— J. Korean Soc Ther Radiol Oncol : Vol. 16, No. 2, June, 1998 —

Ginkgo Biloba Extract가 마우스 피부 및 공장 소낭선의 방사선감수성에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 치료방사선과학교실*, 암연구소 방사선생물학 연구실†,
삼성서울병원 치료방사선과‡

신 경 환*,‡ · 하 성 환*,†

The Effect of Ginkgo Biloba Extract on Radiosensitivity of Mouse Skin and Jejunal Crypt

Kyung Hwan Shin, M.D.*,‡, Sung Whan Ha, M.D.*,†

Department of Therapeutic Radiology, Seoul National University Hospital,*
Laboratory of Radiation Biology†, Cancer Research Institute, Seoul National University Medical College,
Department of Radiation Oncology‡, Samsung Medical Center, Seoul, Korea

Purpose : Ginkgo biloba extract(GBE) is known to increase the peripheral blood circulation. This study was designed to evaluate the effect of GBE on the acute normal tissue radiation reaction.

Materials and Methods : C3H mice were divided into two groups, radiation alone and two doses GBE plus radiation, for both acute skin reaction and jejunal crypt assay. GBE was given i.p. one hour before irradiation with priming dose given one day earlier. Thirty to Fifty Gy for acute skin reaction and 11 to 14 Gy for jejunal crypt were irradiated to right hind leg and whole body, respectively.

Results : Radiation doses(RD_{50}) for peak skin score of 2.0 were 44.2Gy (40.6-48.2Gy) for radiation alone and 44.4Gy(41.6-47.4Gy) for two doses GBE plus radiation, showing no effect of GBE on acute radiation skin damage. The numbers of regenerating jejunal crypts per circumference were also almost the same for each radiation dose level(p=0.57-0.94), and the mean lethal doses(D_0) were 1.80Gy(1.57-2.09Gy) for radiation alone and 1.88Gy(1.65-2.18Gy) for two doses GBE plus radiation, indicating no effect of GBE on jejunal crypt cell survival after radiation.

Conclusion : GBE doesn't increase acute normal tissue radiation reaction in this model system. As GBE was verified to enhance radiation effect on tumor, high therapeutic gain is expected when GBE is combined with radiation therapy.

Key Words : Ginkgo biloba extract, Normal tissue radiation reaction, Skin reaction, Jejunal crypt assay

---

본 논문은 암연구센터 연구비 KOSEF-SRC-56-CRC-93-14)의 지원에 의한 것임
이 논문은 1998년 4월 10일 접수하여 1998년 5월 15일 채택되었음.
책임저자 : 신경환, 서울시 강남구 일원동 50 삼성서울병원 치료방사선과

서 론

악성 종양에서 저산소세포의 방사선저항성은 잘 알려져 있으며 종양의 방사선치료시 저산소세포로 인해 야기되는 문제점들을 극복하기 위한 많은 시도가 이루어졌다.[1, 2] 종양내 산소분압을 증가시키기 위하여 종양내 혈류량을 증가시키려는 노력과 산소의 운반물질 등을 이용하는 노력 등이 행하여졌는데, 칼슘 길항제 외에 nicotinamide, pentoxifylline 등의 혈관확장제 등을 이용한 시도 등이 알려져 있다.[3-6]

Ginkgo biloba extract(이하 GBE로 표기함)는 유럽 등지에서 20년 이상 말초혈관 순환장애나 허혈성 뇌질환 등의 치료에 이용되어온 약제이다.[7] GBE의 약리적 작용기전은 동맥, 정맥 및 모세혈관의 탄력성과 혈액의 점성을 감소시켜 혈류량을 증가시키며, 혈소판 활성인자의 작용에 길항작용을 가지고 있어 혈소판의 응집을 억제함으로써 조직 및 세포내의 저산소상태를 호전시키는 기능을 가지나 동맥의 평균혈압을 강하시키지는 않는 것으로 알려져 있다.[7-10] GBE가 암 조직내의 혈류를 증가시킬 수 있을 경우 암 조직내 저산소세포로의 산소공급을 증가시켜 방사선감수성을 증대시킬 수 있을 것으로 예상된다. 또한 부작용이 거의 없다고 알려져 있으므로 6 내지 8 주간에 걸친 방사선치료 기간 중 계속 사용할 수 있을 것으로 사료된다.[7]

서울대학교 의과대학 치료방사선과학 교실 및 암연구소 방사선생물학 연구실에서는 defined flora colony 상태로 사육되고 있는 순계 C3H 마우스에 자연 발생한 섬유육종 (fibrosarcoma, FSaII)을 사용하여 방사선조사시 GBE를 병용 투여함으로써 종양성장 지연기간의 연장 및 종양치유선량(TCD_{50})의 감소 등이 관찰되어 GBE 투여후 종양내 저산소세포 분획이 감소한 결과를 얻음으로써 암 조직내 혈류 향상이 증명되었다.[11-13] GBE를 방사선조사와 병용하여 암 조직에 대한 방사선치료 효과를 향상시키기 위해서는 GBE가 주요 정상조직의 방사선감수성을 증가시키지 않거나 증가시키더라도 종양조직에 대한 방사선감수성의 증가보다는 작아야한다. 즉 치료이득(therapeutic gain)을 얻을 수 있어야 한다.[14]

본 실험에서는 정상조직의 방사선조사시 GBE의 영향여부 및 그 정도를 확인하기 위하여 마우스 급성 피부 반응 및 마우스 공장 소낭선 측정법을 이용하여 방사선의 정상조직에 대한 급성효과를 방사선 단독 조사군 및 GBE 병용군에서 비교, 관찰함으로써 GBE를 저산소세포 감소제로 사용하는데 있어 치료이득을 확인하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 실험동물 및 방사선조사

실험동물 및 방사선조사에 대한 자세한 사항은 이미 보고된 바 있으며 이번 실험에서는 생후 8주에서 12주 정도 된 암, 수 동수의 C3Hf/Sed 마우스를 사용하였다.[11-13] 방사선조사는 암연구소내에 설치된 실험동물 방사선조사기(Mark Ⅱ Cs-137 irradiator, Shepherd, USA)를 사용하였으며 조사시 실내의 온도는 24℃이었다. 피부에 대한 방사선 조사시에는 우측 하지에 국한된 3×3cm의 조사야로 방사선조사를 시행하였고, 방사선 선량률은 분당 4.58Gy이었다. 마우스 공장의 방사선 조사시에는 2×2×10cm 크기의 멸균시키지 않은 직육면체 아크릴통 내에 마우스를 1마리씩 넣고 좌우대향이문조사로 전신에 균일하게 방사선 조사를 시행하였으며 방사선 선량률은 분당 2.59Gy이었다.

2. *Ginkgo biloba* extract

은행잎 추출물(24% ginkgoflavone glycosides, 6% terpenoids 포함; 선경 인더스트리)을 10mg/ml의 농도로 희석하여 사용하였으며 kg 당 100mg을 방사선조사 24시간 전과 1시간 전에 각각 복강 내에 2회 주사하였다.

3. 실험군 분류

1) 급성 피부 반응 측정

방사선 단독 조사군과 GBE 투여후 방사선 조사군의 피부 반응을 측정하기 위하여 조사된 방사선량에 따라 30, 35, 40, 45, 50Gy별로 각각 5마리의 마우스가 배정되어 총 50마리가 사용되었다. 마우스의 급성 피부반응은 두 명의 관찰자가 Table 1의 점수 판정 기준에 따라 방사선 조사 후 10일째부터 29일째까지 이틀에 한번씩 측정하였다.

2) 공장의 재생 소낭선 측정

방사선 단독 조사군과 GBE 투여후 방사선조사군으로 나누었으며 조사된 방사선량에 따라 11, 12, 13, 14Gy별로 각각 2마리의 마우스가 배정되었다. 모든 마우스는 방사선 조사 90시간 후에 경부탈구로 도살 개복 하여 위 유문부에서 6cm 이하 부위로부터 2cm 길이의 공장을 절단, 적출 하였고, 포르말린에 24시간 고정한 후 공장의 횡단면상을 관찰하기 위하여 마우스

당 3개의 조

직절편

을 제작, Hematoxylin-Eosin 염색하여 조직표본을 제작하였다. 재생 소낭선 측정은 Withers와 Elkind의 방법에 의하여 세포질은 거의 없고 핵이 명확한 세포가 10개 이상이 밀집된 소낭선을 방사선 조사 후 재생된 소낭선으로 판정하였다.[15)]

4. 결과 분석

방사선 조사후 각 마우스별로 피부 반응의 최고 점수를 구하고 방사선량별로 2.0 이상의 반응을 보인 마리 수를 세어 마우스 중 평균 50%에서 score 2.0 이상의 피부반응을 나타내게 하는데 필요한 방사선량 (Reaction Dose in 50% : RD_{50})을 logit analysis 법을 이용하여 계산하였다.

공장의 재생 소낭선 측정 실험에서는 마우스 별로 공장의 재생 소낭선수를 구하여 선량별로 평균 및 표준편차를 구하였으며 재생 소낭선의 평균 숫자를 비교하기 위하여 선량별 분석을 시행하였다. 또한 선형회귀분석을 시행하여 방사선 단독 조사군 및 GBE 투여후 방사선조사군의 평균치사선량(D_0)을 각각 구하였다.

결 과

1. 급성 피부반응

방사선 단독 조사군 및 GBE 투여후 방사선 조사군에서 공통적으로 방사선 조사 10일 후에 최초로 피부

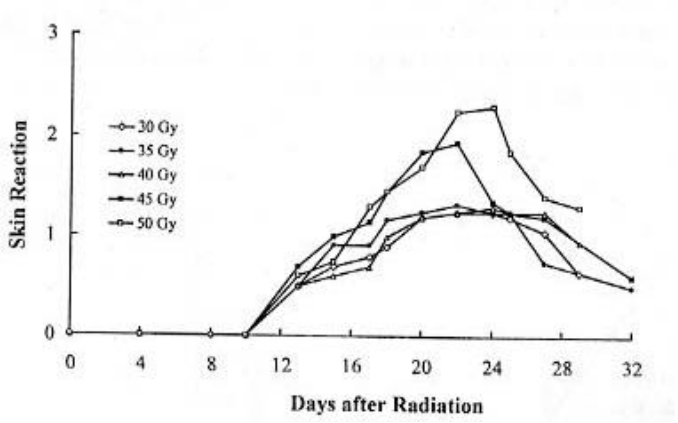

Fig. 1. Skin reaction in C3H mice after 2 doses GBE plus radiation. Average scores from five mice in each dose groups are shown. Skin reaction in C3H mice after radiation alone showed almost same result.

Table 1. Numerical Score System for Acute Skin Reactions

Score*	Observations
0.5	50/50 doubtful if there is any difference from normal
1.0	definite abnormality with reddening
1.0+	severe reddening and/or white scales and/or puffiness
1.5	moist desquamation in one small area < 5mm
2.0	moist desquamation on one side of limb only > 5mm
2.0+	moist desquamation on both sides of limb < 5mm
2.5	moist desquamation > 5mm on one side, < 5mm on other side
3.0	moist desquamation 5mm on both side, most of skin with moist exudation
3.5	moist desquamation > 10mm area on both surface

+ is equivalent to 0.25
* Modified from Fowler JF, et al. 1965

반응이 나타났으며 20-24일 사이에 최대 피부반응을 보이다가 그 이후에는 점차 피부반응이 감소하였다. 방사선 조사후 마우스 우측 하지에 생긴 피부반응은 방사선 조사선량이 증가함에 따라 증가하였다(Fig. 1). 방사선 단독 조사군에서 방사선량별 평균 점수의 최고치는 30Gy 시

1.20, 35Gy 시 1.30, 40Gy 시 1.40, 45Gy 시 1.80, 50Gy 시 2.70이었고, 점수 2.0 이상의 피부반응은 40Gy 이하에서는 없었으며 45Gy 조사 후 5마리 중 4마리, 50Gy에서는 5마리 중 5마리에서 나타났다. 이 결과 logit analysis에 의해 산출한 RD_{50}는 44.2Gy(95% 신뢰구간 : 40.6-48.2Gy)이었다.

GBE 투여후 방사선을 조사한 경우, 방사선량별 평균 점수의 최고치는 30Gy 시 1.25, 35Gy 시 1.33, 40Gy 시 1.30, 45Gy 시 1.95, 50Gy 시 2.30이었고, score 2.0 이상의 반응은 역시 40Gy 이하에서는 없었으며 45Gy 조사 후 5마리 중 4마리, 50Gy 조사 후 5마리 중 4마리에서 나타났다. 계산된 RD_{50}는 44.4Gy (95% 신뢰구간 : 41.6-47.4Gy)로서 방사선 단독군과 차이가 없었다(Fig. 2).

2. 공장의 재생 소낭선

방사선 단독 조사군과 GBE 투여후 방사선조사군에서 공통적으로 재생된 재생 소낭선의 관측치는 조사선량이 증가함에 따라 현저하게 감소하였다. 방사선 단독 조사군에서 관찰된 평균 재생 소낭선의 수 및 1 표준편차는

11Gy 113±9개, 12Gy 67±9개, 13Gy 46±10개, 14Gy 21±5개이었고, GBE 투여후 방사선조사군에서는 11Gy 111±10개, 12Gy 66±7개, 13Gy 48±11개, 14Gy 22±4개이었다. 양군간에 각 방사선량별 재생소낭선 수의 차이 여부를 확인하기 위하여 시행한 Wilcoxon log rank sum test 결과 11Gy p= 0.57, 12Gy p=0.81, 13Gy p=0.75, 14Gy p=0.94로서 방사선량별 재생소낭선 수의 차이는 없었다. D_0(평균치사선량)는 다표적모델(multitarget model)인 Survial Fraction=$1-(1-e^{-D/D0})^n$, 즉 log SF=log n-{(log e)/D_0}×D의 식을 이용하여 다음과 같이 구하였다. 즉 방사선량을 D로, 재생소낭선의 수를 SF로 하여 선형회귀분석을 시행하여 방사선 단독 조사군에서 log SF=

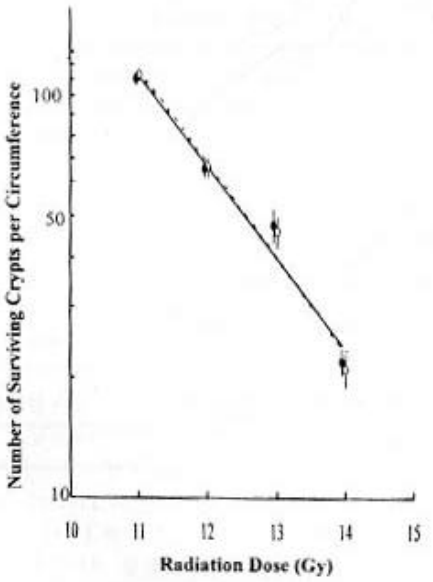

Fig. 2. Dose response curves for probability of skin reaction ≥ 2.0 by radiation dose. Dotted line and solid line represent radiation only and 2 doses GBE(100mg/kg) plus radiation, respectively. Horizontal bars represent RD50's for radiation only(dotted bar) and 2 doses GBE plus radiation(solid bar).

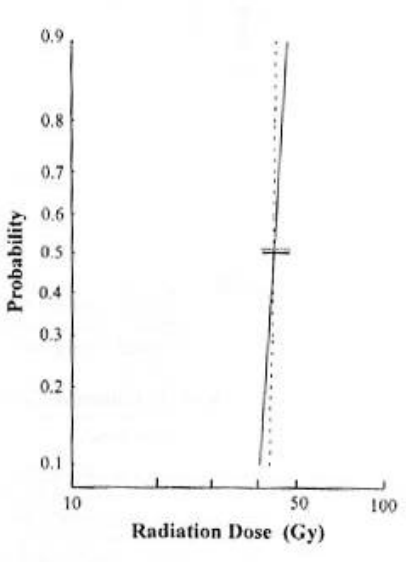

Fig. 3. Results of jejunal crypt assay in radiation alone and 2 doses GBE plus radiation groups. Lines represent regression line for two groups (dotted line and open circle, radiation only; solid line and closed circle, 2 doses GBE plus radiation). Vertical bars indicate one standard error.

-0.2356 D+4.661, GBE 투여 후 방사선조사군에서 log SF=-0.2247 D+4.5308의 추세식을 얻었으며, 추세식의 slope=-{(log e)/D_0}의 관계로부터 구한 D_0 (평균치사선량)는 방사선 단독 조사군에서 1.80Gy (95% 신뢰구간 : 1.57-2.09Gy), GBE 투여후 방사선조사군에서 1.88Gy(95% 신뢰구간 : 1.65-2.18Gy)이었다 (Fig. 3).

고 찰

암으로 인한 환자의 사망원인 중 40 내지 60%가 국소 종양조절의 실패이며, 화학요법 등의 전신적 치료에 의하여 원격전이에 의한 사망률이 더욱 감소한다면 국소 종양조절의 중요성이 더욱 강조될 전망이다.[16] 방사선치료 후 국소 종양조절에 실패하는 원인 중의 하나는 종양내 저산소세포의 존재인 것으로 추정되며, 이는 자궁경부암, 폐암 혹은 두경부종양에 대한 고압산소요법의 부분적 효과와 자궁경부암 또는 두경부종양에서 헤모글로빈을 일정치 이상 유지함으로써 국소적 종양치유율을 향상시킨 보고 등에 의하여 뒷받침된다.[3, 17]

저산소세포의 방사선 감수성을 높이기 위한 방법으로 고압산소요법, 고 LET 방사선치료법, 온열요법, 저산소세포 방사선민감제(hypoxic cell radiosensitizer) 등이 있다. 이 중 저산소세포 방사선민감제는 산소와 유사한 기전으로 유리기 (free radical)와 반응함으로써 방사선의 생화학적, 생물학적 효과를 나타내게 하는 약물로서, nitroimidazole 유도체들인 metronidazole, misonidazole(Ro-03-0582), pimonidazole (Ro-03- 8799), etanidazole(SR-2508), RSU-1069 등이 저산소세포 민감제로 개발되었다. 이 중 misonidazole을 이용한 국소진행된 두경부 종양 환자를 대상으로 한 3상 임상실험에서는 이 약제의 위장관 및 신경계통의 심한 부작용으로 인하여 사용 횟수 및 용량이 제한되었으며 방사선 단독 사용군과 비교하여 치료효과의 차이가 없는 것으로 나타났다.[18] misonidazole에 비하여 신경독성이 적은 것으로 알려진 etanidazole(SR- 2508)의 경우, 절제가 불가능한 두경부 종양 환자를 대상으로 한 임상실험 결과 일부 환자 군에서 효과가 있거나 별다른 효과가 없는 것으로 보고되고 있다.[19, 20]

저산소세포 방사선민감제와 더불어 종양내의 저산소세포 분획을 감소시켜 국소 종양치유율을 향상시키고자 하는 노력이 있어왔다. 저산소세포의 분획을 감소시키고자 하는 시도는 종양내의 혈류를 증가시키려는 노력과 Perfluorochemical 등 산소운반 물질을 사용하는 방법 등으로 나누어진다. 적혈구의 유동성을 개선하여 미세 혈관 내 적혈구의 흐름을 증가시키는 것으로 알려진 pentoxifylline과 종양의 급성 저산소 상태를 개선시키는 것으로 알려진 nicotinamide 등은 종양내의 혈류를 증가시키는 약제들로서, 방사선의 급성 정상 조직 반응의 증가 없이 저산소 상태를 개선시킴으로써 방사선민감제로 시도되어져 왔다.[9, 21, 22] Hydralazine은 말초혈관 확장 효과가 있어 혈압강하제로 쓰이는 약물로 종양내 혈류량을 증가시킬 목적으로 투여하였으나 전신적인 혈관 확장에 의한 혈압 강하로 인하여 종양내 혈류량이 오히려 감소하여 암조직내 저산소세포의 분획이 크게 증가되는 결과를 가져왔으며 이러한 효과는 오히려 이를 이용하여 온열요법의 효과를 상승시키는 목적으로 이용되고 있다.[23, 24] Perfluorochemical은 산소분압이 높으면 다량의 산소와 결합하고 산소분압이 낮으면 산소를 방출하는 역할을 하는 물질로서 두경부 종양에서 방사선치료시 병용되어 종양의 완전관해율이 76%에 이르는 등 방사선치료 효과를 향상시킬 수 있음이 보고되었고 알레르기 반응 및 간독성 등의 부작용이 있으나 대개는 경미한 것으로 나타났다.[25]

은행잎은 수 세기동안 한국 및 중국 등지에서 천식 또는 기관지염 등의 치료에 쓰여져 왔으며 유럽에서는 그 추출물이 뇌졸중 및 말초혈액 순환장애 등에 이용되고 있다. Ginkgo biloba extract의 성분 중에는 24-25%의 ginkgoflavone glycoside와 6%의 terpenoid가 함유되어 있으며 그 약리 작용상 혈액 순환장애로 인한 여러 질병에 쓰이고 있다. 일반적으로 방사선치료시 방사선량을 제한하는 요소는 정상조직에의 부작용이며 따라서 GBE가 이미 증명된 종양조직의 방사선감수성을 증가시키는 것과 더불어 정상조직의 방사선감수성을 증가시키지 않는다면 같은 방사선량으로 정상조직에 대한 부작용의 증가 없이 더 높은 종양조절률을 보일 것으로 기대할 수 있다.

정상조직 방사선 손상 연구에 있어서 대부분의 연구자들은 폐 혹은 신장과 같은 지연반응조직 (late-responding tissue) 보다는 피부 혹은 공장 소낭선 등의 급성반응조직(early-responding tissue)에 초점을 맞추어 왔다.[26] 마우스 피부반응 측정실험은 그 점수 측정 방법이 주관적인 것이기는 하지만 통상 2인의 관찰자가 같이 참여하였을때 0.25 이상의 점수 차이를 보이지 않는 것으로 보고되었고, 이번 실험에서도 2인의 관찰자가 참여, 동시에 점수를 판정하여 서로 의견이 다른 경우에는 토론 후 점수를 결정하는 방법을 택

하였는데 서로간에 이견이 있는 경우에도 0.25 이상의 차이는 보이지 않았다.[26] 흔히 마우스 피부반응 측정은 여러 가지 치료방법, 즉 방사선 분할조사법 연구, 방사선종류간의 비교연구, 방사선 선량률 연구, 항암제 병용 연구, 방사선 민감제 및 보호제 연구 등에 널리 사용되어 왔으며 급성반응과 만성반응을 나누어 측정하는 것으로 되어있다.[14] 이중 급성반응은 대개 방사선조사 후 10일 전후에 나타나기 시작하여 약 20일 내지 24 일에 최대 반응을 보이다가 그 이후는 점차 점수가 감소하는 것으로 알려져 있으며 이들 측정치를 가지고 방사선량에 따른 평균 피부반응 점수, 방사선조사 후 시간에 따른 변화, RD50 등을 구하여 치료방법간에 반응의 차이를 살펴보는데 사용된다. 본 실험에서도 방사선조사 10일 후에 최초의 반응이 나타났고 약 20-24일에 최대 피부반응을 보였다.

마우스 하지 피부에는 저산소세포 분획이 어느 정도 존재한다고 알려져 있으며 이번 연구에서도 GBE가 이들 정상조직내의 저산소세포에 대한 혈류를 증가시켜 GBE 투여후 방사선조사군에서 다소 높은 반응을 보일 가능성이 있는 것으로 예상하였으나 RD_{50}를 비교한 결과 방사선 단독조사군 44.2Gy, GBE 병합군은 44.4Gy로 전혀 차이가 없었다.[26] 이는 정상조직의 저산소세포 분획이 종양세포 만큼 높지 않아 이의 감소가 피부반응에 영향을 미칠 정도가 아닌 것으로 판단된다.

소장내 소낭선세포는 소장 융모상피의 내막을 형성하는 stem 세포로서 분열속도가 매우 빠르고 방사선조사후 소낭선의 재증식(repopulation)은 세포주기가 12시간 이내로 매우 활발하여 10Gy 이상 방사선조사시 3-4일 후에는 재생소낭선(regenerating crypt)을 관찰할 수 있으며 이러한 특징을 이용하여 1969년 Withers는 방사선조사 13일 후에 방사선조사된 공장 점막의 결절을 육안적으로 관찰하여 세포생존곡선을 작성하는 macrocolony technique을 고안한 후, 1970년 전신조사후 마우스 공장 소낭선 재생을 현미경적으로 관찰하는 재생 소낭선 측정법을 고안하였다.[15] 이후 여러 저자들에 의하여 재생 소낭선 측정법을 이용한 분할조사시 준치사선량(sublethal damage)의 회복선량(repair dose) 측정, 각종 항암제와의 병용치료시 dose effect factor의 정량적 분석 등에 이용되어왔다.[27-29]

세포생존곡선에서 평균치사선량은 D_0 혹은 D37로 표시되는데 세포생존곡선의 기울기와 일치하며, 일정 세포군중 37%의 세포만이 생존하는데 해당하는 방사선량을 의미한다. 이는 방사선 감수성의 지표가 되며 여러 저자들에 의하면 마우스 공장 소낭선의 평균치사선량은 1-1.4Gy로 보고되고 있다.[15, 30, 31] 이번 실험에서 방사선 단독조사군의 평균치사선량은 1.80Gy(1.57- 2.09Gy), GBE 투여후 방사선조사군은 1.88Gy(1.65- 2.18Gy)로 거의 동일하였으며, 각 방사선량별 재생소낭선의 수도 양군간에 차이를 보이지 않음으로써 마우스 공장 소낭선의 재생에 GBE가 영향을 끼치지 않는 것으로 나타났다.

본 연구결과 방사선 단독조사군과 비교하였을 때 GBE 투여후 방사선조사군에서와 동일한 정상조직 반응을 보였고 따라서 기존의 종양조직에의 향상된 조절율을 보인 실험결과와 더불어 높은 치료적 이득을 보임으로서 향후 GBE의 임상실험을 위한 토대를 마련하였다는데 의의가 있겠다.

결 론

Ginkgo biloba extract가 마우스 피부 및 공장 소낭선의 방사선감수성에 미치는 영향을 규명하기 위하여 마우스 피부반응 측정실험과 마우스 공장 소낭선 측정실험을 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 각 조사군에서 피부반응은 방사선조사 10일 후에 최초로 나타나 20-24일에 최대 반응이 나타났으며 그 이후에는 반응이 감소하였다. 피부반응은 방사선조사선량이 증가함에 따라 증가하였다.

2) 피부반응 점수 2.0 이상을 기준으로 한 RD50는 방사선 단독 조사군에서 44.2Gy(95% 신뢰구간 : 40.6- 48.2Gy)이었고, GBE를 투여후 방사선을 조사한 경우 44.4Gy(95% 신뢰구간 : 41.6-47.4Gy)로 나타나 차이가 없었다.

3) 공장 재생 소낭선의 수는 방사선 단독조사군 및 GBE 투여후 방사선조사군에서 공통적으로 방사선 조사선량이 증가함에 따라 현저하게 감소하였고 각 방사선량별 재생소낭선의 수는 양군간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

4) 공장 재생 소낭선 측정 실험에서 평균치사선량(D_0)은 방사선 단독 조사군에서 1.80Gy(95% 신뢰구간 : 1.57-2.09Gy), GBE 투여 후 방사선조사군에서 1.88 Gy(95% 신뢰구간 : 1.65-2.18Gy)로서 차이를 보이지 않았다.

따라서 방사선에 의한 급성 정상조직 반응에 있어서 GBE에 의하여 정상조직 손상이 증가되지 않는 것으로 보이며 GBE 투여후 방사선조사시 이미 증명된 종양세포에의 치료증강효과와 더불어 높은 치료적 이득이 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. **Moulder JE and Rockwell S.** Hypoxic fraction of solid tumors: experimental techniques, methods of analysis, and a survey of existing data. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1984; 10:695-712
2. **Overgaard J and Horsman MR.** Overcoming hypoxic cell radioresistance. In : Steel GG, eds. Basic Clinical Radiobiology. London : Edward Arnold 1993: 163-172
3. **Hirst DG.** Oxygen delivery to tumors. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1986; 12:1271-1277
4. **Horsman MR, Chaplin DJ, Overgaard J.** Combination of nicotinamide and hyperthermia to eliminate radioresistant chronically and acutely hypoxic tumor cells. Cancer Res 1990; 50:7430-7436
5. **Siemann DW, Horsman MR, Chaplin DJ.** The radiation response of KHT sarcomas following nicotinamide treatment and carbogen breathing. Radiother Oncol 1994; 31:117-122
6. **Siemann DW.** Tissue oxygen manipulation and tumor blood flow. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1992; 22:393-396
7. **Kleijken J, Knipschild P.** Ginkgo biloba. Lancet 1992; 340:1136-1139
8. **Chung KF, Dent G, McCusker M, et al.** Effect of a ginkgolide mixture (BN 52063) in antagonising skin and platelet responses to platelet activating factor in man. Lancet 1987; i:248-251
9. **Jung F, Mrowietz C, Kiesewetter H, et al.** Effect of Ginkgo biloba on fluidity of blood and peripheral microcirculation in volunteers. Arzneimittelforschung 1990; 40:589-593
10. **Koltringer P, Eber O, Lind P, et al.** Mikrozirkulation und viskoelastizitat des vollblutes unter Ginkgo-biloba-extrakt. Eine plazebokontrollierte, ralomisierte doppelblind-studie. Perfusion 1989; 1:28-30
11. **조문준, 이춘자, 하성환 등**. Ginkgo biloba extract가 방사선에 의한 C3H 마우스 섬유육종의 종양성장 지연에 미치는 영향. **대한암학회지** 1994; 27:482-489
12. **조철구, 이춘자, 하성환 등.** Ginkgo biloba extract가 C3H 마우스 섬유육종의 저산소세포분획에 미치는 영향. **대한치료방사선과학회지** 1995; 13:205-214
13. **Ha SW, Yi CJ, Cho CK, et al.** Enhancement of radiation effect by Ginkgo biloba extract in C3H mouse fibrosarcoma. Radiother Oncol 1996; 41:163-167
14. **Lelieveld P, Brown JM, Phil D, et al.** The effect of BCNU on mouse skin and spinal cord in single drug and radiation exposure. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1979; 5:1565-1568
15. **Withers HR, Elkind MM.** Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa exposed to radiation. Int J Radiat Biol 1970; 17:261-267
16. **Wasserman TH, Chapman JD, Coleman CN, et al.** Chemical modifiers of Radiation. In : Perez CA, Brady LW, eds. Principles and practice of radiation oncology. 3rd ed. Philadelphia; JB Lippincott, 1998: 685-704
17. **김미숙, 하성환. 초기 자궁경부암에서 치료전 예후 인자. 대한치료방사선과학회지** 1992; 10:59-67
18. **Van der Bogaert W, van der Schueren E, Horiot JC, et al.** The EORTC randomized trial on three fractions per day and misonidazole (trial no. 22811) in advanced head and neck cancer: Long term results and side effects. Radiother Oncol 1995; 35:91-99
19. **Chassagne D, Charreau I, Sancho-Garnier H, et al.** First analysis on tumor regression for the European randomized trial of etanidazole combined with radiotherapy in head and neck carcinomas. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1991; 22:581-584
20. **Lee D-J, Cosmatos D, Marcial VA, et al.** Results of an RTOG phase III trial (RTOG 85-27) comparing radiotherapy plus etanidazole with radiotherapy alone for locally advanced head and neck carcinomas. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1995; 32:567-576
21. **Horsman MR.** Nicotinamide and other benzamide analogs as agents for overcoming hypoxic cell radiation resistance in tumors. A review. Acta Oncol 1995; 34:571-587
22. **Song CW, Makepeace CM, Griffin RJ, et al.** Increase in tumor blood flow by pentoxifylline. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1994; 29:433-437
23. **박우윤, 하성환, 박찬일.** C3H 마우스 섬유육종의 온열치료시 hydralazine이 미치는 영향. **대한암학회지** 1995; 27:671-679
24. **Chaplin DJ, Acker B.** The effect of hydralazine on the tumor cytotoxicity of the hypoxic cell cytotoxin RSD 1069: evidence for therapeutic gain. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1986; 13:579-586
25. **Lustig R, McIntosh-Lowe N, Rose C, et al.** Phase I/II study of flusol-DA and 100% oxygen as an adjuvant to radiation in the treatment of advanced squamous cell tumors of the head and neck. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1988; 16:1587-1593
26. **Urano M, Kenton LA, Khan J.** The effect of hyperthermia on the early and late appearing mouse foot reactions and on the radiation carcinogenesis : effect on the early and late appearing reactions. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1988; 15: 159-166
27. **고병희, 함창곡, 김정진 등. 단일조사와 분할조사시 마우스 공장 소낭선세포의 방사선 효과에 관한 실험적 연구. 대한치료방사선과학회지** 1985; 3:1-8
28. **허승재, 박찬일. 마우스 공장 소낭선세포의 방사선 감수성에 관한 실험적 연구. 대한치료방사선과학회지** 1985; 3:9-12
29. **Von der Maass H.** Interaction of radiation and 5-FU, cyclophosphamide or methotrexate in intestinal crypt cells. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1984; 10:77-86

30. **Elkind MM, Sutton GH, Mosses WB, et al.** Radiation responses of mammalian cells in culture. V. temperature dependence of the repair of x-ray damage in surviving cells(aerobic and hypoxic). Radiat Res 1965; 35:359-476
31. **Elkind MM, Swain RW, Alescio T, et al.** Radiobiology in radiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1984; 10:1143-1148

= 국문 초록 =

Ginkgo Biloba Extract가 마우스 피부 및 공장 소낭선의 방사선감수성에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 치료방사선과학 교실*, 암연구소 방사선생물학 연구실†,
삼성서울병원 치료방사선과‡

신 경 환*,‡ · 하 성 환*,†

목 적 : 혈관수축이완작용 및 혈액점도저하의 약리작용을 가져 말초혈관의 혈류를 증가시키는 것으로 알려진 은행잎 추출물인 Ginkgo biloba extract(GBE) 투여후 방사선 조사시 마우스 종양에서 방사선 효과가 증강됨이 확인되었다. 즉 저산소세포 분획이 감소되었으며 따라서 암조직의 혈류증가가 간접적으로 증명되었다. 방사선효과 증강제인 경우 암조직에 대한 효과가 정상조직에 대한 효과보다 더 커야한다는 것은 필수적이다. 이에 저자들은 GBE 투여후 방사선조사시 마우스 정상조직 급성 반응의 증가여부 및 그 정도를 확인하기 위하여 본 실험을 시행하였다.

대상 및 방법 : 방사선에 대한 급성 피부 반응의 측정 및 공장 재생 소낭선 측정을 위해서 C3H 마우스를 방사선 단독 조사군과 GBE 투여후 방사선조사군으로 나누었다. GBE는 방사선조사 24시간 전과 1시간 전에 각각 복강 내에 2회 주사하였다. 급성 피부 반응 측정 실험에서는 30-50Gy가 마우스 우측 하지에 조사되었고, 공장 재생 소낭선 측정 실험에서는 11-14Gy가 마우스 전신에 조사되었다.

결 과 : 방사선에 의한 급성 피부반응 점수 2.0 이상에 해당하는 RD_{50}는 방사선 단독조사군에서 44.2Gy(40.6-48.2Gy)이었고, GBE 투여후 방사선 조사시에는 44.4Gy(41.6-47.4Gy)로서 GBE에 의한 영향이 없었다. 방사선 단독 조사군 및 GBE 투여후 방사선조사군의 각 방사선량에 따른 마우스 공장 재생 소낭선의 수는 차이를 보이지 않았다(p=0.57-0.94). 평균치사선량(D_0)은 방사선 단독조사시 1.80Gy(1.57-2.09Gy), GBE 투여후 방사선조사를 병용시 1.88Gy(1.65-2.18Gy)로서 GBE에 의한 영향이 없었다.

결 론 : C3H 마우스에서 방사선에 의한 급성 정상조직 손상은 GBE에 의하여 전혀 증가되지 않는 것으로 판단되며 이미 증명된 종양세포에 대한 치료효과의 증강과 더불어 방사선치료시 GBE를 병용함으로써 치료적 이득을 얻을 수 있을 것으로 예상된다.