

## 대장직장암환자에서 술후 5-FU, Levamisole 보조요법의 단기 사용경험

충남대학교 의과대학 일반외과학교실

윤 완 희 · 송 인 상

= Abstract =

### Short-term Evaluation of Adjuvant 5-fluorouracil and Levamisole in Colorectal Cancer

Wan-Hee Yoon, M.D. and In-Sang Song, M.D.

Department of General Surgery, School of Medicine, Chungnam National University

Levamisole in combination with 5-fluorouracil is an effective adjuvant for the treatment of resected colon cancer, therefore the National Institute of Health (NIH) has recommended that the adjuvant therapy be offered to all patients with Dukes' C colon cancers. But the mechanism of action of the combination therapy is unknown.

This study was undertaken to investigate the effect on the cell mediated immunity and to evaluate the toxicity of the adjuvant therapy. The mean levels of T3 and T4 following 5-FU and levamisole treatment were significantly decreased. Although T8 was not changed, the ratio of T4/T8 was significantly decreased. The percent of natural killer cells tended to decrease, but there was no statistic difference. Toxic reactions were quite minimal and mainly attributable to 5-FU, therefore 5-FU and levamisole adjuvant therapy was considered very safe.

**Key Words:** Colorectal cancer, Levamisole, 5-fluorouracil, Cell mediated immunity, Toxicity

### 서 론

대장직장암은 미국에서 악성종양에 의한 사망 원인의 두번째를 차지하고 있으며 국내에서도 전체 악성종양중 약 4위를 점하는 흔한 질환으로 그 발생빈도도 점차 증가하고 있다. 근래에 진단방법과 외과적 술기의 발전으로 근치적 절제율이 80%에 달하고 있음에도 불구하고<sup>7)</sup> 5년 생존율은 약 50% 정도로 과반수에 이르는 환자들이 결국 대장암으로 사망하고 있는 실정이다<sup>1)</sup>. 외과적 치료 실패의 원인으로는 술후 잔존하는

잠재성암 또는 미세전이암으로 인한 재발과 전이가 중요하다고 생각되며 암조직이 극소화된 수술 직후에 효과적인 보조요법을 사용하는것이 이론적으로는 재발율을 감소시키고 생존율을 증가시키는데 도움이 되리라 여겨지고 있다.

현재까지 사용되어온 대장직장암에서의 보조요법제들은 5-FU를 위주로 하는 복합 화학요법들로서 이들의 효과에 대해서는 매우 회의적으로 최근 7000명이상을 대상으로한 광범위한 연구에서도 5%이하에서 이러한 복합 화학요법들이 5년 생존율에 도움이 된다고 하였다<sup>2)</sup>.

반면에 최근 전향적 조사로 이루어진 여러 보고에서는 5-FU, levamisole의 병합요법이 대장암 특히 Dukes 병기 C의 경우에 의미있는 재발율의 감소와 생존율의 증가를 보인다고 보고하고 있으며<sup>11,14,15</sup> 현재 미국립보건원에서 Dukes 병기 C의 대장암일 경우 권고하는 보조요법으로 인정받고 있다. 그러나 이 병합요법의 효과에 대한 기전은 아직 상세히 알려져 있지 않으며 그 이유는 levamisole 단독 투여시는 효과를 얻지 못했다는 보고들<sup>16</sup> 때문이다.

Tetramisole의 biologically active enantiomer이며, synthetic phenylimidazole인 levamisole은 구충제로 널리 사용되어 왔으며, 1970년대 면역증강 효과가 있다는 보고<sup>17</sup> 이래 항암제로서의 가능성에 대해 연구가 지속되어 왔다. 현재까지 보고된 바로는 levamisole은 분화된 말초 T림프구와 대식세포의 기능을 증가시키고 면역억제된 상태에서 이 세포들의 기능을 회복시킬 수 있다고 한다<sup>18-20</sup>.

이에 저자들은 대장직장암 환자들 중 수술 보조요법으로 5-FU와 levamisole을 투여한 환자들을 대상으로 말초 혈액에서의 T림프구 아형과 림프구중 자연살해세포의 비율 조사하고 이 보조요법의 단기 사용중에 따르는 독성을 분석하여 5-FU, levamisole 보조요법이 수술 세포면역에 미치는 영향과 이 요법의 안정성을 알아보려고 본 연구를 계획하였다.

### 대상 및 방법

대상 환자중 5-FU, levamisole 치치군은 1993년 3월부터 약 6개월간 근치적 대장직장암 절제 수술 후 전향적으로 상기 보조요법을 시행받은 환자들중 무작위 선택한 18명이며, 급성 독성을 비교 평가하기 위해 선정된 대조군은 5-FU, mitomycin, cisplatin을 보조요법으로 시행한 환자들로 이들은 1989년부터 1990년까지의 환자들중 후향적으로 무작위 선정된 20명이었다(Table 1).

5-FU, levamisole 보조요법은 수술 후 2주째부터 시작하였으며, 5-FU는 유도기간중 450 mg/m<sup>2</sup>를 5일간 연속 투여한 후 4주후부터 유지요법으로 동량을 매주 1회 투여하였으며, levamisole은 150 mg/day (광동제약, 50 mg q 8 hrs)의 용량으로 연속 3일 격주 간격으로 투여하였다.

5-FU, mitomycin, cisplatin 보조요법은 역시 수술 후 2주째부터 시작하였으며 5-FU는 600mg/m<sup>2</sup>를 5일간, mitomycin은 10 mg/m<sup>2</sup>를 1일째, cisplatin은 40 mg/m<sup>2</sup>를 5일째 투여하였으며 매 4주마다 반복 투여하였다.

5-FU, levamisole 보조요법의 세포성 면역에 미치는 영향을 알아보기위해 시행한 T림프구 아형분석 및 자연살해세포의 비율 분석은 보조요법 시작 직전과 시행 3개월 후의 말초 혈액을 채취하여 검체로 이용하였다. 측정방법은 flow cytometry 법을 이용하였으며 heparinized blood 10 ml에 FITC와 phycoerythrin(PE)이 부착된 단클론 항체 20 µl를 넣고 15분간 방치한 후 여기에 lysing solution 2 ml을 넣어 적혈구를 용해시킨후 cell pellet을 풀어 세척한 후 PBS에 부유시켜 FACStar plus(Becton Dickinson, USA)를 이용하여 측정하였는 바, CD14PE와 CD45FITC항체를 이용하여 적절한 lymphocyte gate를 설정한 후 그 gate 내에서 T림프구 아형 및 자연살해세포의 비율을 계산하였다.

보조요법에 따른 부작용에 대한 관정은 치료 3개월 이내의 소견중 혈액학적 검사에서 백혈구수와 혈소판

Table 1. Patients characteristics

	Levamisole plus 5-FU (n=18)	5-FU, mitomycin plus cisplatin (n=20)
Age(years)		
Mean	56	58
Range	38~77	46~75
Sex		
Male	11	7
Female	7	13
Tumor location		
Right	5	1
Left	3	1
Rectum	10	18
Dukes' stage		
B1	3	3
B2	13	7
C1	1	4
C2	1	4
D	-	2

수, 위장관계 증상중 오심과 구토등을 위주로 ECOG 독성기준에 따라 분류하였다.

### 성 적

화학요법제인 5-FU와 면역증강제인 levamisole의 단기 병용 투여가 대장직장암 환자의 술 후 저하된 면역기능에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보하고자 한 말초 혈액의 T림파구 분포 분석에서 T3는 수술후 2주째의  $62.1 \pm 12.8\%$ 에서 3개월간의 보조요법 후  $50.0 \pm 15.2\%$ 로, T4는 술 후 2주째  $41.3 \pm 9.7\%$ 에서 보조요법 후  $29.1 \pm 8.8\%$ 로 매우 유의하게 감소하였으나 T8은 보조요법 전의  $31.2 \pm 8.9\%$ 에서 보조요법 후  $30.0 \pm 10.2\%$ 로 차이를 발견할 수 없었다. T4/T8 비율은 술 후 2주째, 보조요법 전의  $1.6 \pm 1.2\%$ 에서 보조요법 후  $1.1 \pm 0.7\%$ 로 의미있게 감소하였다. 또한 자연살해세포의 비는 술 후 2주째의  $18.6 \pm 9.1\%$ 에서 보조요

법 후  $11.6 \pm 6.1\%$ 로 감소되는 경향이었으나 유의한 차이는 없었다(Table 2).

단기 치료 기간 동안 ECOG 독성 기준에 의한 혈액학적 부작용중 백혈구 감소증(less than  $4500/mm^3$ )은 5-FU, levamisole 처치군에서 38.9%, 대조군인 5-FU, mitomycin, cisplatin 치료군에서 85%로 나타났다으며, 항암치료의 중단을 고려할 정도의 백혈구 감소증(less than  $3000/mm^3$ )을 보인 경우는 대조군에서는 55%였으나 5-FU, levamisole 처치군에서는 발생하지 않았다. 혈소판 감소증(less than  $130,000/mm^3$ )은 5-FU, levamisole 처치군에서는 발생하지 않았으나 대조군에서는 35%로 5-FU, levamisole 치료군이 대조군에 비해 혈액학적 부작용 발생율이 매우 적었다. 소화기계 부작용중 grade 1, 2, 3에 해당하는 오심과 구토증은 5-FU, levamisole 치료군이 38.8%, 대조군이 75%로 5-FU, levamisole 치료군이 월등히 적었으며 치료의 중단을 심각히 고려할 정도의 증상을 보이는 경우도 발견할 수 없었다(Table 3).

Table 2. Peripheral blood T-cell subpopulations and natural killer cell population in levamisole plus 5-FU treated patients

T-cell subsets (%) (n=9)	Pretreatment (mean±S.D)	Treatment, 3 months (mean±S.D)
T3	$62.1 \pm 12.8$	$50.0 \pm 15.2^{**}$
T4	$41.3 \pm 9.7$	$29.1 \pm 8.8^{***}$
T8	$31.2 \pm 8.9$	$30.0 \pm 10.2$
T4/T8	$1.6 \pm 1.2$	$1.1 \pm 0.7^*$
NK cell(%) (n=5)	$18.6 \pm 9.1$	$11.6 \pm 6.1$

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

### 고 찰

면역력의 억제는 악성 종양 환자에서 병기와 무관하게 예후에 유해한 영향을 미치게 되며<sup>(6)</sup> 현재까지 면역계에 대한 자극으로 인한 치료 효과는 단지 몇가지의 종양에서만 기대할 수 있을 뿐이다. 따라서 대장직장암을 포함한 위장관 계통의 고형암에서 화학요법 또는 방사선요법 등의 효율성을 증가시키기위한 노력이 지속되어 왔으나 특히 대장직장암에서의 화학요법의 치료 효과는 극히 실망스러운 형편이었다<sup>(2)</sup>.

한편 대장암에 대한 많은 연구들에서 여러 면역요법과 화학요법들이 큰 도움이 되지 않는다는 것이 밝혀

Table 3. side-effects, according to ECOG toxicity criteria

Toxicity	Levamisole plus 5-FU (n=18)					5-FU, mitomycin plus cisplatin(n=20)					
	Grade	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Leukopenia		11	7	-	-	-	3	6	9	2	-
Thrombocytopenia		18	-	-	-	-	13	4	3	-	-
Nausea and vomiting	Grade	0	1	2	3		0	1	2	3	
		11	6	1	-		5	9	4	2	

였으며<sup>11</sup> 따라서 최선의 일반적 치료는 외과적 절제뿐이라는 합의가 지속되어 왔다. 그러나 1987년 Windle 등<sup>12)</sup>이 levamisole과 5-FU의 병용 투여가 대장직장암 환자의 생존율을 증가시켰다고 보고한 이래 1987년 North Central Cancer Treatment Group(NCCTG)의 Laurie 등<sup>13)</sup>과 1990년 Moertel 등<sup>14)</sup>은 보조요법이 대장직장암 환자중 특히 Duckes 병기 C에서 재발율을 감소시키고 생존율을 증가시켰다고 보고하였으며 현재 이 방법은 미국립보건연구원에서의 합의에 의한 인정된 치료법이 되었다.

그러나 levamisole을 5-FU와 병용하였을 시 어떠한 기전을 통하여 그 효과를 나타내게 되는지는 알려져 있지 않으며 5-FU 또는 levamisole 단독 투여시의 유의한 항암효과는 현재까지 인정되고 있지 않다.<sup>1,13,14)</sup>

Levamisole은 수술과 항암요법으로 면역 억제된 환자에서 T림파구와 대식세포 기능을 활성화하며 다핵 백혈구와 단핵구의 chemotactic response를 증가시킨다.<sup>13,15,17)</sup>고 하며 실험동물에서 유도된 종양에서 항암효과가 있다는 보고도 있으나<sup>18)</sup>, 최근의 보고에 의하면 동상적인 임상 용량에서 인체대상암 세포주들의 세포독성은 없다고 보고되었다<sup>19)</sup>.

대장직장암 환자의 수술 후 저하되었을 수 있는 세포면역체계에 5-FU, levamisole 단기 병용요법이 어떤 영향을 미치는지를 알아보려고 한 본 실험에서 총 T림파구수와 보조 T림파구수가 현저히 감소하고, 억제 T림파구수는 변화가 없었으며, 자연살해세포의 비도 감소되는 경향을 보여 상기 보조요법의 단기사용시 T림파구수의 증가는 초래하지 않는 것으로 보여지나, 본 연구에 이용된 검체의 수가 매우 작으며, 5-FU만 투여한 대조군을 설정할 수가 없었으며, 또한 암환자에서의 세포성 면역반응이 영양상태등 여러 인자의 영향을 받을 수 있기 때문에 성급한 결론을 내릴 수는 없을 것으로 생각되며 향후 지연형 피부반응검사, 림파구증식 반응등의 기능적 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

한편 1992년 Davies 등<sup>20)</sup>은 levamisole이 간에서의 technetium-99m-sulfur colloid uptake를 현저히 증가시킴을 관찰하여, levamisole에 의한 hepatic RES자극이 간전이를 억제하여 대장암 환자의 생존율을 향상시키는 부분적 원인이 될 수 있음을 제

시하였으나 국소 재발율의 감소에 대해서는 설명할 수 없는 형편이다.

Levamisole은 면역학적인 효과 이외에도 cholinergic property, prostaglandin activity, fumarate reductase inhibitor, alkaline phosphatase inhibitor, tumor glycolysis inhibitor로서의 기능 등 매우 다양한 약리적 특성을 가지고 있기 때문에<sup>16)</sup>,<sup>12,13,15)</sup> 5-FU와 병용 투여시 5-FU의 활성을 증가시킬 가능성도 배제할 수 없으며 이에 대해서도 추후 지속적인 연구가 필요하다고 생각된다.

일반적으로 levamisole의 독성은 매우 경미하여 후각이상, 경미한 오심과 구토, 백혈구 감소증, 관절 및 근육통, 불안 및 정서장애들이 보고 되어 있으나 아주 드물게는 위독한 박달성 피부염, agranulocytosis등도 보고 되어 있는 바 혈액학적 부작용은 매우 드물고 또한 경미하여 투약을 중단후 회복되는 것으로 알려져 있다.<sup>13,14)</sup> 또한 5-FU, levamisole 병합요법의 주된 부작용은 5-FU 단독 투여시와 유사하여<sup>13,14)</sup> 본 연구에서도 대조군에 비해 월등히 적은 혈액학적, 위장관계 부작용을 나타냈으며 특히 항암 치료를 중단할 정도의 혈액학적 부작용이나 기타의 독성 증상은 나타나지 않아 매우 안전한 보조요법임을 알수 있었다.

## 결론

최근 진행된 대장직장암에서 재발을 감소와 생존율 증가를 보인다고 알려진 술 후 5-FU, levamisole 단기 병합요법이 환자의 세포성 면역체에 어떠한 영향을 미치는지를 살펴보고 이 요법의 부작용 및 안전성을 알아보려고 한 연구에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

말초혈액의 T림파구 분석에서 T3와 T4는 술 후 2주째에 비해 3개월간의 보조요법후 매우 유의하게 감소하였다( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ).

T8은 술 후 2주째와 3개월간의 보조요법 후 별다른 차이를 보이지 않았으며 T4/T8 비는 보조요법 후 의미있게 감소하였다( $p < 0.05$ ).

자연살해세포의 비는 보조요법 후에 감소하는 경향이었으나 보조요법 전과 비교할 때 유의한 차이는 없었다.

단기 치료기간중의 부작용은 오심과 구토증이 있었으나 대조군인 복합 화학요법제에 비해 월등히 경미하고 그 빈도가 적었으며 백혈구 감소증도 매우 경미하여 보조요법의 중단을 고려할 정도의 부작용은 발견할 수 없었다.

이상의 결과로 볼때 5-FU, levamisole 단기 요법이 대장직장암 환자의 슬 후 T림파구와 자연살해 세포수의 증가를 초래하지는 않는 것으로 생각되며 이에 대해 기능적 연구등을 통해 이 요법의 작용기전을 밝혀야 될 것이며, 이의 안정성에 대해서는 단기 사용후의 부작용이 극히 경미하여 안전한 보조 요법으로 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

## REFERENCES

- 1) Arnaud JP, Buyse M, Nordlinger B, et al: *Adjuvant therapy of poor prognosis colon cancer with levamisole: results of an EORTC double-blind randomized clinical trial. Br J Surg* 76: 284, 1989
- 2) Buyse, M, Zeleniuch-Jacquotte A, Chalmers TC: *Adjuvant therapy of colorectal cancer: why we still don't know. JAMA* 259: 3571, 1988
- 3) Chirigos MA, Amery Wk: *Combined levamisole therapy: an overview of its protective effects, in immunotherapy of human cancer. p181, Raven, New York, NY, 1978*
- 4) Chretien PB, Catalona WJ, Twomey PL, et al: *Correlation of immune reactivity and clinical status in cancer. Ann Clin Lab Sci: 331, 1974*
- 5) Davies N, Kynaston H, Yates J, et al: *Reticuloendothelial stimulation: levamisole compared. Dis Colon Rectum* 36: 1054, 1993
- 6) Eilber FU, Morton DL: *Impaired immunologic reactivity and recurrence following cancer surgery. Cancer* 25: 362, 1970
- 7) Gilbert JM: *Adjuvant chemotherapy of large bowel cancer. Cancer Treat Rev* 9: 195, 1982
- 8) Golden A, Chirigos MA, Macdonald JS, et al: *Biologic response modifiers and adjuvant chemotherapy. Recent Results Cancer Res* 80: 351, 1982
- 9) Grem JL, Allegra CJ: *Toxicity of levamisole and 5-fluorouracil in human carcinoma cells. J Natl Cancer Inst* 81: 1413, 1989
- 10) Guminska M, Kedryna T, Marchut E: *Effect of levamisole on energy metabolism in Ehrlich ascites tumour cells in vitro. Biochem Pharmacol* 35: 4369, 1986
- 11) Higgins GA: *Current status of adjuvant therapy in the treatment of large bowel cancer. Surg Clin N Am* 63: 137, 1983
- 12) Jansen PA: *The levamisole story. Prod Drug Res* 20: 347, 1976
- 13) Laurie JA, Moertel CG, Fleming TR, et al: *Surgical adjuvant therapy of large bowel carcinoma. N Engl J Med* 322: 352, 1990
- 14) Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, et al: *Levamisole and fluorouracil for surgical adjuvant therapy of colon carcinoma. N Engl J Med* 322: 352, 1990
- 15) Morimoto C, Abe T, Homma M: *Restoration of T-cell function in aged mice with long term administration of levamisole. Clin Immunol Immunopathol* 12: 316, 1979
- 16) Renoux G: *The general immunopharmacology of levamisole. Drugs* 20: 89, 1980
- 17) Tripodi D, Parks SC, Brugmans J: *Drug induced restoration of cutaneous delayed hypersensitivity in anergic patients with cancer. N Engl J Med* 289: 354, 1978
- 18) Windle R, Bell PRF, Shaw D: *Five year results of a randomized trial of adjuvant 5-fluorouracil and levamisole in colorectal cancer. Br J Surg* 74: 569, 1987