

저산소세포 치사제 병용에 의한 방사선 내성 극복

서울대학교 의과대학

김일한*

현재 악성종양에 대한 3대 치료법 중의 하나로 방사선 요법의 중요성 및 효과는 익히 인정되고 있다. 1980년대 중반 미국의 한 통계에 따르면 악성종양으로 진단 받은 환자의 약 반수가 질병 경과중 방사선치료를 받으며 이중 적어도 1/4 즉 전체 환자의 약 1/8을 완치시킨다고 알려졌다. 현재 악성종양 환자의 50-55%는 완치된다고 할 때 이러한 방사선 치료 효과는 팔목한 것이나 개개 종양의 치료효과에는 큰 차이가 있음을 부인할 수 없다. 저량의 방사선 조사후 국소적 종양 치료율이 큰 입과 종 등의 방사선에 매우 민감한 종양으로부터 고량의 방사선 조사 후에도 치료율이 저조한 폐암 또는 악성교종 등에 이르기까지 다양하다. 그렇다면 일반적으로 종양 및 종양 세포들의 방사선에(X 또는 γ 선 등의 저 LET 방사선) 대한 감수성은 무엇에 의하여 결정되는가? 그 결정 인자들의 작용을 확인할 수 있다면 이를 이용하여 치료 효과를 향상시킬 수 있을 것인가?

1. 방사선 감수성과 산소

세포의 방사선 감수성에 영향을 주는 인자로서 우선 세포의 내재적 방사선 감수성을 들 수 있다. 방사선 감수성이란 흔히 방사선 조사후 생존한 세포의 분획을 기준으로 하고 있으며 이때 방사선에 의하여 야기된 DNA의 손상(double strand breakage)이 회복되지 않고 불

안정하게 남아있는 세포는 치사되는 것으로 알려져 있다. 따라서 내재적 방사선 감수성에는 손상 DNA를 인지하고 이를 원상회복하는 세포 고유의 유전자 및 효소들이 작용하고 있음이 밝혀져 있다. 이에 따라 유전적으로 이러한 회복력이 감소되어 있다면, 그 세포는 타 세포에 비하여 방사선 감수성이 높을 것이며 실제로 세균, 진균 및 인간에서도 이러한 상태가 존재함이 확인되었다. 다음으로 종양세포들의 집단적 역학으로 설명되며 이에선 세포주기시간과 전체 종양 세포중 실제 분열 및 증식을 하고 있는 세포들의 분획 또는 분열하여 클론 형성능력이 있는 세포수(number of clonogenic cells) 등이 흔히 거론된다. 마지막으로 세포 외부환경이 방사선 감수성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 세포주위 미세환경의 영양소 또는 대사산물의 농도, 수소이온농도 및 산소 분압 등의 여러 환경요소중 산소분압이 방사선 감수성에 미치는 영향은 지대하며 임상적 측면에서도 매우 중요함은 일찍이 알려진 사실이다.

산소가 방사선 감수성에 미치는 중요한 영향력(산소 효과)은 X-선 발견 10 여년 후에 방사선 조사후 나타나는 피부반응이 피부에 가해지는 압력 즉 혈량에 따라 영향을 받음이 관찰되었고 1930년대 영국의 Mottram과 1950년대에 Thomlinson 과 Gray 등이 산소가 방사선 감수성에 지대한 영향을 끼친다는 점을 정확하게 지적한 바 있다. 현재 산소의 작용기전은 다음과 같은 경쟁적 작용으로 설명된다. 방사선 조사후 발생한 자유기(free radical)에 의하

* 서울대학교 의과대학 교수, 서울대학교병원 치료방사선과 본·논문(특강)은 1994년 춘계학술대회 초청강연 내용임.

여 손상 받은 DNA의 특정 부위가 산소와 반응하면 치사적 손상으로 고착되는 반면 -SH와 반응하면 원래 상태로 회복된다. 통상적으로 산소에 의한 증강효과는 2.5 내지 3.0 배로 보고된다. 마우스와 백서 등 실험동물 고유의 종양 또는 이식 종양에서 산소분압이 극히 낮은 저산소세포(hypoxic cells)가 예외없이 존재하며 전체 종양구성 세포중 10-20% 정도를 차지하며 더욱 중요한 사실은 이러한 저산소세포가 육안적인 크기의 종양뿐 아니라 미세한 크기의 종양에서도 존재한다는 사실이다. 실험동물에 이종이식된 인체종양에서도 저산소세포의 존재가 명확하게 입증되는 등 실제 인체종양내에서도 존재할 가능성이 크다고 할 수 있다. 이를 뒷받침하는 증거로서 첫째 조직절편상 피사부위의 존재, 혈관 수, 세포증식 양상의 차이와, 둘째 미세전극을 이용하여 측정된 종양내 산소분압의 양상, 셋째 삼중수소로 표시된 misonidazole 의 침착, 넷째 F-18 양전자 단층소견, 다섯째 종양내 혈류 또는 관류 소견, 여섯째 종양내의 부위별 pH 차이 등과 마지막으로 P-31 NMR spectroscopy 소견 등이 있다. 그렇다면 이러한 저산소세포의 존재가 임상적 방사선치료의 효과에 유의한 영향을 미치고 있는가? 실제로 그러한 가능성이 높을 것이라는 직접적인 증거로서 다음의 중요한 연구보고를 제시할 수 있다. 모두 자궁경부암 환자에서 얻어진 자료로서 우선 1986년 캐나다의 Bush 등에 의하면 방사선 치료전 헤모글로빈 농도와 방사선치료 성적간의 상관관계는 유의하여 10 gm% 이하로 빈혈이 있었던 경우의 재발율은 46%였으나 12 gm% 이상에서는 20%에 불과하였다. 아울러 1993년 독일 연구보고에 따르면 방사선 치료전 미세전극을 이용하여 측정한 종양내 산소분압의 중앙치가 10 mm Hg 이상인 환자의 2년 생존율은 80% 였으나 10 mmHg 이하로 비교적 저산소세포 분획이 컸던 경우의 2년 생존율은 30% 였다(Hoeckel et al, 1993). 따라서 종양내에 존재하는 저산소 세포들이 방사선 치료후 인체 종양이 완치되지 않거나 재발되는 등의 임상적 결과와 부분적이라도 연관된다는 점에 이의가 없다.

2. 저산소세포 해결 방안

이러한 저산소세포에 의하여 나타나는 방사선 내성을 극복하기 위한 다양한 방법이 시도되었는데 종양내 산소량을 증가시키어 종양내 저산소세포의 분획을 감소시키려는 시도가 대표적인 방법이었다. 흡입되는 산소의 절대량을 높이기 위하여 95% 산소 또는 고압산소를 흡입시키거나, 종양으로 공급되는 산소량을 높이기 위하여 빈혈 환자에 대하여 수혈하거나, 과불소화합물 등의 인공혈액제, 혈류 조절제, 헤모글로빈의 산소해리곡선 조절제 및 산소와 유사한 작용을 하는 저산소세포 민감제(hypoxic cell radiosensitizer) 등을 투여하는 방법이 이에 속한다. 이러한 시도들은 종양 용적이 증가함에 따라 종양세포에 각종 영양소 및 산소를 공급해 주는 혈관에 근접한 세포의 산소분압은 충분하지만 70 m 이상 떨어진 세포들에게는 산소의 전달이 매우 미미한 저산소상태에 빠지며 그 이상 떨어진 세포들은 산소결핍에 의하여 괴사한다는 설명 즉 만성적 저산소세포(chronically hypoxic cells) 모델이 이론적 배경이다. 따라서 종양 혈관내의 산소농도를 정상 생리상태 보다 월등하게 높이면 저산소세포에 도달하는 산소량도 높아질 것이므로 저산소세포 분획은 감소할 것으로 예상한 것이다.

이러한 시도들은 성공적이었는가? 고압산소를 이용한 시도 중의 2/15와 대표적 방사선 민감제인 misonidazole 시도 중 2/39에서만 임상적 효과가 입증되었을 따름으로 기대효과에 미치지 못하였다(Overgaard, 1989). 새로운 방사선 민감제인 etanidazole과 pimonidazole 등을 사용한 시도가 현재도 진행되고 있으나 아직 희망적인 결과는 보고된 바 없다. 이를 근거로 저산소세포의 임상적 중요성에 관하여 회의적인 해석과 의문이 제기되기도 하였다. 그러나 1980년대 후반에 새로운 유형의 저산소세포인 급성 또는 일시적 저산소세포(acute or transient hypoxic cells)가 종양내에 존재한다는 사실이 실험적으로 입증되었음을 주목해야 한다. 이는 종양내 혈관의 일부가 폐쇄 및 재관류를 반복하며 이로 인하여 일부 세포는 급

속히 저산소 상태로 빠졌다 다시 원래의 양호한 산소분압으로 돌아간다는 것으로 방사선 종양학적으로 매우 중요한 발견이다(Brown & Giaccia, 1994). 즉 저산소세포가 고정되어 있지 않고 종양내 모든 세포가 임의로(random) 단기간 동안 저산소상태로 된다는 것이다. 즉 혈관내 산소분압에 무관하게 종양 혈관의 관류 변화에 의하여 저산소 세포가 발생하고 소멸된다는 모델이다. 그렇다면 위의 많은 시도들은 급성 저산소세포에 대하여 전혀 영향을 미치지 못하였음은 명약관화하다. 따라서 향후 저산소 세포에 의한 방사선 내성을 해결하기 위하여 저산소세포의 유형에 따른 포괄적 또는 선택적 방법이 필요함을 알 수 있다.

3. 저산소세포 치사제의 효과 및 기대

최근 들어 저산소세포만 선택적으로 치사시키거나 산소 분압이 풍부한 세포 보다 저산소 세포를 더 치사시키는 수종의 약제, 방사선 민감제 또는 세포치사제가 알려져있다(Chaplin, 1992; Sartorelli, 1988; Workman, 1992). 체내로 투여한 원형태로서는 치사효과가 미미하지만 산소분압이 매우 낮은 세포내에서 효소들에 의하여 환원되어 세포치사력을 갖게 활성화되는 bioreductive agents 제제들은 Table 1에서와 같이 크게 3유형으로 구분된다. 이 중 Mitomycin C, EO9 및 SR 4233 등을 이용한 제1상 임상시험이 현재 구미의 몇몇 국가에서 진행되고 있다.

Table 1. 저산소세포 치사제의 유형

유형	약제
퀴논 화합물 (Quinones)	Mitomycin-C
	Porfiromycin
	Indolequinones(E09, E005A)
니트로 화합물 (Nitroes)	RSU 1069
	RB 6145
	PD 130908
질소 산화물 (N-oxides)	SR 4233(Tirapazamine)

이 중 SR 4233(최근 tirapazamine으로 명명됨)은 저자의 연구 대상이기도 하고 매우 유망한 약제이므로 이를 중심으로 효과를 살펴보고자 한다. Benzotriazine-N-oxide계 약제의 대표로서 3-amino-1, 2, 4-benzotriazine-1, 4-dioxide인 이 약제는 cytochrome P-450에 의하여 활성화되며 고 LET 방사선과 유사한 작용으로 DNA에 치사 손상을 가한다고 알려져 있다. 배양세포에서 저산소세포에 대한 치사효과가 38-150 배 높으며 in vivo에서 방사선과 병용할 때 방사선은 주로 산소분압이 양호한 세포들을 치사하고 SR 4233은 저산소 세포를 주로 치사하여 그 효과가 매우 클 것으로 예측된다(Biederman et al, 1991; Brown, 1993; Laderoutte et al, 1988). 이러한 사실은 마우스 종양에서 방사선과 병용후 효과 향상이 입증되었으며 병용 횟수가 많아질수록 효과가 감소하는 방사선 민감제인 Etanidazole과는 달리 효과가 계속 증가하여 임상 방사선치료와 병용시 매우 유망할 것으로 기대된다(Kim & Brown, 1994). 또한 저자의 연구는 저산소세포 분획이 큰 종양에서의 병용 효과가 저산소세포 분획이 작은 종양에서 보다 클 것인가라는 물음에 긍정적인 해답을 줄 수 있었다. 마우스 종양인 SCCVII 과 RIF-1에서 방사선을 미리 조사한 부위에 종양세포를 이식하면 그렇지 않은 경우에 비하여 저산소세포 분획이 약 10배 증가함을 확인하고 각각의 종양에 대하여 2.5 Gy 씩 8회 방사선조사와 각 방사선조사 전 30분에 SR 4233 0.08 mmol/kg을 복강내 투여로 병용하였다(김일한 & Brown, 1994; Kim et al, 1993). 방사선 조사 부위에서 성장한 종양은 정상 부위에서 성장한 종양에 비하여 약 5배의 방사선 내성을 보였으나 약 5배의 SR 4233 감수성을 나타내었다. 방사선과 SR 4233 병용후 모든 종양에서 방사선 효과가 증강되었지만 저산소세포 분획이 많은 종양에서의 증강율이 저산소세포 분획이 작은 종양과 동일하거나 높았다(RIF-1에서는 1.5-SCCVII에서는 9배). 전반적 양상은 Fig. 1과 같다. 아울러 분할횟수가 증가할수록 병용효과 또한 증가하는 경향이 있어 종래의 효과를 재확인 할

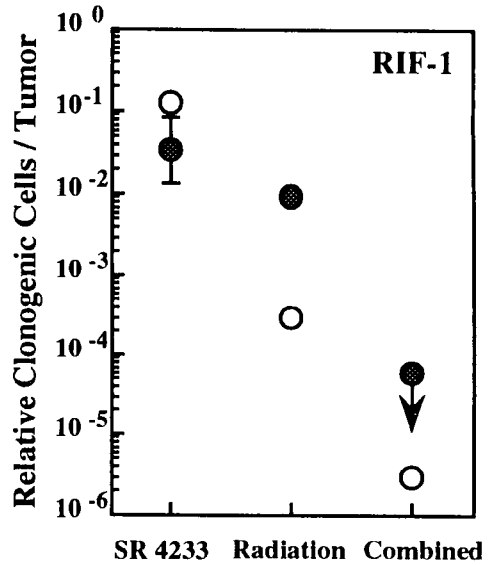
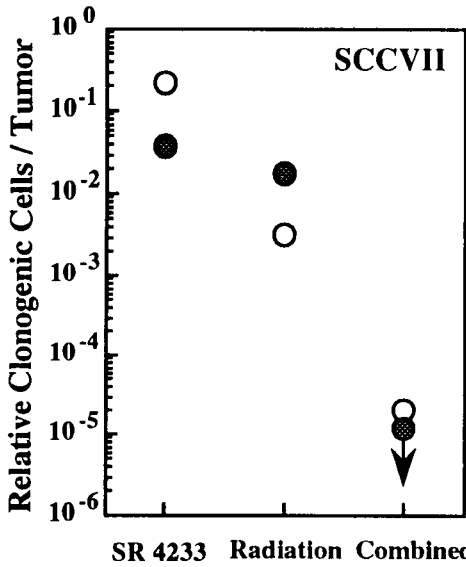


Fig 1. 방사선(250 cGy)과 SR 4233(0.08 mmol/ kg)을 4일간 8회 병용 투여한 결과, 각 종양은 미리 방사선 조사등(흑색 원) 및 정상등(백색원)에서 성장하였다. 각각의 표시는 3-6수의 개별 종양에서 얻은 결과의 평균치를 의미한다. SCCVII 종양에서 저산소세포 분획이 작은 종양은 방사선 단독 치료시에 비하여 SR 4233 병용으로 방사선 효과가 168배 증강되었으나 저산소세포가 큰 종양은 1450배 증강되어 상대적으로 약 9배 더 증강되었다. RIF-1 종양에서는 저산소세포 분획이 작은 종양은 방사선 단독 치료시에 비하여 SR 4233 병용으로 방사선 효과가 98배 증강되었으나 저산소세포가 큰 종양은 153배 증강되어 상대적으로 약 1.5배 더 증강되었다.

수 있으나 SCCVII 과 RIF-1에서의 얻어진 효과가 차이를 종양의 종류, 종양내 환원 효소, 저산소세포의 유형의 차이로 설명할 수 있는가는 확실하지 않다. 이는 저산소세포 분획이 많아 종양의 산소 분압이 낮은 종양이 더 이상 방사선 치료시 문제가 되지 않을 가능성을 시사한다 하겠다.

4. 저산소세포 치사제 병용의 전제조건

저산소세포 치사제와 방사선 치료를 병용시 인체종양에서 임상적 효과가 있다면 과연 어떤 종양에서 효과적인 것인가? SR 4233 등 bioreductive 제제의 치사효과는 다음의 몇가지 요소에 의하여 결정되기 때문에 방사선과의 임상적 병용 효과도 이에 의하여 결정될 것으로 본다(Chaplin, 1992; Workman 1992). 첫째 저산

소세포의 분획, 둘째 급성 및 만성 저산소세포의 상대적 비율, 셋째 종양세포 및 정상조직세포내의 특정 환원 효소의 종류, 농도, 분포, 활성도 등이다. 따라서 종양 치료를 시작하기 전에 이러한 요소들을 미리 확인할 수 있다면 저산소세포 치사제를 병용시의 효과 예측이 가능하다. 이 중 미세 전극을 이용한 polarography 방법으로 산소분압의 상대적 분포를 측정하면 저산소세포의 분획의 추정이 가능한 것으로 알려져 있으며 나머지 요소들은 조직 생검을 통하여 확인 가능할 것으로 본다. 방사선 내성 중에서 저산소세포가 기여하는 부분이 종양에 따라 다를 것이므로 특정 종양에서의 병용효과가 어떠한 것인지는 단언하기 어렵겠지만, 실제 방사선 치료에 병용될 경우 방사선 내성의 상당 부분은 해결될 것으로 예상된다.

참 고 문 헌

1. 김일한, J Martin Brown. 분할방사선조사와 SR 4233 병용에 의한 저산소세포분압중양의 반응 증강. 대한치료방사선과학회지 제 12권 1호 : 9-16, 1994.
2. KA Biedermann, J Wang, RP Graham, et al. SR 4233 cytotoxicity and metabolism in DNA repair-competent and repair-deficient cell cultures. Br J Cancer 63 : 358-362, 1991.
3. J Martin Brown, Amato J Giaccia. Tumour hypoxia : the picture has changed in the 1990s. Int J Radiat Biol 65 : 95-102, 1994.
4. J Martin Brown. SR 4233(tirapazamine) : a new anticancer drug exploiting hypoxia in solid tumours. Br J Cancer 67 : 1163-1176, 1993.
5. David J Chaplin. Bioreductive therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 22 : 685-687, 1992.
6. Il Han Kim, Marilyn J Lemmon, J Martin Brown. The influence of irradiation of the tumor bed on tumor hypoxia : measurements by radiation response, oxygen electrodes, and nitro-imidazole binding. Radiat Res 135 : 411-417, 1993.
7. Il Han Kim, J Martin Brown. Reoxygenation and rehypoxiation in the SCCVII mouse tumor. Int J Radiat Oncol Biol Phys 29 : 493-497, 1994.
8. M Hoeckel, C Knoop, K Schlenger; et al. Intratumoral Po_2 predicts survival in advanced cancer of the uterine cervix. Radioth Oncol 26 : 45-50, 1993.
9. Keith Laderoute, Peter Wardman, A Michael Rauth. Molecular mechanisms for the hypoxia-dependent activation of 3-amino-1, 2, 4-benzotriazine-1, 4-dioxide (SR 4233). Biochem Pharmacol 37 : 1487-1495, 1988.
10. Jens Overgaard. Sensitization of hypoxic tumour cells-clinical experiences. Int J Radiat Biol 56 : 801-811, 1989.
11. Alan C Sartorelli. Therapeutic attack of hypoxic cells of solid tumors. Cancer Res 48 : 775-778, 1988.
12. P Workman. Bioreductive mechanisms. Int J Radiat Oncol Biol Phys 22 : 631-637, 1992.