

PE-68208-RZ-Z001
KAERI/CM-915/2005

양성자가속기 이용자프로그램 개발 및 운영

Development and management of
proton accelerator user program

양성자조사에 의한 암의 저산소부위의 세포사멸유도연구

Induction of cancer cell death by proton beam in tumor hypoxic
region

KAERI
경북대학교

한국원자력연구소
양성자기반공학기술개발사업단

제 출 문

한국원자력연구소 양성자기반공학기술개발사업단장 귀하

본 보고서를 “양성자가속기 이용자프로그램 개발 및 운영” 과제의 소과제 “양성자조사에 의한 암의 저산소부위의 세포사멸유도연구” 의 최종보고서로 제출합니다.

2006. 05. 04.

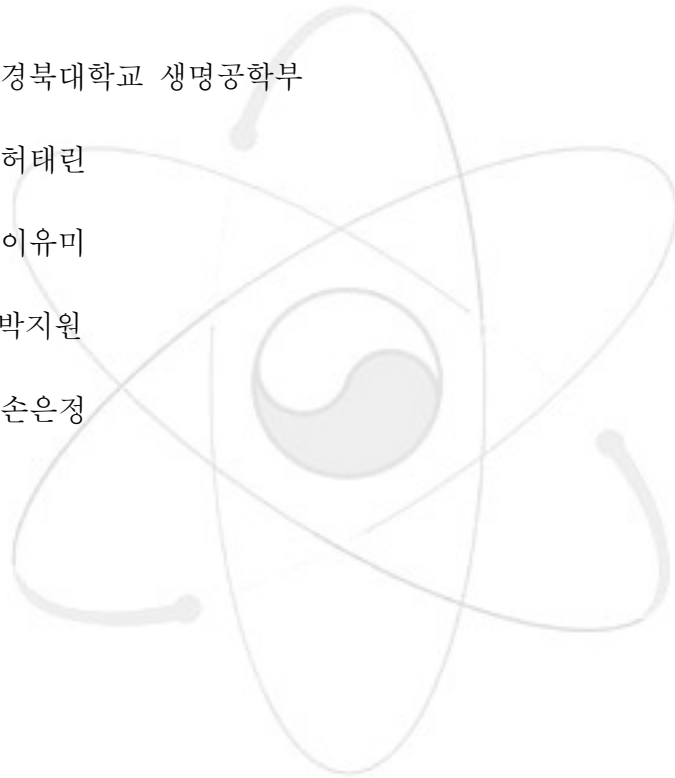
연구수행기관명 : 경북대학교 생명공학부

연구책임자 : 허태린

연구원 : 이유미

” : 박지원

” : 손은정



요 약 문

I. 제목

양성자 조사에 의한 암의 저산소부위의 세포사멸 유도 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 가. 당해년도 연구개발 목표: 양성자빔에 의한 암세포 사멸조건을 확립하고, 양성자빔을 적용하기 위한 동물 암모델의 구축
- 나. 필요성: hypoxia라는 저산소상태가 암내부에 존재하며, 이는 항암제나 방사선 조사에 의한 암세포사멸 유도에 대한 저항성을 나타내어 암세포의 악성화와 전이를 더욱 촉진하는 원인이 됨. 방사선 조사는 감마선이 주로 사용되어져 왔고, 양성자빔을 이용한 암세포 사멸유도 및 치료에 대한 연구는 안구암등에서 진행하고 있으나 아직도 구체적이고 다양한 암세포에 대한 보고가 적은 실정임. 특히 암조직의 내부에 존재하는 hypoxic region에 대한 저항성을 염두에 둔 양성자빔의 조사와 암세포사멸과의 관계를 연구하는 노력과 접근방법은 부족한 실정이고, 양성자빔에 의해 이러한 저산소 부위의 세포사멸 저항성을 극복할 수 있는 가능성이 크므로 암세포의 완전한 사멸유도와 그 기전을 연구하는 본 연구의 수행은 반드시 필요함.

III. 연구개발의 내용 및 범위

- 가. 암세포 사멸효과를 유도하는 양성자빔의 용량 결정 (in vitro)
- 나. 양성자빔을 적용하기 위한 동물 암모델의 구축
- 다. 암조직의 세포사멸 관찰

IV. 연구개발결과

- 가. 암세포사멸효과유도: 암세포의 세포사멸 유도를 세 가지 암세포에서 확인하였으며, 이러한 세포사멸을 유도하는 양성자 빔의 농도가 암세포마다 다르다는 것을 확인하였음.
- 나. 동물암모델 구축: 동물암모델을 폐암모델, 간암모델을 확립하였음.
- 다. 양성자빔의 암성장억제효과 관찰: 양성자 빔의 암성장억제효과 관찰은 동물을 직접적용할 수 있는 양성자 시스템이 아직 설립되지 않아 실시하지 못하였으나, 암세포의 성장억제효과 및 사멸효과를 유도하였고, 이의 유도기전을 감마선의 효과와 비교 관찰하였음.

V. 연구개발결과의 활용계획

가. 기술적 측면

(1) 양성자에 의한 암치료가 저산소부위의 암세포까지도 세포사멸을 유도하는 방법을 개발

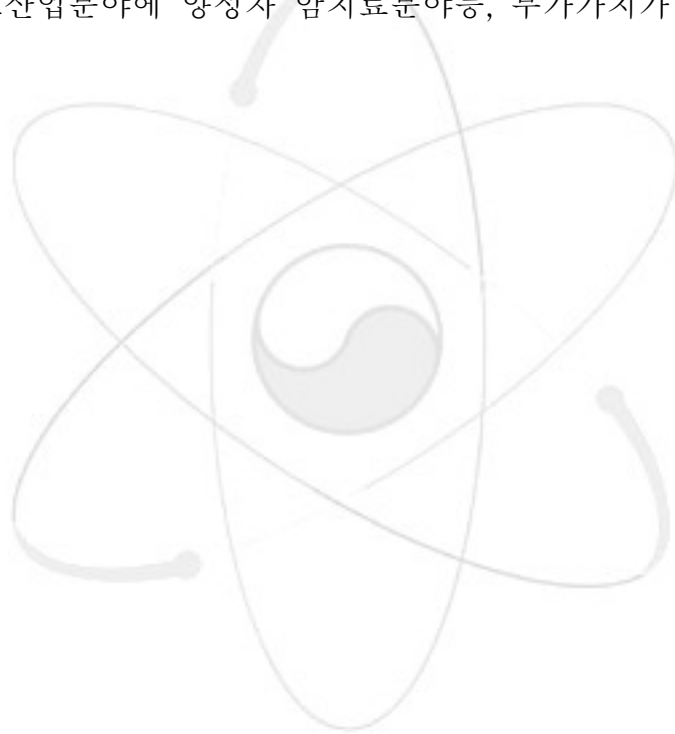
(2) 방사선 조사에 대한 저산소부위의 내성을 극복하지 못한 점에 대한 극복가능성 제시

나. 경제·산업적 측면

(1) 암환자에 대한 방사선 치료분야 발달

(2) 암전이로 인한 암의 재발 억제로 암환자의 의료비의 절감

(3) 국가 및 민간 의료산업 분야에 양성자 암치료 분야 등, 부가가치가 높은 분야로서의 양산

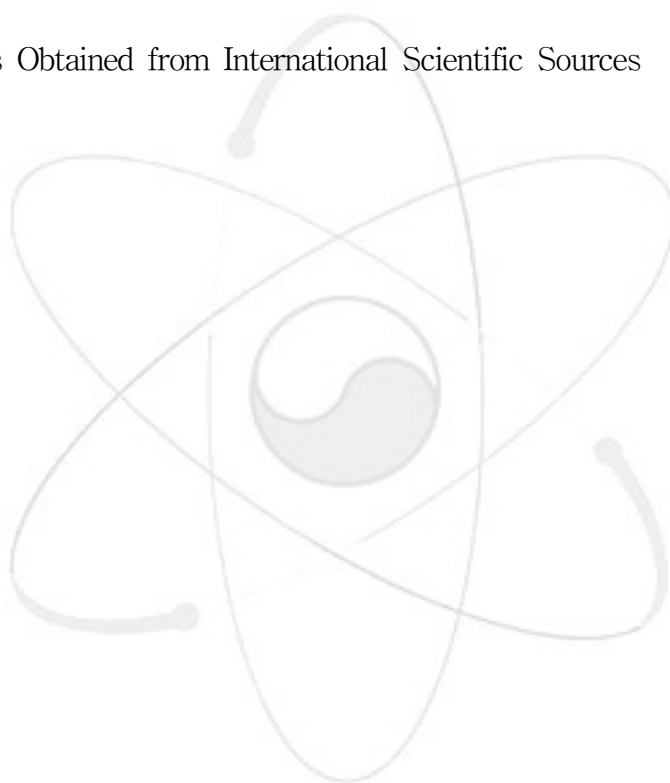


S U M M A R Y

The physical properties of charged particles such as protons are uniquely suited to target the radiation dose precisely in the tumor. In proton therapy, the Bragg peak is spread out by modulating or degrading the energy of the particles to cover a well defined target volume at a given depth. Due to heterogeneity in the various tumors and end-points as well as in the physical properties of the beams considered, it is difficult to fit the various results into a clear general description of the biological effect of proton in tumor therapy. Tumor hypoxia is a main obstacle to radiotherapy, including gamma-ray. Survived tumor cells under hypoxic region are resistant to radiation and more aggressive to be metastasized. To investigate the dose of proton beam to induce cell death of various tumor cells and hypoxic tumor cells at the Bragg peak *in vitro*, we used 3 kinds of tumor cells, lung cancer, leukemia and hepatoma cells. Proton beam induces apoptosis in Lewis lung carcinoma cells dose dependently and, slightly in leukemia but not in hepatoma cells at all. Above 1000 gray of proton beam, 60% of cells died even the hypoxic cells in Lewis lung carcinoma cells. But the Molt-4 leukemia cells showed milder effect, 20% cell death by the above 1000 Gray of proton beam and typical resistant pattern (5-10%) of hypoxia in desferrioxamine treated cells. Hepatoma cells (HepG2) were not responsive to proton beam even in rather higher dose (4000G). However, by the gamma-irradiation, Molt-4 was more sensitive than hepatoma or lung cancer cells, but still showed hypoxic resistance. The cell death by proton beam in Lewis lung carcinoma cells was confirmed by PARP cleavage and may be mediated by increased p53. Pro-caspases were also activated and cleaved by the proton beam irradiations for lung cancer cell death. In conclusion, high dose of proton beam (above 1000 gray) may be a good therapeutic radiation even in hypoxic region at the Bragg peak, but further investigations about the cancer cell specificity and the mechanism of resistance as well as *in vivo* study should be performed.

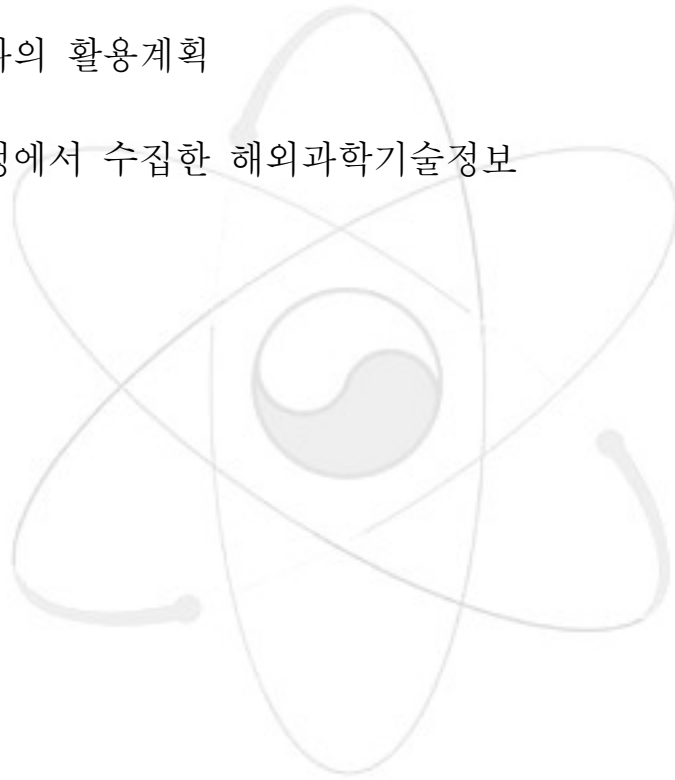
C O N T E N T S

Chapter 1. Synopsis of Research	8p
Chapter 2. Status of Research Development in Domestic and Outside the Country	9p
Chapter 3. Results and Contents of Research	10p
Chapter 4. Achievement and Contribution Degrees of Objectives	15p
Chapter 5. Plans for Application of the Research Results and Achievement	16p
Chapter 6. Informations Obtained from International Scientific Sources	17p
Chapter 7. References	17p



목 차

제1장 연구개발과제의 개요	8쪽
제2장 국내외 기술개발 현황	9쪽
제3장 연구개발수행내용 및 결과	10쪽
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	15쪽
제5장 연구개발결과의 활용계획	16쪽
제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	17쪽
제7장 참고문헌	17쪽



제1장 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 목적

가. **최종목표:** 양성자 빔을 이용한 암세포 사멸 유도시 저산소상태에 의한 세포사멸 저항성 극복 유도기술 개발

- (1) 1차년도: 양성자빔에 의한 암세포 사멸조건을 확립하고, 양성자빔을 적용하기 위한 동물 암모델의 구축.
- (2) 2차년도: 동물암모델에서 hypoxic region을 관찰할 수 있는 imaging system을 개발하고 양성자 빔의 농도별·부위별조사 수준을 비교·결정.
- (3) 3차년도: hypoxia 부위에서의 양성자 빔의 암세포사멸 유도효과 관찰 및 최적조사조건 확립하고 그 분자적 기전을 밝힘.

2. 필요성

hypoxia라는 저산소상태가 암내부에 존재하며, 이는 항암제나 방사선 조사에 의한 암세포사멸 유도에 대한 저항성을 나타내어 암세포의 악성화와 전이를 더욱 촉진하는 원인이 됨. 방사선 조사는 감마선이 주로 사용되어져 왔고, 양성자빔을 이용한 암세포 사멸유도 및 치료에 대한 연구는 안구암등에서 진행하고 있으나 아직도 구체적이고 다양한 암세포에 대한 보고가 적은 실정임. 특히 암조직의 내부에 존재하는 hypoxic region에 대한 저항성을 염두에 둔 양성자빔의 조사와 암세포사멸과의 관계를 연구하는 노력과 접근방법은 부족한 실정이고, 양성자 빔에 의해 이러한 저산소 부위의 세포사멸 저항성을 극복할 수 있는 가능성이 크므로 암세포의 완전한 사멸유도와 그 기전을 연구하는 본 연구의 수행은 반드시 필요함.

3. 범위

저에너지 양성자 빔을 이용하여, hypoxia 상태를 암세포에서 유도하되 암세포를 배양하면서 유도하는 chemical을 이용함. 암세포의 종류는 폐암, 혈액암, 간암세포를 사용하고 양성자 빔의 용량은 Bragg peak 위치에서 4000gray 까지 사용함.

제 2장 국내외 기술개발 현황

1. 국내 기술개발 현황

가. 본 연구와 관련된 주요기술 현황- 현재 21세기 프론티어 연구개발사업으로 진행 중인 양성자기반공학기술개발사업의 1단계 성공으로 저에너지의 양성자가속장치가 원자력연구소에 설치되었으며 이를 이용한 향후의 이용자 연구가 주목됨.

나. 국내의 동물암연구모델 확립은 수많은 국내의 실험실에서 잘 활용되고 있는, 기술면에서 매우 높은 수준을 유지하고 있으나, 동물을 직접 방사선 조사를 통해서 연구하는 기술은 방사선을 공급받을 수 있는 곳이 한정되어 있기 때문에 그 발전이 잘 이루어지고 있지 못함

다. 즉 양성자 빔의 이용자 시설기반이 확충되고 동물모델을 주변 연구시설에서 유지하면서 실험할 수 있는 시설 및 제도적인 뒷받침이 요구됨 (선진국대비 약 20%수준의 연구투자와 연구실적)

2. 국외 기술개발현황

가. 그동안의 암에 대한 양성자치료는 그동안 포괄적인 상대적 생물학적 효능 (RBE)을 사용하여 왔는데 보통 처음의 빔에너지 또는 특정부위와 관계없이 적용되는 것이 일반적이었음.

나. 양성자빔에 의한 RBE가 타겟부위의 edge에서 높은 것을 관찰하였고, in vivo 동물실험모델에서 gamma선 조사보다 DNA damage 와 micronucleus 형성 및 apoptosis가 증가됨을 보았고, 세포생존은 감소하였으나, gamma선 조사보다 조사 후 정상세포로 회복이 늦게 됨을 알 수 있었음. 하지만 여전히 정상세포와 암세포에서 모두 저에너지 (7-33 keV)의 양성자 조사에 의해서 세포가 사멸했으며 이는 gamma 선보다 효과가 좋은 것으로 나타났음.

다. 특히 재미있는 사실은 gamma선에 의해 내성을 나타내는 세포조차 양성자조사에서는 효과가 좋은 것으로 관찰되었으며, 또 양성자가 부위에 따른 에너지 발생이 다르게 나타나기 때문에 치료시 치료부위까지의 거리와 치료부위의 깊이등을 고려하는 연구도 진행하고 있으나 아직 정확한 데이터는 부족함.

제 3장 연구개발수행 내용 및 결과

1. 실험적 접근방법

- (1) 세포배양: Lewis lung carcinoma cell과 Hepa1c1c7 cell 및 Molt-4 leukemia cell, 그리고 HepG2 사람의 간암세포를 Dulbecos' minimal essential media (DMEM) 에 10% FBS 와 antibiotics (streptomycin/penicillin)를 넣어 배양하였다. 배양기 조건은 21% O₂, 5% CO₂, 조건으로 37°C에서 배양하였다.
- (2) 동물암모델: 마우스 암세포종 폐암 (Lewis lung carcinoma cell), 간암 (Hepa1c1c7 cell) 세포를 1x10⁷ cell/0.1ml 으로 C57BL/6J male 마우스에 피하 주사하였다.
- (3) Hypoxia유도: 세포내 hypoxia유도를 위해서 양성자 조사 24시간 전에 desferrioxamine 160μM을 처리하였다.
- (4) 양성자빔 조사: 양성자기반공학기술개발 사업단이 확립한 양성자가속 장치 (Cyclotron, Scanditronix, Sweden, 서울 원자력병원내 위치)를 이용하여 각 조사선량별로 세포에 조사하여 암세포사멸능력을 조사하였다. 이와 비교실험을 위하여 경북대병원 방사선과에 있는 감마선을 같은 방법으로 조사하였다.
- (5) 세포사멸 관찰: MTT assay를 실시하였다.
- (6) Western blot analysis: apoptosis 관련 단백질의 항체를 이용하여 western blot을 실시하였다.

2. 연구내용 및 연구결과

가. 연구내용

- (1) 동물암모델 확립: 양성자 조사의 암세포에 대한 효과관찰을 위해 *in vivo*동물 모델을 확립하였다.
- (2) 암세포 배양: *in vivo*동물 모델에 양성자 조사를 실시하기 위하여 *in vitro*에서 세가지 암세포주를 배양하여 유지하였다.
- (3) Hypoxia유도와 양성자 조사: 세가지 암세포주인 폐암세포주, 혈액암세포주, 간암세포주에 대한 양성자 조사효과와 hypoxia상태를 유도하여 양성자를 세포위치에 정확히 조사하기 위해 Bragg peak을 계산하여 100, 1000, 2000, 4000 gray의 농도를 조사하였다.
- (4) Western blot analysis: PARP-1, p53, Bcl-2, Bax, Bcl-xl, Caspase-3, 7 antibody를 이용하여 western을 실시하여 apoptosis의 기전을 조사하였다.
- (5) Cell morphology 관찰
- (6) Cell cycle analysis: FACS (Flow cytometry scan)을 통해 cell cycle analysis를 실시하였다.

나. 연구결과

(1) LLC 폐암세포, Molt-4 leukemia cell, HepG2 간암세포에 대한 양성자 조사에 대한 세포사멸 효과를 관찰한 결과, LLC의 경우 1000 gray이상의 조건에서 세포사멸이 증가하였고, hypoxia조건에서도 세포사멸의 저항성이 나타났지 않았다. 하지만 Molt-4, HepG2세포에서는 세포사멸효과가 관찰되지 않았다 (Fig.1A, B, C).

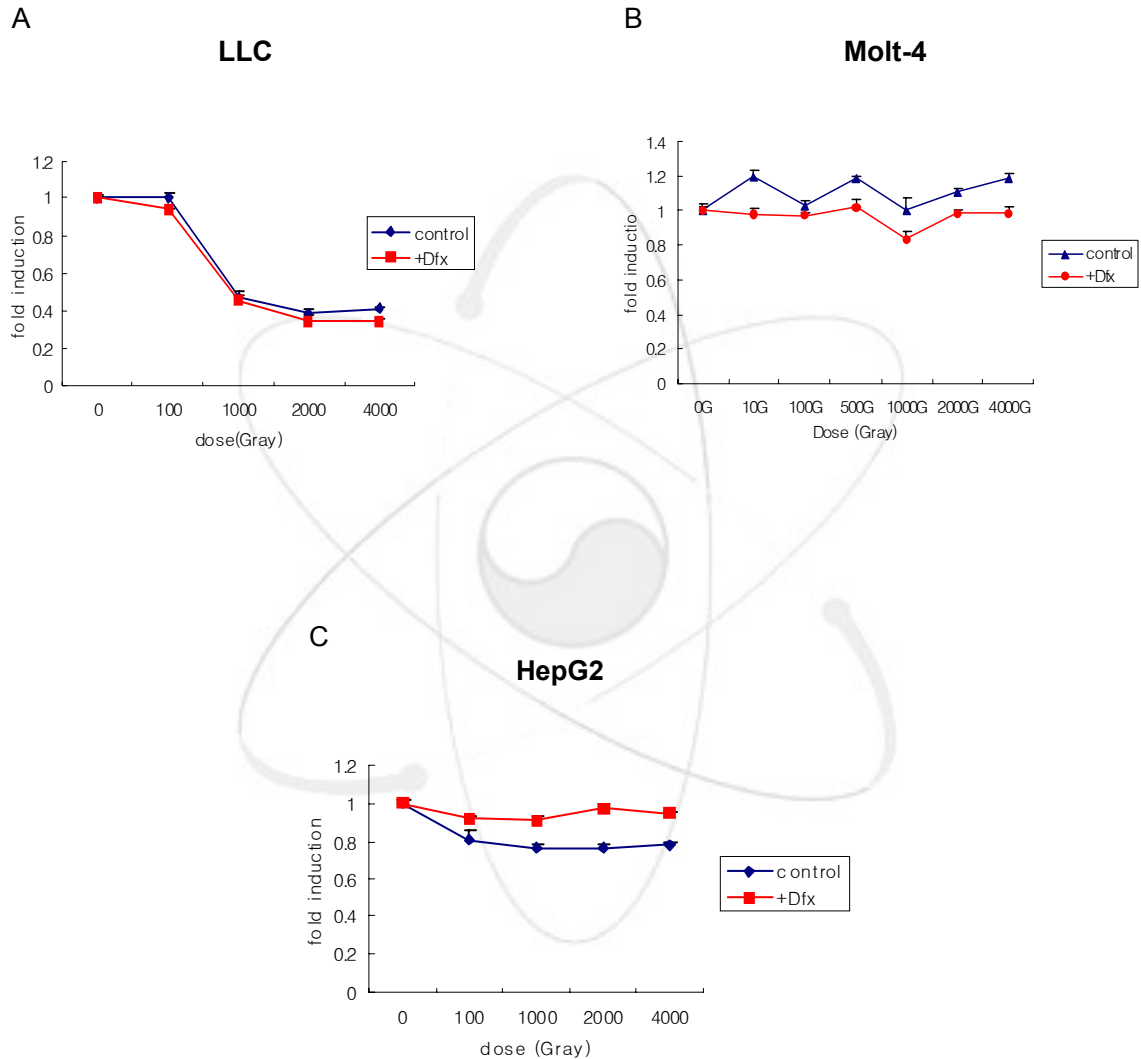


Fig. 1. Effect of proton beam on tumor cell apoptosis. (A) Lewis lung carcinoma cells were exposed to proton beam with indicated doses. To induce the hypoxic condition, the cells were treated with desferrioxamine (160uM) during cell cultivation and beam exposure. Over 1000 G of proton beam induced severe cell death and overcome the typical radiance-resistant effect. (B) Molt-4 leukemia cells were not responsive to proton beam treatment even with high doses. And induction of hypoxia also did not affect the result. (C) In hepatocellular carcinoma cells, HepG2, proton beam induced apoptosis with a little amount (80% of control), and restored cell death in hypoxia status, showing typical hypoxia-resistant effect. All data were shown as fold induction of each control cell viability. Bar shows standard deviations within 95% reliability.

(2) LLC 폐암세포, Molt-4 leukemia cell, HepG2 간암세포에 대한 감마선 조사에 대한 세포사

멸 효과를 관찰한 결과, HepG2의 경우 5 gray이상의 조건에서 세포사멸이 증가하였는데, hypoxia조건에서는 세포사멸의 저항성이 현저히 나타나는 결과를 보였다. 하지만 Molt-4, LLC세포에서는 세포사멸효과가 관찰되지 않았다 (Fig. 2A, B, C).

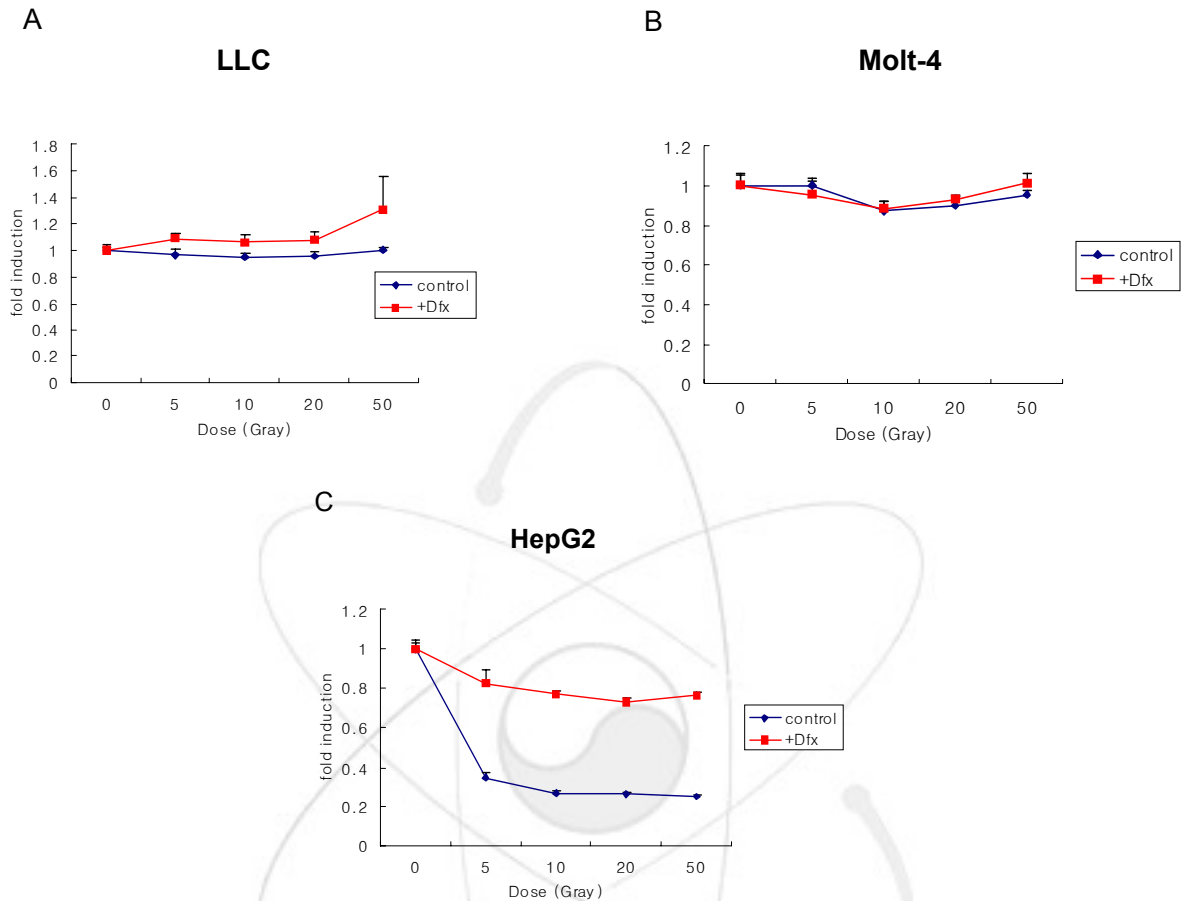


Fig. 2. Effect of gamma-irradiations on three different tumor cells. (A) Gamma ray did not affect cell death in Lewis lung carcinoma cells. Even induction of hypoxia increased cell viability of tumor cells. (B) Molt-4 leukemia cells also were not responsive to various doses of gamma irradiation. Hypoxia did not alter the gamma ray effect on Molt-4 cell death. (C) HepG2 hepatocellular carcinoma cells were very susceptible to gamma ray, showing 75-80% of cell death induced. However, the resistant cells in hypoxic condition were observed from low dose (5gray) to highest dose (50 gray) of gamma ray. All data were shown as fold induction of each control cell viability. Bar shows standard deviations within 95% reliability.

(3) Apoptosis 관련 단백질의 변화를 관찰한 결과, 양성자 조사에 의한 암세포사멸은 p53의 유도에 의한 apoptosis임을 알 수 있었으며, 이는 PARP-1 cleavage를 통해서 확인하였고, caspase-3의 활성증가에 의한 것임을 확인하였다. 암세포 사멸에 대한 hypoxia저항성도 양성자에 의해서 일어나지 않는다는 것을 p53의 양과 PAPR-1 cleavage, caspase-3활성을 통해서 알 수 있었다. 이러한 것은 bcl-2 family에 의해서는 조절되지 않았다(Fig. 3A, B, C).

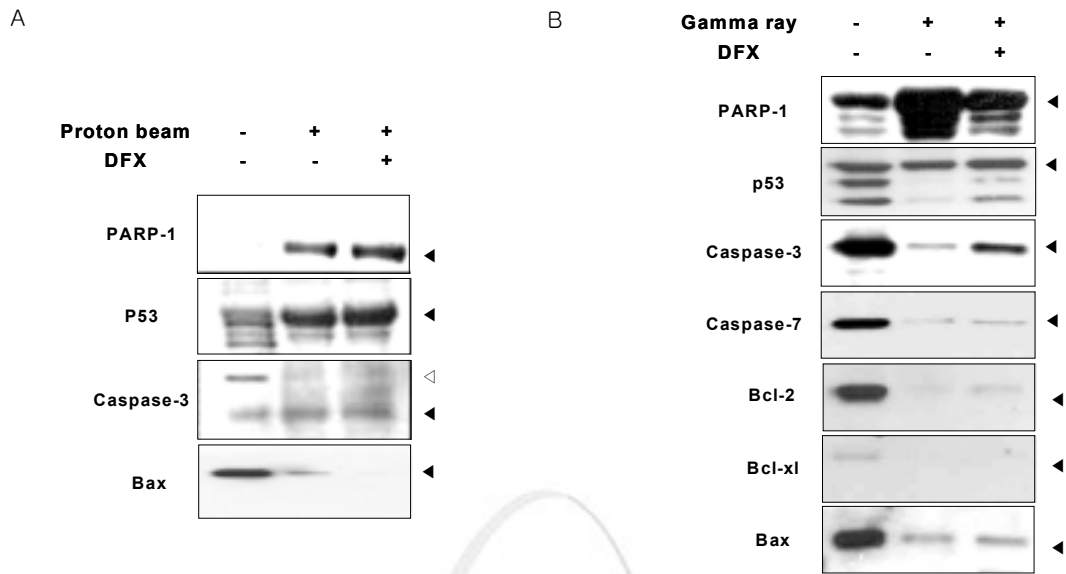


Fig. 3. Western blot analysis for apoptosis-related proteins in proton-beam or gamma-ray irradiated cancer cells. (A) Proton beam induced apoptosis in Lewis lung carcinoma cells independent of hypoxic condition. Cells were treated with dfx or without dfx (160uM), irradiated with proton beam (2000G) and 2days after proteins were collected and lysed for western blot. Hypoxia did not alter the expression or PARP cleavage, p53 levels and caspase 3 activation. (B) Gamma ray induced Molt-4 human leukemia cells cell death proteins but hypoxic condition retained the level of proteins showing apoptosis resistance. PARP cleavage, p53 level caspase-3 activation induced by gamma ray restored to similar level of normal control.

(4) 양성자조사에 의한 암세포사멸시 세포 morphology 관찰결과, 양성자빔을 조사하지 않은 대조군의 LLC 세포와 대조적으로 양성자 빔을 1000Gray 조사한 세포는 apoptotic 모양을 나타내며 많은 세포가 사멸하는 것이 관찰되었고, hypoxia 상태에서 1000Gry의 양성자빔을 조사한 경우에서도 apoptotic 세포가 많이 관찰되었다 (Fig. 4).

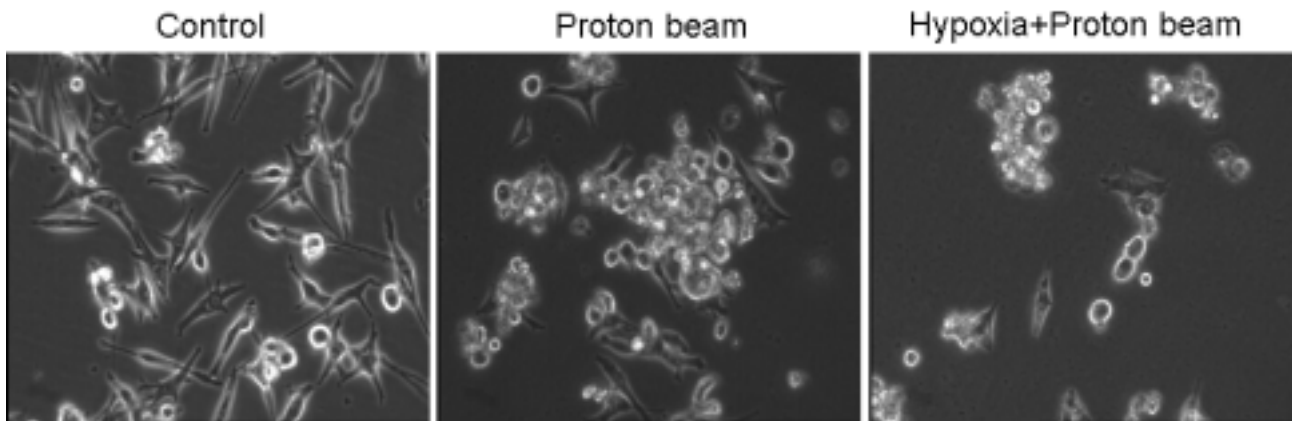


Fig. 4. Morphology of LLC cells treated with proton beam 1000Gray and desferrioxamine 160uM before the irradiations. Even in hypoxic cells many apoptotic cell deaths were induced by the proton beam irradiations.

(5) FACS analysis를 통한 cell cycle 분석:

양성자 조사에 의한 암세포사멸의 경우에는 G0-G1 phase 가 8.9%에서 20.8%로 증가하였으며 S phase 와 G2-M phase 가 감소하는 것으로 관찰되었고, 이것이 hypoxia 상태에서 양성자 조사를 한 경우에는 더욱 심화된 결과를 나타내었다. 즉, G0-G1 phase 가 64%로 매우 증가하였으며, S phase 와 G2-M phase 역시 현저히 감소하는 것이 관찰되었다 (Fig.5).

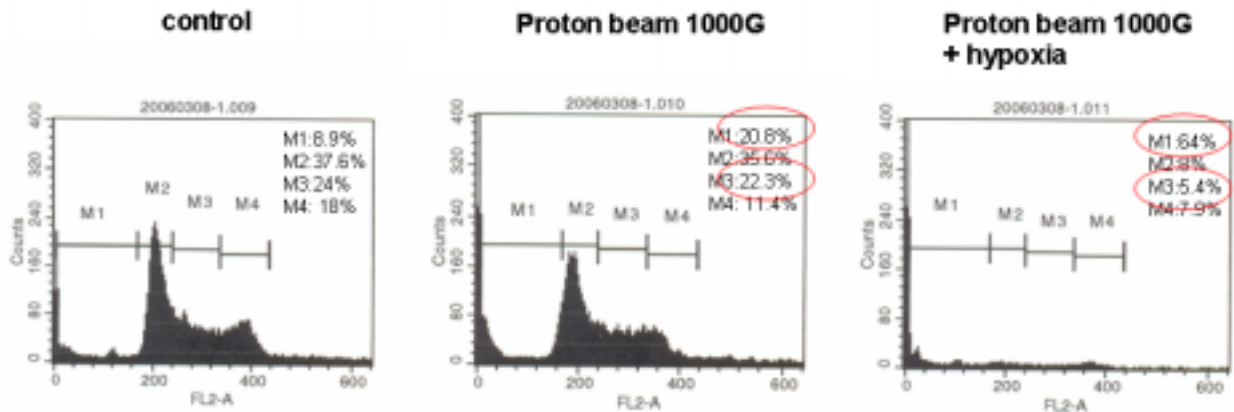


Fig. 5. FACS analysis. Cells were fixed and stained with propidium iodide for cell cycle analysis by the flow cytometry. Proton beam induced G0-G1 cell cycle arrest and apoptotic cells. Hypoxia did not interfere the proton beam-induced cell cycle arrest and apoptosis.

모든 결과를 종합해 보았을 때, 양성자 조사에 의해서 야기되는 암세포사멸은 apoptosis에 의해 일어나며, 이는 암세포의 종류에 따라 그 양상이 다르게 나타나는 것이 관찰되었다. 즉, 감마선 조사와 다르게 양성자 조사에 의해서는 마우스 폐암세포에서 세포사멸이 잘 일어났으나, 혈액암세포나 간암세포에서는 세포사멸이 유도되지 않았고, 이와는 대조적으로 감마선 조사에 의해서는 간암세포가 세포사멸을 일으켰으나 폐암세포나 혈액암세포에서는 효과가 관찰되지 않았다. 하지만, hypoxia 조건에서는 감마선에 의해 저항성을 나타내는 것이 관찰되었지만 양성자 조사에 의해서는 hypoxia에 의한 저항성은 전혀 관찰되지 않았고, 그것은 분자수준의 apoptosis 관련 단백질의 변화에서도 같은 결과를 나타내었다. 또한 이는 cell cycle 분석결과에서도 동일하게 나타남으로써, 양성자 조사에 의해서는 감마선조사와 달리 hypoxia에서 암세포사멸이 둔화되거나 저항성을 갖는 한계를 극복할 수 있는 결과를 나타내었다. 이는 암세포의 종류에 따라 그 sensitivity가 다르다는 것과 함께 매우 중요한 결과가 될 것이다.

제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 연구목표

가. 당해년도 연구개발 목표: 양성자빔에 의한 암세포 사멸조건을 확립하고, 양성자빔을 적용하기 위한 동물 암모델의 구축

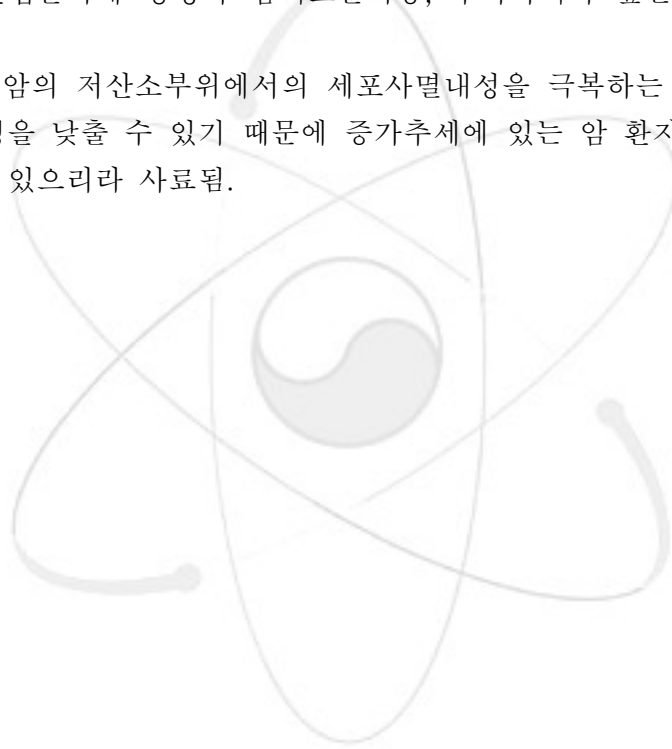
나. 당해년도 연구개발 내용:

- ① 암세포 사멸효과를 유도하는 양성자빔의 용량 결정 (in vitro): 100%
- ② 양성자빔을 적용하기 위한 동물 암모델의 구축: 100%
- ③ 암조직의 세포사멸 관찰: 100%

구 분	주요연구결과물	과제평가지 평가기준 (구체적으로 정량화)
2005 년도 (1차년도)	1. 양성자빔적용을 위한 실험조건 및 모델 2. 전문학술지 투고 1건 3. 전문학술대회 발표 1건	1. 양성자빔적용조건과 그 실험모델을 확립여부 2. 전문학술지 논문투고 3. 학술대회 발표 (3차년도 중 1차년도 30%)

제 5장 연구개발결과의 활용계획

1. 화학요법제와의 병용 투여제로서 양성자빔의 조사를 선택하여 부작용을 최소화 효과를 극대화시킴
2. 양성자에 의한 암치료가 저산소부위의 암세포까지도 세포사멸을 유도하는 방법을 동물 모델에서 활용할 수 있는 시스템 개발
3. 방사선 조사에 대한 저산소부위의 내성을 극복하지 못한 점에 대한 극복가능성제시하여 구체적 방법제시
4. 암환자에 대한 방사선 치료분야에의 적용
5. 암전이로 인한 암의 재발 억제로 암환자의 의료비 절감에 기여
6. 국가및 민간의료산업분야에 양성자 암치료분야등, 부가가치가 높은 분야로서의 양산을 촉진
7. 양성자조사에 의한 암의 저산소부위에서의 세포사멸내성을 극복하는 것은 암의 치료율을 높이고 재발의 가능성을 낮출 수 있기 때문에 증가추세에 있는 암 환자들에게 희망과 삶의 행복을 가져다 줄 수 있으리라 사료됨.



제 6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

제 7장 참고문헌

1. Amaldi, U. Hadrontherapy in the world and the programmes of the TERA foundation. *Tumouri* 84, 188-199, 1998.
2. Belli M, Bettega D et al. Inactivation of human normal and tumour cells irradiated with low energy protons. *Int J Radiat Biol.* 76(6):831-9, 2000.
3. Bettega D, Calzolari P, Chauvel P, Courdi A, Herault J, Iborra N, Marchesini R, Massariello P, Poli GL, Tallone L. Radiobiological studies on the 65 MeV therapeutic proton beam at Nice using human tumour cells. *Int J Radiat Biol.* 76(10):1297-303, 2000.
4. Bjork-Eriksson T, Glimelius B. The potential of proton beam radiation therapy in breast cancer. *Acta Oncol.* 44(8):884-9, 2005.
5. Brunner TB, Gupta AK, Shi Y, Hahn SM, Muschel RJ, McKenna WG, Bernhard EJ. Farnesyltransferase inhibitors as radiation sensitizers. *Int J Radiat Biol.* 79(7):569-76, 2003.
6. Brunner TB, Hahn SM, McKenna WG, Bernhard EJ. Radiation sensitization by inhibition of activated Ras. *Strahlenther Onkol.* 180(11):731-40. Review. 2004. Chiba T, Tokuyue K, Matsuzaki Y. Proton beam therapy for hepatocellular carcinoma: a retrospective review of 162 patients. *Clin Cancer Res.* 11(10):3799-805, 2005.
7. el Gamoussi R, Stratford IJ, Guichard M. Relationship between intracellular concentration and radiosensitizing effect of pimonidazole and etanidazole on two human melanoma cell lines. *Int J Radiat Biol.* 63(1):27-36, 1993.
8. Graeber TG, Osmanian C, Jacks T, Housman DE, Koch CJ, Lowe SW, Giaccia AJ. Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumors. *Nature* 379, 88-91, 1996.
9. Greco O, Marples B, Joiner MC, Scott SD. How to overcome (and exploit) tumor hypoxia for targeted gene therapy. *J Cell Physiol.* 197(3):312-25, 2003.
10. Horsman MR. Nicotinamide and other benzamide analogs as agents for overcoming

hypoxic cell radiation resistance in tumours. A review. *Acta Oncol.* 34(5):571-87, 1995.

11. Koshikawa N, Takenaga K. Hypoxia-regulated expression of attenuated diphtheria toxin A fused with hypoxia-inducible factor-1alpha oxygen-dependent degradation domain preferentially induces apoptosis of hypoxic cells in solid tumor. *Cancer Res*, 65(24):11622-30, 2005.

12. Nihei K, Ogino T, Ishikura S, Nishimura H. High-dose proton beam therapy for Stage I non-small-cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. In press, 2006

13. Ristic-Fira A, Nikolic D, Petrovic I, Ruzdijic S, Raffaele L, Sabini MG, Cirrone GA, Cuttone G, Farruggia G, Masotti L, Kanazir DT. The late effects of proton irradiation on cell growth, cell cycle arrest and apoptosis in a human melanoma cell line. *J Exp Clin Cancer Res*. 20(1):135-43. 2001.

14. Semenza GL. Intratumoral hypoxia, radiation resistance, and HIF-1. *Cancer Cell* 5(5):405-6, 2004.

15. Williams KJ, Telfer BA, Xenaki D, Sheridan MR, Desbaillets I, Peters HJ, Honess D, Harris AL, Dachs GU, van der Kogel A, Stratford IJ. Enhanced response to radiotherapy in tumours deficient in the function of hypoxia-inducible factor-1. *Radiother Oncol*. 75(1):89-98, 2005.



주 의

1. 이 보고서는 과학기술부에서 시행한 원자력연구개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 과학기술부에서 시행한 원자력연구개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.