

MG-63세포주의 방사선 및 항암제감수성에 관한 실험적 연구

전북대학교 치과대학 구강악안면방사선학 교실

이 언 경 · 고 광 준

목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고문헌
- 영문초록

I. 서 론

두경부암환자의 생존율은 대부분 국소재발을 과 밀접한 관련이 있으며 국소재발율은 암환자 치료의 가장 큰 실패원인이 된다. 특히 두경부암은 80%이상이 편평세포암종이며 이의 방사선감수성은 중등도 이상으로서 방사선치료시 방사선량의 증가에 의하여 국소제어율이 높아진다¹⁾. 두경부암의 T1N0와 T2N0병소는 방사선치료로써 만족할 만한 국소제어율의 증가를 가져왔다²⁾. 따라서 환자의 기능적, 심미적 관점에서 방사선치료는 초기 두경부암의 우수한 치료법일 뿐만 아니라 원발성 암이 외과적수술에 의하여 제거된 후 절제된 변연이 의심스러운 경우에도 방사선치료에 의하여 국소재발을 현저히 감소시킬 수 있게 되었다. 그러나 두경부암의 T3병소는 30-60%의 국소제어율을 보이고 5년 생존율은

35-45%를 나타내어 그 결과는 만족스럽지 못하다³⁾. 이는 대부분의 T3, T4병소는 암조직의 체적에 의하여 국소제어가 제한되며 기관내에서의 위치(하인두, 상악동)에 의해서도 국소제어가 제한되기 때문이다. 이러한 경우 재발은 일차적으로 암조직의 체적보다는 주위조직으로의 침윤에 의한다.

일반적으로 암세포의 방사선감수성은 임상반응을 나타내는 지표가 될 수 있고 개개 암세포주의 방사선감수성실험은 방사선치료시 생존율을 예측하는데 유용한 것으로 보고되고 있다⁴⁾. 방사선 단독치료에 반응을 보인 암환자로부터 치료 전 생검한 암세포주는 방사선감수성이 높은 반면 방사선단독치료 실패환자로부터 치료전 생검한 암세포주는 방사선에 내성이 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 방사선생물학적인 면에서 볼 때 방사선에 내성이 있는 세포들은 방사선치료시 낮은 반응을 보일것으로 예측할 수 있다.

두경부암환자에 있어서 방사선내성과 국소재발율 및 방사선 손상으로부터의 회복은 방사선치료시 매우 중요하다. 준치사 손상으로부터의 회복은 암조직마다 차이가 있으며 이는 방사선치료 반응에 차이가 있다는 것을 나타낸다. 또한 암조직의 배수성(diploid)과 이수성(aneuploid)세포의 수는 암세포의 방사선감수성의 중요한 지표가 될 수 있다⁵⁾. 방사선에 내성이 있는 대부분의 암조직내에는 배수성의 암세포가 있으며 이

수성 암세포의 분포는 더욱 급격히 진행되는 암으로서 방사선감수성이 낮은 암세포를 의미한다.

방사선감수성을 비교하기 위해서는 방사선량에 따른 세포의 생존곡선이 이용되며 생존곡선의 기울기는 방사선감수성의 지표가 되고 그 기울기가 클수록 방사선감수성이 높아진다. 따라서 생존곡선의 기울기로서 암환자의 방사선치료 가능성 여부를 알 수 있다. Fertal과 Malaise(1981)⁴⁾ 그리고 Deacon등(1984)⁵⁾은 2Gy에서의 생존율을 측정하고 고유 방사선감수성은 방사선치료시 암조직의 반응과 높은 상관관계를 갖는다고 보고하였다.

방사선감수성에 관한 연구로서는 인체의 정상세포를 대상으로 한 Greara등(1993)⁶⁾, Wurm등(1994)⁷⁾의 보고가 있으며, Hamster 암세포주에 대한 방사선감수성 연구로는 Hall등(1988)⁸⁾, Matthews등(1989)⁹⁾, Schroyens등(1990)¹⁰⁾, Kwok과 Sutherland(1991)¹¹⁾, Girinsky등(1992)¹²⁾의 보고가 있다. 또한 Feinendegen등(1988)¹³⁾은 저선량방사선에 대한 생화학적 효과 및 세포기구에 대하여 보고한 바 있으며, Burnet등(1992)¹⁴⁾은 인체 섬유모세포를 대상으로 방사선조사 후의 in vitro/in vivo 상관관계를 보고하였다.

항암제감수성에 관한 연구로서는 Drewinko등(1981)¹⁵⁾, Rozenweig등(1984)¹⁶⁾, Park등(1987)¹⁷⁾, Carmichael등(1988)¹⁸⁾의 보고가 있다.

방사선치료와 화학요법을 이용한 병용치료는 많은 임상연구 결과 방사선단독치료시보다 비교적 높은 국소제어율을 나타내었다. 또한 화학요법에 반응을 보인 환자는 방사선치료에도 반응을 보였으며 반대로 화학요법에 반응을 보이지 않은 환자는 방사선치료에도 낮은 반응을 나타내었다²⁾. 이러한 결과는 특히 완전반응 또는 거의 완전반응을 보인 암환자에게 적용될 수 있어 외과적 근치수술을 하지 않고도 방사선치료효과를 기대할 수 있기 때문이다.

Bleomycin은 두경부암 환자의 방사선치료와 병용치료시 가장 많이 이용되는 항암제 중 하나이다. 그러나 bleomycin 투여와 방사선치료를 병용했을 경우에는 급성독성효과가 관찰되며 그

정도는 bleomycin의 투여량에 따라 차이가 있다¹⁹⁾. 그러나 만발성 정상조직의 세포독성은 현저히 증가되지 않는 것으로 알려져 있다³⁾. 한편 cisplatin은 방사선의 세포독성을 증가시키는 항암제로 보고되어 유도화학요법시 방사선감수성을 극대화하기 위해 이용된다. 최근 cisplatin은 진행된 두경부암 또는 재발된 두경부암의 치료에 점차 많이 이용되고 있으며 특히 방사선치료 전 또는 외과적수술 전 5-fluorouracil과 자주 병용된다²⁰⁾.

Carmichael과 Hickson(1990)²¹⁾은 방사선과 항암제에 대한 세포내성의 기구, Baker등(1986)²²⁾은 인체 암세포주의 항암제 및 방사선감수성에 관하여 보고한 바 있다. Ensley등(1984)²⁾, Taylor등(1989)²³⁾은 두경부 편평세포암종에 대한 화학요법과 방사선치료효과, Jaulerry등(1992)²⁴⁾은 두경부암에 대한 유도화학요법효과에 대하여 보고하였다. 또한 심과 이(1987)²⁵⁾는 인체 종양 세포주에 대한 인터페론의 시험관내 및 생체내 항암효과, 이등(1990)²⁶⁾은 인체 암세포주에 대한 Multidrug resistance(MDR)1유전자발현도와 항암제감수성에 관하여 보고한 바 있다. 세포대사역제를 평가하는 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2,-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide]분석법은 정량적으로 단기간의 세포독성반응을 평가하는데 이용되고 있다. 1987년 Carmichael과 Hickson²¹⁾은 방사선감수성 및 항암제감수성 실험시 MTT를 평가하였으며 Park등(1987)은 인체 암세포주, Carmichael등(1988)¹⁸⁾은 인체 폐암 세포주, Campling등(1988)²⁷⁾은 인체 백혈병모세포(leukemic blast cell)의 항암제감수성실험시 MTT분석법을 평가한 바 있다.

본 연구의 목적은 MG-63 세포주에 대한 방사선감수성 및 항암제감수성실험을 통하여 향후 두경부암환자의 치료시 치료반응을 예측하는데 다소나마 도움을 주고자 하는데에 있다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험재료

(1) 암세포주

Human osteosarcoma MG-63 세포주를 10% D-FBS[Fetal Bovine Serum(M.A. Bioproducts, Walkersville, MD)]와 streptomycin, penicillin이 각각 100 μ g/ml, 100units/ml씩 함유된 RPMI 1640[Roswell Park Memorial Institute(Gibco, Grand Island, N.Y.)]배양액을 사용하여 온도 37 $^{\circ}$ C, 습도 95%가 유지되는 5% CO₂배양기에서 배양하였으며 MG-63 세포주를 96 well plates에 3×10^4 cells/ml되도록 분주하였다.

(2) 방사선조사

실온에서 ⁶⁰Co Irradiator ALDORADO 8(Atomic Energy Canada Ltd, Ottawa, Ontario, Canada)을 이용하여 선량을 210 cGy/min로 2, 4, 6, 8, 10Gy를 단회조사하였으며 SSD는 60Cm, 조사야는 15 \times 20 Cm이었다.

(3) 항암제

Bleomycin sulfate[Nippon Kayaku Co.], cisplatinum[Bristol-Myers, S.A.E.]을 0.15M NaCl용액과 혼합하여 사용하고 실험기간중에는 -70 $^{\circ}$ C 냉암소에 보관하였다. 실험에 사용한 약제의 농도는 2 μ g/ml를 중심으로 0.2 μ g/ml, 20 μ g/ml로 구분하여 MTT분석에 적용하였다.

2. 실험방법

방사선조사 후 각각 0.2, 2, 20 μ g/ml 농도의 bleomycin, cisplatin이 함유된 배양액에 MG-63 세포를 넣어 현탁액을 만들고 온도 37 $^{\circ}$ C, 습도 95%가 유지되는 5% CO₂ 배양기에 1시간 보관한 후 동일한 방법으로 2회 원침하여 항암제를 세척하였다. 96 well plates에 RPMI배양액 2ml를 혼합하고 상기 조건하의 배양기에서 암세포주를 4일간 배양한 후 실험에 적절한 세포주의 증식을 확인하였다. 세포주는 흡광도측정 4시간 전에

MTT 5mg/ml가 혼합된 배양액을 각 well당 200 μ l씩 넣어 4시간 동안 배양하였다. 배양액을 버리고 DMSO(Dimethyl Sulfoxide)를 100 μ l/well씩 넣어 15분간 실온에 방치한 후, 세포내 형성된 MTT formazan product를 용해하여 분광광도계 570nm에서 용해된 MTT의 흡광도를 scanning multiwell spectrophotometer (Enzyme-Linked Immunosorbant Assay Reader : Biotek Instruments, Inc. Burlington, VT)로 측정하여 세포독성의 백분율을 구하고 대조군과 비교하였으며, 모든 실험은 3회 반복하였다.

III. 실험 성적

1. 대조군

MG-63 세포주는 분주 후 시간경과에 따라 침하하여 약 2시간 후에는 대부분이 well기저면에 부착하여 성장하였다. MTT분석에서 방사선조사군의 MG-63세포주의 최적밀도(optimal density)는 $1.05 \pm 0.05 (3 \times 10^4 \text{ cell/ml})$ 이었다(Table 1). 한편 bleomycin, cisplatin 단독투여 후 4일째 MG-63세포주의 최적밀도는 $0.64 \pm 0.01 (3 \times 10^4 \text{ cell/ml})$ 이었다(Table 2).

2. 실험군

(1) 방사선 단독조사군

방사선조사 후 4일째 MG-63세포주는 2, 4, 6, 8, 10Gy 전 선량에서 방사선량이 증가됨에 따라 세포생존율이 감소되었으며(Table 1), 완만한 기울기의 생존곡선을 나타내었다(Fig. 1). 또한 4, 6, 8, 10Gy에서 대조군과 유의한 세포 생존율의 차이를 보였다($p < 0.05$).

(2) 항암제 단독투여군

MG-63세포주에 bleomycin과 cisplatin을 단독투여한 경우 0.2, 2, 20 μ g/ml 전 농도에서 대조군과 유의한 생존율의 차이를 나타내었고 특히 20 μ g/ml에서는 cisplatin이 bleomycin보다 세포독성효과가 더 컸다(Table 2, Fig. 2).

Table 1. Radiation Surviving Fraction of MG-63 in MTT assay

Dose	Surviving (Mean±S.D.)
Control	1.05±0.05
2Gy	1.04±0.02
4Gy	0.80±0.03*
6Gy	0.63±0.00*
8Gy	0.59±0.00*
10Gy	0.57±0.01*

* P<0.05 by ANOVA and Scheffé test

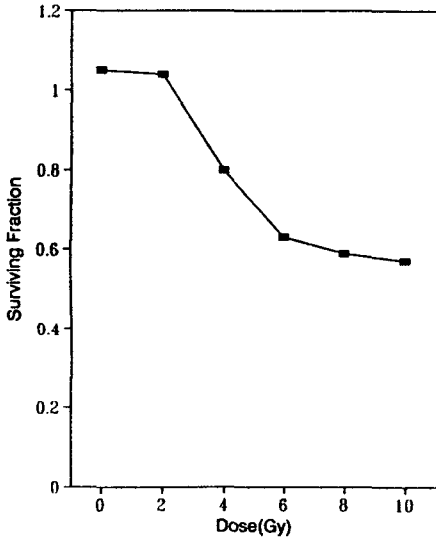


Fig. 1. Radiation Surviving Fraction of MG-63 in MTT assay

(3) 방사선조사 후 항암제투여군

방사선조사 후 bleomycin과 cisplatin을 투여한 경우에는 2Gy에서 대부분 항암제의 농도와 관계없이 대조군과 유의한 생존율의 차이를 나타내었다. Bleomycin과 cisplatin 농도가 20µg/ml 인 경우에는 방사선조사를 단독으로 시행한 경우와 비교해 대부분 생존율의 차이가 인정되었으나(p<0.01), 10Gy의 방사선조사 후 bleomycin을 투여한 경우에는 유의한 세포 생존율의 차이

Table 2. Effect of Antitumor Drugs on MG-63 in MTT assay

Drug	Concentration		
	0.2	2*	20
Control	0.64±0.01	0.64±0.01	0.64±0.01
Bleomycin	0.51±0.00*	0.45±0.01*	0.43±0.00*
Cisplatin	0.56±0.01*	0.53±0.01*	0.35±0.00**

The values are Mean±S.D.

* Peak Plasma Concentration(µg/ml)

* P<0.05 by ANOVA and Scheffé test

** P<0.01 by t-test

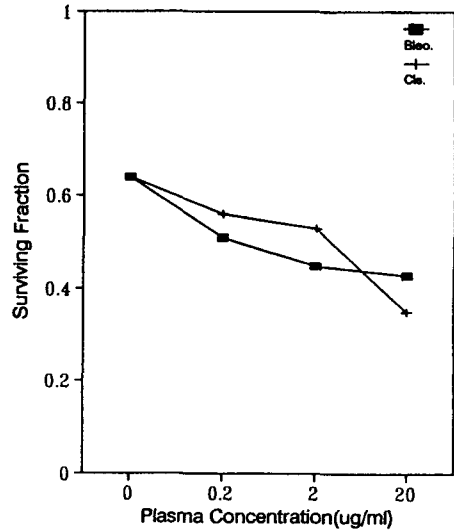


Fig. 2. Effect of Antitumor Drugs on MG-63 in MTT assay

를 나타내지 않았다(Table 3, 4, Fig. 3, 4).

IV. 총괄 및 고안

최근 두경부암의 T1과 T2병소는 방사선치료 또는 외과적 수술에 의하여 국소제어를 높일 수 있게 되었다³⁾. Anderson Hospital의 연구진에 의하면 방사선치료를 단독으로 시행한 환자들의 발음 및 연하 기능이 가장 잘 유지되었다고

Table 3. Effect of Radiation and Bleomycin on MG-63 in MTT assay

Dose	Concentration			
	Control	0.2	2 [‡]	20
2Gy	1.04±0.02	0.99±0.01	0.82±0.01**	0.66±0.00**
4Gy	0.80±0.03	0.77±0.02	0.65±0.03*	0.54±0.00**
6Gy	0.63±0.00	0.61±0.01	0.56±0.01	0.51±0.00**
8Gy	0.59±0.00	0.55±0.01	0.53±0.00	0.50±0.01*
10Gy	0.57±0.01	0.55±0.00	0.52±0.01	0.50±0.02

The values are Mean±S.D.

[‡] Peak Plasma Concentration(μg/ml) * P<0.05 by ANOVA and Scheffé test ** P<0.01 by t-test

Table 4. Effect of Radiation and Cisplatin on MG-63 in MTT assay

Dose	Concentration			
	Control	0.2	2 [‡]	20
2Gy	1.04±0.02	0.94±0.01*	0.82±0.01**	0.51±0.04**
4Gy	0.80±0.03	0.75±0.02	0.69±0.03*	0.45±0.00**
6Gy	0.63±0.00	0.62±0.01	0.51±0.01*	0.40±0.10**
8Gy	0.59±0.00	0.57±0.01	0.53±0.00*	0.35±0.01**
10Gy	0.57±0.01	0.57±0.00	0.54±0.01	0.38±0.02**

The values are Mean±S.D.

[‡] Peak Plasma Concentration(μg/ml) * P<0.05 by ANOVA and Scheffé test ** P<0.01 by t-test

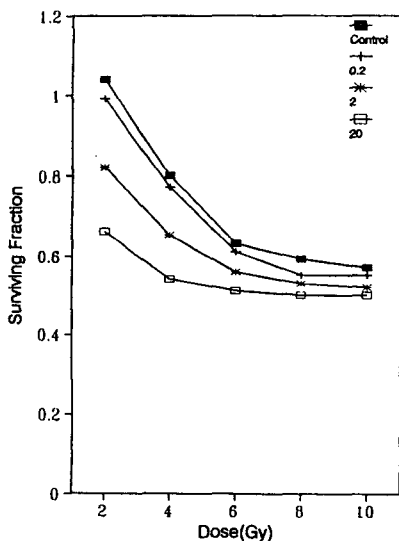


Fig. 3. Effect of Radiation and Bleomycin on MG-63 in MTT assay

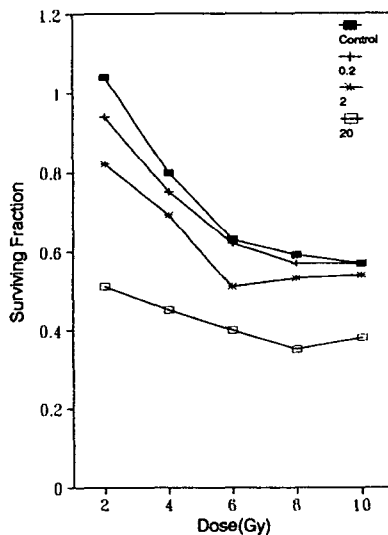


Fig. 4. Effect of Radiation and Cisplatin on MG-63 in MTT assay

보고하였다²³⁾. 방사선치료법 중에서도 암조직이 골과 인접되어 있지 않은 경우에는 방사성동위원소의 조직내조사법인 brachytherapy가 좋은 치료법으로 이용되고 있다. Brachytherapy는 인공 방사성동위원소로부터 나오는 방사선량을 전산처리함으로써 치료의 효율성을 높이고 부작용을 감소시킬 수 있는 방법이다²⁸⁾. 방사선원으로는 Iridium-192, Iodine-125, Au-198등이 많이 이용되고 있으며 특히 원격조정에 의한 remote control afterloading법은 암조직의 해부학적 위치 및 암조직에 대한 방사선량의 분포를 잘 적용시킬 수 있고 술자의 피폭선량도 현저히 감소시킬 수 있다. 또한 두경부암은 암조직이 주위 중요장기와 근접될 수 있어 선량분포에 대한 지식은 매우 중요하다. 일반적으로 암조직은 골로부터 멀수록, 피부 표면에 가까울수록 또는 림프조직으로부터 멀수록 방사선감수성이 높다²⁾.

방사선치료는 일반적으로 암세포가 정상세포보다 방사선의 장해를 받기 쉬운 성질을 이용하며 조사방사선에 대한 인접 정상조직의 장해를 허용하는 범위내에서 암세포를 사멸시키거나 적어도 증식되지 않는 정도까지 억제시킨다. 방사선조사에 의한 암조직 크기의 빠른 감소는 완전국소제어 가능성이 있는 병소로서 방사선치료시 좋은 예후를 나타내는 반면 서서히 감소되는 병소는 지속되거나 재발가능성이 있는 병소로 여겨져 왔다. 이러한 점은 빠르게 감소되는 암조직이 일반적으로 외방성이고 풍부한 혈관분포를 가지고 있는 것과는 관련된다. 한편 침윤성 암은 서서히 크기가 감소되고 예후도 좋지 않은 경향을 보인다. 따라서 분할조사법의 변화, 방사선감수성을 증가시킬 수 있는 항암제의 사용, 고선에너지부여(high linear transfer) 방사선의 이용과 같은 방사선감수성을 증가시키는 방법을 개발하는 것이 중요하다고 사료된다.

방사선치료시 총조사방사선량은 암발생 부위, 체적, 분할조사 횟수, 치료시작 후 경과된 전체시간, 방사선조사방법, 환자의 내성, 암조직의 반응 등에 의하여 결정된다. 총방사선량을 조사하는 경우 단회조사보다는 분할조사하여 저선량을 장기간조사함으로써 암세포의 파괴를 증가시키

면서 정상조직의 방사선손상으로부터의 회복을 기대할 수 있다.

방사선분할조사시 생물학적 효과는 준치사손상(sublethal damage)으로부터의 회복이 암조직보다 정상조직에서 더 현저하고 세포분열과정에서의 재분포(redistribution), 재군집화(repopulation)와 중앙조직내에서 일어나는 재산소화(reoxygenation)로 방사선치료효과가 증가된다고 보고되고 있다²⁹⁾. 준치사손상으로부터의 회복은 암조직보다 정상조직에서 현저한데 그 이유에 대하여 Elkind 등은 정상조직에서 항상성조절능력이 있기 때문이라고 설명하고 있다. Xu등(1984)³⁰⁾은 대부분의 인체 조직세포에서 방사선에 의한 준치사손상으로부터의 회복은 4시간 이내에 일어난다고 하였다. 분할횟수 및 조사기간이 증가될수록 정상조직의 회복력은 증가되는 반면 중앙조직은 손상으로부터의 회복력은 경미하여 방사선치료의 효율을 높일 수 있다. 또한 저산소군을 함유한 암조직의 재산소화에 의한 방사선효과를 증대시킬 수 있다. 최근 하루에 두 번 조사하는 다분할조사(hyperfractionation)법이 고안되었는데, 이것은 분할선량을 감소시켜 정상조직의 준치사손상으로부터의 회복을 기대하는 것이다.

일반적으로 2Gy 방사선조사 후 생존율은 방사선감수성측정의 중요한 지표가 된다. 이러한 방사선감수성은 방사선치료시의 반응과 밀접한 관계를 가지고 있다. 본 연구에서 MG-63 세포주에 대한 방사선량이 증가함에 따라 생존율이 감소되었으며 4, 6, 8, 10Gy에서 대조군과 유 의한 세포 생존율의 차이를 나타내었다.

화학요법에 의한 암조직 크기의 감소율은 방사선감수성이 있는 암조직의 선택에도 도움을 준다. 일반적으로 두경부암의 치료에 많이 이용되는 bleomycin은 지속적으로 투여하는 것이 더욱 효과적인 것으로 밝혀졌으나 이의 부작용으로 투여량의 증가에 의해 폐독성 또는 알러지 반응이 나타날 수 있다. 또한 cisplatin의 부작용으로는 오심, 구토, 청각 손상 및 신독성 반응 등이 있을 수 있다¹⁹⁾. 본 연구에서 bleomycin 또는 cisplatin을 단독으로 투여한 경우 MG-63세포주

에 대하여 bleomycin과 cisplatin의 0.2, 2, 20 μ g/ml 전 농도에서 대조군과 유의한 생존율의 차이를 나타내었으며 특히 20 μ g/ml에서는 cisplatin이 bleomycin보다 세포독성효과가 더욱 컸다. 또한 본 연구에서는 bleomycin과 cisplatin을 방사선 조사 직후 투여하였다. 따라서 cisplatin의 방사선 증강효과 또는 부가효과에 대해서는 향후 방사선조사 전후의 비교연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다. 2Gy의 방사선조사후 bleomycin 또는 cisplatin을 투여한 경우 대부분의 농도에서 대조군과 생존율의 차이를 나타낸 것은 방사선에 의한 세포독성보다는 항암제에 의한 세포독성이 큰 결과로 사료된다. 한편 10Gy 방사선조사 후 bleomycin을 투여한 경우 전 농도에서 대조군과 유의한 차이를 나타내지 않은 것은 bleomycin투여 전 방사선조사에 의해 세포생존율이 낮아졌기 때문인 것으로 사료된다.

방사선감수성 및 항암제감수성 연구에 이용되는 방법으로서 여러 방법들이 이용되고 있는데, 배양된 암세포주에 대한 세포독성을 검사하는 방법으로는 세포 생사판정을 통한 염색배제 분석법(Dye Exclusion Assay : DEA), 생체 염색의 neutral red에 근거한 비색검사법인 Neutral Red[NR]분석법, 세포대사억제를 평가하는 MTT분석법, 효소분석법, ³H-thymidine을 이용한 DNA분석법 등이 있다³¹⁾.

세포독성반응에 대한 MTT분석은 정량적으로 세포독성을 평가하는데 이용되어 왔다¹⁸⁾. ³H-thymidine을 이용한 자가방사기록법(auto-radiography)은 DNA에 집적되는 방사능의 양을 측정함으로써 DNA합성능을 평가할 수 있는 방법이지만 이 방법은 방사능오염의 가능성이 있는 단점이 있다. 따라서 향후 임상적용에 더 유용한 분석법의 개발이 요구된다.

본 연구는 암세포주에 대한 방사선 단회조사와 항암제투여시 방사선감수성 및 항암제감수성 실험으로서, 향후 방사선 분할조사에 대한 효과와 방사선 및 항암제의 감수성을 증가시킬 수 있는 다른 약제에 대한 효과도 이루어져야 할 것으로 사료된다. 또한 암환자의 생존율을 크게 높이기 위해서는 방사선 및 항암제에 높은 내성을 가

지는 암세포의 특성들이 명확히 규명되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

Human osteosarcoma MG-63 세포주에 대한 방사선 및 항암제의 세포독성반응을 알아보기 위하여 실험실에서 배양된 MG-63 세포주(3×10^4 cells/ml)에 ⁶⁰Co irradiator ALDORADO 8을 이용하여 선량을 210cGy/min로 2, 4, 6, 8, 10Gy의 방사선을 단회조사하였다. 항암제투여군은 방사선조사 직후 0.2, 2, 20 μ g/ml 농도의 bleomycin과 cisplatin이 함유된 RPMI 배양액에 MG-63세포주를 넣어 배양기에서 1시간 보관하였다.

방사선조사와 항암제투여 후 4일째의 세포생존율을 MTT분석으로 구하여 각각의 세포생존곡선을 작성하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. MG-63 세포주는 2, 4, 6, 8, 10Gy 전 선량에서 완만한 기울기의 생존곡선을 나타내었으며 4, 6, 8, 10Gy에서 대조군과 유의한 생존율의 차이를 보였다($p < 0.05$).
2. MG-63 세포주에 bleomycin과 cisplatin 단독 투여시 0.2, 2, 20 μ g/ml 전 농도에서 대조군과 유의한 생존율의 차이를 나타내었고($p < 0.05$), 특히 20 μ g/ml에서는 cisplatin이 bleomycin보다 세포독성효과가 컸다($p < 0.01$).
3. 2Gy 방사선조사 후 bleomycin과 cisplatin을 투여한 경우 항암제 2, 20 μ g/ml 농도에서 대조군과 유의한 생존율의 차이를 나타내었다($p < 0.01$).
4. Bleomycin과 cisplatin농도가 20 μ g/ml인 경우 방사선조사 단독으로 시행한 경우와 비교하여 생존율의 차이가 컸으나($p < 0.01$), 10Gy 방사선조사 후 20 μ g/ml의 bleomycin을 투여한 경우에는 방사선 단독투여시와 비교하여 유의한 차이를 나타내지 않았다.

참 고 문 헌

1. Shklar G : Oral Cancer. pp.127-137, W. B. Saunders, 1984.
2. Ensley JF, Jacobs JR, Weaber A : Correlation between response to cisplatin combination chemotherapy and subsequent radiotherapy in previously untreated patients with advanced squamous cell cancers of the head and neck. *Cancer* 54 : 811-814, 1984.
3. Fletcher GH : Textbook of radiotherapy. 3rd ed. pp. 229-426, Lea & Febiger, 1980.
4. Fertil B, Malaise EP : Inherent cellular radiosensitivity as a basic concept for human tumor radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 7 : 621-629, 1981.
5. Deacon J, Peckham MJ, Steel GG : The radiosensitiveness of human tumors and the initial slope of the cell survival curve. *Radiother Oncol* 2 : 317-323, 1984.
6. Greara FB, Peters LJ, Ang KK, Wike JL, Brock WA : Prospective comparison of in vitro normal cell radiosensitivity and normal tissue reactions in radiotherapy patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 27 : 1173-1179, 1993.
7. Wurm R, Burnet NG, Duggal N, Yarnold JR, Peacock JH : Cellular radiosensitivity and DNA damage in primary human fibroblasts. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 30 : 625-633, 1994.
8. Hall EJ, Marchese MJ, Astor MB, Morse T : Response of cells of human origin, normal and malignant, to acute and low dose rate irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 12 : 655-659, 1986.
9. Matthews JHL, Meeker BE, Chapman JD : Response of human tumor cell lines in vitro to fractionated irradiation, *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 16 : 133-138, 1989.
10. Schroyens W, Tueni E, Dodion P, Bodecker R, Stoessel F, Klastersky J : Validation of clinical predictive value of in vitro colorimetric chemosensitivity assay in head and neck cancer. *Europ J Cancer* 26 : 834-838, 1990.
11. Kwok TT, Sutherland RM : The influence of cell-cell contact on radiosensitivity of human squamous carcinoma cells. *Radiation Research* 126 : 52-57, 1991.
12. Girinsky T, Lubin R, Pignon JP, Chavaudra N, Gazeau J, Dubray B, et al. : Predictive value of in vitro radiosensitivity parameters in head and neck cancers and cervical carcinomas : preliminary correlations with local control and overall survival. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 25 : 3-7, 1993.
13. Feinendegen LE, Bond VP, Booz J, Muhlensiepen H : Biochemical and cellular mechanisms of low-dose effects. *Int J Radiat Biol* 53 : 23-27, 1988.
14. Burnet NG, Nyman J, Turesson I, Wurm R, Yarnold JR, Peacock JH : Prediction of normal tissue tolerance to radiotherapy from in vitro cellular radiation sensitivity. *Lancet* 339 : 1570-1571, 1992.
15. Drewinko B, Patchen M, Yang LY, Barlogie B : Differential killing efficacy of twenty antitumor drugs on proliferation and nonproliferating human tumor cells. *Cancer Research* 41 : 2328-2333, 1981.
16. Rozenzweig M, Dodion P, Brunsch U : Combination chemotherapy with cisplatin, bleomycin and vincristine(CABO) in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 54 : 1499-1503, 1984.
17. Park JG, Karamer BS, Steinberg SM, Carmichael J, Collins JM, Minna JD, et al. : Chemosensitivity testing of colorectal carcinoma cell lines using a tetrazolium-based colorimetric assay. *J Cancer Research* 47 : 5875-5879, 1987.
18. Carmichael J, Mitchell JB, DeGraff WG, Gamson J, Gazdar AF, Johnson BE, Glatstein E, et al. : Chemosensitivity testing of human lung cancer cell lines using the MTT assay. *Br J Cancer* 57 : 540-547, 1988.
19. Rozenzweig M, et al : Combination chemotherapy with cisplatin, methotrexate, bleomycin, and vincristine in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 54 : 1499-1503, 1984.
20. Théon A, Madewell BR, Ryu J, Castro J : Concurrent irradiation and intratumoral chemotherapy with cisplatin : A pilot study in dogs with spontaneous tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 29 : 1027-1034, 1994.
21. Carmichael J, Hickson ID : Keynote address : Mechanisms of cellular resistance to cytotoxic drugs

- and X-radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 20 : 197-202, 1991.
22. Baker SR, Makuch RW, Wolf GT : Preoperative cisplatin and bleomycin therapy in head and neck squamous carcinoma : Prognostic factors for tumor response. *Ach Otolaryngol* 107 : 683- 689, 1981.
 23. Taylor SG, Murthy AK, Caldarelli DD, Showell JL, Kiel K, Griem KL, et al. : Combined simultaneous cisplatin/fluorouracil chemotherapy and split course radiation in head and neck cancer. *J Clin Oncol* 7(7) : 846-856, 1989.
 24. Jaulerry C, Rodriguez J, Brunin F, Jouve M, Mosseri V, Point D, Pontvert D, Validire P, Zafrani B, Blaszkia B, Asselain B, Pouillart P, Brugere J : Induction chemotherapy in advanced head and neck tumors : results of two randomized trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 23 : 483-489, 1992.
 25. 심우남, 이원영 : 사람종양 세포주에 대한 rHu IFN- α 2a 의 시험관내 및 생체내 항암 효과. *대한면역학회지* 9 : 249-257, 1987.
 26. 이경영, 박재갑, 황이숙, 김진복 : 인체 암세포주의 MDR1 유전자 발현도와 항암제 감수성에 대한 연구. *대한암학회지* 22 : 37-47, 1990.
 27. Campling BG, Pym J, Galbraith PR, Cole SPC : Use of the MTT assay for rapid determination of chemosensitivity of human leukemic blastic cells. *Leukemic Research* 12 : 823-831, 1988.
 28. Eschwege F : Future goals in head and neck radiotherapy(cited from 3)
 29. 고병희, 함창국, 김정진 : 단일조사와 분할조사시 마우스 공장 소낭세포의 방사선효과에 관한 실험적 연구. *대한치료방사선학회지* 3 : 1-8, 1985.
 30. Xu FX, Van der Schueren E, Ang KK : Acute reactions of the lip mucosa of mice to fractionated irradiations. *Radiotherapy and Oncology*, 1 : 369-374, 1984.
 31. 김민숙, 고광준 : 수종의 암세포주의 저선량 방사선감수성에 관한 실험적 연구. *치과방사선* 24(2) : 249-261, 1994.
 32. Amour RJ, Bedford JS : Dose-rate effects between 0.3 and 30 Gy/h in a normal and a malignant human cell line. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 30 : 83-90, 1994.
 33. Arlett CF, Harcourt SA : Survey of radiosensitivity in a variety of human cell strains. *Cancer Res* 40 : 926-932, 1980.
 34. Balch CM, Soong SJ, Murad TM, Smith JW, Maddox WA, Durandt JR : A multifactorial analysis of melanoma : IV. Prognostic factors in 200 melanoma patients with distant metastases(Stage III). *J Clin Oncol* 1 : 126-134, 1983.
 35. Basham C, Mills J, Douple EB, Roberts JJ : The independent action of radiation and cisplatin on the survival and recovery of human tumor cells in vitro and in vivo. *Int J Radiat Biol* 55 : 807-820, 1989.
 36. Borrancó SC, Romsdahl MD, Humphrey RM : The radiation response of human malignant melanoma cells grown in vitro. *Cancer Res* 31 : 830, 1971.
 37. Bristow RG, Hardly PA, Hill RP : Comparison between in vitro radiosensitivity and in vivo radio-response for murine tumor cell lines : Parameters of in vitro radiosensitivity and endogenous cellular glutathione levels. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 18 : 133-145, 1990.
 38. Brock WA, Baker FL, Wike JL, Silvon SL, Perters LJ : Cellular radiosensitivity of primary head and neck squamous cell carcinomas and local tumor control. *Int J Radiat. Oncol Biol Phys* 18 : 1283-1286, 1990.
 39. Brunin F, Rodriguez F, Jaulerry J, Jouve C, Pontvert M, Point D, et al. : Induction chemotherapy in advanced head and neck cancer. *Acta Oncol* 28 : 61-65, 1989.
 40. Cooper JS, Karen FU, Marks J, Silverman S : Late effects of radiation therapy in the head and neck region. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 31 : 1141-1164, 1995.
 41. Cox, R. and Masson, W. K. : Radiosensitivity in cultured human fibroblasts. *Int J Radiat Biol* 38 : 375-576, 1980.
 42. Dale RG, Huczkowski J, Trott KR : Possible dose rate dependance of recovery kinetics as deduced from a preliminary analysis of the effects of fractionated irradiations at varying dose rates. *Br J Radiol* 61 : 153-157, 1988.
 43. Deschavanne PJ, Devieu D, Fertil B, Malaise EP : Reevaluation of in vitro radiosensitivity of human fibroblasts of genetic different origins. *Int J Radiat Biol* 50 : 279-293, 1986.

44. Eisenberger MA, Denfrio J, Silverman M, Lessner HE : Combination chemotherapy with bleomycin and hydroxyurea on the treatment of advanced head and neck cancer. *Cancer Treat. Rep* 66 : 1349-40, 1982.
45. Geara FB, Perters LJ, Ang KK, Wike JL, Sivon SS, Guttenverger R, Callender DL, Mallaise EP, Brock WA : Intrinsic radiosensitivity of normal human fibroblasts and lymphocytes after high- and low-dose-rate irradiation. *Cancer Res* 52 : 6348-6352, 1992.
46. Han A, Hill CK, Elkind MM : Repair of cell killing and neoplastic transformation at reduced dose rates of Co- γ rays. *Cancer Research* 40 : 3328-3332, 1980.
47. Hong WK, Shapshay SM, Bhutani R, Craft ML, Ucmakli A, Yamaguchi KT, et al. : Induction chemotherapy in advanced squamous head and neck carcinoma with high-dose cis-platinum and bleomycin infusion. *Cancer*, 44 : 19-25, 1979.
48. Huh SJ, Park CI : Radiosensitivity and dose-survival characteristics of crypt cells of mouse jejunum. *J Korean Soc. Ther. Radiol.*, 3 : 9-12, 1985.
49. Johns ME, Mills SE : Cloning efficiency a possible prognostic indicator in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 52 : 1401-1404, 1983.
50. Landuyt W, Ang KK, Van der Schueren E : Combinations of simple doses and fractionated treatments of cis-dichlorodiammineplatinum(II) and irradiation, Effects on mouse lip mucosa. *Br J Cancer* 54 : 579-586, 1986.
51. Limon J, Lundgren R, Elfving P, Heim S, Kristoffersson U, Mandahl N, Mitelman F : An improved technique for short-term culturing of human prostatic adenocarcinoma tissue for cytogenetic analysis. *Cancer Genet. Cytogenet* 46 : 191-199, 1990.
52. Merlano M, Roso R, Sertoli MR : Sequential versus alternating chemotherapy and radiotherapy in stage III-IV squamous cell carcinoma of the head and neck : a phase III study *J Clin Oncol* 6 : 627-632, 1988.
53. Mitchell JB, Bedford JS, Bailey SM : Dose-rate effects on the cell cycle and survival of S3 HeLa and V79 cells. *Radiation Research* 79 : 520-536, 1979.
54. Nilsson P, Thames HD, Joiner MC : A generalized formulation of the 'incomplete-repair' model for cell survival and tissue response to fractionated low dose-rate irradiation. *Int J Radiat Biol* 57 : 127-142, 1990.
55. O'Brien CJ, Coates AS, Petersen-Schaefer K, Shannon K, Thompson JF, Milton GW, McCarthy WH : Experience with 998 cutaneous melanomas of the head and neck over 30 years. *Am J Surg* 162 : 310-314, 1991.
56. Parker L, Skarsgard LD, Emmerson PT : Sensitization of anoxic mammalian cells to X-rays by triacetoneamine N-Oxyl. survival and toxicity studies. *Radiation Research* 38 : 493-500, 1969.
57. Peacock JH, Cassoni AM, McMillan TJ, Steel GG : Radiosensitivity human tumour cell lines may not be recovery deficient. *Int J Radiat Biol* 6 : 945-953, 1988.
58. Peacock JH, Eady JJ, Edwards S, Holmes A, McMillan TJ, Steel GG : Initial damage or repair as the major determinant of cellular radiosensitivity?. *Int J Radiat Biol* 5 : 543-547, 1989.
59. Rofstad EK : Growth and radiosensitivity of malignant melanoma multicellular spheroids initiated directly from surgical specimens of tumors in man. *Br J Cancer* 54 : 569-578, 1986.
60. Shadley JD, Wiencke JK : Induction of the adaptive response by X-rays is dependent on radiation intensity. *Int J Radiat Biol* 56 : 107-118, 1989.
61. Sindelar WF, Kinsella T, Tepper J, Travis EL, Rosenberg SA, Glastein E : Experimental and clinical studies with intracurative radiotherapy. *Surgery, Gynecology & Obstetrics*, 157 : 205-219, 1983.
62. Steel GG, Down JD, Peacock JH, Stephens TC : Dose-rate effects and the repair of radiation damage. *Radiotherapy and Oncology*, 5 : 321-331, 1986.
63. Steel GG, Peacock JJ : Why are some human tumors more radiosensitive than others?. *Radiotherapy and Oncology*, 15 : 63-72, 1989.
64. Thames HD, Bentzen SM, Turesson I, Overgaard M, Van Den Borghaert W : Fractionation parameters for human tissues and tumors. *Int J Radiat. Biol* 56 : 701-710, 1986.
65. Tucker SL, Turesson I, Thames HD : Evidence for

- individual differences in the radiosensitivity of human skin. *Europ J Cancer* 30 : 1783-1791, 1992.
66. Van Rotterdam A, Barendsen GW, Gaiser JF : Radiosensitivity of cells in recurrent experimental tumours and the effectiveness of tumour retreatment. *Radiotherapy and Oncology*, 8 : 171-176, 1987.
67. Von Hoff DD, Alberts DS, Mattox DE, et al. : Combination chemotherapy with cisplatin, bleomycin, and methotrexate in patients with advanced head and neck cancer. *Cancer Clni Trials* 4 : 215-218, 1981.
68. Weaver A, Flemming S, Kish J, et al. : Cisplatin and 5-fluorouracil as induction therapy for advanced head and neck cancer. *Am J Surg* 144 : 445-448, 1982.
69. Weichselbaum RR, Epstein J, Little JB : In vitro cellular radiosensitivity of human malignant tumours. *Europ. J. Cancer*, 12 : 47-51, 1976.
70. Weichselbaum RR, Schmit A, Little JB : Cellular repair factors influencing radiocurability of human malignant tumours. *Br J Cancer* 45 : 10-16, 1982.
71. 이창혜, 이봉기, 이원영, 김주덕 : 시험관 및 생체내 암세포(S-180YS)의 Adriamycin에 대한 내성세포의 염색체 분포 특성. *연세의대 논문집* 16 : 180, 1983.

-ABSTRACT-

AN EXPERIMENTAL STUDY ON THE RADIOSENSITIVITY AND CHEMOSENSITIVITY OF MG-63 CELL LINE

Un-Gyeong Lee, Kwang-Joon Koh

*Department of Oral and Maxillofacial Radiology, College of Dentistry,
Chonbuk National University*

The purpose of this study was to aid in the prediction of tumor cell tolerance to radiotherapy and/or chemotherapy. For this study, cell surviving curves were obtained for human osteosarcoma MG-63 cell line using semiautomated MTT assay.

2, 4, 6, 8, 10Gy were irradiated at a dose rate of 210cGy/min using ⁶⁰Co Irradiator ALDORADO 8. After irradiation, MG-63 cell lines (3×10^4 cells/ml) were exposed to bleomycin and cisplatin at concentration of 0.2, 2, 20 μ g/ml for 1 hour respectively.

The viable cells were determined for each radiation dose and/or each concentration of drug. And they were compared to control values.

The obtained results were as follows :

1. There was significant difference of surviving fraction at 4, 6, 8, 10Gy on MG-63 cell line ($p < 0.05$).
2. There was significant difference of cytotoxicity of bleomycin or cisplatin at all concentration of 0.2, 2, 20 μ g/ml ($p < 0.05$) on MG-63 cell line. The cytotoxicity of cisplatin was more effective than bleomycin at concentration of 20 μ g/ml on MG-63 cell line.
3. There was significant difference of cytotoxicity of bleomycin or cisplatin at all concentration after irradiation of 2Gy on MG-63 cell line.
4. There was significant difference of cytotoxicity of bleomycin or cisplatin at concentration of 20 μ g/ml after irradiation than that of irradiation alone ($p < 0.01$). But there was no significant difference of cytotoxicity of bleomycin at concentration of 20 μ g/ml after irradiation of 10Gy than that of irradiation alone.