

폐암 환자에서 방사선치료가 세포성 면역반응에 미치는 영향

순천향대학교 의과대학 내과학교실

어 수 택·김 철 현·정 연 태
김 용 훈·박 춘 식·이 회 발

치료방사선과학교실

허 승 재

= Abstract =

The Effect of Radiation Therapy on Cellular Immune Response in Patients with Squamous Cell Lung Carcinoma

Soo Taek Uh, M.D., Chul Hyun Kim, M.D., Yeon Tae Chung, M.D.
Yong Hun Kim, M.D., Choon Sik Park, M.D. and Hi Bahl Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Soonchunhyang University, Seoul, Korea.

Seung Jae Huh, M.D.

Department of Therapeutic Radiology

The immune status is known to be decreased in malignant disease and radiation therapy (RT), used as a therapeutic tool, further decrease this-attenuated immune status. We measured the number of peripheral lymphocytes, its subsets and lymphoblast transformation for PPD, PHA, monoclonal antibodies including anti-CD3 and anti-CD2 before and after RT in 19 patients with squamous cell lung cancer to search the fine mechanism behind the RT-induced attenuation of lymphoblast transformation for mitogens and antigen.

The results were as follows;

- 1) The number of lymphocytes and its subsets decreased significantly after RT, but the percentages of lymphocyte subsets did not change after RT except interleukin-2 receptor positive T lymphocytes.
- 2) The function of lymphocytes, measured by lymphoblast transformation for PHA and PPD, decreased after RT and the compositions of PBMC used for lymphoblast transformation were not different before and after RT.
- 3) The mitosis of lymphocytes to anti-CD2 or anti-CD3 decreased significantly after RT. And IL-2 plus anti-CD3 increased the mitosis than that of anti-CD3 only after RT, but before RT there was no difference.

In conclusion, we suggested the fine mechanism behind the RT-induced attenuation of immune response might be the dysfunction of lymphocytes in terms of impaired synthesis of IL-2 rather than the decrease of circulating lymphocyte numbers.

서 론

면역기능이 많은 종류의 암의 발생, 증식 및 개체의 저항성과 연관성이 있다는 것은 주지의 사실이다¹⁾. 치료 받지 않은 악성종양, 즉 Hodgkin's 병이나 식도암 환자에서 생체내 세포매개성 면역반응 검사인 지연성 피부 과민반응의 저하²⁾ 및 생체의 검사인 phytohemagglutinin(이하 PHA로 약함) 자극에 대한 임파구의 단백질형성 장애³⁾ 등은 악성종양 환자에서 세포매개성 면역반응이 감소되어 있는 증거가 된다. 이의 원인으로 억제 단구에 의하여 형성되는 prostaglandin E2에 의한 억제⁴⁾ 및 임파구에서 interleukin-2(이하 IL-2로 약함) 형성의 부적절한 생산⁵⁾이 보고되고 있다.

악성 종양환자에서 치료의 한 방법으로 이용되는 방사선 치료는 면역기능이 저하된 종양환자의 면역 기능을 더욱 악화시킬 수 있다. 종격동의 방사선 치료후 식도암 환자에서 생체의 검사인 PHA에 대한 임파구 증식의 감소와 antibody dependent cell-mediated cytotoxicity의 저하가 관찰되며 Hodgkin's 병에서도 방사선 치료후 총 임파구 및 조력/억제 임파구 비율의 감소를 보고하고 있다^{6,7)}. 이러한 보고들은 방사선 요법후의 세포매개성 면역기능 저하가 임파구의 숫적 감소와 임파구의 기능적 변화에 의한 것임을 시사하는 소견이라 할 수 있으나 세포매개성 면역반응 감소의 정확한 기전이 밝혀지지 않고 있다⁸⁻¹¹⁾.

IL-2는 항원 특이성 임파구에서 항원에 의한 자극 및 단구세포의 도움으로 분비되어 임파구의 활성화 및 증식에 필수적으로 요구되는 것으로 알려져 있으며, T-cell receptor에 대한 단세포군 항체인 anti-CD3 monoclonal antibody(이하 anti-CD3로 약함)는 항원처럼 단구의 보조 하에 antigen specific T-cell receptor complex인 nonpolymorphic subunit를 통해 임파구를 활성화시키는데¹²⁾ 반하여 T-cell receptor에 대한 다른 단세포군 항체인 anti-CD2 monoclonal antibody(이하 anti-CD2로 약함)는 단구의 보조 없이도 임파구를 활성화 및 증식시킬 수가 있다고 알려져 있다¹³⁾. 따라서 anti-CD2와 anti-CD3를 이용하여 단구 및 임파구의 기능을 단독적으로 분석할 수 있으며 IL-2를 첨가함으로써 임파구 기능의 감소가 IL-2 형성능의 부족으로 인한 것인지를 분석할 수 있다.

저자들은 방사선 치료에 따른 면역기능 저하의 기전을 자세히 분석하고자, 편평세포 폐암환자에서 방사선 치료 전후에 말초혈액 단핵구 세포를 anti-CD3, anti-CD2 및 IL-2와 anti-CD3를 병용 투여한 후 임파구 증식(lymphoblast transformation)을 측정 비교하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

기관지내시경 검사를 통하여 조직학적으로 확진된 편평세포 폐암 환자 19명을 대상으로 하였다. 연령분포는 50세에서 75세로 평균연령은 65세였고 남자 16명, 여자 3명이었다. 모든 환자군에서 간이나 골수로의 암세포전이 없이 방사선 동위원소 검사를 통해 확인되었고 병기는 new international staging system¹⁴⁾에 의거 모두 IIIa, IIIb 군에 속하였다. Performance stage는 70% 이상의 Karnofsky scale¹⁵⁾이었다. 전 환자는 6주에서 8주간 종격동 부위에 5000-5500 rad의 방사선 조사를 시행하였다. 정상대조군은 호흡기 증상이나 다른 감염의 증거가 없는 건강한 41명을 대상으로 하였다.

2. 말초정맥혈의 단핵구 세포 분리

방사선 치료전과 종결 1-2일후에 Ficoll-Hypaque 검사 원침법(gradient centrifugation)¹⁶⁾에 의해 말초혈액 단핵구(peripheral blood mononuclear cell; PBMC)를 분리하였다. 간단히 요약하면 먼저 heparin으로 처리된 정맥혈을 동량의 phosphate buffered saline(이하 PBS로 약함)으로 섞은 후 비중 1.078인 Ficoll-Hypaque에 중첩시켜 실온에서 45분간 500 g로 원침시켜, Ficoll-Hypaque의 상층부에 형성된 PBMC 층을 분리하여 PBS로 2회 세척하고 RPMI 1640(Gibco, USA)(Tissue culture medium; 이하 TCM으로 약함)에 1×10^6 cells/ml가 되게 재부유하였다.

3. 임파구 아형의 측정

측정 방법은 단세포군항체(monoclonal antibody, Becton-Dickinson Co.)인 Leu4 (CD3), Leu3 (CD4), Leu2 (CD8), Leu 11b (NK cell), anti-human IgM (B-cell), CD25 (anti-IL2 receptor positive cell)를 사용하였다. 간단히 기술하면, 2% bovine serum albumin(BSA)과 PBS가 함유된 1×10^6 /ml PBMC에 5 μ g

의 단세포군 항체를 가하여 4°C에서 30분간 배양후 다시 PBS로 2회 세척하였고 그후 FITC가 결합된 anti-mouse immunoglobulin (Becton-Dickinson, USA) 를 가하여 4°C에서 30분간 배양하였다. 세척후 PBMC를 재부유한 뒤 flow-cytometer (FACScan, Becton-Dickinson, USA) 를 이용하여 분석하였다. 말초혈액 단핵세포 감별산출은 Diff-Quick 염색법을 이용하였으며 각 임파구 아형의 총수치를 coulter counter로 산출된 임파구 총수에 각 임파구 아형의 백분율을 곱한 값으로 정하였다.

4. 체외증식 반응검사

항원과 mitogen에 의한 임파아구 증식의 측정은 Levy 법³⁾을 변형하여 이용하였다. 약술하면 10% fetal calf serum이 함유된 TCM에 1×10^6 /ml로 부유된 PBMC 0.1 ml를 96 microplate의 각 well에 주입한 뒤 유사분열 물질인 10 μ g/ml의 PHA, 10 μ g/ml의 purified protein derivatives(이하 PPD로 약함), 각각 0.2 μ g/ml의 2종의 anti-CD2(9-1과 9.6) 또는 anti-CD3(Memorial Sloan Kettering Cancer Center의 양수영 박사로부터 기증받았음) 그리고 10 μ g/ml의 IL-2(Genzyme, USA)를 병합한 anti-CD3를 각각 분주하여 5% CO₂, 37°C에서 PHA에 의한 임파아구 증식은 72시간, 그외의 경우는 96시간동안 배양하였다. 배양종료 16시간 전 0.5 μ Ci [³H]-thymidine (6.7 ci/mmol, New England Nuclear, Dupont, USA)를 각 well에 분주하고 16시간후에 세포수집기(Skatron, Norway)를 이용하여 glass fiber filter(Skatron, Norway, Cat No 7031)에 모은후 건조시키고 4 ml의 scintillation 용

액을 분주한 후 각각을 liquid scintillation counter (Packard 1500, Tri-carb USA)로 측정하였다. 모든 검사는 동시에 사중(quadruple)으로 시행하여 평균치를 구하였다.

5. 통계 방법

방사선 치료전후의 임파구 아형의 절대치와 평균치 및 임파아구 증식은 Wilcoxon's rank sum test를 이용하였고, 환자군과 정상대조군의 각 수치의 비교는 Mann-Whitney U test를 이용하였다. 모든 자료는 p 값이 0.05이하 일때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였고 모든 자료는 평균±표준오차로 표시하였다.

결 과

1. 방사선 치료 전후의 임파구 및 아형의 변화

말초혈액내 총 임파구의 숫자는 방사선 치료전의 폐암 환자에서 대조군에 비하여 유의하게 감소되어 있었으며 (2731±199 vs 1498±587/mm³, p<0.05), 방사선 치료후 더욱 감소되었고(1498±287 vs 411±58/mm³, p<0.05), 모든 임파구아형의 숫자 또한 방사선 치료후 의미있게 감소되었다(Table 1). 임파구아형의 빈도수에 있어서는 정상대조군과 방사선 치료전, 후 환자군 세 군에서 차이가 없었으나 IL-2 수용체 양성 임파구의 빈도는 치료전의 폐암환자에서 상승되며 방사선 치료후에 더욱 상승되는 것을 관찰할 수 있었다(Table 2).

2. PHA와 PPD에 의한 임파아구 증식

방사선 치료전의 임파구 증식에 사용된 PBMC내의

Table 1. The Effects of RT on Absolute Number of Lymphocyte Subsets

Parameter (/mm ³)	Normal donors	Patients with lung carcinoma		
		Before RT	After RT	P
Lymphocyte	2731 ± 119*	1498 ± 287	411 ± 58	0.005
Leu4	1699 ± 82*	885 ± 208	224 ± 55	0.005
Leu3	980 ± 51*	591 ± 115	166 ± 36	0.003
Leu2	476 ± 101	428 ± 89	129 ± 35	0.012
Leu 11b	109 ± 30	103 ± 32	26 ± 6	0.016
anti-human Ig M	114 ± 42	107 ± 39	17 ± 6	0.011
CD 25	11 ± 2*	48 ± 17	8 ± 3	0.018

* P < 0.05 vs before RT

Table 2. The Effects of RT on the Percentage of Lymphocyte Subsets

Parameter	Normal donors	Patients with lung carcinoma		
		Before RT	After RT	P
% Leu4	63.7 ± 2.0	60 ± 3	60 ± 4	NS
% Leu3	36.8 ± 1.14	38 ± 2	36 ± 2	NS
% Leu2	27.1 ± 0.9	25 ± 2	26 ± 2	NS
% OK Leu3/Leu2	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.5 ± 0.5	NS
% Leu 11b	7.4 ± 1.3	7.3 ± 1.6	7.3 ± 1.6	NS
% anti-human Ig M	7.8 ± 1.0	6.9 ± 2.0	5.2 ± 1.8	NS
% CD 25	0.4 ± 0.1*	2.6 ± 0.7	5.6 ± 1.3	0.03

* There were no differences in any of lymphocyte subsets between normal control and before RT groups except %CD25.

P < 0.05 vs before RT.

Table 3. The Effects of RT on Lymphoblast Transformation for PHA and PPD

Parameters	Normal controls*	Patients with lung carcinoma		
		Before RT	After RT	P
PHA				
Absolute count (CPM)	20000 ± 4365	23603 ± 4717	9434 ± 4380	0.01
Ratio #	102 ± 38	107 ± 44	23 ± 8	0.01
PPD				
Absolute count (CPM)	2887 ± 825	2459 ± 794	608 ± 232	0.01
Ratio	8.5 ± 3.5	7.9 ± 3.1	1.7 ± 0.6	0.02

* There were no difference in any of parameters between normal control and before RT groups.

Ratio means divided PHA- and PPD- stimulated lymphoblast transformation by the no-stimulated lymphoblast transformation.

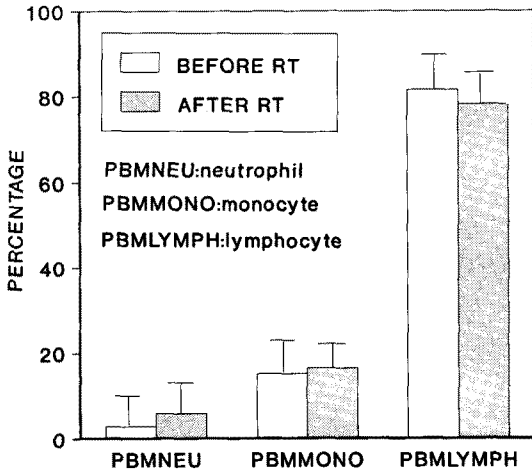


Fig. 1. The compositions of PBMC used in lymphoblast transformation were not different before and after RT.

조성은 치료후와 비교하여 임파구(85±2 vs 84±4%), 단구(18±4 vs 20±4%), 호중구(5±2 vs 8±3%) 모두에서 차이가 없었다(Fig 1). PHA에 의한 임파아구 증식은 방사선 치료전에 비해 치료후가 유의하게 감소하였고(23603±4717 vs 9434±4380 CPM, p<0.05), 또한 PPD에 의한 임파아구 증식에서도 유의하게 감소하였다(2459±794 vs 608±232 CPM, p<0.05). 또한 mitogen에 의한 임파아구 증식을 자연적인(spontaneous) 임파아구 증식으로 나눈 자극지수(stimulation index)도 방사선 치료전에 비해 치료후가 PHA(107±44 vs 23±8, p<0.05), PPD(7.9±3.1 vs 1.7±0.6, p<0.05) 모두에서 유의하게 감소되었다. 그러나 정상 대조군과 방사선 치료전 환자군 사이에서는 임파아구 증식의 절대치와 자극지수는 차이를 보이지는 않았다 (Table 3).

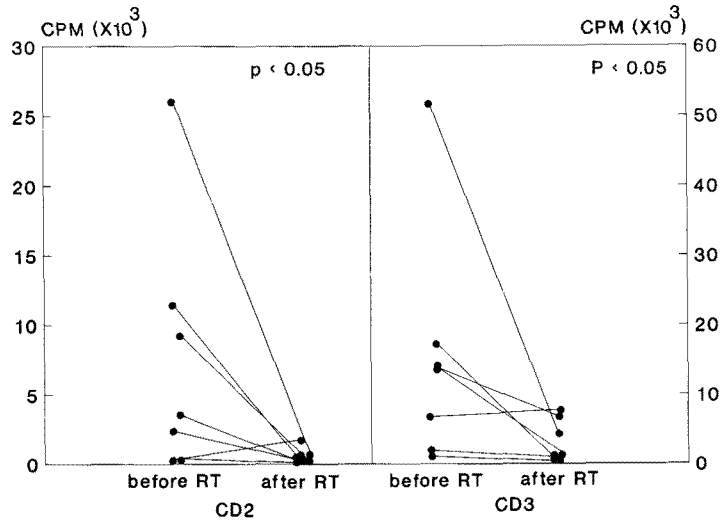


Fig. 2. In vitro blast transformation to CD2 and CD3 was depressed after Rt when compared with that of before RT.

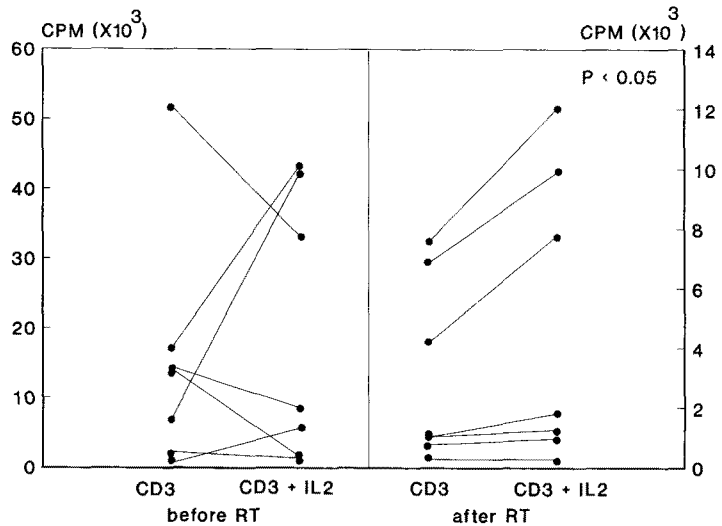


Fig. 3. In vitro blast transformation to CD3 plus IL-2 was increased after RT, but there was no increase in before RT.

3. Anti-CD2, CD3와 IL-2에 대한 임파아구 증식

Anti-CD2(9-6과 9.1)에 의한 임파아구 증식은 검사된 7명의 환자중 6명의 환자에서 방사선 치료전에 비해 치료후 현저히 감소되었으며 ($p < 0.05$), 그리고 anti-CD3에 대한 반응도 anti-CD2와 같은 소견을 보였다

($p < 0.05$, Fig. 2). 방사선 치료전에는 anti-CD3 단독에 의한 임파아구 증식과 anti-CD3 및 IL-2의 병용 투여시의 임파아구 증식에는 차이가 없었으나, 방사선 치료 후에는 검사된 7예 모두에서 anti-CD3와 IL2 병용 투여시의 임파아구 증식이 anti-CD3 단독에 의한 임파아구 증식보다 증가되어 있었다($p < 0.05$, Fig. 3).

고 찰

본 연구에서 저자들은 단세포군 항체를 사용하여 편평 세포 폐암환자에서 방사선 치료의 세포성 면역기능에 미치는 영향에 대해서 알아보았다. 방사선 치료후 임파구 및 그 아형의 수가 유의하게 감소하였고 또한 임파구의 기능으로 표시되는 임파구 증식도 유의한 감소를 보였지만, IL-2 수용체 양성인 임파구를 제외하고는 임파구의 비는 감소하지 않았다. 상기조건은 방사선 치료후 말초혈액내 세포성 면역반응에 역할을 하는 임파구의 조성의 변화보다는 숫적 감소가 방사선 치료후 세포성 면역반응의 억제에 큰 역할을 할 수 있으리라고 시사된다.

Hodgkin's병 등 악성종양에서 방사선 치료후 유발되는 면역변화^{17~21)}는 본 연구에서도 관찰된 바와 같이 임파구 감소와 연관된 것으로 알려져왔다. Schulof²²⁾ 등은 이러한 임파구의 숫적 감소는 방사선 치료 영역내의 혈량(volume of blood) 및 골수량(volume of bone marrow)과 관계있다고 추정하였고, Benningoff²³⁾는 흉선내에 T 임파구가 분리(sequestration)되어 말초순환에서 임파구가 저하된다고 하였으나 그 정확한 기전은 현재 밝혀져있지 않다. 반면에 방사선 치료후 T4/T8비율의 변화에 대해서는 보고자마다 다양한 변화를 보고하고 있다.^{8,10,22)} Posner⁹⁾는 Hodgkin's병 환자에서 방사선 치료후 T4/T8비의 감소가 관찰되고 이가 면역상태의 변화에 큰 영향을 미치므로 T4의 역할에 대해서 강조하였다. 그는 방사선 치료후의 T4/T8의 비의 감소는 다음과 같은 이유라고 설명하고 있다. 첫째, 체내에서 T4, T8의 분포에 차이가 있기 때문에^{24,25)} 방사선 치료시 치료 영역에 의해 T4가 선택적으로 감소되며, 둘째 여러가지 방법으로 증명된^{26~28)} suppressor cell의 활성화를 그 이유로 제시하였다. 그러나 본 연구에서는 방사선 치료후 T4/T8 비율의 변화는 관찰되지 않았고 이는 Schulof²²⁾이 폐암환자에서 시행한 중격동 방사선 치료의 T4/T8비율에 변화를 주지 않았다는 보고와 일치하는 결론이었다. Posner 와의 차이점은 아마도 방사선 치료용량의 차이, 즉 저자들은 5000~5500 rad 였으며 Posner 등은 3600~4000 rad인 점이 방사선 치료후의 T8의 차이를 야기시켰을 것으로 사료되며, 방사선 치료후의 T8의 현저한 감소는 suppressor T-cell이 방사선

조사에 예민하기 때문일 것으로 사료된다^{29,30)}.

예기치 않게 방사선 치료후 IL-2 수용체 양성 임파구 백분율이 치료전 보다 유의하게 증가하였으며, 이런 현상은 T 임파구가 현저히 감소한데 비하여 IL-2 수용체 양성 임파구의 감소는 미미하였기 때문으로 추측되나, 방사선 치료에 따른 조직의 변화가 새로운 항원성으로 작용되어 IL-2 수용체 양성 임파구 증가의 원인이 되었을지는 배제할 수 없다. 또한 Rovelli³¹⁾이 폐암환자에서 IL-2 receptor의 분비 및 수용성 형태³²⁾인 수용성 IL-2 receptor의 증가를 보고하여 본 실험에서의 결과와 관계있을 것으로 추측된다. 방사선 치료후 PHA와 PPD에 대한 임파구 형성의 감소는 방사선치료가 직접적으로 임파구와 단구세포에 영향을 미친다고 사료되었다. 물론 임파구형성 실험에 사용된 단핵구세포의 세포조성의 변화가 예측 되었으나 저자의 경우 방사선 치료후 PBMC의 조성 및 임파구아형의 변화가 없음을 관찰하였다. IL-2 형성에는 물론 단구세포의 도움이 필요하므로 단구세포의 기능이상에서도 상기 현상은 설명될 수 있으며 추후 단구세포의 기능 및 임파구에서 IL-2 형성능을 직접 측정함으로써 방사선 치료에 따른 임파구 형성의 장애가 임파구나 단구세포의 직접적인 기능적 이상으로 초래됨을 관찰할 수 있을 것이다. 그리고 정상 대조군과 방사선치료 전의 군과의 임파구 증식이 차이가 없었던 점은 Posner⁹⁾의 보고와 일치하는 소견이지만 환자군의 수를 증가시킬 경우 그 차이는 있을 것으로 추측되나 추후 연구과제가 될 것으로 사료된다.

말초 임파구와 단핵구의 기능을 평가하기 위하여 본 저자들은 순수하게 분리된 임파구나 단구세포를 혼합 배양하는 실험 대신에 임파구와 단구를 함유한 PBMC를 이용하였다. 그리고 본 연구에서는 PHA에 의한 임파구 증식의 배양시간은 72시간 이었으며, 다른 유사분열 물과 항원에 의한 배양시간은 96시간 이었던바, 이는 기술하지는 않았지만, 저자들의 예비 실험에 의해 임파구 증식이 가장 높았던 시간들이었다.

Anti-CD2 antibody(9.6과 9-1)는 T-cell의 증식에 있어 단핵구 같은 항원인지세포(antigen presenting cell) 없이도 가능함³³⁾ 비하여 anti-CD3는 항원 인지세포를 필요로 하며^{12,34~37)}, 그 경로는 CD2 pathway³⁸⁾를 통한 CD3/Ti Complex 형성^{39~41)}으로 T 세포 증식을 유발시킬 수 있다. 이러한 T cell receptor에 대한 여러 항체의 다른 성질을 이용하여, 임파구와 단구의 기

능을 분석하기 위해 임파구와 단구가 함유되어 있는 PBMC에 anti-CD3로 임파아구 증식을 유발시킨 바, 방사선 치료후 임파아구 증식이 감소됨을 관찰하였다. 이는 방사선 치료후 단구 및 임파구의 기능적 결합을 추정하는 소견이지만, 면역반응의 약화가 단구 및 임파구중 어느 세포에 기인한 것인지는 여전히 알 수는 없었다. 반면 anti-CD2(9.6과 9-1)에 의한 임파아구 증식은 임파구의 기능만을 평가할 수 있어 치료후에 anti-CD2에 의한 자극 효과의 감소가 관찰되는 것으로 보아서는 임파구의 장애가 생기는 것은 분명한 사실로 인식되었다.

이런 임파구의 기능적 감소가 IL-2 형성 및 IL-2 수용체의 발현에 문제가 될 수 있으나 IL-2 수용체는 오히려 상승되는 것으로 보아 IL-2 형성에 장애가 있다고 추정되었고, IL-2 형성을 직접 측정하는 것이 가장 좋은 방법이나 IL-2를 첨가함으로써 간접적으로 분석하여 보았다. 방사선 치료 전후 IL-2와 anti-CD3를 동시에 투여하여 임파아구 증식을 측정할 때, 방사선 치료전에는 IL-2가 영향을 미치지 못하였으나, 방사선 치료 후 IL-2가 임파아구 증식을 증가시킴을 관찰할 수 있었다. 이러한 사실은 방사선 치료 전에는 IL-2 형성에 장애가 없었으나 치료 후 임파아구의 기능적 결합 특히 IL-2 형성의 결합이 생기는 것으로 추정된다. 왜냐하면 IL-2가 대개의 경우 활성화된 임파구에서 생성⁴³⁾되어지지 때문이고 또한 악성종양의 면역치료시 IL-2가 사용되고 있고 그 효과가 보고되는 사실도⁴⁴⁾ 저자들의 실험과 무관치 않으리라 생각된다.

결 론

악성질환에서 면역반응은 감소되어 있으며, 방사선 치료후 면역반응은 더욱 감소하지만 그 정확한 원인은 밝혀져 있지 않다. 이에 저자들은 방사선 치료후의 세포매개성 면역반응 감소의 기전을 알아보고자 19명의 편평세포 폐암환자에서 단클론성 항체를 이용하여 방사선치료 전후의 임파구 및 그 아형의 수 그리고 임파아구 증식을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 방사선치료후 임파구 및 그 아형의 수는 치료전에 비해 현저히 감소 하였으나, IL-2 양성 T 임파구를 제외한 임파구 아형의 비율은 방사선치료 전후 차이가 없었다.

2) PHA 및 PPD에 의한 임파아구 증식은 방사선 치

료전에 비해 치료후 현저히 감소하였으며, 임파아구 증식에 사용된 말초단핵구의 구성비 및 임파아구아형의 빈도는 방사선 치료전후 차이가 없었다.

3) anti-CD2 및 anti-CD3에 의한 임파아구 증식은 방사선 치료전에 비해 치료후 현저히 감소하였다. 그리고 방사선 치료후에는 IL-2와 anti-CD3 동시 투여에 의한 임파아구 증식이 anti-CD3 단독 투여에 의한 임파아구 증식보다 유의하게 증가되어 있었으나, 방사선 치료 전에는 양자간에 차이가 없었다.

이상의 결과로 방사선 치료후의 임파아구 증식의 감소는 임파구의 구성의 변화에 의한 것보다는 임파구의 기능적 변화 특히 IL-2 합성장애에 의한 것이라고 사료된다.

끝으로 임파아구 측정의 면역형광 검사에 도움을 주신 현암신장연구소의 전 복희, 김 은영 기사계, 그리고 해외증식 반응검사에 도움을 주신 김 미호 기사계 진심으로 감사사를 드린다.

REFERENCES

- 1) Vathiere FD, Francois P, Hill C, Schweisguth O, Rodary C, Sarrazin D, Oberlin O, Beurtheerst C, Dutreix A, Flamant A: Role of radiotherapy and chemotherapy in the risk of second malignant neoplasms after cancer in childhood. *Br J Cancer* **59**: 792, 1989
- 2) Young RC, Corder MP, Haynes HA, DeVita VT: Delayed hypersensitivity in Hodgkin's disease. A study of 103 untreated patients. *Am J Med* **52**:63, 1972
- 3) Levy R, Kaplan HS: Impaired lymphocyte function in untreated Hodgkin's disease. *N Eng J Med* **290**: 181, 1974
- 4) Balch CM, Dpugherty PA, Tilden AB: Excessive prostaglandin E₂ production by suppressor monocytes in head and neck cancer patients. *Ann Surg* Dec **196**:645, 1982
- 5) Marchiol C, Kaplan C, Chuaib S, Janvier M, Ferme C, Muller JY, Fradelizi D: Abnormal regulation in the production of IL2 in Hodgkin's disease. *C R Acad Sc; [III]* **301**:283, 1985
- 6) Stanely E, Order MD: The effects of the therapeutic irradiation on lymphocytes and immunity. *Cancer* **39**:737, 1977
- 7) Yokoyama Y, Sakamoto K, Arai M, Akagi M:

- Radiation and surgical stress induce a significant impairment in cellular immunity in patients with esophageal cancer. *Jpn J Surg* 19:535, 1989
- 8) Posner MR, Reinherz R, Lane H, Mauch P, Hellman S, Schlossman SF: Circulating lymphocyte populations in Hodgkin's disease after mantle and praaoartic irradiation. *Blood* 61:705, 1981
 - 9) Gray WC, Hasslinger BJ, Suter CM, Blanchard CL, Goldstein AL, Chretien PB: Suppression of cellular immunity by head and neck irradiation. Precipitating factors and reparative mechanisms in experimental model. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 112:1185, 1986
 - 10) Gray WC, Chretien PB, Suter CM, Revie DR, Tomazic VT, Blanchard CL, Aygun C, Amornmarn R, Ordonez JV: Effects of radiation therapy on T-lymphocyte subpopulations in patients with head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 93:650, 1985
 - 11) Monti G, Guerrini L, Magni E, Cruciani G, Bardella D. The mid-term effects of radiotherapy on T and B lymphocytes: An evaluation of cellular immunity with standard methods and monoclonal antibodies. *Tumori* 70:335, 1984
 - 12) Kaneoka H, Perez-Rojas G, Sasuki T, Benike CJ, Engleman EG: Human T lymphocyte proliferation induced by a pan-T monoclonal antibody (anti-Leu4): Heterogeneity of response is a function of monocytes. *J Immunol* 131:158, 1983
 - 13) Meuer SC, Hauer M, Kurz P, Bütschenfelde KMZ, Köhler H: Selective blockade of the antigen-receptor mediated pathway of T cell activation in patients with impaired primary immune function. *J Clin Invest* 80:743, 1987
 - 14) Moutin CF: A new international staging system. *Chest* 89:225s, 1986
 - 15) Karnofsky DA, Burchenal JH: The clinical evaluation of chemotherapeutic agents in cancer. In: Macleod CM, ed. *Evaluation of Chemotherapeutic Agents*. Symposium, Microbiology Section, New York Academy of Medicine, 1948. New York: Columbia University Press, 191, 1949
 - 16) Böyum A: Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand J Clin Lab Invest* 97:77, 1968
 - 17) Hoppe RT, Fuks ZY, Strober S, Kaplan HS: The long-term effects of radiation on T- and B-lymphocytes in the peripheral blood after regional irradiation. *Cancer* 40:2071, 1977
 - 18) Thomas JW, Coy P, Lewis HS, Yuen A: Effect of therapeutic irradiation on lymphocyte transformation in lung cancer. *Cancer* 17:1046, 1971
 - 19) Kenady DE, Chretien PB, Potvin C, Simon RM, Alexander JC Jr, Goldstein AL: Effect of thymosin in vitro on T-cell levels during radiation therapy. *Cancer* 39:642, 1977
 - 20) Stratton JA, Byfield PE, Byfield JE, Small RC, Benfield J, Pilch Y: A comparison of the acute effects of radiation therapy, including or excluding the thymus, on the lymphocyte subpopulations of cancer patients. *J Clin Invest* 56:88, 1975
 - 21) Trask CWL, Llewellyn I, Souhami RL: The effect of radiotherapy on blood mononuclear cell numbers and phagocyte migration. *Clin Radiol* 31:733, 1980
 - 22) Schulof RS, Chorba TL, Cleary PA, Palaszynski SR, Albaster O, Goldstein AL: T-cell abnormalities after mediastinal irradiation for lung cancer. The in vitro influence of synthetic thymosin alpha-1. *Cancer* 55:974, 1985
 - 23) Benninghoff DL, Girodet RE, Porteus DD: Thoracic duct and blood lymphocytes in cancer. *Lancet* 1:264, 1973
 - 24) Poppema S, Bhan AK, Reinherz EL, McCluskey RT, Schlossman SF: Distribution of T cell subsets in human lymph nodes. *J Exp Med* 153:30, 1981
 - 25) Janossy G, Tidman N, Selby WS, Thomas JA, Granger S, Kung PC, Goldstein G: Human T lymphocytes of inducer and suppressor type occupy different microenvironments. *Nature* 288:81, 1980
 - 26) Kotzin BL, Strober S: Reversal of NZB/NZW disease with total lymphoid irradiation. *J Exp Med* 150:371, 1979
 - 27) Ritz J, Sallen SE, Bast RC, Lipton JM, Nathan DG, Schlossman SF: Autologous bone marrow transplantation in CALLA positive ALL following in vitro treatment with J5 monoclonal antibody and complement. *Blood* 58:175a, 1981
 - 28) Forman SJ, Noecker P, Gallagher MT, Nolen J, Zaia J, Blume KG: Immune reconstitution following bone marrow transplantation: patterns of T-cell recovery. *Blood* 58:173a, 1981
 - 29) Gupta S, Good RA. Subpopulations of human T-lymphocytes: II. Effect of thymopoietin, corticosteroids and irradiation. *Cell Immunol* 34:10, 1977
 - 30) Moretta L, Webb SR, Grossi CE, Lydyard PM, Cooper MD: Functional analysis of two human T-cell subpopulations: Help and suppression of B-cell re-

- sponses by T-cells bearing receptors for IgM (Tu) or IgG (Tr). *J Exp Med* **146**:184, 1977
- 31) Rovelli F, Lissoni P, Crispino S: Increased level of soluble interleukin-2 receptor in advanced solid tumors: a preliminary study. *Tumori* **74**:633, 1988
 - 32) Rubin LA, Nelson DL: The soluble interleukin-2 receptor: Biology, function, and clinical application. *Ann Inter Med* **113**:619, 1990
 - 33) Yang SY, Chouaib SH, Dupont B: A common pathway for T lymphocyte activation involving both the CD-3/Ti complex and CD2 sheep erythrocyte receptor determinants. *J Immunol* **15**:1097, 1986
 - 34) Van Wauwe JP, deMey JR, Goossens JG: OKT3: a monoclonal antihuman T lymphocyte antibody with potent mitogenic properties. *J Immunol* **124**: 2708, 1980
 - 35) Meuer SC, Hodgdon JC, Hussey RE, Protentis JP, Schlossman SF, Reinherz EL: Antigen-like effects of monoclonal antibodies directed at receptors on human T cell clones. *J Exp Med* **158**:988, 1983
 - 36) Landegren U, Anderson J, Wigzell H: Mechanism of T lymphocyte activation of OKT3 antibodies: a general model for T cell induction. *Eur J Immunol* **14**:325, 1984
 - 37) Reinherz EL, Meuer SC, Schlossman SF: The human T cell receptor; analysis with cytotoxic T cell clones. *Immunol Rev* **74**:83, 1983
 - 38) Schulof RS, Lacher MJ, Gupta S: Abnormal phytohemagglutinin-induced T-cell proliferative responses in Hodgkin's disease. *Blood* **57**:607, 1981
 - 39) Meuer CS, Fitzgerald KA, Hussey RE, Hodgdon JC, Schlossman SF, Reinherz EL: Clonotypic structures involved in antigen specific T cell function: relationship to the T3 molecular complex. *J Exp Med* **157**: 705, 1983
 - 40) Borst J, Prendiville MA, Terhorst C: Complexity of the human T lymphocyte-specific cell surface antigen T3. *J Immunol* **128**:1560, 1982
 - 41) Oetgen H, Kappler J, Tax WJM, Terhorst C: Characterization of the two heavy chains of the T3 complex on the surface of human T lymphocytes. *J Biol Chem* **259**:12039, 1983
 - 42) Sith KA: Interleukin-2: inception, impact and implications. *Science* **240**:1169, 1988
 - 43) Rosenberg SA, Lotze MT: Cancer immunotherapy using interleukin-2 and interleukin-2-activated lymphocytes. *Annu Rev Immunol* **4**:681, 1986