

# 실험적으로 유발된 직장종양에 대한 치료적 초음파의 효과

동신대학교 물리치료학과 · 한려대학교 물리치료학과<sup>1)</sup>

정미선 · 오명화 · 김계엽 · 김찬규<sup>1)</sup>

## Effects of Therapeutic Ultrasound on Experimental Induced Rectal Sarcoma(CT-26)

Cheong, Mee sun Cheong · Oh, Myoung Hwa Oh · Kim, Gye Yeop · Kim, Chan Kyu<sup>1)</sup>

*Dept. of physical Therapy, Dong-shin University · Dept. of physical Therapy, Hanlyo University<sup>1)</sup>*

### ABSTRACT

The use of therapeutic ultrasound(US) in humans with malignant neoplasms has been contra-indicated in physical therapy practice. Some studies have shown the results after application of US inhibited of tumor growth but some studies have shown the results facilitated of tumor growth in mouse. The purpose of this study were to determine the effects of US on rectal sarcoma(CT-26) in mouse and to determine the histological change of tumor.

Thirty-five female BALB/C mouse, age 6 to 8 weeks received subcutaneous injection of 0.1 10<sup>5</sup> tumor cells. When tumors grew to 5 mm in diameters, the mouse were randomly assigned to control group(n=7) and high powered continuous US group(n=7) and low powered continuous US group(n=7) and high powered pulsed US group(n=7) and low powered pulsed US group(n=7). The experimental group (four groups) received 10 treatments over a 10-day period of 3 MHz ultrasound.

Tumor dimension were measured on days 1(start of treatment), 5(midtreatment), and 10(end of treatment, preexcision and postexcision). Tumors were weighed after excision and the mouse were observated histological change of tumor.

All tumors grew larger over time. Mean tumor weights(in grams) and volumes(in cubic millimeters) were 2,063 g and 2729,313 mm<sup>3</sup> for the high powered continuous US group 1,881 g and 2428,002 mm<sup>3</sup> for the low powered continuous US group 1,730 g and 2381,002 mm<sup>3</sup> for the high powered pulsed US 1,673g and 2289,562 mm<sup>3</sup> for the low

powered pulsed US group 1,670 g and 2297.333 mm<sup>3</sup> for the control group.

Ultrasound increased the weight and volume of subcutaneous tumor in mouse. We urge caution in the use of ultrasound in the areas of tumors.

**Key words:** ultrasound, rectal sarcoma(CT-26), Mice

\* 본 연구는 한국과학재단지정 동신대학교 산업용가속기이용생물연구센터지원에 의한 것입니다.

## I. 서론

암(cancer)은 최근까지도 인류의 건강을 위협하는 질병으로 현대 의학의 눈부신 발전에도 불구하고 미국을 비롯한 서방 선진국 및 국내에서도 경제 사회 및 문화적으로 가장 문제시 되는 중요한 질병중 하나이다. 최근 생활의 변화로 인해 대장 및 직장 종양은 서양인에서는 두 번째로 많이 발생하는 종양이며, 한국인에서는 위암, 자궁 경부암, 간암, 폐암 다음으로 많이 발생을 하며, 대장 및 직장 종양은 우리나라에 발생하는 전체 악성 종양의 약 6%를 차지하고 있다(주영채 등, 1996). 최근 암의 치료에는 수술요법, 방사선 요법, 화학 요법, 면역요법, 고온요법 등의 다양한 방법을 이용하여 치료하고 있다. 고온 요법을 이용하여 종양을 치료하는 방법에는 고주파를 이용한 극초단파, 초음파가 고온요법의 한 방법으로 치료에 이용되고 있다(김지원 등, 1997).

초음파는 진동 주파수가 17,000~20,000Hz 이상으로 높아서 인간의 귀로 들을 수 없는 불가청 진동음파로서 많은 진단학적 치료적 적용을 하였다(Bataille et al. 1996). 치료를 위한 주파수의 범위는 0.5~5 MHz이고, 일반적으로 1 MHz에서 3 MHz 주파수 초음파를 이용한다(이재형, 1995). 리치료에서 사용하고 있다(Rochbreak et al. 1988; Draper et al. 1995). 초음파의 생물학적 효과인 기계적 효과, 전기적 효과, 화학적 효과에 의해서 생리학적으로 열 효과와 비열 효과를 유발시키며 이는 초음파의 주파수, 적용강도와 적용시간 및 적용 양식에 따라 다르게 나타나며 열 효과는 주로 근육과 같은 단백질이 많이 함유된 조직에서 발생되나 골 주변 조직에서 열이 더 강하게 발생한다(Lehmann et al. 1966). 이는 초음파가 주로 조직 내의 단백질과 세포막의 흡수 계수에 의한 차이이다(이충휘 등, 1998).

물리치료 분야에서 사용하고 있는 초음파 기기는 임무주기 양식에 따라 지속 초음파와 맥동 초음파로 분류되며, 맥동 초음파는 평균 강도를 감소시키기 위하여 맥동 체계를 사용하고 있다. 맥동 초음파는 시간에 비해서 적은 에너지를 전달하고, 열 효과가 적으며, 비열 효과를 유발시키려 할때 사용한다(Rosenbaum et al. 1998). 일반적으로 이용할 수 있는 맥동비는 1:2 또는 1:4 이다(Pye and Milford, 1994). 맥동 초음파의 임상적 적용은 염좌와 좌상, 근육 손상과 과사용 손상등과 같은 급성 조직 외상에 사용을 한다. 지속적 초음파는 주로 조직의 신장 운동을 적용하기 전에 사용하며 조직 온도를 상승시켜 단백질 섬유의 신축성과 조직 유착의 점도를 변화시킴으로써 구축된 조직의 신장을 촉진시키기 위해 사용 한다(Lehmann et al. 1970). Rosenbaum 등(1995)의 연구에서는 주파수 3 MHz 지속적 초음파 1.0 W/cm<sup>2</sup>가 대조 집단에 비해 종양 성장이 증가하였으며, Rosenbaum 등(1998)의 연구에서도 대조 집단에 비해 1.0 W/cm<sup>2</sup>의 지속적 초음파 집단에서 가장 종양 성장이 증가하였다. Lejbkowitz 등(1993)의 정상 세포와 악성 세포에 대한 초음파의 영향의 연구에서 in vitro 연구에서는 종양 성장의 억제력을 보고하였으나 in vivo 연구에서는 종양 세포의 억제력을 보고하지 못하였다.

따라서 초음파가 종양 성장에 미치는 영향은 초음파의 적용방법과 종양의 종류에 따라 다르게 보고 되고 있다. 그러므로 본 실험에서는 3 MHz의 초음파를 이용하여 맥동 주기와 치료강도에 따라 직장 종양에 미치는 영향을 알아봄으로써 직장 종양에 미치는 초음파의 효과에 대하여 기본적인 자료를 제공 하고자 한다.

## II. 연구방법

### 1. 실험동물

실험에 사용한 동물은 체중 15~20 g, 생후 6주~8주 정도 인 암컷 BALB/C 35마리(다물사이언스, 한국)를 사용하였으며, 사료는 항생제가 첨가되지 않은 마우스용 펠렛을 사용하였다. 실험기간 중 실험동물 사육실은 온도  $22 \pm 2$  와 습도 50~60%를 항상 일정하게 유지 시켜 주었으며, 12시간 간격으로 명암주기를 조절하였다.

집단은 초음파 용량이  $1.0 \text{ W/cm}^2$ 을 적용한 고 용량 지속적 초음파 집단 과 초음파 용량이  $0.75 \text{ W/cm}^2$ 을 적용한 저 용량 지속적 초음파 집단, 초음파 용량이  $1.0 \text{ W/cm}^2$ 을 적용한 고 용량 맥동 초음파 집단, 초음파 용량이  $0.75 \text{ W/cm}^2$ 을 적용한 저 용량 맥동 초음파 집단 및 대조 집단으로 구분하였다(Table 1).

Table 1. Characteristics of each experimental groups

Group	N	Intensity (W/cm <sup>2</sup> )	Duration (min)	Duty cycle (on/off ration)
High powered continuous US*	7	1.0	5	.
Low powered continuous US*	7	0.75	5	.
High powered pulsed US*	7	1.0	12.5	1:5
Low powered pulsed US*	7	0.75	12.5	1:5
Control	7	0	0	0

US\* = Ultrasound

### 2. 종양세포 접종

Ketaset(ketamin hydrochloride, 100 mg /mL)와 Rompun(xylazine, 20 mg/mL) 0.03 mL를 사용하여 복강 내 주사로 진정 시키고, Ketaset 10 mL Rompun을 1 mL의 비율로 주사하여 전신마취 하였다. 마취된 쥐를 고정 틀에 고정된 후 우측 대퇴부를 제모 하였으며, 발색제로 개체를 구분하였다. 직장 암종(CT-26) 세포로 유도된 단순세포를 준비하였으며, 부유된 0.1 105 세포 0.1 mL를 우측 대퇴부에 피하 주사하였다.

### 3. 초음파 작용

본 실험에서 사용한 초음파 기구는 지속 및 맥동 초음파 변환이 가능하며 주파수가 1 MHz와 3 MHz, 강도는  $0 \text{ W/cm}^2$ 에서  $2.0 \text{ W/cm}^2$ 범위를 가진 Sonopulse 590(Enraf-Nonius, Netherlands)이다.

초음파 적용은 임무주기 양식에 따라 지속초음파는 5분을 적용하였으며, 맥동초음파는 12.5분을 적용하였다. 맥동초음파는 맥동반복 주파수(pulse repetition frequency)가 100 Hz, 맥동반복주기(pulse repetition period)가 10 ms, 맥동시간이 2 ms, 맥동단속시간(pulse pause)이 8 ms로 순환주기는 20%였다. 초음파 변환기의 기술적 사양은 3 MHz는 도형면적(geometric area, GA)이  $0.7 \text{ cm}^2$ , 효과적 방사영역(effective radiating area, ERA)이  $0.5 \text{ cm}^2$ , 빔 비-균질성비(beam non-uniformity ratio, BNR)이 6.0 max인 기종을 사용하였다.

본 실험에서의 초음파의 치료면적은 초음파 도자를 고정 시켜서 초음파 도자의 효과적 방사영역인  $0.5 \text{ cm}^2$ 을 종양에 적용하였다. 초음파의 원활한 적용을 위하여 매일 초음파 적용 전에 제모기를 사용하여 종양부의 제모를 실시하였다. 전자 저울(Ohaus CO., SD2020, Canada)로 쥐의 전체 체중을 측정 후, 고정 틀에 고정하여 종양 상부에 3 MHz 초음파 도자를 위치 시켰다.

### 4. 임상증상 관찰

사료 섭취량과 음수 섭취량은 매일 관찰하였으며, 활동력 및 종양 세포 접종 전과 접종 후의 직장 체온을 측정하였다.

### 5. 종양 크기 측정

모든 집단들은 디지털 캘리퍼(Sylac Fowler Ultra-Cal II, Swiss)를 사용하여 치료 전 종양의 가로와 세로의 길이를 측정 하였으며, 매일 치료직전에 종양의 크기를 측정하여 기록하였다. Rosenbaum 등(1998)의 실험에서 사용한 공식을 사용하여 종양의 면적은  $(\pi/4) \times \text{가로} \times \text{세로}$ 의 공식으로 계산하여 mm<sup>2</sup>으로 기록하였다. 종양의 부피는 Rosenbaum 등(1998)과 Oosterhof 등(1996)이 사용한  $(\pi/6) \times \text{가로} \times \text{세로} \times \text{높이}$ 의 공식으로 계산하여 mm<sup>3</sup>으로 기록하였다. 측정오차를 줄이기 위하여 반복 측정된 동일 측정자로 하여 모든 개체를 측정하도록 하였으며, 각 개체를 3회씩 반복 측정하여 평균값을 취하게 하였다.

## 6. 병리 조직학적 관찰

실험을 시작하지 11일째에 모든 개체들을 경추탈구법으로 희생시킨 후, 종양부 피부를 제거하고 종양조직을 적출하여 즉시 10% 포르말린 용액에 고정하였다. 탈수와 투명화과정을 거친 후, 파라핀 포매하여 4~5mm 크기로 절편을 만들어 통상적인 hematoxyline & eosin 염색을 실시하였다.

## 7. 통계학적 분석

집단의 실험전과 실험후의 체중변화를 비교하기 위하여 짝 비교 t-검정을 실시하였으며, 시간에 따른 종양의 면적을 비교하기 위하여 반복 측정된 일요인 분산분석(repeated one-way ANOVA)을 실시하였으며, 절제된 종양의 무게와 부피를 비교하기 위해서 단순 분산분석 (one-way ANOVA)을 실시하였다. 집단 사이에 유의한 차이를 보기 위해서 Turkey 방법으로 분석하였으며, 통계학적 유의수준 =0.05로 하였다.

# III. 결과

## 1. 임상증상

각 집단마다의 사료 섭취량과 음수 섭취량은 실험 전과 실험 후에 감소나 증가가 나타나지 않았으며, 활동력은 종양 유발 세포를 접종을 하고 나서 대조 집단에 비해서 실험 집단들의 활동력은 감소하였으며, 체온은 0.5~1℃ 정도의 차이를 보였지만 유의하진 않았다.

## 2. 쥐의 체중변화

쥐의 체중의 변화량은 고 용량 지속적 초음파 집단은 초음파 적용 실험 전에는 20,854±0,400 g이고, 초음파 적용 실험 후에는 23,529±1,324 g이며 통계학적으로 유의한 차이를 보였다 (p<0.002). 저 용량 지속적 초음파 집단은 초음파 적용 실험 전에는 21,199±1,551 g이고, 초음파 적용 실험 후에는 24,639±2,981 g이며 통계학적으로 유의한 차이를 보였다 (p<0.001). 고 용량 맥동 초음파 집단은 초음파 적용 실험 전에는 20,103±0,400 g이고, 초음파 적용 실험 후에는 22,191±0,954 g이며 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(p<0.002). 저 용량 맥동 초음파 집단은 초음파 적용 실험 전에는 20,417

±0,934 g이고, 초음파 적용 실험 후에는 21,922±2,535 g이며 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(p<0.081). 대조 집단은 초음파 적용 실험 전에는 20,316±0,842 g이고, 초음파 적용 실험 후에는 22,306±1,416 g이며 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(p<0.047, Table 2).

Table 2. weight of mouse

Group	Mean±SD			
	preweight	postweight	t	p
High powered continuous US*	20,854±0,400	23,529±1,324	-5,272	0,002
Low powered continuous US*	21,199±1,551	24,639±2,981	-5,625	0,001
High powered pulsed US*	20,103±0,400	22,191±0,854	-5,291	0,002
Low powered pulsed US*	20,417±0,934	21,922±2,535	-2,177	0,081
Control	20,316±0,842	22,306±1,416	-2,845	0,047

US\* = Ultrasound, Comparison between statistical significance of preweight and postweight

All value are showed mean±SD

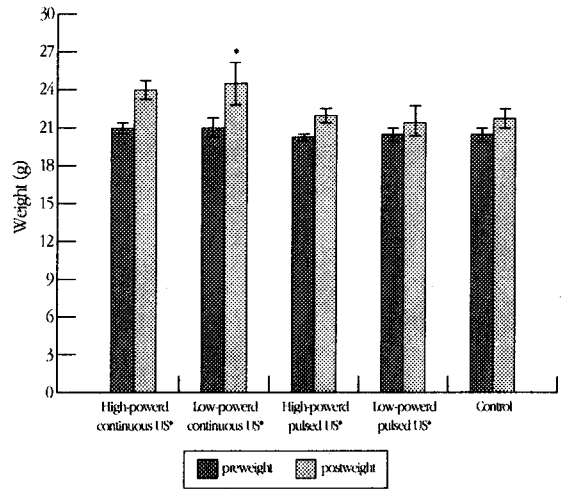


Fig. 1 Weight of mouse

US\* = Ultrasound, Comparison between statistical significance of preweight and postweight All value are showed mean±SD(\*: p<0.05)

## 3. 종양의 크기 변화

오른쪽 대퇴부 피부표면에 주사된 종양의 크기는 실험1일

제, 실험 5일째, 실험 10일째, 그리고 절제 후의 종양의 크기를 기록하였다. 시간이 지나가면서 모든 집단에서 종양의 크기는 증가하는 것을 보였으나, 종양을 절제하고 나서 측정된 종양 크기는 실험 10일째에 측정된 크기와 비슷하였다. Turkey 검정을 한 결과 시간이 지남에 따라 종양의 표면 영역은 대조 집단과 고 용량 지속적 초음파 집단은 유의한 차이가 있었지만( $p(0.005)$ ), 대조 집단과 저 용량 지속적 초음파 집단에서도 유의한 차이가 없었다. 또한 대조 집단과 고 용량 맥동 초음파 집단간에는 없었으며, 대조집단과 저 용량 맥동 초음파 집단간에도 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3).

Table 3. Projected surface area of mouse tumors (mm<sup>2</sup>)

Group	Mean±SD			
	1 day	5 day	10 days	postexcision
High powered continuous US*	44.05±3.94	159.66±5.08*	285.58±7.61*	290.03±6.99*
Low powered continuous US*	45.75±2.53	142.23±8.99	272.34±30.77	271.11±21.33
High powered pulsed US*	44.38±3.96	129.05±14.85	266.51±35.74	260.17±17.60
Low powered pulsed US*	44.32±2.25	125.75±15.24	264.00±23.25	266.16±20.52
Control	44.62±2.44	122.31±12.39	263.26±16.05	262.92±16.35

US\* = Ultrasound, Compared control group with the other groups

All value are showed mean±SD(\*:  $p<0.05$ )

#### 4. 절제한 마우스 종양의 무게

절제한 종양의 무게는 고 용량 지속적 초음파 집단은 2.199±0.295 g, 저 용량 지속적 초음파 집단은 1.900±0.313 g, 고 용량 맥동 초음파 집단은 1.747±0.337 g이고, 저 용량 맥동 초음파 집단은 1.645±0.266 g, 대조 집단은 1.644±0.265 g이었으며, 통계학적으로 유의한 차이를 보였다 ( $p<0.012$ ). Turkey 검정에서는 대조 집단과 고 용량 지속적 초음파 집단간에는 유의한 차이를 보였지만(0.029), 대조 집단과 저 용량 지속적 초음파 집단에서는 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 대조 집단과 고 용량 맥동 초음파 집단간에도 유의한 차이를 보이지 않았으며, 대조 집단과 저 용량 맥동 초음파 집단간에도 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 4).

Table 4. Weight of excised mouse tumors (g)

Group	Mean±SD
	Weight
High powered continuous US*	2.199±0.295*
Low powered continuous US*	1.900±0.313
High powered pulsed US*	1.747±0.337
Low powered pulsed US*	1.645±0.266
Control	1.644±0.265

US\* = Ultrasound, Compared control group with the other groups

All value are showed mean±SD(\*:  $p<0.05$ )

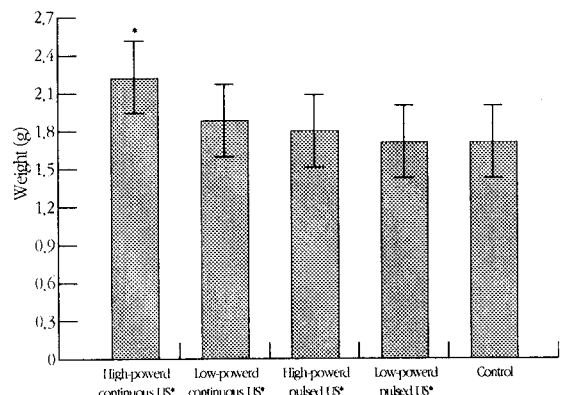


Fig. 2 Weight of excised mouse tumors

US\* = Ultrasound, Compared control group with the other groups

All value are showed mean±SD(\*:  $p<0.05$ )

#### 5. 절제한 마우스 종양의 부피

절제한 마우스 종양의 부피는 Rosenbaum 등(1998)과 Oosterhof GON 등(1996)이 사용한 공식인  $(\pi/6) \times \text{가로} \times \text{세로} \times \text{높이}$ 의 공식으로 계산을 하였다. 종양을 절제한 후에 측정된 종양의 부피는 고 용량 지속적 초음파 집단은 2729.313±97.908 mm<sup>3</sup>이며, 저 용량 지속적 초음파 집단은 2428.002±146.090 mm<sup>3</sup>이며, 고 용량 맥동 초음파 집단은 2381.002±154.250 mm<sup>3</sup>이며, 저 용량 맥동 초음파 집단은 2289.562±112.538 mm<sup>3</sup>이며, 대조 집단은 2297.333±163.030 mm<sup>3</sup>이며, 통계학적으로 유의한 차이를 보였다 ( $p<0.001$ ). Turkey 검정에서는 대조 집단과 고 용량 지속적 초음파 집단에서는 유의한 차이를 보

였지만 ( $p < 0.001$ ), 대조 집단과 저 용량 지속적 초음파 집단에서는 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 대조 집단과 고 용량 맥동 초음파 집단에서도 유의한 차이를 보이지 않았으며, 대조 집단과 저 용량 맥동 초음파 집단에서도 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 6).

Table 5. Volume of excised mouse tumors

Group	Mean $\pm$ SD
	Volume (mm <sup>3</sup> )
High powered continuous US*	3729,313 $\pm$ 97,908*
Low powered continuous US*	2428,002 $\pm$ 146,090
High powered pulsed US*	2381,002 $\pm$ 154,250
Low powered pulsed US*	2289,562 $\pm$ 112,538
Control	2297,333 $\pm$ 163,030

US\* = Ultrasound, Compared control group with the other groups

All value are showed mean  $\pm$  SD(\*: )showed

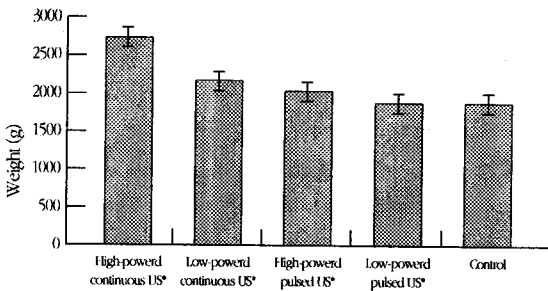


Fig. 3 Weight of excised mouse tumors

US\* = Ultrasound, Compared control group with the other groups

All value are showed mean  $\pm$  SD(\*:  $p < 0.001$ )

## 6. 조직학적 변화

저 용량 맥동 초음파 집단에서는 악성 종양의 특징인 신생 모세혈관이 심하게 증식되어 있는 것이 관찰되었으며(Fig. 5), 조직 부분 부분에 출혈의 소견이 관찰되었다(Fig. 6). 또한 중심부에 괴사가 관찰이 되고, 이 괴사가 가장자리로 진행이 되어가고 있으며, 주변부에 종양 세포가 심하게 증식되어 있는 것이 관찰되었다(Fig. 7). 고 용량 맥동 초음파 집단에서는 바깥쪽은 캡슐로 둘러 싸여 있고, 종양 세포의 중심부는 괴사가 되어 있는 것이 관찰되었다(Fig. 8). 저 용량 지속적 초음파 집

단의 조직에서는 종양 세포의 특징인 규칙적인 판상 배열을 하고 있는 것이 관찰되었으며(Fig. 9), 고 용량 지속적 초음파 집단의 조직에서는 악성 종양의 특징인 신생 모세혈관이 심하게 증식되어 있는 것이 관찰되었다(Fig. 10). 대조 집단에서는 근육 세포들 사이에 종양 세포가 증식되고 있는 것이 관찰되었으며(Fig. 11), 가장 심한 종양 덩어리 부분으로서 종양 세포가 괴사되어 있고 종양 세포의 침윤이 관찰되었다(Fig. 12).

## IV. 고찰

주파수 3 MHz의 초음파를 지속적인 방법과 맥동 방법으로 종양에 적용한 결과 용량이 많고 지속적으로 적용을 하면 맥동 초음파 집단에 비하여 종양의 무게와 부피를 감소시키지 않고 증가시켰으며, 맥동 초음파를 적용함으로써 종양의 무게와 부피가 지속적 초음파를 사용한 것보다 종양의 성장에 더 영향을 주지 않는다는 것을 알 수 있었다.

이러한 결과는 Rosenbaum 등(1995)의 연구에서 CL57BL/6의 쥐에 205 rhabdomyosarcoma 종양 세포를 주사하여 3 MHz의 지속적 초음파의 주파수로 1.0 W/cm<sup>2</sup>의 용량으로 5분 동안 0.5 cm<sup>2</sup>의 초음파 도자를 가지고 직접적으로 종양위에 1일 1회 10회 적용을 하였는데, 대조집단에 비해서 실험집단에서 종양의 무게와 종양 크기가 증가하였다는 보고와 유사하며, 또한 Rosenbaum 등 (1998)의 연구에서는 205 rhabdomyosarcoma를 쥐의 피하에 주사하여서 주파수 3 MHz의 초음파를 이용하여, 1.0 W/cm<sup>2</sup>의 용량으로 실시한 고 용량 지속적 초음파 집단과, 0.75 W/cm<sup>2</sup>의 용량으로 실시한 저 용량 지속적 초음파 집단은 5분 동안 치료를 받았고, 1.5 W/cm<sup>2</sup> 용량으로 실시한 맥동 초음파 집단은 12.5분 동안 치료를 하였으며, 대조 집단은 초음파를 받지 않았다. 이러한 실험 방법으로 실시한 결과, 고 용량 지속적 초음파 집단에서는 종양의 무게와 부피가 증가하는 것을 보였으며, 저 용량 지속적 초음파 집단과 맥동 초음파 집단은 종양 성장에 같은 효과를 나타내었다. 또한 Debus 등 (1991)의 연구에서는 전립선 쥐 종양인 R3327-AT1을 사용하여, 1 Hz 또는 5 Hz의 주파수로 맥동 치료를 받은 집단과 위약 치료를 받은 대조 집단과 비교를 하였을 때 맥동 치료를 한 집단에서 대조집단에 비해서 종양의 증식이 지연되는 것을 보

였다. 그러나 본 실험에서는 맥동 집단과 대조 집단은 유사한 종양의 증식을 보였다. Kramer(1955)는 지속적 초음파, 맥동 초음파, 위약 초음파 치료를 비교한 결과 지속적 온도 상승을 나타내고 맥동은 조직 온도 상승이 없었다. 본 연구에서 초음파의 투여되는 용량을 더 올렸을 경우 종양세포의 증식이 억제될 것이라고 사료된다.

Rosenbaum 등(1998)은 초음파 조사량은 조직 안에 조사되는 전체 에너지 용량과 관련이 있으며, 초음파 조사량을 감소시키는 방법에는 하나는 강도를 줄이는 것이고, 다른 하나는 초음파를 지속적인 방법으로 조사하는 것과 맥동 방법으로 조사하는 것이다. 맥동 초음파 집단의 치료를 위해서는 저 용량 지속적 초음파 집단에서 시행한 것과 같은 초음파 에너지 용량을 조사하여야 한다고 하였다. 이러한 방법은 맥동 형식을 사용할 때 치료의 기간과 강도를 증가시켜야 발생이 되며, 이 두가지 치료의 기간과 강도의 증가가 필요하다고 하였다. 또한, 치료기간을 쥐를 진정시키는 것이 제한되기 때문에 15분 이내로 하고, 강도는 실제 임상에서 사용하는 범위인 2 W/cm<sup>2</sup> 이내로 유지하여야 한다고 하였다. 그리고 이들은 종양의 증식이 온도 상승 보다는 초음파 에너지의 축적에 의한다고 보았으며, 저 용량의 지속적 초음파와 맥동 초음파가 고 용량 지속적 초음파보다 더 유해하지 않으며 종양의 성장과 관계가 적다고 생각을 하였다. 그러나 본 실험에서는 종양 증식이 초음파에 조사되는 강도에 의해서 조직 안에서 발생하는 온도 상승에 의해서라고 생각을 하였으며, 종양 증식이 억제되거나 증식이 적다면 이는 초음파의 열적인 효과에 의해서 발생할 것이라고 생각하였다. 그래서 본 실험은 Rosenbaum 등(1998)이 주장한 실험 방법에 의해서 실험을 실시하였으며, 본 연구를 하기 전에 고찰한 Rosenbaum(1995)의 시험연구에서는, 고 용량 지속적 초음파 집단은 다른 집단들보다 높은 전체 온도 상승과 종양의 증식을 보였다. 이러한 실험결과는 본 실험에서도 고 용량 지속적 초음파 집단에서 다른 집단에 비해서 높은 증식을 보이는 것을 볼 수 있었다. 이는 아마도 여러 연구자들이 보고한 초음파의 열적인 작용과 관련이 있다고 사료된다. 물론 직장 암종 CT-26은 증식이 잘 된다고 하지만 이 직장 암종 CT-26의 증식율만으로 증식이 되고, 초음파의 영향이 없다고 하면 모든 집단에서 거의 똑같은 증식율을 보여야 하지만, 실험의 결과에서 나타내듯이, 서로 다른 증식율을 보이고

있다. 이는 초음파가 종양의 증식에 영향을 주었다고 볼 수 있으며, 이러한 종양의 증식을 열에 의한 혈류의 증가로 인한 것이라 생각 한다.

조직의 가열은 에너지의 흡수에 의해서 발생이 되고 물질의 동시 흡수 효과에 의존한다. 열은 초음파가 적용되는 부위의 전도와 혈액 흐름에 의해서 소실이 되며, Williams(1987)는 1 MHz의 1.0 W/cm<sup>2</sup>의 초음파가 1분에 0.86 정도의 조직온도를 상승시킨다고 하였다. Dyson(1987)은 치료적 초음파의 열 효과는 40~45 사이의 온도에서 발생하고 이는 적어도 5분 정도 유지하여 한다고 하였다. Dyson(1987)과 여러 연구자들은 열에 대한 생리학적 효과에 대해 보고하였는데, 혈류 증가, 교원질 조직의 신장성의 증가, 통증의 감소와 근육 경축의 감소를 언급하였다. Lubbe와 Bergemann(1994)는 악성 종양은 빠르고, 침윤성의 성장을 하는 특징이 있으며, 종양 세포는 빠르게 분화하고, 종양 혈관은 혈관확장제 같은 일반적인 약물학적 작용제에 반응하지 않고, 정상 세포 기능과 복잡한 이차적 메신저 체계를 가진 전체적인 악성 종양 세포의 능력을 일반적으로 감소시킨다고 하였다. 이러한 결과로, 종양 세포들은 화학 요법, 방사선 요법, 열 요법에 정상 세포보다 더 민감하다고 하였다. 이런 이유로, 초음파와 관련한 온도 상승은 특히 악성 종양에 좋지 않다 라고 하였다. 또 그들은 종양 조직온도가 몇 분 안에 44 °C에 도달하면, 열적효과는 초음파를 적용한 부위로부터 이동하는 대류적인 열이 상승되어 이 온도에 반응하는 종양 미세 순환의 장애가 악성 종양에서 두드러진다고 하였다. 이 비 효과적 종양 미세 순환 반응의 결과로, 종양 조직 안에 온도 분포가 균일하지 않고 종양 조직 내 혈액이 균일하지 않은 흐름으로 측정되어지며, 또한 이러한 초음파에 의해 발생한 열은 DNA와 RNA 같은 핵 조직에서 높은 흡수를 하며, 이것으로 인해 종양 세포의 외관상은 순서적으로 성장하지 못하고 침해적인 성장을 한다. 또한 높은 세포 분열율과 적은 분화를 하여 정상 조직 보다 높은 핵 밀도(비중, 농도)를 가지게 된다고 하였다. 이처럼 정상 조직과 종양 조직에서의 열 흡수의 차이를 보이고, 이러한 차이는 정상 조직과 종양 조직의 경계면에서 발생한다고 하였다.

Fidler(1991)은 증식 과정은 연결된 순서적인 단계의 과정이고, 가장 중요한 단계 중의 하나가 종양 세포에서 혈류의 색전이고, Weiss(1990)은 괴사와 출혈 영역의 발달은 세포로 들어

가는 전체 혈류를 증가시킨다고 하였다. Debus 등(1991)과 여러 연구자들은 고 에너지에 노출은 피사를 가진 혈관 체계의 구조적인 것과 기능적인 방해를 만들어 낼 것이라고 하였다. 뚜렷한 종양 세포의 색전은 고 에너지 초음파에 의해서 촉진된다고 하였다. Fidler(1970)는 비록 종양 세포가 혈류 흐름으로 인해서 소실되고, 원래의 종양으로부터 많은 수의 세포가 이완이 될지라도, 종양 세포가 생존하고 증식하는 형태의 기회가 더 클 것이라고 하였다. 또한, Young 과 Hill (1990)은 종양 세포가 급성 저산소증의 기간 후에 재 산소화가 되면 호기성 세포에 비해서 1.5~3배의 증식능력을 가진다고 하였다. 그러므로, 본 실험에서 보였던 것처럼 고 용량 초음파에 노출된 집단에서 종양의 증식이 더 많이 된 것은 아마도 일시적인 급성 저산소증과 종양 세포의 유리에 의해서 종양 세포의 증식이 증가되는 결과를 보였을 것이라도 사료된다.

본 연구는 초음파를 사용하여 선행 연구자인 Rosenbaum 등(1998)의 실험에서 사용한 종양과 다른 종양인 직장 암종(CT-26)에 미치는 영향을 알아보려고 하였으며, 초음파 주파수와 치료 용량 실제 우리가 임상에서 사용되고 있는 초음파의 주파수와 치료 용량을 사용하여서 종양 세포에 대한 물리 치료적인 접근을 시도할 수 있는 의의가 있다고 하였다. 본 실험에서의 제한점은 초음파에 대한 피하 깊이에서의 종양 조직의 온도 상승률을 측정하지 못하였다. 앞으로 이러한 제한점을 개선하여 좀더 객관적인 결과를 얻어서 초음파의 종양 세포에 관한 좀더 나은 연구가 필요하다고 보며, 다른 종양 세포에 대한 연구가 병행하여서 직장 암종과 다른 종양 세포가 초음파에 어떤 결과가 나타나는지를 연구하여야 할 것으로 본다.

## V. 결론

본 연구는 초음파가 직장 암종(CT-26)세포에 미치는 효과를 알아보기 위한 것으로서 2002년 2월 4일부터 2월 13일까지 동신대학교 물리치료학과 실험실에서 직장 암종(CT-26)이 주입된 암컷 BALB/C생쥐 35마리를 사용하여, 종양이 약 5 mm의 직경에 도달한 후, 무작위로 고 용량 지속적 초음파 집단과 저 용량 지속적 초음파 집단, 고 용량 맥동 초음파 집단, 저 용량

맥동 초음파 집단 및 대조 집단으로 구분하여 주파수 3 MHz 초음파 기구를 이용하여 실험을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째, 오른쪽 대퇴부 피부 표면에 주사된 종양의 크기는 시간이 지나면서 모든 집단에서 종양의 크기가 증가하였으나, 고 용량 지속적 초음파 집단이 다른 집단에 비해서 종양의 크기가 유의하게 증가하였다.

둘째, 절제한 종양의 무게는 지속적 초음파 집단에서 다른 집단에 비해서 종양의 무게가 유의하게 증가하였다.

셋째, 절제한 종양의 부피는 고 용량 지속적 초음파 집단이 다른 집단에 비해서 종양의 부피가 유의하게 증가하였다.

본 연구에서 볼 때 초음파의 지속적인 방법과 맥동 방법으로 쥐의 종양에 적용한 결과 용량이 많고 지속적으로 적용을 하면 대조 집단에 비하여 종양의 무게와 부피를 증가시켰으며, 맥동 초음파를 적용함으로써 종양의 무게와 부피가 지속적 초음파를 사용한 것보다 종양의 성장에 더 영향을 주지 않는다는 것을 알 수 있었다.

## 참고문헌

- 김지원, 이국일, 한재문. 초음파치료가 종양세포에 미치는 효과. 한국 전문 물리치료학회지, 4; 11-19, 1997.
- 사망원인통계연보: 통계청, 2000.
- 이재형. 전기치료학. 초음파 치료. 초판. 대학서림, 491-545, 1995.
- 이충휘, 김종만, 황태선. 저강도 초음파치료를의 골절치료 효과. 한국 전문 물리 치료학회지, 5; 34-41, 1998.
- 주영채, 김준미, 김영식 등. 대장 및 직장 암종에서의 proliferating cell nuclear antigen 과 epidermal growth factor receptor의 발현도와 다른 예후인자와의 관계에 대한 연구. 대한 암학회지, 28; 432-442, 1996.
- 한국 중앙암 등록 사업 연례 보고서. 보건복지부, 2002.
- Bataille N, Vallancien G, Chipin D. Antitumoral local effect and metastatic risk of focused extracorporeal pyrotherapy on dunning R-3327 tumors. Eur Urol, 29; 72-77, 1996.
- Draper DO, Castel J, Castel D. Rate of temperature increase in



- human muscle during 1 MHz and 3 MHz continuous ultrasound. *J. Orhtop. Sports Phys. Ther.*, 22(4); 142-150, 1995.
- Dyson M. Mechanisms involved in therapeutic ultrasound. *Physiotherapy*, 73; 116-120, 1987.
- Fidler IJ. Metastasis. Quantitative analysis of distribution and fate of tumour emboli labeled with 125I-5-iodo-2'-deoxyuridine. *J. Natl. Cancer Inst.*, 45; 773-782, 1970.
- Fidler IJ. Cancer metastasis. *Br. Med. Bull.*, 47; 157-178, 1991.
- Jemal A, Thomas A, Murray T, et al. Cancer statistics 2002. *CA Cancer J. Clin.*, 52; 23-47, 2002.
- Kramer JF. Ultrasound. evaluation of its mechanical and thermal effects. *Arch. Phys. Med.*, 65; 223-227, 1955.
- Lehmann JF, DeLateur BJ, Silverman DR. Selective heating effects of ultrasound in humans beings. *Arch. Phys. Med. Rehab.*, 47; 331-339, 1966.
- Lehmann JF, Masock AJ, Warren CG, et al. Effects of therapeutic temperatures on tendon extensibility. *Arch. Phys. Med. Rehab.*, 51; 481-487, 1970.
- Lejbkowitz F, Zviran M, Salzberg S. The response of normal and malignant cells to ultrasound in vitro. *Ultrasound. Med. Biol.*, 19; 75-82, 1993.
- Lubbe AS, Bergemann C: Ultrasound therapy for malignant tumors: A conceptual assessment. *J. Clin Ultrasound*, 22; 113-117, 1994.
- Moore WE, Lopez R, Matthews DE et al: Evaluation of high-intensity therapeutic ultrasound irradiation in the treatment of experimental hepatoma. *J. Pedi Sur.*, 24(1); 30-33, 1989.
- Nyborg WL. Biological effects of ultrasound. Development of safety guidelines. *Ultrasound Med. Biol.*, 26(6); 911-964, 2000.
- Oosterhof GON, Cornel EB, Smits GAHJ, et al. The influence of high-energy shock waves on the development of metastases. *Ultrasound Med. Biol.*, 22(3); 339-344, 1996.
- Pye S, Milford C. The performance of ultrasound therapy machines in Lothian region, 1992. *Ultrasound Med. Biol.*, 20; 347-359, 1994.
- Roebroek ME, Dekker J, Oostendorp, RAB. The use of therapeutic ultrasound in physical therapy: practice patterns in dutch primary health care. *Phys. Ther.*, 78; 470-478, 1998.
- Rosenbaum LS, Lord D, Danoff JV, et al. Effects of continuous therapeutic ultrasound on growth and metastasis of subcutaneous murine tumors. *Phys. Ther.*, 75; 3-13, 1995.
- Rosenbaum LS, Danoff JV, Guthrie JA, et al. Effects of energy-matched pulsed and continuous ultrasound on tumor growth in mice. *Phys. Ther.*, 78; 271-277, 1998.
- Weiss L. Metastatic inefficiency: Causes and consewences. *Adv. Cancer Res.*, 54; 159-211, 1990.
- Williams R. Production and transmission of ultrasound. *Physiotherapy*, 73; 113-116, 1987.
- Young SD, Hill RP. Effects of reoxygenation on cells from hypoxic regions of solid tumors: anticancer drug sensitivity and metastatic potential. *J. Natl. Cancer Inst.*, 82; 371, 1990.