대한방사선종양학회지 2003;21(3):216 ~ 221

선택적 Cyclooxygenase - 2 억제제인 Celecoxib가 상이한 Cyclooxygenase - 2 발현량을 가진 인간 암세포주들에 대하여 유도하는 방사선 감수성 증진 작용

국립암센터 호발암연구부 폐암연구과*, 연세대학교 암전이연구센터†,
두뇌한국21 의과학사업단‡, 의과대학 방사선종양학교실§, 연세암센터‖

표홍렬*,신유근†,김현석‡,성진실§‖,서창옥§‖,김귀언§‖

목 적: Cyclooxygenase-2 (COX-2)를 과발현하는 A549 인간폐암세포주와 발현하지 않는 MCF-7 인간유방암세포주에서 선택적 COX-2 억제제인 celecoxib의 방사선 감수성 증진 작용을 관찰하고자 하였다.

대상및방법: A549 세포와 MCF-7 세포에대해서 방사선 혹은 방사선과 celecoxib를 병용 투여한후에 clonogenic radiationsurvival 실험을 시행하였다. 같은 실험을 각각 10%와 1%의 FBS를 포함한 배지에서 반복하였다. 각 세포에 방사선과 celecoxib를 동시 혹은 단독 투여한 후에 각 실험 그룹의 세포사멸을 측정하였다.

결 과: 약물 투여 기간동안 10%의혈청을포함한배지조건에서배양된 A549 세포에서는, 30 μM과 50 μM 농도의 celecoxib가 투여된 상태에서 surviving fraction=0.1에서의 Radiation enhancement ratio (RER)가 각각 1.58과 1.81로 celecoxib가 A549 세포의 방사선 감수성을 증가시켰다. 이러한 방사선 감수성의 증가는 세포를 1%의 혈청을 포함한 배지에서 배양하였을때는 소실되었다. MCF-7 세포에서는 10%와 1% 혈청을 포함한 각각의 배지조건 하에서 celecoxib에의한방사선감수성의변화가관찰되지않았다. A549와 MCF-7 세포의각그룹에서세포사멸을측정한 결과 celecoxib와 방사선이 병용 투여되었을 때 유도되는 세포사멸은 상호 상승적이지 않은 것으로 나타났다.

결 론: COX-2 선택적 억제제인 celecoxib는 COX-2를 과발현하는 A549 세포에서 선택적으로 방사선 감수성을 증진시켰으며, 저농도의혈청을 포함한 배지조건에서는 이러한 효과가소실되었다. COX-2를발현하지않는 MCF-7 세포주에서는 celecoxib에 의해서 방사선 감수성이 변화되지 않았으며, 이러한 celecoxib의 방사선 감수성 증진 작용 기전에 세포 사멸은 관여하지 않는 것으로 보인다.

핵심용어: Cyclooxygenase-2, COX-2, 방사선, A549, MCF-7

서 론

Cyclooxygenase (COX)는 세포막에서 유리된 arachidonic acid를 prostagladin들을 포함한 각종 prostanoid로 변환시키는 효소이다. 두 종류의 isoform이 존재하는데 cyclooxygenase-1 (COX-1)은 신체내 많은 세포에서 항시적으로 발현되며 위장관 보호기능을 포함한 여러 가지생리기능의 항상성 유지에 관여하고, cyclooxygenase-2 (COX-2)는 평상시에는 발현되지 않다가 cytokine, 성장촉진인자들, tumor promoter 등의 여러 자극에 의하여 빠르게 유도되며 염증반응 유발이 대표적인 기능이다.[1,2]

이전부터 많은 종류의 인간[3 ~ 9]과 동물[10]의 종양에서 COX-2가 과발현되어 있다는 것이 알려져 있었으며, COX-2 선택적 억제제가 발암을 방지하는 효과가 있고,[11,12] in vitro와 in vivo에서 자란 종양의 성장을 억제하는 효과가 있음이 확인되었다.[8,13 ~ 19]

많은 종류의 비스테로이드성 소염제(NSAID)들이 비특이적 COX 억제제들이며, 이들이 암세포에 대한 방사선 효과를 증진시키는 것이 보고되어 있으며,[20 ~ 22] 최근에 소수의 논문을 통하여 invivo와 in vitro에서 선택적 COX-2 억제제

이 논문은 2001년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2001-003-F00163).
이 논문은 2003년 3월 26일접수하여 2003년 8월 29일채택되었음.
책임저자: 표홍렬, 국립암센터 호발암연구부 폐암연구과
Tel: 031)920-0128, Fax: 031)920-0149
E-mail: quasar93@ncc.re.kr

도 방사선 감수성 증진 작용이 있음이 확인되었다.[10,23,24] 본 연구자들은 rat의 장상피 세포에 COX-2 cDNA를 stable transfection하여 실험한 결과, COX-2 선택적 억제제인 NS- 398의 방사선 감수성 증진효과는 COX-2 과발현 rat 장상피 세포에서만 관찰되었으며, 같은 현상이 COX-2 과발현 혹은 저발현 인간 종양세포주(both i*n vitro* and *in vivo*)에서도 관찰됨을 보고한 바 있다.[25]

이러한 COX-2 선택적 억제제의 방사선 감수성 증진 작용이 소수의 암세포주에서만 확인되었으므로, 이것이 많은 세포주에서 일어나는 공통적인 현상인지, 그리고 모든 COX-2 선택적 억제제가 같은 효과를 가지고 있는지는 아직 알려진 바가 없다. 이에 본 연구자들은 또다른 COX-2 과발현 세포주이면서 방사선에 매우 저항성이 강하고 여하한 약제에도 잘 radiosensitize되지 않는 것으로 알려진 A549 인간폐암세포주와, 이의 대조군으로 비교적 방사선에 민감하며 COX-2를 발현하지 않는 MCF-7 인간유방암 세포주를 대상으로, 선택적 COX-2 억제제인 celecoxib의 방사선 감수성 효과를 비교 측정하였다.

대상 및 방법

1. 세포 배양

인간의 폐암세포주인 A549와 유방암세포주인 MCF-7은 ATCC로부터 구입하였으며 지침에 따라 배양하였다. MEM 배지(Life Technologies, Inc., Rockville, MD, USA)에 10% Fetal bovine serum (FBS), 50 units/ml penicillin (Life Technologies, Inc.)와 50 μg/ml streptomycin을 첨가하여 배양하였으며, 세포주는 일정한 passage내의 것으로 90% 이하로 confluent한 것만을 실험에 사용하였다.

2. Clonogenic radiation survival experiment

log 성장기에 있는 세포를 trypsinize하여 계수한 후, 순차적 희석을 통하여 각 그룹당 3개의 25 cm^2 플라스크에 적당한 숫자의 암세포를 분주하였다. 24시간동안 세포가 플라스크 바닥에 붙도록 CO_2 배양기에서 배양하였다. celecoxib는 Pharmacia corporation (St Louis, Missouri, USA)의 협조로 공급 받았으며 DMSO에 녹인 celecoxib stock 용액을 -20°C에 보관하였다가 실험 직전에 적당한 양의 DMSO에 희석한 뒤 사용하였다. 세포들을 DMSO 단독 혹은 여러 농도의 celecoxib에 4시간 동안 노출시킨 뒤, Cesium cell irradiator (Gammacell® 1000 Elite, MDS Nordion, Ottawa, ON, Canada)를 이용하여 순차적 선량의 방사선에 노출시켰다. 모든 그룹에서 배지내의 DMSO의 최종 농도는 0.2%로 일정하게 조정하였다. 이후 68시간 동안 CO_2 배양기에서 배양한 후 신선한 배지로 교환하였고, 7일간 다시 배양한 후 0.5% Crystal violet (Sigma Chemical Co.) 용액으로 세포집락을 염색한 뒤 50개 이상의 세포수를 가진 집락만을 육안으로 계수하였다. 같은 실험을 약물이 투여되는 72시간 동안 1% FBS를 포함한 배지에서도 시행하였다. 세포생존분율(SF; Surviving Fraction)은 다음과 같이 계산하였다.

SF=계수한 평균 집락수/(분주한 세포수×Plating efficiency)

Plating efficiency=대조군의 평균 집락수/대조군에 분주한 세포수

방사선과 celecoxib를 병용 투여한 군에서의 SF는 celecoxib 단독의 SF로 나누어서 normalize하였다. Radiation enhancement ratio (RER)는 다음과 같이 계산하였다.

RER=(SF 0.1에 대응하는) 방사선+DMSO 군에서의 방사선량(Gy)/방사선+celecoxib 군에서의 방사선량

여기서 방사선+celecoxib 군에서의 방사선량은 celecoxib 단독 효과에대하여 normalize한 이후의 값을사용한다. 모든 실험은 3번 이상 독립적으로 반복하여 평균값의표준오차로 오차막대를 표시하였다.

3. 세포사멸(apoptosis) 측정

in vitro에서 세포사멸이 일어나는 비율을 APOPercentage™ Apoptosis Assay kit (Biocolor, Belfast, Northern Ireland)를 이용하여 측정하였다. kit 공급 회사에서 제공한 지침대로 시행하였으며 간단히 요약하면 다음과 같다. 96 well plate에 적당한 개수의 세포(2,000 ~ 5,000)를 분주한 후 24시간 뒤에 각 실험 그룹별로 방사선 혹은 celecoxib를 투여한 후, 48시간 뒤에 배지를 제거하고 5 μl APOPercentage 염색액: 95 μl 신선 배지의 비율로 섞은 신선한 배지로 교환해 준다. 이후 1시간 동안 CO_2 배양기에서 배양한다. 배지를 버리고 Phosphate buffered saline으로 well을 세척한 후 현미경 하에서 염색된 세포를 계수한다. 각 그룹당 최소한 500개 이상의 세포를 계수한 후 이 세포 중의 세포사멸된 세포의 개수를 비율로 산출하였다.

결 과

A549 세포주와 MCF-7 세포주가 각각 COX-2를과발현하는 것과 저발현하는 것을 RT-PCR과 westernblot으로 확인하였고(데이터 제시하지 않음), A549 세포주와 MCF-7 세포주에서 celecoxib 단독의세포독성 실험을 시행하여 각 세포주에서의 celecoxib의 IC_{50} 값을 구하였으며, 10% FBS가 포함된 배지에서는 A549와 MCF-7 각각 약 42 μM과 50 μM이었으며, 1% FBS가 포함된 배지에서는각각 9 μM과 12 μM이었다(Fig. 1). 이 결과를 이용해서 radiation survival 실험에서 A549 세포는 10% FBS 배지에서는 30 μM와 50 μM을, 1% FBS 배지에서는 10 μM을 사용하여 실험하였고, MCF-7 세포에서는 10% FBS 배지에서는 40 μM을, 1% FBS 배지에서는 10 μM의 celecoxib를 사용하여 실험을 진행하였다.

A549 세포에서는 정상적인 10% FBS 배지 조건하에서는 celecoxib와 방사선이 병용 투여된 경우에 celecoxib의 용량에 비례하여 방사선 감수성이 증가하였으나 이러한 현상이 1% FBS 배지 조건하에서는 소실되었다(Fig. 2). MCF-7 세포에서는 10%와 1% FBS 배지 조건 모두에서 celecoxib에 의한 방사선 감수성의 변화를 보이지 않았다(Fig. 3). 10% FBS 배지 조건하에서의 A549 세포에 대한 celecoxib의 RER은 SF 0.1에서 30 μM과 50 μM의 celecoxib의 농도하에서 각각 1.58과 1.81이었다(Table 1).

A549 세포와 MCF-7에서 celelcoxib에 의한 방사선 감수성 증진 작용의 기전을 분석하기 위한실험의일환으로세포사멸을 측정하였다. 각 그룹에서 APOPercentage™ 염색

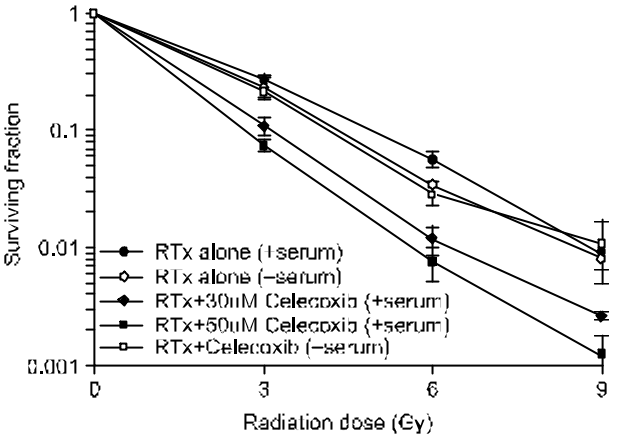

Fig. 2. Radiation survival curves for A549 after treatment with radiationand/orcelecoxib.Attached cells wereexposedtograded doseofradiation with or without 30 or 50 μM celecoxib in 10%, or 10 μM celecoxib in 1%, FBS containing medium, and medium changed with fresh one containing 10%FBSafter72hours.Cells were allowed to form colonies and counted.Error barsrepresent standard error of the mean of 3 independent experiments.

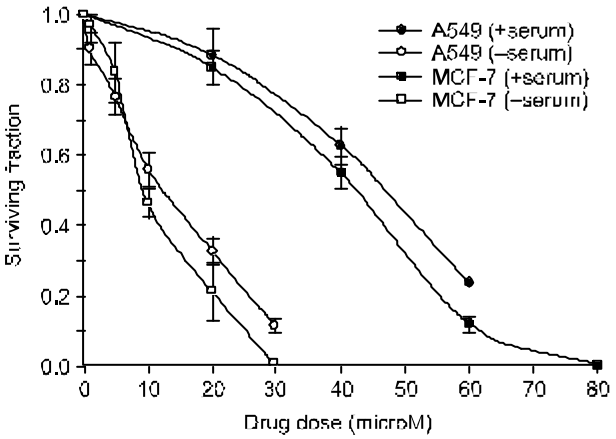

Fig.1. Cytotoxicity curvesforcelecoxibonA549 and MCF-7 cells. Attached cells were exposedto various dosesofcelecoxibin10% or 1% FBScontaining medium, and medium changed with fresh one containing 10% FBS after 72 hours. Cells were further incubatedfor6 ~ 7 daystoformcolonies,stainedwith0.5%crystal violet,and manually counted.Error bars representstandarderror of the mean of 3 independent experiments.

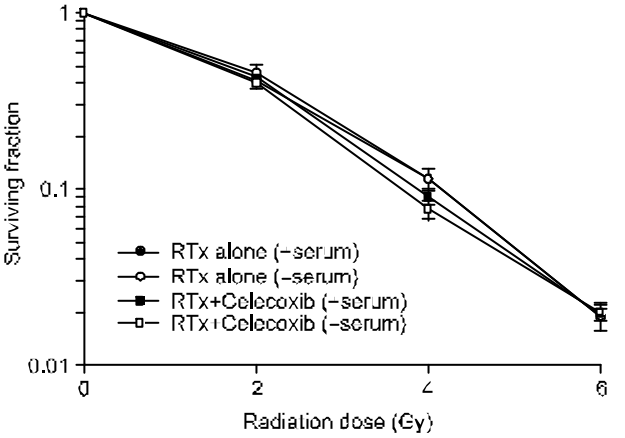

Fig.3. RadiationsurvivalcurvesforMCF-7aftertreatment with radiationand/orcelecoxib.Attached cells wereexposedtograded dose ofradiationwithorwithout40 μM celecoxib in10%,or10 μM celecoxib in 1%, FBS containing medium, and medium changed with fresh one containing 10% FBS after 72 hours. Cells were allowed to form colonies and counted. Error bars represent standard error of the mean of 3 independent experiments.

Table1.RadiationEnhancementRatios(RERs)ofCelecoxibforA549and MCF-7 Cells

	RER
A549 cells	
With 10% serum	
At SF* with 30μM celecoxib	1.58
At SF with 50μM celecoxib	1.81
With 1% serum	1.04
MCF-7 cells	
With 10% serum	1.06
With 1% serum	1.12

*SF: surviving fraction

액에 진하게 염색된 세포를 현미경으로 계수하였으며, 정상세포에 대한 세포사멸된 세포의 비율로 나타냈다. 실험결과 A549 세포와 MCF-7 세포에서 celecoxib에 의한 세포사멸 유도효과는 방사선과 상호상승적(synergistic)이지 않은 것으로 나타났다(Table 2).

Table2.ApoptosisbyRadiationwithorwithoutCelecoxibinA549 and MCF-7 Cells

Group	% apoptosis	S.E.M. (%)*
A549		
Control	2.3	±0.6
Celecoxib alone	4.3	±0.3
Radiation alone	3.2	±0.5
Radiation+celecoxib	7.8	±1.3
MCF-7		
Control	8.2	±1.5
Celecoxib alone	14.7	±3.4
Radiation alone	9.7	±2.4
Radiation+celecoxib	28.7	±8.5

*S.E.M: represents standard error of the mean

고안 및 결론

COX-2를 과발현하며 비교적 방사선에 저항성이 강한 A549 세포에서는 COX-2 선택적 억제제인 celecoxib에 의해서 RER 1.58 ~ 1.81 정도의 효과로 방사선 감수성 증진 작용이 일어났는데 비하여, COX-2를 발현하지 않는 MCF-7은 비교적 방사선에 민감함에도 불구하고 celecoxib에 의한 방사선 감수성 증진 효과를 보이지 않았다. 이는 COX-2 선택적 억제제가 COX-2 과발현 세포에 대해서만 선택적으로 방사선 감수성 증진 효과를 보였던 이전의 본 연구자들의 보고와 일치하는 결과이며, 이로써 COX-2 선택적 억제제의 방사선 감수성 증진 작용은 여러 종류의 COX-2 선택적 억제제를 통하여 보다 다양한 종류의 세포에서 나타남을 확인하였고, 또한 이 효과가 COX-2 의존적임을 알 수 있었다.

A549 세포에서 보였던 celecoxib의 방사선 감수성 증진 작용이 FBS 농도를 1%로 낮추었을 경우 소실되는 이유는 아직 명확하지 않다. 한가지 가능성은 배지내의 낮은 혈청 농도로 인하여 세포 주기가 연장되어서 혹은 각 세포주기 내에 있는 세포의 비율의 변화로 인하여 COX-2 억제제의 방사선 감수성증진효과가변화되었을가능성이다. COX-2 혹은 COX-2 억제제와 세포 주기와의 연관성은, 보고되고 있는 데이터가 아직 혼란스러운 양상을 보이고 있는데, COX-2 과발현이 G1arrest를 유도하며,[26] 역으로 COX-2 억제제가 G1 arrest를 유도하든가[27] 혹은 세포에 따라서 G2/M arrest를 야기한다는 보고[28]도 있다. 아울러 같은 세포에서도 세포주기에 따라서 COX-2 mRNA 발현량이 차이가 있다고 보고되기도 하였다.[29,30] 종합하여 볼 때 COX-2 혹은 COX-2 억제제는 세포에 따라 다르기는 하지만 세포 주기 조절 기전과 관련이 있는 것으로 생각되고 있고, 배지내의 낮은 혈청 농도는 세포의 세포주기를 변화시켜 celecoxib에 의한 세포의 방사선 감수성 증진효과를변화시켰을가능성이 있으며, 이에 대한 연구가 진행 중이다. 또다른 한 가지 가능성은 선택적 COX-2 억제제가 Potentially lethal damage repair (PLDR)에 관여할 가능성이다. 일반적으로 배지내의 낮은 혈청 농도에서 세포는 방사선 손상에 대한 PLDR을 유도하는 것으로 알려져 있는데,[31] 아직 포유류 세포에서 방사선 손상에 대한 PLDR의 분자생물학적 기전은 명확히 알려져 있지 않다. celecoxib의 방사선 감수성 증진효과가 PLDR에 의하여 억제되었을 가능성과 COX-2와 PLDR의 연관성에 대한 연구가 진행 중이다.

본 연구자들은 이전의 실험을 통하여 COX-2 선택적 억제제의 방사선 감수성 증진 기전에는 세포사멸 과정이 관여되어 있음을 보인 바가 있는데, 이번 실험에서 celecoxib에 의하여 방사선 감수성이 증가된 A549세포에서는 유의

할만한 방사선과 celecoxib의 상호작용이 관찰되지 않았다. Chang 등[32]에 의하면 A549 세포는 혈청이 포함되지 않은 배지에서는 COX-2 선택적 억제제인 NS-398에 의해서 apoptosis가 유도되지만 혈청이 포함된 배지에서는 NS-398이 같은 세포에 대해서 G1 arrest를 일으키는 것으로 보고한 점으로도 미루어 보아, COX-2 선택적 억제제의 암세포에 대한 작용 기전은 세포 특이적인 차이가 있을 것으로 판단되며, A549 세포에서의 celecoxib의 방사선 감수성 증진 기전은 세포 사멸 과정 이외의 방법으로 일어나는 것으로 생각된다.

결론적으로 COX-2 선택적 억제제인 celecoxib는 COX-2를 과발현하는 A549 세포에서 선택적으로 방사선 감수성을 증진시키는 것으로 나타났고 저농도의 혈청을 포함한 배지 조건에서는 이러한 효과가 소실되었다. COX-2를 발현하지 않는 MCF-7 세포주에서는 이러한 현상이 관찰되지 않았으며, 이러한 celecoxib의 방사선 감수성 증진 작용 기전에 세포 사멸은 관여하지 않는 것으로 보인다.

참 고 문 헌

1. Herschman HR. Primary response genes induced by growth factors and tumor promoters.AnnuRevBiochem 1991;60: 281-319
2. WilliamsCS,MannM,DuBoisRN. Theroleofcyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. Oncogene 1999;18:7908-7916
3. TuckerON,Dannenberg AJ, Yang EK, et al. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer. Cancer Res 1999;59:987-990
4. Uefuji K, Ichikura T, Mochizuki H, Shinomiya N. Expression of cyclooxygenase-2 protein in gastric adenocarcinoma. J Surg Oncol 1998;69:168-172
5. Sano H, Kawahito Y, Wilder RL, et al. Expression of cyclooxygenase-1 and 2 in human colorectal cancer. Cacner Res 1995;55:3785-3789
6. Battu S,Rigaud M, Beneytout JL. Resistance to apoptosis and cyclooxygenase-2 expression in a human adenocarcinoma celllineHT29CL.19A.AnticancerRes1998;18:3579-3583
7. ChanG.BoyleJO,YangEK,etal. Cyclooxygenase-2expression is up-regulated in squamous cell carcinoma of the head and neck. Cancer Res 1999;59:991-994
8. Elder DJE, Halton DE, Hague A, Paraskeva C. Induction of apoptotic cell death in human colorectal carcinoma cell lines by a cyclooxygenase-2 (COX-2)-selective nonsteroidal anti-inflammatory drug: independence from COX-2 protein expression. Clin Cancer Res 1997;3:1679-1683
9. Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, et al. Increased expression of cyclooxygenase 2 occurs frequently in human lung cancers,specifically in adenocarcinomas.CancerRes1998; 58:3761-3764
10. Milas L, Kishi K, Hunter N, Mason K, Masferrer JL, Tofilon PJ. Enhancement of tumor response to -radiation by an inhibitor of cyclooxygenase-2 enzyme. J Natl Cancer Inst 1999;91:1501-1504
11. Taketo MM. Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis (part II). J Natl Cancer Inst 1998;90:1609-1620
12. Rioux N, Castonguay A. Prevention of NNK-induced lung tumorigenesis in A/J mice by acetylsalicylic acid and NS-398. Cancer Res 1998;58:5354-5360
13. Kalgutkar AS, Crews BC, Rowlinson SW, Garner C, Seibert K, MarnettLJ. Aspirin-like moleculesthatcovalently inactivate cyclooxygenase-2. Science 1998;280:1268- 1270
14. CrewTE,ElderDJE,Paraskeva CA. Cyclooxygenase-2(COX-2) selective non-steroidal anti-inflammatory drug enhances the growth inhibitory effect of butyrate in colorectal carcinoma cells expressing COX-2 protein: regulation of COX-2 by butyrate. Carcinogenesis 2000;21:69-77
15. Hsu AL, Ching TT,WangDS,SongX,RangnekarVM, Chen CS. The cyclooxygenase-2 inhibitorCelecoxib induces apoptosis by blocking Akt activation in human prostate cancer cells independentlyofBcl-2.JBiolChem2000;275: 11397-11403
16. LiuXH,YaoS,KirschenbaumA,LevineAC. NS398, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis and down-regulates bcl-2 expression in LNCaP cells. Cancer Res 1998;58:4245-4249
17. Hara A, Yoshimi N, Niwa M, Ino N, Mori H. Apoptosis induced by NS-398, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, in human colorectal cancer cell lines. Jpn J. Cancer Res 1997;88:600-604.
18. Sheng H, ShaoJ,KirklandSC,etal. Inhibitionofhumancolon cancer cell growth by selective inhibition of cyclooxygenase-2. J Clin Invest 1997;99:2254-2259
19. Sheng H, Shao J, Morrow JD, Beauchamp RD, DuBois RN. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E_2 in human colon cancer cells. Cancer Res 1998; 58:362-366
20. MilasL,FurutaY,HunterN,NishiguchiI,RunkelS. Dependence of indomethacin-induced potentiation of murine tumor radioresponse on tumor host immunocompetence. Cancer Res 1990;50:4473-4477
21. Palayoor ST, Bump EA, Calderwood SK, Bartol S, Coleman CN. Combined antitumor effect of radiation and ibuprofen in human prostate carcinoma cells. Clin Cancer Res 1998;4:763-771
22. Furuta Y, Hunter N, Barkley T Jr, Hall E, Milas L. Increase in radioresponse of murine tumors by treatment with indomethacin. Cancer Res 1988;48:3008-3013
23. Kishi K, Petersen S, Petersen C, et al. Preferential enhancement of tumor radioresponse by a cyclooxygenase-2 inhibitor. CancerRes2000;60:1326-1331

24. Petersen C, Petersen S, Milas L, Lang FF, Tofilon PJ. Enhancement of intrinsic tumor cell radiosensitivity induced by a selective cyclooxygenase-2 inhibitor. Clin Cancer Res 2000;6:2513-2520
25. Pyo H, Choy H, Amorino GP, et al. A selective cyclooxygenase-2 inhibitor, NS-398, enhances the effect of radiation in vitro and in vivo preferentially on the cells which express cyclooxygenase-2. Clin Cancer Res 2001;7:2998-3005
26. DuBois RN, Shao J, Tsujii M, Sheng H, BeauchampRD. G_1 delay in cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2. Cancer Res 1996;56: 733-737
27. Toyoshima T, Kamijo R, Takizawa K, SumitaniK,ItoD,Nagumo M. Inhibitor of cyclooxygenase-2 induces cell-cyclearrest in the epithelial cancer celllineviaup-regulation of cyclin dependent kinase inhibitor p21. Br J Cancer 2002; 86:1150-1156
28. Furuta Y, Hall ER, Sanduja S, Barkley T Jr, Milas L. Prostaglandin production by murine tumors as a predictor for therapeutic response to indomethacin. Cancer Res 1988;48: 3002-3007
29. Gilroy D, Saunders M,WuK.COX-2expressionandcell cycleprogressioninhumanfibroblasts.AmJPhysiolCellPhysiol 2001;281:C188-C194
30. Gilroy D, Saunders M, Sansores-Garcia L, Matijevic- Aleksic N, Wu K. Cell cycle-dependent expression of cyclooxygenase-2 in human fibroblasts. FASEB J 2001;15: 288-90
31. Eric J Hall. Repairof radiation damage andthedose-rate effect. In: Eric J Hall, eds. Radiobiology for the radiobiologist. 5th ed. Philadelphia, PA: LippincottWilliams & Wilkins Co. 2000:67-90
32. ChangH,WengC.Cyclooxygenase-2 level andcultureconditions influence NS398-induced apoptosis and caspase activation in lung cancer cells. Oncol Rep 2001;8:1321-1325

The Enhancement of Radiosensitivity by Celecoxib, Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor, on Human Cancer Cells Expressing Differential Levels of Cyclooxygenase-2

Hongryull Pyo, M.D.*, You Keun Shin, B.S.†, Hyun Seok Kim, B.S.‡, Jinsil Seong, M.D.§‖, Chang Ok Suh, M.D.§‖ and Gwi Eon Kim, M.D.§‖

*Lung Cancer Branch, Division of Common Cancer, National Cancer Center, Gyeonggi-Do, Korea, †Cancer Metastasis Research Center, ‡Brain Korea 21 Project for Medical Science, §Department of Radiation Oncology, Yonsei University, College of Medicine, ‖Yonsei Cancer Center, Seoul, Korea

Purpose: To investigate the modulation of radiosensitivity by celecoxib, a selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor, on cancer cells over-and under-expressing COX-2.

Materials and Methods: A clonogenic radiation survival analysis was performed on A549 human lung and MCF-7 human breast cancer cell lines incubated in both 1 and 10% fetal bovine serum (FBS) containing media. The apoptosis in both cell lines was measured after treatment with radiation and/or celecoxib.

Results: Celecoxib enhanced the radiation sensitivity of theA549 cells in the medium containing the 10% FBS, with radiation enhancement ratios of 1.58 and 1.81 respectively, at surviving fractions of 0.1, with 30 μM and 50 μM celecoxib. This enhanced radiosensitivity disappeared in the medium containing the 1% FBS.Celecoxib did not change the radiation sensitivity of theMCF-7 cells in either media. The induction of apoptosis by celecoxib and radiation was not synergistic in either cell line.

Conclusion: Celecoxib, a selective COX-2 inhibitor, preferentially enhanced the effect of radiation on COX-2 over-expressing cancer cells compared to the cells with a low expression, and this effect disappeared on incubation of the cells during drug treatment in themedium with suboptimal serum concentration. Apoptosis did notappear to be the underlying mechanism ofthis radiationenhancementeffectdueto celecoxib on the A549 cells. These findings suggest radiosensitization by a selective COX-2 inhibitor is COX-2 dependent.

Key Words: Cyclooxygenase-2, COX-2, Radiation, A549, MCF-7