방사선의 항암작용에 대한 재조합 TNF-α의 효과

연세대학교 의과대학 치료방사선과학교실*, 한효 과학기술 연구소†

성진실* · 신항철† · 김귀언* · 서창옥*

Potentiation of Antitumor Effect of Radiotherapy by Recombinant Tumor Necrosis Factor-α

Jinsil Seong, M.D.*, Hang Chul Shin, Ph.D. †, Gwi Eon Kim, M.D.*, and Chang Ok Suh, M.D*.

Department of Radiation Oncology, Yonsei University Medical College, Seoul Korea, Hanhyo Institute of Technology†, Taejon, Korea*

Purpose : To determine whether TNF-α increases the antitumor effect of radiotherapy in murine syngeneic tumor system.

Materials and Methods : Syngeneic murine tumors of MCa-K or MCa-4 (mammary carcinoma), OCa-I (ovarian carcinoma), or HCa-I(hepatocarcinoma were grown in hind legs of C3Hf/HeJ mice. When tumors were grown to 6 mm in mean diameter, mice were treated with TNF-α, radiation, or combination of the both. Gamma-radiation was given as a single dose of 30 Gy for HCa-I and 15 Gy for other tumors using Cobalt-60 teletherapy unit. A novel TNF-α mutein developed in Korea, was intraperitoneally administered daily at a dose of 10 μg per mouse for 7 days. In combination of radiation and TNF-α, the drug was started 1 hour after radiation. Tumor growth delay assay was used to measure the tumor response to the treatment.

Results : Among 4 tested tumors, TNF-α alone showed significant antitumor activity in MCa-K and OCa-I tumors, which showed absolute growth delay (AGD) of 5.0 days and 6.5 days, respectively. In combination with radiation, TNF-α showed significant delay of AGD (41.1 days) in OCA-I compared to AGDs of TNF-α alone and radiation, i.e., 6.5 days and 26.9 days, respectively($p<0.05$). Enhancement factor was 1.29 in OCa-I, which showed supraadditive effect. TNF-α did not show significant delay of AGDs in the remaining 3 tumors compared to AGDs of TNF-α alone and radiation.

Conclusions: TNF-α alone showed antitumor effects in MCa-K and OCa-I. In combination with radiation, TNF-α acted in supraadditive way in OCa-I only. The results of this study imply that the combination of TNF-α and radiation has different therapeutic potential depending on tumor model and further study is advocated.

Key Words: TNF-α, Radiotherapy, Murine tumor

본 연구는 1997년도 연세대학교 의과대학 해외연수 교수 연구비 지원에 의해 이루어진 것임.
이 논문은 1998년 4월 10일 접수하여 1998년 7월 29일 채택되었음.
책임 저자 : 성진실, 서울시 서대문구 신촌동 134 연세대학교 의과대학 치료방사선과

서 론

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α)는 세포의 면역 반응 조절 물질로서 in vitro에서 암세포에 대한 직접적인 세포 독성효과와,[1, 2] in vivo에서 항암효과를 보이는 것을 비롯하여[3, 4] 광범위한 생물학적 효과를 지니고 있다. 다른 lymphokine에 의해 유도되는 단핵세포의 세포 독성을 조절하기도 하며,[5, 6] 혈관 내피세포에도 세포 독성을 미친다.[7] 이러한 광범위한 효과는 TNF-α를 다른 항암 치료와 복합하여 사용할 수 있는 충분한 가능성을 제시하고 있다.

항암 약물 또는 방사선과 병용하였을 때, TNF-α의 효과에 대하여 활발한 연구가 진행되어온 바 있다. TNF-α와 항암 약물과의 상호작용은 기왕에 in vitro 및 in vivo에서 다수 보고된 바, Adriamycin, actinomycin-D, bleomycin 등 다수의 약물의 항암효과를 증강시킨다는 것이 밝혀졌다.[8-12]

방사선과 TNF-α를 병용하였을 때 in vitro 배양 세포에 대한 방사선의 치사 효과를 증강시킨다는 것이 널리 보고되었다.[13, 14] 이같은 증강 효과는 세포의 oxidative stress를 중재하는 free radical의 생성이 증가되는 것에 기인한다고 밝혀졌다.[15, 16] in vivo 실험동물에서도 TNF-α를 방사선에 병용하면 종양의 방사선 반응을 증강시켜서 종양 퇴치율을 향상시키는 것으로 보고되었다.[17-19] 최근에는 TNF-α 유전자를 방사선에 의해 유도되는 promotor에 붙여서 이를 암세포에 도입시킨 후 방사선을 조사하여 TNF-α가 분비되게 하는 유전자 치료법도 시도되는 등,[20] TNF-α와 방사선과의 병용 요법은 암 치료에 있어서 새로운 가능성을 시사한다. 그러나 적정 용량이 최대 허용량의 5-25배로서, 이 약제가 지니는 독성으로 인해 임상적 적용이 많은 제한을 받아왔다.

최근 국내에서 개발된 변종 TNF-α는 LD50가 기존 TNF-α에 비하여 10배 이상 높아 세포독성이 매우 낮은 반면에, 항암 효과가 우수한 것으로 보고되었다.[21] TNF-α가 in vitro 및 in vivo에서 방사선과 증강작용이 있음이 밝혀졌음에도 불구하고 임상 적용이 어려웠던 이유가 TNF-α의 독성 때문임을 고려할 때 새로이 개발된 TNF-α의 효능에 대한 평가가 필요하다. TNF-α의 특성상 그 단독 적용보다는 병용하는 것이 더 효과적일 것이라는 점은 이미 기술한 바와 같다. 특히 방사선과 병용하였을 때 이 TNF-α가 증강작용을 보일 것인지 규명하여 향후 임상적 적용을 위한 기초 자료 및 적절한 수행 기술을 확립하고자 본 연구를 수행하였다.

대상 및 방법

1. 실험동물과 종양

C3Hf/HeJ 웅성 마우스를 사용하였다. 마우스는 사육상자당 4-6 마리씩 넣어 사육하였고 주령 10-13 주에 이르러서 실험을 시작하였다. 실험에 사용된 종양은 동종암으로서 마우스 유방암인 MCa-K, MCa- 4, 난소암인 OCa-I, 그리고 간암인 HCa-I 등이다. 이들 암종들은 Milas 등[22]의 방법에 따라 각각, 0.025% trypsin과 DNase 를 사용하여 효소 소화법으로 단일세포 부유액을 만들었다. trypan blue 염색을 하여 활성도가 있는 세포 수만을 산정하여 세포의 농도를 측정한 후 이들 세포액을 마우스의 대퇴부에 각각 $5X10^5$ 개의 세포를 피하 주사하여 종양세포를 이식하였다. 이식된 종양은 주 2-3회 caliper로 크기를 측정하였다. 서로 직각인 세 직경의 평균치가 6 mm에 이를 때 대조군, TNF-α, 방사선, 또는 TNF-α와 방사선의 병용군 등 네가지 실험군을 나누고, 실험군에 따라 적절한 치료를 하였다.

2. 방사선조사

선량율 1.29 Gy/min인 Cobalt-60 방사선 조사기를 이용하였다. 실험 대상 종양 중 HCa-I은 방사선에 극도로 내성이 높은 것으로 알려져,[23] 이종양에는 30 Gy를, 나머지 종양에는 15 Gy를 단일 조사하였다. 마우스를 마취하지 않은 상태로 특수하게 제작된 고정대를 고정하여 종양 부위만 방사선을 조사하였다.

3. TNF-α

TNF-α는 한효 과학기술 연구원 (대전) 에서 공급받아 사용하였으며, 이는 활성도가 $5.62X10^4$ u/mg으로서 vial 당 농도는 1 mg/ml 이다. 사용하기 전, 인산완충 식염수로 희석하여 마우스당 하루 10 μg씩 7일간 연속 주사하였다.

4. 종양성장지연 분석법

종양성장지연 분석법은 종양 성장 지연기간을 측정하여 치료에 대한 종양 반응을 평가하는 방법이다. 종양이 6 mm 직경으로 자라면 각 실험군에 따라 치료를 시행한 후 2-3일 간격으로 종양의 크기를 지속적으로 측정하고 서로 직각인 세개의 직경을 재어 그 평균으로 크기를 산출하였다. 상기한 측정치는 절대 성장지연 (absolute growth delay; AGD) 으로 평가하였다. AGD는 실험군과 대조군간에 종양이 10 mm 직경에 이르기까지의 기간의 차이이다. 어떤 치료법의 효과는

증강 인자 (enhancement factor : EF)로 평가한다. EF는 표준 성장 지연 (normalized growth delay : NGD = 병용 치료군과 TNF-α 단독 치료군간에 종양이 10 mm 직경에 이르기까지 기간의 차) 를 방사선 단독 조사군의 AGD로 나눈 값으로서 치료법의 상승 효과 여부를 나타낸다. 종양 성장의 측정은 방사선 조사 후 종양이 평균 직경 10 mm 이상에 도달할 때까지 시행하였다.

5. 통계 분석

실험적으로 얻은 결과들의 통계적 유의성은 Student t 검정으로 평가하였으며 결과의 차이는 p 값이 0.05 이하일 경우에 통계적으로 유의한 것으로 평가하였다.

결 과

1. TNF-α 투여 방법에 따른 항암효과의 차이

TNF-α 단독의 효과를 약물 투여 방법에 따라 분석하였다. MCa-K는 TNF-α에 민감한 것으로 이미 보고된 바 있는 종양으로서[17, 18] 10 μg의 TNF-α를 MCa-K 종양을 지닌 마우스에 7일간 연속 투여하였다. 복강내 주사, 정맥 주사, 종양내 주사법을 시험 비교하여 종양 성장지연을 측정하였다. Table 1에 보이는 바와 같이 세 실험군의 AGD는 4.8일에서 6.7일까지 나타났고, 종양내 주사법에서 AGD가 가장 높게 나타났으나 통계적 유의성은 없었다 (p>0.05). 따라서 실험의 반복성과 정확성이 높은 복강내 주사법이 선호되어 이 방법으로 TNF-α를 마우스에 투여하였다.

2. TNF-α 단독의 항암 효과

Table 1. Absolute Growth Delay for MCa-K Tumor by Routes of TNF-α Administration

Groups	Absolute growth delay*
Intraperitoneal injection	5.4±1.0
Intravenous injection	4.8±0.5
Intratumoral injection	6.7±0.5

*Absolute growth delay is defined as the time in days for the tumors to reach 10 mm in a treated mouse minus the mean time to reach 10 mm in the untreated control group. It is shown in mean ± SE.

TNF-α 단독의 항암 효과를 네 종류의 마우스 동종암에서 시험하였다. 즉, MCa-K, MCa-4, OCa-I, HCa-I 등 종양을 지닌 마우스에 10 μg의 TNF-α를 7일간 연속 투여하였다. TNF-α 단독치료는 MCa-K와 OCa-I에서 각각 5.0일, 6.5일의 성장지연이 있었으며 이러한 효과는 관찰 기간 동안 대조군에 비하여 유의하게 나타났다 (p<0.05). MCa-4나 HCa- I에서는 성장지연 효과가 관찰 기간 일부에만 국한되었고 그 정도도 1일로서 이들 종양에서는 TNF-α 단독의 항암 효과가 유의하지 않은 것으로 보인다(Fig. 1).

3. TNF-α와 방사선의 상호 작용에 의한 종양 성장 지연

TNF-α가 방사선의 항암 작용을 증강시키는지를 네 종류의 마우스 동종암에서 시험하였다. 즉, MCa- K, MCa-4, OCa-I, HCa-I 등 종양을 지닌 마우스를 대조군, TNF-α 단독 투여군, 방사선 단독 투여군, TNF-α 및 방사선의 병용투여군 등 네 가지 실험군으로 나누어 진행하였다. 각 실험군은 8-10 마리의 마우스로 이루어졌다. 방사선에 대한 내성이 높은 것으로 알려진 HCa-I은 30 Gy, 그 이외의 종양은 15 Gy의 감마선을 코발트 원격치료기로 (dose rate : 129.8 cGy/min) 조사하였고 TNF-α와 방사선 병용시 TNF-α의 투여는 방사선조사 1시간 후에 시행되었다.

각 종양의 실험군에 따른 종양성장지연 결과가 Fig. 1에 나타나 있으며 이들의 결과가 Table 2에 요약되어 있다. OCa-I에서는 AGD가 TNF-α 단독의 6.5일, 방사선의 26.9일에 비하여 TNF-α와 방사선 병용시 41.1일로 의의있게 증가하였다 (p<0.05). EF는 1이상으로서 (EF : 1.29) TNF-α와 방사선 병용시 증강효과가 있는 것으로 나타났다. 나머지 세 종양에서는 TNF-α 단독 및 방사선 단독에 비하여 TNF-α와 방사선 병용시 AGD의 유의한 증가는 관찰되지 않았다. 이들 종양에서는 EF가 MCa-K의 0.94, MCa-4의 0.98, HCa-I의 0.93 등으로서 증강 작용은 관찰되지 않았다. 본 연구에서 OCa-I은 TNF-α 단독에 가장 민감한 종양으로 나타났으며, TNF-α와 방사선 병용에도 의의있는 증강효과를 보이는 것으로 나타났다.

고 찰

본 연구결과는 마우스 동종암에서 TNF-α와 방사선의 상호작용이 단순부가효과 또는 증강효과 등 다양하게 나타남을 보여주었다. 증강효과는 연구대상 종양 4종 중 1종에서만 나타났으며, 나머지 종양에서는 단순

Table 2. Summary of Tumor Growth Delay by Treatment Groups in Tested Tumors

Tumors	Groups	Time to 10 mm*	AGD†	NGD‡	EF§
MCa-K					
	control	6.9±0.5			
	TNF-α	11.9±1.2	5.0		
	15 Gy	22.4±2.1	15.5		
	TNF-α+15 Gy	26.5±1.1	19.6	14.6	0.94
MCa-4					
	control	11.5±1.1			
	TNF-α	12.5±2.2	1.0		
	15 Gy	30.6±2.7	19.1		
	TNF-α+15 Gy	31.2±1.1	19.7	18.7	0.98
OCa-I					
	control	13.1±0.4			
	TNF-α	19.6±1.4	6.5		
	15 Gy	40.0±4.7	26.9		
	TNF-α+15 Gy	54.2±7.5	41.1	34.6	1.29
HCa-I					
	control	5.5±0.4			
	TNF-α	6.5±0.3	1.0		
	30 Gy	23.6±3.0	18.1		
	TNF-α+30 Gy	23.4±3.5	17.9	16.9	0.93

*mean±SE in days.
†Absolute growth delay is defined as the time in days for the tumors to reach 10 mm in a treated mouse minus the mean time to reach 10 mm in the untreated control group.
‡Normalized growth delay is defined as the time in days for tumors to reach 10 mm in mouse trerated by the combination treatment minus the time in days to reach 10 mm in mouse treated by TNF-α only.
§Enhancement factor is obtained by dividing NGD by AGD.

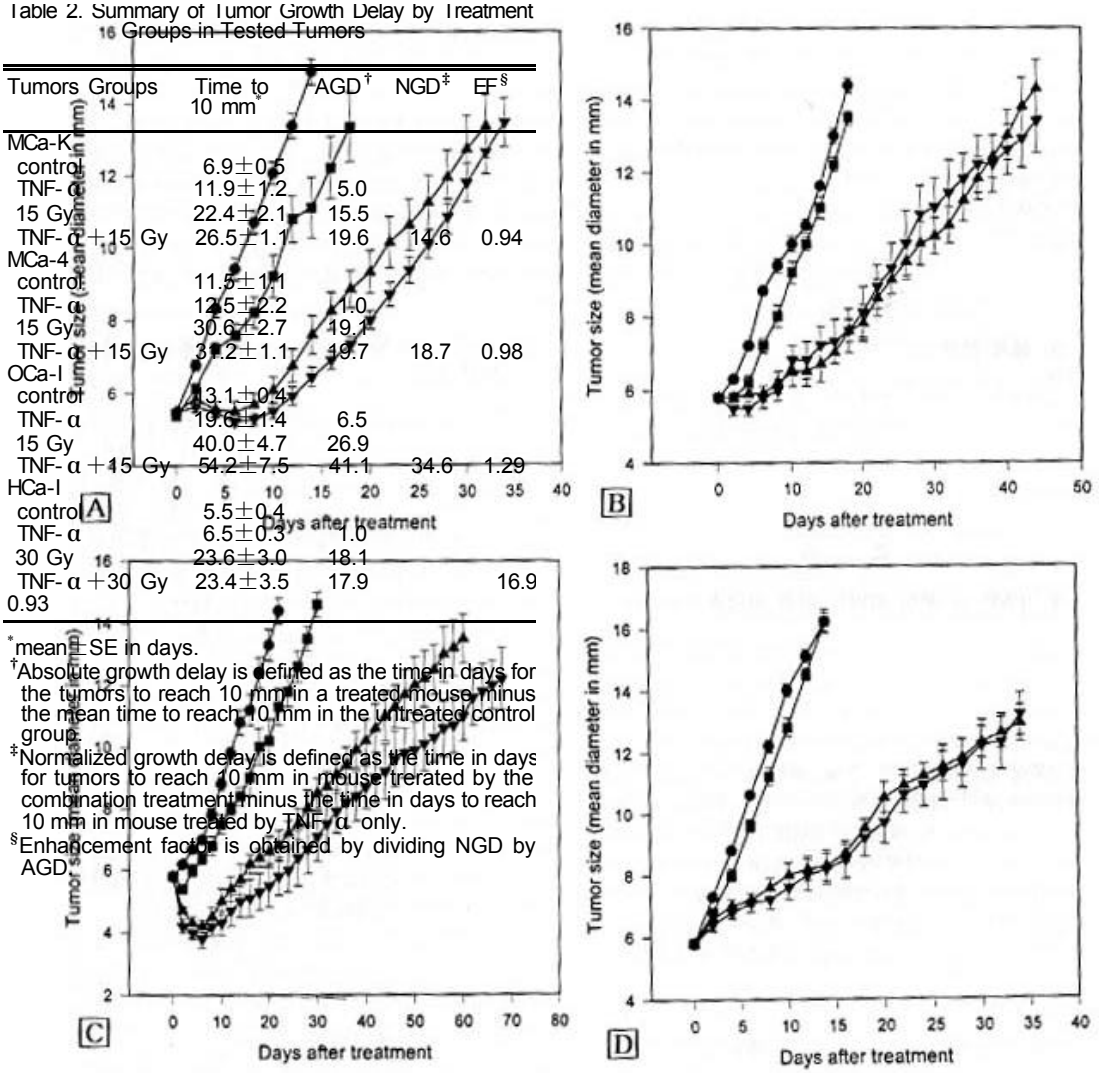

Fig. 1. Tumor growth delay by TNF-α alone or interaction of TNF-α and radiation in (A) MCa-K, (B) MCa-4, (C) OCa-I, (D) HCa-I. Tumor bearing mice were treated in one of 4 treatment groups; control ( ); TNF-α (■); radiation (▲); TNF-α + radiation (▼). Each group consisted of 8-10 mice. TNF-α was injected 10 μg per mouse for 7 consecutive days. When TNF-α was combined with radiation, TNF-α was followed by 1 h. Vertical bars are standard errors of mean.

부가효과가 있는 것으로 나타났다.

본 연구에 사용된 TNF-α는 최근 국내에서 개발된 일련의 변종 TNF-α들 중의 하나인 M3S TNF-α이다. 이 약제는 L929 섬유육종 세포주에서 시험한 in vitro 세포 독성 검사에서 specific activity 는 기존 TNF-α의 100분의 1로 낮으며, D-galactosamine-sensitized ICR 마우스에서 시험한 LD50는 기존 TNF-α에 비하여 60배 이상 높아 세포 독성이 매우 낮다.[21)]

반면에, BALB/c 마우스의 Meth-A fibrosarcoma 및 MH134 hepatoma에서 하루 10 μg씩 연속 5일간의 주사로 기존의 TNF-α의 몇 배에 달하는 항암 효과를 보였다.[21] 즉, in vitro에서 세포 독성은 낮았으나 in vivo에서 기존의 약제보다 매우 높은 항암 효과를 보인다는 것은 본 연구에서 사용된 TNF-α가 작용 기전에 있어서 면역 기전을 통하거나[5, 6] 종양의 미세혈관계에 영향을 끼치는 등[7] 간접적인 작용면에서 더 유리한 약제일 것을 암시하며 이는 향후 임상적 응용 가능성을 평가함에 있어서 큰 장점으로 부각된다. 이 TNF-α 단독의 항암 효과는 본 연구 대상인 네 종의 종양에서 다양한 수준으로 나타났다. MCa-K 및 OCa-I에서는 각각 5.0일, 6.5일의 성장지연이 대조군에 비하여 유의하게 나타난 반면 (p<0.05), MCa- 4나 HCa-I에서는 유의한 정도의 성장지연 효과가 관찰되지 않았다. 즉 종양의 종류에 따라 TNF-α의 효과가 다르므로 향후 TNF-α에 대한 연구 및 치료적 적용에 있어서 유의해야할 점으로 보이며 이러한 차이가 어디에서 비롯되는지에 대하여서는 후속 연구가 더 진행되어야 할 것이다. 그러나 Sersa 등[17], Nichiguchi 등[18]의 결과와 비교해볼 때, 본 연구에서 사용된 TNF-α가 MCa-K 및 OCa-I에서 보인 항암 효과는 기존의 약제와 동등 또는 더 우수한 항암 효과를 나타내는 것으로 평가된다.

TNF-α와 방사선의 상호작용은 in vitro 연구결과에서 매우 고무적인 결과를 보인 바 있다.[13, 14] 그러나 본 연구에서 보이듯이 in vivo에서는 실험대상 종양 중에서, 기대하는 증강효과는 한 종양에 제한되고 있다. 본 연구에서 OCa-I은 TNF-α 단독에 가장 민감한 종양으로 나타났으며, TNF-α와 방사선 병용에도 증강효과를 보이는 것으로 나타났다. 반면, 방사선에 대한 민감도가 유사한 두 종양 (MCa-K 및 MCa- 4) 이 TNF-α 단독 치료에 대하여 AGD가 각각, 5일, 1일로서 결과의 차이를 보였다. 또한 방사선에 대한 내성이 매우 높은 HCa-I 종양이나, 방사선에 대하여 비교적 민감한 것으로 알려진 MCa-K 및 MCa-4 종양들 모두 TNF-α와 방사선 병용에 대해서는 증강작용이 나타나지 않았다. 즉 본 연구에서는 방사선에 대한 민감도와 TNF-α에 대한 민감도는 연관성이 없는 것으로 보였다. 이와 같이 TNF-α에 대한 종양의 반응이 다양성을 보이는 것의 이유는 아직 정확히 밝혀지지 않았다. 그러나 이 약제의 작용기전 자체가 직접적[1, 2] 또는 간접적으로 다양하므로 복합적인 원인이 관계될 것으로 쉽게 추측할 수 있다. 간접적 작용으로서는 면역 기전을 통하거나[5, 6] 종양의 미세혈관계에 영향을 끼쳐서[7] 종양 성장에 영향을 주는 것으로 보고된 바 있다. 최근 들어서 TNF-α가 in vitro 및 in vivo에서 암세포의 apoptosis를 유도한다는 보고가 있었다.[24, 25] 그러나 본 연구자가 마우스 동종암 MCa-K에 같은 약제로 실험한 결과에서는 TNF-α를 1회 또는 7일간 연속 7회 투여하여도 apoptosis가 유도되지 않았다.[26] TNF-α의 항암효과와 apoptosis의 관련성은 특히 in vivo에서 아직 더 연구되어야 할 것으로 보인다.

결 론

TNF-α의 임상적 응용이 유전자 치료 등 새로운 치료법의 한 요소로서 관심을 모으는 시점에 in vivo에서 방사선과의 상호작용에 대한 정확한 평가가 절실해지고 있다. 본 연구는 국내에서 개발된 약제인 재조합 TNF-α를 in vivo 마우스 종양에 시험하였으며, TNF-α는 마우스 동종암 중 일부 종양 (MCa-K 및 OCa-I)에서 항암 효과를 보였다. 방사선과 병용한 경우에도 일부 종양에서만 (OCa-I) 방사선의 항암 효과를 증강시키는 것으로 나타났다. 이같이 종양에 따라 방사선과 TNF-α의 병용치료 효과의 정도가 다르다는 점은 향후 임상적 적용에 대비한 유용한 기초자료로 쓰일 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. **Old LJ.** Tumor necorsis factor. Science 1985; 230: 630-634
2. **Sugarman BJ, Aggarwal BB, Haas PE, et al.** Recpmbinant human tumor necrosis factor-α : effects on proliferation of normal and transformed cells in vitro. Science 1985; 230:943-945
3. **Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, et al.** An endotoxin induced serum factor that causes necrosis of tumors. Proc Natl Acad Sci USA 1975; 72: 3666-3670
4. **Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, et al.** Human tumor necrosis factor : precursor structure, expression and homology to lynphotoxin. Nature (Lond) 1985; 312:724-729
5. **Urban JL, Shepard HM, Rothstein JL, et al.** Tumor necorsis factor : a potent effecter molecule for tumor cell killing by activated macrophages. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83:5233-5237
6. **Feinman R, Henriksen-DeStefano D, Tsujimoto M, et al.** Tumor necrosis factor is an important mediator of tumor cell killing by human monocytes. J Immunol 1987; 138:635-640
7. **Sato N, Goto T, Haranaka K, et al.** Action of tumor necrosis factor on cultured vascular endothelial cells : morphologic modualtion, growth inhibition, and

cytotoxicity. J Natl Cancer Inst 1985; 76:1113- 1121

8. **Darzynkiewicz Z, Williamson B, Carswell EA, et al.** Cell cycle-specific effects of tumor necrosis factor. Cancer Res 1984; 44:83-90
9. **Khan A, Pichyankul S.** Potentiation of antitumor effect of lymphotoxin by antitumor drugs and elevated temperature. Proc Am Assoc Cancer Res 1985; 26:304
10. **Alexander RB, Nelson WG, Coffey DS.** Synergistic enhancement by tumor necrosis factor of in vitro cytotoxicity from chemotherapeutic durgs targeted at DNA topoisomerase ll. Cancer Res 1987; 47:2403-2406
11. **Alexander RB, Isaacs JT, Coffey DS.** Tumor necrosis factor enhances the in vitro and in vivo efficacy of chemotherapeutic drugs targeted at DNA topoisomerase ll in the treatment of murine bladder cancer. J Urol 1987; 138:427-429
12. **Bowman RV, Whitaker D, Manning LS, et al.** Interaction between dactinomycin and tumor necrosis factor in mesothelioma. Cancer 1991; 67: 2495- 2500
13. **Hallahan DE, Spriggs DR, Beckett MA, et al.** Increased tumor necrosis factor mRNA following ionizing radiation exposure. Proc Natl Acad Sci USA 1989;86: 10104-10107
14. **Manneta A, Lucci J, Soopikian J, et al.** In vitro cytotoxicity of human recombinant tumor necrosis factor α in association with radiotherapy in a human ovarian cancer cell line. Gynecol Oncol 1990; 38:200-202
15. **Yamauchi N, Karizana H, Watanabe H, et al.** Intracellular hydroxy1 radical production induced by recombinant human tumor necrosis factor. Cancer Res 1989;49: 1671-1675
16. **Zimmerman RJ, Chan A, Leadon SA.** Oxidative damage in murine tumor cells treated in vitro by human TNF. Cancer Res 1989; 49:1644-1648
17. **Sersa G, Willinghanm V, Milas L.** Antitumor effects of tumor necrosis factor alone combined with radiotherapy. Int J Cancer 1988; 42:129-134
18. **Nishiguchi I, Willingham V, Milas L.** Tumor necrosis factor as an adjunct to fractionated radiotherapy in the treatment of murine tumors. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1990; 18:555-558
19. **Huang P, Allam A, Perez L, et al.** The effect of combining recombinant human tumor necrosis factor-alpha with local radiation on tumor control probability of a human glioblastoma multiforme xenograft in nude mice. Int J Rediat Oncol Biol Phys 1995; 32:93-98
20. **Weichselbaum RR, Hallahan DE, Beckett MA, et al.** Gene therapy targeted by radiation preferentially radiosensitizes tumor cells. Cancer Res 1994; 54:4266-4269
21. **Shin N, Lee I, Jang S, et al.** Development of novel human tumor necrosis factor-alpha muteins. Proc BPERC Int Symp 1994;43-50
22. **Milas L, Hunter NR, Mason KA, et al.** Immunological resistance to pulmonary metastases in C3Hf/Bu mice bearing syngeneic fibrosarcoma of different sizes. Cancer Res 1974; 34:61-71
23. **Meyn RE., Stephens LC, Ang KK, et al.** Heterogeneity in the development of apoptosis in irradiated murine tumors of different histologies. Int J Radiat Biol 1993; 64;583-591

24. Elias E, Moore PB, Rose SM. Tumor necrosis factor induced DNA fragmentation of HL-60. Biochem Biophys Res Commun 1988;157;963-969

25. Isogai E, Isogai H, Kimura K et al. In vivo induction of apoptosis and immune response in mice by administration of lipopolysaccharide from Porphyromonas gingivalis. Infect Immun 1996; 64: 1461-1466

26. Seong JS, Milross CG, Hunter NR, et al. Potentiation of antitumor efficacy of paclitaxel by recombinant tumor necrosis factor-α. Anti-Cancer Drugs 1997; 8:80-87

= 국문 초록 =

방사선의 항암작용에 대한 재조합 TNF-α의 효과

연세대학교 의과대학 치료방사선과학교실*, 한효 과학기술 연구소†

성진실* · 신항철† · 김귀언* · 서창옥*

목 적 : 마우스 동종암에 TNF-α와 방사선을 병용하여 방사선의 항암 효과가 TNF-α에 의하여 증강될 수 있는지 연구하고자 하였다.

대상 및 방법 : C3Hf/HeJ 마우스에 유방암인 MCa-K, MCa-4, 난소암인 OCa-I, 그리고 간암인 HCa-I 등 종양을 이식하였다. 종양의 크기가 6 mm에 이를 때 TNF-α, 방사선, 또는 병용군 등 실험군을 나누어 적절한 치료를 하였다. 방사선조사는 Cobalt-60 방사선 조사기를 이용하여 HCa-I 에는 30 Gy를, 나머지 종양에는 15 Gy를 단일 조사하였다. TNF-α는 실험실 마우스당 하루 10 μg씩 7일간 연속 주사하였다. 치료 결과는 종양성장지연 분석법으로 평가하였다.

결 과 : TNF-α 단독 투여시 네가지 종양 중 MCa-K 및 OCa-I 종양에서 absolute growth delay (AGD)가 각각 5.0일, 6.5일로 유의한 항암 효과가 있었다. TNF-α와 방사선을 병용한 경우 OCa-I에서는 AGD가 TNF-α 단독의 6.5일, 방사선의 26.9일에 비하여 TNF-α와 방사선 병용시 41.1일로 의의있게 증가하였다 (p<0.05). EF는 1이상으로서 (EF: 1.29) TNF-α와 방사선 병용시 증강효과가 있는 것으로 나타났다. 나머지 세 종양에서는 TNF-α 단독 및 방사선 단독에 비하여 TNF-α와 방사선 병용시 AGD의 유의한 증가는 관찰되지 않았다.

결 론 : TNF-α는 마우스 동종암 중 일부 종양 (MCa-K 및 OCa-I)에서 항암 효과를 보였다. 방사선과 병용한 경우에도 일부 종양에서만 (OCa-I) 방사선의 항암 효과를 증강시키는 것으로 나타났다. 이같이 종양에 따라 방사선과 TNF-α의 병용치료 효과의 정도가 다르다는 점은 향 후 임상적 적용에 대비한 유용한 기초자료로 쓰일 것으로 기대된다.