도당 섭취가 증가되어 있다.<sup>1,2)</sup> 이러한 현상을 이용하여 포도당 유사체인 F-18-fluorodeoxyglucose (FDG)를 사용한 양전자단층촬영술(positron emission tomography, PET)로 악성종양을 영상진단하고 있으며, 진단의 예민도와 정확도가 높다. 종양세포에서 F-18-FDG 섭취가 증가되는 이유로 포도당운반체(glucose transporter; Glut) 발현의 증가와 hexokinase 활성의 증가 또는 glucose-6-phosphatase 활성의 감소 등이 관여한다고 보고되어 있다.<sup>3-7)</sup>

뇌종양, 두경부암, 식도암, 위암, 폐암, 유방암, 대장암, 췌장암, 자궁암 등에서 Glut-1의 발현이 증가한다고 보고되었으며,<sup>8)</sup> 폐암, 위암, 난소암 등 몇 가지 암세포의 일부에서는 Glut-3의 증가가 보고되었다.<sup>9)</sup> 특히 몇 가지 암에서는 암조직 내 Glut-1의 발현 증가량이 FDG 섭취 정도와 밀접한 상관관계가 있다고 보고되었다.

암세포는 정상 세포보다 포도당 분해효소가 증가되어 있는데, 특히 hexokinase의 활성이 증가되어 있다. Hexokinase는 4개의 동질효소가 있고 이중 hexokinase II가 암세포에서 증가되어 있다.<sup>10)</sup> Marshall 등<sup>11)</sup>은 자궁경부암에서 정상 자궁경부 조직보다 hexokinase 활성이 높고, Baumann 등<sup>12)</sup>은 위장관암, 신장암, 유방암 등에서 hexokinase의 활성이 증가된다고 보고하였다. 암세포의 포도당 대사에서 세포질보다 미토콘드리아와 결합한 hexokinase가 중요하다.<sup>13-15)</sup> Rempel 등<sup>10)</sup>은 쥐의 간세포를 처리하여 암세포로 변형시, 변화 정도에 따라 미토콘드리아 결합 hexokinase의 분획이 증가한다고 보고하여 암세포의 대사에 미토콘드리아 결합 hexokinase가 관여함을 제시하였다. Haberkorn 등<sup>5)</sup>은 유방암과 전립선암 모델에서 F-18-FDG 섭취와 Glut-1 mRNA, hexokinase mRNA가 서로 밀접한 관계가 있음을 증명하여, 이들이 암세포에서의 포도당 대사증가와 관계가 있음을 밝혀내었다.

포도당 대사의 증가 기전은 현재까지 알려진 바

로는 Glut와 hexokinase의 증가에 의한 것이고, 이들의 유전자 수준에서의 변화는 암 발생의 병태생리학적 기전과 연결이 된다. 그러나 다양한 종양에서 F-18-FDG의 섭취에 Glut-1과 hexokinase가 얼마나 기여하는지에 대한 자세한 보고가 아직 없었다.

이 연구에서는 종양의 F-18-FDG 섭취 작용기전을 알아보기 위한 기초실험으로 여러 가지 종류의 사람 종양세포주에서 F-18-FDG의 축적과 Glut-1의 발현 그리고 hexokinase 활성과의 상관관계를 조사하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 세포주 및 배양조건

세포주는 사람의 대장암(SNU-C2A, SNU-C4, SNU-C5), 폐암(NCI-H522, NCI-H358, NCI-H1299), 자궁경부암(HeLa, HeLa 229, HeLa S3), 간암(SNU-387, SNU-423, SNU-449) 그리고 뇌종양(A172, Hs 683) 세포주를 한국세포주은행에서 구입하였다. 각 세포의 배양은 한국세포주은행에서 제공한 지침서에 따랐다. 배지로 RPMI-1640 (GIBCO, BRL사)과 DMEM (GIBCO, BRL사)에 각각 10% Fetal Bovine Serum (GIBCO, BRL사), 1% antibiotic-antimycotic (GIBCO, BRL사)을 첨가하여 사용하였으며, T75 플라스크에서 95% 이상 자란 세포들은 계대배양을 4~5회 거친 후 실험에 사용하였다.

### 2. F-18-FDG 섭취 측정<sup>16)</sup>

각 세포( $5 \times 10^5$  세포/1 ml)를 24 well plate에 1 ml씩 분주하고, 24시간 동안 배양한 다음 배지를 제거하고 포도당이 포함되어 있지 않은 HEPES-buffered saline (HBS; 140 mM NaCl, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM KCl, 2.5 mM MgSO<sub>4</sub> 그리고 20 mM HEPES, pH 7.4)으로 3회 세척하여 잔류하는 배지 성분을 제거하였다. 포도당이 포함되어 있지 않은 HBS 1 ml에 37 kBq의 F-18-FDG을 넣고 37°C에서 10분 동안 배양하였다. HBS로 3회 세척하여 잔류 F-18-FDG를 제거하고, 실온에서 5분간 건조시킨 후 1% SDS 500  $\mu$ l에 세포를 용해시켰다.

용해시킨 세포를 튜브로 옮긴 후 감마카운터 (CobraII, Packard, USA)로 각 세포의 F-18-FDG의 섭취량을 측정하였다. 세포의 단백질 당 cpm 값으로 세포의 F-18-FDG 섭취를 나타내었으며, F-18-FDG의 측정에서 시간 차이에 따른 반감기에 의한 감쇠는 감마카운터에서 자동 보정하였다. 시료의 단백질 양은 소혈청알부민(BSA)을 표준 시료로 하여 Lowry법으로 측정하였다.

### 3. Hexokinase 활성 측정

0.20~0.35 g의 세포를 원심분리기를 사용하여 침강(800 g, 8분)시킨 후 침전된 세포를 0.25 g wet weight/ml이 되도록 H-medium (0.21 M D-mannitol, 0.07 M sucrose, 5 mM HEPES, pH 7.4, 그리고 0.1% (w/v) BSA)으로 부피를 조절하였다.<sup>14)</sup> 균질기를 사용하여 세포를 분쇄한 후 500 g에서 30분간 원심분리하고, 상층액을 취했다. 각각의 시료는 Triton X-100 (1% v/v)으로 처리한 후 3시간 동안 반응시켜 실험에 사용하였다. 50 mM triethanolamine buffer (pH 7.6) 1 ml, 555 mM D-Glucose 1 ml, 19 mM ATP 0.1 ml, 100 mM MgCl<sub>2</sub> 0.2 ml, 14 mM β-NADP<sup>+</sup> 0.2 ml, Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH, 125 units/ml) 0.02 ml에 0.05 ml의 시료를 혼합한 후, 분광광도계를 이용하여 340 nm에서 시료의 흡광도 변화를 10분간 1분마다 측정하여 효소의 활성을 측정하였다. 세포의 단백질 당 mU로 세포의 hexokinase 활성을 나타내었으며, 시료의 단백질 양은 소혈청알부민(BSA)을 표준 시료로 하여 Lowry법으로 측정하였다. 1 unit (U)의 효소는 25℃에서 1분 동안 1 μmole의 포도당을 G-6-P로 변환시킬 수 있는 효소의 양으로 정의하였다.

### 4. 미토콘드리아에서의 hexokinase 활성 측정

세포를 원심분리기를 사용하여 800 g에서 8분간 침강시킨 후 침전물을 0.25 g wet weight/ml이 되도록 H-medium으로 부피를 조절하였다. 균질기를 사용하여 세포를 분쇄한 후 500 g에서 15분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상층액을 취하여 20,000

g에서 10분간 원심분리하였다. 이때의 침전물(P1)을 H-medium으로 재 부유하고 다시 상층액을 취하여 235,000 g에서 1시간 동안 원심분리하였다. 침전물(P2)을 다시 H-medium으로 재부유하고 각각의 hexokinase 활성을 측정하였다. 이때 P1과 P2 분획은 미토콘드리아 분획이 되며 상층액은 세포질 분획이 된다.

### 5. 면역조직염색을 이용한 Glut-1의 발현 측정

각 세포주(5×10<sup>5</sup> cell/ml)를 8 well 챔버 슬라이드(Nunc, USA)의 각 well에 0.5 ml씩 넣은 후 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하여, 현미경으로 관찰시 세포 증식이 95% 이상일 때 사용하였다. 냉각한 acetone으로 10분간 세포를 고정한 후 실온에서 10분간 실온화시킨 후, PBS로 5분씩 3회 세척하였다. 내인성 peroxidase의 작용을 차단하기 위하여 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 함유된 methanol로 20분간 반응시키고 비특이 결합반응을 제거하고자 4% 토끼 혈청이 들어 있는 PBS로 10분간 반응시켰다. 1차 항체 결합반응은 항Glut-1 항체(goat polyclonal antibody, Santa Cruz Biotechnology, USA)를 1:100으로 희석하여 실온에서 2시간 반응시켰다. 2차 항체 반응은 항염소 IgG 항체를 이용하여 실온에서 30분간 실행하였다. VESTASTAIN ABC kit (Vector Laboratories, USA)를 사용하여 ABC 용액을 1:100으로 희석하여 각 슬라이드에 30분간 반응시켰다. 반응이 끝나면, 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride (Sigma, USA)를 사용하여 2분간 발색시키고 증류수로 수세하여 발색을 멈추었다. 대조 염색은 Mayer's hematoxylin stain (Sigma, USA) 용액을 사용하여 1분씩 하였다. 염색이 끝난 후 ethanol을 사용하여 조직을 탈수시키고 xylene에 담근 후 Permount (Fisher, USA)를 사용하여 mounting하였다. 판독은 4개의 등급으로 나누어 한 사람이 판독하였으며, 전체 세포에서 염색된 세포의 수로 등급을 나누었다. 각 세포주당 1개의 슬라이드를 읽었으며, 최소한 1,000개의 세포를 관찰하였다. 염색되지 않은 것은 Grade 0, 염색도가 10% 이하는 Grade 1, 11-50%는 Grade 2로 나타내었으며, 51% 이상은 Grade 3으로 나타내었다.

## 6. 통 계

F-18-FDG 섭취와 Glut-1 발현의 상관관계는 스 피어맨 순위상관계수법으로 조사하였으며, F-18-FDG 섭취와 전체 그리고 미토콘드리아 hexokinase 발현과의 상관관계는 단일회귀분석법으로 조사하였 다. 크러스칼-왈리스의 순위에 의한 일원분산분석 법으로 F-18-FDG 섭취에 있어서의 Glut-1 발현과 전체 그리고 미토콘드리아 hexokinase 활성과의 기 여도를 조사하였다.

는 뇌종양 세포주에서 가장 높고 자궁경부암, 폐암 세포주 순으로 섭취가 높으며, 대장암과 간암세포 주에서는 유사하게 나타났다. 뇌종양과 자궁경부암, 간암의 각 세포주에서는 종류별 섭취 차이는 나타 나지 않았다. 사람 대장암 세포주의 F-18-FDG의 섭취를 보면 SNU-C2A와 SNU-C4는 거의 유사하 게 나타난 반면, SNU-C5는 약 2.9배 정도 더 높게 나타났다. 사람 폐암 세포주에서는 NCI-H522와 NCI-H358은 비슷한 섭취를 보이고, NCI-H1299는 30%정도 적게 나타났다.

## 결 과

### 1. F-18-FDG 섭취

여러가지 사람 종양세포의 F-18-FDG 섭취율을 측정하여 Table 1에 나타내었다. F-18-FDG의 섭취

### 2. Hexokinase 활성과 F-18-FDG 섭취의 상관관계

사람 종양세포에서 측정한 hexokinase 활성을 Table 1에 나타내었다. 실험한 모든 세포주를 대 상으로 할 때, 전체 hexokinase의 활성과 F-18-FDG

**Table 1.** F-18-FDG Uptake, Total Hexokinase Activity, Mitochondrial Hexokinase Activity, and Glut-1 Expression in Various Human Cancer Cell Lines

Cell line	F-18-FDG uptake (n=4) (cpm/mg protein)	Total hexokinase activity (n=3) (mU/mg protein)	Mitochondrial hexokinase activity (n=3) (mU/mg protein)	Glut-1 expression* (n=1)	
Colon cancer cell	SNU-C2A	48,500±3,800	61.8±4.3	36.3±2.5 (58.8) <sup>†</sup>	Grade 0
	SNU-C4	46,900±3,000	42.0±1.8	23.7±1.0 (56.3)	Grade 1
	SNU-C5	136,100±9,800	22.9±2.2	13.3±1.3 (58.0)	Grade 3
Hepatocellular carcinoma cell	SNU-387	40,700±3,800	13.8±2.3	7.1±1.2 (51.5)	Grade 2
	SNU-423	56,700±900	14.7±1.9	6.6±0.8 (44.7)	Grade 1
	SNU-449	31,200±1,700	11.7±1.1	6.9±0.6 (58.6)	Grade 2
Non-small lung cancer cell	NCI-H522	117,600±9,800	36.1±2.5	15.7±1.1 (43.6)	Grade 2
	NCI-H358	108,400±5,800	37.6±5.9	16.9±2.6 (44.9)	Grade 2
	NCI-H1299	73,100±2,300	17.4±2.6	4.2±0.6 (24.4)	Grade 2
Cervix cancer cell	HeLa	132,200±9,200	50.0±4.4	28.0±2.5 (55.9)	Grade 3
	HeLa 229	130,600±8,000	46.2±9.0	24.3±4.7 (52.7)	Grade 3
	HeLa S3	126,600±12,800	32.7±3.9	18.4±2.2 (56.3)	Grade 2
Brain tumor cell	A 172	164,900±8,100	29.0±5.0	15.9±2.7 (54.8)	Grade 3
	Hs 683	146,700±7,200	36.9±7.5	23.9±4.9 (64.8)	Grade 3

Values represent mean±SD.

\* Grade 0; no stain, Grade 1; <10% cells positive, Grade 2; 11-50% cells positive, and Grade 3; > 51% cells positive.

<sup>†</sup> Values represent percentage of total hexokinase activity.

섭취율의 상관관계( $r=0.27$ ,  $p=0.35$ )는 낮게 나타났다(Fig. 1a). 대장암 세포주에서 F-18-FDG 섭취와 hexokinase 활성의 상관관계가 없다는 보고<sup>17)</sup>를 토대로 대장암 세포주를 제외했을 경우에는 높은 상관관계( $r=0.81$ ,  $p=0.0027$ )를 나타냈다(Fig. 1b).

### 3. 미토콘드리아 hexokinase 활성과 F-18-FDG 섭취의 상관관계

실험 세포를 세포질과 미토콘드리아 분획으로 나눈 후 각각에서 hexokinase의 활성을 측정하였다(Table 1). 간암세포주인 SNU-423, 폐암 세포주인 NCI-H522, NCI-H358, NCI-H1299를 제외한 모든 세포주에서 미토콘드리아 분획의 hexokinase 활성이 조금 높게 나타났다. F-18-FDG의 섭취율과 미

토콘드리아 분획의 hexokinase 활성과의 상관관계( $r=0.26$ ,  $p=0.48$ )는 낮았다(Fig. 2a). 대장암세포주를 제외했을 경우에는 비교적 높은 상관관계( $r=0.81$ ,  $p=0.0049$ )를 나타냈다(Fig. 2b).

### 4. Glut-1 발현과 F-18-FDG 섭취의 상관관계

대장암 세포주인 SNU-C2A, SNU-C4, SNU-C5에서 Glut-1의 발현은 SNU-C5에서 Grade 3으로 가장 높았고, SNU-C2A, SNU-C4에서는 낮게 나타났다. 간암 세포주인 SNU-387과 SNU-449는 Grade 2를 나타냈으며, SNU-423은 Grade 1을 나타냈다. 폐암 세포주는 모두 Grade 2를 나타냈다. 자궁경부암과 뇌종양에서 기원한 세포주는 HeLa S3를 제외

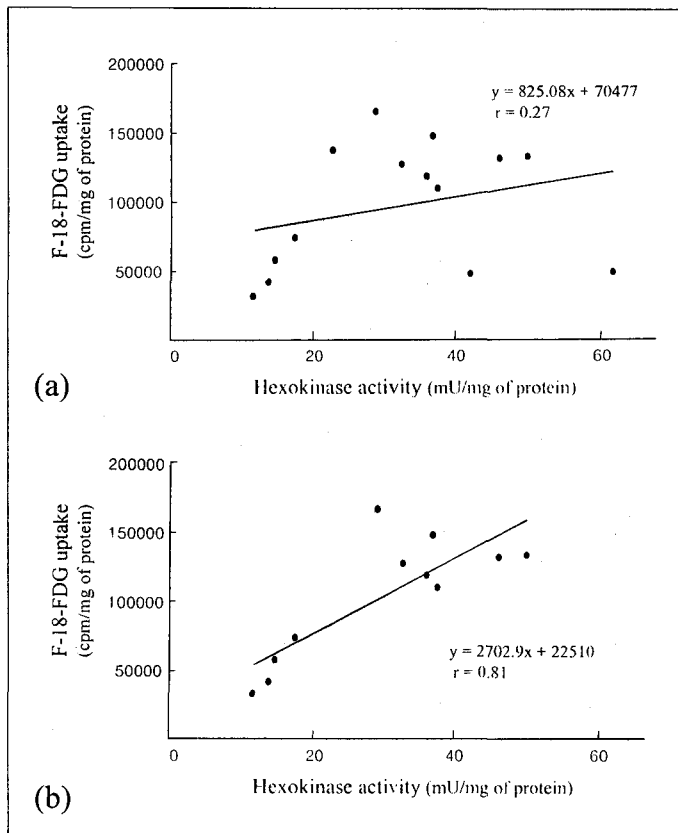


Fig. 1. This figure shows correlation of F-18-FDG uptake with total hexokinase activity in cancer cell lines (a). When colon cancer cell lines were excluded, correlation coefficient increased (b).

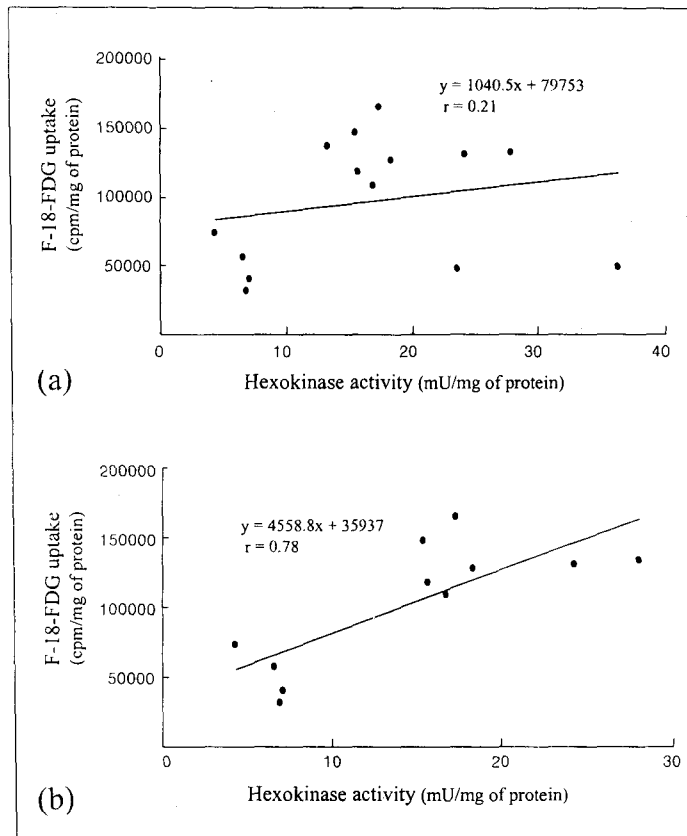


Fig. 2. This figure shows correlation of F-18-FDG uptake with mitochondrial hexokinase activity in cancer cell lines (a) When colon cancer cell lines were excluded, correlation coefficient increased (b).

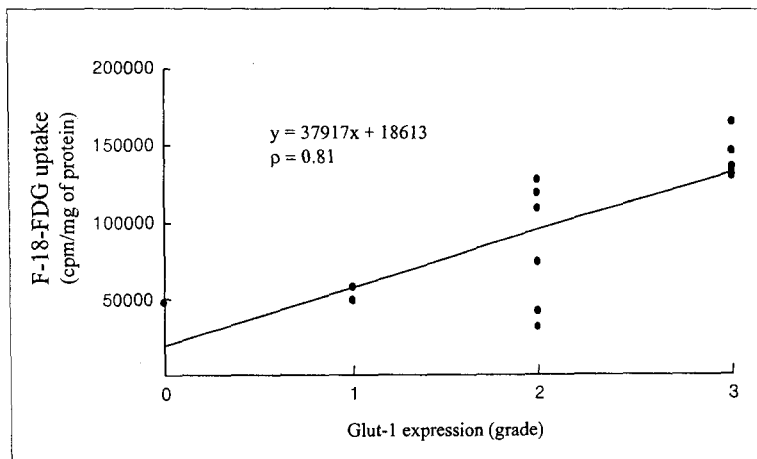


Fig. 3. This figure shows correlation of F-18-FDG uptake with Glut-1 expression in cancer cell lines.

하고 모두 Grade 3으로 높은 Glut-1의 발현을 보였다(Table 1). Fig. 3에서와 같이 Glut-1의 발현은 스피어맨 순위상관 계수법으로 조사하였을 때 F-18-FDG 섭취와 높은 상관관계( $\rho=0.81$ ,  $p=0.0015$ )를 나타내었다.

### 5. F-18-FDG 섭취의 기여도

F-18-FDG 섭취에 Glut-1 발현과 전체 그리고 미토콘드리아 hexokinase 활성과의 기여도를 크러스컬-왈리스의 순위에 의한 일원분산분석법으로 조사하였을 때, F-18-FDG 섭취에 있어서 3개의 변수가 미치는 영향은 차이가 있었으며, 가장 큰 차이를 보이는 것은 Glut-1의 발현이었다( $p=0.007$ ). Glut-1의 발현이 Grade 2와 Grade 3인 세포주만 따로 모아서 F-18-FDG 섭취와 hexokinase 활성과의 상관관계를 조사하였을 때, Grade 2의 경우에는 F-18-FDG 섭취와 전체 그리고 미토콘드리아 hexokinase 활성이 모두 유의하였지만(F-18-FDG 섭취 vs Hexokinase 활성( $r=0.94$ ,  $p<0.005$ ), F-18-FDG vs 미토콘드리아 hexokinase 활성( $r=0.87$ ,  $p<0.05$ )), Grade 3의 경우에는 둘 다 유의한 결과를 보이지 않았다(F-18-FDG 섭취 vs Hexokinase 활성( $r=0.52$ ,  $p=0.374$ ), F-18-FDG 섭취 vs 미토콘드리아 hexokinase 활성( $r=0.47$ ,  $p=0.428$ )).

## 고 찰

종양에서 포도당대사는 여러 인자에 의하여 영향을 받는다. 일반적으로 포도당운반체와 hexokinase가 포도당 대사를 증가시키는 기전으로 이해되고 있지만 암의 종류에 따라서 이들이 기여하는 바는 다르다. 암세포는 정상세포보다 포도당 분해효소들이 증가되어있고, hexokinase의 활성이 증가되어 있다고 알려져 있다. 특히 암세포의 포도당 대사에는 세포질보다 미토콘드리아와 결합한 hexokinase가 더 중요하게 작용하는 것으로 알려져 있다.<sup>15)</sup> 포도당 섭취의 중요 요인이 되는 포도당운반체는 종양에서 발현이 증가되며, 발현 양상은 세포들간의 차이가 심하다. 하지만 포도당 섭취의 주요 요인이 포도당운반체에 의한 포도당의 운반인지 hexoki-

nase에 의한 포도당의 인산화인지는 아직도 많은 논란이 있다.

이 연구는 F-18-FDG PET을 이용한 종양의 진단이 급증함에도 불구하고 이들 종양 세포에서의 F-18-FDG 섭취에 대한 비교 연구가 부족한 점에 착안하였다. 이 연구에서 사용된 여러가지 사람 종양세포의 F-18-FDG 섭취량은 차이가 있었다(Table 1). 뇌종양 세포주에서의 F-18-FDG 섭취가 가장 높게 나타났으며, 뇌종양과 자궁경부암, 간암의 각 세포주에서는 종류별 섭취 차이가 없었고, 대장암과 폐암 세포주에서는 차이가 나타났다. 실험한 모든 세포주에서 Glut-1 발현 정도와 F-18-FDG 섭취를 비교하였을 때 Glut-1의 발현은 F-18-FDG의 섭취와 밀접한 상관관계가 있음을 보여주었다(Fig. 3).

이 실험에서 측정된 사람 종양세포의 hexokinase의 활성은 세포주에 따라 다르게 나타나며, 미토콘드리아 분획의 hexokinase 활성이 비교적 높게 나타나기는 하지만, 모든 세포주를 고려했을 때 F-18-FDG 섭취와 연관성을 보이지는 않았다(Fig. 1a, 2a). 대장암 세포주를 제외했을 때는 F-18-FDG 섭취와 hexokinase 및 미토콘드리아 분획의 hexokinase 활성 사이에 높은 연관성을 보였다(Fig. 1b, 2b). 이는 대장암 세포주의 F-18-FDG 섭취는 hexokinase 활성과 관계가 없다는 Chung 등<sup>17)</sup>의 보고와 일치하며, 다른 세포주의 경우는 F-18-FDG의 섭취가 hexokinase의 활성 정도와 연관이 있다는 것을 알 수 있었다.

Glut-1의 발현에 따른 F-18-FDG 섭취와 hexokinase 활성의 상관관계를 조사하였을 때, Glut-1의 발현이 Grade 2인 경우 F-18-FDG 섭취와 hexokinase 활성이 유의한 결과를 보였다. 반면에 Glut-1의 발현이 Grade 3인 세포주의 경우에는 유의한 결과를 보이지 않았다. 이것은 hexokinase의 활성이 F-18-FDG의 섭취에 미치는 영향은 Glut-1의 발현 정도에 따라 다르다는 것을 나타낸다.

이상의 실험결과 사람 대장암 세포주에서는 Glut-1의 발현이 F-18-FDG 섭취의 주된 작용 기전이라고 생각된다. 폐암이나 자궁암, 뇌종양 세포주의 경우 F-18-FDG 섭취에 비례해서 Glut-1의 발현과 hexokinase의 활성이 동시에 증가하였다. 따라서 사람

종양세포주에서 F-18-FDG의 축적을 결정하는 주된 요인은 Glut-1이나 hexokinase의 활성이며, 암세포의 종류에 따라 이들의 기여도가 서로 다를 수 있었다.

이상의 실험 결과가 *in vivo*에서의 상태를 그대로 반영한다고 보기는 어렵다. *In vivo*에서 암세포의 포도당 섭취는 이 외에도 다른 요소에 의해 영향을 받을 수 있다. 암조직 내에도 여러 세포들이 산재되어 있고 암세포의 농도도 부위에 따라 다르다. 각 부위에서 여러 지역적인 인자에 의해서 Glut-1과 hexokinase의 발현이 변화될 수 있고 이에 따라 포도당 섭취도 서로 다르게 나타나게 된다. 특히 암세포에서는 저산소증이 생기는 경우가 많으며, 저산소 상태에서는 포도당운반체의 발현이 증가한다.<sup>18)</sup> 하지만 이 실험은 정상적인 산소와 영양소의 공급아래에서 이루어졌다. 이외에도 대식세포, 림프구 침윤이 포도당 대사에 영향을 미치는 요소가 될 수 있으며, 또한 포도당 대사과 F-18-FDG의 대사는 약간의 차이가 있을 수가 있다.

앞으로 *in vivo*에서의 상황과 유사한 실험 모델의 개발과 동물실험 등의 보충실험이 필요하다.

## 요 약

**목적:** 종양세포에서 F-18-FDG 섭취 기전을 규명하기 위하여 F-18-FDG 섭취와 포도당운반체-1 (Glut-1), hexokinase의 발현과의 상관관계를 조사하였다. **대상 및 방법:** 사람의 대장암(SNU-C2A, SNU-C4, SNU-C5), 간암(SNU-387, SNU-423, SNU-449), 폐암(NCI-H522, NCI-H358, NCI-H1299), 자궁경부암(HeLa, HeLa 229, HeLa S3), 그리고 뇌암(A172, Hs 683)에서 기원한 암 세포주  $5 \times 10^5$  세포를 24 well plate에 24시간 배양하였다. 여기에 37 kBq의 F-18-FDG를 첨가한 후 각 세포의 섭취 정도를 감마 카운터를 사용하여 측정하였다. Hexokinase의 활성은 분광광도계를 사용하여 측정하였다. 미토콘드리아에서의 hexokinase 활성은 고속원심분리기를 이용하여 미토콘드리아 분획을 분리하여 조사하였다. Glut-1의 발현은 면역조직염색법으로 측정하였다. **결과:** 종양세포의 종류에 따라 F-

18-FDG 섭취, 전체 그리고 미토콘드리아 hexokinase 활성, 그리고 Glut-1의 발현 정도에 차이가 있었다. 종양세포주에서 F-18-FDG 섭취와 세포전체, 세포내 미토콘드리아 hexokinase 활성과의 상관관계(각각  $r=0.27$ ,  $r=0.26$ )는 낮게 나타났으며, Glut-1의 발현은 F-18-FDG의 섭취와 상관관계( $p=0.81$ ,  $p=0.0015$ )가 높았다. 대장암 세포주에서 F-18-FDG 섭취와 hexokinase 활성의 상관관계가 없다는 보고를 토대로 대장암 세포주 결과를 제외했을 경우에 F-18-FDG의 섭취와 세포전체 그리고 세포내 미토콘드리아에서의 hexokinase 활성과는 높은 상관관계(각각  $r=0.81$ ,  $p=0.0027$ , 그리고  $r=0.81$ ,  $p=0.0049$ )를 보였다. **결론:** Glut-1이나 hexokinase 활성이 사람 종양 세포주에서 F-18-FDG의 섭취를 결정하는 주 요인이며, 종양세포의 종류에 따라 이들의 기여도는 서로 다를 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- 1) Weber G. Enzymology of cancer cells. *N Engl J Med* 1977;296:541-51.
- 2) Waki A, Fujibayashi Y, Yonekura Y, Sadato N, Ishii Y, Yokoyama A. Reassessment of FDG uptake in tumor cells: High FDG uptake as a reflection of oxygen-independent glycolysis dominant energy production. *Nucl Med Biol* 1997; 24:665-70.
- 3) Pauwels EKJ, Ribeiro MJ, Stoot JHMB, McCready VR, Bourguignon M, Maziere B. FDG accumulation and tumor biology. *Nucl Med Biol* 1998;25:317-22.
- 4) Smith TAD. FDG uptake, tumour characteristics and response to therapy: A review. *Nucl Med Commun* 1998;19:97-105.
- 5) Haberkorn U, Ziegler SI, Oberdorfer F, Trojan H, Haag D, Peschke P, et al. FDG uptake, tumor proliferation and expression of glycolysis associated genes in animal tumor models. *Nucl Med Biol* 1994;21:827-34.
- 6) Nelson CA, Wang JQ, Leav I, Crane PD. The interaction among glucose transport, hexokinase, and glucose-6-phosphatase with respect to  $^3\text{H}$ -2-deoxyglucose retention in murine tumor models. *Nucl Med Biol* 1996;23:533-41.



- 7) Aloj L, Caraco C, Jagoda E, Eckelman WC, Neumann RD. Glut-1 and hexokinase expression: relationship with 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose uptake in A431 and T47D cells in culture. *Cancer Res* 1999;59:4709-14.
- 8) Younes M, Lechago LV, Somoano JR, Mosharaf M, Lechago J. Wide expression of the human erythrocyte glucose transporter Glut1 in human cancers. *Cancer Res* 1996;56:1164-7.
- 9) Younes M, Lechago LV, Somoano JR, Mosharaf M, Lechago J. Immunohistochemical detection of Glut3 in human tumors and normal tissues. *Anticancer Res* 1997;17:2747-50.
- 10) Rempel A, Mathupala SP, Griffin CA, Hawkins AL, Pedersen PL. Glucose catabolism in cancer cells: amplification of the gene encoding type II hexokinase. *Cancer Res* 1996;56:2468-71.
- 11) Marshall MJ, Goldberg DM, Neal FE, Millar DR. Enzymes of glucose metabolism in carcinoma of the cervix and endometrium of the human uterus. *Br J Cancer* 1978;37:990-1001.
- 12) Baumann M, Jezussek D, Lang T, Richter RT, Brand K. Activities of phosphohexose isomerase and other glycolytic enzymes in normal and tumor tissue of patients with neoplastic diseases: comparison with serum activities and correlation to tumor staging and grading. *Tumour Biol* 1988; 9:281-6.
- 13) Bustamante E, Pedersen PL. High aerobic glycolysis of rat hepatoma cells in culture: Role of mitochondrial hexokinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74:3735-9.
- 14) Parry DM, Pedersen PL. Intracellular localization and properties of particulate hexokinase in the Novikoff ascites tumor. *J Biol Chem* 1983;258: 10904-12.
- 15) Arora KK, Pedersen PL. Functional significance of mitochondrial bound hexokinase in tumor cell metabolism. *J Biol Chem* 1988;263:17422-8.
- 16) Kim C, Chung J-K, Jeong JM, Lee MC, Koh C-S. Characteristics of [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose uptake in human colon cancer cells. *Korean J Nucl Med* 1997;31:381-7.
- 17) Chung J-K, Lee YJ, Kim C, Choi SR, Kim M, Lee K, et al. Mechanisms related to [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose uptake of human colon cancers transplanted in nude mice. *J Nucl Med* 1999; 40:339-46.
- 18) Clavo AC, Brown RS, Wahl RL. Fluorodeoxyglucose uptake in human cancer cell lines is increased by hypoxia. *J Nucl Med* 1995;36: 1625-32.