

비인강암에서 방사선치료의 예측인자로써 Ku70 발현의 의의

울산대학교 의과대학 서울아산병원 방사선종양학과*, 병리과[†], 이비인후과[‡], 종양내과[§]

송시열* · 이상욱* · 유은실[†] · 조경자[†] · 박진홍* · 김상윤[‡] · 남순열[‡]
이봉재[‡] · 김성배[§] · 최승호[‡] · 안승도* · 신성수* · 최은경* · 김종훈*

목 적: 방사선치료를 시행 받은 비인강암 환자에서 Ku70과 DNA-PKcs의 발현 정도가 국소제어율과 치료 실패 양상에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법: 1995년 6월부터 2001년 12월까지 서울아산병원에서 방사선치료 단독 또는 동시항암화학-방사선치료를 시행 받은 66명의 원격전이 없는 비인강암 환자를 후향적으로 분석하였다. 진단 시 얻은 조직검사 표본에서 Ku70과 DNA-PKcs의 면역활성도를 분류하였는데, 그 기준은 면역활성도가 50% 이상 Ku (+)과, 50% 미만 Ku (-)이었다. Ku70과 DNA-PKcs의 면역활성도와 방사선치료에 대한 종양의 반응 정도와 재발양상과의 상관관계를 알아보았으며, 비인강암의 국소제어율에 영향을 미치는 예후인자를 알아보기 위하여 단변량분석을 시행하였다.

결 과: Ku (-) 환자에서 Ku (+) 환자보다 높은 5년 국소제어율(85% vs. 42%, p=0.042)을 보였으나, 원격전이율은 두 집단간에 차이를 보이지 않았다(78% vs. 82%, p=0.8672). 단변량분석결과 Ku70의 과발현이 기존에 알려진 비인강암의 예후인자보다 우위에 있음을 알 수 있었다. 국소제어를 보였던 22명의 환자 중 18명의 환자에서 Ku70 (+)으로 관찰되었다. DNA-PKcs의 발현 정도는 방사선치료 결과에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

결 론: Ku70은 원격전이가 없는 비인강암 환자에서 방사선치료 단독 또는 동시항암화학-방사선치료 시행 이후 종양의 반응과 국소제어율을 예측할 수 있는 분자생물학적인 예측인자로 사용될 수 있을 것으로 생각한다.

핵심용어: Ku70, DNA-PKcs, 비인강암, 방사선치료, 동시항암화학-방사선치료

서 론

비인강암은 다른 부위에 발생하는 두경부종양과는 달리 방사선치료에 특히 민감성을 보이는 종양이다. 원격전이가 없는 비인강암의 치료에 있어서 방사선치료가 가장 효과적이고 주된 치료법으로 알려져 있다. 비인강암의 치료 실패 양상을 보면 국소제어가 주된 재발의 원인이다.¹⁻⁴⁾ 따라서 방사선치료에 의한 국소제어율의 향상으로 환자의 생존율 향상을 기대할 수 있다. 하지만 현재까지 방사선치료에 의한 비인강암의 반응유무나 국소제어율을 예측할 수 있는 좋은 방법은 없으며, 단지 임상적으로 방사선치료

기간 중 임상적으로 종양의 크기의 변화를 관찰하여 예측할 수 있다는 보고가 있을 뿐이다.^{5,6)} 최근 들어 방사선치료에 대한 반응성을 예측할 수 있는 생물학적인 지표들이 연구되고 있으며, 이러한 결과에 따라서 환자마다의 개별적인 치료 방침을 결정할 수 있을 것으로 예측되고 있지만 실제임상에서 적용되고 있지는 않다.

Ku와 DNA-PKcs (DNA-PK catalytic subunit)로 구성되어 있는 DNA-의존성 단백질나제(DNA-PK)는 DNA 이중사슬 손상(Double-stranded DNA breakage, DSBs)의 복구에 중요한 역할을 하며,⁷⁻⁹⁾ 이 중 Ku는 70kDa과 86kDa의 아단위(subunit)로 구성된 이종이합(heterodimeric) 단백질로 다발성 근염 환자의 자가항원에서 처음 발견되었다.¹⁰⁾ Ku는 DNA 이중사슬 말단의 염기의 종류에 상관없이 DNA 말단에 결합하는 성질을 가지고 있어서 DNA-PK 복합체 내에서 DNA 이중사슬손상의 복구에 중요한 역할을 할 수 있는 것으로 알려져 있다.¹¹⁻¹⁴⁾ DNA 이중사슬손상의 효과적인 복구에 따른 종양세포의 회복이 방사선치료의 주요한 실패 원인이기 때문에 DNA 이중사슬손상의 복구에 관여하

이 논문은 2005년 2월 11일 접수하여 2005년 3월 6일 채택되었음.
본 연구는 2003년 대한방사선종양학회 추계학술대회에서 구연 발표되었고, 아산생명과학 연구소의 연구비(과제번호: 2005-308) 지원에 의하여 이루어졌음.

책임저자: 이상욱, 울산대학교 의과대학
서울아산병원 방사선종양학과
Tel: 02)3010-4435, Fax: 02)486-7258
E-mail: lsw@amc.seoul.kr, ccrt@korea.com

Table 1. Clinical Findings of 66 Patients with Nasopharyngeal Carcinoma

Characteristics	No. of patients	(%)
Gender		
Male	55	83
Female	11	17
Age (years)		
Median	50	
Range	19~76	
WHO* pathology classification		
I (keratinizing)	3	5
II (non-keratinizing)	32	48
III (undifferentiated)	31	47
AJCC group (5th ed)		
Stage I	2	4
Stage II	22	33
Stage III	18	27
Stage IV	24	36
T stage		
T1	29	44
T2	18	27
T3	4	6
T4	15	23
RT dose (Gy)		
Median	74.4	
Range	70.2~78.4	
Chemotherapy (CCRT [†])	54	82
RT alone	12	18

*WHO: World health organization, [†]CCRT: concurrent chemoradiation therapy

는 물질이 방사선치료 후 종양의 반응 정도와 환자의 예후를 예측할 수 있는 지표로 이용될 수 있을 것이다.

최근 몇몇 연구결과에서 Ku 발현이 방사선치료의 결과에 연관성이 있음이 보고되었으며,^{15~18)} Ku70의 발현이 적을수록 자궁경부암 환자의 생존율이 증가하고,¹⁷⁾ Ku70과 Ku80의 발현이 많을수록 직장암 환자에 있어서 방사선치료에 대한 종양의 반응과 생존율이 감소한다¹⁶⁾는 임상적인 연구결과가 발표되었다. Ku와는 달리 또 다른 DNA-PK의 아단위인 DNA-PKcs는 방사선치료의 예측인자이지만 아직까지 그 역할이 확립되어 있지 않으며, 서로 상반되는 연구결과가 발표되고 있는 실정이다.^{19~22)} 몇몇 면역조직화학(immunohistochemistry) 연구에서 DNA-PKcs 발현정도가 방사선민감도와 관련이 있다고 보고^{20~22)}된 반면, 다른 연구에서는 관련이 없다고 보고되었다.¹⁹⁾ 한편 비인강암 환자에서 Ku 또는 DNA-PKcs의 발현과 방사선민감도와와의 연관성에 대해서는 보고된 바 없다.

본 연구에서는 Ku70과 DNA-PKcs의 발현 정도를 면역조직화학적 방법으로 측정하고 그 발현 정도가 원격전이 없는 비인강암으로 완치목적의 방사선치료 단독 또는 동

시항암화학-방사선치료를 시행 받은 환자의 방사선치료에 대한 반응을 예상할 수 있는 예측인자가 될 수 있는지를 알아보고자 하였으며, Ku70과 DNA-PKcs의 과발현이 있는 경우 더 효과적인 DNA 이중사슬손상 회복을 수행하여 결과적으로 비인강암의 국소제어율을 감소시키는데 영향을 주는지 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자의 특성

1995년 6월부터 2001년 12월까지 서울아산병원에서 완치목적의 방사선치료를 시행 받은 110명의 비인강암 환자를 연구대상으로 후향적 분석을 시행하였다. 이 중 면역조직화학염색을 시행할 수 있는 방사선치료 전 조직을 얻을 수 있었던 환자는 66명이었다. 대상환자의 임상적인 특성은 Table 1과 같다. 66명의 환자 중 남자가 55명이었고 여자가 11명이었으며, 연령분포는 19세에서 76세로 중앙값은 50세였다. 종양의 병기는 AJCC 병기²³⁾의 TNM 분류를 따랐으며, 환자의 치료경과에 대한 내용은 개별환자의 의무기록을 참고하였다. 추적관찰기간은 6개월에서 91개월로 중앙값은 31개월이었다. 방사선치료는 외부방사선치료와 iridium 192 선원을 이용한 원격조정시스템(Gamm-Med II)을 통하여 고선량률 강내방사선치료를 통하여 총 74.4 Gy의 방사선을 조사하였다. 외부방사선치료는 4MV 또는 6MV의 광자선을 이용하여 좌우대칭대향조사와 전방일문조사로 치료하였으며, 하루 1.8~2.0 Gy를 주 5회 원발종양과 전이된 림프절에 대하여 총 60 Gy까지 조사하였고, 모든 환자에 대하여 선택적 경부림프절조사는 50 Gy까지 시행하였다. 강내방사선치료는 외부방사선치료 이후 15 Gy의 방사선을 점막 하 1 cm의 깊이에 3회 분할 조사하였다. 66명의 환자 중 25명의 환자는 강내방사선치료 없이 3차원 방사선치료를 이용한 외부방사선치료만으로 원발종양부위를 기준으로 70.2 Gy의 방사선을 조사 받았으며, 55명의 환자에서 동시 방사선항암화학-방사선치료가 시행되었다. 항암치료는 cisplatin 20 mg/m²을 수액 500 ml에 희석하여 1시간 동안 정맥을 통하여 점적 주사하고, cisplatin 투여 전 1시간 동안 1000 ml의 수액을 투여하였으며, 방사선치료기간 동안 1주일에 1회 시행하여 총 7회 내지 8회의 항암치료를 시행하였다. 치료 종료 이후 모든 환자는 3개월마다 외래를 통하여 관찰하였고, 방사선치료 종료 이후 1개월이 되는 시점에서 방사선치료에 대한 종양의 반응정도를 평가하였으며, 그 방법으로는 임상적인 관찰, 전산화단층촬영술(computed tomography, CT) 또는 자기공명촬영술(mag-

netic resonance imaging, MRI)과 필요한 경우 조직검사를 시행하여 판단하였다.

2. 면역조직화학염색(Immunohistochemical staining)

66명의 환자에서 방사선치료 시행 전의 종양조직을 면역조직화학적 방법을 통하여 분석하였다. Ku70의 발현은 포르말린 고정 후 파라핀 처리된 조직에서 검사하였으며, 모든 조직은 검사 전 극초단파 노출(microwave exposure) 또는 고압열처리(high-pressure heat treatment)를 이용한 고온항원복구기법(high-temperature retrieval technique)으로 선처

치 하였다. 조직은 4~6µm의 두께로 절단한 후 Poly-L-lysine이 칠해진 유리슬라이드에 올려져 항원복구를 위해 5분 동안 끓는 citrate buffer (pH 6.0)에 2회 처리하였다. 이후 조직절편을 Ku70의 단일클론항체(Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) 또는 DNA-PKcs의 단일클론항체(Sigma, MO, USA)와 함께 1시간 동안 배양(incubation)하였다. Ku70 또는 DNA-PKcs의 탐색을 위하여 peroxidase conjugate와 함께 streptavidin-biotin 복합체 방법을 이용하였으며, 대립염색(counter-staining)을 위하여 Meyer's hematoxylin 용액을 사용하였다. 조직표본 중 50% 이상의 종양세포가 Ku70 또는 DNA-PKcs에 면역양성을 보이는 경우 과발현 집단으로 분류하였으며 각각 Ku70 (+), DNA-PKcs (+)로 표시하였고, 50% 미만의 종양세포가 면역양성을 보이는 경

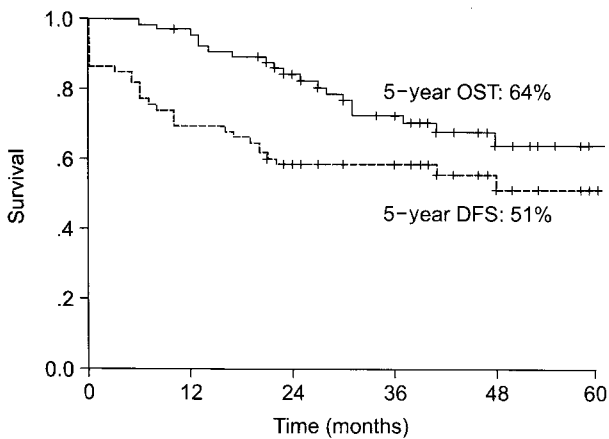


Fig. 1. Five-year disease-free and overall survival function of patients with nasopharyngeal carcinoma (n=66).

Table 2. Treatment Response according to Immunohistochemical Staining Results for Ku70 and DNA-PKcs in Nasopharyngeal Carcinoma

	Complete response (%)	Partial response (%)	Total	p value*
Ku70 (+)	29 (76)	9 (24)	38	0.025
Ku70 (-)	27 (96)	1 (4)	28	
DNA-PKcs (+)	38 (83)	8 (17)	46	0.442
DNA-PKcs (-)	18 (90)	2 (10)	20	

*Fisher's exact test

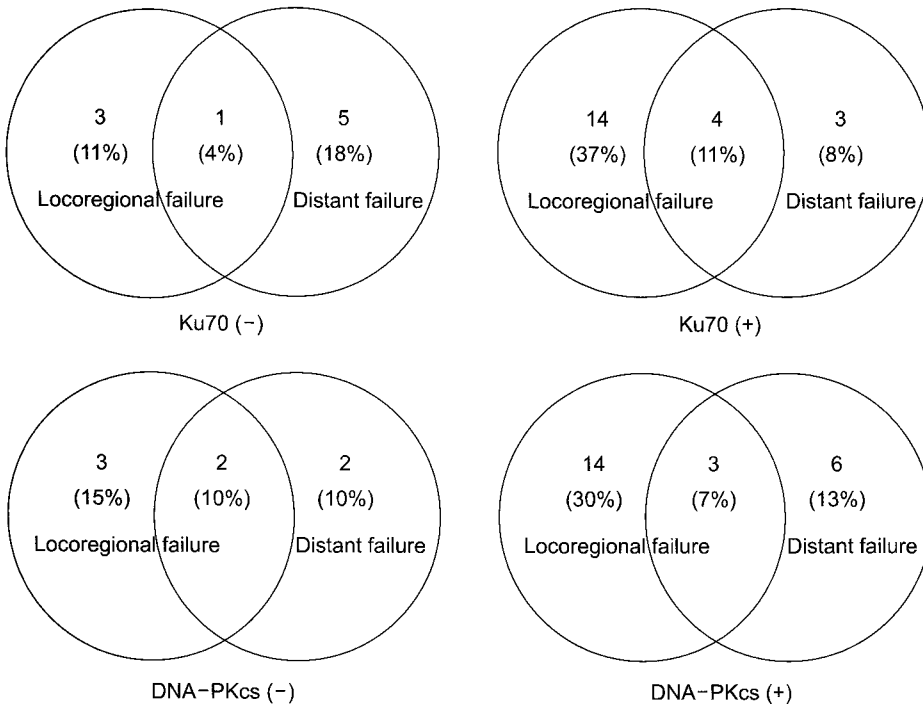


Fig. 2. Correlations between patterns of treatment failure and the expression levels of Ku70 (upper) or DNA-PKcs (lower).

우 Ku70 (-), DNA-PKcs (-)로 표시하였다. Ku70과 DNA-PKcs의 발현을 50% 기준으로 분류한 이유는 일차적으로 편의상 임의로 정한 값이다.

3. 연구방법과 통계분석

본 연구에서 DNA-PK 발현이 종양에 어떠한 영향을 주는지 알아보기 위하여 완전반응률과 국소제어율을 비교하였다. 국소제어율과 무질병생존율은 Kaplan-Meier 방법으로 구하였고, 국소제어율에 영향을 미치는 인자는 log-rank 방법을 이용하여 구하였다. 단변량분석(univariate analysis)을 시행하여 생존율에 영향을 미치는 예후인자를 알아보고, 통계적 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다. 환자특성 분포

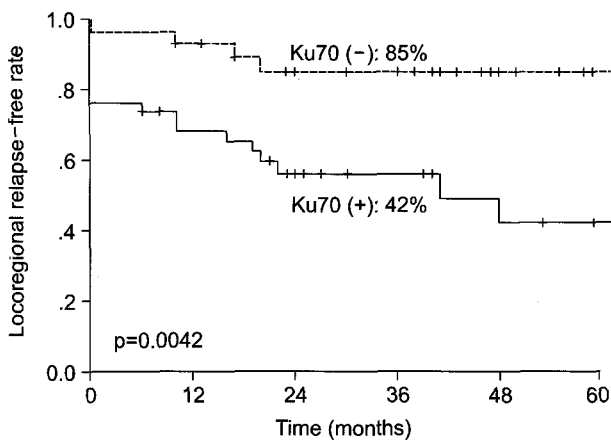


Fig. 3. Locoregional control functions (Kaplan-Meier estimated survival curves) in patients with nasopharyngeal carcinomas with high (solid line) and low (broken line) levels of Ku70 expression.

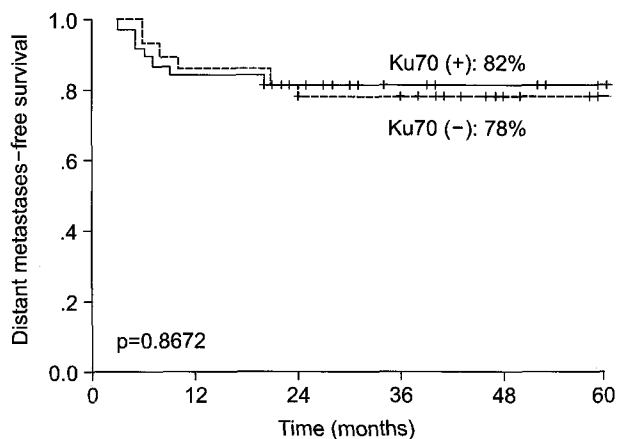


Fig. 4. Survival times without distant metastases in patients with nasopharyngeal carcinomas with high (solid line) and low (broken line) levels of Ku70 expression.

의 차이는 Fisher's exact test를 이용하여 분석하였다.

결 과

1. 임상적 결과

66명의 환자 중 56예(84.8%)에서 방사선치료 이후 완전 반응을 얻을 수 있었다. 5년 전체생존율 및 무질병생존율은 각각 64%, 51%이었다(Fig. 1). 치료 실패 양상은 국소재발이 22예(33%), 원격전이가 13예(20%) 발견되었다. 원격전이는 폐 2예, 간 3예, 뼈 3예가 관찰되었다.

2. 면역조직화학염색결과: Ku70, DNA-PKcs

원격전이가 없는 비인강암 환자 66명 중에서 Ku70 과발현을 보인 환자는 38예(58%)였으며, DNA-PKcs 과발현을 보인 환자는 46예(70%)였다. Ku70 또는 DNA-PKcs의 발현 정도와 환자의 나이, 성별, T-병기, N-병기, 병리조직 유형 간에는 특별한 상관성을 보이지 않았다.

3. Ku70, DNA-PKcs의 발현과 임상적 결과의 상관성

Ku70의 발현 정도와 종양의 부분반응률 사이에는 통계적으로 의미 있는 상관관계를 보였으나($p=0.025$; Fisher's exact test), DNA-PKcs는 부분반응률 뿐만 아니라 완전반응률과도 통계적인 상관성을 보이지 않았다($p=0.442$; Fisher's exact test)(Table 2). Ku70 (-)군에서는 28명 중 4예(14%)에서 국소재발을 보였고, Ku70 (+)군에서는 38명 중 18예(47%)에서 국소재발이 관찰되었다(Fig. 2). 두 군의 국소재발률(Fig. 3)은 통계적으로 의미 있는 차이를 보였으나($p=0.0042$; log-rank test), 원격전이 발생(Fig. 4)은 차이를 보이

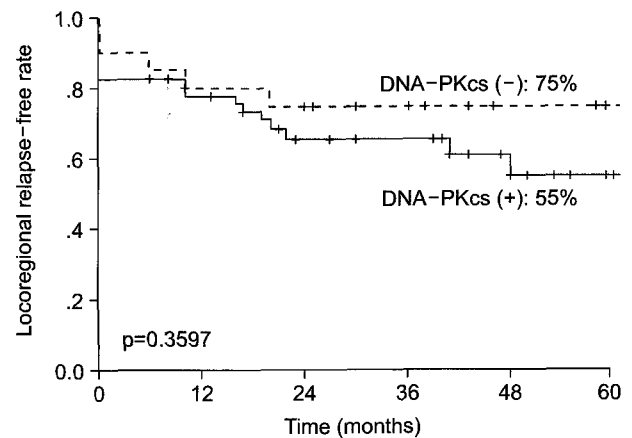


Fig. 5. Locoregional control functions (Kaplan-Meier estimated survival curves) in patients with nasopharyngeal carcinomas with high (solid line) and low (broken line) levels of DNA-PKcs expression.

지 않았다. DNA-PKcs에 따른 국소재발률(Fig. 5)은 두 군간에 차이를 보이지 않았다. Ku70 (+)군에 비하여 Ku70 (-)군에서 무질병생존율이 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았으며($p=0.064$; log-rank test)(Fig. 6), DNA-PKcs 발현 정도에 따른 두 군간에는 무병생존율에 있어서 전혀 차이를 보이지 않았다($p=0.3597$; log-rank test)(Fig. 7). Ku70 과발현은 단변량분석에서 국소 제어율의 예측인자로 나타났다(Table 3).

고안 및 결론

원격전이 없는 비인강암은 두경부암 중에서도 방사선치료를 통하여 높은 완치율을 기대할 수 있는 종양이다.^{24,25)} 방사선치료 후 종양의 반응 정도와 국소제어율을 예측할

수 있는 생물학적인 지표를 알아내는 것은 치료방침의 결정에 매우 중요하다. 따라서 본 연구는 방사선치료에 의한 종양의 반응에 영향을 미치는 DNA 이중사슬손상의 회복에 깊이 관여하는 DNA-PK를 구성하는 Ku70과 DNA-PKcs의 발현 정도를 알아보기 위하여 환자의 조직에서 두 물질의 면역활성도를 조사해 보았다. 만약 Ku70 또는 DNA-PKcs가 임상에서 실제 방사선치료 이후 종양의 반응에 대한 예측인자로 이용 가능하다면, 치료 전 면역활성도 검사 결과에 따라 환자마다 개별적으로 적절한 치료 방법-수술, 동시항암화학방사선치료, 또는 변형분할조사방식의 방사선치료 등을 결정하는 데 있어서 도움을 줄 수 있을 것이다.

Ku70과 DNA-PKcs의 발현을 찾는 과정으로는 RT-PCR과 in situ hybridization 등 여러 가지 방법이 알려져 있으나,^{18,26)} 본 연구에서는 파라핀으로 채워진 종양 조직을 시료로 하여 면역조직화학적 염색 방법을 채택하였으며, 이 방법은

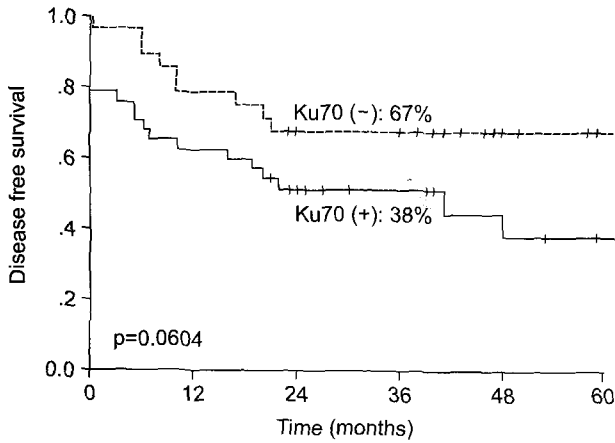


Fig. 6. Disease-free survival functions for patients with nasopharyngeal carcinomas with high (solid line) and low (broken line) levels of Ku70 expression.

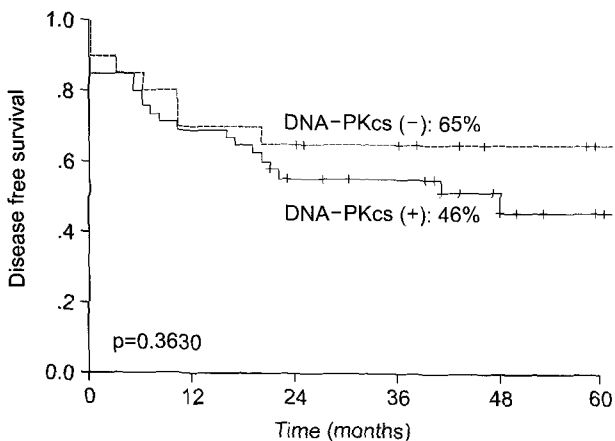


Fig. 7. Disease-free survival functions for patients with nasopharyngeal carcinomas with high (solid line) and low (broken line) levels of DNA-PKcs expression.

Table 3. Analysis of Prognostic Factors of Locoregional Relapse Free Rate

Characteristics	No. of patients	Locoregional relapse free rate	p-value
Gender			0.5422
Male	55 (83)	61	
Female	11 (17)	55	
Age (years)			0.3791
<50	34 (51)	51	
>50	32 (49)	71	
WHO classification			0.2811
1 (keratinizing)	3 (5)	100	
2 (non-keratinizing)	31 (47)	52	
3 (undifferentiated)	33 (48)	73	
Stage			0.5391
I	2 (3)	100	
II	22 (33)	72	
III	18 (27)	54	
IV	24 (36)	52	
T category			0.0800
T1	29 (44)	74	
T2	18 (27)	48	
T3	4 (6)	50	
T4	15 (23)	43	
RT dose (Gy)			0.7968
<75	49 (74)	63	
>75	17 (25)	54	
Chemotherapy			0.9852
CCRT	54 (82)	59	
RT alone	12 (18)	67	
Ku expression			0.0042
Ku 70 low	28 (42)	85	
Ku 70 high	38 (58)	42	
DNA-PKcs expression			0.3597
DNA-PKcs low	20 (30)	75	
DNA-PKcs high	46 (70)	55	

임상에서 실제 적용하기에 매우 효과적이고 유용하다. 일반적으로 비인강암의 확진을 위한 조직은 매우 작은 크기의 종양조직의 일부만을 얻을 수 있기 때문에 세포배양을 통한 확인은 용이하지 않다. RT-PCR (Real Time-Polymerase Chain Reaction) 방법을 이용하여 Ku 또는 DNA-PKcs의 mRNA를 측정할 수 있으나, 보고에 의하면 Ku80의 결과와 국소제어율의 상관성을 보여주지 못했다.^{18,26)} In situ hybridization 방법은 악성흑색종에서 파라핀에 채워진 종양 조직에 대한 면역조직화학검사 방법의 결과와 일치하는 결과를 얻을 수 있다는 보고가 있었으나,²⁶⁾ 이 방법은 실험적으로 수행하기가 쉽지 않고 경제적으로 많은 비용이 드는 검사로써 실제 임상에서 수행하기에는 적절하지 않은 것으로 생각되었다.

본 연구는 비인강암에 대한 Ku70과 DNA-PKcs의 면역활성도에 대한 연구로는 처음 발표되는 것이며, 단변량분석에서 보듯이 Ku70 과발현이 방사선치료에 대한 종양의 반응 저하와 이에 따른 국소재발의 위험성 증가와 밀접하게 관련되어 있음을 알 수 있었다. 다른 장기의 악성종양에서도 동일한 결과들이 보고되었다.^{16,17,22)} 식도암에서 Ku70과 DNA-PK의 활성도에 따른 방사선민감도의 변화에 대한 보고가 있었으며,²²⁾ 자궁경부암에서 Ku70의 저발현이 방사선민감도의 향상과 관련이 있고,¹⁷⁾ Ku80의 저발현이 방사선치료의 효과를 증진시켜 주는 것으로 보고되었다.¹⁸⁾ 하지만 두경부종양에서는 이러한 결과들이 관찰되지 않았다.²⁷⁾ 기존의 결과들을 고려해 볼 때, Ku 발현양상은 비인강암에서도 충분히 방사선치료의 예측인자로 이용될 수 있을 것으로 고려되었으며, 본 연구에서는 비인강암에서 방사선치료 시행 이후 국소제어율을 예측할 수 있는 인자로서 Ku70이 이용될 수 있음을 입증하였다. 이러한 결과는 현재까지는 발표된 적이 없으며, 특히 비인강암에서 파라핀으로 채워진 종양조직으로 면역화학염색을 시도한 첫 시도라고 할 수 있을 것이다.

결과에서 보듯이 Ku70과는 달리 DNA-PKcs의 면역활성도는 종양의 국소제어율이나 원격전이, 무병생존율에도 영향을 미치지 못함을 알 수 있었다. 아직까지 비인강암에서 DNA-PKcs의 예측인자로서의 유용성은 확립되지 않은 상태이며 서로 상반되는 결과가 발표되고 있다.^{15,19)} Kasten 등¹⁹⁾은 DNA-PKcs의 활성도와 방사선민감도는 상관관계가 없다고 보고하였으나, Friesland 등¹⁵⁾은 이와는 반대로 DNA-PKcs의 과발현을 보이는 환자들의 생존율이 그렇지 않은 환자들에 비해서 우월하다고 주장하였다. van Heemst 등²⁸⁾은 DNA-PKcs보다는 오히려 Ku80과 XRCC4가 DNA 이중사슬손상의 회복 과정에 더 깊게 관여한다고 보고하

였다. 따라서 향후 DNA-PKcs에 대한 더 깊은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 Ku70의 저발현이 방사선치료에 대한 종양의 반응성 증가와 이에 따른 국소제어율의 향상과 관련이 있었다. 하지만 Ku70 (-)군에서 국소제어율의 향상이 무병생존율이나 생존율의 차이를 이끌어 내지는 못했다. 향후 추적관찰기간이 길어지고 또한 분석대상 환자수가 늘어난다면 국소제어율의 향상에 따른 무병생존율의 향상도 가능할 것으로 기대된다. 본 연구에서 Ku70 (+)의 환자군의 비인강암 종양세포가 방사선저항성을 보이는 것은 기본적으로 Ku 단백질이 DNA 손상의 회복기전에 깊이 관여하기 때문으로 생각되었다. 단변량분석에서 질병의 병기, 성별, 병리조직유형, 환자의 나이 등은 종양의 국소제어율에는 영향을 미치지 않았다.

일반적으로 종양의 병기는 국소제어율과 생존율에 영향을 미치는 중요한 예후인자이지만,^{3,29~32)} 본 연구에서는 Ku70의 발현과 병기, 병리조직유형, 환자의 나이, 성별간에는 특별한 상관성을 찾지 못했다. 결과적으로 Ku70의 발현 정도가 비인강암의 병기, 종양크기 등의 기준에 잘 알려진 방사선치료의 예후인자와 더불어 새로운 예후인자로 가능성이 있음을 알 수 있었다.

결론적으로 Ku70의 면역활성도는 비인강암에 대한 방사선치료 단독 또는 동시항암화학-방사선치료 이후 종양의 반응 정도와 국소제어율을 예측하는 강력한 분자생물학적 지표로 이용될 수 있을 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Sham JS, Choy D. Prognostic factors of nasopharyngeal carcinoma: a review of 759 patients. *Br J Radiol* 1990;63:51-58
2. Lee AW, Law SC, Foo W, et al. Nasopharyngeal carcinoma: local control by megavoltage irradiation. *Br J Radiol* 1993;66:528-536
3. Lee AW, Poon YF, Foo W, et al. Retrospective analysis of 5037 patients with nasopharyngeal carcinoma treated during 1976-1985: overall survival and patterns of failure. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992;23:261-270
4. Yu KH TP, Lee WY, Leung SF, Choi PH, Johnson PJ. Patterns of early treatment failure in non-metastatic nasopharyngeal carcinoma: a study based on CT scanning. *Clin Oncol* 1994;6:167-171
5. Jaulerry C, Dubray B, Brunin F, et al. Prognostic value of tumor regression during radiotherapy for head and neck cancer: a prospective study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;33:271-279
6. Kwong DL, Nicholls J, Wei WI, et al. The time course of histologic remission after treatment of patients with naso-

- pharyngeal carcinoma. *Cancer* 1999;85:1446-1453
7. **Anderson CW.** DNA damage and the DNA-activated protein kinase. *Trends Biochem Sci* 1993;18:433-437
 8. **Featherstone C, Jackson SP.** Ku, a DNA repair protein with multiple cellular functions? *Mutat Res* 1999;434:3-15
 9. **Jin S, Kharbanda S, Mayer B, et al.** Binding of Ku and c-Abl at the kinase homology region of DNA-dependent protein kinase catalytic subunit. *J Biol Chem* 1997;272:24763-24766
 10. **Mimori T, Akizuki M, Yamagata H, et al.** Characterization of a high molecular weight acidic nuclear protein recognized by autoantibodies in sera from patients with polymyositis-scleroderma overlap. *J Clin Invest* 1981;68:611-620
 11. **Jeggo PA.** DNA-PK: at the cross-roads of biochemistry and genetics. *Mutat Res* 1997;384:1-14
 12. **Lieber MR, Grawunder U, Wu X, et al.** Tying loose ends: roles of Ku and DNA-dependent protein kinase in the repair of double-strand breaks. *Curr Opin Genet Dev* 1997;7:99-104
 13. **Lustig AJ.** The Kudos of non-homologous end-joining. *Nat Genet* 1999;23:130-131
 14. **Muller C, Calsou P, Frit P, et al.** Regulation of the DNA-dependent protein kinase (DNA-PK) activity in eukaryotic cells. *Biochimie* 1999;81:117-125
 15. **Friesland S, Kanter-Lewensohn L, Tell R, et al.** Expression of Ku86 confers favorable outcome of tonsillar carcinoma treated with radiotherapy. *Head Neck* 2003;25:313-321
 16. **Komuro Y, Watanabe T, Hosoi Y, et al.** The expression pattern of Ku correlates with tumor radiosensitivity and disease free survival in patients with rectal carcinoma. *Cancer* 2002;95:1199-1205
 17. **Wilson CR, Davidson SE, Margison GP, et al.** Expression of Ku70 correlates with survival in carcinoma of the cervix. *Br J Cancer* 2000;83:1702-1706
 18. **Yoko H SS, Yoshitaka M, Kiyonori K, et al.** Expression of Ku80 in Cervical Cancer Correlates With Response to Radiotherapy and Survival. *Am J Clin Oncol* 2003;26:e80-e85
 19. **Kasten U, Plottner N, Johansen J, et al.** Ku70/80 gene expression and DNA-dependent protein kinase (DNA-PK) activity do not correlate with double-strand break (dsb) repair capacity and cellular radiosensitivity in normal human fibroblasts. *Br J Cancer* 1999;79:1037-1041
 20. **Polischouk AG, Cedervall B, Ljungquist S, et al.** DNA double-strand break repair, DNA-PK, and DNA ligases in two human squamous carcinoma cell lines with different radiosensitivity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;43:191-198
 21. **Sirzen F, Nilsson A, Zhivotovsky B, et al.** DNA-dependent protein kinase content and activity in lung carcinoma cell lines: correlation with intrinsic radiosensitivity. *Eur J Cancer* 1999;35:111-116
 22. **Zhao HJ, Hosoi Y, Miyachi H, et al.** DNA-dependent protein kinase activity correlates with Ku70 expression and radiation sensitivity in esophageal cancer cell lines. *Clin Cancer Res* 2000;6:1073-1078
 23. **Greene FL PD, Fleming ID, Fritz AG, Balch CM, Haller DG, Morrow M.** *AJCC cancer staging manual*. 6th ed. Chicago: Springer; 1997
 24. **Lim JH, Kim GE, Keum KC, et al.** Parotid Gland Sparing Radiotherapy Technique Using 3-D Conformal Radiotherapy for Nasopharyngeal Carcinoma. *Korean Soc Ther Radiol* 2000;18:1-10
 25. **Kim GE.** Does the Addition of Adjuvant Chemotherapy to Concurrent Chemoradiotherapy Improve the Survival of Patients with Locally Advanced Nasopharyngeal Cancer? *Cancer Res Treat* 2003;35:369-372
 26. **Korabiowska M, Bauer H, Quentin T, et al.** Application of new in situ hybridization probes for Ku70 and Ku80 in tissue microarrays of paraffin-embedded malignant melanomas: correlation with immunohistochemical analysis. *Hum Pathol* 2004;35:210-216
 27. **Bjork-Eriksson T, West C, Nilsson A, et al.** The immunohistochemical expression of DNA-PKCS and Ku (p70/p80) in head and neck cancers: relationships with radiosensitivity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;45:1005-1010
 28. **van Heemst D, Bruggmans L, Verkaik NS, et al.** End-joining of blunt DNA double-strand breaks in mammalian fibroblasts is precise and requires DNA-PK and XRCC4. *DNA Repair (Amst)* 2004;3:43-50
 29. **Cooper JS, del Rowe J, Newall J.** Regional Stage IV carcinoma of the nasopharynx treated by aggressive radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1983;9:1737-1745
 30. **Flores AD, Dickson RI, Riding K, et al.** Cancer of the nasopharynx in British Columbia. *Am J Clin Oncol* 1986;9:281-291
 31. **Grandi C, Boracchi P, Mezzanotte G, et al.** Analysis of prognostic factors and proposal of a new classification for nasopharyngeal cancer. *Head Neck* 1990;12:31-40
 32. **Perez CA, Devineni VR, Marcial-Vega V, et al.** Carcinoma of the nasopharynx: factors affecting prognosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992;23:271-280

Abstract

The Significance of Ku70 Expression in Patients with Nasopharyngeal Carcinoma

Si Yeol Song, M.D.*, Sang-wook Lee, M.D.*, Eunsil Yu, M.D.[†], Kyung-Ja Cho, M.D.[†], Jin-hong Park, M.D.*, Sang Yoon Kim, M.D.[†], Soon Yuhl Nam, M.D.[‡], Bong-Jae Lee, M.D.[†], Sung Bae Kim, M.D.[§], Seung-Ho Choi, M.D.[†], Seung Do Ahn, M.D.*, Seong Soo Shin, M.D.*, Eun Kyung Choi, M.D.* and Jong Hoon Kim, M.D.*

Departments of *Radiation Oncology, [†]Pathology, [‡]Otorhinolaryngology, [§]Medicla Oncology University of Ulsan College of Medicine, Asan Medical Center, Seoul, Korea

Purpose: The objective of this study was to determine whether the expressions of the two components of DNA-dependent protein kinase, Ku70 and DNA-PKcs, influence the response to radiotherapy (RT) and outcome of treatment of non-disseminated nasopharyngeal carcinoma (NPC) in patients who received definitive RT.

Materials and Methods: Sixty-six patients with NPC who were treated with radiotherapy alone or with concurrent chemotherapy between June 1995 and December 2001 were divided into groups based on the levels of immunoreactivity for Ku70 and DNA-PKcs in pretreatment biopsy specimens. The over-expression of Ku70 or DNA-PKcs groups included patients whose biopsy specimens showed at least 50% immunopositive tumor cells; patients in which less than 50% of the tumor cells in the biopsy tissues were immunopositive were placed in the low Ku70 and DNA-PKcs groups. The immunoreactivities for Ku70 and DNA-PKcs were retrospectively compared with the sensitivity of the tumor to radiation and the patterns of therapy failure. Univariate analyses were performed to determine the prognostic factors that influenced locoregional control of NPC.

Results: The five-year locoregional control rate was significantly higher in the low Ku70 group (Ku(-)) (85%) than in the high Ku70 group (Ku(+)) (42%) ($p=0.0042$). However, there were no differences in the metastases-free survival rates between the two groups (Ku70 (+), 82%; Ku70 (-), 78%; $p=0.8672$). Univariate analysis indicated that the over-expression of Ku70 surpassed other well-known predictive clinicopathologic parameters as an independent prognostic factor for locoregional control. Eighteen of 22 patients who had locoregional recurrences of the tumor displayed an over-expression of Ku70. No significant association was found between the level of DNA-PKcs expression and the clinical outcome.

Conclusion: Our data suggest that the level of Ku70 expression can be used as a molecular marker to predict the response to RT and the locoregional control after RT and concurrent chemotherapy in patients with non-disseminated NPC.

Key Words: Chemotherapy, DNA-PKcs, Immunohistochemistry, Nasopharyngeal carcinoma, Radiotherapy, Ku70