

흰쥐의 소장점막에 Paclitaxel(Taxol)과 방사선조사의 효과

이화여자대학교 의과대학 치료방사선과

이 경 자

= Abstract =

Effect of the Paclitaxel and Radiation in the Mucosa of the Small Bowel of Rat

Kyung-Ja Lee, M.D.

Department of Therapeutic Radiology, Ewha Womans University, College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose : Paclitaxel is a chemotherapeutic agent with potent microtubule stabilizing activity that arrests cell cycle in G₂-M. Because G₂-M is the most radiosensitive phase of the cell cycle, paclitaxel has potential as a cell cycle-specific radiosensitizer. This study was designed to investigate the ability of paclitaxel to increase the radiotoxicity in normal small bowel mucosa of the rat.

Materials and Methods : A single intraperitoneal infusion of paclitaxel (10mg/kg), and a single irradiation(8 Gy, x-ray) to the whole abdomen and combination of radiation(8 Gy, x-ray) 24 hours after paclitaxel infusion in the rats were done. The changes of jejunal mucosa, and kinetics of mitotic arrest and apoptosis in the jejunal crypt were defined at 6 hours - 5 days after each treatment histologically.

Results : Paclitaxel blocked jejunal crypt cell in mitosis and induced minimal apoptosis. Mitotic arrest by paclitaxel was peaked at 6 hours after infusion and returned to normal by 24 hours. Radiation induced apoptosis and peaked at 6 hours and returned to normal by 24 hours. Combination of paclitaxel and radiation blocked crypt cell in mitosis at 3 days and induced apoptosis slightly at 6 hours and 24 hours and returned to normal by 3 days. The incidence of apoptosis in combined group at 6 hours was slightly higher than normal control but significantly lower than radiation alone group. The major changes of jejunal mucosa were nuclear vesicle and atypia which were appeared at 6 hours - 3 days and returned to normal by 5 days. The degree of the mucosal changes are not different in 3 groups except for absence of inflammatory reaction in radiation group.

Conclusion : Mitotic arrest by paclitaxel was peaked at 6 hours and returned to normal by 24 hours and paclitaxel induced minimal apoptosis. Radiation induced apoptosis, peaked at 6 hours and returned to normal by 24 hours.

Radiation-induced apoptosis was less in combined group which suggested that paclitaxel have a radioprotective effect when radiation was given 24 hours after paclitaxel infusion.

Key Words : Paclitaxel, Radiation, Small bowel, Mitotic arrest, Apoptosis

서 론

암치료에 방사선조사와 항암제를 병용하는 목적은 방사선치료는 국소제어율을 높이고 항암제는 종양이 전신적으로 전이되는 것을 방지함으로써 국소제어율과 생존율을 높이는 데 있다. 또한, 항암제가 선택적으로 방사선의 효과를 증강시킬 수 있는 경우, 항암제와 방사선치료를 병용하여 치료의 효과를 방사선치료 단독 요법보다 높일 수 있는 장점을 갖게 된다. 방사선치료와 병용하여 효과를 볼 수 있는 항암제 중 이상적인 항암제는 그 자체가 세포독성을 갖고 있으며 방사선의 효과를 감작시킬 수 있는 감작제의 역할을 할 수 있는 것이다.

Paclitaxel(Taxol)은 Western yew(주목)인 *Taxus brevifolia*의 껍질에서 추출한 taxane 고리를 가진 diterpene 화합물로서 1970년초 NCI에서 처음 분리하였으며 처음에는 항유사분열제(antimitotic drug)로 알려졌으나 1971년 설치류에서 항암효과가 있다는 사실이 밝혀졌다¹⁾. Paclitaxel의 종양세포에 대한 작용기전은 정확하게 알려져 있지 않으나 부적절한 미소관집합(microtubule assembly)을 촉진하여 소관중합체(tubulin polymer)의 형성을 안정화시키는 미소관 억제제(microtubular inhibitor)로 알려져 있다²⁾. 이러한 세포에서의 미소관의 변화는 대부분 세포주기의 G2/M시기에 일어나기 때문에 세포분열이 정지되며 결과적으로 세포가 G2/M상태에서 축적되어 동기화(synchronizing)되고, 정지된 세포는 apoptosis와 괴사에 의하여 죽게 된다³⁻⁵⁾. 이러한 paclitaxel의 작용이 세포주기 중 방사선에 가장 예민한 G2/M시기에 일어나기 때문에 paclitaxel이 방사선감작제의 작용이 있다는 사실은 처음 1992년 Tishler 등^{6, 7)}이 보고하였다. 또한 paclitaxel이 미소관을 집합시키고 안정화를 촉진함으로써 G2/M시기에서 세포를 정지시킨다는 생물학적 근거를 기초로 하여, 세포주기 중 방사선에 가장 예민한 G2/M시기가 가장 예민할 것으로 가정하여 세포주기에 따라 특별한 방사선감작제의 가능성을 시험하였다. 그 후 사람과 설치류의 체외실험에서 paclitaxel이 방사선감작제의 효과가 있다는 많은 연구보고가 발표되

었다⁸⁻¹²⁾.

Paclitaxel이 특히 유사분열과정에서 작용하기 때문에 종양세포와 정상세포 중 분열속도가 빠른 세포로서 골수, 구강점막, 위장관점막, 모공이 특히 영향을 받게 된다^{4, 11-13)}. 따라서 paclitaxel과 방사선조사를 병용하는 경우 증식력이 높은 정상세포로서 구강, 식도 및 위장관의 점막에는 급성 합병증의 위험이 따르게 된다^{14, 15)}. 임상에서 위장관에 비정상적인 유사분열 정지(mitotic arrest)와 세포괴사를 일으키며¹⁶⁾ 점막염이 문제가 되어 paclitaxel의 용량이 제한을 받게 된다¹³⁾. 방사선에 급성반응을 보이는 정상세포가 종양세포보다 더 방사선에 감작되는 경우 독성으로 인하여 치료가능비(therapeutic ratio)가 감소된다¹⁵⁾. 그러나 종양세포가 정상세포보다 방사선감작효과가 더 크거나, paclitaxel과 방사선조사간의 시간간격을 조절하여 정상세포를 보호할 수 있는 경우 치료가능비가 높아짐에 따라 임상적으로 종양의 치료효과를 높일 수 있게 된다.

위장관 중 소장은 특히 방사선에 예민한 기관으로 복강 및 골반강에 발생한 악성종양에 방사선치료를 하는 경우 불가피하게 손상을 받게 된다. 소장이 방사선조사를 받게 되면 초기변화는 급속히 재생하는 점막의 상피세포의 손상이 온다¹⁷⁾. 방사선에 의한 세포사는 생식세포사(reproductive death)와 세포통합성의 상실(loss of cell integrity)의 두가지의 기전으로 설명되며, 세포통합성의 상실에는 괴사와 apoptosis가 포함된다¹⁸⁾. Apoptosis는 예정세포사(programmed cell death)로서 1972년 Kerr 등¹⁹⁾에 의하여 처음 기술되었으며, 1982년 소장의 소낭선 세포에서 apoptosis에 의한 세포사는 저선량의 방사선에 매우 예민한 세포에서 일어나는 세포사의 일부를 차지한다고 하였다²⁰⁾. 그러나 타액선에서 유사분열이 된 세포에서도 apoptosis가 세포사의 주 원인이 된다고 하여²¹⁾, 아직까지 apoptosis의 정확한 기전은 밝혀지지 않았다.

이에 저자는 흰쥐의 복강내에 paclitaxel을 주입 후 24시간에 복부에 방사선조사를 시행하여 소장점막의 병리조직학적 변화와 소낭선세포의 유사분열수와 apoptosis를 관찰하여, 정상 소장에서 paclitaxel이 방사선에 미치는 효과를 관찰하고자 본 연구를 시도하였

다.

대상 및 방법

1. 실험동물 및 분류

실험동물은 생후 4-5개월, 체중 200-300gm의 암컷, 흰쥐(Sparague-Dawley) 52마리를 대상으로 하여 정상대조군, paclitaxel군, 방사선조사군, paclitaxel과 방사선 병용군으로 분류하였다(Table 1). 정상대조군은 방사선조사나 약물을 투여하지 않은 흰쥐를 사용하였고, paclitaxel군은 paclitaxel(Taxol, Mead Johnson, USA) 10mg/kg을 복강내에 1회 주입하였다. 방사선조사군은 흰쥐의 전복부에 8 Gy의 x-ray를 단일조사하였다. Paclitaxel과 방사선 병용군은 paclitaxel (10mg/kg)를 복강내에 주입한 후 24시간에 방사선조사를 방사선조사군과 동일한 방법으로 시행하였다.

2. 방사선조사 방법

흰쥐를 katamin(카타라, 유한양행, 50mg/ml), 60 mg/kg을 복강내주사로 마취한 후 고정틀에 사지를 고정하고 6MV 선형가속기(Linear accelerator NEC 1006X, Japan)를 사용하여 흰쥐의 복부에 8 Gy의 x-ray를 차폐없이 단일조사하였다. 타겟트와 조사면간

의 거리는 80cm로 고정하였으며 분당 선량율은 2 Gy로 조사하였다.

3. 병리조직학적 관찰

실험이 종결된 후 6시간, 24시간, 3일, 5일에 동물을 경추전위로 희생시키고 개복하여 공장을 절제한 후 광학현미경검사를 위하여 10% 중성포르말린에 고정한 후 Hematoxiin-Eosin염색을 시행하여 광학현미경으로 공장점막의 조직학적 변화를 관찰하였다. 유사분열이 정지된 세포수와 apoptosis의 수는 광학현미경의 고배율(400배)에서 500개의 소낭선세포 중 나타나는 유사분열수와 apoptosis의 수를 측정한 후 평균하여 백분율로 나타냈다.

4. 통계학적 분석

각 군에서 발현된 유사분열수와 apoptosis의 수의 측정결과와의 차이는 group t-test를 이용하여 검정하였고 유의수준 0.05 구간에서 통계학적 의의를 분석하였다.

Table 1. Grouping of Experimental Animals

Group	Observation Time				No. of Animals
	6 hours	24 hours	3 days	5 days	
Normal control	4				4
Paclitaxel	4	4	4	4	16
Radiation	4	4	4	4	16
Paclitaxel & Radiation	4	4	4	4	16
Total No. of Animals					52

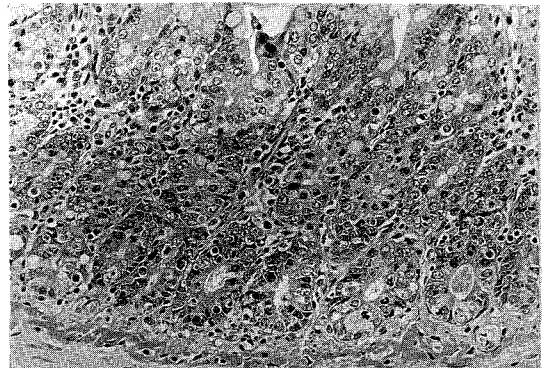


Fig. 1. Small intestinal mucosa with numerous mitotic figures in glandular epithelium after 6 hours paclitaxel infusion (H-E, original magnification $\times 80$).

Table 2. Effects of Paclitaxel and Radiation on Mitosis in Jejunum

Time/Group	Normal control	Paclitaxel (Peak %, Mean \pm SEM)	Radiation (Mean \pm SEM)	Paclitaxel+Radiation
6 hours	1.10 \pm 0.31	17.20 \pm 2.23*	0.70 \pm 0.31	0.70 \pm 0.24
24 hours	1.10 \pm 0.31	1.50 \pm 0.06	5.45 \pm 3.89	0.97 \pm 0.35
3 days	1.10 \pm 0.31	1.78 \pm 0.28	2.15 \pm 0.49	3.00 \pm 0.22*
5 days	1.10 \pm 0.31	3.40 \pm 0.08*	2.00 \pm 0.37	1.20 \pm 0.08

Mean \pm SEM(Standard error of the mean)

*: p<0.05 compared to normal control

Table 3. Effects of Paclitaxel and Radiation on Apoptosis in Jejunum

Time/Group	Normal control	Paclitaxel (Peak %, Mean±SEM)	Radiation	Paclitaxel+Radiation
6 hours	0.40±0.08	1.75±0.62	17.95±3.00* ^{***}	3.40±0.76* ^{***}
24 hours	0.40±0.08	3.30±1.50	3.20±0.22 [*]	3.00±1.03
3 days	0.40±0.08	0.73±0.34	0.25±0.05	0.45±0.10
5 days	0.40±0.08	0.60±0.18	0.25±0.05	0.25±0.05

Mean±SEM(Standard error of the mean)

*: p<0.05 compared to normal control

** : p<0.05 between radiation and paclitaxel with radiation

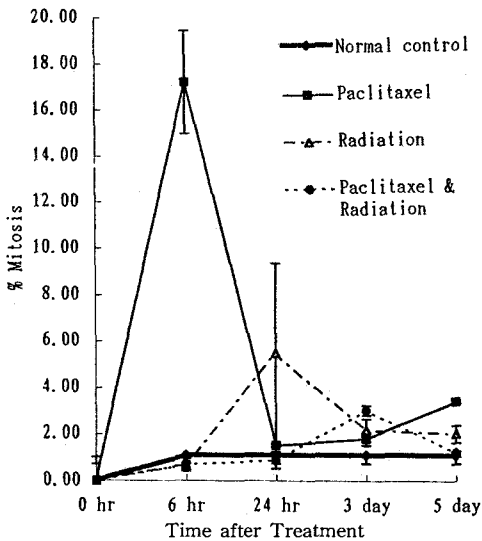


Fig. 2. Kinetics of mitosis in rats of all groups.

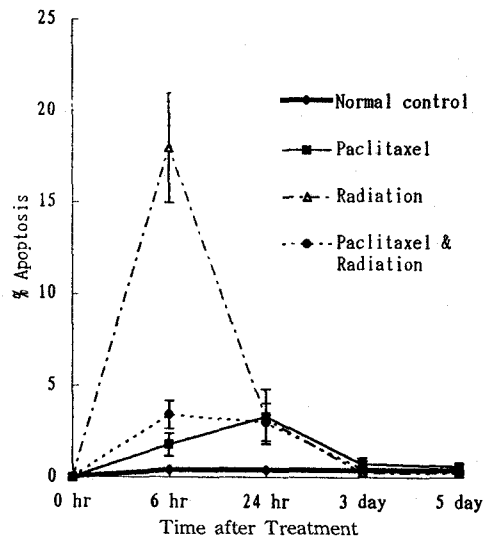


Fig. 4. Kinetics of apoptosis in rats of all groups.

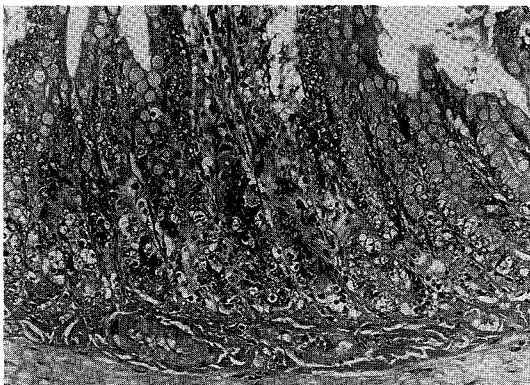


Fig. 3. Small intestinal mucosa with numerous apoptosis in glandular epithelium after 6 hours irradiation(H-E, original magnification ×60).

결 과

1. 유사분열 측정

정상대조군에서 공장점막의 소낭선세포에서 나타난 유사분열의 빈도는 1.1%를 차지하였다(Table 2). Paclitaxel을 주입 후 6시간에 유사분열이 17.2%로 최대치를 보였으며(Fig. 1) 24시간 후 정상치로 회복되었다가 5일 후 다시 약간 증가되었다. 방사선조사 후 유사분열의 변화는 정상대조군과 비교하여 차이가 없었다. Paclitaxel과 방사선병용군에서 6시간과 24시간에는 변화가 없었으나 3일 후 약간 유사분열수가 증가 되었으며 5일 후 정상으로 회복되었다.

2. Apoptosis 측정

정상대조군은 0.4%에서 apoptosis가 관찰되었다

Table 4. Histopathologic Findings of Jejunal Mucosa

Geoup	Mucosal Changes				
	Nuclear vesicle	Atypia	Atrophy	Necrosis	Inflammation
Normal Control	—	—	—	—	—
Paclitaxel					
6 hours	+++	+	—	—	+
24 hours	+++	++	—	—	+
3 days	+++	+++	+	+	+
5 days	+	+	—	—	+
Radiation					
6 hours	+++	++	—	—	—
24 hours	+	++	—	—	—
3 days	++	+++	—	—	—
5 days	—	—	—	—	—
Paclitaxel+ Radiation					
6 hours	+++	+++	+	+	+
24 hours	+++	+++	—	—	+
3 days	+++	+++	—	—	+
5 days	—	—	—	—	—

— ; absent change, + ; mild change, ++ ; moderate change, +++ ; severe change

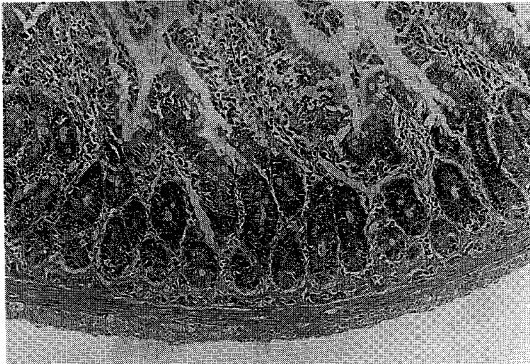


Fig. 5. Normal small intestine with occasional mitotic figures in normal control group(H-E, original magnification × 40).

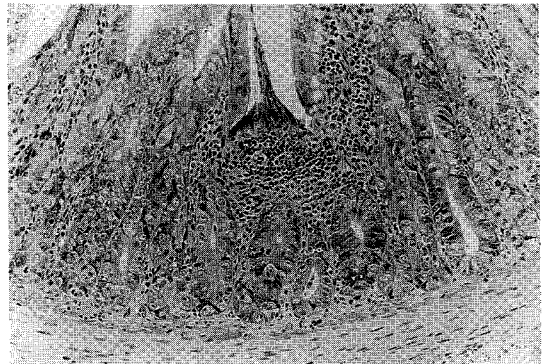


Fig. 6. Small intestinal mucosa with atypical glands lined by cells with vesicular nucleus including prominent nucleoli after 3 days paclitaxel infusion(H-E, original magnification × 50).

(Table 3). Paclitaxel을 주입 후 24시간에 apoptosis는 최대치를 보였으며 3일과 5일에 감소되었으나 정상대조군에 비해 통계학적으로 의의는 없었다. 방사선 조사 후 6시간에 apoptosis가 최대치를 보이다가(Fig. 2) 24시간에는 약간 증가되었으며 3일 후 정상치로 회복되었다. Paclitaxel과 방사선 병용군에서 6시간에 정상보다 증가되었으며 24시간에 정상보다 약간 증가되었으나 통계학적으로 의의는 없었고, 3일 후 완전히 정상으로 회복되었다. Paclitaxel과 방사선 병용군은 6시간에 방사선조사군과 비교하여 apoptosis가 현저히 감소되었으며 통계학적으로 의의가 있었다.

3. 기타 병리조직학적 변화

정상대조군의 소장점막은 정상으로 유지되었다(Fig. 3). Paclitaxel군은 6시간 부터 3일 까지 공장점막에 많은 핵소포(nuclear vesicle)가 보였으며 5일째에는 경도로 감소되었다(Table 4). 비정형성(atypia)은 6시간 부터 경도로 보이다가 시간이 지남에 따라 점차 심하여 3일째에 가장 심하였고(Fig. 4) 5일째에 감소되었다. 점막의 위축과 괴사는 경도로 나타났으며 염증반응이 약간 보였다. 방사선 조사군에서 핵소포가 방사선조사 후 6시간 부터 심하게 나타났으며 5일째에 정



Fig. 7. Small intestinal mucosa with atypical irregular confluent glands after 6 hours paclitaxel and irradiation(H-E, original magnification $\times 50$).

상으로 회복되었으며, 이형성은 6시간 부터 중등도로 보이다가 3일째에 가장 심하였으며 5일째에 정상으로 회복되어 paclitaxel군과 유사하였으나 염증반응은 없었다. Paclitaxel과 방사선 병용군에서 핵소포와 비정형성은 6시간 부터 심하게 나타났으며(Fig. 5) 5일째에 정상으로 회복되었고 위축, 괴사 및 염증반응도 경도로 나타났다. 핵소포와 비정형성은 3군에서 차이가 없었으나 위축, 괴사 및 염증반응은 방사선 조사군에서는 관찰되지 않았으며 paclitaxel이 주입된 군에서만 관찰되었다.

고안 및 결론

Paclitaxel은 texane고리를 가진 diterpene 화합물로서 1970년초 NCI에서 처음 분리하여 처음에는 항유사분열제(antimitotic drug)로 알려졌으며 1971년 항암 효과가 있다고 밝혀진 이래¹⁾, 근래에는 다른 항암제에 불응성인 난소암, 유방암, 폐암 및 악성흑색종에 효과가 있는 항암제로 널리 쓰이고 있다²²⁻²⁵⁾.

Paclitaxel은 미소관의 집합을 촉진시키고 분해를 방지함으로써 세포주기 중 유사분열기에 세포를 정지시키므로써 세포가 G2/M시기에 축적되고 정지된 세포는 죽게된다²⁻⁵⁾. 또한, G2/M시기는 방사선에 가장 예민한 세포주기이므로 paclitaxel과 방사선조사를 병용할 경우 paclitaxel이 방사선의 효과를 증가시키는 감작제로 작용할 수 있다고 기대하게 되었다^{6, 7)}. 이러한 가설을 시험하기 위하여 클론형성 및 비클론형성의 효력검정을 통하여 많은 체외실험이 시행되었다^{8, 10, 12, 26)}. 사람과 설치류에서 세포주, paclitaxel의 농도, paclitaxel의 주입시간과 효력검정 방법이 일치하지 않

기 때문에 서로 비교하기는 어렵지만 일반적으로 일치되는 6가지의 결론은 다음과 같다²⁷⁾. 첫째, 활성적으로 순환하는 세포가 비순환 세포(noncycling plateau phase cell) 보다 방사선감작효과가 더 크다. 둘째, 세포독성과 감작제 증강율(sensitizer enhancement ratio)은 세포주에 따라 다르다. 즉, 세포자체의 내인성 예민도가 다르다. 셋째, paclitaxel의 농도가 낮을수록 방사선감작효과가 크다. 넷째, 방사선감작과 세포주기의 교란은 paclitaxel에 노출되는 시간에 좌우되며 농도가 낮을수록, 노출되는 시간이 길수록 크다. 다섯째, paclitaxel에 의한 방사선감작효과는 유사분열의 억제에 필요하며 G2/M 저지의 성분, 즉, 방사선 생존곡선의 α 부분²⁶⁾, G1 저지와 같은 세포주기의 교란의 운동성 감수성(kinetic susceptibility)²⁸⁾, 그 외에 소관에 의해 조절되는 세포의 기능등이 약물과 방사선간의 반응에 영향을 준다²⁹⁾.

Paclitaxel은 유사분열과정에 작용을 하기 때문에 분열속도가 빠른 종양세포와 정상세포 중 증식이 강한 골수, 구강점막, 위장관점막, 모공 등이 주로 영향을 받는다^{4, 11-13)}. 사람에게서 위장관 중 유사분열 정지는 식도에서 가장 현저하게 나타나며 위, 소장, 대장 및 간에서 일어난다¹⁶⁾. Paclitaxel이 혈장내에서 소멸되는 시간은 이상성(biphasic)으로 반감기가 각각 1시간과 8시간이며 대부분은 간으로 배설되고 10%는 소변으로 배설된다³⁰⁾.

Paclitaxel을 종양치료에 사용할 경우 급성반응을 하는 정상세포가 종양세포보다 더 방사선에 감작작용이 큰 경우는 독성으로 인하여 합병증이 커짐으로서 치료가능비가 감소된다¹⁵⁾. 따라서 정상세포와 종양세포에서의 감작제 증강율을 비교 관찰하여 임상에서 사용해야 할 것이다.

위장관 중 소장은 특히 방사선에 예민한 기관으로 복강의 악성종양에 방사선치료를 하는 경우 방사선 선량의 제한을 받게 되는 주 원인이 된다. 소장이 방사선조사를 받게 되면 초기변화는 급속히 재생하는 점막의 상피세포의 손상으로 소낭선세포의 유사분열이 감소되며¹⁷⁾ 급성변화의 측정은 주로 소낭선세포의 소집락 측정검사(microcolony assay)를 이용한다³¹⁾. 방사선에 의한 세포사는 생식세포사(reproductive death)와 세포통합성의 상실의 두가지의 기전으로 설명되며, 세포통합성의 상실에는 괴사와 apoptosis가 포함된다¹⁸⁾. Apoptosis는 예정세포사(programmed cell death)로서 1972년 Kerr 등¹⁹⁾에 의하여 처음 기술되었으며, 1982년 소장의 소낭선세포에서 저선량의 방사선이 apoptosis를 유도하여 세포사가 일어난다고 알려졌다

20). 방사선 또는 항암제는 소뇌, 신장 및 고환 등의 증식성 미숙세포에서 apoptosis를 일으키고³²⁾ 대부분 성숙된 세포에서는 apoptosis를 일으키지 않으나, 예외적으로 유사분열이 된(postmitotic cell) 타액선과³³⁾ 성숙된 림프세포에서도³⁴⁾ 방사선에 의한 세포사의 주 원인이 apoptosis라고 하였으나^{35, 36)} 아직까지 apoptosis의 정확한 기전은 밝혀지지 않았다. 괴사와 apoptosis의 차이점은 apoptosis는 정상조직이나 기관에서 일어날 수 있으며, 독성 또는 온열요법에 의해서도 일어날 수 있다³⁷⁾. 또한 괴사는 DNA의 퇴행(degradation)이 일어나기 전에 세포막의 통합성이 소실되나 apoptosis는 DNA가 먼저 퇴행된 후 세포막의 통합성이 소실되며³⁸⁾ 괴사는 염증반응을 일으키나 apoptosis는 염증반응을 일으키지 않는 차이점이 있다¹⁹⁾. Apoptosis의 형태학적 특징은 핵막의 발아, 염색질의 압축과 DNA의 분절화가 비교적 뚜렷한 단계로 이루어진다³⁹⁾.

Milas 등⁴⁰⁾은 마우스에서 apoptosis는 방사선조사 후 4-6시간에 최대치를 보이며 12시간에 정상으로 회복된다고 하였다. Hendry 등²⁰⁾은 소낭선세포에서 방사선조사 후 3-6시간에 세포분열없이 apoptosis가 일어난다고 하였다. 저자의 결과 방사선조사 후 6시간에 apoptosis가 17.95%로 정상대조군의 0.4%보다 매우 증가되었으며, 24시간 후 약간의 증가를 보이다가 3일째에 정상으로 회복되었다. 점막의 핵소포와 비정형성은 6시간 부터 3일까지 심하게 나타났으며 5일째에 정상으로 회복되었으며 염증반응은 관찰되지 않았으며 소장외 방사선의 급성손상은 방사선조사 후 5일에 회복됨을 알 수 있었다.

근래에 발표된 종양모델의 체내실험에서 paclitaxel이 방사선감작제의 가능성이 있다는 보고로서 Milas 등⁴⁰⁾이 마우스의 유방암과 난소암에서 paclitaxel 60mg/kg을 정맥주사로 1회 주입한 후 방사선조사하여 유사분열이 정지된 세포가 많이 증가되었으며, 그 후 수시간내에 apoptosis 반응을 보였으며, 방사선은 유사분열이 정지된 세포를 apoptosis에 의하여 파괴한다고 하였다. 그 후 Milas 등⁴¹⁾은 체외실험에서 유사분열의 정지가 최대가 되는 시간과 최대의 방사선상승작용은 일치하지는 않는다고 하였다. 즉, 유사분열이 정지된 세포율이 paclitaxel을 주입 후 방사선조사와의 간격이 1시간인 경우는 4%, 9시간은 30%, 24시간은 12%로서 9시간에 최대치를 보였으나, 감작제 증강율은 각각 1.47, 1.70, 2.49로서 방사선감작효과는 약물주입시간과 방사선조사간의 시간간격이 길수록 증가되었다. 이것은 방사선조사를 paclitaxel을 주입한

후 24시간에 시행한 경우 paclitaxel이 빠르게 종양의 재산화물을 일으켜서 강한 apoptosis를 일으킨다고 설명하였다. 그러나 임상에서 난소암 환자에서 급성 위장관의 방사선에 대한 내성의 한계로 방사선과 항암요법을 병용할 경우 paclitaxel투여 후 24시간에 방사선조사를 한 결과 정상 장관의 방사선에 대한 내성이 증가되었으며, 이것은 간세포(stem cell)의 가속화된 재생으로 설명하였다⁴⁰⁾. 따라서 paclitaxel을 주입한 후 24시간에 방사선조사를 함으로써 종양에는 방사선감작제의 효과를 주고 정상세포는 보호할 수 있다고 하였다.

Mason 등²⁷⁾은 paclitaxel을 주입한 후 마우스의 정상 공장점막의 유사분열수와 apoptosis를 24시간 동안 관찰한 결과, 처음 세포분열이 멈추기 시작하여 2-4시간에 최대이고, 그 후 1-3시간은 지연기(lag period)가 있었으며, 그 후 apoptosis는 증가되어 분열 후 6시간에 최대치가 되었다. 그 후 회복이 되기 시작하여 24시간에는 간세포가 완전히 회복되었다. Paclitaxel 10mg/kg을 1회 주입후 유사분열의 정지상태가 최대가 되는 2-4시간 후 방사선조사를 시행한 경우 방사선의 효과가 증강되지 않았다. Paclitaxel 40mg/kg를 1회 주입 후 방사선조사하여 방사선의 효과가 증강을 1.07로 최대로 증가되었으나, 이것은 방사선의 감작효과라기 보다 paclitaxel자체의 소낭선세포에 대한 독성작용으로 간주된다고 하였다. 반대로 paclitaxel을 주입 후 24시간에 방사선조사를 시행한 경우 감작제 증강율이 0.89-0.92로서 방사선 방어효과가 있었으며, 이유는 paclitaxel에 의한 소낭선세포의 최대 재생효과가 있기 때문이라고 하였다.

저자의 결과 paclitaxel주입 후 유사분열이 정지된 세포는 6시간에 17.2%로서 정상군의 1.1%에 비하여 매우 증가되었으며 24시간에는 정상으로 회복되었다가 5일째에 다시 약간 증가되어 Mason 등²⁷⁾의 결과와 유사하였다. Apoptosis는 6시간에 정상군과 비교하여 약간 증가되었으나 통계학적으로 의의는 없었으며 이것은 paclitaxel의 용량이 적기 때문으로 사료되었다. Paclitaxel에 의한 점막의 변화는 paclitaxel주입 후 6시간 부터 3일까지 핵소포가 매우 증가되었으며 5일째에 감소되었다. 비정형성은 6시간 부터 보이기 시작하여 24시간 부터 점차 증가되어 3일째에 가장 심하였고 5일째에 경도로 감소되었다. Paclitaxel주입 후 24시간에 방사선조사하여 유사분열이 정지된 세포는 6시간과 24시간에 정상군과 차이가 없었으며 3일째에 약간 증가하였다. Apoptosis는 6시간에 정상군에 비하여 약간 증가되었으나 방사선조사군과 비교하여

통계학적으로 유의있는 감소를 보였으며 24시간에는 정상군과 유사하였다. 점막의 변화로서 핵소포와 비정형성은 paclitaxel군과 방사선조사군에 비하여 차이가 없었으나 위축은 두군에 비하여 뚜렷하게 관찰되어 위축은 paclitaxel에 의한 변화로 사료되었다. Paclitaxel을 방사선조사 24시간 전에 주입하여 정상소장에서 apoptosis가 방사선조사군에 비하여 paclitaxel과 방사선 병용군에서 유의있는 감소를 보임으로서 방사선 보호작용이 있음을 시사하였으며 Mason 등²⁸⁾의 결과와 일치하였다. 결론적으로 악성종양의 치료에 방사선 조사와 paclitaxel을 병용할 경우 paclitaxel주입 후 24시간에 방사선치료를 함으로써 종양에는 paclitaxel이 방사선감작제로 작용하고 정상조직에는 방사선 보호작용을 하여 치료가능비를 높일 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 앞으로 이를 확실하게 규명하기 위해서는 paclitaxel의 용량을 높이고 다양한 방사선 조사선량을 이용하여 확실한 보호율을 파악해야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Wani MC, Taylor HL, Wall ME, et al. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *taxus brevifolia*. *J Am Chem Soc* 1971; 93:2325-2327
2. Schiff PB, Fant J, Horwitz SB. Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol. *Nature* 1979; 277:665-667
3. Liebmann JE, Cook JA, Lipschultz C, et al. Cytotoxic studies of paclitaxel(Taxol) in human tumor cell lines. *Br J Cancer* 1993; 68:1104-1109
4. Rowinsky Ek, Cazenave LA, Donehower RC. Taxol: A novel investigational antimicrobutule agent. *J Natl Cancer Int* 1990; 82:1247-1259
5. Bhalla K, Ibrado AM, Tourkina E, et al. Taxol induces intranucleosomal DNA fragmentation associated with programmed cell death in human myeloid leukemia cells. *Leukemia* 1993; 7:563-568
6. Tishler RB, Schiff PB, Geard CR, et al. Taxol. A novel radiation sensitizer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 22:613-617
7. Tishler RB, Geard CR, Hall EJ, et al. Taxol sensitizes human astrocytoma cell to radiation. *Cancer Res* 1992; 52:3495-3497
8. Choy H, Rodriguez FF, Koester S, et al. Investigaion of taxol as a potential radiation sensitizer. *Cancer* 1993; 71:3774-3778
9. Hei TK, Piao CQ, Geard CR, et al. Taxol and ionizing radiation: Interaction and mechanisms. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 29:267-271
10. Steren A, Sevin B, Perras J, et al. Taxol sensitizes human ovarian cancer cells to radition. *Gynecol Oncol* 1993; 48:252-258
11. McGuire WP, Rowinsky EK, Rosensheim NB, et al. Taxol: a unique antineoplastic agent with significant activity in advanced ovarian epithelial neoplasm. *Ann Inter Med* 1989; 111:273-379
12. Cook JA, Teague D, Fisher J, et al. Radiosensitization of Chinese hamster V79 cell by taxol. *Radiat Oncol Invest* 1993; 1:103-110
13. Rowinsky EK, Eisenhauer EA, Chaudhry V, et al. Clinical toxicity encountered with paclitaxel (Taxol). *Semin Oncol* 1993; 20:1-15
14. Bissett D, Kaye SB. Taxol and taxotere- Current status and future prospectes. *Eur J Cancer* 1993; 29:1228-1231
15. Vokes EE, Weichselbaum RR. Concomitant chemotherapy: Rationale and clinical experience in patients with solid tumor. *J Clin Oncol* 1990; 8:911-934
16. Hruban RH, Yardley JH, Donehower RC, et al. Taxol toxicity: Epithelial necrosis in the gastrointestinal tract associates with polymerized microtubule accumulation and mitotic arrest. *Cancer* 1989; 63:1944-1950
17. Trier JS, Browning TH. Morphologic response of the mucosa of the human small intestine to x-ray exposure. *J Clin Invest* 1966; 45:194
18. Langley RE, Quartuccio SG, Kennealy PT, et al. Efecy of cell clyce stage, dose rate and repair of sublethal damage on radiation-induced apoptosis in F9 teratocarcinoma cell. *Radiat Res* 1995; 144:90-96
19. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide- ranging implications in tissue kinetis. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-257
20. Hendry JH, Potten CS. Intestinal cell radiosensitivity: A comparison for cell death assayed by apoptosis or by a loss of clonogenecity. *Int J Radiat Biol* 1982; 42:621-628
21. Stephens LD, King GK, Peters LJ, et al. Acute and late radiation injury in rhesus monkey parotid glands. *Am J Pathol* 1986; 124:469-478
22. Wiernik PH, Schwartz EL, Strauman JJ, et al. Phase I trial of Taxol in patients with advanced malignancies. *Cancer Treat Rep* 1987; 71:1171-1177
23. Wiernik P, Schwartz E, Einzig A, et al.

- Phase I trial of Taxol given as a 24-hour infusion every 21 days: responses observed in metastatic melanoma *J Clin Oncol* 1987; 5:1232-1239
24. **Holmes FA, Walters RS, Theriault RL, et al.** Phase II trial of taxol: an active drug in the treatment of metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83:1797-1805
 25. **Brown T, Havlin K, Weiss G, et al.** Phase I trial of taxol given by a 6-hour intravenous infusion. *J Clin Oncol* 1991; 9:1261-1267
 26. **Liebmann J, Cook JA, Fisher J, et al.** Changes in radiation survival curve parameters in human tumor and rodent cells exposed to paclitaxel(Taxol). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 29:559-564
 27. **Mason KA, Millas L, Peters LJ.** Effect of paclitaxel(Taxol) alone and in combination with radiation on the gastrointestinal mucosa. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 32:1381-1389
 28. **Liebmann JE, Cook JA, Lipschultz C, et al.** The influence of Cremophor EL on the cell cycle effect of paclitaxel(Taxol) in human tumor cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 1994; 53:331-339
 29. **Rowinsky EK, Cazenave LA, Donehower RC.** Taxol: A novel investigational antimicrotubule agent. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82:1247-1259
 30. **ten Bockkel Huinink W, Swenerton K, et al.** Toxicity of taxol: European- Canadian trial of high vs low dose and short vs long infusion in ovarian cancer. *Ann Oncol* 1992; 3(suppl 5):101
 31. **Withers HR, Elkind MM.** Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa exposed to radiation. *Int J Radiat Biol* 1970; 17:261-267
 32. **Gobe GC, Axelsen RA, Harnon BV, et al.** Cell death by apoptosis following x-irradiation of neonatal kidney. *Int J Radiat Biol* 1988; 54:567-576
 33. **Stephens LC, Schulthesis TE, Price RE, et al.** Radiation apoptosis of serous acinar cells of salivary and lacrimal glands. *Cancer* 1991; 67:1539-1543
 34. **Yamada T, Ohymann H, Kinjo Y, et al.** Evidence for the internucleosomal breakage of chromatin in rat thymocytes irradiated in vitro. *Radiat Res* 1981; 85:544-553
 35. **Lichter AS, Lawrence TS.** Recent advances in radiation oncology. *New Engl J Med* 1995; 332:371-370
 36. **Haimovitz-Friedman A, Kan CC, Ethleiter K, et al.** Ionizing radiation acts on cellular membranes to genetic ceramide and initiate apoptosis. *J Exp Med* 1994; 180:525-535
 37. **Sellins KS, Cohen JJ.** Hyperthermia induces apoptosis in thymocytes. *Radiat Res* 1991; 126:88-95
 38. **Carson DA, Ribeiro JM.** Apoptosis and disease. *Lancet* 1993; 34:1251-1254
 39. **Warters RL.** Radiation-induced apoptosis in a murine T-cell hybridoma. *Cancer Res* 1992; 52:883-890
 40. **Milas L, Hunter NR, Mason KA, et al.** Enhancement of tumor radioresponse of the murine mammary carcinoma by paclitaxel. *Cancer Res* 1994; 54:3506-3510
 41. **Milas L, Hunter NR, Mason KA, et al.** Enhancement of tumor radioresponse of the murine mammary carcinoma by paclitaxel. *Cancer Res* 1994; 54:3506-3510

= 국문초록 =

흰쥐의 소장점막에 Paclitaxel(Taxol)과 방사선조사의 효과

이화여자대학교 의과대학 치료방사선과

이 경 자

목적 : Paclitaxel(Taxol)은 미소관의 집합을 촉진시키고 분해를 방지하여 세포주기 중 유사분열을 정지시킴으로써 방사선조사와 병용할 경우 방사선감작제로서의 가능성이 있다. 정상세포 중 흰쥐의 소장에서 paclitaxel이 방사선의 독성을 증가시키는지 알기 위하여 실험을 시도하였다.

대상 및 방법 : Paclitaxel군은 paclitaxel 10mg/kg을 복강내 1회 주입하였다. 방사선조사군은 8 Gy를 전복부에 단일조사하였다. Paclitaxel과 방사선병용군은 paclitaxel(10mg/kg)을 복강내 주입 후 24시간에 방사선조사군과 동일한 방법으로 조사하였다. 실험완료 후 소장점막에서 유사분열수, apoptosis와 기타 점막의 변화를 시간별(6시간 - 5일) 관찰하였다.

결과 : Paclitaxel은 소장점막의 소낭선세포에서 유사분열을 정지시키며 약간의 apoptosis을 유발하였으며 유사분열정지는 6시간에서 최대치를 보였고 24시간에 정상으로 회복되었다. 방사선조사는 apoptosis를 유발하였으며 6시간에 최대치를 보이고 24시간에 정상으로 회복되었다. Paclitaxel과 방사선병용군에서 유사분열정지는 6시간에서 3일까지 나타났으며 apoptosis는 6시간과 24시간에 약간 보였으며 3일에 정상으로 회복되었다. 병용군에서 apoptosis의 빈도는 정상군보다 높았으나 방사선단독군에 비하여 현저하게 감소되어 방사선보호작용이 있었다.

결론 : Paclitaxel에 의한 유사분열정지는 6시간에 최대치를 보이고 24시간에 정상으로 회복되었으며 약간의 apoptosis을 유발하였다. 방사선조사는 apoptosis를 유발하였으며 6시간에 최대치를 보이고 24시간에 정상으로 회복되었다. 정상 소장에 방사선조사를 paclitaxel주입 후 24시간에 시행하여 apoptosis가 방사선조사군에 비하여 현저히 감소되어 paclitaxel이 방사선보호작용이 있었다.