

호르몬 불응성 전립선암 모델에서 경구용 GMO-paclitaxel의 항암효과 및 독성

Anticancer Efficacy and Toxicity of Oral GMO-paclitaxel in a Hormone Refractory Prostate Cancer Model

Doo Bae Kim, Joon Jang, Yong-Hyun Cho, Moon Soo Yoon, He-Sson Chung¹, Yeong Taek Park², Young Wook Choi², Sae Woong Kim

From the Department of Urology, College of Medicine, The Catholic University of Korea, ¹Korean Institute of Science and Technology, ²College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul, Korea

Purpose: We wanted to evaluate the efficacy and toxicity of the newly developed oral glyceryl monooleate (GMO)-paclitaxel in a hormone refractory prostate cancer model.

Materials and Methods: A paclitaxel formulation was prepared from GMO, tricapyrylin, Tween[®]80 and paclitaxel. The tumor cells of prostate cancer (DU-145 cells) were incubated and then put into different paclitaxel concentrations. The tumoricidal activity was measured by using an indirect methylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay. Cells of the DU-145 cell line were subcutaneously heterotransplanted into 18 nude mice, and they developed prostate cancer. The 18 mice were divided into 3 groups; the control group was injected with the DU-145 cell line (n=6), the GMO group was injected with GMO after the DU-145 cells were injected (n=6), and the oral GMO-paclitaxel group was injected with oral GMO-paclitaxel after the DU-145 cells were injected (n=6). The tumor volume was measured every week and the main organs were evaluated pathologically to determine the toxicity.

Results: On the MTT assay, the control group and the GMO group did not display cytotoxicity. However, treatment with the various GMO-paclitaxel formulations (0.1µg/ml, 1µg/ml, 10µg/ml) for treating the DU-145 cell line cancer induced cytotoxicity in a dose dependent fashion. The tumor volumes were not significantly changed in the group that was administered oral GMO-paclitaxel. However, there were significantly increased tumor volumes in the control group and the GMO group (p < 0.05). Toxic changes were not detected in liver and kidney, and there was normal cellularity with a normal myeloid:erythroid ratio in the mice after the administration of oral GMO-paclitaxel.

Conclusions: The newly developed oral GMO-paclitaxel has a remarkable cytotoxic effect against DU-145 cells without systemic toxicity. Therefore, oral GMO-paclitaxel therapy promises to be a safe and effective modality for treating hormone refractory prostate cancer, and it can possibly replace IV paclitaxel. (Korean J Urol 2006;47:143-149)

Key Words: Paclitaxel, Hormone refractory prostate cancer

대한비뇨기과학회지
제 47 권 제 2 호 2006

가톨릭대학교 의과대학
비뇨기과학교실,
¹한국과학기술연구원, ²중앙대학교
약학대학

김두배 · 장 준 · 조용현
윤문수 · 정혜선¹ · 박영택²
최영욱² · 김세웅

접수일자 : 2005년 6월 13일
채택일자 : 2005년 9월 5일

교신저자: 김세웅
가톨릭대학교 의과대학
여의도성모병원 비뇨기과
서울시 영등포구 여의도동 62
☎ 150-713
TEL: 02-3779-2015
FAX: 02-761-1626
E-mail: ksw1227@
catholic.ac.kr

서 론

전립선암은 한국에서 최근 발생률 및 사망률이 급격히

증가추세에 있는 질병으로 2003년 통계에 의하면 남성암 사망률에서 여덟 번째¹이며 미국에서는 발생률 1위, 사망률 제 2위를 차지하고 있다.²

전립선암은 진단 시 대부분의 경우 전립선에 국한해서

발견되지만 30-35%에선 국소진행 혹은 전이된 상태로 발견된다. 전이성 전립선암의 치료로 항남성 호르몬 단독요법 혹은 외과적 고환 적출술, 내과적 황체형성 자극 호르몬 작용제 (LHRH agonist)와 항남성 호르몬을 병합한 최대 남성 호르몬 차단요법 (maximal androgen blockade)을 시행한다. 남성호르몬 차단요법 후 70-80%의 환자에서 전립선 특이항원이 정상화되지만 대개 18-24개월 정도 후에는 다시 진행을 한다.³

호르몬 불응성 전립선암이란 혈청 테스토스테론치가 거세수준임에도 불구하고 생화학적 혹은 임상적으로 질병이 진행되는 것으로 정의되는데 방사선학적인 변화 이전에 전립선 특이항원의 상승이 먼저 나타난다. 이 경우 표준화된 치료방법이 없으나 2차 호르몬 치료 (second-line hormone therapy)를 하거나 재발부위, 증상, 활동도 (performance status) 및 동반질환 여부에 따라 방사선 치료 혹은 항암치료 등을 시행하지만 평균 6-9개월을 생존하다 사망에까지 이르게 된다.⁴ 그러나 최근 SWOG 9916 및 TAX 327 연구에서 docetaxel을 기본으로 한 항암요법이 호르몬 불응성 전립선암에서 효과적으로 사용될 수 있으며 생존율을 높일 수 있을 것으로 보고되고 있으며 몇몇 연구에서 paclitaxel (Taxol[®]; Bristol Myers Squibb Company, Princeton, USA)이 효과적인 것으로 보고되고 있다.²

항암요법으로 paclitaxel은 경구로의 흡수가 좋지 않아 복강 내 정맥 투여를 하였으나 정맥주사 시 입원을 해야 하며, 과민반응을 예방하기 위하여 특수 필터 및 약제를 사용해야 하는 부작용이 있어 이들 부작용을 줄이는 새로운 약제 형태의 개발 필요성이 대두되고 있다.⁵ 최근 생체흡착력 또는 생체이용률이 높은 고효율의 약물전달체계를 가진 제형들이 소개되고 있는데, 제형에 사용되는 물질 중 주목받는 물질이 glyceryl monooleate (GMO)이다. GMO는 올레인산의 혼합물로 수분을 많이 포함하면 입방체를 이루는데, 특히 생체 점막에 대한 흡착력이 뛰어난 것으로 알려져 있다.

이에 저자들은 새롭게 개발된 경구용 GMO-paclitaxel 제제를 호르몬 불응성 전립선암이 유발된 실험동물 모델에 경구 투여하여 약제의 반응 및 부작용에 대해 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. GMO-paclitaxel 제형 제조

Paclitaxel의 지질친화 성질 때문에 GMO-paclitaxel 제형의 용매로는 오일을 함유한 포화-중사슬 지방산 (oil containing saturated medium-chain fatty acids)인 tricaprylin과 유화제인 Tween[®] 80 (polyoxyethylene sorbitan monooleate)을 사용하였

다. 가용화용 조성물의 특성 분석으로는 증류수 3ml에 상기 액상 제형 2 μ l를 가한 후 잘 흔들어 혼합하여 분산액을 제조한 후 입자 크기 및 분산도를 측정하였다. 입자의 크기는 말버른 제타사이저를 이용한 광자 분광법으로 측정하고 동일한 시료를 3회 측정하여 평균값을 구하였으며, 분산도는 입자 크기의 일반적인 분포도로 알려진 정상 로그 분포도의 로그-스케일에서의 분산 정도로 나타내었다.⁶

2. 실험 약물

Paclitaxel, GMO, tricaprylin, Tween[®] 80 및 methylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)는 Sigma사 (St. Louis, USA) 제품을 사용하였으며, 조직 배양액은 Life Technologies (Gaithersburg, USA)에서 구입하였다.

3. 생체 외 실험

1) 세포배양: 호르몬 불응성 전립선암 세포주 (DU-145 cell line)는 American Type Culture Collection (ATCC)사에서 분양받아 본 실험에 사용하였다.

DU-145 세포를 10% fetal bovine serum (FBS)이 함유된 RPMI-1640 배지에 배양하며 실험목적에 맞게 사용하였다.

2) 세포치사율 분석: 중앙세포에 대한 세포치사율은 간접 MTT 분석법을 이용하여 측정하였다. 24 well plate에 DU-145 세포 (2×10^4)를 넣고 1) 아무처치도 하지 않은 대조군, 2) GMO만을 처리한 군, 3) GMO-paclitaxel을 0.1 μ g/ml, 1 μ g/ml, 10 μ g/ml의 농도를 처리한 실험군에서 24시간 및 48시간 배양하여 570nm 파장의 multiwell spectrophotometer (분광광도계)를 이용하여 광학밀도 값을 측정하여 치사율을 분석하였다. 같은 방법으로 모든 실험은 3회 반복하여 그에 대한 평균치를 계산하였다.

4. 생체 내 실험

1) 실험 동물: 본 실험에서 사용된 실험동물은 SLC (일본)에서 분양받은 체중 19-21g의 생후 6주된 웅성 누드 마우스 30마리이며, 고단백 식이요법으로 조단백 20% (삼양사, 한국) 사료를 투여하였다.

2) 세포배양: 세포배양액은 F-12K (ATCC, USA)로, 배양액 1리터에 1.5g의 sodium bicarbonate와 2mM의 L-glutamine을 첨가하고, 10% fetal bovine serum (Sigma, USA)과 감염예방을 위하여 penicillin 10,000U/ml와 streptomycin 10mg/ml 그리고 amphotericin B 25mg/ml (Sigma, USA)를 첨가하여 5% CO₂의 존재하에 37°C 배양기에서 배양하였다.

3) 전립선암 유발방법: 1×10^6 /ml 농도의 전립선암 세포를 생후 6주된 누드 마우스 요부의 피하에 0.2ml씩 1회 주입하였다.

4) 실험군의 구분 및 실험기간: 전립선암 세포를 웅성 누드 마우스의 요부에 피하주사로 0.2ml씩 1회 주입한 후로부터 전립선암의 발생 여부를 관찰하여 실험에 사용된 30마리의 누드 마우스 중 전립선암이 발생한 18마리의 누드 마우스를 대상으로 1) DU-145를 주입한 대조군 (n=6), 2) DU-145 주입 후 GMO만 투여한 군 (n=6), 3) DU-145 주입 후 경구용 GMO-paclitaxel을 투여한 군 (n=6)의 3군으로 나누었다.

실험대상 동물의 무게는 평균 20g (19-21), 체표면적은 0.0066m²이었으며 약제독성 평가에서 종 (species)들 간에 각기 다른 전환요소 (conversion factor)인 Km factor는 3.0으로 경구투여량은 정맥투여량 40mg/kg (투여량=실험동물 무게x체표면적/Km factor)⁷의 5배인 200mg/kg으로 결정하였다 (Fig. 1).

실험기간은 4주로 하였으며 이후 생존동물은 CO₂를 흡입하여 모두 도살한 뒤 간, 신장, 골수조직 및 말초혈액의 조직소견을 관찰하여 약물의 독성을 관찰하였다.

5) 종양용적의 변화: 종양용적의 변화는 DU-145를 주입한 대조군, DU-145 주입 후 GMO 투여군 및 DU-145 주입 후 경구용 GMO-paclitaxel을 투여한 군에서 1주 간격으로 4주까지의 변화를 타원체 공식 ($\pi/6 \times \text{길이} \times \text{높이} \times \text{폭}$)을 이용하여 측정하였다.⁸

5. 통계처리

최종결과는 평균±표준편차를 사용하여 나타냈으며 대조군, GMO 투여군 및 경구용 GMO-paclitaxel 투여군에서의 종양용적의 변화는 분산분석법 (ANOVA)으로 검정하였고,

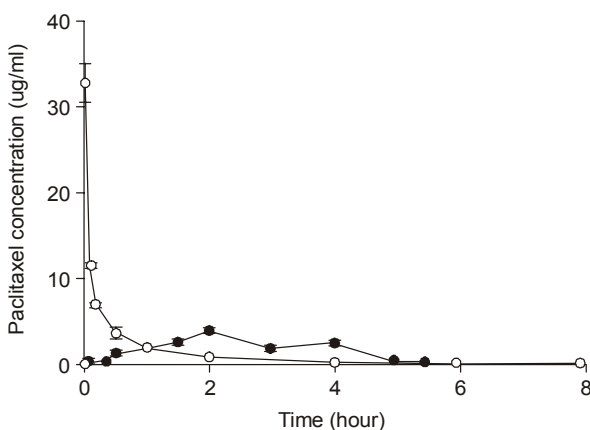


Fig. 1. Plasma concentration-time curves of paclitaxel in the nude mouse after the intravenous (I.V) and oral administration of paclitaxel (○: I.V administration 40mg/kg, ●: oral administration 200 mg/kg). After I.V administration of paclitaxel, the plasma concentration decreases rapidly. However, oral administration of paclitaxel maintains the plasma concentration.

p값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. GMO-paclitaxel 제형

완성된 경구용 GMO-paclitaxel 제형은 GMO 1g, trycaprylin 0.5g과 Tween[®] 80 0.3g을 넣은 후 약 40°C로 가열하여 완전히 섞어서 점성의 유성용액 (oily solution)을 제조하였다. 유성용액에 18g의 paclitaxel을 첨가한 후 bath형 sonicator에서 초음파 처리하여 완전히 용해시켰으며, 물에 잘 분산되었고 평균 입자 크기는 600nm 내외, 분산도는 1,000이었다.

무게에 의한 GMO, tricapyrylin, Tween[®] 80 및 paclitaxel의 비율은 5.1:2.5:1.5:90.9이었으며, 분산 후 24시간이 경과하여도 paclitaxel의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 분산계는 상 분리 없이 안정되었다. 상온에서는 반고형, 냉장 보관 시에는 고형으로 존재하나 40°C 이상에서는 액상으로 존재하였다. 또한 점막세포에서 생체 내의 물과 섞이면 흡착력이 큰 cubic상으로 존재하여 생체흡착력이 강한 paclitaxel 조성물이 되었다.

2. GMO-paclitaxel에 의한 생체 외 세포치사율 분석 및 종양 발생

GMO-paclitaxel에 의한 세포치사율 분석을 위하여 24시간에 시행한 MTT 시험 결과 DU-145 세포에 대한 GMO-paclitaxel의 세포치사율은 0.1 μg/ml, 1 μg/ml, 10 μg/ml의 paclitaxel 농도에서 대조군의 생존분획을 100%로 하였을 경우와 비교하여 각각 19.4±5.9%, 4.0±2.4% 및 1.5±0.6%였으며 같은 방법으로 48시간에 시행한 MTT 시험 결과 11.0±5.9%, 2.1±0.9% 및 0.8±0.3%로 의미있고 현저하게 생존분획이 감소됨을 관찰할 수 있었으나 (p<0.05), GMO만을 처리한 군에서는 24시간에 64.4±8.7%, 48시간의 경우 73.8±11.2%로 대조군의 66.8±7.9%, 77.8±10.4%와 비교하여 생존분획이 의의있게 감소되지 않았다 (p>0.05) (Fig. 2). Paclitaxel의 농도에 따라서는 0.1 μg/ml를 처리한 군에 비해 1 μg/ml와 10 μg/ml를 처리한 군에서 의의 있는 감소를 나타냈다 (p<0.05).

GMO-Paclitaxel에 의한 생체 외 세포형태 변화에서 대조군 및 GMO 주입군의 경우에는 DU-145 세포가 변형되지 않은 상태로 관찰된 반면, GMO-paclitaxel을 주입한 군에서는 농도가 증가함에 따라 T flask 바닥에 부착되지 못하고 배지 내로 부유하는 세포가 증가하였으며, 핵염색질의 소실과 공포성 변화 등 세포고사에 부합되는 소견을 보였다.

전립선암 세포를 웅성 누드 마우스의 배부에 피하주사로 0.2ml씩 1회 주입한 후로부터 전립선암의 발생 여부를 관찰

한 결과 실험에 사용된 30마리의 누드 마우스 중 18마리에서 종양이 발생하였다.

3. 종양용적의 변화

전립선암 세포주인 DU-145를 주입한 후 측정된 종양용적의 변화에서 대조군은 1주에 19.3±22.6mm³, 2주에 311.8±190.1mm³, 3주에 3,258±1,235.5mm³, 4주에 6,655.8±1,776.1

mm³이었고 GMO 주입군은 1주에 17.8±23.4mm³, 2주에 221.2±149.1mm³, 3주에 3,191.3±2,309.4mm³, 4주에 5,773.3±2,851.0mm³로 시간이 지남에 따라 대조군 및 GMO 주입군에서 종양용적이 현저히 증가하였으나 (p<0.05) 경구용 GMO-paclitaxel을 주입한 군에서는 1주에 3.1±5.3mm³, 2주에 36.3±29.5mm³, 3주에 139.5±90.5mm³, 4주에 172.6±135.9mm³으로 종양용적의 완만한 증가를 보였다 (Fig. 3).

4. 조직학적 소견 및 약물독성 관찰

해부된 쥐의 간 및 신장의 조직학적 검사 결과 대조군 및 GMO 주입군과 비교하여 경구용 GMO-paclitaxel을 주입한

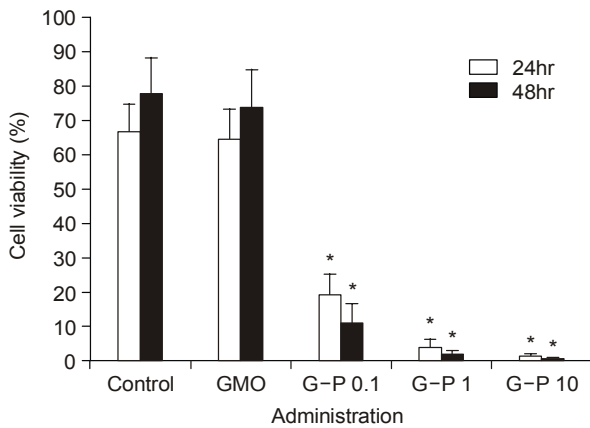


Fig. 2. Dose-dependent effects of glyceryl monooleate (GMO)-paclitaxel on the viability of DU-145 cells. As seen on the indirect methylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay, the control group and the GMO group after the DU-145 cells are injected do not display cytotoxicity. However, administration with the various GMO-paclitaxel formulations (0.1 μg/ml, 1 μg/ml, 10 μg/ml) for treating the DU-145 cells induce cytotoxicity in a dose dependent fashion. *: significant cytotoxic effect compared with the control and the GMO group (p<0.05). G-P 0.1: GMO-paclitaxel 0.1 μg/ml, G-P 1: GMO-paclitaxel 1 μg/ml, G-P 10: GMO-paclitaxel 10 μg/ml.

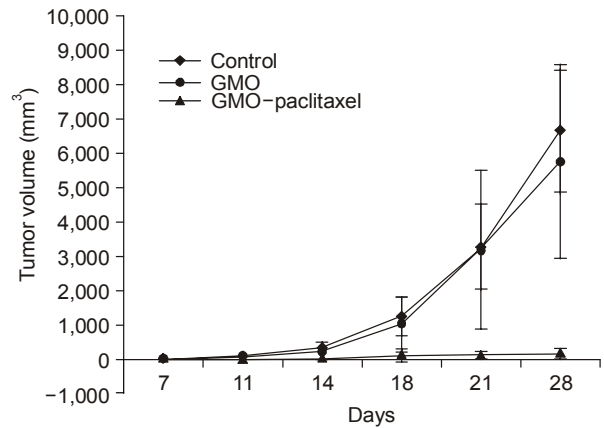


Fig. 3. Changes in tumor volume in the control group (n=6), the glyceryl monooleate (GMO) administered group (n=6) and the oral GMO-paclitaxel administered group (n=6). There is no significant tumor volume change for the oral GMO-paclitaxel administered group. However, the tumor volumes of the control and the GMO groups increase significantly (p<0.05).

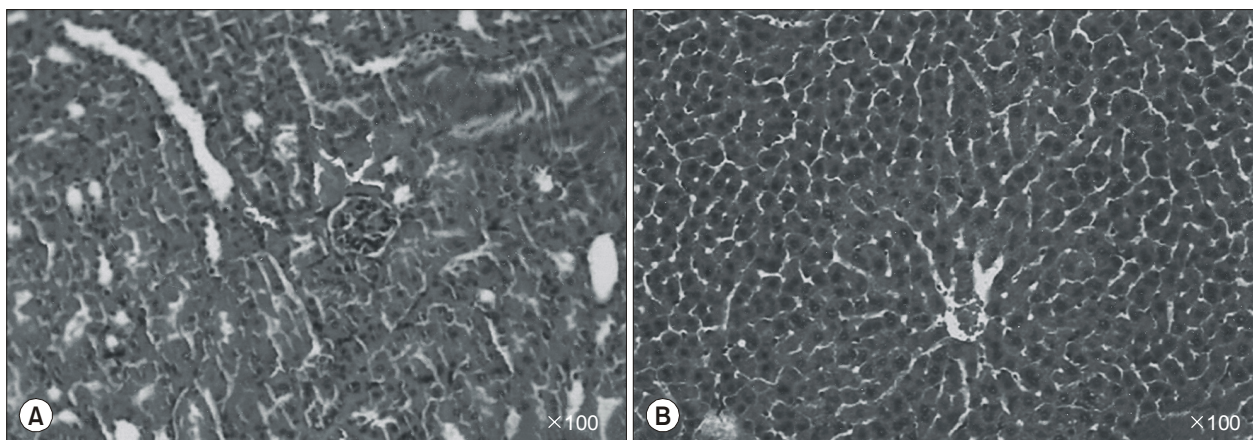


Fig. 4. The histologic findings of kidney (A) and liver (B) from a mouse after administering oral glyceryl monooleate (GMO)-paclitaxel shows neither abnormality nor toxicity (H&E stain, x100).

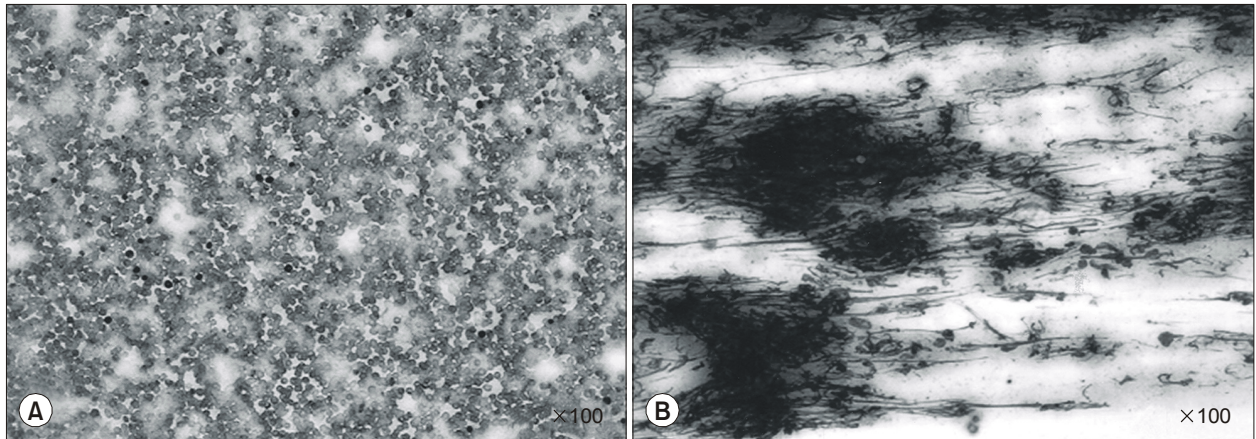


Fig. 5. The peripheral blood (A) and bone marrow (B) from a mouse after administering oral glyceryl monooleate (GMO)-paclitaxel shows normal cellularity with a normal myeloid:erythroid ratio (Wright Giemsa stain, x100).

군에서 유의한 형태학적 변화는 관찰되지 않았으며 (Fig. 4), 말초혈액 및 대퇴부에서 추출한 골수 검사에서도 정상적인 세포충실도와 정상 myeloid:erythroid 비율을 보였다 (Fig. 5).

고 찰

호르몬 불응성 전립선암의 경우 항암 화학요법에 대한 반응률은 낮은 것으로 알려져 왔으나 최근 taxane 계열과 estramustine의 병합요법이 좋은 성적을 거두고 있으며⁹⁻¹¹ 이로부터 paclitaxel을 비롯한 taxane 계열의 전립선암에 대한 작용기전 연구가 활발히 진행 중이다.

진행된 전립선암이 항암요법에 잘 반응하지 않는 것은 전립선암 세포가 Bcl-2, Bcl-xL 등을 발현시켜 항암제의 세포독성 효과에 저항하기 때문인데,¹² paclitaxel은 암세포의 DNA와 RNA의 합성에는 영향을 주지 않고 DNA 분자 자체에도 손상을 주지 않으면서 선택적으로 microtubule에 작용하여 중합되었던 microtubule의 탈중합을 억제함으로써 Bcl-2, Bcl-xL 등의 발현을 억제한다.¹³⁻¹⁵

Paclitaxel은 diterpene 합성물로 태평양 주목 (pacific yew tree)인 *Taxus brevifolia*의 껍질로부터 분리되며 반합성 방법에 의해 수많은 Taxol의 유사체가 만들어졌고 난소암 및 유방암, 폐암의 전신적 치료에 효과적인 것으로 보고되었으며¹⁶ 최근에는 호르몬 불응성 전립선암에서도 암세포의 성장을 억제하는 것으로 밝혀져 관심을 모으고 있다.¹⁷⁻¹⁹

그러나 정맥 주사용으로 개발된 Cremophor Taxol은 투여하기에 불편하고 과민반응 (호흡곤란, 두드러기, 저혈압 등)이 있어서 화학 요법 전 스테로이드와 항히스타민제 투여가 선행되어야 하는 단점과 더불어 많은 심각한 부작용

이 보고되었다.^{20,21}

최근 연구에 의하면 수용성 paclitaxel 유도체의 경구 투여에서 의의 있는 결과를 보고하였는데²² 일반적으로 약제의 경구투여는 정맥이나 근육 등 다른 경로에 비해 비침습적이고 자연적이기 때문에 대부분의 환자들이 선호하는 복용법으로 경구용 paclitaxel은 환자에게 편하고 실용적으로 이용할 수 있다. 또한 혈중농도를 지속적으로 유지하여 항암 효과를 높이기 위해 장기투여 계획을 할 수 있어 매우 유용할 것으로 판단되어²³ 경구용 제제의 개발을 위해 많은 연구들이 있어 왔으나 장관상피 침부에 존재하는 P-glycoprotein과 cytochrome P450에 의한 비선형 (nonlinear) 약물 역동학 때문에 생체이용률이 낮다고 알려져 있다.²⁴

경구투여된 약제의 대체적인 생 활성은 여러 인자에 의해 결정되는데 장관상피의 형태학적, 생화학적 상태뿐만 아니라 약제의 물리-생화학적 특성도 관련된다. P-glycoprotein이 원래는 약제 내성과 연관되어 있다고 알려져 왔으나 최근 연구에 의하면 뇌-혈관 장벽이나 담관, 장관 등 인체의 특정한 부위에서 독소나 항암제, 지방 등의 다양한 외인성 및 내인성 화학물질들을 생리적으로 중계한다고 보고되었다.

Paclitaxel은 P-glycoprotein 매개성 운송에 매우 민감하며 쥐 실험에서 경구투여 후 혈중농도가 매우 낮게 측정되는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 이유는 높은 농도로 존재하는 P-glycoprotein이 장관 내로 활발히 유출 (efflux pump)되면서 분비성 해독 체계²⁵ 및 cytochrome P450에 의한 체외배출과 연관이 있다고 생각한다.²³

1980년대 초부터 효과적인 치료약제를 개발하기 위하여 생체흡착력 또는 생체이용률이 높은 고효율의 약물전달체계를 가진 제형들이 소개되어 왔다. 지금까지 소개된 대부

분의 생체흡착 물질들은 고분자 중합체들이었다. 하지만 최근 적은 분자량을 가지면서 액상결정체를 형성하는 지방산 에스테르들이 새로운 생체흡착 재료로 쓰이기 시작하였는데, 그중 주목받는 물질이 GMO이다.

Nielsen 등²⁶이 tensiometric method를 통해 시행한 *in vitro* 실험과 토끼의 장관 점막에서의 *in vivo* 실험을 보면 생체점착성에는 GMO의 점막으로부터의 수분흡수 과정과 그로 인한 점막의 탈수과정 및 입방체 구조가 관여되는 것으로 생각되며, 조직 비특이적으로 수분을 포함한 모든 조직에서 가능한 과정임을 알 수 있었다. 이러한 입방체의 GMO는 현재 효과적이면서 조절 가능한 약물 방출체 개발을 위해 연구되고 있으며²⁷ 주로 장관점막을 통한 경구약물 또는 직장투여약물로 개발되고 있다.²⁸

이에 본 연구자는 호르몬 불응성 전립선암의 치료에서 광범위 항암작용을 가지고 있는 paclitaxel의 새로운 제형으로 GMO-paclitaxel 제제를 경구 투여하여 항암효과 및 독성을 관찰하였다.

본 연구자가 GMO, tricaprylin과 Tween[®] 80 및 paclitaxel을 상온 또는 가온하여 섞어서 제조한 경구용 GMO-paclitaxel은 점막세포에서 생체 내의 물과 섞이면 흡착력이 큰 cubic 상으로 존재하여 생체흡착력이 강한 paclitaxel 조성물이 된다. 이는 수분과 적절히 결합한 입방체의 GMO가 장관점막 및 간에서 P-glycoprotein, CYP3A를 억제하여 경구 투여 시 약물의 생체이용률을 높이는 것으로 생각한다.

경구용으로 투여할 때 여러 장점이 있으나 약물역동학적으로 정맥투여와 비교해 생체이용률이 급격히 감소한다고 알려져 있으며 생체이용률을 높이기 위해 cyclosporin A 혹은 MDR (multi-drug resistance) reversing 약제와 혼합 투여 시 paclitaxel의 혈중농도가 증가된다고 보고하였다.²⁹ 그러나 쥐에서 경구투여 시 생체이용률은 9.3%에 불과하며 다른 약제와 혼합 없이 경구용 제제를 단독으로 투여 시 정맥투여와 상응하는 생체이용률을 위해서는 경구투여 시의 용량 결정 필요성이 대두되었다. Rose 등³⁰은 paclitaxel 유도체인 BMS-185660의 경구 투여와 paclitaxel의 정맥투여에 따른 효과 및 부작용 연구에서 최대의 항암효과를 낼 수 있는 경구투여량은 정맥투여량의 4-5배가 적합하고 폐암, 대장암 생쥐에서도 큰 부작용 없이 정맥투여에 버금가는 결과를 보고하였다.

본 연구에서 경구투여량을 정맥투여량의 5배로 투여한 후 혈액을 채취하여 체내 paclitaxel 농도를 High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)를 이용하여 분석한 결과 정맥투여의 경우 시간이 지남에 따라 체내 paclitaxel의 농도가 급격히 감소하였으나 경구투여의 경우는 충분한 시간 동안 효과적인 혈장농도를 유지하였다. 이는 사람에게 경구용

paclitaxel을 투여한 뒤 관찰한 약물역동학적 양상²⁰과도 비슷한 결과였다.

이상의 결과 새롭게 개발된 경구용 GMO-paclitaxel을 호르몬 불응성 전립선암이 유발된 누드 마우스에 경구복용시킨 후 관찰한 종양용적의 변화에서 시간이 경과함에 따라 종양용적은 증가하지 않고 일정하게 유지되는 양상을 보였다. 그러나 DU-145 주입 후 아무런 처치도 하지 않은 대조군 및 DU-145 주입 후 GMO만 주입한 군에서는 시간이 지남에 따라 종양용적이 현저히 증가하는 것으로 나타나 경구용 GMO-paclitaxel이 충분한 항암효과를 가지고 있음을 알 수 있었다. 또한 호르몬 불응성 전립선암에서 종양용적의 감소는 paclitaxel에 의해 유도된 세포고사효과와 연관되며^{15,17} 본 연구에서도 생체 외 실험에서 핵 염색질 소실 등 세포고사에 부합되는 소견을 나타냈다.

일반적인 paclitaxel의 부작용으로 오심 및 구토가 가장 흔하며 그 외에 골수억제, 관절통, 감각신경병증, 점막염, 탈모 등을 보일 수 있으나 이는 사람에게서 정맥투여 후 관찰한 과민반응 및 부작용^{5,10}으로 실험동물에 투여할 경우 사람과 같은 독성반응의 주관적, 객관적 자료 수집 및 분석에 한계가 있으므로 본 연구에서는 주요 장기인 골수, 간, 신장 등에 국한시켜 관찰하였으며 향후 실험동물에서의 독성분석에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각한다.

결 론

본 연구에서 새롭게 개발된 경구용 GMO-paclitaxel을 호르몬 불응성 전립선암이 유발된 실험동물에 투여시 충분한 항암효과를 발휘하면서도 골수, 간, 신장 등에서 이상소견이 관찰되지 않아 향후 호르몬 불응성 전립선암에서 paclitaxel의 정맥투여로 인한 불편감 및 부작용, 이로 인한 치료중단을 줄일 수 있는 유용한 방법이 될 수 있을 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. National Cancer Center. <http://www.ncc.re.kr>
2. Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1997. CA Cancer J Clin 1997;47:5-27
3. Muthuramalingam SR, Patel K, Protheroe A. Management of patients with hormone refractory prostate cancer. Clin Oncol 2004;16:505-16
4. Kantoff PW. New agents in the therapy of hormone-refractory patients with prostate cancer. Semin Oncol 1995;22(1 Suppl 1):32-4
5. Oliverio G, Canuti D, Tononi A. Paclitaxel efficacy and tolerability in second-line treatment of refractory and relapsed

- ovarian cancer patients. *J Chemother* 1999;11:301-5
6. Orr C. Emulsion droplet size data. In: Becher P, editor. *Encyclopedia of emulsion technology*. 1st ed. New York: Marcel Dekker; 1983;369-404
 7. Freireich EJ, Gehan EA, Rall DP, Schmidt LH, Skipper HE. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer Chemother Rep* 1966;50:219-44
 8. Leung SY, Jackson J, Miyake H, Burt H, Gleave ME. Polymeric micellar paclitaxel phosphorylates Bcl-2 and induces apoptotic regression of androgen-independent LNCaP prostate tumors. *Prostate* 2000;44:156-63
 9. Athanasiadis A, Tsavdaridis D, Rigatos SK, Athanasiadis I, Pergantas N, Stathopoulos GP. Hormone refractory advanced prostate cancer treated with estramustine and paclitaxel combination. *Anticancer Res* 2003;23:3085-8
 10. Smith DC, Chay CH, Dunn RL, Fardig J, Esper P, Olson K, et al. Phase II trial of paclitaxel, estramustine, etoposide, and carboplatin in the treatment of patients with hormone-refractory prostate carcinoma. *Cancer* 2003;98:269-76
 11. Vaughn DJ, Brown AW Jr, Harker WG, Huh S, Miller L, Rinaldi D, et al. Multicenter Phase II study of estramustine phosphate plus weekly paclitaxel in patients with androgen-independent prostate carcinoma. *Cancer* 2004;100:746-50
 12. Stein CA. Mechanisms of action of taxanes in prostate cancer. *Semin Oncol* 1999;26(5 Suppl 17):3-7
 13. Haris AW, Lowenthal JW. Cells of some cultured lymphoma lines are killed rapidly by x-rays and bleomycin. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1982;42:111-6
 14. Manfredi JJ, Parness J, Horwitz SB. Taxol binds to cellular microtubules. *J Cell Biol* 1982;94:688-96
 15. Rowinsky EK, Donehwer RC, Jones RJ, Tucker RW. Microtubule changes and cytotoxicity in leukemic cell line treated with taxol. *Cancer Res* 1988;48:4093-100
 16. Rowinsky EK, Onetto N, Canetta RM, Arbusk SG. Taxol: the first of the taxanes, an important new class of antitumor agents. *Semin Oncol* 1992;19:646-62
 17. Jackson JK, Gleave ME, Yago V, Beraldi E, Hunter WL, Burt HM. The suppression of human prostate tumor growth in mice by the intratumoral injection of a slow-release polymeric paste formulation of paclitaxel. *Cancer Res* 2000;60:4146-51
 18. Oudard S, Legrier ME, Boye K, Brass-Goncalves R, Pinieux G, De Cremoux P, et al. Activity of docetaxel with or without estramustine phosphate versus mitoxantrone in androgen dependent and independent human prostate cancer xenografts. *J Urol* 2003;169:1729-34
 19. Canil CM, Tannock IF. Is there a role for chemotherapy in prostate cancer? *Br J Cancer* 2004;91:1005-11
 20. Malingre MM, Terwogt JM, Beijnen JH, Rosing H, Koopman FJ, van Tellingen O, et al. Phase I and pharmacokinetic study of oral paclitaxel. *J Clin Oncol* 2000;18:2468-75
 21. Feng SS, Mu L, Win KY, Huang G. Nanoparticles of biodegradable polymers for clinical administration of paclitaxel. *Curr Med Chem* 2004;11:413-24
 22. Rose WC, Clark JL, Lee FY, Casazza AM. Preclinical antitumor activity of water-soluble paclitaxel derivatives. *Cancer Chemother Pharmacol* 1997;39:486-92
 23. Weiss RB, Donehower RC, Wiernik PH, Ohnuma T, Gralla RJ, Trump DL, et al. Hypersensitivity reactions from taxol. *J Clin Oncol* 1990;8:1263-8
 24. Sparreboom A, van Tellingen O, Nooijen WJ, Beijnen JH. Nonlinear pharmacokinetics of paclitaxel in mice results from the pharmaceutical vehicle Cremophor EL. *Cancer Res* 1996;56:2112-5
 25. Kimura Y, Aoki J, Kohno M, Ooka H, Tsuruo T, Nakanishi O. P-glycoprotein inhibition by the multidrug resistance-reversing agent MS-209 enhances bioavailability and antitumor efficacy of orally administered paclitaxel. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002;49:322-8
 26. Nielsen LS, Schubert L, Hansen J. Bioadhesive drug delivery systems. I. Characterisation of mucoadhesive properties of systems based on glyceryl monooleate and glyceryl monolinoleate. *Eur J Pharm Sci* 1998;6:231-9
 27. Engstrom S, Engstrom L. Phase behavior of the lidocaine-monoolein-water system. *Int J Pharm* 1992;79:113-22
 28. Sallam AS, Khalil E, Ibrahim H, Freij I. Formulation of an oral dosage form utilizing the properties of cubic liquid crystalline phases of glyceryl monooleate. *Eur J Pharm Biopharm* 2002;53:343-52
 29. van Asperen J, van Tellingen O, van der Valk MA, Rozenhart M, Beijnen JH. Enhanced oral absorption and decreased elimination of paclitaxel in mice cotreated with cyclosporin A. *Clin Cancer Res* 1998;4:2293-7
 30. Rose WC, Lee FY, Golik J, Kadow J. Preclinical oral antitumor activity of BMS-185660, a paclitaxel derivative. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000;46:246-50