

## 형광기관지경의 미래

고신 의대 호흡기내과

장 태 원

### Future of Autofluorescence Bronchoscopy

Tae Won Jang

*Pulmonary Division, Department of Internal Medicine, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea*

Lung cancer could be developed through a series of morphological changes from dysplasia to carcinoma in situ and then invasive cancer. However, precancerous lesions are generally a few cell layers thick and are detected only by chance. Autofluorescence bronchoscopy (AFB) is one of the newly developed diagnostic tools to detect the pre-cancerous lesions in the bronchial tissue. Several studies have shown that AFB improved the rate of detection of cancer and dysplastic lesions of the airway, especially those in intraepithelial stage. However, there were high rates of false positive with AFB, and it is also important to develop non-biopsy methods because of lack of accurate information of variable course of preneoplastic lesions regarding progression. So, many other technologies were developed, such as narrow band imaging (NBI), endobronchoscopic ultrasound, optical coherence tomography, and confocal fluorescence microendoscopy. Among the new machines, NBI is a new optical technology that can clearly visualize the microvascular structure in the mucosal layer. NBI seems to increase specificity without compromising sensitivity. In the future such techniques would make it possible to precisely study in detail the natural history of the premalignant epithelium.

**Key Word :** Bronchoscopy, fluorescence, preinvasive carcinoma

### 1. 서론

동서양을 막론하고 폐암은 전체 사망률이 가장 높은 암이다.<sup>1)</sup> 폐암은 5년 생존율이 15%미만의 예후가 나쁜 암으로 치료 방법의 발전도 중요하지만,<sup>2)</sup> 향후 방향은 흡연율의 감소를 통한 폐

암이 예방과 근치 치료가 가능한 조기 병기에 암을 발견하는 것이 중요하다. Saccomanno 등<sup>3)</sup>이 처음으로 기관지조작은 atypical metaplasia(화성)에서 dysplasia(형성이상), carcinoma in situ(CIS)로 발전하여 invasive carcinoma로 진행함을 기술하였다. 그러나 불행하게도 폐암의 경우 다 이런 방식으로는 진행되는 것은 아니고 또 스크리닝 검사가 생존율 향상을 보여주지 못하여 이제 검진 목적으로 사용되지 못하고 있다. 최근 조기 검진 방법으로 고해상도 CT, 혈청 생물학적 표지자들, 객담 DNA, volatile organic compounds 등이 사용

Address for correspondence : Tae Won Jang, M.D., Ph.D., Department of Internal Medicine, Kosin University College of Medicine, 34 Amnam-dong, Suh-gu, Busan, 602-702, Korea  
Tel: +82.51-990-6637 Fax: +82.51-248-5686  
E-mail: jangtw@ns.kosinmed.or.kr

되고 있으나 그 역할은 아직 정립이 필요하다.<sup>4,5)</sup> 기관지경이 조기 병변 발견에 도움을 줄 수 있는 이유는 첫째 암화과정은 수년에 걸쳐 진행하고,<sup>3)</sup> 둘째 약 반수 정도의 폐암 특히 편평세포암이 중심 기도에 많이 발생한다. 중심기도 종양은 기관지경에 발견이 되나 일반적인 방사선학적 사진에서 발견이 어렵고,<sup>6)</sup> 일반 백색 내시경은 조기 병변의 발견에 낮은 예민도가 문제이다.<sup>7)</sup> 조기 병변은 아주 작고 몇 몇 세포층으로만 이루어져 있고,<sup>8)</sup> 내시경상 병변의 변화가 미세하여 경험이 풍부한 기관지경 검사자라도 놓치는 경우가 많다. 객담 세포진 검사가 양성인 경우 일반 기관지경 검사에서 병변을 발견하지 못하면 여러 장소를 무분별하게 조직검사를 실시하나 너무 시간적 소비가 많은 문제점이 있다. 이런 발견이 어려운 조기 폐암의 발견율을 높이기 위하여 형광기관지경이 도입되었다.<sup>9)</sup> 자가 형광 기관지경을 중심으로 중심 기도의 조기 병변을 발견하는 장비의 종류 및 사용의의에 대하여 알아보고 향후 발전 방향에 대하여 논의하여 보고 전구암 병변을 조직검사 없이 진단하는 방법의 개발도 필요하여 최근 기술의 발전에 따라 연구되고 있는 방향에 대하여 논의하여 보고자 한다.

## 2. 형광기관지경 검사(autofluorescent bronchoscopy: AFB)

### (1) 장비

전 세계적으로 출시되어 있는 기종은 여러 종류가 있으며 가장 고전적인 기종이 Lung Imaging Fluorescence Endoscopic device(LIFE)와 D-light/AFB system이다. 통상 요즘은 자가 형광을 이용하며 5-aminolevulinic acid(ALA)같은 광과민 약제를 사용하지 않고 실시한다. 그러나 색의 대비가 명확하지 못한 경우가 많아 ALA를 흡입 후 형광 기관지경 검사를 실시하여 좀 더 명확한 구분을 하기 위한 시도를 하고 있다. LIFE와 D-light system의 유용성을 비교한 것은 한 연구가 있으나<sup>10)</sup> 거의 같은 결과가 나타남을 보고하였다. 그러나 사용 방법은 D-light system이 조금 더 용이한 것으로 보인다. 우리나라도 LIFE, D-light system, DAFE

system을 이용한 임상 결과는 보고가 되어 있으며,<sup>11-12)</sup> Olympus(Auto fluorescence Imaging: AFI)와 Pentax 회사의 제품(SAFE)도 최근 수입이 되어 임상에 응용되고 있다.

### (2) 원리 및 적응증

정상 점막의 색은 녹색의 형광을 발생하나 dysplasia나 carcinoma의 비정상 조직은 적색/갈색의 형광이 나타나게 된다. 기관지 점막 표면에 빛을 비추면 빛은 굴절, 반사, 흡수가 발생하고 부가적으로 조직에 형광을 유발한다. 조직 형광은 세포내에서 일어나는 특히 chromophores의 전기적 구조에 따른 생화학적 변화에 따라 다르게 나타난다. 정상 기도는 violet-blue spectrum(400- 450nm)에 폭로되면 녹색으로 보이나, 점막하 병변이 정상에서 metaplasia, dysplasia, CIS로 진행할수록 점진적으로 녹색을 잃고 적색 - 갈색으로 기도가 변하여 보이게 된다(Fig. 1). 색상이 변하게 되는 기전은 특정 chromophores의 감소, 상피 세포 두께 증가, 진행성 병변에 나타나는 혈관생성의 증가가 이유<sup>13)</sup>가 된다. 이중에 혈관 생성과 관계되는 조직학적인 변화 중에 하나인 Angiogenic squamous dysplasia(ASD)는 metaplastic 혹은 dysplastic 한 편평 기관지 상피내로 모세 혈관이 들어가는 병변이다. 이 현상은 기관지 폐암 발생의 초기에 일어날 수 있으며 LIFE를 사용할 경우는 75%에서 병변을 관찰할 수 있으나 일반 기관지경은 단지 15%에서만 발견이 가능하여 조기 병변이 적색으로 나타나는 원인이 된다. 상피내 암조직은 아주 적은 층일 수 있기 때문에 점막 표면적은 일반

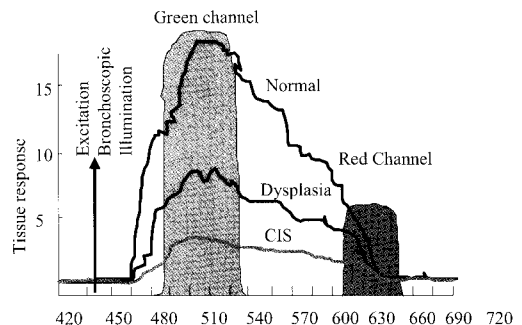


Fig. 1. Spectrum of normal and preinvasive lesion.

기관지경일 경우 정상으로 보이는 경우가 많다. 그래서 단지 CIS의 29%만이 경험많은 기관지경 검사자에서 발견이 가능하다고 보고하였다. 검사 방법은 먼저 백색 기관지경을 사용하여 기관지 내부를 검사 후에 형광 모드로 바꾸어 자가 형광을 비추며 비정상적으로 색이 발현되는 부위를 조사한다. 조직 검사는 비정상적으로 보이는 부위에 최소한 3개 이상 조직검사를 실시한다. 각각의 조직 검사에는 새로운 조직 감자를 사용하여 다른 조직에 상호 오염이 되는 것을 방지하여 결과 판독에 혼란을 미리 방지하여야 한다. 여러 센터의 연구에서 AFB가 high grade dysplasia, CIS, microinvasive cancer를 일반 기관지경보다 높은 민감도로 발견이 가능하고 기관지경을 단독사용하는 것보다 AFB를 같이 사용하면 민감도를 25%전후에서 70-80%정도로 3-4배정도 민감도를 높일 수 있음이 알려졌다(Table 1).<sup>14)</sup> 그러나 형광 기관지경의 향후 해결해야 할 문제는 아직 사망률을 낮춘 결과가 없고, 특이도를 낮추는 많은 병변들의 감별 방법, 환자에서 질병의 유병율에 따른 발견율의 차이점, 형광 기관지경 영상의 질적인 면, 검사자와 병리학자의 재현성 차이에 따른 표준화의 작업 등 해결해야 할 문제점이 아직 많은 상태이다.

다른 적응증은 비소세포폐암 환자에서 근치적 수술을 실시한 환자에서 재발 감시 목적이나, 두경부 편평세포암 환자로 이들은 수술 후 폐암 감

시, 치료적 목적의 기관지내 치료(intrabronchial therapy)를 실시한 환자, 그 외 소세포 폐암 환자들 중 장기간 생존자. 40세 이상의 COPD를 동반하거나 직업력이 있는 흡연가가 대상이 될 수 있겠다.

### 3. 새로운 장비

새로운 장비는 비정상적인 혈관형성과 연관된 전구암 병변의 감별이 가능한 장비로 NBI가 개발되어 벌써 임상에 이용되고 있다. 컴퓨터와 광학 엔지니어링의 발달은 진단적 내시경이 현미경적 내시경시대로 접어들게 되었다. 비록 AFB가 전구 병변의 발견율은 높였지만 이 병변들의 암의 진행은 여전히 알려진 것이 적고 또 이유로 조직검사가 작은 병변을 기계적으로 제거하여 비려 자연 경과를 알 수 없다는 문제가 있다. 따라서 전구 병변의 진행이나 퇴행에 관하여 정확한 정보가 없고, 예방 화학요법의 효과를 판정하기는 많은 편견이 들어갈 수 있다. 그리고 CIS가 발견되어도 조직 검사 이외 병변에서 일어날 수 있는 미세 침범에 대하여 불확실하다. 그래서 좀 더 전체를 관찰하고 비 조직학적 검사 방법의 개발이 필요하다. 형광현미경의 한계를 보완하여 laser를 광원으로 이용하며 표본으로부터 발산된 형광 신호를 별도의 특수 검출기인 Photomultiplier tube로 받아들인 후 디지털 영상으로 변환하여 관찰하는 새로운 개념의 Confocal microscope(CME)가 등장하게 되었

Table 1. Sensitivity comparison for autofluorescence bronchoscopy studies

Authors	Equipment(WL,AF)	Sens. objects	Sens.(WL/AF)
Lam et al.	BE, LIFE	Mod dysp or worse	0.25/0.67
Ikeda et al.	BE, LIFE	Dysp + CIS	0.74/0.95
Hirsh et al.	BE, LIFE	Mod dysp or worse	0.22/0.69
Vermlyen et al.	BE, LIFE	Mod dysp or worse	0.25/0.87
Ernst et al.	BE, LIFE	Mod dysp or worse	0.28/0.67
Chhaged et al.	BE, LIFE	Mod dysp or worse	0.72/0.96
Chiyo et al.	BE, LIFE	Dysp or worse	0.56/0.97

Abbreviation: BF: bronchofiberscope; VE: videoendoscope; AFI: autofluorescence imaging bronchovideoscope; mod: moderate; dysp: dysplasia; sens.: sensitivity.

다. 즉 CME에서는 laser광원을 사용하여 표본에 표지한 형광물질에 적합한 파장대의 빛만을 발생(excitation)하여 형광물질의 발산(emission)을 유도하여 조리개와 필터를 통하여 상을 만든다. 이는 조직검사 없이도 의심스러운 기관지 점막이 조직소견에 거의 같은 해상도를 가지게 된다. 아직 이 시스템이 효과적이라고 선언하기는 많은 장애물이 있으나 향후 연구에 진전이 있을 것으로 생각한다.

### (1) Narrow band imaging(NBI)

NBI는 특정한 파장에서 혈액소의 흡수 특징을 이용하여 점막 표면의 혈관을 증진시키는 기술을 이용한 광학영상이다. 정상적인 백색광에서는 가능하면 자연적으로 보이게 만들었다. 이것은 점막하의 혈관과 비교가 안되어 구별이 불가능하다. 그러나 NBI는 점막과 피의 혈액소의 광학 특징에 맞는 좁은 스펙트럼의 빛을 사용하게 된다. 그 결과 충분히 대비가 되는 상을 만들게 된다. 그래서 NBI는 혈관의 이상분포나 확장이 생긴 부위를 쉽게 찾게 만들어 준다. 파장을 415nm, 540nm와 spectral width narrow(Narrow band)을 유지함으로써 NBI는 혈관을 더 선명하게 관찰할 수 있게 된다. 415nm blue light는 모세혈관에 흡수되고 540nm green light는 모세혈관의 아래에 위치한 혈관에 강하게 흡수된다. 표면에 위치한 작은 혈관들은 갈색(brown)으로 나타나고 깊은 곳에 위치한 굵은 혈관은 청색(cyan)으로 나타난다. 중심 기도에 발생하는 편평세포암이 감별에 아주 좋은 적응증이 되고 angiogenic squamous dysplasia(ASD)도 좋은 적응증이 된다. Shibuya 등<sup>15)</sup>은 ASD와 다른 조기 전암병변의 감별에 가능성이 있다고 보고하였다. Herth 등<sup>16)</sup>은 조기병변의 발견에 AFI와 NBI를 같이 실시하여 일반 기관지경에 비하여 상대 예민도(relative sensitivity)가 AFI 3.7, NBI 3.0으로 보고하였고 상대 특이도(relative specificity)가 AFI 0.5, NBI 1.0을 보고 하였다. AFI와 NBI의 복합검사는 진단율을 의미 있게 증가시키고 못하였고 장비의 시행 순서는 결과 판정에 영향을 주지 못하였다. 결론적으로 NBI가 AFI의 대체 검사장비가 될 수 있고 예민도의 영향 없이 높은 특이도가 있음을 보고하였다.

### (2) Optical coherence tomography(OCT)

OCT는 조직 표면과 밑에 있는 세포와 세포 밖의 구조를 형상화하는 방법으로 표면 하에 3mm까지 구조를 볼 수 있는 비침습적 이미지이다.<sup>17-18)</sup> 실제적으로 이것은 초음파의 원리와 유사하다. 소리파동을 사용하는 대신 coherence near infra-red light를 사용하는데 1300nm 파장의 빛이 diode에서 나와 조직에 투과하면 반사하는 빛을 감지하여 optical interferometry에서 영상을 만든다. 조직의 깊이와 농도의 차이에 따라 영상이 만들어지며 extracellular matrix에 변화가 오면 강한 시그널을 내는 collagen과 elastin의 성질 때문에 산란(back-scattering)이 많이 발생하여 특징적인 영상이 나타난다. OCT는 공간해상력이 3-16 microns이고 깊이 2-3mm까지 거의 비슷한 조직학적인 영상을 제공할 수 있다. fiberoptic probes화로 소형화하여 세기관지까지 볼 수 있으며 초음파와 달리 액체 환경을 요구하지 않기 때문에 기도 영상에 더 적합하다. Near infrared light의 인체 위험도는 거의 없고 기도에는 CT나 MRI 보다 높은 해상도를 실험실에서 보여주며 방사선 위험도도 없다. CME보다 조직에 3배정도 침투력이 좋고 조직 표면과 접촉이 필요하지 않아 선명도가 높다. 일반기관지경 검사의 한 부분으로 이용하여 수 분 이내에 국소마취로 검사가 가능하다.

응용 가능한 영역으로 기능성 OCT(spectral domain OCT와 Doppler OCT)는 혈관이나 미세구조의 혈류의 정량정보를 제공할 수 있으며,<sup>19)</sup> 분자 생물학적 생화학적 정보를 얻기 위하여 multi-photon microscopy(MPM)를 같이 실시한다. MPM는 조직의 형태 가령 collagen, elastin, NADH, flavins 등을 측정할 수 있다.<sup>20)</sup> MPM과 OCT를 복합하면 구조적 기능적 영상과 분자생물학적 분석도 가능하다. 이런 OCT 영상은 기관지 연구에 응용하면 전구 병변 기저막(basement membrane)의 종양 침범 유무, 작은 말초 종양의 위치 확인 등에 이용할 수 있다.<sup>21)</sup> 조기 기관지 병변에 응용은 Lam 등<sup>22)</sup>이 보고한 바에 따르면 상피세포의 두께를 정량 측정된 결과 병변이 침습성 암으로 진행할수록 의미있게 증가하고 metaplasia나 hyperplasia때보다 dysplasia때 의미

있게 두꺼워져 있으며, 기술적으로 가능한 방법으로 향후 화학예방법(chemoprevention)에 사용될 수 있음을 보고하였다.

### (3) Fibered confocal fluorescence microscopy(FCFM)

CME의 목적은 살아있는 조직의 현미경적 영상을 임상자에게 제공하는 것이다. 현재 유용한 CME 장비는 내시경의 끝에 소형화된 스캔장비와 광학 fiber로 대체하거나, 넣고 뺄 수 있는 광학 fibers bundle을 이용하여 영상을 얻는다. 여러 장기 특히 위장관 영역에 사용되다가 최근 기도에 연구가 진행되고 있다. 호흡기 영역 FCFM은 488nm이나 660nm 파장을 이용하고 가늘고 움직임이 가능한 소형탐침자(flexible miniprbes)를 기관지경의 workingchannel에 넣어 사용한다. FCFM은 측면 해상도 3  $\mu\text{m}$ 이고 넓이는 600  $\mu\text{m}$ 이고 탐침자 끝(probe tip)과 기관지가 접촉하여 분당 아홉 화면의 실질영상을 만든다. FCFM은 상부 기관지의 상피와 상피하층(subepithelial layers)의 영상을 만들 수 있을 뿐만 아니라 하부 기도의 폐포까지 실제 영상을 만들 수 있다. 응용 가능한 분야는 optical biopsy, 조기 폐암의 치료판정, 기관지 remodelling 검사, 미만성 폐병변, 말포 폐결절의 진단 등에 이용될 수 있다. 이 기술은 또 fluorescence molecular imaging과 같이 사용할 수 있다.<sup>23)</sup> 조기 기관지 병변에 응용은 Thiberville 등<sup>24)</sup>이 metaplasia나 dysplasia가 있는 22 자리 병변 중 19자리, 다섯 CIS 병변 모두와 두 진행성 암을 발견 가능하다고 보고하면서 FCME가 기저막(basement membrane) 이 측정 가능한 최소 침습방법으로 보고하였다.

## 5. 결론

이상의 결론으로 일반 기관지경에 부가적으로 자가 형광 기관지경을 사용하면 조기 병변의 발견율을 증가시킨다. 형광기관지경을 일반인 모두에게 적용하기는 무리가 있지만 고위험군을 포함한 환자들의 조기 검진 목적으로 사용될 수 있고 조기 폐암의 병인 기전에 연구에 많은 도움을 줄 수 있는 유용한 장비이다. 새로운 기

인 NBI 역시 조기 병변의 발견에 우월한 결과를 보고하고 있다. 컴퓨터와 광학 엔지니어링의 발달은 진단적 내시경이 현미경적 내시경시대로 접어들게 되었고 좀 더 전체를 관찰하고 비 조직학적 검사 방법이 개발되고 있다. OCT와 FCME 발달과 이런 여러 장비를 혼합한 방법은 향후 조직검사 없이도 기관지 점막을 조직소견과 거의 같은 해상도를 볼 수 있을 시기가 올 것으로 생각된다.

## References

1. Shin HR, Ahn YO, Bac JM, et al. *Cancer incidence in Korea. Cancer Research and Treatment* 2002;34:405-8.
2. Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, et al. *Annua lreport to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. J Natl Cancer Inst* 2003;95:1276-99.
3. Saccomanno G, Archer VE, Auerbach O, Saunders RP, Brennan LM, *Development of carcinoma of the lung as reflected in exfoliated cells .Cancer* 1974;33:256-70.
4. Thunnissen FB. *Sputum examination for early detection of lungcancer. J Clin Pathol* 2003;5: 805-10.
5. Bunn PJ Jr. *Early detection of lung cancer using serum RNA or DNA markers: readyfor "primetime" or for validation? J Clin Oncol* 2003;21:3891-3.
6. Cortese DA, Pairolero PC, Bergstralh EJ, et al. *Roentgenographically occult lung cancer: A ten-year experience. J Thorac Cardiovasc Surg* 1983;86:373-80.
7. Lam S, Mac Auley C, Le Riche JC, Ikeda N, Palcic B. *Earlylocalization of bronchogenic carcinoma. Diagnostic and Therapeutic Endoscopy* 1994;1:75-8.
8. Nasiell M. *Metaplasia and atypical metaplasia in*

- the bronchial epithelium: A histopathologic study. Acta Cytol. 1966;10:421-4.*
9. Hayata Y, Kato H, Ono J, Matsushima Y, Hayashi N, Saito T, Kawate N. *Fluorescence fiberoptic bronchoscopy in the diagnosis of early stage lung cancer. Recent Results Cancer Res*1982; 82:121-30.
  10. Herth FJF, Ernst A, Becker HD. *Autofluorescence bronchoscopy - A comparison of two systems(LIFE and D-Light). Respiration* 2003; 70:395-8.
  11. Lee SH, Shim JJ, Lee SR, Lee SY, Suh JK, Cho JY, et al. *Useful of LIFE in diagnosis of bronchogenic cancer. Tuberc Respir Dis* 1996; 44:70-84.
  12. Jang TW, Oak CH, Chun BK, Jung MH. *Detection of pre-invasive endobronchial umors with D-light/Autofluorescence system. J of Korean Med Sci* 2006;21:242-6.
  13. Keith RL, Miller YE, Gemmill RM, et al. *Angiogenic squamous dysplasia in bronchi of individual at high risk for lung cancer. Clin Cancer Res* 2000;6:1616-25.
  14. Ikeda N, Honda H, Hayashi A et al. *Early detection of bronchial lesions using newly developed videoendoscopy-based autofluorescence bronchoscopy. Lung Cancer. 2006;52:21-7.*
  15. Shibuya K, Hoshino H, Chiyo M, et al. *High magnification bronchoscopy combined with narrow band imaging could detect capillary loops of angiogenic squamous dysplasia in heavy smokers at high risk for lung cancer. Thorax* 2003;58:989-95
  16. Herth FJ Eberhardt R, Anantham D, Gompelmann D, Zakaria MW, Ernst A. *Narrow-band imaging bronchoscopy increases the specificity of bronchoscopic early lung cancer detection. J Thorac Oncol. 2009;4:1060-5.*
  17. Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. *Optical coherence tomography. Science* 1991;254:1178-81.
  18. Tearney GJ, Brezinski ME, Bouma BE et al. *In vivo endosc opicoptical biopsy with optical coherence tomography. Science* 1997;276:2037-39.
  19. Yang VXD, Tang SJ, Gordon ML, et al. *Endoscopic Doppler optical coherence tomography in the human GI tract: initial experience. Gastrointestinal Endoscopy.* 2005;61:879-90.
  20. Zipfel WR, Williams RM, Webb WW. *Nonlinear magic: multiphoton microscopy in the biosciences. Nature Biotechnology* 2003;21:1368-76.
  21. Coxson HO, Lam S. *Quantitative Assessment of the Airway Wall Using Computed Tomography and Optical Coherence Tomography. Proc Am Thorac Soc. 2009;15:6:439-43.*
  22. Lam S, Standish B, Baldwin C, et al. *In vivo optical coherence tomography imaging of preinvasive bronchial lesions. 2008;1:14:2006-11.*
  23. Thiberville L, Salaün M, Lachkar, et al. *Confocal fluorescence endomicroscopy of the human airways. Proc Am Thorac Soc. 2009;15: 6:444-9.*
  24. Thiberville L. Moreno-Swirc S, Vercauteren T, et al. *In vivo imaging of the bronchial wall microstructure using fibered confocal fluorescence microscopy. Am J Respir Crit Care Med. 2007 ;1;175:22-31.*