

## 골육종환자에서 다방면 복합요법의 효과 및 P-Glycoprotein 과다발현의 임상적 의의

연세대학교 의과대학 연세 암센터, 연세 암연구소 내과학교실 및 정형외과학교실\*

윤용석 · 노재경 · 정현철 · 조재용  
신규호\* · 한수봉\* · 김범석 · 박준오  
공수정 · 라선영 · 유내춘  
김주항 · 민진식 · 김병수

= Abstract =

### Effect of Combined Modality Treatment and Clinical Significance of P-Glycoprotein Overexpression in Patients with Osteosarcoma

Yong Seok Yun, M.D., Jae Kyung Roh, M.D., Hyun Cheol Chung, M.D.  
Jae Yong Cho, M.D., Kyoo Ho Shin, M.D.\*, Soo Bong Hahn, M.D.\*  
Beom Seok Kim, M.D., Joon Oh Park, M.D., Soo Jung Gong, M.D.  
Sun Young Rha, M.D., Nae Choon Yoo, M.D., Joo Hang Kim, M.D.  
Jin Sik Min, M.D. and Byung Soo Kim, M.D.

Yonsei Cancer Center, Institute for Cancer Research, Department of Internal Medicine,  
Orthopaedic Surgery\*, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Osteosarcoma is a highly malignant bone tumor and usually encountered in the first three decades of life. The prognosis of osteosarcoma treated with surgery alone had been poor, with 20% of the patients surviving 5 years. The addition of adjuvant chemotherapy after surgery has significantly improved the outcome of osteosarcoma. The new concept of pre-operative chemotherapy has permitted histological assessment of treatment effect and limb salvage procedures. As the role of chemotherapy has been raised, the resistance of tumors to multiple drugs, such as p-glycoprotein overexpression, has become a major problem in the treatment of osteosarcoma.

We retrospectively reviewed the clinical records of 53 patients with stage IIB osteosarcoma who were treated at Yonsei Medical Center and Yonsei Cancer Center between March 1, 1986 and June 30, 1996. The purpose of this study was to assess the efficacy and toxicity of cisplatin(IA)-adriamycin(IV) combination pre-operative chemotherapy and the clinical significance of p-glycoprotein status and histologic response as prognostic factors. Among 53 patients, 33 were male and 20 were female with a median age of 21 years(range: 5~61). The tumor locations were as follows: distal femur 24(45.3%), proximal tibia 17(32.1%), humerus 7(13.2%), proximal femur 3(5.4%), fibular 1(1.9%), radius 1(1.9%). Histologic subclassifications were as follows: osteoblastic type 42(78.2%), telangiectatic type 4(7.5%), chondroblastic type 3(5.7%), fibroblastic type 2(3.8%) and undetermined 2(2.8%).

The three year overall survival and disease-free survival rates were 66.1% and 61.9% respectively in all patients. Thirty-two patients were treated by pre-operative cisplatin(IA)-adriamycin(IV) combination chemotherapy and 21 patients were taken only post-operative adjuvant chemotherapy. No significant difference was found between the two groups in probability of survival and recurrence rates. The histological response to pre-operative chemotherapy was scored by degree of tumor necrosis. Twenty-two patients had a good response [grade IV, 13(40.6%) grade III, 8(25.0%)] and 11 patients had a poor response [grade II, 6(18.8%) grade I, 5(15.6%)]. The histological response was not significantly related to the probability of the survival rate. However, the recurrence rate was higher in the poor-response group( $p=0.04$ ). Overexpression of p-glycoprotein was found in tumors from 11 of 18 patients(61.1%) who were given only post-operative adjuvant chemotherapy. No relation was found between the p-glycoprotein expression and survival rate. The degree of tumor necrosis after pre-operative chemotherapy and initial serum alkaline-phosphatase level were considered as prognostic factors. Other clinicopathologic features including age, gender, anatomical site, histological subclassification, operation types, tumor size, p-glycoprotein expression were not associated with patient outcome. Treatment-related side effects were relatively tolerable and reversible by conservative treatment.

Pre-operative cisplatin(IA)-adriamycin(IV) combination chemotherapy in our study did not show improved survival than conventional post-operative chemotherapy with limited follow-up duration. The degree of histologic response after chemotherapy and the initial alkaline phosphatase level were found to be the major predictor for tumor recurrences, while p-glycoprotein overexpression did not alter the clinical outcome. Further studies are warranted to improve the efficacy of adjuvant chemotherapy and to evaluate the significance of multiple resistance gene overexpression in osteosarcoma.

**Key Words:** Osteosarcoma, Preoperative chemotherapy, p-glycoprotein, Tumor necrosis

## 서 론

골육종은 골격성장이 활발한 성장기에 주로 장골의 골간단부에 호발하는 악성 골종양이다<sup>1)</sup>. 과거 수술적 단독치료시 과반수의 환자에서 사지절단후 6개월내에 육안적 전이가 발생하거나 2년내에 80% 이상이 재발함에 따라, 1970년대부터 다방면 복합요법이 시도되어 그 치료성적이 향상되었다. 특히 수술전 선행약물요법이 시도됨에 따라 사지보존술의 시행이 점차 증가되었으며, 치료반응을 병리학적 종양괴사정도로 평가하여 수술후 보조약물요법의 약제선택에 응용하는 개념으로까지 발전하였다<sup>2,3)</sup>.

약물요법의 역할이 증가함에 따라 약제내성 또한 치료효과 및 예후에 중요한 요인으로 제시되었다. 1985년 Kartner 등은 세포막 단백질인 p-glycoprotein 이 약제의 유입과 축적을 억제하여 anthracycline, vinka alkaloid, epiphodophyllotoxin, actino-

mycin-D 등에 교차내성을 나타낸다고 보고하였다<sup>4-6)</sup>. 이에 따라 p-glycoprotein의 과다발현과 치료효과와의 상관성에 대하여 많은 연구가 진행되었으며, 일부 고형암과 백혈병에서 상관관계가 보고되었다<sup>7,8)</sup>.

본 연구에서는 초진당시 전이가 없고, 사지에 발생한 병기 IIB 이하의 골육종 환자를 대상으로 수술전 선행약물요법 시행여부에 따른 생존율과 재발율을 비교하였다. 아울러 수술전 선행약물요법에 의한 병소조직의 병리조직학적 치료효과, 면역조직화학염색으로 측정된 p-glycoprotein 과다발현 등을 비교하여, 보조약물요법의 약제선택 지침 및 생존율과 재발율을 예측하는 예측인자로서의 p-glycoprotein의 임상적 유용성을 검토하였다.

## 대상 및 방법

### 1) 대 상

1986년 3월부터 1995년 6월까지 연세대학교 의과

대학 부속 세브란스병원 및 연세암센터에 내원하여 골육종으로 진단받은 환자 67예를 후향적으로 조사하여, 수술을 받지 않은 8예와 약물요법중 자의로 치료를 중단한 6예를 제외하고, 입원기록 및 추적이 가능한 53예를 대상으로 하였다. 병기는 병소의 핵자기공명 영상과 동맥조영술, 폐 전산화단층촬영 및 전신 골주사 등을 시행한 후 결정하였으며<sup>9)</sup>, 초진당시 폐 전이가 없고 사지에 발생한 병기 IIB 이하의 골육종 환자로써 치료효과 판정이 가능하였던 환자를 대상으로 하였다. 32예는 수술전 선행약물요법, 수술 및 수술후 보조약물요법을 시행 받았고, 21예는 수술과 수술후 보조약물요법을 시행 받았다. 이들 환자중, 병소의 파라핀 포매조직이 보존된 45예에서 p-glycoprotein에 대한 면역조직화학염색을 시행하였다.

## 2) 선행약물요법이 시행된 환자의 치료약제 및 용량

수술전 선행약물요법은 제 1 일째에 원발병소의 혈관 조형술을 시행한 뒤, 종괴에 분포하는 혈관 근위부에 도관을 위치시키고 cisplatin 100~120 mg/m<sup>2</sup>을 2 시간 동안 동맥내로 투여하였으며, 제 2 일부터 4일까지 adriamycin 20~30 mg/m<sup>2</sup>/day을 24시간 연속적으로 정주하였다. 환자의 수행상태와, 약물요법에 대한 임상적, 방사선학적 반응을 관찰하며 3~4주 간격으로 반복투여 하였다. 수술후 보조약물요법은 환자의 경과와 전신상태에 따라 수술후 2~4주에 시행하였으며, 수술전 선행약물요법과 동일한 약제로 3~4주 간격으로 반복하였다. 병리조직학적 치료 효과 평가 후, 선행약물요법에 의한 중앙괴사가 미흡하였던 2예에서는 제 1 일째 methotrexate 10 mg/m<sup>2</sup>/day, 제 1 일째부터 3 일째까지 etoposide 120 mg/m<sup>2</sup>/day, 제 1 일째부터 5 일째까지 ifosfamide 1,500 mg/m<sup>2</sup>/day로 수술후 보조약물요법을 시행하였다. Cisplatin을 투여시에 신독성을 방지하기 위하여 수액 및 전해질을 공급하였고, 20% mannitol과 이노제(furosemide)를 투여하였다.

## 3) 수술후 보조약물요법만 시행된 환자의 치료약제 및 용량

수술후 보조약물요법은 환자의 회복경과와 수행상태에 따라 수술후 2~4주에 시행하였다. 치료는 제 1 일

째, cisplatin 100~120 mg/m<sup>2</sup>을 2 시간 동안 정주하였고, 제 2 일부터 4일까지 adriamycin 20~30 mg/m<sup>2</sup>/day을 24시간 연속적으로 정주하였다. 환자의 수행상태와, 약물요법에 대한 임상적, 방사선학적 반응을 관찰하며 3~4주 간격으로 반복 투여 하였다.

## 4) 연구 방법

본 연구는 후향적 연구(retrospective study)로서 대상환자의 입원 및 외래기록을 검토하여, 수술전 선행약물요법, 수술 및 수술후 보조약물요법을 시행받은 군(A군)과 고식적인 수술 및 수술후 보조약물요법을 시행 받은 군(B군)으로 구분하였다. 수술전 선행약물요법을 시행한 경우는 수술조직의 중앙괴사정도가 90% 이상인 선행약물요법 반응군과, 90% 미만인 비 반응군으로 분류하였다. 수술후 보조약물요법만 시행한 군은 원발병소조직으로 p-glycoprotein 면역조직화학염색을 시행하여, 양성인 군과 음성인 군으로 분류하였다(Fig. 1). 각 군의 치료반응 및 치료효과 평가는 전체생존율, 무병생존율 및 재발율로 비교하였다. 전체 생존기간은 병소가 조직학적으로 확진된 날부터 사망일 혹은 최종 추적일까지로 하였고, 무병 생존기간을 수술일부터 재발이 확인된 날 혹은 최종 추적일까지로 하였다. 치료 부작용은 WHO 독성 기준에 의해 조사하였다.

## 5) P-glycoprotein 면역조직화학염색 및 가검물 판독

대상환자 원발병소의 파라핀 포매조직을 이용하여 avidin-biotin system으로 면역조직화학염색을 시행하였다. 인체의 p-glycoprotein항원에 대한 항체는 mouse 단클론항체(JSB-1, Sanbio, Holland)를 사용하였다. 방법은 원발병소의 파라핀 포매조직을 5 µm 두께로 절편하여 slide에 고정시킨 후, 55~57°C 온열기에서 1 시간 동안 가열하여 조직의 파라핀을 녹인 뒤, xylene에서 10분씩 3차례 세척하여 파라핀을 제거하였다. Ethyl alcohol에서 10분간 수화시킨 다음, 암세포 표면의 비특이적 항체 수용체를 제거하기 위하여 ABC kit(Vector, Burlingame, CA, USA)의 blocking 항체액 100 µl를 조직위에 점적한 후 wet gauze를 도포한 humid chamber에 넣고 37°C 배양기에서 30분간 배양하였다. 배양후 slide는 세척

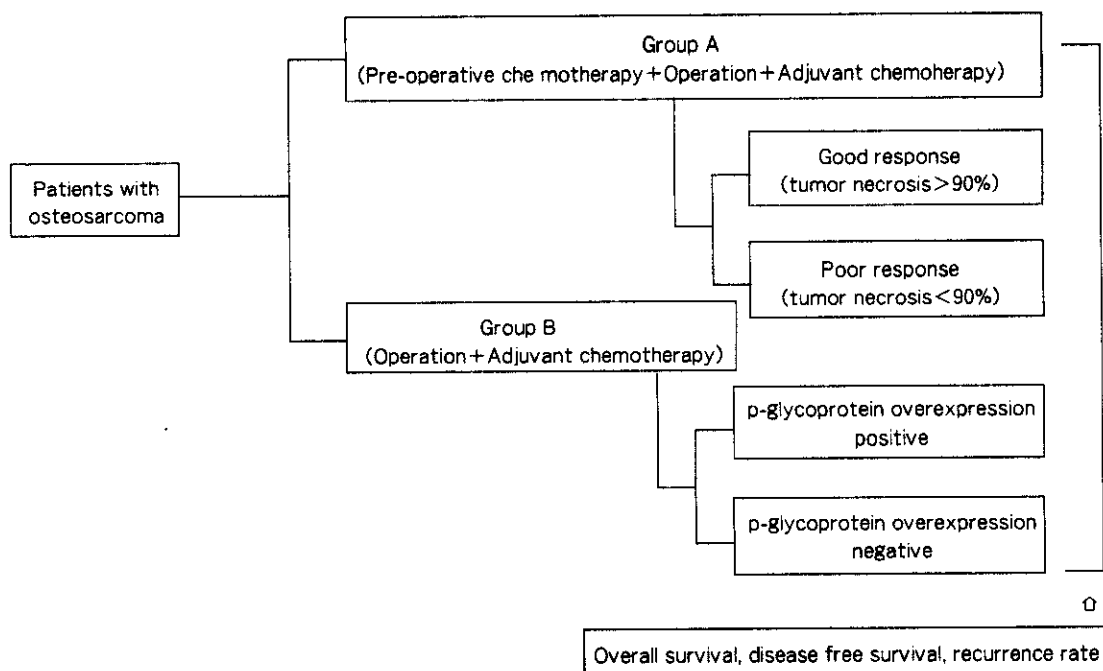


Fig 1. Study scheme.

하지 않고 기울여서 과다한 항체용액을 제거한 뒤, 단 클론항체 1:50 희석액을 100  $\mu$ l 점적하였다.

1차 항체를 점적한 slide를 다시 humid chamber에 넣고 4°C에서 12시간 배양후 phosphate-buffered-saline(PBS)에서 10분간 세척한 뒤, 2차 항체를 부착시켰다. 2차 항체는 peroxidase-conjugated biotinylated antibody(Vector, Burlingame, CA, USA)를 100  $\mu$ l씩 점적 후 humid chamber에 넣고 37°C에서 40분간 배양하였다. 2차 항체 배양이 끝난 후 PBS에 10분간 세척하고 ABC 용액(Vector, Burlingame, CA, USA)을 2방울씩 조직에 점적한 후 실온에서 30분간 배양하고 PBS에 10분간 세척하였다. Substrate와 발색제는 250 ml PBS에 250 mg의 3'-3'diaminobenzidine(DAB)(Sigma chemical Co, St.Louis, Mo, USA)을 용해시키고 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 87  $\mu$ l를 첨가하여 은박지로 싸서 반응시켰다. 최종 세척이 끝난 slide를 DAB용액에 담근후, 수시로 꺼내어 현미경 하에서 갈색의 색소 침착이 일어나는가를 관찰하여 양성 대조군 slide에서의

반응이 관찰되면 중단하였다. 다시 PBS로 10분, 증류수로 10분간 세척하고 공기에서 건조시킨후 hematoxyline염색으로 대조염색을 하였다. 음성 대조군 slide는 동일한 조직절편 slide에 1차항체만 점적하지 않고 나머지 모든 과정은 동일하게 시행하였고, 양성 대조군은 p-glycoprotein 양성반응을 보인 대장암 세포조직을 이용하였다. 가점물 판독은 병리학자가 임상적 정보를 받지 않은 상태에서 slide를 검토하여 대조군과 비교한 후 양성 및 음성군을 판정하였다(Fig. 5). 양성 기준은 전체 암세포수에서 세포막이나 골지체에 면역화학염색 양성반응을 나타내는 세포의 핵분비에 의해 적용하였으며, 10% 이상을 양성, 10% 미만을 음성으로 판정하였다<sup>10)</sup>.

#### 6) 수술전 선행약물요법에 대한 병리조직학적 치료 반응

수술전 선행약물요법을 시행한 환자의 수술조직을 병리학자가 판독하여 종양조직의 괴사정도를 Huvs 등의 기준에 따라 4단계로 분류하였다<sup>11)</sup>. Grade I은

종양괴사가 50% 미만으로 수술전 선행약물요법에 의한 반응이 미흡한 경우, Grade II는 종양괴사가 50% 이상이며 90% 미만으로 부분반응을 나타낸 경우, Grade III는 종양 괴사가 90% 이상이나 종양세포가 일부 관찰되는 경우, Grade IV는 종양이 완전히 괴사된 경우로 하였다. Rosen등의 기준에 따라 조직괴사 정도가 90% 이상인 군(grade III, IV)을 선행약물요법 반응군, 90% 미만인 군(grade I, II)을 으로 분류하여 치료성적을 비교하였다<sup>12)</sup>.

### 7) 통계 처리

재발과 관계되는 예후인자의 비교는 비모수 검정인 two-tailed Fisher's exact test, Kruskal-Wallis test 및 Mann-Whitney 검정을 이용하였다. 중앙생존기간 및 생존율은 Kaplan-Meier 방법을 사용하였으며, 생존율의 비교는 log-rank test로 검정하였고, 유의도는 0.05 이하로 하였다.

## 결 과

### 1) 대상환자의 임상적 특징

대상환자 53예중 남자 33예, 여자 20예로 중앙연령은 17세(범위: 5~61세)였다. 종양의 발생부위는 대퇴원위부 24예(45.3%), 경골근위부 17예(32.1%), 상완골 7예(13.2%), 대퇴근위부 3예(5.4%), 비골 1예(1.9%), 요골 1예(1.9%)였고, 원발병소의 조직형은 Osteoblastic type 42예(78.2%), Telangiectatic type 4예(7.5%), Chondroblastic type 3예(5.7%), Fibroblastic type 2예(3.8%)였으며 판정이 불가능한 경우가 2예였다. 32예(60.4%)는 수술전 선행약물요법, 수술 및 수술후 보조약물요법을 시행 받았고(A군), 21예(39.6%)는 수술 및 수술후 보조약물요법을 시행 받았다(B군)(Table 1).

### 2) 전체 환자의 생존율

중앙추적관찰기간은 38개월이었고(범위: 7~99개월), 53예중 50예(94.3%)에서 추적시까지 생사를 확인할 수 있었다. 대상환자의 3년 전체생존율은 66.1%, 3년 무병 생존율은 61.9%이었다(Fig. 2).

### 3) 치료유형별 생존율 비교

A군 32예의 중앙추적관찰기간은 19개월(범위: 7~

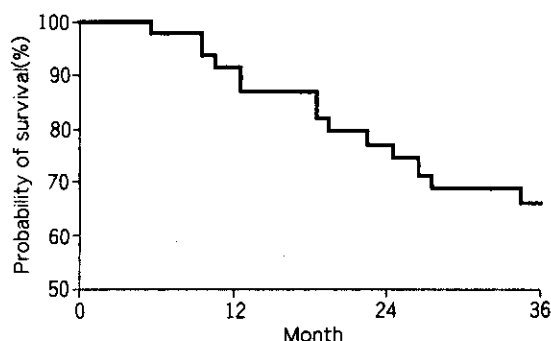
Table 1. Patients characteristics

Number of patients	53
Gender(ratio)	
Male:Female	1.7:1
Age(year)	
Median(range)	17(5~61)
Site	
Distal femur	24(45.3%)
Proximal tibia	17(32.1%)
Humerus	7(13.2%)
Proximal femur	3( 5.4%)
Fibular	1( 1.9%)
Radius	1( 1.9%)
Pathological type	
Osteoblastic	42(78.2%)
Telangiectatic	4( 7.5%)
Chondroblastic	3( 5.7%)
Fibroblastic	2( 3.8%)
Undetermined	2( 3.8%)
Alkaline phosphatase (IU/L)	
Mean±standard deviation	181±123
Chemotherapy	
Group A: Pre-operative chemotherapy and post-operative adjuvant chemotherapy	32(60.4%)
Group B: Only post-operative adjuvant chemotherapy	21(39.6%)

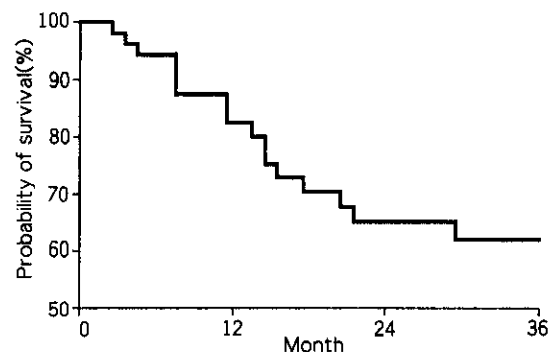
47개월)이었고(추적관찰율: 96.8%), B군 21예의 중앙추적관찰기간은 39개월(범위: 13~108개월)이었다(추적관찰율: 90.4%). 양군의 3년 전체생존율은 각각 70.5%, 65.3%( $p=0.75$ ), 무병생존율은 각각 60.9%, 63.5%로 두군간에 차이가 없었다( $p=0.46$ )(Fig. 3). A군 21예(65.5%)에서 사지 보존술이 가능하였고, 11예(34.5%)는 사지 절단술을 시행 받았다.

### 4) A군에서 병리조직학적 치료반응에 따른 생존율 비교

(1) 병리조직학적 반응: 수술전 선행약물요법에 대한 병소의 병리조직학적 괴사정도는 Huvos등의 기준에 의해, Grade I 6예(18.8%), Grade II 5예(15.6%), Grade III 8예(25.0%), Grade IV 13예(40.6%)였다(Table 2).



A. Overall survival curve



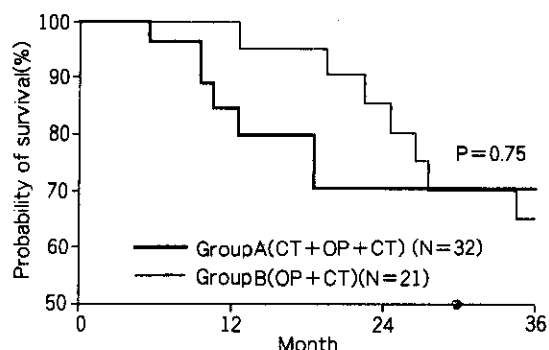
B. Disease-free survival curve

Fig. 2. Kaplan-Meier plot of survival for all patients.

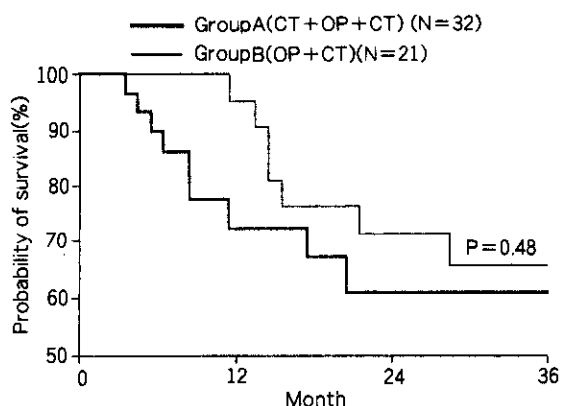
Table 2. Histological response to pre-operative chemotherapy

Histologic response	No. of patients(%)
Grade I	6(18.8%)
Grade II	5(15.6%)
Grade III	8(25.0%)
Grade IV	13(40.6%)

(2) 생존율 비교: 조직학적인 괴사정도가 90% 이상인 21예(65.6%)를 선행약물요법 반응군으로, 90% 미만인 11예(34.4%)를 비 반응군으로 하여 생존율을 비교하였다. 선행약물요법 반응군과 비 반응군의 3년 전체생존율은 78.3%, 58.4%( $p=0.11$ ), 무병생존율은 73.3%, 48.4%로 반응군에서 증가되는 경향이였다( $p$



A. Overall survival curve



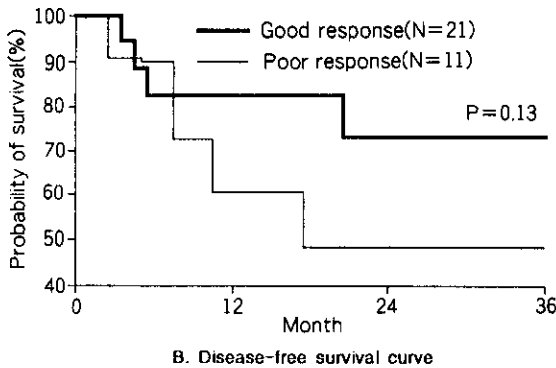
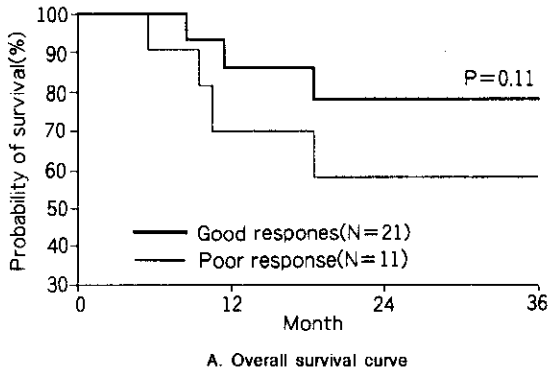
B. Disease-free survival curve

Fig. 3. Kaplan-Meier plot of survival according to treatment.

$=0.13$ )(Fig. 4).

#### 5) B군에서 P-glycoprotein 과다발현에 따른 생존율의 비교

(1) 골육종에서 P-glycoprotein 과다발현도: 대 상환자 53예중 조직의 보관상태가 양호하고, 기록이 보존된 45예의 원발병소 파라핀 포매조직을 대상으로, p-glycoprotein 단클론항체를 이용하여 면역조직화 학염색을 시행하였다. 수술전 선행약물요법을 시행한 27예(A군)의 약물요법전 생검조직 20예는 종양세포의 양이 부족하고 탈 칼슘화과정에서 일부 조직의 소실이 있어 면역화학염색 결과 판정에 적합하지 않았고, 이 중 1예만 양성으로 판독되어 분석에서 제외하였다. 선행약물요법후 수술조직은 종양의 괴사정도가 심한 치료 반응군의 경우, 잔존하는 종양세포가 거의 없어서



**Fig. 4.** Kaplan-Meier plot of survival according to histologic response after pre-operative chemotherapy.

면역조직화학염색 판정이 매우 어려웠다. 비교적 판독이 가능하였던 23예중 5예(21.4%)가 양성이었으며, 선행약물요법 비 반응군 4예, 반응군 1예에서 관찰되었다. 고식적인 수술후 보조약물요법을 시행한 18예에서 수술조직 파라핀 포매조직을 대상으로 시행한 면역화학염색 결과, 11예(61.1%)에서 양성으로 판정되었다(Fig. 5).

(2) 생존율 비교: B군에서 p-glycoprotein 면역조직화학염색 양성인 11예(61.1%)와 음성인 7예(38.8%)의 전체 생존율과 무병생존율 비교시, 양성군과 음성군의 3년 전체생존율은 각각 63.6%, 67.5% ( $p=0.81$ ), 무병생존율은 각각 58.1%, 57.4%로 양군 사이에 차이가 없었다( $p=0.95$ ).

**Fig. 5.** Immunochemical staining of p-glycoprotein in osteosarcoma with monoclonal antibody (JSB-1).

#### 6) 각 예후인자별 재발율 비교

총 53예중 20예(37.7%)에서 재발하였고, 수술후 보조약물요법만 시행한 A군에서 10예(31.3%), 수술전 선행약물요법을 시행한 B군에서 10예(47.6%)가 재발하여 양군 사이에 재발율의 차이는 없었다( $p=0.36$ ). 재발부위는 A군에서 1예가 원발병소에서 재발하였고, 그외는 모두 폐에서 재발하여 선행약물요법 시행에 여부에 따른 치료실패유형의 차이는 관찰되지 않았다. 수술전 선행약물요법에 의한 종양의 조직학적 반응이 90% 이상인 선행약물요법 반응군에서 4예(19.0%), 비 반응군에서 6예(60.0%)가 재발하여 재발율과 병리조직학적 반응의 상관성이 관찰되었다( $p=0.04$ ). 재발군과 비 재발군의 진단 당시 혈청 alkaline phos-

Table 3. Patient characteristics to predict of recurrences in the univariate analysis

	Relapse group (n=20)	Non-relapse group (n=33)	P-value
Sex ratio			0.21
Male:Female	4.5:1	1:1.1	
Age(year)			0.51
Median(range)	16(9~57)	17(5~61)	
Site			0.88
Distal femur	10(50.0%)	14(42.4%)	
Proximal tibia	6(30.0%)	11(33.3%)	
Humerus	3(15.0%)	4(12.1%)	
Proximal femur	1( 5.0%)	2( 6.0%)	
Fibular	0( 0.0%)	1( 3.0%)	
Radius	0( 0.0%)	1( 3.0%)	
Pathological type(%)			0.20
Osteoblastic	18(90.05)	24(72.7%)	
Telangiectatic	2(10.0%)	2( 6.1%)	
Chondroblastic	0( 0.0%)	3( 6.1%)	
Fibroblastic	0( 0.0%)	2 9.1%)	
Unknown	0( 0.0%)	2( 6.1%)	
Alkaline phosphatase(IU/L)			0.01
Mean(range)	251.9(80~804)	158.8(44~602)	
Tumor size(cm)			0.08
Mean(range)	12.6(5~30)	9.2(2~20)	
Operation			0.62
Limb salvage	12(60.0%)	22(66.7%)	
Amputation	8(40.0%)	11(33.3%)	
Chemotherapy			0.36
Group A	10(50.0%)	22(66.7%)	
Group B	10(50.0%)	11(33.3%)	
Tumor necrosis**			0.04
90% ≤	4(40.0%)*	17(77.3%)*	
90% >	6(60.0%)*	5(22.7%)*	
p-glycoprotein			0.67
Positive	6(60.0%)**	5(62.5%)**	
Negative	4(40.0%)**	3(37.5%)**	

Group A: Pre-operative chemotherapy and post-operative adjuvant chemotherapy

Group B: Only post-operative adjuvant chemotherapy

\*For group A(Relapse group: 10 cases, Non-relapse group: 22 cases)

\*\*For group B(Relapse group: 10 cases, Non-relapse group: 8 cases)

phatase는 각각 평균 251.9 IU/L, 158.8 IU/L로 재발군에서 유의하게 높았다( $p=0.01$ ). 그외 성별, 나이, 발생부위, 조직형, 수술방법, 종괴의 크기, p-glycoprotein 과다발현 등은 재발율과 유의한 상관성이

없었다(Table 3).

## 7) 부작용

A군에서는 위장관계 부작용중 오심 및 구토가 30



Table 4. Treatment related-toxicities

Toxicity		(n=32)	(n=21)
<b>GI tract</b>			
Nausea/vomiting	Grade I	8(25.0%)	4(19.0%)
	II	14(43.7%)	7(33.3%)
	III	6(25.0%)	6(28.6%)
	IV	2(6.3%)	1(4.8%)
Mucositis	Grade I	7(21.9%)	2(9.5%)
	II	5(15.6%)	4(19.0%)
	III	3(9.4%)	1(4.8%)
Diarrhea	Grade I	1(3.1%)	5(23.8%)
	II	12(37.5%)	6(28.6%)
	III	1(3.1%)	1(4.8%)
<b>Hematology</b>			
Anemia	Grade I	1(3.1%)	2(9.5%)
	II	15(46.8%)	8(38.0%)
	III	13(40.6%)	4(19.0%)
	IV	1(3.1%)	1(4.8%)
Leukopenia	I	0(0.0%)	0(0.0%)
	II	3(9.4%)	1(4.8%)
	III	22(68.7%)	12(37.5%)
	IV	7(21.9%)	7(33.3%)
Thrombocytopenia	Grade I	2(6.2%)	1(4.8%)
	II	8(25.0%)	5(23.8%)
	III	14(43.7%)	10(47.6%)
	IV	8(25.0%)	4(19.0%)

예(93.8%)로 가장 많았고, 이중 WHO grade III 이상은 8예(25%)였으며, 구강점막염 15예(46.8%), 설사 14예(43.8%)등의 순으로 관찰되었다. 혈액학적 부작용으로 백혈구감소증과 혈소판감소증이 전 환자에서 나타났고, 빈혈은 30예(93.8%)였으며, WHO Grade III 이상인 백혈구 감소증은 29예(90.6%), 혈소판 감소증은 22예(68.8%)였다. B 군에서는 백혈구 감소증과 혈소판 감소증이 각각 20예(95.5%)였고, 빈혈은 15예(71.4%)였으며, 이중 WHO Grade III 이상인 백혈구 감소증은 19예(90.5%), 혈소판 감소증은 14예(66.6%)로 양 군에서 차이가 없었다. 대다수의 빈혈, 백혈구 감소증, 혈소판 감소증은 수혈, 조혈촉진인자 등 보존적인 치료로 호전되었으나, 수술후 보조약물요법만 시행한 군에서 1예, 수술전 선행약물요법을 시행한 2예중 1예는 수술전, 1예는 수술후 보조약물요법중 백혈구감소증에 의한 패혈증으로 사망하였다(Table

4).

## 고 찰

골육종은 20세 이하의 골종양중에서는 비교적 발생 빈도가 높으나, 성인종양에서 발생율이 1% 미만을 차지하는 드문 종양이다. 골격성장이 증가된 10세에서 15세 사이의 성장기에 발병율이 높으며, 방사선 노출, Paget's disease, 섬유성 이형성증 등과 연관이 있다<sup>1,13)</sup>. 과거 수술적 치료만 시행하였던 경우, 진단 당시 원격전이가 없는 환자의 80%가 2년내에 재발하여 5년 생존율이 20% 미만이었다<sup>15,16)</sup>. 따라서 현미경적 전이를 근절하기 위하여 전신적 약물요법의 병행이 시작되어, 1974년 methotrexate와 adriamycin에 의한 수술후 보조약물요법으로 환자의 생존율이 향상되었고<sup>14,17)</sup>, Pratt등은 methotrexate와 adriamycin의 투여량을 증가하여 5년 생존율을 56%까지 향상시켰다<sup>18)</sup>. 이후 무작위화법에 의한 비교연구에 의해 보조약물요법에 의한 무병생존률의 향상을 증명함으로써 골육종 치료의 표준화 방법으로 인정받게 되었다<sup>19)</sup>. 현재까지 수술후 보조약물요법의 약제로는 adriamycin과 cisplatin의 병용요법이 인정되었고, methotrexate, cyclophosphamide, bleomycin, dactinomycin의 효과는 명확히 밝혀지지 않고 있다<sup>20)</sup>.

1976년 Rosen 등은 골육종 환자에서 수술전에 일차적으로 약물요법을 시행한 후 수술을 시행하는 선행 약물요법의 치료성적을 보고하면서, 선행유도약물요법이 미세전이된 병변을 조기에 치료하고, 사지보존술의 가능성을 증가시켜서 침범된 부위의 기능을 보존할 수 있게 하며, 치료효과를 조직학적으로 평가하여 수술후 보조요법시의 약제를 조정할 수 있다는 장점을 제시하였다<sup>21)</sup>. 1979년 Rosen등은 고용량 methotrexate와 bleomycin, cyclophosphamide, dactinomycin 및 adriamycin에 의한 선행유도약물요법으로 무병 생존율이 84%까지 증가하였다고 보고하였고<sup>22)</sup>, Jaffe등은 cisplatin을 국소동맥내로 투여함으로써, methotrexate를 투여한 경우보다 무병생존률을 더욱 향상시켰다<sup>23)</sup>. 이같이 methotrexate, adriamycin, cisplatin등을 이용한 수술전, 후의 보조약물요법의 병행에 따라 골육종의 5년 무병생존율이 50~80%로 증가한 반면<sup>19)</sup>, 생존율의 증가가 증명되지 않은

연구결과도 보고되고 있어 아직까지는 확정적인 결론이 유도되지 않고 있다<sup>24-26)</sup>. 본 연구 결과 cisplatin (intra-arterial:IA)과 adriamycin(intravenous:IV)으로 수술전 선행유도약물요법을 시행한 군과 시행하지 않은 군의 3년 무병생존율이 각각 60.9%, 63.5%로 유의한 차이가 없었다. 이는 본원에서 선행유도약물요법을 1992년 5월부터 시행한 바, 선행유도약물요법을 시행한 군의 추적관찰 기간이 고식적인 수술후 보조약물요법만 시행한 군에 비하여 짧으므로, 아직 명확한 결론을 내릴수 없다고 판단되며 향후 지속적인 비교관찰이 필요하리라 생각된다.

선행유도약물요법의 효과는 임상적으로 종괴의 크기와 동통의 감소, 방사선학적으로 혈관조영술, 단층촬영 및 핵자기공명촬영에 의한 종괴의 변화로 확인하거나, 수술조직의 조직학적 괴사정도로 판정할 수 있다. Rosen등은 고용량의 methotrexate로 수술전 선행유도약물요법을 시행한 후, 선행약물요법 반응군이 비반응군에 비교하여 생존율이 증가되었다고 보고하였다<sup>2)</sup>. 반면 Baldini등은 98예의 골육종환자에서 methotrexate, adriamycin, cisplatin으로 선행유도약물요법을 시행한 후, 치료반응율은 70%였으나 치료반응에 따른 생존율의 차이는 없었다고 보고하였다<sup>10)</sup>. 본 연구에서는 33예의 환자중 grade III가 8예(25.0%), grade IV가 13예(40.6%)로 치료반응군이 21예(65.6%)였고, 이는 Baldini등의 보고와 유사한 성적이었다. 선행약물요법 반응군과 의 3년 무병생존율은 각각 73.3%, 48.4%로, 치료반응군에서 증가된 경향이었던 반면( $p=0.13$ ), 재발율은 선행약물요법 반응군에서 4예(19.0%), 6예(60.0%)로 증가되어( $p=0.039$ ), 종양괴사정도가 재발예측인자로서의 임상적 응용가능성이 제시되었다. 종양의 괴사정도에 따라 수술전 선행약물요법의 효과를 판정하여, 이를 수술후 보조약물요법의 약제를 선택하는 기준으로 사용하려는 시도가 최근 시행되고있다<sup>27)</sup>. Rosen등은 고용량의 methotrexate와 adriamycin으로 수술전 선행유도약물요법을 시행한 뒤 종양괴사가 90% 미만인 비 반응군을 대상으로 cisplatin을 포함한 약제로 수술후 보조약물요법을 시행하여 2년 생존율이 78%까지 향상되었음을 보고하였다<sup>12)</sup>. 본 연구에서도 조직학적 반응이 미흡한 2예에서 수술후에 methotrexate, etoposide, ifosfamide로 보조약물요법을 시행하였고, 2예

모두 재발없이 생존해 있어 조직학적 반응에 따른 수술후 보조약물요법시의 약제 선정에 대한 비교연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

수술전과 후에 시행되는 약물요법의 역할이 강조됨에 따라 암세포의 약제저항이 중요한 예후인자로 제시되었다. 암세포의 약제저항기전은 약동학적 요인(pharmacokinetic factor), 병리세포형과 생물학적 특성, 개체의 면역상태, 약제 침투경로 및 약제내성으로 설명되고있다<sup>28-31)</sup>. 1973년 Dano는 선택된 몇 개의 약제에 대하여 내성을 나타내는 암세포를 대상으로 조사한 결과 암세포가 약제를 세포 외로 배출함으로써 내성이 유발됨을 확인하였다<sup>4)</sup>. 1985년, Kartner등은 이러한 암세포의 약제배출이 세포막 단백질인 p-glycoprotein에 의함을 관찰하였고<sup>5)</sup>, Roninson등이 p-glycoprotein을 발현시키는 다약제내성 유전자(MDR 1)를 확인하여 다약제내성 유전자의 과다발현에 의한 약제내성을 증명하였다<sup>6)</sup>. P-glycoprotein은 크기가 170 Kd인 세포막 단백질로 6개의 소수성 부위와 2개의 ATP결합 부위로 이루어져 있어, 박테리아 세포막의 수송단백질과 유사한 구조를 가지고 있다<sup>32)</sup>. 이는 종양세포의 세포막 및 골지체에 존재하여, ATP 의존성에 의해 항암제가 암세포에 유입, 축적되는 것을 억제함으로써 서로 교차내성이 없는 anthracycline (daunomycin, doxorubicin), vinka alkaloid (vinblastine, vincristine), epipodophyllotoxin (tenoposide, etoposide), actinomycin-D등의 약제에 대하여 저항성을 나타내게 된다<sup>7,33)</sup>. P-glycoprotein mRNA의 과다발현은 유방암, 신장암, 간암, 대장암, 악성임파종, 임파구성 백혈병 및 비 임파구성 백혈병 등에서 보고되었고<sup>9,33)</sup>, 항암약물요법의 치료효과와 상관성은 일부 고형암에서 보고되었다. 고형암종육종은 p-glycoprotein이 환자의 예후와는 무관한 것으로 보고된 반면, 혈액질환인 임파종, 다발성 골수종, 급성백혈병과 유방암에서는 p-glycoprotein의 과다발현이 환자의 예후와 치료반응에 대한 예후인자로 제시되고 있다<sup>34-37)</sup>. 본 연구에서는 p-glycoprotein에 대한 단클론항체를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하였으며, 이 방법은 Western blot방법과 동일한 결과를 얻을 뿐 아니라, 방법이 실용적이고 간편하여 쉽게 이용할 수 있는 장점이 있다. 그러나 항원의 교차 반응에 의한 위양성이 있어 immunoblot방법에

비해 특이도가 낮은 단점이 제시되기도 한다. P-glycoprotein과 반응하는 단클론항체는 p-glycoprotein의 external domain과 반응하는 MRK16과 internal domain과 반응하는 C219, JSB-1등이 있는데, Stein등은 11예의 골육종 조직을 대상으로 MRK16 단클론항체(Behring-Werke, Marburg)를 이용하여 p-glycoprotein 면역조직화학염색을 시행한 다음, 10예(90.9%)에서 양성을 보고한 반면<sup>38)</sup>, Baldini등은 92예를 대상으로 MRK16과 JSB-1 단클론항체를 사용하여 시행한 결과 28예(30.4%)에서 양성으로 보고하였다<sup>10)</sup>. 본 연구에서는 JSB-1 단클론항체를 사용한 바, 수술전 선행약물요법을 시행한 27예중 약물요법전 생검조직 20예는 종양의 세포양이 부족하고 탈 칼슘화과정에 의한 일부조직의 손실로, 위음성의 가능성이 많아서 분석에서 제외하였다. 또한 선행유도약물요법후 수술조직은 종양의 괴사정도가 심한 치료 반응군의 경우, 잔존하는 종양세포의 부족으로 면역조직화학염색 판정이 어려워, 단지 23예에서만 비교적 판독이 가능하였다. 그 결과 23예중 5예(21.4%)가 양성이었으며, 5예는 선행약물요법 비 반응군 4예, 반응군 1예였다. 고식적인 수술후 보조약물요법을 시행한 군에서 수술조직 18예는 종양세포의 양이 충분하고 잘 보존되어 있어, 11예(61.1%)가 양성으로 판독되었다. A군의 선행약물요법 시행후 이차적 p-glycoprotein 과다발현율이 21.4%로, B군의 선행약물요법을 시행하지 않은 조직의 일차적 p-glycoprotein 과다발현율 61.4%에 비해 감소되어 있었는데, 이는 이차적 p-glycoprotein 과다발현이 주로 선행약물요법에 괴사되지 않은 종양세포에서 관찰되어야 하나, 종양의 괴사정도가 높아 잔존하는 종양세포가 많지 않았기 때문으로 사료된다. 이같이 일차적 p-glycoprotein 과다발현율이 높음에도 불구하고 선행약물요법에 의한 종양의 괴사정도가 높은 것으로 보아, 육종에서 p-glycoprotein 과다발현이 예후와 무관하다는 보고와 일치하는 점이 있으나, 본 치료에서는 p-glycoprotein과 무관한 cisplatin이 병용투여된 점을 고려하여 이점에 대한 추가적 연구가 필요하리라 사료된다. P-glycoprotein 과다발현 여부에 따른 치료성적에 대해서는 논란이 많아, Stein등은 골육종을 포함한 골종양에서 p-glycoprotein 과다발현에 따른 임상경과가 차이가 없었다고 하였고<sup>38)</sup>, Baldini

등은 p-glycoprotein이 과다발현 되지 않은 경우 무병생존율이 유의하게 증가되었다고 보고하였다<sup>10)</sup>. 본 연구에서는 p-glycoprotein양성인 11예와 음성인 7예의 3년 무병 생존율을 비교한 결과 각각 63.6%, 67.5%로 차이가 없었고, 재발율도 54.5%, 57.1%로 역시 차이가 없어 아직까지 면역조직화학염색으로 측정된 골육종의 일차적 p-glycoprotein 과다발현여부와 골육종의 임상경과 및 재발율과의 상관성을 관찰할 수 없었다. 특히, 본 연구에서는 45예의 파라핀 포매조직 중 일차적 p-glycoprotein 과다발현 판독이 가능한 경우가 18예에 불과하였으므로, 향후 탈 칼슘화를 시행하지 않은 조직을 파라핀에 보관하거나, 신선조직을 냉동보관하여 면역조직화학염색과 Northern blot을 동시에 시행함으로써, 다약제내성유전자의 과다발현에 따른 임상경과의 추적에 대한 연구가 필요하겠다.

본 연구결과 재발예측인자로 병리조직학적 반응과 내원당시 alkaline phosphatase가 제시되었다. 따라서 종양의 괴사정도가 약제선택에 많은 도움을 줄 수 있을 것으로 생각되나 초기 진단시에 평가할 수 있는 예후예측인자가 아니므로, 향후 진단 초기에 약제선택 및 예후예측에 도움이 될 수 있는 새로운 인자를 제시하기 위한 연구가 필요하며, 선행약물치료후 비 반응군을 대상으로한 수술후 보조 약물요법의 비교연구도 필요한 시점이라 하겠다.

수술전 선행약물요법을 시행한 군에서 WHO grade III 이상인 백혈구 감소증이 29예(90.6%), 혈소판 감소증이 22예(68.8%)관찰되어, 치료후 감염과 출혈에 대한 면밀한 주의가 요구되었다. 본 연구에서는 조혈 촉진인자(ganulocyte-macrophage colony stimulating factor) 및 혈소판 수혈 등의 보존적인 치료가 일부 환자에서 시행되었고, 환자의 나이가 젊고, 수행상태가 양호하여, 패혈증으로 사망한 경우를 제외하고 모두 회복되었다.

이상의 결과로, cisplatin(IA)과 adriamycin(IV)을 이용한 수술전 선행약물요법은 65.6%의 치료반응율과 65.6%의 사지보존율을 유도하였으나, 고식적인 수술후 보조약물요법을 시행한 경우에 비해 아직까지 생존율과 재발율의 차이가 없었다. 수술전 약물치료 비 반응군에서 재발율이 높아, 선행약물요법에 의한 종양괴사정도가 재발예측인자로 제시되었다. P-glycoprotein의 과다발현율은 61.1%였고, 생존율 및 재

발출과는 유의한 상관관계가 없었다. 추후 선행약물요법을 대상으로한 수술후 보조약물요법의 역할에 대한 비교연구와 약제전환의 지침으로 사용할 수 있는 예측인자에 대한 연구가 필요하리라 사료된다.

## 결 론

골육종환자에서 cisplatin(IA)과 adriamycin(IV)을 이용한 수술전 선행약물요법은 고식적인 수술후 보조약물요법을 시행한 경우에 비해 관찰기간이 짧아 생존율과 재발율에 차이는 관찰되지 않았다. 선행약물요법 비 반응군에서 재발율이 높아 수술전 선행약물요법에 의한 종양괴사정도가, 치료전 혈청 alkaline phosphatase와 함께 재발예측인자로 이용 가능성을 제시하였다. 약물치료가 시행되지 않은 조직의 p-glycoprotein의 과다발현도는 61.1%였으나, 과다발현여부와 생존율 및 재발율과는 유의한 상관관계가 없었다. 추후 치료반응을 높이기 위한 수술전 선행약물요법과 치료 비반응군을 대상으로 한 수술후 보조약물요법에 대한 전향적인 연구가 필요하며, 재발위험 및 약제의 전환에 지침이 되는 예측인자에 대한 연구가 계속되어야 하겠다.

## 참 고 문 헌

- 1) Rubin P, MacDonald S, Qazi R: *Pediatric osteogenic sarcoma. Clin Oncol* 7: 282, 1992
- 2) Rosen G: *Preoperative(neoadjuvant) chemotherapy for osteogenic sarcoma: A ten years experience. Orthopaedics* 8: 659, 1985
- 3) Benjamin RS, Chawla SP, Carrasco C: *Arterial infusion in the treatment of osteosarcoma: Recent concepts in sarcoma treatment. The Netherland, Klumer Academic* 1988, pp269-274
- 4) Dano K: *Active outward transport of Idarubicin in resistant Ehrlich ascites tumor cells. Biochemi Biophys Acta* 83: 466, 1973
- 5) Kartner N, Everden-Porelle D, Bradley G, Ling V: *Detection of p-glycoprotein in multidrug resistance cell line by monoclonal antibodies. Nature* 316: 820, 1985
- 6) Roninson IB, Chin JE, Choi KG: *Isolation of human mdr DNA sequences amplified in multidrug-resistant hamster cells. Proc Natl Acad*

- Sci USA* 83: 337, 1986
- 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* 84: 265, 1987
- 8) Goldstein LJ, Galski H, Fojo A, Willingham M, Lai SL, Gazdar A, Pirker R: *Expression of a multidrug resistance gene in human cancers. J Natl Cancer Inst* 81: 116, 1989
- 9) Enneking WF, Spanier SS, Goodman MA: *A system for the surgical staging of musculoskeletal sarcoma. Clin Orthop* 153: 106, 1980
- 10) Baldini N, Scotlandi K, Barbanti-Brodano G, Manara MC, Maurie D, Bertoni F, Picci P, Scotti S, Campanacci M, Serra M: *Expression of p-glycoprotein in high grade osteosarcomas in relation to clinical outcome. N Engl J Med* 333: 1380, 1995
- 11) Huvos AG, Glasser DB, Lane JM, Marcove RC, Rosen G: *Survival, prognosis and therapeutic response in osteogenic sarcoma. Cancer* 69: 698, 1992
- 12) Rosen G, Caparros B, Huvos AG, Kosloff C, Nirenberg A, Cacavio A, Marcove RC, Lane JM, Urban C: *Preoperative chemotherapy for osteogenic sarcoma. Cancer* 49: 1221, 1982
- 13) Cortes EP, Holland JF, Wang JJ: *Amputation and adriamycin in primary osteosarcoma. N Eng J Med* 291: 98, 1974
- 14) Crenshaw AH: *Malignant tumor of bone. Campbell's operative orthopaedics III, St. Louse, Mosby-Year Book Inc, 1992, pp 266-269*
- 15) Marcove RC, Mike V, Hajek JV: *Osteogenic sarcoma under the age of twenty-one: A review of 145 operative cases. J Bone Joint Surg* 52: 411, 1970
- 16) Uribe-Botero G, Russel WO, Sutow W, Martin RG: *Primary osteosarcoma of bone: A Clinicopathologic investigation of 243 cases, with necropsy study in 54. Am J Clin Pathol* 67: 427, 1977
- 17) Jaffe N, Frei E, Traggis D: *Adjuvant methotrexate and citrovorum factor treatment of osteogenic sarcoma. N Eng J Med* 291: 994, 1974
- 18) Pratt CB, Champion JE, Fleming ID, Rao B, Kumar M, Evan WE, Green AA, George S: *Adjuvant chemotherapy for osteosarcoma of the extremity: Long-term results of two consecutive prospective protocol studies. Cancer* 65: 439, 1990

- 19) Link MP, Goorin AM, Miser AW, Green AA, Pratt CB, Belasco JB, Malpas JS, Baker AR, Kirkpatrick JA, Ayala AG, Shuster JJ, Abelson HT, Simone JV, Vietti TJ: *The effect of adjuvant chemotherapy on relapse-free survival in patients with osteosarcoma of the extremity. N Engl J Med* **314**: 1600, 1986
- 20) Mazanet R, Antman KH: *Adjuvant chemotherapy for sarcoma. Semin Oncol* **18**: 603, 1991
- 21) Rosen G, Murphy L, Huvos AG, Gutierrez M, Marcove RC: *Chemotherapy, en bloc resection, and prosthetic bone replacement in the treatment of osteogenic sarcoma. Cancer* **37**: 1, 1976
- 22) Rosen G, Marcove RC, Caparros B: *Primary osteogenic sarcoma. The rationale for preoperative chemotherapy and delayed surgery. Cancer* **43**: 2163, 1979
- 23) Jaffe N, Robertson R, Ayala A: *Comparison of intra-arterial cis-diamminedichloro-platinum II with high dose methotrexate in the treatment of primary osteosarcoma. J Clin Oncol* **3**: 1101, 1985
- 24) Ettinger L, Douglass A, Higby D: *Adjuvant adriamycin and cis-diamminedichloro-platinum in primary osteosarcoma. Cancer* **47**: 248, 1981
- 25) Simon MA, Aschliman MA, Thomas N, Mankin HJ: *Limb-salvage treatment versus amputation for osteosarcoma of the distal end of the femur. J Bone Joint Surg* **68**: 1331, 1986
- 26) Taylor WF, Ivins JC, Unni KK, Beabout JW, Golenzer HJ, Black LE: *Prognostic variables in osteosarcoma: A multi-institutional study. J Natl Cancer Inst* **81**: 21, 1989
- 27) Winkler K, Beron G, Delling G, Heise U, Kabisch H, Purfurst C, Berger J, Ritter J, Jurgens H, Gerein V, Graft N, Russe E, Gruemaer R, Ertilt W, Kotz R, Preusser P, Prindull G, Brandeis W, Nandbeck G: *Neoadjuvant chemotherapy of osteosarcoma: Results of a randomized cooperative trial(COSS-82) with salvage chemotherapy based on histologic tumor response. J Clin Oncol* **6**: 329, 1988
- 28) Borst P: *Genetic mechanism of drug resistance. Rev Oncol* **4**: 87, 1991
- 29) Brown R: *Gene amplification and drug resistance. J Pathol* **163**: 287, 1991
- 30) Adrian L, Hochhauser D: *Mechanisms of multi-drug resistance in cancer treatment. Acta Oncol* **31**: 205, 1992
- 31) Harris A, Hochhauser D: *Mechanism of multi-drug resistance in cancer treatment. Acta Oncol* **31**: 205, 1992
- 32) Chin KV, Pastan I, Gottesmann MM: *Functional and regulation of the human multidrug resistance gene. Adv Cancer Res* **60**: 157, 1993
- 33) Gold LJ, Galski H, Fojo A, Willingham M, Lai SL, Gazdar A, Porker R, Green A, Crist W, Brodeur GM, Lieber M, Cossman J, Gottesman MM, Pastan I: *Expression of a multidrug resistance gene in human cancers. J Natl Cancer Inst* **81**: 116, 1989
- 34) Dalton WS, Grogan TM, Helzer PS, Scheper RJ, Durie BMG, Taylor CW, Miller TP, Salmon SE: *Drug-resistance in multiple myeloma and non Hodgkin's lymphoma; Detection of p-glycoprotein and potential circumvention by addition of verapamil to chemotherapy. J Clin Oncol* **7**: 415, 1989
- 35) Chan HSL, Thorner RS, Haddad G, Ling V: *Immunohistochemical detection of p-glycoprotein; Prognostic correlation in soft tissue sarcoma of child. J Clin Oncol* **8**: 689, 1990
- 36) 정현철, 임호영, 고은희, 김주향, 노재경, 민진식, 최정주, 윤정구, 김병수: *항암약물치료전위암조직에서 면역효소법에 의한 p-glycoprotein의 overexpression의 표현. 대한암학회지* **23**: 485, 1991
- 37) Koh EH, Chung HC, Lee KB, Lim HY, Kim JH, Roh JH, Min JS, Lee KS, Kim BS: *The value of immunohistochemical detection of p-glycoprotein in breast cancer before and after induction chemotherapy. Yonsei Med J* **33**: 137, 1992
- 38) Stein U, Wunderlich V, Haensch W, Schmidt P: *Expression of the mdr1 gene in bone and soft tissue sarcoma of adult patients. Eur J Cancer* **29A**: 1979, 1993