

신경교종 및 교모세포종 세포와 동시배양된 혈관내막세포에서 Dexamethasone의 투여에 따른 투과도 변화

아주대학교 의과대학 신경외과학교실

윤수한 · 조기홍 · 김세혁 · 안영환 · 안영민 · 조경기

Permeability Change of the Endothelial Monolayer Co-cultured with Glioma or Glioblastoma Cell Lines by Dexamethasone

Soo Han Yoon, Ki Hong Cho, Se Hyuk Kim, Young Hwan Ahn
Young Min Ahn and Kyung Gi Cho

Department of Neurosurgery, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Even though many hypotheses have been advanced from the anatomical and functional analysis of *in vivo* and *in vitro* models of brain tumors, it is still not yet possible to explain the mechanism of peritumoral edema. Dexamethasone administration has been shown to dramatically decrease peritumoral edema, especially in patients with malignant brain tumor. We evaluated permeability changes of the endothelial monolayer co-cultured with or without glioma and glioblastoma cell lines by dexamethasone administration. All groups showed reduced permeability after dexamethasone administration: 73.6% in the endothelial monolayer culture, 83.8% in the endothelial monolayer co-cultured with C6 glioma cell line, 81.8% in the coculture with H683 astrocytoma cell line, 69.3% in the coculture with 373 MG glioblastoma cell line, and 53.0% in the coculture with 87 MG glioblastoma cell line.

These results suggested that dexamethasone inhibited not only the production of some soluble factor which was secreted from the co-cultured cells to the media, but also influenced endothelial cells thus explaining the pathogenetic mechanism of peritumoral edema in malignant brain tumors. (Ajou Med J 1998; 3(1): 25~29)

Key Words: *In vitro* blood-brain barrier, Endothelial monolayer culture, Dexamethasone, Peritumoral brain edema

서 론

임상에서 악성 뇌종양에서 볼 수 있는 종양주위의 부종은 스테로이드 호르몬에 의해서 상당부분 호전 되는데 종양주위 부종에 대한 기전이 염증반응이나 면역반응시 나타나는 prostaglandin과 lipoxigenase 체계에 의해서 기인할 것으로 보고^{1,2}되었기 때문에 그 기전으로 종양주위 부종을 일으키는 염증성 반응이나 면역반응

을 억제하여 이루어질 것으로 추측되었다. 그런데 최근에 종양에 의해서 유도된 혈관 생성의 과정에서 비정상적으로 투과도가 높은 이른바, 미분화된 혈관세포가 생성되었기 때문이라든지,³ 또는 악성 뇌종양으로 부터 주위에 있는 혈관 내피세포에 어떤 다른 수용성 인자가 직접적으로 또는 다른 우회경로를 통하여 방출되어 정상혈관세포가 투과도가 변한 것^{4,5}이라는 두가지 사실이 종양주위 부종의 기전에 대한 설명으로 강력히 대두되자 이제는 뇌종양으로 부터 분비되는 수용성 인자의 생산 및 억제가 작용할 것으로 추정하지 않을 수 없게 되었다. 이러한 뇌종양분비 인자에 의한 종양주위

저자연락처: 윤수한, (442-749) 경기도 수원시 팔달구 원천동 산 5번지, 아주대학교병원 신경외과, Tel: (0331) 219-5114, Fax: (0331) 216-6658

부종의 기전을 연구하기 위해서 종양주위 부종에 효과가 있는 스테로이드 호르몬이 염증반응이나 면역반응을 억제하는 것 이외에 뇌종양이나 혈관내피세포에 직접 작용하는지의 여부를 확인하는 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

이에 저자는 악성 종양세포와 혈관내막세포를 동시에 또는 단독배양하여 dexamethasone으로 처리한 후 혈관내피세포의 투과도의 변화를 측정함으로써 종양주위부종에서 dexamethasone이 선택적으로 뇌종양이나 혈관내막세포에 작용하는지를 확인하여 종양주위 부종의 기전을 밝히는 데 기여하고자 하였다.

연구 범위 및 방법

1. 미세혈관 내피세포 배양

미세혈관 내피세포는 뇌적출물에서 얻게 되는데, 적출된 뇌를 절개하여 cortical gray matter를 분리한 후 1% bovine serum albumin이 있는 10 cc 0.01 M isotonic phosphate buffered saline(PBS)에 씻어내고, 비활성화시킨 10% 우태아 혈청(FBS, fetal bovine serum, Gibco, USA)을 추가한 MEM(minimal essential media, Hazleton, USA)에 넣어서 실험실로 옮긴다. 조직절편은 #10 scalpel blade로 mincing 하여 1 mm³ 이하의 작은 크기로 만들고 MEM을 같은 양으로 넣고 homogenize를 한다. homogenize된 양을 같은 양의 30% dextran solution에 넣고 5800 G에서 약 10분간 centrifuge 한다. Pellet를 15% dextran solution에서 다시 centrifuge한다. 이렇게 얻어진 pellet는 MEM에 의해서 씻어내고 0.1 mg/ml collagenase/dispase를 추가하고 5시간에서 16시간 정도를 37°C의 shaker에 두게된다. 용액은 1500 G에서 10분동안 centrifuge하고, cell fraction을 모아서 위상차현미경으로 관찰하여 refractile cell을 확인하고 DMEM (Dulbecco's minimal essential media, Hazleton, USA)에 비활성화시킨 5% 우태아 혈청 (FBS, fetal bovine serum, Gibco, USA)에 의해서 희석시킨 다음, 1500 G에서 10분 동안 centrifuge를 두번한다. 결과로 얻어진 pellet는 DMEM/F12에 10 U/ml heparin, 2.5 uM hydrocortisone, 10% FCS, 1% antibiotic solution 등을 추가한 용액에 넣고 collagen coating이나 fibronectin에 처리한 plastic dish나 15 ml의 plastic flask (Nunc, Denmark)에 넣어 37°C, 5% CO₂에서 배양한다. 배양액의 신선 상태를 유지하기 위하여 주 2회 배양액을 교환하고, 이때 위상차 현미경으로 생육상태를 관찰한다. 일부는 slide flask에서 배양하여 Factor VIII 면역형광 염색에 의해서 염색을 확인한다.

2. 내피세포 단일층에 의한 모델

배양을 시작하고 10~14일 정도 지나면 endothelial cell 은 풍부하게 단일층으로 자라게 되며 이들은 가온된 PH 7.4의 0.01 M PBS로 세번 씻어내고, 10% dispase가 첨가된 3 ml의 PBS에 37°C의 2~3분 동안 처리하고 1% bovine serum albumin이 첨가된 7 ml PBS를 넣고 가볍게 흔든다. 세포가 detach되면 phosphate-buffered saline (PBS, PH 7.2)에서 200 g로 10분동안 세번에 걸쳐서 centrifuge 함으로서 씻어내고 세포를 모으게 된다. centrifuge 이후에 세포를 세고 trypphan blue에 의해서 90% 이상의 생존도를 확인한다. 이를 거둬들여서 porous collagen-coated membrane에 구획되어 만들어진 이중구조의 배양관에서 100,000 cells/ml의 밀도로 위쪽 부분의 compartment에 분포시키고 배양하면 7일 정도 후면 porous collagen-coated membrane 위에 endothelial cell이 풍부하게 단일층으로 자라게 되며 약 10일이 되면 물질이동에 사용하여 측정하게 된다.

3. 신경교종 동시배양에 의한 모델

C6(rat glial cell tumor), Hs 683(human glioma), 373-MG(rat glioblastoma), 그리고 87-MG3(rat glioblastoma) 세포세포를 10% 우태아혈청이 첨가된 DMEM으로 배양한다. 배양을 시작하고 5~7일 정도 지나면 풍부하게 단일층으로 자라게 되며 이들은 가온된 PH 7.4의 0.01 M PBS로 세번 씻어내고, 10% dispase가 첨가된 3 ml의 PBS에 37°C의 2~3분 동안 처리하고 1% bovine serum albumin이 첨가된 7 ml PBS를 넣고 가볍게 흔든다. 세포가 detach되면 PBS에서 200 g로 10분 동안 세번에 걸쳐서 centrifuge 함으로서 씻어내고 세포를 모으게 된다. centrifuge 이후에 세포를 세고 trypphan blue에 의해서 90% 이상의 생존도를 확인한다. 이를 거둬들여서 porous collagen-coated membrane에 구획되어 만들어진 이중구조의 배양관에서 100,000 cells/ml의 밀도로 아래쪽 부분의 compartment에 분포시키고 배양하면 3일 정도 후면 세포가 풍부하게 단일층으로 자라게 되며 약 5일이 되면 물질이동에 사용하여 측정하게 된다.

4. dexamethasone 투여

위쪽 구획에 혈관내피세포가 단일층으로 자라게 되면 2.5 ml의 DMEM 배양액에 0.05 mg과 0.025 mg의 dexamethasone을 각각 넣고 1시간 동안 노출시킨 후에 PBS로 씻어낸 다음, 물질이동 측정에 사용한다. 또한 아래쪽 구획에 자란 신경교종 세포도 똑같은 방법으로 단

일층으로 자라게 되면 2.5 ml의 DMEM 배양액에 0.05 mg과 0.025 mg의 dexamethasone을 각각 넣고 1시간 동안 노출시킨 후에 PBS로 씻어낸 다음, 물질이동 측정에 사용한다.

5. 투과도 측정

permeability에 대한 연구는 가장 많은 연구가 이루어져 있고 측정이 용이한 fluorescein sodium(MW=373)을 10~100 μM의 농도가 되도록 배양관의 위층 구획에 투여하고 아래층 구획의 배양액을 0.1~1 mL 정도 채취하여 phosphate buffered saline으로 희석하여 1 ml가 되게 한 다음 spectrofluorometer에 의해서 excitation 490 nm로 설정하고 520 nm에서 fluorescence를 측정한다.

Sill등⁶에 의해 정의되어 있는 Effective Permeability Coefficient는 다음과 같이 표시된다.

$$Pe = \frac{V}{A} \times \frac{(T_L/T_u)}{t}$$

여기서 V는 위층 chamber media의 volume 이고, A는 endothelial cell-covered membrane의 면적이며, T_L은 아래 쪽 chamber에 있는 표지물질의 농도이고, T_u는 위층 chamber의 표지물질의 농도이며, t는 표지물질을 첨가한 후부터의 시간이다.

이때 측정된 투과도(P)는 배양하기 위하여 설치한 배양막의 투과도를 포함하고 있으므로 실제 내피세포 단일층에 의한 투과도(P₀)는 배양막의 투과도(P_m)를 감하여야 하며 다음과 같이 표시된다.

$$\frac{1}{P_0} = \frac{1}{P_c} - \frac{1}{P_m}$$

결 과

1. 미세혈관 내피세포 단일층의 투과도

내피세포 단일층배양에 의한 투과도는 10.3 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹이었고, 배양층만의 투과도가 23 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹으로 측정되어 결국 내피세포 단일층만의 투과도는 18.65 ± 2.37 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹이었다.

2. 종양세포와 이중배양관에서 동시 배양된 미세 혈관 내피세포 단일층의 투과도

C6(rat glial cell tumor)와 동시배양한 이중구조에서 내

피세포 배양에 의한 투과도는 8.1 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹이었고, Hs 683(human glioma) 세포의 경우에는 9.5 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹, 373-MG(glioblastoma)의 경우에는 11.9 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹, 그리고 87-MG3(glioblastoma)에서는 14.1 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹이었다. 이때 배양층만의 투과도가 23 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹이었으므로 결국 C6(rat glial cell tumor)와 동시배양한 이중구조에서 내피세포 배양에 의한 투과도는 12.5 ± 2.07 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹이었고, Hs 683(human glioma) 세포의 경우에는 16.2 ± 3.17 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹, 373-MG(glioblastoma)의 경우에는 24.7 ± 8.88 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹, 그리고 87-MG3(glioblastoma)에서는 36.4 ± 6.72 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹ 계산되었다.

3. dexamethasone에 노출시킨 경우 미세혈관 내피 세포 단일층의 투과도

dexamethasone에 노출시킨 경우 내피세포만을 단독 배양한 경우 8.6 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹, C6(rat glial cell tumor) 세포와 동시배양한 경우 내피세포의 투과도는 7.2 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹이었고, Hs 683(human glioma) 세포에서는 8.4 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹, 373-MG(glioblastoma)세포 동시배양에서는 9.8 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹, 그리고 87-MG(glioblastoma) 세포 동시배양에서는 10.5 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹이었다. 이때 배양층만의 투과도가 23 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹이었으므로 결국 내피세포만을 단독 배양한 경우 13.7 ± 1.98 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹, C6(rat glial cell tumor) 세포와 동시배양한 경우 내피세포의 투과도는 10.5 ± 1.39 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹이었고, Hs 683(human glioma) 세포에서는 13.2 ± 1.58 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹, 373-MG(glioblastoma)세포 동시배양에서는 17.1 ± 2.29 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹, 그리고 87-MG(glioblastoma) 세포 동시배양에서는 19.32 ± 1.9 × 10⁻⁴ cm · min⁻¹으로 계산되었다.

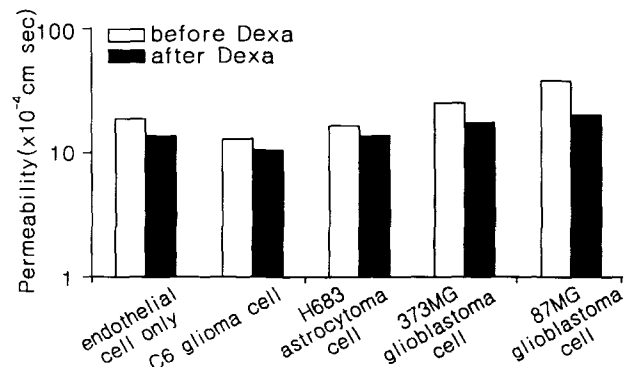


Fig. 1. Permeability changes of endothelial cell monolayer and glioma cells in the co-culture system by dexamethasone. Dexamethasone influence not only tumor cells but also endothelial cells (p<0.05). Dexa=dexamethasone

고 찰

악성 뇌종양에서 흔히 동반되는 뇌부종의 발생기전에는 여러 가지 가설이 있으나 이중에서 대식세포와 다형백혈구에 의해서 혈소판 자극인자가 방출되고 arachidonic acid 등과 eicosanoid들이 생성되며, superoxide anion radical 등이 발생하게된다는 염증성 기전⁷이 제시된 후, T 임파구와 PGE₂, IL-1과 IL-2에 의해서 제시된 면역학적인 기전^{8,9}이 발표되고 나서 종양에 의한 혈관생성시에 투과도가 높은 비정상적인 혈뇌장벽으로 이루어진 혈관세포에 의해서 혈관이 이루어진다는 가설¹⁰과 종양에서 분비된 투과인자에 의해서 혈뇌장벽의 투과도가 높아진다는 가설^{11,12}이 제기되었다. 최근에 이루어진 비정상적인 신생혈관에 대한 가설의 타당성은 종양세포와 동시배양된 미세혈관의 구조적 관찰에서 비정상적인 다발성 공막이 발견되어¹³ 투과도가 증가할 것이라는 추측에서 뒷받침되고 있지만 이러한 조건에 의해서 체내에서 투과도의 변화가 발생하였는가에 대해서는 더 연구가 이루어져 확인되어야 할 부분이다. 수용성 인자에 의해서 투과도 변화가 일어난다는 가설 역시 종양세포배양에서 여러 수용성 인자를 발견할 수 있었고, 이러한 혈관수축인자들이 혈관세포의 투과도를 변화시킬수 있다는 면에서 인정되고 있지만 정상세포에서도 이러한 인자들은 분비되고 있고, 수용성 인자의 정량적 측정과 투과도의 관계의 분석이 어렵기 때문에 이러한 수용성 인자에 의해서 투과도가 변한다고 하여도 실제 체내에서 이것에 의한 투과도의 변화 정도를 정상 구조와 비교하여 보고된 바가 없다.

이러한 투과도의 변화를 측정하는 방법으로 이중관에서 혈관내피세포와 정상 및 종양세포를 체외 세포배양하여 투과도의 변화를 측정하였는데, 우선 내피세포만을 단독배양한 모델에서 보다 정상세포 또는 정상세포종 세포와 동시배양한 경우에도 내피세포의 투과도가 감소한다고 보고되었으며,¹⁴ 이는 정상세포 또는 정상세포종 세포에서 내피세포의 투과도를 감소시키는 인자가 분비되어 이루어진 결과로 추정되었다.¹⁵ 정상세포 동시배양의 경우와 정상세포종 동시배양의 경우를 비교하면 정상세포 동시배양의 경우에 내피세포의 투과도가 더 낮은 것으로 보고되고 있으며,¹⁶ 이러한 인자가 무엇인지는 아직 보고된 바가 없다.

악성종양의 혈관세포에서 투과도에 대한 체내 실험에서 Brooks등¹⁷에 의하면 정상 체내에서 $11 \pm 2.4 \times 10^{-5}$ /sec, 양성종양에서 $6.6 \pm 5.8 \times 10^{-5}$ /sec이었으며, 그리고 악성종양에서 $109 \pm 86 \times 10^{-5}$ /sec이었다고 보고되어 종양 혈관 세포에서 정상 혈관에서보다 투과도가 증가하며 악성 종양의 경우 더욱 증가한다고 알려져 있다. 윤등¹⁸

에 의한 체외 혈뇌장벽 모델에서의 투과도는 분자량에 따라 $2 \sim 30 \times 10^{-4}$ cm/min으로 양성 정상세포종을 동시배양한 모델에서는 정상 정상세포를 동시배양한 경우에 비해서 60%의 투과도 증가를 보였으며, 교모세포종을 동시배양할 때에는 정상 정상세포를 동시배양할 경우보다 혈관내피세포층의 투과도가 240%까지 증가한다고 하였다.

dexamethasone의 투여에 따른 투과도 변화에 대해서 Jarden등¹⁹은 사람 체내실험에서 정상부분은 dexamethasone 투여전후에 투과도가 동일하였지만 종양부분은 9~48% 감소하였다고 보고하였다. 본 실험에서 시행한 체외 실험에서 dexamethasone 투여에 의해서 내피세포만을 배양한 경우 투여전과 비교하여 73.6%로 감소하였고($p=0.0017$), 양성 정상세포를 동시배양한 경우 82.8%로($p=0.016$), 그리고 악성 교모세포종을 동시배양한 경우 61.3%로($p=0.001$) 감소하여 모두에서 투과도가 감소하였다. 이는 대상이 모두에서 정상 정상세포가 없는 비정상 조건이므로 정상 정상세포 배양에서의 투과도를 향하여 감소된 것으로 추측된다. 특히 양성 정상세포종 동시배양의 경우 정상 정상세포 동시배양의 경우보다 투과도가 높다고 보고되었는데, dexamethasone을 투여하면 정상 정상세포 동시배양의 경우와 비슷할 정도로 투과도가 낮아지는 것은 양성 정상세포종에서는 내피세포의 투과도를 감소시키는 인자와 증가시키는 인자, 두가지가 모두 분비되다가 dexamethasone치치에 의해서 투과도를 증가시키는 인자가 상대적으로 크게 감소하기 때문으로 추측할 수 있을 것으로 사료된다. 악성 교모세포종 동시배양에서는 투과도를 증가시키는 인자의 생성이 양성 정상세포종 동시배양에서 보다 많아 투과도가 높게 나타나다가 dexamethasone 투여에 의해서 투과도 증가 인자의 생성이 크게 감소하여 내피세포의 투과도가 양성 정상세포종 동시배양 수준으로 감소하였을 것으로 추측된다. 또한 혈관 내피세포만을 배양한 경우에도 dexamethasone에 의해서 투과도가 크게 감소한다는 사실에서 dexamethasone의 작용이 종양세포에도 작용하여 투과도를 감소시키는 것 뿐만이 아니라 내피세포에도 작용함을 명백히 하였다.

최근에 악성종양에서 분비되는 수용성 인자로 혈관 내피세포 성장인자²⁰와 IL-1,⁸ 그리고 IL-6²¹가 보고되고 있는데, 이중에서 dexamethasone을 처리해서 혈관 내피세포 성장인자의 분비가 적어진다는 보고²²도 있지만 1시간 정도의 짧은 시간 동안 노출되는 것에 의해서는 분비량에 차이를 가져오지 않는다는 보고^{23,24}도 있어 혈관 내피세포 성장인자가 투과도에 직접적인 관련이 있다고 하여도 dexamethasone에 의한 영향에 대해서는 확실치 않다. 또한 소혈관내피세포를 배양하여 만든 단

층막에서 interleukin 6(IL-6)으로 처리하면 농도에 비례하여 투과도가 가역적으로 증가한다는 사실²⁵에서 IL-6는 종양주위 부종을 야기하는 인자의 하나로 추측되지만 dexamethasone에 의한 투과도 변화와의 관계에 대해서는 아직 보고된 바가 없다.

결국, 이증관에 의한 혈관 내피세포의 체외 배양에서 양성 정상세포종과 동시 배양한 경우, 그리고 악성 교모세포종과 동시배양한 경우 뿐만 아니라 혈관 내피세포만을 단독배양한 경우에도 혈관내피세포의 투과도는 감소하였으며, 특히 dexamethasone의 작용이 종양세포에도 작용하여 투과도를 감소시키는 것 뿐만이 아니라 내피세포에도 작용함을 명백히 하였다.

참 고 문 헌

1. Del Maestro RF: An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand Suppl* 492: 153-168, 1980
2. Fontana A, Kristensen F and Dubs R: Production of prostaglandin E and an interleukin-1-like factor by cultured astrocyte and C6 glioma cells. *J Immunol* 129: 2413-2419, 1982
3. Farrell CL, Stewart PA and Del Maestro RF: A new rat glioma model in rat: The C6 spheroid implantation technique, permeability and vascular characterization. *J Neurooncol* 4: 403-415, 1987
4. Bruce JW, Criscuolo GR and Merrill MJ: Vascular permeability induced by a protein of malignant brain tumors: Inhibition by dexamethasone. *J Neurosurg* 67: 880-884, 1987
5. Ohnishi T and Shapiro WR: Vascular permeability factors produced by brain tumors: Possible role in peritumoral edema. (Abstract) *J Neurooncol* 5: 179, 1987
6. Sill HW, Butler C and Hollis TM: Albumin permeability and electrical resistance as means of assessing endothelial monolayer integrity in vitro. *J Tissue Cult Methods* 14: 253-258, 1992
7. Werns SW and Lucchesi BR: Leukocytes, oxygen radicals and myocardial injury due to ischemia and reperfusion. *Free Radic Biol Med* 4: 31-37, 1987
8. Fontana A, Hengartner H and de Tribolet N: Glioblastoma cells release interleukin-1 and factors inhibiting interleukin-2-mediated effects. *J Immunol* 132: 1837-1844, 1984
9. Lauro GM, Di Lorenzo N and Grossi M: Prostaglandin E2 as an immunomodulating factor released in vitro by human glioma cells. *Acta Neuropathol* 69: 278-282, 1986
10. Stewart PA, Hayakawa K and Hayakawa E: A quantitative study of blood brain barrier permeability ultrastructure in a new rat glioma model. *Acta Neuropathol(Berl)* 67: 96-102, 1985
11. Berkman RA, Merrill MJ, Reinhold WC, Monacci WT, Saxena A, Clark WC, Robertson JT, Ali IU and Oldfield EH: Expression of the vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor gene in central nervous system neoplasms.

- J-Clin-Invest. *Jan* 91(1): 153-9, 1993
12. Tsai JC, Goldman CK and Gillespie GY: Vascular endothelial growth factor in human glioma cell lines: induced secretion by EGF, PDGF-BB and bFGF. *J Neurosurg* 82: 864-873, 1995
13. Stewart PA, Hayakawa K, Farrell CL: A quantitative study of microvessel ultrastructure in human peritumoral brain tissue. *J Neurosurg* 67: 697-705, 1987
14. Dehouck MP, Meresse S, Delorme P, Fruchart JC and Cecchelli R: An easier, reproducible and mass-production method to study the blood-brain barrier in vitro. *J Neurochem* 54: 1798-1801, 1990
15. Partridge WM, Triguero D, Yang J and Cancilla PA: Comparison of in vitro and in vivo models of drug transcytosis through the blood-brain barrier. *J Pharmacol Exp Ther* 253: 884-891, 1990
16. 윤수한, 조기홍, 조경기, 안영민, 안영환: 정상 정상세포와 혈관내막세포를 공막 분리 동시배양으로 구축한 체외혈뇌장벽 모델. *대한신경외과학회지* 26: 617-624, 1997
17. Brooks DJ, Beaney RP, Lammertsma AA, Leenders KL, Horlock PL, Kensett MJ, Thomas DG and Jones T: Quantitative measurement of blood-brain barrier permeability using Rubidium-82 and positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab* 4: 535-545, 1984
18. 윤수한, 조기홍, 조경기, 안영민, 안영환: 혈관내막세포 단층배양에서 동시배양 세포의 악성도에 따른 투과도 변화. *대한신경외과학회지* 26: 1493-1501, 1997
19. Jarden JO, Dhawan V, Poltorak A, Posner JB and Rottenberg DA: Positron emission tomographic measurement of blood-to-brain and blood-to-tumor transport of ⁸²Rb: The effect of dexamethasone and whole-brain radiation therapy. *Ann Neurol* 18: 636-646, 1985
20. Connolly DT: Vascular permeability factor: A unique regulator of blood vessel function. *J Cell Biochem* 47: 219-223, 1991
21. Maruo N, Morita I, Shirao M and Murota SI: IL-6 increases endothelial permeability in vitro. *Endocrinology* 131: 710-714, 1992
22. Criscuolo GR, Merrill MJ and Oldfield EH: Further characterization of malignant glioma-derived vascular permeability factor. *J Neurosurg* 69: 254-262, 1988
23. Criscuolo GR, Merrill MJ and Oldfield EH: Characterization of a protein product of human malignant glial tumors that induces microvascular permeability. *Adv Neurol* 52: 469-474, 1990
24. Goldman CK, Kim J, Wong WL, King V, Brock T and Gillespie GY: Epidermal growth factor stimulates vascular endothelial growth factor production by human malignant glioma cells: A model of glioblastoma multiforme pathophysiology. *Mol Biol Cell* 4: 121-133, 1993
25. Takemoto H, Kaneda K, Hosokawa M, Ide M and Fukushima H: Conditioned media of glial cell lines induce alkaline phosphatase activity in cultured artery endothelial cells. Identification of interleukin-6 as an induction factor. *FEBS Letters* 350: 99-103, 1994