

정상 면역 생쥐에 접종된 암세포주의 종괴 형성이 숙주의 지연성과민반응에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 해부학교실, 중앙면역의과학센터

임현자 · 우아미 · 정영주 · 강재승 · 신동훈 · 이왕재 · 황영일

The Effects of the Tumor Mass Size Inoculated in Immunologically Competent Balb/c Mice on Delayed-type Hypersensitivity Response

Hyunja Lim, Ami Woo, Youngju Jung, Jae Seung Kang, Dong Hoon Shin, Wang Jae Lee and Young-il Hwang

Department of Anatomy and Tumor Immunity Medical Research Center, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background: Based on outstanding progresses in animal experiments, vaccines for some human tumors have been developed. However, clinical effects of these vaccines have been far below than expected. This discrepancy might come from differences between animal models and human patients with respect to immunocompetency. The immune status of mice after tumor inoculation has not been well studied, which make us cautious in interpreting and applying the results from mice to human. We evaluated cell-mediated immune responses in mice after tumor cell inoculation. **Methods:** Mice were inoculated with TA3Ha, CT26, or 4T1. Delayed-type hypersensitivity (DTH) responses were induced 2-4 weeks after inoculation using 2,4-dinitro-1-fluorobenzene as an antigen. The relationships between the severity of DTH responses and the duration of tumor inoculation or the size of tumor mass were analyzed. **Results:** In TA3Ha groups, DTH response was elevated 2 weeks after inoculation, but depressed after 4 weeks, compared to the control group. When analyzed based on the sizes of tumor masses elicited, DTH responses were inversely related to the mass size, especially in those greater than 10 mm in diameter. In CT26 groups, while the duration after inoculation did not affect the severity of DTH responses, those with large mass showed depressed responses regardless the duration of inoculation. 4T1 cells grew so slowly that the size of tumor mass was small even 4 weeks after inoculation, and this group showed much higher DTH responses compared to that of tumor-free group. **Conclusion:** At least in an experimental setting where tumor model was induced by inoculating tumor cell lines into immunologically competent mice, the host immune response was elevated in early stage, and then depressed in late stage when the mass grew over a critical size. (*Immune Network* 200;6(4):185-191)

Key Words: Tumor inoculation, tumor mass size, mouse, delayed type hypersensitivity, TA3Ha, CT26, 4T1

책임저자 : 황영일, 서울대학교 의과대학 해부학교실
☎110-799, 서울시 종로구 연건동 28번지
Tel: 02-740-8209, Fax: 02-745-9528
E-mail: hyi830@snu.ac.kr

본 연구는 한국과학재단 기초의과학연구센터사업지원으로 수행되었음.

서 론

현대 사회에서 종양은 사람을 사망에 이르게 하는 중요한 질환으로서 이를 치료하기 위하여 여러 가지 방법이 동원되고 있다. 그 중에서도 개체의 면역반응을 이용한 면역치료에 대한 개념은 한 세기 전부터 Coley에 의하여

제기된 이래(1) 많은 발전을 해 왔으며, 최근에는 여러 다양한 방법의 면역학적 접근이 시도되고 있다(2). 동물 실험을 통하여 종양항원에 대한 면역반응이 다양한 방법으로 유발되었고, 사람에게 사용될 수 있는 항암백신이 개발 시판되기에 이르렀다(3). 이들 백신의 개발과 면역요법의 다양한 적용은 매우 고무적이며 어느 정도 효과를 보이고 있다. 그러나 사람에게 적용되었을 때 나타난 효과는 동물실험에서 보았던 것만큼 효과적이지는 않다(4-6).

동물실험에서 확인되었던 면역요법의 결과가 사람에게 적용되었을 때 그 결과가 충분히 만족스럽지 못한 이유는 여러 가지 있을 수 있지만 사람에서 암이 생기는 과정과 흔히 실험동물에서 암을 유발하는 과정의 차이가 그 중 하나일 것으로 생각된다. 즉, 종양 면역치료에 대한 많은 연구들이 면역학적으로 정상일 것으로 여겨지는 실험동물에 암세포주를 접종하여 인위적이고 빠른 시일 안에 종괴를 유발하는 방식으로 *in vivo* 실험을 시행하고 있다. 하지만 사람의 경우에는 암의 발생이 자연발생적이며, 또한 개체에서 종괴가 형성되기까지는 많은 시간이 소요된다. 그러한 과정 중 일부 예외적인 경우(7)를 제외하고 암세포는 숙주(host)의 면역기능을 회피하거나, cytokine 분비나 면역세포 기능 억제 등을 통하여 면역기능 자체를 억누르는 일이 벌어진다(8,9). 따라서 면역학적으로 정상인 동물실험에서의 결과가 사람에서 재연되지 않을 가능성을 생각해 볼 수 있다. 그러나 암 환자에서 숙주의 면역기능이 현저히 떨어지는 현상은 잘 알려진 반면 종양이 유발된 실험동물에서의 면역학적 특성에 대해서는 보고된 바가 거의 없다. 면역관련 실험이 진행되는 실험동물의 면역기능에 관한 정보는 그 실험의 결과를 해석하고 사람에게 적용시키고자 할 때 특히 고려되어야 할 것으로 생각된다.

접종에 의한 암 모델을 사용한 많은 연구 논문이 있지만, 앞서 말한 바와 같이 접종에 따른 개체 면역기능의 변화에 관한 연구는 찾아보기 힘들다. 본 연구에서는 3개 암종을 접종하고 일정한 시기에 지연성과민반응을 유발하여 접종된 개체의 생체 면역기능의 일부를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물. 8주령 전후의 Balb/c 생쥐를 샘타코사에서 구입하여 사용하였다. 실험을 위한 생쥐들은 서울대학교 의과대학 실험동물실 규정에 의거하여 전체 실험기간 동안 specific pathogen free (SPF) 상태에서 12시간 주기의 낮밤 환경과 충분한 사료 및 음용수의 공급 하에 유지 및 관리되었다.

종양세포의 접종. 실험에는 Balb/c strain에서 유래된 생쥐유방암 세포주인 TA3Ha와 4T1, 대장암세포주인 CT26 이 사용되었다. 실험군은 각 세포주마다 무접종군, 접종

후 4주군, 3주군, 2주군 등 모두 4개군으로 구성하였으며 각 군당 사용한 생쥐는 5마리였다. 생쥐 생체 내 종양형성을 위하여, 1주 간격으로 TA3Ha는 10^3 개, 4T1은 10^3 개, 그리고 CT26은 10^5 개의 종양세포를 생쥐의 허리 부분 피하에 주사하였다. 접종 후 형성된 종괴의 크기를 일정기간 동안 측정하였는데, 가장 긴 지름과 그에 직각이면서 가장 작은 지름을 재고 이 두 값을 곱한 후 제곱근을 얻어 형성된 종괴의 지름으로 간주하였다[지름=(큰지름×작은지름)^{1/2}].

지연성과민반응(DTH)측정. 면역반응 중에서 암의 발생과 전이 등에 대한 방어 기전은 주로 CTL을 통한 세포매개면역반응에 의존하는 바가 크고(10-13), 세포매개면역반응을 실험적으로 측정하는 가장 보편적인 방법은 항원감작에 의한 피부의 지연성과민반응 유발시험인 것은 잘 알려진 사실이다(14-16). 따라서 피부의 지연성과민반응(delayed type hypersensitivity, DTH) 유발 정도의 측정을 통하여 대조군과 종양접종군 내 각 개체 간의 면역반응 측정 지표로 사용하였다.

방법을 간단히 설명하면, 실험 개시 후 26일째, 즉 종양접종 후 4주군은 3주 4일이 경과하고 3주군은 2주 4일, 2주군은 1주 4일이 각각 경과한 시점에 항원으로 2,4-dinitro-1-fluorobenzene (DNFB)을 이용하여 감작(sensitization)을 시행하였다. 생쥐 등에 2×2 cm 정도 면적의 털을 제거하여 피부를 노출시키고 0.5% DNFB (acetone : olive oil=1 : 4 용액) 25 μ l를 점적하는 방법으로 이를 동안 연속하여 감작시켰다. 감작 4일 후, 0.2% DNFB 용액 20 μ l를 뒷바퀴에 점적하여 재감작(challenge)을 시행함으로써 DTH를 유발하였다. DTH로 인하여 뒷바퀴에 염증이 유발되고 귀두께가 두꺼워지면, 두꺼워진 정도를 constant-loading micrometer (Mitutoyo, Japan)로 측정하고, 염증 유발 전 두께를 기준으로 증가율(% increase)을 계산하여 이를 DTH 발생 정도로 간주하였다.

통계처리. 모든 군 간의 실험값 비교는 SPSS 12 program 중에서 비모수검정법인 Mann-Whitney법을 사용하여 유의성을 검증하였으며 p=0.05를 판정 기준으로 하였다.

결 과

TA3Ha 유방암세포주. TA3Ha 종양세포주를 접종한 후 각각 2, 3, 4주에 유발된 DTH 반응 정도는 Fig. 1A와 같다. 모든 군에서 재감작 2일째에 귀두께의 증가가 최고에 달했으며 그 정도가 3주군($39.88 \pm 15.14\%$)에서는 대조군($41.38 \pm 11.85\%$)과 유사하였으나 2주군에서는 증가율이 높았고($48.93 \pm 9.38\%$) 4주군에서는 대조군보다 낮은 증가율($28.02 \pm 9.92\%$)을 보였다. 측정된 4일 동안 이러한 양상이 유지되었으며, 특히 대조군보다 높아진 2주군과, 대조군보다 낮아진 4주군 사이에는 유의한 통계적 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 요약하면, TA3Ha 종양세포주를 접

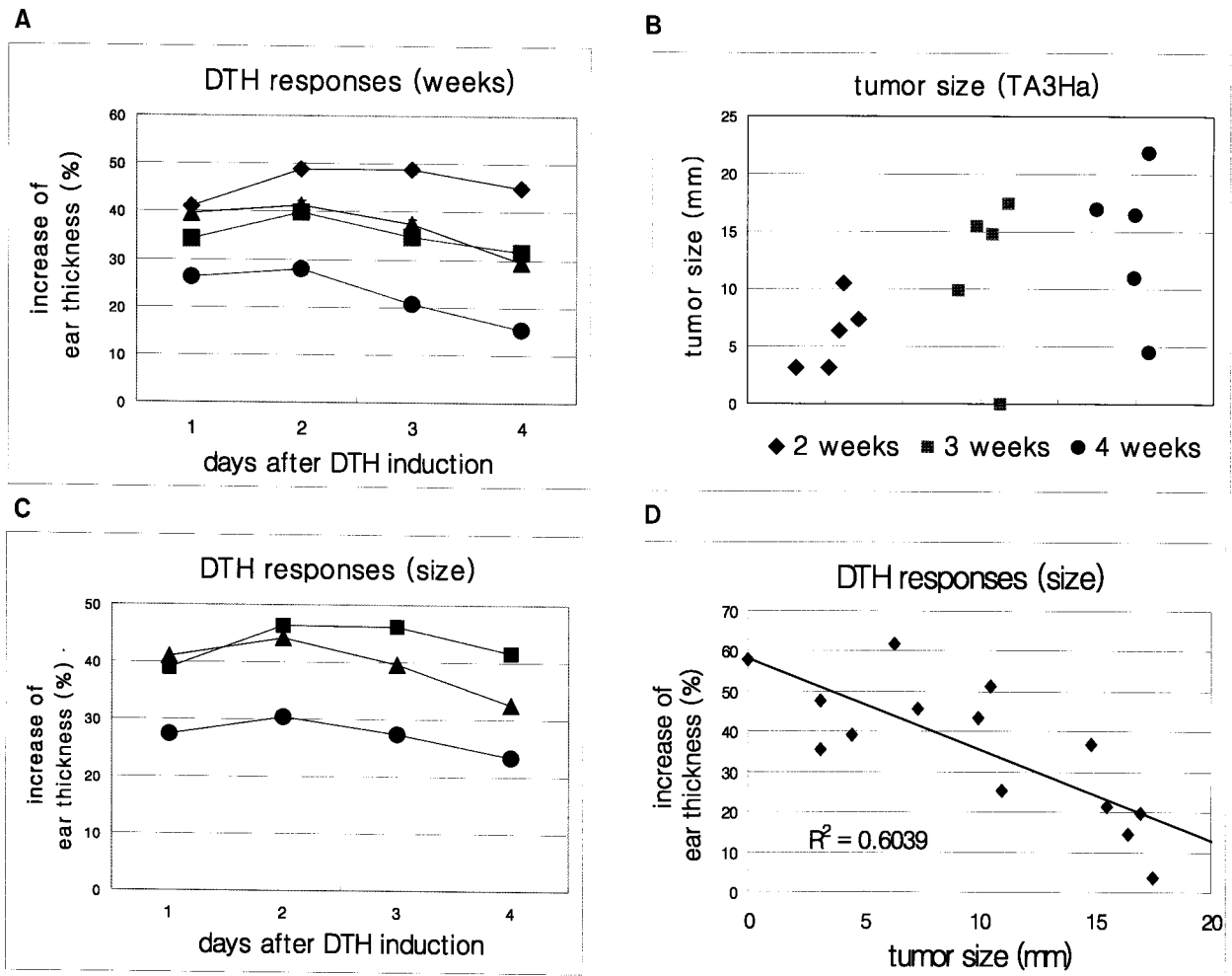


Figure 1. Results from mice inoculated with TA3Ha mouse breast cancer cells. (A) Delayed type hypersensitivity responses. Mice were sensitized and challenged with DNFB. Ear thickness was measured on the days indicated and the percent increase compared to the basal thickness on day 0 were calculated. All groups showed their peak increase on day 2 after challenge. Compared to the tumor-free group (▲), 2 week group (◆) showed a little higher increase, and 4 week group (●) showed less increase. ■, 3 week group. (B) Size of tumor masses in experimental groups on the day of sensitization (experimental day 26; the day of tumor cell inoculation was designated as day 1). Basically each group consisted of 5 mice. One in 3 week group failed to carry the tumor mass (◆: 2 week group, ■: 3 week group, ●: 4 week group). (C) DTH responses re-grouped based on the size of tumor masses, i.e. tumor-free group (▲), small-sized group (diameter <10 mm; ■), and large-sized group (diameter ≥10 mm; ●). Large-sized group showed less increase of ear thickness compared to the tumor-free control group. (D) Correlation between the tumor size and the DTH intensity. Larger the tumor size, smaller the intensity of DTH response.

종한 후 초기(2주)에는 접종하지 않은 정상 개체에서보다 DTH 반응이 크게 나타나며, 접종 후 시간이 오래될수록 DTH 반응 정도는 상대적으로 감소하였다.

재감작 시기에 각 주수별 형성된 종양(종괴)의 크기는 그 지름이 4주에 14.15 ± 6.66 , 3주에 11.55 ± 7.03 , 2주에 6.10 ± 3.09 mm였다(Fig. 1B). 주수가 증가함에 따라서 종괴의 크기가 평균적으로 커지기는 하였지만 개체 간의 차이가 많았기 때문에 각 개체에 형성된 종괴의 크기에 따라서 실험군을 다시 나누어 DTH 반응의 변화를 확인하여 보았다(Fig. 1C). 이때 새로운 군은 종괴 크기가 지름 10 mm 이상인 군, 그 이하인 군, 대조군을 포함하여 종괴가 형성되지 않은 군 등 세 군으로 임의로 구분하였다.

지름이 10 mm 이하인 군에서는, 통계적으로 유의하지는 않지만 DTH 유발 후 3일과 4일에 종괴가 형성되지 않은 군에 비하여 다소 높은 귀두께 증가를 보인 반면에 종괴가 큰 경우에는 전체적으로 대조군에 비하여 낮은 정도의 귀두께 증가를 보였다. 종괴가 형성된 개체에서 주수에 관계없이 종괴의 크기와 DTH 반응의 감소 정도는 상당한 연관성을 보여서, 크기가 클수록 DTH 반응의 정도는 감소하는 경향을 보였다($R^2=0.60$, Fig. 1D).

CT26 대장암세포주. 접종 2, 3, 4주에 CT26 세포는 그 크기가 2주에 1.58 ± 1.82 , 3주에 7.79 ± 2.41 , 4주에 8.87 ± 6.06 mm로 주수에 따라서 그 크기가 점차 커지는 양상을 보이기는 하였지만 동일 시기의 TA3Ha 군과 비교했을 때

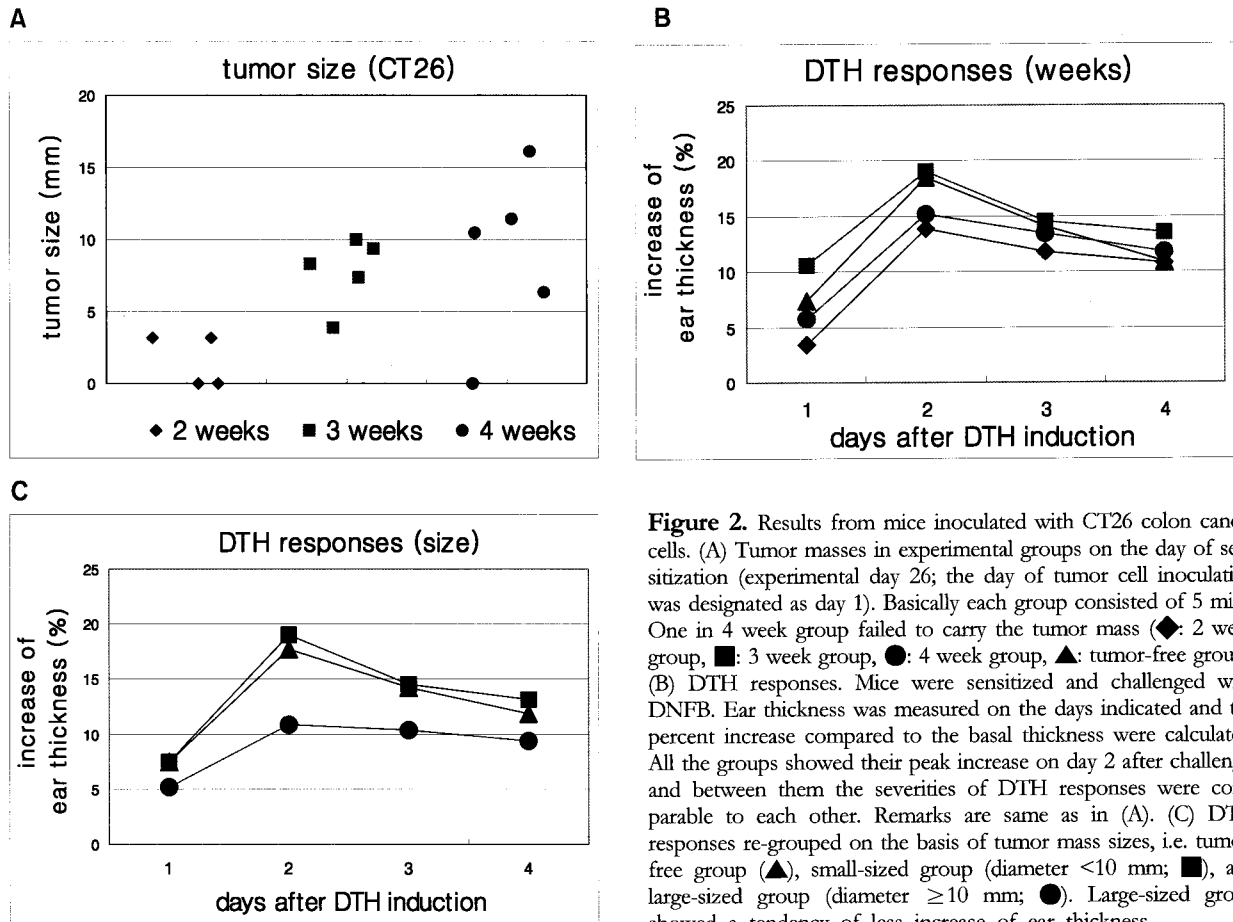


Figure 2. Results from mice inoculated with CT26 colon cancer cells. (A) Tumor masses in experimental groups on the day of sensitization (experimental day 26; the day of tumor cell inoculation was designated as day 1). Basically each group consisted of 5 mice. One in 4 week group failed to carry the tumor mass (◆: 2 week group, ■: 3 week group, ●: 4 week group, ▲: tumor-free group). (B) DTH responses. Mice were sensitized and challenged with DNFB. Ear thickness was measured on the days indicated and the percent increase compared to the basal thickness were calculated. All the groups showed their peak increase on day 2 after challenge, and between them the severities of DTH responses were comparable to each other. Remarks are same as in (A). (C) DTH responses re-grouped on the basis of tumor mass sizes, i.e. tumor-free group (▲), small-sized group (diameter <10 mm; ■), and large-sized group (diameter ≥10 mm; ●). Large-sized group showed a tendency of less increase of ear thickness.

절대적인 크기는 작았다(Fig. 2A). DTH를 유발한 결과 TA3Ha에서와 마찬가지로 재감작 2일째에 귀두께 증가가 가장 크게 나타났다. 그러나 TA3Ha에서 보는 바와 같은 주별 차이는 거의 나타내지 않았다(Fig. 2B).

이들 실험결과를 자라난 종양 크기를 기준으로 군을 재편성하여 DTH 반응 정도를 살펴본 바, 개체 간의 차이가 커서 통계적 유의성은 얻을 수 없었지만 재감작 2일째에 종양크기가 큰 군에서 다른 두 군보다 귀두께 증가폭이 다소 낮은 경향을 보였다(Fig. 2C).

4T1 유방암세포주. 4T1 cell line을 접종한 개체에서는 기간에 비하여 종양 크기가 앞선 두 종류 암종에 비하여 현저히 작았다(Fig. 3A). 2주군에서는 크기를 측정할 수 있을 만큼 자란 개체가 하나도 없었으며 3주와 4주군의 크기도 각각 4.68 ± 1.25 mm와 6.76 ± 2.96 mm 정도로서 10 mm 이상 자란 개체는 4주군의 한 마리에 불과하였다. DTH 반응에 있어서는 대조군과 2주 및 3주군은 유사한 양상을 보인 반면에 4주군에서는 나머지 군에 비하여 현저히 증가한 양상을 나타내었으며(Fig. 3B) 이는 통계적 유의성을 보였다. 앞서 시행한 종괴의 크기에 따른 DTH 반응 분석은, 종괴 크기가 10 mm 이상으로 자란 개체가 하나에 불과하였기 때문에 4T1을 이용한 실험에서는 시

행하지 않았다.

고찰

생쥐에 암세포주를 접종하고 여러 조작을 통하여 항암 작용을 확인하는 실험 방식은 항암면역치료 관련 실험에 흔히 사용되는 모델이다. 이 모델이 인체에서 발생한 암을 여러 면에서 모방하고는 있지만 모든 면에서 일치하지는 않을 것이고, 특히 항암면역치료 측면에서는 숙주의 면역상태가 실험결과와는 물론이고 결과의 해석에 있어서도 고려되어야 할 것으로 생각된다. 본 실험에서는 암세포 접종 후 숙주의 면역능력이 변화하는 양상을 알아보고자 시행하였다.

DNFB와 같은 피부감작원(skin sensitizer)을 사용한 지연성과민반응의 유발은 생체에서 세포매개면역반응(cell-mediated immune response)을 확인하는 방법으로 많은 실험에 차용되어 온 바 있다(17). DTH는 주로 Th1 세포에 의해 촉구된다는 점에서(16), 생체에서 CTL의 발현 능력을 반영하는 측면이 있으며, 따라서 anti-tumor effect와 연관지어 생각할 수 있을 것이다. 실제로 흑색종(melanoma) 환자에서 수지상세포(dendritic cell)를 이용한 면역요법 후에는 DTH 여부 정도가 환자의 생존율과 직접적인 관

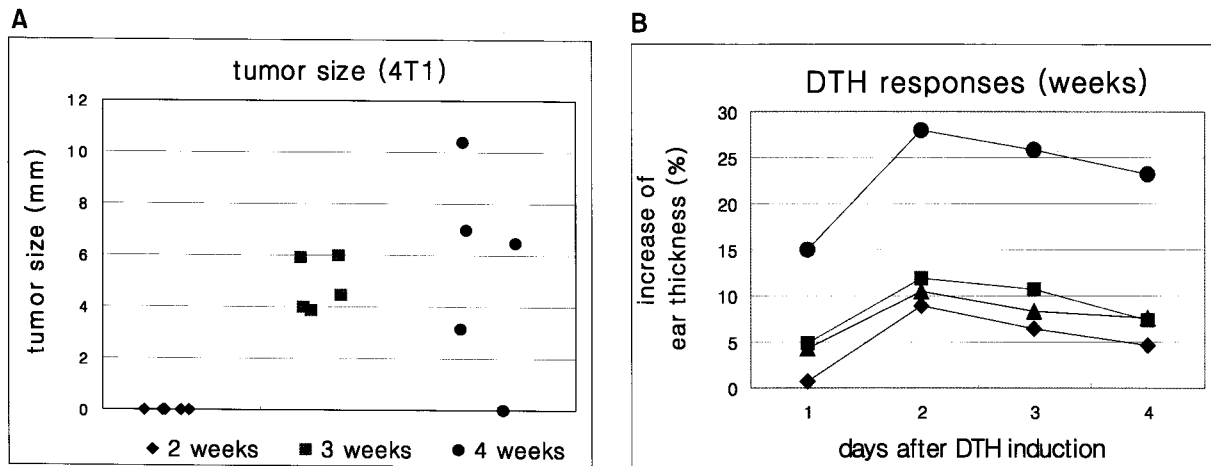


Figure 3. Results from mice inoculated with 4T1 breast cancer cells. (A) The sizes of tumor masses in experimental groups on the day of sensitization (experimental day 26; inoculation of tumor cells was done on day 1). Basically each group consisted of 5 mice. In this experiment, 2 week group still does not show any palpable masses, and one in 4 week group failed to carry the tumor mass. (B) DTH responses were elicited and recorded as described in materials and methods. Four week group, with moderate tumor mass, showed increased DTH responses, while the other groups showed comparable degree of DTH responses (▲: tumor-free group, ◆: 2 week group, ■: 3 week group, ●: 4 week group).

계를 나타내기도 한다(18).

본 실험에서 접종한 암세포주의 종류(TA3Ha, CT26, 4T1)에 따라서 접종 후 일정 기간에 형성된 종양의 크기는 많은 차이를 보였다. 이는 암세포의 성장 특성에 기인한 것으로 생각된다.

암세포 접종 후 DTH를 유발해 본 결과 TA3Ha 접종군에서는 접종 후 2주에서 대조군에 비해 그 정도가 다소 증가한 양상을 보이다가 4주에는 현저히 감소하는 양상을 보여서, 암세포 접종으로 인하여 숙주의 면역기능, 그 중에서도 세포매개면역반응이 초기에는 증가하다가 시간이 지나면서 감소하는 것으로 보였다(Fig. 1A). DTH 반응 정도의 비교를 접종 시기와 관계없이, 형성된 종피의 크기를 기준으로 군을 나누어 비교해 보았을 때(Fig. 1C) 크기가 지름 10 mm 이상인 군은 종피 형성이 되지 않은 군에 비하여 낮은 정도의 DTH 반응을 보였던 반면 지름 10 mm 이하로 작은 크기 군에서는 통계적으로 유의하지는 않았지만 3일과 4일에 대조군에 비하여 다소 높은 DTH 반응을 나타내었다. CT26 접종군에서는 접종 후 기간에 따라서는 별다른 차이를 보이지 않았으나(Fig. 2B), 형성된 종피의 크기를 기준으로 군을 나누어 비교해 보았을 때(Fig. 2C), TA3Ha를 접종한 실험에서와 마찬가지로 지름 10 mm 이상인 군에서 종피 형성이 되지 않은 군과 크기가 작은 군에 비하여 DTH 반응 정도가 낮은 경향을 보였다.

4T1 접종군에서는 2주와 3주군의 DTH 반응 정도가 대조군과 유사한 반면에 4주군에서는 오히려 대조군보다 현저히 높은 정도의 DTH 반응을 보여서(Fig. 3B), TA3Ha 접종군과는 반대의 결과를 나타내는 것처럼 보였다. 그러

나 4T1 4주군의 종피 크기가 6.76 ± 2.96 mm로서, TA3Ha 군 중에서 대조군보다 높은 DTH 반응 경향을 나타낸 2주군의 6.10 ± 3.09 mm와 유사한 정도여서 형성된 종피의 크기가 DTH 반응 정도를 결정했을 것이라는 점을 시사하고 있다. 이는 TA3Ha 종피 크기가 DTH 반응 정도와 상당한 정도로 의미 있게($R^2=0.60$) 역비례 관계를 나타내는 것(Fig. 1D)과도 일치하는 내용이다. 한편, 접종된 군에서 대조군보다 DTH 반응이 높게 나타나는 것은 아마도 투입된 암세포에 대한 숙주의 면역반응 활성화 때문인 것으로 생각된다. 즉 암세포 접종 후 들어온 새로운 항원인 DNFB에 대한 기존 면역반응의 bystander effect일 수 있을 것으로 생각된다. 이러한 현상은 실험에 사용된 실험동물의 면역성이 온전하기 때문에 일어나는 현상일 것이다.

본 연구결과가 시사하는 바와 같이 암 종피의 크기와 그에 의한 숙주 면역기능의 억제 관계를 시사하는 여러 논문들이 발표된 바 있다. B16 생쥐 흑색종세포를 비장에 주사한 후, α -GalCer로 load된 수지상세포로 NKT 세포를 활성화하여 주입하면 비장에 주입된 암세포에 의한 전이 암 발생을 막아 준다(19). 그러나 이러한 효과는 암세포 주입 후 7일까지는 의미있게 관찰되었지만 9일에 주입한 경우에는 별 효과를 나타내지 않았으며, 이는 이미 암세포 덩어리가 커져 있기 때문으로 생각되어, 본 실험의 결과를 뒷받침해 주고 있다. 또 다른 예로 4T1 암세포를 접종한 후 종피를 제거하면 전이된 암이 존재한다 하더라도 체액성 및 세포매개면역반응이 회복되는 것을 보인 바 있어서(20) 암에 의한 숙주의 면역반응 억제는 크게 형성된 종피의 존재 자체가 그 원인이라는 것을 시사하고 있다. 이러한 양상은 다른 종류의 세포주인 CMS5 (생쥐 육종암

세포주)를 사용한 실험에서도 유사하게 나타났다(21). 즉, CMS5 세포를 접종한 후 28일에 종괴를 수술적으로 제거하고 비장세포를 관찰한 결과, 48시간 만에 면역세포의 양상이 급격하게 변화하여서, Mac1⁺, Gr1⁺ 세포는 증가하였다가 감소하고 CD3⁺ 세포는 감소하였다가 정상 수준으로 회복되었으며, 현상적으로는 세포매개면역반응이 회복되고 CTL 기능 역시 회복되는 양상을 보임으로써 종괴의 크기, 즉 tumor burden이 이와 유사한 상황의 실험 생쥐 면역기능을 억제하는 중요한 요소인 것을 뒷받침하고 있다. *In vivo*에서 T 세포의 기능을 억제하는 CD4⁺-CD25⁺ T_{reg} 세포가, 백혈병세포주인 12B1을 접종 후 크기가 5,000 mm³이 될 때까지 형성된 종괴의 크기에 비례하여 비장과 림프절에서 그 숫자가 증가하는 양상을 보이는 것(22) 또한 종괴의 크기가 숙주의 면역 억제와 관련 있음을 보여 주는 결과이다. 이상 언급한 논문들은 본 실험의 결과를 뒷받침하고는 있지만, 본 실험에서 지적한 바 접종 초기에는 오히려 숙주의 면역반응이 다소 증강된다는 점을 언급하지는 못하고 있다.

이상의 결과와 기존 연구를 바탕으로 하였을 때 적어도 정상 생쥐에게 접종으로 암을 유발한 경우에는 암세포 접종 시기보다는 형성된 종괴의 크기에 따라서 면역반응이 증대되다가, 크기가 어느 정도 커지면서(본 실험의 경우에는 지름 10 mm 이상) 면역반응이 점차적으로 억제되는 것으로 여겨진다. 아울러서 이러한 면역기능의 억제는 비가역적인 것이 아닌 것으로 생각된다(21).

한편, 3-methylcholanthrene으로 15주간 처리하여 육종(sarcoma)을 유발시킨 생쥐에서의 면역 반응은 지금까지 살펴본 결과와는 다른 양상을 보이는 것으로 보고 되었다(23). 즉, 사람에서의 암발생 과정과 보다 유사하게 생쥐에게 화학물질을 투입하여 *in situ*로 암을 유발한 경우에, 암에 의한 면역반응 억제의 한 기전인 T 세포에서 ζ chain의 발현 감소가 종괴 크기에 비례하여 5 mm 이하, 5~15 mm 사이, 15 mm 이상의 크기 군에 따라 점차 심해지는 것이 확인되었다. 이에 따라서 *ex vivo* proliferation과 CTL 기능 등 T 세포의 전반적인 기능이 현저히 떨어지는 것이 관찰되었다. 이는 본 실험의 결과, 종괴 크기가 10 mm 이하인 경우에는 DTH 반응이 대조군과 동일하거나(CT26의 경우; Fig. 2C) 오히려 다소 증가하는(TA3Ha와 4T1의 경우; Fig. 1C, 3B) 양상과는 어긋나는 것이다. 이러한 불일치는 암발생의 과정, 즉 하나는 외부에서 심어진 경우이고 다른 하나는 화학물질에 의해서 오랜 시간을 두고 숙주 내에서 유도된 암이라는 차이에서 비롯된 것으로 생각된다. 사실 같은 논문에서 저자들은 동일 약물로 유도된 동일 육종을 계대배양하여 접종한 후 종괴 크기가 동일한 크기로 자란 군에서는 T세포의 변화가 최소한의 정도였다고 보고하고 있다. 즉, 종괴의 크기가 숙주의 면역 반응을 저해하는 중요한 요소이기는 하지만, 자연발생적

으로 생성된 암에 있어서는 암이 발생하는 데 소요되는 시간 또한 숙주의 면역기능을 억제하는 데 관련된 중요한 요소 중의 하나인 것으로 생각된다. 이러한 추정에 대한 또 다른 뒷받침으로서, 사람 암 환자에서의 면역기능 변화에 대한 보고를 들 수 있다. 위암 환자에서 수술 후 4주나 지난 시점에서 혈중 CD8⁺ T세포의 수가 여전히 낮은 채로 있으며 ConA에 대한 림프구의 증식성은 수술 전보다 오히려 떨어지는 것을 관찰하여, 수술로 종괴를 제거한다고 하더라도 낮아진 면역능력이 회복되기는 어렵다는 보고(24)가 있으며, 또한 여러 종류의 뇌종양에서도 수술이나 약물치료, 방사선치료 후에 개체의 혈중 CD4⁺ T세포가 증가하지만 CD8⁺ T 세포는 감소하고, 항체 역가는 별로 변하지 않는 등 눈에 띄는 면역회복은 관찰되지 않았다(25). 이는 적어도 사람에서는 단 시간 내에 면역기능이 정상 수준으로 회복되지는 않는다는 것을 의미한다. 동물실험에서도, 재차 언급하는 바, 3-methylcholanthrene으로 15주간 처리하여 유발된 육종(sarcoma)은 종괴 크기가 작더라도 작은 만큼 숙주의 면역기능이 억제된 암세포 접종에 의한 실험동물에서의 상황과는 다른 점으로 생각된다.

정리하자면, 면역학적으로 정상인 생쥐에게 종양세포주를 접종하여 암을 유발한 경우, 초기에는 숙주의 면역기능이 다소 증가하다가 종양의 크기가 어느 정도 형성되면 면역기능이 떨어지는 양상을 나타내는 것으로 생각된다. 이러한 양상은 사람에서 발생한 암이나 실험동물에서 화학물질에 의하여 일차적으로 생성된 암의 경우와는 다소 다른 행동 양상인 것으로 여겨지며, 이러한 차이점은 실험결과의 해석이나 적용에 있어서 고려되어야 할 점일 것이다.

참 고 문 헌

1. Old LJ: Tumor immunology: the first century. *Curr Opin Immunol* 4;603-607, 1992
2. Minev BR, Chavez FL, Mitchell MS: Cancer vaccines: novel approaches and new promise. *Pharmacol Ther* 81;121-139, 1999
3. Moingeon P: Cancer vaccines. *Vaccine* 19;1305-1326, 2001
4. Hernando JJ, Park TW, Kubler K, Offergeld R, Schlebusch H, Bauknecht T: Vaccination with autologous tumour antigen-pulsed dendritic cells in advanced gynaecological malignancies: clinical and immunological evaluation of a phase I trial. *Cancer Immunol Immunother* 51;45-52, 2002
5. Jennings GT, Bachmann MF: Immunotherapies: cause for measured optimism. *Drug Discov Today* 7;994-996, 2002
6. Chang AE, Redman BG, Whitfield JR, Nickoloff BJ, Braun TM, Lee PP, Geiger JD, Mule JJ: A phase I trial of tumor lysate-pulsed dendritic cells in the treatment of advanced cancer. *Clin Cancer Res* 8;1021-1032, 2002
7. Rapp M, Ozcan Z, Steiger HJ, Wernet P, Sabel MC, Sorg RV: Cellular immunity of patients with malignant glioma: prerequisites for dendritic cell vaccination immunotherapy. *J Neurosurg* 105;41-50, 2006
8. Kim R, Emi M, Tanabe K, Arihiro K: Tumor-driven evolu-

- tion of immunosuppressive networks during malignant progression. *Cancer Res* 66;5527-5536, 2006
9. Malmberg KJ: Effective immunotherapy against cancer: a question of overcoming immune suppression and immune escape? *Cancer Immunol Immunother* 53;879-892, 2004
 10. Lindauer M, Stanislawski T, Haussler A, Antunes E, Cellary A, Huber C, Theobald M: The molecular basis of cancer immunotherapy by cytotoxic T lymphocytes. *J Mol Med* 76;32-47, 1998
 11. Perez-Diez A, Marincola FM: Immunotherapy against antigenic tumors: a game with a lot of players. *Cell Mol Life Sci* 59; 230-240, 2002
 12. McKenzie IF, Apostolopoulos V, Plebanski M, Pietersz GA, Loveland BE: Aspects of cancer immunotherapy. *Immunol Cell Biol* 81;79-85, 2003
 13. Morris EC, Bendle GM, Stauss HJ: Perspectives for immunotherapy of malignant disease. *Clin Exp Immunol* 131;1-7, 2003
 14. Buchanan KL, Murphy JW: Kinetics of cellular infiltration and cytokine production during the efferent phase of a delayed-type hypersensitivity reaction. *Immunology* 90;189-197, 1997
 15. Kobayashi K, Kaneda K, Kasama T: Immunopathogenesis of delayed-type hypersensitivity. *Microsc Res Tech* 53;241-245, 2001
 16. Roychowdhury S, Svensson CK: Mechanisms of drug-induced delayed-type hypersensitivity reactions in the skin. *AAPS J* 7; E834-E846, 2005
 17. Dhabhar FS, McEwen BS: Stress-induced enhancement of antigen-specific cell-mediated immunity. *J Immunol* 156;2608-2615, 1996
 18. Ridolfi R, Petrini M, Fiammenghi L, Stefanelli M, Ridolfi L, Ballardini M, Migliori G, Riccobon A: Improved overall survival in dendritic cell vaccination-induced immunoreactive subgroup of advanced melanoma patients. *J Transl Med* 4;36, 2006
 19. Toura I, Kawano T, Akutsu Y, Nakayama T, Ochiai T, Taniguchi M: Cutting edge: inhibition of experimental tumor metastasis by dendritic cells pulsed with alpha-galactosylceramide. *J Immunol* 163;2387-2391, 1999
 20. Danna EA, Sinha P, Gilbert M, Clements VK, Pulaski BA, Ostrand-Rosenberg S: Surgical removal of primary tumor reverses tumor-induced immunosuppression despite the presence of metastatic disease. *Cancer Res* 64;2205-2211, 2004
 21. Salvadori S, Martinelli G, Zier K: Resection of solid tumors reverses T cell defects and restores protective immunity. *J Immunol* 164;2214-2220, 2000
 22. Larmonier N, Marron M, Zeng Y, Cantrell J, Romanoski A, Sepassi M, Thompson S, Chen X, Andreansky S, Katsanis E: Tumor-derived CD4(+) CD25(+) regulatory T cell suppression of dendritic cell function involves TGF-beta and IL-10. *Cancer Immunol Immunother* 13 [Epub]; 2006
 23. Horiguchi S, Petersson M, Nakazawa T, Kanda M, Zea AH, Ochoa AC, Kiessling R: Primary chemically induced tumors induce profound immunosuppression concomitant with apoptosis and alterations in signal transduction in T cells and NK cells. *Cancer Res* 59;2950-2956, 1999
 24. Barbieri C, Fujisawa MM, Yasuda CL, Metze IL, Oliveira EC, Santos LM, Lopes LR, Andreollo NA: Effect of surgical treatment on the cellular immune response of gastric cancer patients. *Braz J Med Biol Res* 36;339-345, 2003
 25. Kempuraj D, Devi RS, Madhappan B, Conti P, Nazer MY, Christodoulou S, Reginald J, Suthinthirarajan N, Namasi-vayam A: T lymphocyte subsets and immunoglobulins in intracranial tumor patients before and after treatment, and based on histological type of tumors. *Int J Immunopathol Pharmacol* 17;57-64, 2004