21

NIS 를 이용한 방사성핵종 치료시 p53 유전자 이입에 따른 암세포 독성능 증가

서울대학교 의과대학 핵의학교실

이용진 *, 정준기, 강주현, 김광일, 김윤희, 정재민, 이동수, 이명철

목적: 대부분의 종양 세포에서는 p53 단백질의 돌연변이 때문에 방사성 핵종 치료시 방사선에 대한 감수성이 낮은 것으로 보고 되어진다. 이 연구에서는 정상 p53 유전자치료를 도입하여 NIS 유전자를 통한 방사성 핵종 치료시 세포 독성능이 증가 되는지를 분석하였다. **방법:** 사람 암 세포주(ARO, SK-Hep1)에 NIS 유전자를 이입 후(ARO-N, SK-Hep1-N), 각 세포주의 I-125의 섭취능을 측정하였다. 방사성 동위원소 I-125와 Re-188에 의한 세포 독성을 clonogenic assay를 통하여 측정하였다. 또한, ARO-N 세포에 아데노바이러스를 이용하여 정상 p53 유전자를 이입 후 clonogenic assay를 통하여 세포 독성능을 측정 하였다. 또한 ARO와 ARO-N 종양세포가 이식된 마우스에 아데노바이러스를 이용하여 p53 유전자를 이입 한 후, 각 마우스의 복강에 Re-188을 3 또는 5 mCi를 각각 투여하고 종괴의 크기를 측정하였다. **결과:** 사람 암 세포주에 NIS 유전자 이입으로 ARO-N와 SK-Hep-N의 I-125의 섭취는 각각 109배와 150배로 높아졌다. SK-Hep1-N에서는 Re-188을 처리 시에 대조군에 비해서 세포 생존율이 71.15%가 억제 되었고 I-131 조사 시에는 53.67%가 억제 되었다. 그러나 ARO-N의 경우에 방사선 조사 시 세포 생존율에는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 그러나 ARO-N 세포에 정상 p53 유전자를 이입 후 Re-188과 I-131로 조사 시에는 대조군에 비하여 각각 32.6% 와 48.8%의 생존율이 감소되었다. ARO와 ARO-N 종양 세포를 이식한 마우스에서 정상 p53 유전자를 아데노바이러스로 이입 한 후 Re-188 (3, 5 mCi)을 복강내 투여 시, 5 mCi Re-188을 투여한 ARO-N의 종괴는 4주 후에 종괴의 크기가 20%로 감소되었다. 그러나 Re-188을 투여하지 않은 군에서는 최초 크기에서 약 3 배가량 증가되었다. **결론:** NIS 유전자 이입 후 방사성 핵종을 이용한 종양 치료 시, 정상 p53 유전자를 이용하여 세포에 대한 방사선 감수성을 증대시킴으로서 방사성 핵종에 의한 종양 치료능이 증가 하였다. 따라서 NIS 유전자와 정상 p53 유전자를 이용하면 방사성 핵종 치료에 유용하게 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

22

종양의 유전자치료와 이의 효과를 영상화할 수 있는 이중 목적 유전자의 도입

서울대학교 의과대학 핵의학교실

정우석 *, 정준기, 강주현, 이용진, 김광일, 정재민, 이명철, 이동수

목적: 생체내로의 유전자 치료가 빈번히 시도되고 있으므로 유전자 치료의 효과를 비침습적인 방법으로 정량적으로 평가하는 방법이 요구되고 있다. 이번 연구에서는 Sodium/iodide symporter(NIS) 유전자와 Herpes simplex virus type 1 thymidine kinase(HSV-TK) 유전자를 동시에 종양세포에 이입하여 HSV-TK와 GCV로 종양에 대한 화학적치료와 NIS를 통한 방사성핵종치료를 동시에 수행하고 이들 두 유전자를 영상리포터 유전자로 사용하여 치료효과를 영상으로 얻고자 한다. **방법:** NIS와 HSV-TK 유전자를 동시에 발현시키기 위하여 pIRES (Clontech co.)벡터를 사용하여 Xho?/Mlu? 부위에 hNIS유전자를 클로닝하고, Xba?/Not? 부위에 HSV-TK 유전자를 각각 클로닝하였다 (pIRES-NT). pIRES-NT 재조합 플라스미드를 리포좀을 이용하여 사람의 암 세포주(ARO: 미분화성 갑상선 암세포, SK-Hep?: 간암 세포)에 각각 형질전환한 후, G-418로 2주간 안정적 발현 세포주를 선별하였다(ARO-pIRES-NT, SK-Hep?-pIRES-NT). NIS의 발현은 I-125의 세포내 섭취를 감마카운터를 이용하여 측정하였고, HSV-TK의 발현은 3H-GCV의 섭취를 베타카운터로 측정하였다. 그리고 RT-PCR을 이용하여 NIS와 HSV-TK의 발현을 확인하였다. **결과:** pIRES-NT를 ARO에 유전자이입 함으로써 I-125의 섭취는 ARO에 비해서 약 12배 증가하였으며, SK-Hep?의 경우에는 I-125의 섭취가 약 8배 증가하였다. 또한 이들 발현 세포주에 NIS의 경쟁적 저해제인 KClO4의 처리로 완벽히 NIS활성을 저해할 수 있었다. RT-PCR로 NIS와 HSV-TK 유전자가 발현되고 있음을 확인하였다. 그리고 발현 세포주에 GCV를 농도별로 처리하여 HSV-TK에 의한 각 종양세포의 치료효과를 시험관내에서 I-125의 섭취로 확인할 수 있었다. **결론:** 본 연구를 통하여 HSV-TK에 의한 종양치료효과를 NIS 영상리포터 유전자를 이용하여 확인할 수 있었으며, 앞으로 생체내에서의 HSV-TK에 의한 종양 치료효과를 감마카메라 영상으로 평가할 수 있을것으로 생각한다.