

온열요법시 온도변화가 정상조직에 미치는 영향

가톨릭의과대학 부속성모병원 방사선과학교실

최 일 봉 · 김 춘 열 · 박 용 휘

== Abstract ==

Effect of Step-up and Step-down Hyperthermia on Skin of Mice

Ihl Bohng Choi, M.D., Choon Yul Kim, M.D. and Yong Whee Bahk, M.D.

Department of Radiology, Catholic University Medical College, Seoul, Korea

The usefulness of hyperthermia for cancer therapy have well been established. The purpose of the present investigation was to assess the effect of step-up (42°C → 44°C sequence) and step-down (44°C → 42°C sequence) heating on the skin of the hind foot of the mouse. Hyperthermic treatments were given by immersion the hind foot of the mouse in circulating water baths. Skin response was studied by the leg reaction, which was scored according to a numerical scoring system proposed by Urano et al (1980).

The results were as follows

1. The skin damage of 44°C control group was more severe than 42°C control group ($P < 0.05$), except for 15 min. heating group.
2. The Skin damage of step-down group was more severe than step-up group ($P < 0.05$).
3. The skin damage of 44°C control group was more severe than step-up group when there is no difference in 44°C heating time of step-up group from 44°C control group ($P < 0.05$).
4. In step-down group, the skin damage was more severe than 44°C control group after preheating 45 min at 44°C ($P < 0.05$).

Therefore, the above findings suggest the normal tissue damage by step-up heating was correlated with heating time of post step-up. The dropping of heating temperature in late phase had more severe damage of the skin than that in early phase during hyperthermia, and so continuous control of satisfactory temperature should be considered as the one of the most important factor for prognosis, complications of clinical hyperthermia

Key Words: Hyperthermia, Step-up heating, Step-down heating

서 론

온열요법이 악성종양 치료시 효과가 있음이 최초로 Hippocrates에 의해 소개된 이래 최근 10년간 암 치료 요법의 한 방법으로 큰 흥미를 끌어들였다. 온열요법은 항암제 치료법이나 방사선 치료법과 병행시 종양세포를 살상하는데 있어서 매우 효과적이라는 연구결과에 근거하여 온열요법을 임상에서 적용하려는 수 많은 시도와 연구가 있어 왔다^{1,2)}.

종양세포가 정상세포보다 온열손상이 잘 일어나는 것은 종양세포는 저산소증 세포인데 이들 저산소증 세포들은 열에 민감하다는 것과 신진대사가 좋지않은 종양 세포는 산도가 낮으며 또한 종양세포에서는 혈액순환의 장애가 와서 혈액순환에 의한 효과적인 온도조절이 불가능하고, 방사선치료 등에 잘 반응하지 않는 S Phase 세포가 열에 민감하는 데 있다³⁾. 이들 온열요법에서 가장 효과적으로 종양세포를 손상시킬 수 있는 온도는 매우 좁은 허용폭을 가지고 있는데 즉 43°C를 기준으로 $\pm 1^\circ\text{C}$ 로 보고되고 있다⁴⁾. 즉 42°C 미만인 경우에는 종양세포의 손상이 아니라 오히려 종양세포의 분화를 촉진하여 종양조직의 전이나 악화를 일으키며

*본 논문은 1988년도 가톨릭 중앙의료원 임상연구비로 이루어진 것임.

44°C 이상인 경우에는 중앙세포의 손상이 일어나나 정상세포의 손상이 너무 커서 좋은 치료 효과를 기대할 수 없게 된다. 그러나 지금까지 개발된 온열요법 중 어느 것도 중앙살상온도를 정확히 유지 하는것을 해결하지 못하고 있어 실제 임상 온열요법에서의 가온온도는 일정하지 않은 실정이다. 조직의 온도변화에 대한 방어 기전 및 적응능력에 대해서 많은 연구가 있어왔다. 정상조직에서는 고온에서 저온으로 감온(step-down)할 때 일어나는 조직손상 보다 저온에서 고온으로 증온(step-up)할 때 발생하는 조직손상이 더 작는데 암조직은 온도변화에 대한 적응능력이 적어서 감온시나 증온시 암조직 손상의 차이가 없는것으로 보고되고 있다⁵⁾.

이에 본 저자들은 중앙살상온도인 42°C~44°C 범위에서의 온도변화가 정상조직에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 이 연구를 시작하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

실험동물로는 생후 8~10주된 ICR계 암컷 생쥐를 사용했으며 실험기간 중 동일 환경에서 동일한 사료로 사육하였다.

2. 방 법

Ketamine으로 마취한 생쥐의 오른쪽다리를 정상대조군으로 하고 왼쪽다리를 실험군으로 하여 왼쪽다리를 혈액순환이 방해받지 않게끔 테이프를 느슨하게 특수 제작한 실험대에 정착하여 왼쪽다리만 강제 순환 장치가 부착된 온수조(KUMSUNG Co. SEOUL KOREA)에 넣고 가온하였으며 온수조의 온도변화는 $\pm 0.05^\circ\text{C}$ 로 유지하였다.

또한 물에 들어간 다리의 깊이는 최소한 1cm 이상으로 하였고 최대한으로 들어가도 무릎 깊이 이상으로 들어가지 않게 하였다. 가온온도 변화시는 동일한 성능의 두대의 온수조를 한대는 42°C의 온도를, 다른 한대에는 44°C의 온도를 조정하여 놓고 가온시간에 따라 지체하지 않고 실험대를 해당 온수조로 옮겨 될수 있는 한 온도변환시의 온도 저하를 방지하였다. 온열요법시 쥐의 체온의 온도상승을 막고 습도의 상승을 막기 위하여 소형 선풍기를 사용하였다. 예비실험에서 실시한 순환

온수조의 온도와 물에 들어가 있는 실험동물의 왼쪽다리의 피하조직과의 온도차이는 열쌍전극온도계(thermocouple)로 측정한 결과 $\pm 0.1^\circ\text{C}$ 이었다.

3. 실험군의 분류방법

실험군은 변화온도에 따라 다음과 같이 분류하였으며 각군의 개체수는 측정점마다 최소한 5마리 이상으로 하여 측정 가능하였던 총 실험개체 수는 164마리 이었다.

(1) 42°C 대조군

온도변화 없이 지속적으로 42°C를 가온한 군

(2) 44°C 대조군

온도변화 없이 지속적으로 44°C로 가온한 군

(3) I군 : 증온(step-up) 실험군

42°C에서가온하다가 44°C로 가온온도를 변화시킨 군

I-a군 : 42°C로 시간별로 15분, 30분, 45분, 60분간 가온하다가 44°C로 30분간 가온한 군

I-b군 : 42°C로 시간별로 15분, 30분, 45분, 60분간 가온하다가 44°C로 45분간 가온한 군

I-c군 : 42°C로 시간별로 15분, 30분, 45분, 60분간 가온하다가 44°C로 60분간 가온한 군

(4) II군 : 감온(step-down) 실험군

44°C로 가온하다가 42°C로 가온한 군

II-a군 : 44°C로 30분간 가온하다가 42°C로 시간별로 15분, 30분, 45분, 60분간 가온한 군

II-b군 : 44°C로 45분간 가온하다가 42°C로 시간별로 15분, 30분, 45분, 60분간 가온한 군

II-c군 44°C로 60분간 가온하다가 42°C로 시간별로 15분, 30분, 45분, 60분간 가온한 군

4. 실험성적의 분석방법

생쥐의 다리 조직의 손상정도는 Urano등⁶⁾이 사용한 점수제를 사용하여 (Table 1) 4주 동안 매주일 단위로 측정하여 가장 손상이 큰 점수를 측정점수로 하였고, 측정시 측정인의 오차를 적게하기 위하여 동일개체를 동시에 3인 측정하여 2인이상 측정점수가 동일할시 그 점수를 측정점수로 하였다. 대조군과 실험군 조직손상 차이의 유의성은 t-검정법을 사용하였으며, 조직손상이 가온시간과 연관성이 있는지를 알기 위하여 단순회귀분석법을 시행하였다.

성 적

1. 정상대조군

유의한 온열손상은 없었다.

2. 42°C 대조군

42°C 로만 가온한 대조군에서는 가온시간이 15분, 30분, 45분, 60분일 때 조직손상 점수는 각각 0, 0.1±0.22, 0, 0.4±0.42로서 가온시간에 따라 조직손상이

서서히 증가하였다(F=4.80) (Fig. 1).

3. 44°C 대조군

44°C로만 가온한 대조군에서는 가온시간이 15분, 30분, 45분일 때 조직손상 점수는 각각 0.9±0.22, 1.3±0.45, 2.4±0.42로서 가온시간에 따라 조직손상이 크게 증가하였다(F=61.32) (Fig. 1). 42°C 대조군보다는 가온시간이 15분 일때를 제외하고는 모든 시간대에서 조직손상이 심하였다(P<0.05) (Fig. 1).

4. I-a군 실험군

42°C로 가온하다가 44°C로 30분간 가온한 I-a 군에서는 42°C로 가온한 시간이 15분, 30분, 45분, 30분 일때 조직손상 점수가 각각 0.1±0.22, 0.2±0.27로서, 가온시간에 따른 조직손상의 차이는 없었다. 42°C 대조군과는 조직손상의 통계학적 유의차가 없었으며, 44°C로만 가온한 대조군에 비해서는 조직손상이 적었다(P<0.05).

5. I-b군 실험군

42°C로 가온하다가 44°C로 가온한 I-b군에서는 42°C로 가온한 시간 15분, 30분, 45분, 60분 일때 조직손상의 점수가 각각 0.3±0.27, 0.4±0.22, 0.6±0.22로서, 가온시간이 길어짐에 따라 서서히 조직손상이

TS Table 1. Soore System of Hyperthermia

Score	Observation
0.0	Normal foot
0.5	Partial red foot
1.0	Partial epilation, red foot
1.5	Epilation, sligyt edema
2.0	Complete epilation
2.5	Fusion of toes
3.0	Partial wet desquamation
3.5	Wet desquamation
4.0	Loss of toes(1 to 4 segments)
4.5	Loss of more than 2 toes (more than 5 segments)
5.0	Loss of foot
6.0	Loss of leg up to the ankie

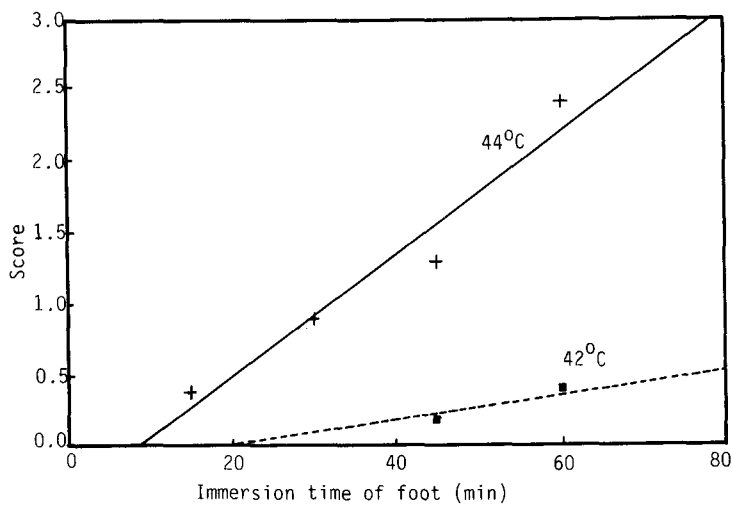


Fig. 1. Linear regression lines of treatment time-response score of mouse foot exposed to single hyperthermia at 42°C or 44°C.

심해졌다($F=4.28$) (Fig. 2). 42°C 대조군과는 유의차가 없었으나 44°C로만 45분간 이상 가온한 대조군에 비해서는 조직손상이 적었다($P<0.05$). I-a군에 비해 가온시간이 60분일 때만 조직손상 점수가 높았다($P<0.05$).

6. I-c군 실험군

42°C로 가온하다가 44°C로 60분간 가온한 I-c 군

에서는 42°C로 가온한 시간이 15분, 30분, 45분, 60분 일때 조직손상 점수가 각각 0.3 ± 0.45 , 0.3 ± 0.27 , 1.2 ± 0.27 , 1.5 ± 0.35 으로서 가온시간에 따라서 조직손상 점수가 증가하였다($F=25.95$) (Fig. 2). 42°C 대조군에 비해 가온시간이 45분, 60분 일때 조직손상이 더 심했으나($P<0.05$). 44°C로만 60분간 가온한 군에 비해서는 조직손상 점수가 낮았다($P<0.05$). I-a군과 I-b군에 비해 가온시간이 45분, 60분 일때 조직손상

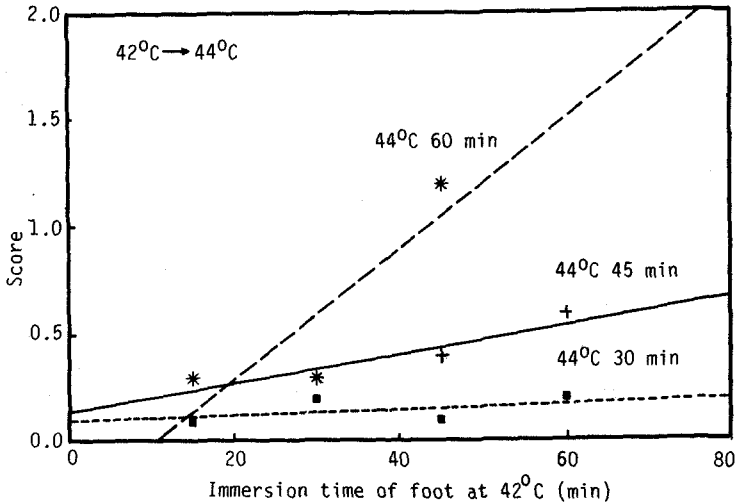


Fig. 2. Linear regression lines of treatment time-response score of mouse foot exposed to the step-up heating.

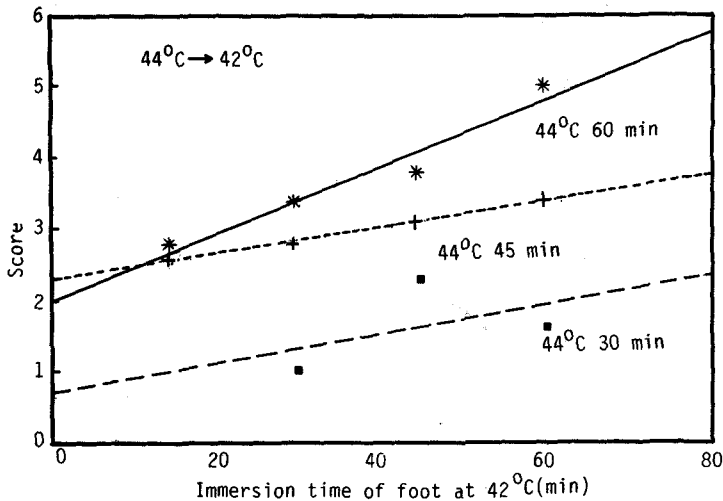


Fig. 3. Linear regression lines of treatment time-response score of mouse foot exposed to the step-down heating.

이 더 심했다($P < 0.05$).

7. II-a군 실험군

44°C로 30분간 가온하다가 42°C로 가온한 II-a 군은 42°C로 가온한 시간이 15분, 30분, 45분, 60분일 때 조직손상 점수가 각각 1.0 ± 0.35 , 1.0 ± 0.35 , 1.3 ± 0.45 , 1.6 ± 0.42 로서 가온시간이 길어짐에 따라 조직손상 점수가 증가하였다($F=7.54$) (Fig. 3). 42°C 대조군에 비해 조직손상이 심하였으며($P < 0.05$), 44°C로만 30분간 가온한 군에 비해서는 42°C 가온시간이 60분일 때만 조직손상 점수가 높았다($P < 0.05$). I-a 군과 I-b 군 보다 조직손상이 심하였으며 I-c 군과는 가온시간이 15분, 30분 일때는 조직손상이 더 심하였으나($P < 0.05$), 45분과 60분일 때는 조직손상 점수의 통계학적 유의차는 없었다.

8. II-b군 실험군

44°C로 45분간 가온하다가 42°C로 가온한 II-b 군은 42°C로 가온한 시간이 15분, 30분, 45분일 때 조직손상 점수가 2.6 ± 0.89 , 2.8 ± 0.27 , 3.1 ± 0.5 , 3.4 ± 0.42 로서, 가온시간이 길어짐에 따라 조직손상이 심하였다($F=5.89$) (Fig. 3). 42°C 대조군에 비해 조직손상이 심하였고, 44°C로만 45분간 가온한 군에 비해 모든 가온시간대에서 조직손상 점수가 높았다($P < 0.05$). 모든 증온군(step-up)과 II-a 군과 비해 조직손상 점수가 높았다($P < 0.05$).

9. II-c 실험군

44°C로 60분간 가온하다가 42°C로 가온한 II-c 군은 42°C로 가온한 시간이 15분, 30분, 45분, 60분일 때 조직손상 점수가 2.8 ± 0.27 , 3.4 ± 0.55 , 3.8 ± 0.76 , 5.0 ± 1.0 로서 가온시간 길어짐에 따라 조직손상 점수가 높아졌다($F=61.32$) (Fig. 3). 42°C 대조군에 비해 조직손상은 심했으며($P < 0.05$), 44°C로만 60분간 가온한 대조군에 비해서는 42°C 가온시간이 15분일 때만 제외하고는 조직손상 점수가 높았다($P < 0.05$). 모든 증온군(step-up)과 II-a 군 보다 조직손상이 심했으며($P < 0.05$) II-b 군과는 42°C 가온 시간이 60분일 때만을 제외하고는 조직손상 점수가 비슷하였다.

고 찰

근래에와서 온열요법은 암치료 분야에서 다양하게 이용되고 있고, 많은 연구가 있어 왔으며, 특히 방사선 조사나 약물요법과 병행시 좋은 치료효과를 보인다^{1,2}. 임상 온열요법에서 가장 큰 문제점은 정상조직을 열손상으로 보호하고 선택적으로 균일한 암종 살상온도를 유지하는 것으로서 이것을 해결하기 위한 많은 노력이 있어 왔으며, 가온 장치의 종류에 따라 외부전극온열법, 초음파온열법, 전자파온열법, 전극삽입온열법 등이 개발 되었으나 아직 정상조직을 열 손상으로 부터 이상적으로 보호하면서 암종에만 균일한 살상온도를 유지하는 온열방법은 없다³.

세포손상을 일으킬 수 있는 온도는 43°C 이상시에는 세포 손상이 급격히 증가하고 43°C에서 42°C까지 세포 손상이 떨어진다⁴. 이는 본 실험에서 44°C로 가온한 군보다 42°C로 가온한 군에서 조직손상 점수가 훨씬 낮았던 결과와 일치한다($P < 0.05$). Marmor 등은 종양조직의 손상은 43°C에서 45°C 까지는 손상의 차이가 없다고 하며⁵, Corry 등은 가온온도가 43°C ~ 44°C 군과 45°C ~ 47°C 군을 비교시 후자에 있어서 종양의 치료율이 약간 낮으나 통계학적 유의차는 없었다고 보고하고 있다⁶.

정상조직은 44°C 이상에서 손상이 종양조직과 비슷하며, Overgaard 등은 41°C와 43.5°C 사이에서는 정상조직보다 종양조직의 손상이 심하다고 한다⁴. 온열요법시 종양중심 온도의 저하는 종양 치료율에 큰 영향을 미치며 특히 42°C 미만에서는 매우 치료율이 낮거나 종양조직의 대사를 증진시켜 전이를 촉진한다고 한다. Perez 등에 의하면 43°C 이상에서 온도가 1°C씩 올라갈 때마다 증온전 온도에서 소요했던 시간의 50%만 가온하면 동일한 세포 파괴효과를 일으킬 수 있으며 43°C 이하에서는 17%만을 소요하면 동일한 세포 파괴효과를 올릴 수 있다고 한다⁷.

이 이론에 의하면 42°C로 60분 한 경우와 44°C로 5.1분 한 경우의 조직손상 점수가 일치하여야 하는데, 본 실험에서는 44°C로 가온한 군 중에서 가장 가온시간이 짧은 15분 가온군의 조직 손상 점수와 42°C로 60분간 가온한 군의 조직손상 점수의 유의차는 없었다.

가온 도중에 온도를 44°C에서 42°C로, 45°C에서

40°C로 43°C에서 42°C 등으로 감온(step-down)했을 경우는 조직손상이 잘 일어난다고 알려져 있다¹¹⁾.

본 실험에서는 42°C로만 60분간 가온한 군에 비해 44°C로 30분간 가온하다가 42°C로 30분 가온한 감온군의 조직손상 점수가 2~6배 높으며, 감온시 조직손상 증강현상이 잘 관찰되었다. 이러한 현상은 Junji 등이 제시한 감온전 온도와 감온 후 온도의 조직 손상효과는 공동상승작용(Synergistic interaction)이 있다는 기전으로 설명할 수 있으며 44°C에서 42°C로 감온했을 경우 42°C로만 가온한 군에 비해 조직 손상 점수가 2~4배 컸다는 보고와 비슷함을 알 수 있다⁵⁾. 본 연구 결과 44°C로만 가온한 군 보다 44°C에서 42°C로 감온한 군의 대부분에서 조직손상이 더 심하였다($P < 0.05$). 감온군에서 44°C로 45분과 60분간 가온하다가 42°C로 감온한 IIb, IIc군이 모든 가온시간대에서 44°C로 가온한 대조군이나 44°C로 30분간 가온한 IIa군 보다 더 조직손상이 큰 것으로 보아서 30분 이상 중앙살상온도에서 온열요법을 하다가 가온온도가 저하되면 정상적으로 중앙살상온도로 가온했을 경우 보다 훨씬 더 극심한 조직 손상을 보일 것으로 사려된다. 또한 44°C로 30분간 가열한 IIa 군이 44°C로만 가열한 대조군과 조직손상의 통계학적 유의차가 없는 것으로 보아서 온열요법시 가온온도의 저하가 가온후 30분 이내에 일어날 경우에는 조직손상정도가 가온한 경우와 비슷할 것으로 생각된다. 이는 온열요법으로 중앙 환자를 치료시 기계적 이상이나 조직 실수에 의하여 가온도중 치료 초기 온도 보다 가온온도가 저하되면 정상 조직 손상이 급증할 수 있다는 것을 시사한다. 따라서 온열요법 장비의 기계적 안정성과 조작자의 숙련도는 치료환자의 예후에 영향을 미치는 요인 중 중요한 부분을 차지할 것이라고 사려된다.

중앙 조직에서는 가온시 온도를 변화해도 조직손상율의 변화는 없으나 정상조직인 경우에는 조직손상율의 차이가 크다. 즉 감온(step-down)시 보다 증온(step-up)시 정상 조직손상이 적게 발생한다⁵⁾. 본 실험에서도 42°C에서 44°C로 증온한 군이 44°C에서 42°C로 감온한 군 보다 조직손상 점수가 훨씬 낮았다($P < 0.05$).

또한 증온군 모두에서 시간에 따른 44°C 대조군과의 조직손상 차이가 44°C로 가온한 시간과 일치할 때 부터 조직손상의 통계학적 유의차를 보이는 것으로 보아서

조직손상은 증온전 42°C로 가온한 시간 보다는 44°C로 증온한 후의 시간과 연관이 있음을 시사하고 있다.

저자들의 실험결과를 종합해 보면 증온시의 정상 조직손상은 증온전의 가온시간 보다 증온후의 가온시간에 영향을 받는다. 또한 온열요법시 여러가지 원인에 의해 치료온도를 적절히 유지하지 못하여 치료중 가온온도가 저하되면 정상적으로 가온했을 경우보다 정상 조직손상이 심해지며 특히 가온한지 30분 이상 경과후에 가온온도가 저하되면 가온초기 보다 더 극심한 정상 조직손상을 보일 것이라고 결론 지을 수 있으며 이에 대한 지속적인 연구가 필요하리라고 사려된다.

결 론

온열요법시 가온온도의 변화가 정상조직에 미치는 영향을 추구하기 위하여 본 실험을 하였다. 생쥐의 다리를 순환 온수조에 침수시키고, 온도를 42°C, 44°C 그리고 42°C에서 44°C로 가온온도를 증가하거나 44°C에서 42°C로 감소시켜 손상이 최고 시기에 도달할 시기에 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 44°C 대조군이 42°C 대조군보다 가온시간이 15분일 경우만 제외하고는 조직손상이 심하였다. ($P < 0.05$).
2. 대부분의 감온군이 증온군보다 조직손상이 심하였다($P < 0.05$).
3. 증온군에서 44°C로 증온후 가온한 시간이 44°C 대조군에서 가온한 시간과 일치할 때에만 44°C 대조군이 증온군보다 조직손상이 심했으며($P < 0.05$) 대부분 42°C 대조군에 비해서는 조직손상이 비슷하였다.
4. 감온군에서 44°C로 가온한 시간이 45분, 60분일 때에만 44°C 대조군에 비해 조직손상이 심했으며($P < 0.05$) 44°C로 가온한 시간이 15분, 30분일 경우에는 조직손상 정도가 44°C 대조군과 비슷하였으며 대부분 42°C 대조군과 조직손상의 유의차는 현저하였다($P < 0.05$).

이상의 결과로 보아 증온에 의한 조직손상은 증온전 가온시간 보다는 증온후 가온시간에 의해 좌우되며 감온에 의한 조직손상은 가온 초기 보다는 가온시간이 30분 이상 경과시에 감온될 경우 극심한 정상조직 손상을 보이므로 임상에서 온열요법을 시행시 가온 전반기 뿐만 아니라 가온 끝날 때 까지 지속적이고 안정된 가온

온도 유지가 온열요법의 부작용 감소에 큰 역할을 할 것으로 사려된다.

REFERENCES

1. Dewey WC, Hopwood LE, Sapareto SA, et al: Cellular responses to combinations of hyperthermia and radiation. *Radiology* 123:463-468, 1977
2. Stewart FA, Denekamp J: Sensitization of mouse skin to X-irradiation by moderate heating. *Radiology* 123:195-201, 1977
3. Leveen HH, Wapnick W, Piccone V, et al: Tumor eradication by radio-frequency therapy. *JAMA* 235:2198-2209, 1976
4. Overgaard K, Overgaard J: Investigations on the possibility of a thermic tumor therapy. Short wave treatment of a transplanted isologous mouse mammary carcinoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 8: 65-71, 1972
5. Miyakoshi J, Hiraoka M, Takahashi M, et al: Skin responses to step-up and step-down heating in C3H mice. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 9:1527-1532
6. Urano M, Rice L, Kahn J, et al: Studies on fractionated hyperthermia in experimental animal systems. The foot reaction after equal dose: Heat resistance and repopulation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 6:1519-1523
7. Perez CA, Brady LW: Hyperthermia. In: Principles and Practice of Radiation Oncology. 1987. pp 317-352
8. Henle KJ, Dethlefsen LA: Time-temperature relationships for heat induced killing of mammalian cells. *Ann NY Acad Sci* 335:234-238, 1980
9. Marmor J: Reaction of hyperthermia and chemotherapy in animals. *Cancer Res* 39:2269-2275, 1979
10. Corry PM, Spanos WJ, Tilchen EJ, et al: Combined ultrasound and radiation therapy treatment of human superficial tumors. *Radiology* 145:165-170, 1982
11. Overgaard J: Effect of hyperthermia on malignant cells in vivo. *Cancer* 39:2637-2641, 1977