

## 암과 면역

고신대학교 의학부 이비인후과학교실

이 감 대

Cancer and Immune

Kang Dae Lee, M.D.

Department of Otolaryngology, Kosin Medical College, Pusan, Korea

### 1. 서 론

암연구의 큰 목표중의 하나는 정상세포와 암세포와의 차이점을 찾아서 암세포만 선택적으로 제거하는 치료 방법을 개발하여 환자의 부담을 최소화하면서 성공적으로 암을 치료하는 데 있다. 현재까지 암치료는 수술, 방사선 치료, 항암제 요법 등이 그 주류를 이루어 왔으며, 많은 치료자의 노력에도 불구하고 치료 성적의 개선과 치료후의 환자의 삶의 질은 기대에 부응하지 못하는 실정이다. Forastiere의 보고에 의하면 두경부암 환자를 수술과 방사선 치료를 1차치료로 한 경우에 있어서 최근 수십년간의 환자의 생존율을 조사한 바에 의하면 과거나 현재나 큰 차이가 없다고 한다. 국소재발 혹은 국소적으로는 암이 성공적으로 제거되더라도 원격전이나 중복암의 발생이 그 이유가 될 것이다. 따라서 두경부암을 치료하는 데에는 multidisciplinary treatment가 필요하며 또 생존율을 향상시키고 보다 나은 삶의 질을 누리기 위해서는 기존의 치료법 이외에 새로운 암치료법의 개발이 끊임없이 요구되는 것은 당연한 일이라 하겠다.

이와 같은 새로운 암치료 연구분야 중의 하

나인 암 면역 연구는 암치료에 많은 기대를 모아 왔고, 실제 임상에서 환자에게 적용되어 왔으나, 이 또한 큰 효과를 거두지 못하고 있다. 그 이유 중의 하나로, 암특이항원이 발견되지 않은 상황에서 단순히 환자의 면역능을 상승시켜 주는 비특이적인 면역요법만으로는 인체내의 암세포를 제거하기는 어려웠을 것으로 생각된다. 그러므로 암특이항원(tumor specific antigen, TSA)을 발견해내는 것은 많은 암연구자의 최대의 목표 중의 하나였다.

최근 MAGE(melanoma antigen) gene을 중심으로한 암특이항원의 발견 그리고 분자생물학의 발전으로 암면역치료의 새로운 전개가 기대되어 암면역의 기초지식과 최근의 동향에 대해 기술하고자 한다.

### 2. 면역계의 특성

일반적으로 면역계는 외적으로부터 개체를 지키는 생체방어기구로 이해되고 있다. 그 기전은 생체기능계 중 뇌에 필적할 정도로 복잡하고 정교하며, 특이성(specificity), 기억(memory), 다양성(diversity), 자기와 비자기(dis-

KEY WORDS : Tumor Antigen · MAGE gene · Tumor Specific Immunotherapy

crimination of self from nonself)의 구별 등의 특성을 가지고 있다. immune이란 말은 munitas(과역)에서 어원을 찾을 수 있는데 역을 면한다는 의미에서 immune이란 말이 나오게 되었다. 이와같은 면역계의 특성은 다음과 같은 예로써 쉽게 이해할 수 있다.

역사에 기록되어지는 최초의 면역학적 사건은 전쟁에서 찾아 볼 수 있다. BC 409년에 카르타고는 그리이스를 침범하여 3년간 전쟁을 치르면서 그리이스를 거의 점령하다시피 하였는데 그때 마침 페스트가 유행하게 되어 양측 병사중 많은 수가 페스트로 인해 사망하고 카르타고는 점령지로 부터 철수 할 수밖에 없었다. 기회를 노리던 카르타고는 8년뒤에 다시 그리이스를 침범하였는데 이때 카르타고는 젊고 튼튼한 신병을 중심으로 군대를 만들었고, 여력이 없었던 그리이스는 과거 페스트가 유행하던 때에 살아남았던 군사들을 중심으로 군대를 만들 수 밖에 없었다. 싸움의 결과는 당연히 카르타고의 우세로 진행되었고 그리이스가 거의 점령되려는 결정적인 순간에 다시 페스트가 유행하게 되었다. 신병을 모집한 카르타고는 많은 수가 병사하였지만 그리이스 군사는 페스트를 이겨내었고 카르타고는 대패하여 물러났다. 이것은 물론 페스트에 대한 면역의 덕분에 그리이스가 승리할 수 있었으며 역사에 기록된 최초의 면역학적 사건이다.

이와같은 면역계의 특성을 살펴보면 앞서의 역사적인 사건에서 볼 수 있듯이 페스트라는 특징의 질환에 대한 특이성을 가지고 있고 또 그것을 8년간이나 기억을 하고 있으며 여러가지 바이러스나 항원에 대해 대응할 수 있는 다양성(diversity)을 가지고 있다. 또 하나의 특징 중의 하나는 자기(self)와 비자기(non-self)를 구분하여 비자기를 제거하려는 강력한 힘을 가지고 있다. 암면역치료에서는 면역계의 이와같은 비자기를 제거하려는 성질을 이용하려는 것으로 중앙항원을 면역계가 비자기로 인식한다는 대견제하에서 연구되어져 왔다.

그러면 자기와 비자기를 규정하는 실체는 무엇일까? 이것을 구명하는 철학적인 실험을

간단히 소개하면 Le Douarin과 Kinutani는 병아리와 메추리의 수정란을 이용하여 chimera 새를 만들었다. 그 방법은 비슷한 발생 초기 단계에 있는 병아리의 뇌의 원기에 메추리의 뇌와 뇌주위의 피부부속기관을 형성하는 원기를 이식하였고 그 결과(그림 1)에서 보는 바와 같은 병아리가 탄생하였다. 즉, 몸은 병아리이지만 뇌와 머리 주위의 피부부속기는 메추리의 것을 가진 chimera 새가 만들어진 것이다. 그런데 흥미로운 것은 이 chimera 새의 울음소리로서 성문은 보통의 병아리와 같아 울음소리는 병아리의 것이지만 울음의 형태는 메추리의 것이라는 점이다. 즉 병아리의 행동을 지배하는 자기는 메추리의 뇌였던 것이다. 그러나 이 병아리는 심수일이 경과하면서 사망하게 되는데 그 이유는 병아리의 면역계가 뇌를 제거하기 때문이다. 이 실험의 결론은 정신과 행동을 지배하는 자기는 뇌이지만 신체 자체의 자기를 규정하는 것은 면역계임을 밝혀주는 흥미로운 실험이다.

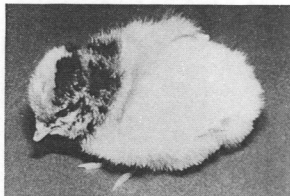


Fig. 1. 머리부분에 검은 털을 가진 메추리와 병아리의 chimera새

이와같은 자기와 비자기의 구별이 가능한 것은 흉선내에서 일어나는 '자기와 비자기의 교육'이 있기 때문이다. 골수에서 만들어진 미성숙한 T 세포는 흉선으로 이동하여 성숙한 림프구가 된다. 그런데 T 세포가 성숙되는 과정에서 T 세포 중 피질상피세포에 표현되어 있는 자신의 MHC(major histocompatibility

complex)와 친화력이 있는 세포만 살아남는 positive selection과 자기항원에 대하여 친화력이 높은 TCR(T cell receptor)을 가진 T 세포는 죽게되는 negative selection이라는 두단계의 선택과정을 거치게 된다. 즉 미래에 자기를 공격할 가능성이 있는 것은 죽음의 시그널이 프로그래밍되어 있어 세포사에 이른다. 흉선내의 림프구 가운데 95% 이상이 흉선내에서 사멸하고 남은 극히 일부의 세포만이 말초 림프장치로 이행한다. 이러한 선택은 자기와 비자기를 구분해 내기 위함일 것이다.

### 3. 암면역의 성립

이와같은 비자기를 제거하려고 하는 면역계의 특성을 암치료에 응용하고자 많은 연구가 진행되어 왔다. 그러나 암세포도 생체내에서 자라는 것이기 때문에 암면역의 성립에 대한 의문이 생기게 된다. 이러한 의문점에 대해서는 1950년대에 이미 순종 마우스를 이용한 실험으로 고찰되었다. 즉 마우스의 피부에 methylcholanthrene(MCA)을 바른 후에 육종(sarcoma)을 유도시킨 다음 육종을 떼어 다른 동일계의 마우스에게 이식하면 이식된 육종은 자라서 이 마우스를 죽게 한다. 그러나 육종을 유발시킨 원래의 마우스에게 다시 육종을 이식시키면 암이 자라지 않는 것을 볼 수 있었고 이것은 세포독성 T 림프구에 의한 종양 거부반응에 의한 것이다. 그리고 이에 대한 보완적인 실험으로 종양세포를 방사선 처리하여 마우스에게 주사하여 면역시킨 후 같은 종양을 이식한 경우에 있어서도 종양세포가 자라지 않음을 보았다. 즉 화학적으로 유도된 암세포에 대해서는 생체내에서 암면역이 성립함을 실험적으로 증명한 것이다(그림 2).

1970년대 중반에 Hewitt은 화학적으로 유도된 암이외의 생체내에서 자연 발생적으로 생긴 암에 대한 종양퇴축항원(tumor rejectin antigen)을 찾으려고 하였다. 많은 실험에도 불구하고 결론은 생체내에서 자연 발생적으로 발

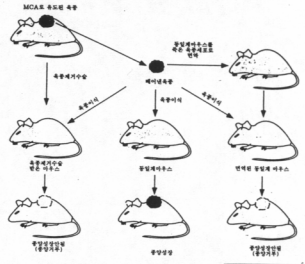


Fig. 2. 화학물질 Methylcholanthrene에 의해 유발된 육종을 이용한 암면역 성립에 관한 실험

생한 암에서는 암면역이 성립하지 않는다고 발표하여 암면역연구자에게 많은 실망과 함께 연구 방향의 전환을 유도하기도 하였지만 이후의 분자생물학, 분자면역학, 세포생물학등의 눈부신 발전에 의해 이것은 다시 역전되기 시작하였다.

### 4. 종양항원

일반적으로 종양은 악성형질전환(malignant transformation)이라고 불리우는 정의가 불확실한 과정을 거친 한개 혹은 소수의 정상 세포로부터 기원한다. 종양 세포는 정상세포에서는 전혀 발현되지 않는 혹은 극소량으로 존재하는 단백질을 발현할 수 있으며 이러한 단백질들은 종양 발달 이전에는 자체 조직에서는 발현되지 않든지 혹은 면역학적 반응을 유도할 수 없는 매우 저농도에서 발현되기 때문에 종양숙주에 대해서는 이물로 보여질 수 있다. 그러므로 이러한 종양항원(tumor antigen)이라고 불리우는 단백질들은 그들을 발현하는 종양 세포에 대한 특정한 면역 반응을 자극할 수 있다. 실제로 여러 가지 임상적, 실험적 관측 결과는 암세포가 숙주의 면역 반응을 자극할

수 있음을 암시한다. 만약, 종양 세포가 숙주에서 항원처럼 작용하는 분자를 발현할 수 있다면, 그와 같은 비정상적인 세포들은 면역 체계에 의해 인식되고 파괴되어 종양 세포를 제거하는 것이 가능해질 것이다.

화학적으로 유도된 설치류 종양에서의 종양 항원의 존재는 오래전부터 기술되어 왔지만 그 분자적 성질에 대해서는 알려져 있지 않다. 많은 기간 동안 이들 항원에 특정한 monoclonal antibody로 찾아내려고 노력하여 왔지만 이러한 접근은 성과를 올리지 못하였는데 그 이유는 종양항원은 T 세포에 의해 인식 되어지며 MHC 분자의 구(cleft)에 결합된 펩타이드의 형태로 발현되기 때문이었다. MHC clefts내의 펩타이드는 일반적으로 항체를 유도해내지 못한다.

## 5. 항원의 제시

MHC의 3차원 구조의 해석의 경과중에 항원이라고 생각되는 물질이 MHC의 구의 가운데에 존재하는 것이 알려졌다(그림 3). 구의 크기로부터 보면 항원은 10~20개의 아미노산으로 되는 펩타이드이어야 한다. 따라서 단백질 항원이 항원제시세포의 내부에 분해되어 10~20개의 아미노산으로 되는 펩타이드로 된 후 (processing), MHC의 구에 들어가서 세포표면에 출현한다고 생각된다. 실제로 항원제시세포에 단백질항원을 추가하여 3시간 이내에 항원제시세포를 글루타르 알데하이드로 고정하면 T 세포에 항원을 제시 못하지만, 3시간 이상이지나 항원제시세포를 글루타르 알데하이드로 고정한 경우는 T 세포에 항원을 제시할 수 있다. 이것은 3시간 동안에 단백질항원이 항원제시세포의 내부에서 processing되어 펩타이드가 되고, MHC구에 들어가서 세포표면에 나와 T 세포에 제시되는 것이라고 생각할 수 있다.

면역계의 본래의 역할은 자신의 입장에서 보아 나쁜 것은 배제하려는 것으로 class-I 분자가 활동하는 때는 세포 그 자체에 이물이

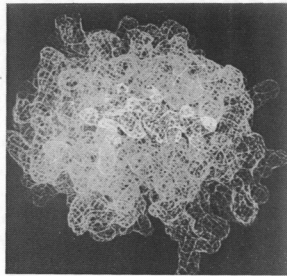


Fig. 3. MHC class I 분자와 구(cleft)에 결합된 항원 펩타이드의 모양

있을 경우이며, MHC class-II 분자가 작용하는 때는 세포의 주위의 이물을 처리하는 경우이다. 실제 MHC class-I 분자에 의해 제시되는 것은 바이러스 등의 세포내에서 만들어진 항원(내인성 항원)이고, MHC class-II 분자에 의해 제시되는 것은 탐식에 의해 세포 밖에서 들어온 항원(외인성 항원)이다. 이와 같이 항원의 종류에 의해 MHC class I, II 분자의 역할이 분담되어 있다.

항원의 세포내에서의 processing에는 2가지의 경로가 있다. 내인성 항원은 세포질에서 효소분해를 받은 후 수용단백에 의해 내형질세망(endoplasmic reticulum, ER)으로 이동되고, 그곳에서 MHC class-I 분자와 결합하고 다음으로 세포표면에 이동된다(endogenous pathway). 이것에 대하여 외인성 항원은 endocytosis에 의한 endosome 내에서 효소분해를 받아 그 장소에서 MHC class-II 분자와 결합하고 세포표면에 제시된다(exogenous pathway).

이 두가지 경로 중 암면역과 관련된 것은 내인성항원의 경로 즉 종양항원과 같은 내인성 항원은 MHC class-I 분자와 결합되어 제시되는데 간략히 기술하면 다음과 같다. 종양항원 분자는 세포질 내에 존재하며 MHC class-I 분자와 결합하기 위해서는 수개에서 수십개의

아미노산으로 구성된 펩타이드이어야 하기 때문에 단백질은 세포질내의 proteasome에 의해 적당한 크기로 절단된다. Falk 등은 influenza로 감염시킨 여러종류의 MHC class-I haplotype의 세포의 MHC class-I 분자를 면역침강시켜 모으고, 이것이 결합하고 있는 항원 펩타이드를 분리하여 해석하였다. 그랬더니 흥미롭게도 펩타이드는 모두 9개 잔류의 아미노산으로 되어 있음을 알았다. 또 같은 MHC class-I 분자로부터 분리한 펩타이드에서는 특징의 아미노산이 특징의 위치에서 존재하는 것을 밝혔고, 각각의 MHC class-I 분자 대립유전자 산물에 특이적인 motif가 존재하는 것도 밝혔다. 요약하면 세포질내에서 종양항원과 같은 내인성 단백질은 proteasome효소들에 의해 9개 잔류의 아미노산 염기의 펩타이드로 분해되고, 이 펩타이드는 내형질세망 표면의 펩타이드 운반체(transport in antigen processing: TAP)에 의해 내형질세망으로 운반되어 MHC class-I 분자와 결합된 후 Golgi를 통과하여 세포막으로 이동되어 T세포에 항원을 제시하게 된다(그림 4).

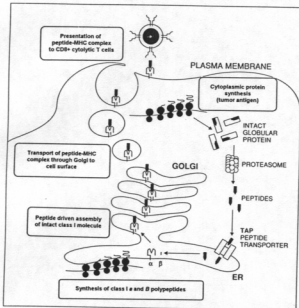


Fig. 4. 내인성 항원(종양항원, 바이러스 항원 등)에 대한 class I MHC restricted presentation의 경로

## 6. 세포독성림프구에 의한 종양항원 인식

B세포와 T세포가 항원을 인식하는 방법은 서로 다르다. B 세포가 인식하는 항원결정인자는 입체 구조 즉 conformational determinant이지만 T 세포가 인지하는 항원결정인자는 일차 아미노산 구조에 의한 linear determinant이다. 그러므로 단백질 원형으로 면역시킨 후 변형된 단백질로 이차면역을 시키면 항체생성 이차면역반응은 생기지 않으나 T세포는 변형된 단백질은 물론 효소처리하여 얻은 펩타이드에 대해서도 이차면역반응을 한다.

면역계가 종양세포를 인식과 제거에는 세포독성 림프구(cytotoxic T lymphocyte, CTL)이 가장 중요한 역할을 할 것으로 알려져 있다. CTL이 종양세포를 인식하는데에는 먼저 종양세포의 MHC class I 분자와 종양세포 내부에서 만들어진 종양항원을 processing한 펩타이드의 동시 인식이 필요하다. 즉 종양항원이 세포 내부에 많이 존재하더라도 MHC class I 분자와 결합을 하지 못하면 CTL은 종양세포를 인식하지 못한다는 것이다. 그리고 CTL이 종양세포를 인식한다고 하더라도 CD4+ Helper T 세포로부터의 IL-2등의 cytokine의 도움이 있어야 활성화되고 증식되어 효과적으로 종양세포를 제거할 수 있다(그림 5).

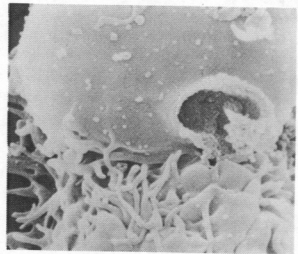


Fig. 5. 세포독성림프구에 의해 인식되고 파괴되어 구멍난 종양세포

이와같은 CTL의 in vitro에서의 유도는 MLTC 즉 mixed lymphocyte tumor cell culture의 방법으로 유도가 가능하다(그림 6). 즉 환자의 말초혈액으로부터 림프구를 분리하여 두고 또 한편으로는 환자의 종양을 제거하여 종양세포를 single suspension으로 만든 후 IL-2등과 함께 혼합배양을 한다. 만약 종양세포에 종양항원이 존재한다면 이 혼합 배양된 림프구로부터 종양항원을 인식하는 CTL의 유도가 가능하다. 이러한 방법은 면역치료에도 응용되고 있다.

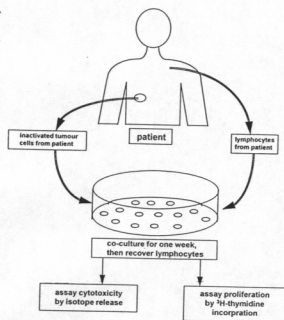


Fig. 6. Mixed Lymphocyte Tumor cell Culture의 기본 모델

## 7. MAGE gene을 중심으로한 암면역치료의 최근의 동향

이상에서 종양면역학의 일반적인 사항에 대해 간략히 기술하였다. 지금부터는 MAGE gene에 대해 서술하고자 한다. 암면역 치료에는 종양특이항원의 발견과 종양항원의 펩타이드와 잘 결합할 수 있는 HLA class I allele (인간의 MHC를 HLA: human leukocyte antigen 이라고 한다)와의 조합을 찾는 것이 중요

하다. 최근까지 CTL에 의해 인식되어지는 종양항원을 code하는 gene으로는 tyrosinase, Melan-A, gp 75, gp 100, Muc-1 등이 알려져 있으나 이들 gene은 흑색종, 췌장암 등과 같은 암조직에서 뿐만 아니라 정상세포에서도 광범위하게 발현되기 때문에 보다 종양에 특이한 항원을 찾는 데에 많은 연구가 집중되었다.

그러던 중 1991년 Belgium의 Ludwig cancer institute의 T. Boon group은 흑색종 세포주로부터 종양항원을 찾아내었고 나아가서 이 종양항원을 code하는 gene을 gene cloning technique을 사용하여 찾아내는데 성공하였으며, 이것을 melanoma antigen gene 줄여서 MAGE gene이라고 명명하였다. 이 MAGE gene은 CTL에 의해 인식되어지는 종양항원을 code하고 최초로 발견된 gene을 MAGE-1 gene이라고 불렀다. 그 이후의 연구에서 MAGE gene은 현재까지 약 12개 이상의 gene family로 구성되어 있는 것으로 밝혀졌다.

암세포도 인체내에서 발생하는 것이기에 CTL에 의해 비자기로 인식되기 위해서는 종양항원을 code하는 gene의 점돌연변이(point mutation)등이 필요할 것으로 일반적으로 생각되어진다. 그러나 MAGE gene의 경우는 정상세포의 DNA상에도 존재하나 정상세포 내에서는 mRNA로 전사(transcription)되지 않는 silent gene으로 생각되어지며 암으로 형질 전환(malignant transformation) 되었을 때만 비로소 전사되어 발현됨으로써 CTL에 의해 인식되는 것으로 생각되어진다. 즉 MAGE gene 이 발현되는 과정을 요약하면 먼저 정상세포가 암세포로 바뀌면 silent MAGE gene이 mRNA로 전사되고 이것은 리보솜으로 가서 단백질로 되어 MAGE gene 산물을 만들게 된다. 한편 HLA class I 분자도 세포질내에서 만들어져서 내형질세망에서 MAGE gene의 항원 펩타이드와 결합하여 세포표면으로 이동하여 CTL에 의해 인식되어진다. 그런데 앞서와 마찬가지로 HLA class I 분자의 binding pocket에 맞는 항원 펩타이드만 종양항원을 제시할 수 있다.

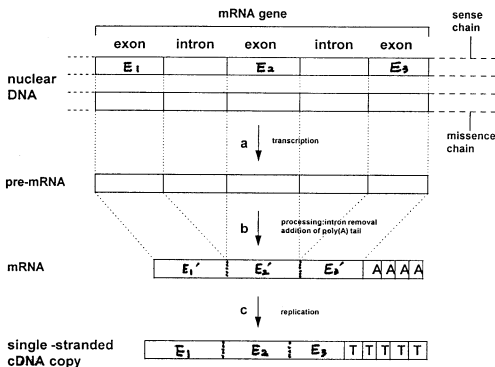


Fig. 7. cDNA 가 만들어지는 과정

MAGE gene은 흑색종 이외에도 편평상피암, 선암, 육종 등 여러 종류의 암에서도 발견되어 종양공통항원(tumor common antigen)으로 생각되어지며 현재까지 정소(testis)와 태반(placenta) 이외에는 발현이 없어 암특이면역치료(cancer specific immunotherapy)의 potential target으로 주목받고 있다.

저자는 두경부암에서의 MAGE gene을 이용한 암특이면역치료의 가능성을 알아 보고자 MAGE gene을 mRNA level에서 발현을 관찰하였다. 방법은 신선한 종양표본을 homogenize시킨 후 total RNA를 분리하고 이것을 역전사(reverse transcription, RT) 시켜서 cDNA를 만든다. cDNA는 complementary DNA의 약자이다. genomic DNA는 유전정보를 가지고 있는 exon과 그 사이에 유전정보가 없는 intron으로 구성되어지는데 mRNA로 전사시 splicing되면서 intron은 모두 제거되어지고 exon만으로 구성된 mRNA가 만들어진다. 이때 이들 mRNA를 역으로 전사시키면 원래의 genomic DNA에서 유전정보가 없는 intron은 빠지고 유전정보를 가진 exon만으로 구성된 DNA

가 만들어지게 되는데 이를 cDNA라고 한다(그림 7). 이 cDNA에 MAGE gene의 primer를 사용하여 PCR(polymerase chain reaction)을 하고 그 산물을 전기영동(electrophoresis)하였고 신뢰도를 높이기 위하여 MAGE gene에 특이적인 sequence specific oligonucleotide (SSO) probe를 사용한 Southern blot analysis로 확인하였다(그림 8, 9).

두경부의 편평상피암, 비편평상피암, 림프종, 양성종양을 포함한 양성질환 그리고 정상조직에서의 MAGE gene의 발현을 관찰한 결과 두경부 편평상피암에서는 MAGE-1, 2, 3 gene의 발현은 각각 32%, 40%, 44% 이었고, 이 중 한가지 이상의 MAGE gene의 발현을 보인 편평상피암은 75%이었다. 그리고 비편평상피암에서의 MAGE-1, 2, 3, 4, 6 gene의 발현을 관찰하였으며 각각 25%, 41%, 33%, 8%, 33% 이었고 이중 한가지 이상의 MAGE gene을 발현한 경우가 75%이었다. 그러나 양성종양과 정상조직에서는 발현이 없어서 두경부암은 MAGE gene을 이용한 암특이면역요법이 가능함을 알 수 있었다(표 1, 2).

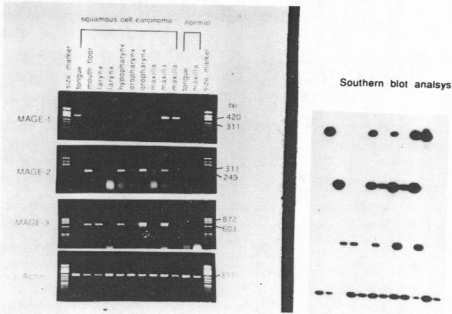


Fig. 8. 두경부 편평상피암에 있어서 MAGE gene의 발현의 Gel electrophoresis 및 Southern blot analysis 조건

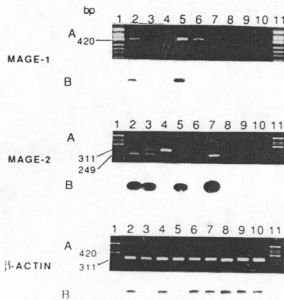


Fig. 9. 두경부 비편평상피암에서의 MAGE gene의 발현의 Gel electrophoresis 및 Southern blot analysis 조건

앞서 여러번 기술되었듯이 종양항원이 종양 세포 표면으로 표현되기 위해서는 HLA class I 분자와 결합하여야 하기 때문에 면역치료를 확대 적용시키기 위해서는 항원 펩타이드와 이

것을 CTL에 제시하여 주는 HLA class I 분자와의 관계를 밝혀내는 것이 매우 중요하며 여기에 많은 연구가 진행되고 있다.

현재까지 MAGE gene family 중 MAGE



Table 1. Expression of MAGE-1, 2, 3 genes by head and neck squamous cell carcinoma

sites	genes	MAGE-1	MAGE-2	MAGE-3
Oropharynx		4/11(36%)	5/11(45%)	5/11(45%)
Hypopharynx		5/12(42%)	7/12(58%)	7/12(58%)
Larynx		3/16(19%)	7/16(44%)	6/16(38%)
Maxillary sinus		14/29(48%)	11/29(38%)	13/29(45%)
Tongue and oral cavity		2/20(10%)	5/20(25%)	8/20(40%)
Total		28/88(32%)	35/88(40%)	39/88(44%)

Table 2. Expression of MAGE-1, 2, 3, 4, 6 genes by head and neck non-squamous cell carcinoma lesions

	MAGE-1	MAGE-2	MAGE-3	MAGE-4	MAGE-6
NSCC*	25 % (3/12)	41.6% (5/12)	33.3% (4/12)	8.3% (1/12)	33.3% (4/12)
Lymphoma	14.3% (1/7)	28.6% (2/7)	0	0	0
Dysplasia	0	100 % (1/1)	100 % (1/1)	100 % (1/1)	100 % (1/1)
Benign tumor	0	0	0	0	0
Benign lesion**	0	0	0	0	0

\* NSCC(non-squamous cell carcinoma) express at least one MAGE gene in 75% (9/12)

\*\* nontumorous benign lesions

Table 3. Relevance between MAGE antigen peptide and HLA-class I

tumor antigen	encoding gene	expression in tumor	identified Ag peptide	HLA type (incidence)
MZ2-E	MAGE-1	40% : Melanoma	EADPTGHSY	HLA-A1(26%)
		35% : NSCC of lung	SAYGEPRKL	HLA-Cw*1601(7%)
MZ2-D	MAGE-3	65% : Melanoma	EVDPIGHLY	HLA-A1(26%)
		48% : SCC, H & N	FLWGPRLAV	HLA-A2(49%)
		34% : breast Ca		
		30% : Lung Ca		
		22% : sarcoma		

antigen peptide와 HLA class I 분자와의 상호 관계에 가장 잘 알려진 것으로는 MAGE-1과 MAGE-3 gene 이다(표 3).

MAGE-1 gene의 경우는 흑색종의 약 40%에서 발현되고 있으며 약 310개의 MAGE protein 중 EADPTGHSY라고 하는 9개의 아미노산 배열이 HLA A1과 결합되어 CTL에 의해 인식 되어진다. 그리고 백인 중에는 이 HLA A1을 가진 사람은 26%이므로 백인의 흑색종 환자10명 중 1명이 MAGE-1 gene을 이용한

암면역치료가 가능하다고 하겠다. 또 MAGE-1 gene 중 SAYGEPRKL은 HLA cw 1601에 결합 가능하므로 MAGE-1을 이용한 면역치료를 받을 수 있는 대상자 수는 더 늘어날 수 있을 것이다.

Boon group은 MAGE-3 gene은 흑색종의 65%, 두경부암의 48%에서 발현이 있음을 보고 하였다. MAGE-3 gene의 단백질 중 FLWGPRLAV라는 아미노산이 HLA A2와 결합이 가능하며 HLA A2는 백인 중 약 49%에서 가지고

있다. 그러면 백인 두경부암 환자 10명중 5명 이고 이중 HLA A2를 가질 확률은 49%이므로 2.5명에서 MAGE-3 gene을 이용한 면역치료가 가능하다고 할 수 있다. 한국인에서도 HLA A2의 빈도가 높으므로 펩타이드 FLWGPRILAV는 MAGE-3 gene이 양성으로 발현되는 환자에서 암면역치료가 가능하다고 생각된다.

즉, MAGE-1 gene을 이용한 면역치료의 경우는 우선 환자가 HLA A1을 가지고 있는지를 HLA typing하여 조사하고 HLA A1을 가지고 있음을 확인한다. 그리고 암조직을 일부 채취하여 RT-PCR(reverse transcription-polymerase chain reaction)로 MAGE-1 gene의 발현을 보아서 양성으로 발현이 되면 MAGE-1 gene을 이용한 면역치료로 CTL을 유도하여 전이암들을 제거할 수 있다는 가설을 세울 수가 있다(그림 10).

이와같은 MAGE gene을 이용한 암면역치료의 방법으로는 여러 가지를 고려할 수 있겠는데 MAGE gene을 양성으로 발현하는 종양세포를 항암제 혹은 방사선을 조사하여 종양세포를 죽인 후 환자에게로 주사하는 방법(그림 11)과 MLTC(mixed lymphocyte-tumor cell culture)로 CTL을 in vitro에서 유도하여 체내에 다시 넣어주는 adoptive immunotherapy, MAGE antigen을 adjuvant와 같이 투여하는

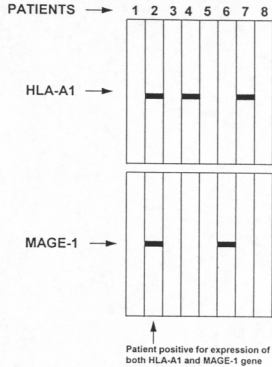


Fig. 10. MAGE gene을 이용한 암면역치료 대상자의 검색 방법. RT-PCR로써 MAGE gene의 발현 여부를 알아 보고, 동시에 HLA typing으로 대상자를 선택할 수 있다.

vaccination, 그리고 MAGE gene을 이용한 gene therapy등이 고려되고 있다. 그리고 MAGE gene을 이용한 vaccination등과 같은

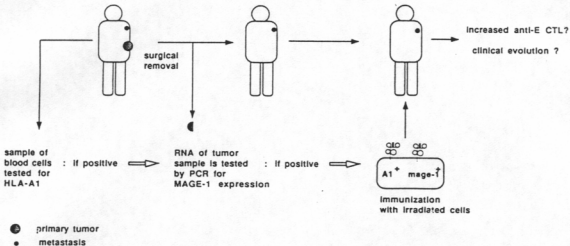


Fig. 11. MAGE gene을 이용한 암면역치료의 한 방법의 예시

면역치료를 하였을 경우 이에 대한 평가 즉, CTL이 유도되었는지의 여부는 치료전 CTL precursor와 치료후 말초혈액에서의 CTL precursor를 비교함으로써 알 수 있는데 치료후 증가되어 있으면 반응이 있다고 보고 2차 면역을 하면 될 것으로 생각된다.

최근 Boon 등은 진행된 흑색종 환자의 중 MAGE-3 gene이 양성으로 발현되고 또 HLA class A1인 환자 12례를 대상으로 9개의 아미노산으로 구성된 MAGE-3 합성 펩타이드(EV-DPIGHLY)만으로 한달에 1회 피하주사를 3회 시도하는 protocol을 작성하였다. 대상례 중 6례는 vaccine 치료를 다 받지 못하고 중간에서 탈락하였고 끝까지 치료가 마무리된 6례중 3례에서 부분관해를 얻어 MAGE gene을 이용한 암특이면역치료가 실제로 가능성을 보고하였다.

요약하면 MAGE gene을 이용한 면역치료의 대상자를 찾는 방법은 RT-PCR과 HLA typing으로 가능하여 비교적 간단하고 또 임상적으로 적용이 쉬워 암치료의 한 방법으로 기대가 된다. 앞으로의 과제는 이와 같은 면역치료의 대상을 넓히는 방법을 개발하는 것인데 우선 새로운 항원 펩타이드와 HLA class I 분자와의 결합이 가능한 조합을 많이 발견해야 할 것이다. 특히 한국인의 HLA class I 분자의 type은 HLA A2, HLA A24가 가장 많으므로 이들 HLA class I 분자와 결합하는 항원 펩타이드의 발견이 한국인의 암면역치료를 매우 중요할 것이고 앞으로 풀어야 할 숙제이기도 하다.

## 8. 결 론

두경부암의 치료에 있어 수술과 방사선조사를 중심으로한 치료 방법은 많은 환자의 생명을 구하는데 크게 기여하여 왔으나, 동시에 환자의 삶의 질의 향상이란 측면에서는 개선해야 할 점도 많다. 그러므로 기존의 치료법 이외의 보다 나은 생존률과 삶의 질을 추구할 수 있는 새로운 치료법이 요구되는 것은 당연한

일이라 하겠다. 기초과학의 연구 결과를 적절하게 응용하여 암치료를 적용시키는 것은 그러한 요구사항에 부응하는 한 방법이 될 수 있을 것이다.

저자는 최근의 암면역 분야의 동향과 MAGE gene을 중심으로한 암면역치료의 가능성에 대해 알아 보았다. 향후 보다 손쉽게 암치료를 적용할 수 있고 또 환자의 부담도 적은 치료 방법이 만들어지기를 기대해 본다.

## Reference

- 1) 김세종 : 면역학, 제1판. 고려의학, pp 290~300, 1994
- 2) Abbas AK Lichtman AH, Pober JS : Immunity to tumor. In Cellular and molecular immunology, 2nd Ed. pp 356~375, 1994
- 3) Amar CA, Godelaine D, Stockert E, et al : The tumor protein MAGE-1 is located in the cytosol of human melanoma cells. Biochem-Biophys-Res-Commun 204 (2) : 710~715, 1994
- 4) Brasseur F, Marchand M, Vanwijck R, et al : Human gene MAGE-1, which codes for a tumor-rejection antigen, is expressed by some breast tumors [letter]. Int-J-Cancer 52(5) : 839~841, 1992
- 5) Becker JC, Gillitzer R, Brocker EB : A member of the melanoma antigen-encoding gene(MAGE) family is expressed in human skin during wound healing. Int-J-Cancer 58(3) : 346~348, 1994
- 6) Boon T : Teaching the immune system to fight cancer. Sci Am 268 : 82~89, 1993
- 7) Boon T, Cerottini JC, Van den Eynde B, et al : Tumor antigens recognized by T lymphocytes. Annu-Rev-Immunol 12 : 337~365, 1994

- 8) Boon T, Coulie P, Marchand M, et al : Genes coding for tumor rejection antigens : perspectives for specific immunotherapy. *Important-Adv-Oncol* : 53~69, 1994
- 9) Boon T : Tumor antigens recognized by cytolytic T lymphocytes : present perspectives for specific immunotherapy. *Int-J-Cancer* 54(2) : 177~180, 1993
- 10) Chambost H, Brasseur F, Coulie P, et al : A tumour-associated antigen expression in human haematological malignancies. *Br-J-Haematol* 84(3) : 524~526, 1993
- 11) Celis E, Tsai V, Crimi C, et al : Induction of anti-tumor cytotoxic T lymphocytes in normal mans using primary cultures and synthetic peptide epitopes. *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A* 91(6) : 2105~2109, 1994
- 12) Chen Q, Smith M, Nguyen T, et al : T cell recognition of melanoma antigens in association with HLA-A1 on allogeneic melanoma cells. *Cancer-Immunol-Immunother* 38(6) : 385~393, 1994
- 13) Chen YT, Stockert E, Chen Y, et al : Identification of the MAGE-1 gene product by monoclonal and polyclonal antibodies *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A* 91(3) : 1004~1008, 1994
- 14) Coulie P, Weynants P, Muller C, et al : Genes coding for antigens recognized on human tumors by autologous cytolytic T lymphocytes. *Ann-N-Y-Acad-Sci* 690 : 113~119, 1993
- 15) Coulie PG, Weynants P, Lehmann F, et al : Genes coding for tumor antigens recognized by human cytolytic T lymphocytes. *J-Immunother* 14(2) : 104~109, 1994
- 16) Coulie PG, Van Pel A : Defined antigens recognized by T lymphocytes on human tumors. *Curr-Opin-Oncol* 5(6) : 1043~1048, 1994
- 17) De Plaen E, Arden K, Traversari C, et al : Structure, chromosomal localization, and expression of 12 genes of the MAGE family. *Immunogenetics* 40(5) : 360~369, 1994
- 18) De Smet C, Lurquin C, van der Bruggen P, et al : Sequence and expression pattern of the human MAGE2 gene. *Immunogenetics* 39(2) : 121~129, 1994
- 19) Ding M, Beck RJ, Keller CJ, et al : Cloning and analysis of MAGE-1-related genes. *Biochem-Biophys-Res-Commun* 202(1) : 549~555, 1994
- 20) Eura M, Ogi K, Chikamatsu K et al : Expression of the MAGE gene family in human head-and-neck squamous-cell carcinoma *Int. J. Cancer* 64 : 304~308, 1995
- 21) Gaugler B, Van den Eynde B, Van der Bruggen P, et al : Human gene MAGE-3 codes for an antigen recognized on a melanoma by autologous cytolytic T lymphocytes. *J-Exp-Med* 179(3) : 921~930, 1994
- 22) Lee KD, Eura M, Ogi K et al : Expression of MAGE-1,-2,-3,-4,-6 genes1 in nonsquamous cell carcinoma lesions of the head and neck. *Acta otolaryngologica* 1996, in press.
- 23) Le Douarin NM : Chimeras of the spinal cord between quail and chicken. A new experimental model for studying demyelinating disease. *Pathol Biol(Paris)* 35 : 325~331, 1987
- 24) Marchand M, Brasseur F, Van der Bruggen P, et al : Perspectives for immunization of HLA-A1 patients carrying a malignant melanoma expressing gene

- MAGE-1. *Dermatology* 186(4) : 278~280
- 25) Marchand M, Weynants P, Rankin E et al : Tumor regression responses in melanoma patients treated with a peptide encoded by gene MAGE-3. *Int. J of Cancer* 1996, in press
- 26) Miller AR, McBride WH, Dubinett SM, et al : Transduction of human melanoma cell lines with the human interleukin-7 gene using retroviral-mediated gene transfer : comparison of immunologic properties with interleukin-2. *Blood* 82(12) : 3686~3694, 1993
- 27) Nijman HW, Van der Burg SH, Vierboom MP, et al : p53, a potential target for tumor-directed T cells. *Immunol-Lett* 40(2) : 171~178, 1994
- 28) Oaks MK, Hanson JP Jr, O'Malley DP : Molecular cytogenetic mapping of the human melanoma antigen(MAGE) gene family to chromosome region Xq27-qter : implications for MAGE immunotherapy. *Cancer-Res* 54(7) : 1627~1629, 1994
- 29) Rimoldi D, Romero P, Carrel S : The human melanoma antigen-encoding gene, MAGE-1, is expressed by other tumour cells of neuroectodermal origin such as glioblastomas and neuroblastomas [letter]. *Int-J-Cancer* 54(3) : 527~528, 1993
- 30) Salgaller ML, Weber JS, Koenig S, et al : Generation of specific anti-melanoma reactivity by stimulation of human tumor-infiltrating lymphocytes with MAGE-1 synthetic peptide. *Cancer-Immunol-Immunother* 39(2) : 105~116, 1994
- 31) Schultz TE, Juretic A, Dellabona P, et al : MAGE-1 gene product is a cytoplasmic protein. *Int-J-Cancer* 59(3) : 435~439, 1994
- 32) Traversari C, Van der Bruggen P, Luescher IF, et al : A nonapeptide encoded by human gene MAGE-1 is recognized on HLA-A1 by cytolytic T lymphocytes directed against tumor antigen MZ2-E. *J-Exp-Med* 176(5) : 1453~1457, 1992
- 33) Van der BP, Szikora JP, Boel P, et al : Autologous cytolytic T lymphocytes recognize a MAGE-1 nonapeptide on melanomas expressing HLA-Cw\*1601. *Eur-J-Immunol* 24(9) : 2134~2140, 1994
- 34) Van der BP, Traversari C, Chomez P, et al : A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 254(5038) : 1643~1647, 1992
- 35) Wang MG, Zakut R, Yi H, et al : Localization of the MAGE1 gene encoding a human melanoma antigen to chromosome Xq28. *Cytogenet-Cell-Genet* 67(2) : 116~119, 1994
- 36) Weber J, Salgaller M, Samid D, et al : Expression of the MAGE-1 tumor antigen is up-regulated by the demethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine. *Cancer-Res* 54(7) : 1766~1771, 1994
- 37) Weynants P, Lethe B, Brasseur F, et al : Expression of mage genes by non-small-cell lung carcinomas. *Int-J-Cancer* 56(6) : 826~829, 1994
- 38) Zakut R, Topalian SL, Kawakami Y, et al : Differential expression of MAGE-1, -2, and -3 messenger RNA in transformed and normal human cell lines. *Cancer-Res* 53(1) : 5~8, 1993