

방사선조사와 Cis-Dichlorodiammineplatinum(II)가 흰쥐 피부에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

이화여자대학교 의과대학 방사선과학교실
이 경 자

= Abstract =

The Experimental Study on the Effect of Radiation and Cis-Dichlorodiammineplatinum(II) in Rat Skin

Kyung Ja Lee

Department of Radiology, College of Medicine, Ewha Womans University

The interaction of Cis-dichlorodiammineplatinum(II) (Cis-DDP) with irradiation may be important in the clinical settings for which this drug is currently used.

Since the skin is a major tissue for the uptake of Cis-DDP and its uptake level persists for several days, experiments were designed to evaluate the potential of Cis-DDP for enhancing the damage of the irradiated skin in rats.

For experiments, 42 rats were used and radiation dose was 30Gy in single fraction and the dose of Cis-DDP was 2.5mg/kg. The results of these experiments suggest that a Cis-DDP dose of 2.5mg/kg produces no increase skin damage when the drug was administered IP 30min before, or 15min after irradiation.

서 론

방사선조사에 의한 피부의 반응으로 방사선과 정상조직 또는 종양과의 관계를 예측할 수 있으며 방사선치료 성과의 중요한 이정표가 되기 때문에 여러 종류의 방사선에 의한 피부반응을 실험을 통하여 검토하여 왔다^{1~4)}.

방사선과 항암제의 병용요법은 종양의 국소 치료율을 증가시키고, 원격전이율은 감소시키며, 정상조직에 손상을 주지않으므로써 생존율을 높이기 위한 것으로 결국 치료가능비(therapeutic ratio)를 향상시키는 것이 목적이다. 방사선조사와 항암제를 병용할 때 그 상호작용은 항암제의 종류⁵⁾⁶⁾

정상조직의 종류⁵⁾⁷⁾, 약물투여량⁸⁾⁹⁾, 약물투여방식¹⁰⁾, 방사선조사와 약물투여간격⁸⁾¹⁰⁾¹¹⁾ 및 방사선조사선량¹²⁾에 따라 다양하다.

Cis-Dichlorodiammineplatinum (II) (이하 Cis-DDP라 약함)은 근래에 많이 사용되는 항암제로서 1971년 Zak와 Drobnik¹²⁾에 의해 방사선조사와 작용하여 방사선의 효과를 증강시킬 수 있다고 보고한 이래 배양세포와 동물실험에서 입증되어지고 있다¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾. 근래에 와서 박테리아계¹⁶⁾, 배양유암세포¹⁴⁾와 종양동물실험¹⁷⁾에 따르면 Cis-DDP는 저산소세포의 방사선감작제(radiosensitizer)로 작용한다고 하였고, Douple¹³⁾등에 의하면 Cis-DDP가 방사선조사후에 생기는 준치사(sublethal damage)

및 잠재치사손상(potentially lethal damage)에 의한 세포회복을 저지한다고 하였다. Cis-DDP가 방사선조사의 효과를 확대한 방사선감작작용으로 부작용을 증가시키는 것을 유의해야 한다.

이에 저자는 방사선조사와 Cis-DDP를 병용하여 흰쥐의 피부반응을 관찰함으로써 Cis-DDP가 방사선에 미치는 효과와, Cis-DDP투여와 방사선조사간의 시간간격에 따른 방사선증강효과의 변화를 파악하기 위하여 본 실험연구를 시행하였다.

실험대상 및 방법

실험동물은 생후 4~5개월, 체중 200~250gm의 흰쥐(Sprague-Dawley) 42마리를 대상으로 하였으며 이를 4군으로 대별하였다(Table 1). 정상대조군은 방사선조사나 약물중독이 없는 흰쥐 6마리를 대상으로 하였고, 방사선조사단독군은 흰쥐 12마리를 대상으로 하여 양측후지의 대퇴부(24부위)에 X-선 30Gy를 단일조사하였다. 방사선조사와 Cis-DDP병용군은 12마리의 흰쥐를 대상으로 양측대퇴부(24부위)에 30Gy X-선을 단일조사하고 15분에 Cis-DDP(동아제약품)를 2.5mg/kg을 주입하였다. Cis-DDP와 방사선조사 병용군은 흰쥐 12마리의 복강내의 cis-DDP 2.5mg/kg을 주입하고 30분에 X-선 30Gy를 양측대퇴부(24부위)에 단일조사하였다. 방사선조사방법은 동물을 에테르흡입마취 시킨후 고정틀에 고정시키고 이화여자대학 부속병원에 설치가동중인 6MV(Linear accelerator NEC 1006 X)를 사용하여 30Gy X-선을 양측대퇴부에 조사하였다. 방사선량을 동물피부에 균등하게 조사하기 위하여 볼루스(bolus)와 판틀을 적절하게 사용하였으며 조사면은 16cm×16cm 넓이로 하여 고환은 차폐하고 조사하였다. 타겟트와 조사면간의 거리는 80cm로 고정하였다(Fig. 1).

방사선조사후 2일 부터 40일까지 매일 피부반

Table 1. Grouping of rats

Group	No of rats	No of sites
Control	6	12
Radiation(30Gy) only	12	24
Radiation+ cis-DDP	12	24
Cis-DDP+ radiation	12	24
Total	42	84

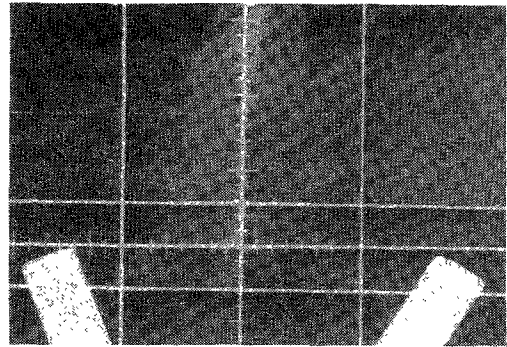


Fig. 1. Simulation film of irradiation to both thigh of rat.

Table 2. Degree of skin reaction

Score	Reaction
0	No visible reaction
1	Slight erythema
2	Erythema
3	Marked erythema
4	Moist desquamation of less than the field area
5	Moist desquamation of more than the field area

응을 관찰하였다. 피부변화 정도는 Bewley¹⁸⁾ 등 (Table 2)이 제안한 피부반응점수표를 이용하여 측정하였으며 각군의 피부반응점수의 평균치를 비교분석 하였다.

실험성적

1. 방사선조사 단독군

12마리 흰쥐의 양측대퇴 부위에 30Gy X-선을 단일 조사후 2일째부터 40일까지 매일 피부반응을 관찰하여 24부위의 피부 반응점수의 평균치를 구하여 도시하였다(Fig. 2).

최초의 피부변화는 조사후 17일 전후에 탈모현상과 함께 경미한 홍반(Fig. 3)이었고 점차 변화가 심해져서 최고의 변화는 습성 표피탈락(moist desquamation)(Fig. 4)으로 27일 전후에서 35일까지 지속되었다.

2. 방사선조사와 Cis-DDP 병행군

흰쥐 12마리의 후지 양측 대퇴부위에 X-선조사

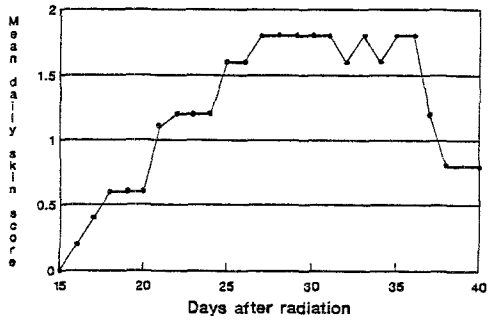


Fig. 2. Daily skin score after 30Gy radiation.

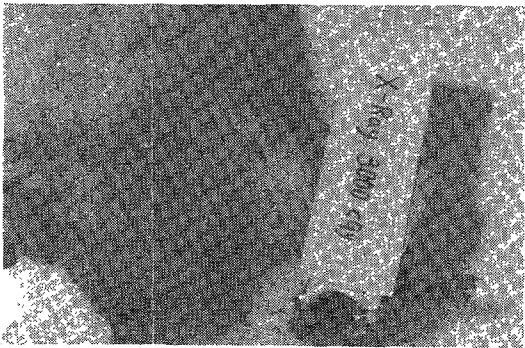


Fig. 3. Gross finding of slight erythema, skin score 1.0.

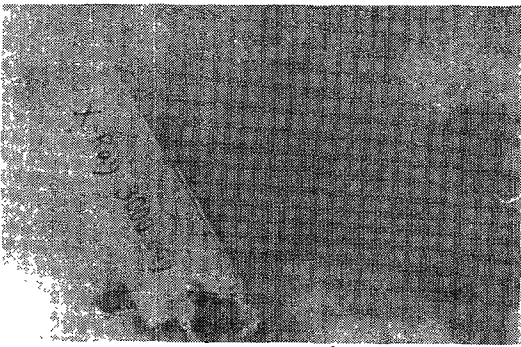


Fig. 4. Gross finding of moist desquamation, skin score 4.0.

30Gy를 단일조사하고 15분에 Cis-DDP 2.5mg/kg를 복강내 주입한 후 2일부터 40일까지 매일 피부변화를 관찰하여 도시하였다(Fig. 5). 최초의 피부변화는 18일 전후에 홍반이 나타났으며 최고의 피부반응은 습성 표피탈락으로 방사선조사 단독군과 비교하여 차이를 볼수 없었다.

3. Cis-DDP와 방사선조사 병행군

12마리의 흰쥐의 복강내에 Cis-DDP 2.5mg/kg를 주입한 후 30분에 양측대퇴부위에 X-선 30Gy를 단일조사한 후 2일부터 40일까지 피부반응을 관찰하여 24부위의 평균 피부 반응점수를 도시하였다(Fig. 6). 최초 피부반응은 20일 전후에 홍반이 나타났으며 최고 피부반응은 건조성표피탈락(dry desquamation)이 35일까지 지속되었다. 피부반응의 평균수치를 방사선조사 단독군과 비교하여 차이점을 볼수 없었으며, 방사선조사후 Cis-DDP를 투입한군과 비교해도 차이점을 찾을수 없었다.

각군의 피부반응이 최고로 나타나는 10일간의 평균점수를 비교한 결과 방사선조사단독군이 1.72, 방사선조사와 Cis-DDP병행군이 1.32, Cis-DDP와 방사선 조사병행군이 1.30(Table 3)으로 방사선조사단독군과 병행군을 비교하면 병행군에서 피부반응이 감소하였으며($p < 0.05$), 병행군에서 방사

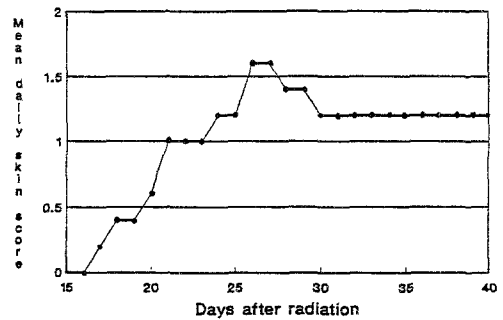


Fig. 5. Daily skin score after 30Gy radiation followed by Cis-DDP.

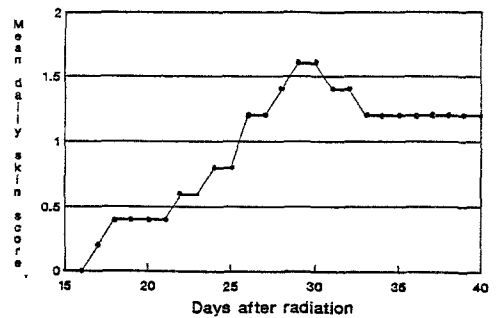


Fig. 6. Daily skin score after Cis-DDP followed by 30Gy radiation.

Table 3. Mean scores of skin reaction obtained by averaging the daily scores of 10days during peak reaction

Group	Score(Mean± SD)
Radiation only	1.72± 0.10
Radiation+ cis-DDP	1.32± 0.16
Cis-DDP+radiation	1.30± 0.22

선조사 전과 후 Cis-DDP투여 시간에 따른 차이는 없었다($p>0.05$).

이상의 실험결과에 따르면, 방사선조사와 Cis-DDP를 병용할 경우 정상피부에는 Cis-DDP의 방사선조사 전후 투여시간에 관계없이 증강효과가 없음을 알수 있었고, 앞으로 종양세포를 이용하여 증강효과의 여부와 그 기전은 더욱 연구해야 할 문제이다.

고 안

방사선조사와 항암제를 병용함으로써 종양에 대한 방사선조사 효과가 증가된다는 사실은 1959년 D'Angio¹⁹⁾등이 Wilms' 종양치료시 Actinomycin-D를 방사선조사와 병용하여 방사선조사에 의한 피부반응과 방사선폐염이 심하게 됨을 처음으로 보고한 이래 관심을 갖게 되었다. 방사선조사와 항암제의 병용요법이 정상조직의 손상에 미치는 요인으로 정상조직의 종류⁵⁾⁷⁾, 약제의 종류⁵⁾⁶⁾, 약용량⁸⁾⁹⁾, 투여방식¹⁰⁾, 방사선조사와 투여시간의 간격⁸⁾¹⁰⁾ 및 방사선조사선량¹²⁾이 관여된다.

Cis-DDP는 square-planar platinum coordination complex로서 비교적 새로운 항암제로 등장하고 있으며²⁰⁾, 고환암과 두경부종양에 치료효과가 높은 것으로 알려져 있다²¹⁾²²⁾.

Platinum약제와 방사선 모두 세포의 DNA에 변화를 일으키므로²³⁾²⁴⁾ 방사선조사와 병용하여 그 효과를 증가시킬 수 있다. Platinum은 수산화된 전자(hydrated electron)를 없애고 OH radical을 농축 시키므로써 DNA에 손상을 일으킨다¹⁶⁾. Cis-DDP가 방사선과 상호작용하여 그 효과를 증강시킬 수 있다는 사실은 1971년 Zak와 Drobnik¹²⁾에 의해 보고 되었으며 마우스에서 Cis-DDP투여와 전신에 방사선을 1회 조사함으로써 생존율의 변화를 일으킨다고 하였다. Wodinsky²⁵⁾등은 P388

림파구성 백혈병세포에 접종된 마우스에서 Cis-DDP와 전신방사선조사를 하여 방사선조사 단독 시행한 경우보다 생존율을 높일 수 있으며 특히 무산소상태에서 효과가 크다고 하였다. Zimbrick²⁶⁾등은 aziridin-platinum은 산소와 비슷한 정도의 강력한 방사선감작제로 작용하여 박테리아계의 산소증강률(oxygen enhancement ratio)을 거의 배제시킬 수 있다고 하였다.

Douple과 Richmond²⁷⁾는 C3H 마우스에 MTG-B 유암세포를 이식 시키고 TCD₅₀을 비교한 결과 Cis-DDP를 방사선조사 1시간 전에 준 경우에 증강을 1.3으로서 방사선조사 직후에 준 경우 보다 현저히 증가시킴을 관찰 하였고 특히 방사선조사 15분전에 가장 효과적이었다. 이런 효과는 부분적으로 Cis-DDP의 저산소 종양세포에 대한 방사선감작작용으로 저산소 배양세포¹⁴⁾와 MTG-B세포¹⁷⁾에서 밝혀졌다.

Dritschilo²⁸⁾등은 Chinese Hamster(V-79)세포에서 Cis-DDP와 방사선을 병용하여 plateau phase의 준치사손상의 회복이 저지됨을 관찰하였으며 잠재치사손상의 회복은 적었다고 하였다. 준치사손상의 회복의 저지효과는 Cis-DDP를 방사선조사 1시간후에 주었을때 가장 현저히 나타났으며 2시간후에는 약화되었다.

피부는 Cis-DDP가 흡수되는 중요장기이며 Wolf와 Monaka²⁹⁾에 의하면 Cis-DDP를 투여한 18일후에 13%가 피부에 농축되어 있음을 발견하였다. 따라서 임상에서 방사선조사와 병용함으로써 피부에 심한 부작용이 일어날 수 있기 때문에 정상피부를 실험대상으로 하였다.

1979년 Douple¹³⁾등은 흰쥐에서 방사선조사와 Cis-DDP를 병용하여 피부반응을 관찰한 결과 Cis-DDP가 방사선의 효과를 증강시키는 것은 확실하며 이런작용은 Cis-DDP의 투여를 방사선조사 전과 후에 관계없이 일어났다. 이런 효과는 Cis-DDP가 방사선에 의해 발생한 준치사 혹은 잠재치사손상의 회복을 저지 시킴을 시사 한다고 하였다.

Maase³⁰⁾는 마우스에서 방사선조사와 항암제를 병용하여 피부반응을 관찰하여 방사선효과를 증강시키는 약제는 Adriamycin, Bleomycin, Methotrexate, Mitomycin-C 및 Cis-DDP라고 보고하였고,

Cis-DDP는 방사선조사 15분전에 준 경우에만 투여량-효과인자(Dose effect factor)가 1.08로 증강효과가 나타났으며 방사선조사후에 투여한 경우에는 증강효과가 없었다.

Overgaard와 Khan³¹⁾에 의하면 C3H 유암세포에서 방사선조사와 Cis-DDP를 병용하여 TCD₅₀와 정상피부반응을 관찰하여, Cis-DDP를 방사선조사 30분 전에 준 경우 종양세포에서는 방사선증강효과 1.7로 현저히 증가되었으며 방사선조사직후와 4시간 후에는 증강효과 1.2~1.3으로 낮은 증가를 보였으나 정상 피부반응에는 증가효과가 보이지 않았다. 따라서 Cis-DDP가 방사선과 작용하여 방사선감작제 역할을 하였으며 종양세포에만 선택적으로 증강효과가 있기 때문에 치료가능비가 높다고 하였다.

저자의 실험결과는 Cis-DDP가 방사선과 작용하여 정상피부에는 증강효과가 나타나지 않으므로써 Douple¹³⁾등과 Maase³⁰⁾의 실험결과와는 상반되었으나 Overgaard와 Khan³¹⁾과 같은 결과를 보였다. 따라서 임상에서 방사선조사와 Cis-DDP를 동시에 사용할 경우에 정상피부에는 심한 부작용을 일으키지 않을 것으로 사료된다.

아직까지 Cis-DDP가 방사선의 효과를 증가시키는 기전은 확실하게 밝혀지지 않았으나 저산소세포인 종양세포와 정상세포사이에 차이가 있음을 알수 있으며 다른 정상세포에 대한 증강효과 여부도 파악해야 할 것이다. 또한 platinum제제는 방사선뿐만 아니라 다른 항암제, 즉 Cyclophosphamide와 Methotrexate 및 Adriamycin과 작용하여 그 효과를 변화시킬 수 있기 때문에²⁰⁾ 복합항암제를 사용하는 경우 임상에 적용하기전에 많은 동물실험을 통하여 연구하여야 할 과제로 사료된다.

References

- 1) Dresser R, Rude JC, Cosman BJ : *Difference between 200 kilovolt and supervoltage Roentgentherapy. Radiology* 1940 : 34 : 13-16
- 2) Fowler JF : *Experiments with fractionated X-irradiation of the skin of pigs II : Fractionation up to 5days. Brit J Radiology* 1965 : 38 : 278-284

- 3) Denekamp J, Ball MM, Fowler JF : *Recovery and repopulation in mouse skin as a function of time after X-irradiation. Radiat Res* 1969 : 37 : 365-370
- 4) Koh KW, Park CI, Kim CW : *Early response of the mouse skin to superfractionated irradiation. J of Korean Radiology Soc* 1982 : 18 : 1-16
- 5) Phillips TL, Fu KK : *Quantification of combined radiation therapy and chemotherapy effects on critical normal tissues. Cancer* 1976 : 37 : 1186-1200
- 6) Phillips TL, Fu KK : *Acute and late effects of multimodal therapy on normal tissue. Cancer* 1977 : 40 : 489-494
- 7) Phillips TL, Fu KK : *The interaction of drug and radiation effects on normal tissues. Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1978 : 4 : 59-64
- 8) Begg AC, Fu KK, Schrieve DC, Phillips TL : *Combined chemotherapy of a solid murine tumor with cyclophosphamide and radiation ; The effect of time, dose and assay method. Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1979 : 5 : 1433-1439
- 9) Byfield JE, Calbro-Jones P, Klisak I, Kulhanian F : *Pharmacological requirements for obtaining sensitization of human tumor cell in vitro to combined 5-fluorouracil or Florafur and X-rays. Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1982 : 8 : 1923-1933
- 10) Fu KK : *Biological basis for the interaction of chemotherapeutic agents and radiation therapy. Cancer* 1985 : 55 : 2123-2130
- 11) Lamey WB, Longerbeam MB, Hopkins HA, Carter WH : *Solid tumor models for the assessment of different treatment modalities ; XXI. Comparison of difference radiation dose schedules alone or in combination with cyclophosphamide. Cancer* 1983 : 51 : 1012-1020
- 12) Zak M, Drobnik J : *Effect of cis-dichlorodiammineplatinum(II) on the post-irradiation on lethality in mice after irradiation with X-ray. Strahlentherapie* 1971 : 142 : 112-115
- 13) Douple EB, Eaton WL, Talloh ME : *Skin radiosensitization studies using combined cis-dichlorodiammineplatinum(II) and radiation. Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1979 : 5 : 1383-1385
- 14) Douple EB, Richmod RC : *Platinum complexes as radiosensitizers of hypoxic mammalian cells. Brit J Cancer* 1978 : 37 : supplement III, 98-102
- 15) Szumiel I, Nias AHW : *The effect of combined treat-*

- ment with a platinum complex and ionizing radiation on Chinese hamster ovary cells in vitro. *Brit J Cancer* 1976 : 33 : 450-458
- 16) Richmond RC, Powers EL : Radiation sensitization of bacterial spores by cis-dichlorodiammineplatinum(II). *Radiat Res* 1976 : 68 : 251-257
 - 17) Douple EB, Richmond RC : Radiosensitization of hypoxic tumor cells by cis- and trans-dichlorodiammineplatinum(II). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1979 : 5 : 1369-1372
 - 18) Bewley DK, Fowler JF, Morgan RC, Silvester MA, Turner BA : VII-Experiments on the skin of pigs with fast neutron and 8MV X-ray including some effects of dose fractionation. *Brit J Radiology* 1963 : 36 : 107-115
 - 19) D'Angio GJ, Farber D, Middlech CL : Potentiation of X-ray effects by actinomycin -D. *Radiology* 1959 : 73 : 175-177
 - 20) Douple EB, Richmond RC : A review of platinum complex biochemistry suggested a rationale for combined platinum-radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1979 : 5 : 1335-1339
 - 21) Higby DJ, Wallace HJ, Albert DJ, Holland DJ : Diammine-dichloroplatinum-a Phase I study showing response in testicular and other tumors. *Cancer* 1974 : 33 : 1219
 - 22) Wittes RE, Brescia R, Young CW, Golbey BB, Krakoff RH : Combination chemotherapy with cis-platinum and bleomycin in tumors of the head and neck. *Oncology* 1975 : 32 : 202-207
 - 23) Kelman AD, Peresie J, Stone PJ : An analysis of the modes of binding of the antitumor platinum complexes to DNA. *J Clin Hem Onc* 1977 : 7 : 440-451
 - 24) Stone PJ, Kelman AD, Sinex FA, Bhargava MM, Halvorson HO : Resolution of (α), (β) and (γ) DNA of *Saccharomyces cerevisiae* with the antitumor drug $\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$. Evidence for preferential drug binding by G_DG sequenc of DNA. *J Mol Biol* 1976 : 104 : 793-801
 - 25) Wodinsky I, Swiniarski J, Kensler CJ, Venditti JM : Combination radiotherapy and chemotherapy for P388 lymphocytic leukemia in vivo. *Cancer Treat Rep* 1974 : 4 : 73
 - 26) Zimbrick JD, Sukrochana A, Richmond RC : Studies on radiosensitization of *E. coli* cells by antitumor cis-Pt(II) complexes. 26th Annual Meeting of the Radiation Research Society. Toronto, Canada. May 14-19, 1978(Abst) *Radiat Res* 1978 : 74 : 517
 - 27) Douple EB, Richmond RC : Enhancement of the potentiation of radiotherapy by platinum drugs in a mouse tumor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1982 : 501-503
 - 28) Dritschilo A, Piro AJ, Kelman MD : The effect of cis-platinum on the repair of radiation damage in plateau phase chinese hamster(V-79) cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1979 : 5 : 1345-1349
 - 29) Wolf W, Monaka RC : Synthesis and distribution of ^{195m}Pt Cis-dichlorodiammineplatinum(II). *J Clin hematomol and Oncol* 1977 : 7 : 79-95
 - 30) Maase H : Effect of cancer chemotherapeutic drug on the radiation-induced skin reaction in mouse feet. *Brit J Radiol* 1984 : 57 : 697-707
 - 31) Overgaard J, Khan AR : Selective enhancement of radiation response in a C3H mammary carcinoma by cisplatin. *Cancer Treat Rep* 1981 : 65 : 501-503