

종양괴사인자(Tumor Necrosis Factor- α)의 항암효과

단국대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실
정필상·정필섭

Antitumor effect of Tumor Necrosis Factor- α

Phil-Sang Chung, M.D., Pil-Seob Jeong, M.D.
Department of Otolaryngology-Head & Neck Surgery,
Dankook University, College of Medicine

서 론

악성종양 환자에서 세균에 의한 심한 감염증을 앓고 나서 종양의 크기가 줄어들거나 혹은 종양이 없어지는 현상은 18세기 말에 이미 알려져 있었다. 1893년에 William Coley⁹⁾가 악성종양환자에게 연쇄상구균(streptococcus pyogenes)의 내독소인 erysipelas toxin을 주사하였을 때 주사부위에서 종양의 출혈성괴사가 일어나는 것을 관찰하였다. Coley's toxin이라고 알려진 세균 내독소에 의한 이러한 현상은 "내독소에 의한 출혈성 종양괴사(endotoxin-induced hemorrhagic tumor necrosis)"라고 종양생물학에 알려졌다.

1975년 Carswell 등⁸⁾은 BCG, Corynebacteria, Zymosan 등으로 감염시킨 쥐에 Escherichia coli의 내독소를 주사하여 이식한 Meth-A 섬유육종에서 출혈성괴사가 일어나는 것을 관찰하였고, 이러한 현상을 일으키는 물질은 내독소 자체가 아닌 다른 혈청요소임을 확인하고, 혈청요소를 분리하여 이를 종양괴사인자(Tumor Necrosis Factor, TNF)라고 명명하였다. Carswell 등의 실험에서 내독소와 BCG 각

각에 의해서는 종양의 출혈성괴사 현상이 나타나지 않았지만 두가지를 같이 사용했을 때 종양괴사인자가 BCG에 의해 자극되어 증가된 대식세포(macrophage)로부터 생성되어 분비되는 것으로 확인되었다.

종양괴사인자는 종양세포를 죽일 수 있는 면역학적인 매개체이며 독성이 강력하고 급성 및 만성염증의 치사 매개체(lethal mediator)로 알려져 있으며, 종양세포에 대해 세포막에 있는 수용체를 통한 직접적인 효과와 면역체계 증강에 따른 간접적인 효과를 통해 세포독성 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.

저자들은 현재 항암제로 사용하기 위하여 연구가 활발히 진행중인 종양괴사인자의 구조, 합성, 생체내 작용, 항암효과 등에 대해 소개하고자 한다.

종양괴사인자의 구조

종양괴사인자는 분자량이 52kDa의 단백질이며 17.3kDa인 단위분자 세개가 결합되어 삼합체구조(trimeric structure)로 이루어져 있다^{4,10)}

KEY WORDS : TNF- α · Cytokine · Antitumor effect

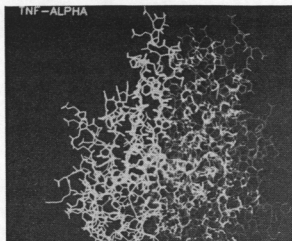


Fig. 1. Trimeric structure of TNF- α

(Fig. 1). 이 구조내에서 각각의 157개의 아미노산 단량체(monomer)는 자체적으로 접혀져서 β -pleated sheet를 형성한다. 3개의 인접한 sheet 사이의 상호작용은 삼합체 구조를 안정화 시킨다. 각 단량체의 N-말단은 표면에 노출되어 있고, C-말단은 β -pleated sheet의 복합체 내로 접혀있어서 노출되어 있지 않다. 삼합체 구조를 불안정하게 하는 변이는 생물학적인 활성성을 상실하게 한다. N-말단이 누락된 변종 종양괴사인자의 생체활성을 보유하고, 종양괴사인자의 N-말단은 종양괴사인자 수용체 결합에 필요하지 않다.

종양괴사인자의 생합성

종양괴사인자의 생합성(biosynthesis)은 잘 조절된 molecular event로서, promoter는 전사 부위(transcription site)로부터 20 bp upstream에서 발견되는 TATA box이고, 조절작용을 하는 다른 서열에는 nuclear factor κ -B enhancer, Y-box promoter, cyclic AMP-responsive element, c-jun/AP-1 binding site와 유사한 서열들이 있다¹⁰. 종양괴사인자의 분비를 촉진하는 물질인 세균의 lipopolysaccharide (LPS)로 대식세포를 자극하면, 전사속도가 3배정도 증가한다.

종양괴사인자 유전자 생성물(gene product)은 부분적으로 종양괴사인자와 다른 cytokine에 대한 mRNA의 3' untranslated region에 존재하는 conserved consensus octamer를 통해 후전사 수준(post-transcriptional level)에서 조절된다. 종양괴사인자 mRNA의 안정성은 분리된 분해경로에 의해 조절되는데, actinomycin D에 대한 민감성으로 구분한다¹⁰. 조직배양과 체내(in vivo system)에서 일시적으로 일어나는 분비된 종양괴사인자의 방출은 한정되어 LPS를 정맥으로 주입한 후 2시간 이내에 종양괴사인자 수치는 최고가 된 후, 4시간 이내에 측정할 수 없을 정도의 기 준치로 감소한다.

종양괴사인자의 생합성은 PGE₂, cAMP, protein kinase C의 activator, dexamethasone, pentoxifylline, glucocorticoid, 그리고 cyclosporin A 등과 같은 인자들에 의해 억제되며, Interferon- γ 는 glucocorticoid에 의한 종양괴사인자의 생성억제 작용을 막을 수 있고, LPS에 대한 반응으로 생성된 종양괴사인자의 양을 상향조절한다²⁰.

대식세포가 종양괴사인자 생성에 주로 관여하는 것으로 알려져 왔으나, 그 외에도 다른 많은 세포들이 종양괴사인자를 분비해낼 수 있다. 이들 세포에는 임파구, 비만세포, 호염기구, 호산구, NK 세포, B 세포, T 세포, 성상세포(astrocyte), Kupffer 세포, 각질세포 등이 있고, 또한 대장, 유방, 뇌에 생긴 암세포에서도 종양괴사인자의 생성이 확인되었다⁶.

종양괴사인자 수용체

인간 종양괴사인자 수용체에는 두가지 형태가 존재하며, 이들은 크기와 결합 친화력이 다르고, 적혈구를 제외한 모든 세포에 존재한다. 이들 수용체는 각각 55~60kDa과 75~80kDa의 분자량을 가진 종양괴사인자 p55와 p75 수용체이며; 해리상수(dissociation constants, Kd)는 각각 $2 \sim 5 \times 10^{-10}$ 과 $3 \sim 7 \times 10^{-11}$ 이다. 결합 친화력은 수용체와 ligand가 유래된 종

(species)에 의존하여 인간 종양괴사인자는 인체내의 두가지 수용체에 모두 결합하지만, 쥐에서는 쥐 종양괴사인자 p55 수용체에만 결합하여 종양세포에서 세포독성의 활성성을 조절할 수 있고²⁸⁾, 쥐 종양괴사인자 p75 수용체는 쥐 종양괴사인자에 의한 매우 증강된 전신독성에 관여한다. 그러나 쥐 뿐만 아니라 인간 세포주에 대하여 쥐 및 인간 종양괴사인자의 세포독성에 대한 종(species)의 특이성은 없다²⁹⁾. 인간과 쥐 종양괴사인자는 거의 동일하게 2가지 종류의 인간 종양괴사인자 수용체에 잘 결합한다. 인간 종양괴사인자는 인간 종양괴사인자-p75 수용체에 5배정도의 친화력을 가진다²⁹⁾. 이들 수용체는 intracellular region, transmembrane segment, 그리고 종양괴사인자 결합 단백질에 상응하는 extracellular domain으로 구성되어 있다.

종양괴사인자 억제작용을 갖는 수용체 펩타이드 분절(fragments)을 종양괴사인자-결합 단백질(TNF- α BP1, and TNF- α BP2)이라고 부르며, 이들 종양괴사인자-결합 단백질은 종양괴사인자 수용체의 단백질 분해과정의 결과로 생긴 분해산물로 밝혀졌다. 종양괴사인자 결합 단백질의 기능은 종양괴사인자 결합에 유용한 양에 의존하여, 적은 양의 종양괴사인자 결합 단백질은 종양괴사인자의 활동을 안정시키고 점진적인 방출을 위한 적절한 종양괴사인자의 reservoir를 제공하는³⁰⁾ 반면, 많은 양의 종양괴사인자 결합 단백질은 종양괴사인자의 효과를 길항(antagonize)시키고 세포독성, 면역반응, 그리고 기관독성(organ toxicity)을 방지하는 역할을 한다.

최근의 연구에 의하면 두가지 종양괴사인자 수용체의 생물학적인 기능에 차이가 있다는 것이 제시되고 있다. 종양괴사인자 p55 수용체의 기능은 세포독성^{26,27,28)}과 LPS toxicity에 주로 관여하는 것처럼 보이며, 종양괴사인자 p75 수용체는 세포독성에 관여하는 것 같다²⁸⁾.

종양괴사인자 수용체는 종양괴사인자, 다른 cytokine, LPS, 발열, 그리고 종양과 HIV 감염 등이 내재된 전신질환등의 자극에 의해 파괴될

수 있다³⁰⁾.

종양괴사인자의 생물학적인 효과

종양괴사인자는 염증과 미생물, 기생충, 또는 종양에 의한 손상 및 침범에 대한 포유숙주의 반응의 중요한 매개체이다. 그러나 종양괴사인자의 생물학적 역할과 기전은 아직도 명확히 밝혀져 있지 않다. 종양괴사인자의 생물학적인 효과를 살펴보면 다음과 같다.

1. 혈관내피세포와 응고

종양괴사인자는 혈관내피세포에서 조직인자의 발현(expression)을 증가시키고 항응고제인 protein C에 대한 보조인자 활동도(cofactor activity)를 억제시킴으로서 procoagulant activity를 가진다⁶⁾. 또한 종양괴사인자는 단백질 합성에 의존하는 기전에 의하여 혈관내피세포를 활성화하여 Interleukin-1을 방출한다. 종양괴사인자에 의해 유발되는 혈관내피세포인자들에는 major histocompatibility complex antigen HLA-A, B와 혈관내피세포 표면에 백혈구와 혈소판의 부착에 관여하는 활성항원등이 있다.

분비된 종양괴사인자와 다른 cytokine은 actin filaments의 재배열(rearrangement)을 유발하고 혈관내피세포의 구조적 변화 및 폐쇄막(tight junction)의 소실로 인해 조직내로 혈장 단백질과 수분의 유출과 같은 모세혈관유출증후군(capillary leakage syndrome)을 유발한다. 순환계에 많은 양의 종양괴사인자가 갑자기 방출되면 여러 장기의 괴사를 동반한 미만성 응고 및 범모세혈관 유출증후군을 유발하여 탈수 및 폐부전을 유발한다^{30,31,32,39)}.

2. 중추신경계

전신적으로 부여한 종양괴사인자는 체온과 식욕을 조절하는 시상하부 중추부위로 이행하여 발열과 식욕부진을 유발한다³⁰⁾. 종양괴사인자의 식욕부진효과는 insulin에 의해 억제되고

serotonergic signal에는 반응하지 않는다³⁰.

종양괴사인자는 뇌막염에서 대뇌염증과 부종의 발현에 중요한 염증매개체로 작용하며, 뇌막염이 있는 동안 뇌척수액에서 종양괴사인자의 농도가 높으면 예후가 나쁘다는 것을 암시한다. 또한 다발성 경화증 환자에서 종양괴사인자에 대한 항체가 대뇌염증 및 부종의 감소를 유발하는 것으로 밝혀졌다.

신경교세포주(glia cell lines)는 LPS에 대한 반응으로 종양괴사인자를 생성하고, 종양괴사인자에 의해 성상세포(astrocyte) 증식이 증가되며, 뇌종양을 가진 환자에서 종양괴사인자가 증가되고, 그리고 이는 종양주위에서 모세혈관 유출증후군을 유발하기 때문에 종양괴사인자가 뇌종양 주변의 부종에도 매개체로서 작용한다³⁰.

3. 간

종양괴사인자는 인간 간세포주(human hepatocyte-cell lines)에서 급성기 단백질(acute-phase protein)의 발현을 상향조절(upregulate)하고, 혈청 급성기 단백질 수치(수치)의 증가를 유발하며, albumin 생합성을 억제한다²⁹. Kupfer 세포의 생성물인 종양괴사인자는 이런 효과를 직접적으로 조절할 수 있으며, 다른 종양괴사인자-유발 이차 cytokine인 Interleukin-1과 Interleukin-6는 이들 급성기 반응을 증폭시키기도 한다. 종양괴사인자는 순환하는 지방의 생합성을 직접적으로 자극하고, 과다한 지방생성은 급성기 반응에서 흔히 볼 수 있는 과중성 지방혈증(hypertriglyceridaemia)으로 나타난다.

종양괴사인자는 간 아미노산 정화(hepatic amino acid clearance)를 촉진하고 간세포내로 글루카곤 매개 아미노산 운반(glucagon-mediated amino acid transport) 속도를 촉진시킨다.

4. 심혈관계

순환계로 많은 양의 종양괴사인자가 갑자기 방출될 때 저혈압이 일어나고, 그후 심폐허탈

(cardiopulmonary collapse)이 나타난다. Shock은 여러 종양괴사인자-매개 효과에 의해 유발되어 말초혈관저항을 감소시키고, 심박출량의 저하, 모세혈관유출을 통한 혈관내 용적의 소실등을 유발한다^{30,32}. 다른 종에서 유래된 종양괴사인자의 주입은 인간과 쥐와 같은 동물 종에서 유발된 종양괴사인자를 주입할 때 적은 양으로 shock과 조직손상을 유발한다.

종양괴사인자의 독성은 치명적인 내독소혈증 또는 감염 등의 반응과 유사한 대사성(metabolic), 체액성(humoral), 그리고 심혈관계의 변화를 특성으로 하고 혈관내피세포에서 유래된 산화질소 합성(endothelium-derived nitric oxide synthesis)은 종양괴사인자에 의해 활성화되고 이들 반응은 말초혈관의 tone과 심장기능의 감소를 나타낸다.

종양괴사인자 보다 독성이 약한 Interleukin-1은 광범위한 조직손상이 일시적인 저혈압을 유발하며, Interleukin-1에 종양괴사인자를 추가했을 때 shock과 조직손상이 더 상승적으로 증가한다. 또한 종양괴사인자는 폐에 매우 유독하여 성인의 호흡부전증후군 발생에도 깊이 관여한다.

5. 근육

종양괴사인자에 노출된 근세포(myocytes)는 정지경막전위(resting transmembrane potential)의 감소와 세포내 sodium의 증가를 초래한다³¹. 종양괴사인자에 대한 근육의 대사성 반응으로는 글리코겐 저장의 고갈, 전체 단백질 소실을 동반한 아미노산 유출의 증가, 유산 유출의 증가 등이 있다³⁴. 그러나 종양괴사인자를 분리된 근세포와 같이 체외에서 배양할 때 체내에서 관찰된 종양괴사인자의 전체 근육의 단백질분해효과는 일어나지 않으므로, 이들 반응은 알려지지 않은 이차적인 매개체 또는 경로를 통해 조절되는 것을 나타낸다.

6. 지방

종양괴사인자는 지방분해(lipolysis)증가와

여러가지 중요한 지방성의 효소의 전사(transcription)를 억제한다. 그러므로 종양괴사인자로 치치한 지방세포(adipocyte)는 지방이 고갈되고, 외인성 지방의 섭취가 차단되며, 새로 합성된 지방으로의 glucose incorporation이 억제된다. 그러므로 지방세포와 근세포에 대한 종양괴사인자의 복합적인 효과는 말초조직으로부터 아미노산, 유산, 그리고 지방의 방출을 촉진한다.

7. 내분비효과(Endocrine effects)

종양괴사인자의 내분비학적인 효과는 용량, 주입경로, 숙주의 대사상태 또는 질병상태에 의존한다. 정상숙주에 종양괴사인자를 주입하면 수분이내에 ACTH, cortisol, catecholamines, glucagon, insulin 등의 증가를 관찰할 수 있으며^{30,33}, 이로 인해 초기에는 고혈당증이 나타난 후 곧 심한 저혈당증이 나타난다.

8. 조혈효과(Haemopoietic effects)

종양괴사인자는 만성질환에서 빈혈을 유발시킨다. 종양괴사인자의 반복적인 주입으로 조혈이 억제되고 적혈구세포 분해가 증가하기 때문에 hematocrit과 적혈구세포량이 감소하게 된다³⁰. 종양괴사인자 주입후 초기에 순환하는 과립구(circulating granulocyte)의 증가가 있을 후, 염증세포가 순환계로부터 제거됨에 따라 감소한다. Interleukin-1에 대한 지속적인 노출은 종양괴사인자의 출현을 조정하여 조절작용을 억제한다.

종양괴사인자에 대한 내성

종양괴사인자는 lethal endotoxic shock의 핵심적인 매개체이기 때문에 내독소증의 합병증을 예방하기 위한 노력으로 내성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다^{40,41}. 쥐에서 유전자 재조합 인간 종양괴사인자의 반복적인 투여로 식욕부진 및 체중감소의 활동성에 대한 내성의 발달과 관련이 있다는 사실이 체내에서 종양

괴사인자의 생물학적인 연구를 통해 밝혀졌다³⁰.

Takahashi 등³⁰은 유전자 재조합 쥐 종양괴사인자를 syngeneic(공통유전자의) B16BL6 melanoma tumor를 가지는 tolerant and non-tolerant C57BL/6 mice에서 sublethal doses로 다발적으로 투여시 종양괴사인자의 식욕부진 효과에 대한 tachyphylaxis와 재조합 쥐 종양괴사인자의 lethal challenge에 대한 내성이 생기며 종양괴사인자의 독성과 항암효과는 상호 연관관계가 없다고 보고하였다.

종양괴사인자와 다른 cytokines의 상호작용

체내에서 종양괴사인자의 작용은 전체 cytokine network의 생체반응과 긴밀히 관련되어 있다. 종양괴사인자의 중요한 생물학적인 효과의 하나는 종양괴사인자의 생물학적인 활성을 증폭시키고, 연장시키는 다른 cytokine 방출을 유발하는 것이다. 즉 종양괴사인자에 의해 유발된 cytokine에는 Interleukin-1, Interleukin-6, Interleukin-8, Interferon- γ , GM-CSF, NGF, TGF- β , PDGF 등이 있고, 종양괴사인자의 효과를 억제하는 cytokine에는 TGF- β , Interleukin-10, 종양괴사인자 결합 단백질, CNTF 등이 있으며, 종양괴사인자의 효과를 증가시키는 cytokine에는 Interleukin-1, Interferon- γ , LPS, LIF 등이 있다. Sugarman 등(1987)에 의하면 종양괴사인자의 세포독성은 Interleukin-1과 Interferon- γ 등의 cytokine에 의해 높아지며, transforming growth factor alpha와 beta등의 성장인자에 의해 낮아진다고 하였다. 그러나 Interleukin-1의 단일 일시주사(single-bolus injection)는 연속적인 종양괴사인자의 challenge에 대해 쥐를 탈감작시키는 반면, 동시에 투여하면 종양괴사인자의 치사효과를 상당히 증가시키기도 한다.

종양괴사인자는 치명적인 그림음성균에 의한 패혈증에서 이들 cytokine cascade를 초래

하는데 핵심적이다. 즉 그람 음성 세균 생성물은 정상적으로 Interleukin-1, Interleukin-6의 생합성을 촉진하나, 항 종양괴사인자 항체로 인한 피동적인 면역을 통해 종양괴사인자가 억제될때, 혈청 Interleukin-1과 Interleukin-6는 증가하지 않는다¹¹⁾. 그러므로 종양괴사인자는 치명적인 패혈증에서 우리 몸에 해로운 cytokine의 생성을 자극한다.

Septic shock에서 종양괴사인자의 작용

종양괴사인자는 septic shock과 조직손상을 초래하는 주요 매개체로 제시되고 있다. 종양괴사인자는 septic shock syndrome을 가진 환자에서 생성되고 몇 증례에서 혈청치가 높으면 치사율이 높다고 예측하기도 한다¹²⁾.

종양괴사인자의 억제제를 미리 처치하면 다량의 LPS 또는 세균을 주입하더라도 shock이나 조직손상 등의 생체반응은 보이지 않는다⁷⁾.²²⁾ 이는 종양괴사인자 독성을 직접적으로 억제시키거나, 종양괴사인자의 독성을 정상적으로 진행시키고 증폭시키는 cytokine cascade를 방해하는 복합적인 효과의 결과로 여겨진다²³⁾.

종양괴사인자의 항암효과

종양괴사인자는 생체내에서 일부 종양의 출혈성괴사를 유발하고, 체외 실험에서 암세포주에 대해 세포독성을 유발하는 매개체로 알려져 있다. 초기에 종양괴사인자는 팽윤위한 항암제로서 기대를 모았으나 곧 종양괴사인자의 혈관내피세포 및 정상조직에 대한 독성으로 인해 임상적 응용에 제한을 받게 되었다²⁴⁾. 최근에는 종양괴사인자 자체가 여러 종양 및 세포주에 의해 생성되어지고 이는 또한 암세포의 성장인자로서의 역할을 하는 것이 밝혀져 항암제로서의 역할이 의문시 되고있다. 그러나 최근 들어 다른 cytokine이나 항암제와 병행하여 사

용하거나, 항암효과는 높이고 부작용은 줄인 변종 종양괴사인자를 개발하여 임상적 이용을 시도하고 있다.

종양괴사인자와 병행사용시 상승효과를 보이는 대표적인 물질은 생체반응매개체인 Interferon- γ 로서 이들의 병행요법을 이용한 면역치료가 여러종류의 악성종양에서 효과적으로 사용되어 왔다. Interferon- γ 는 활성화된 T 임파구의 생성물로서 강력한 항바이러스, 항증식 효과, 그리고 natural killer cell과 대식세포의 활성화, 종양과 관련된 항원의 발현의 증가 및 major histocompatibility complex class I and II antigen의 조절 등과 같은 면역조절성질을 가지고 있다. Van Moorselaar 등²⁵⁾은 androgen-dependant and independant Dunning rat 전립선암에 대한 Interferon- γ 와 종양괴사인자의 항암효과를 조사하였는데, Interferon- γ 와 종양괴사인자를 병행사용시 상승적인 항증식 효과를 보였다. 그러나 종양괴사인자와 interferon을 병합사용할때 종양세포주를 선택적으로 죽이고, 억제하는 능력은 다른 cytokine과의 병합사용시와 비교할 수 없을 정도로 탁월하지만, 종양괴사인자는 최대 허용용량보다 5~25배 정도에서만 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

Iwasaka 등^{17,18)}은 자궁경부 편평상피암에서 유래된 세포주가 Interferon에 매우 민감하다고 보고하였고, 체내 및 체외에서 자궁경부선암종 세포주에 대한 유전자 재조합 Interferon- γ 와 종양괴사인자의 항암효과를 조사한 결과 Interferon- γ 와 종양괴사인자는 자궁경부의 선암종을 가진 환자에서 효과가 있는 것으로 나타났다. 종양의 분화도가 나쁠수록 Interferon의 효과는 더 높았다고 보고하였다¹⁶⁾. Lienard D 등²¹⁾은 유전자 재조합 종양괴사인자, 유전자 재조합 Interferon- γ , melphalan의 병합사용시 독성과 치료효과를 알기위하여 melanoma와 recurrent sarcoma에서 isolation limb perfusion(ILP)으로 세가지 약물을 병용사용하여 23명의 환자에서(19 melanoma, 5 sarcoma) 치료를 시행하여 23명의 환자 중 21명에서 완전

관해를 보였다고 보고하였다.

종양괴사인자와 항암제를 병합사용시 세포 독성의 상승작용에 대한 연구는 두경부 영역에서 발생하는 종양 세포주가 아닌 다른 장기의 종양 세포주에서 주로 이루어졌다. 즉, actinomycin D, adriamycin(doxorubicin hydrochloride) 등 DNA topoisomerase II를 표적으로 하는 항암제들에 특히 상호 증강효과를 가진다고 보고되었다¹²⁹. 두경부 영역의 종양세포에 대한 연구는 1990년 Gapany 등이 종양괴사인자와 항암제 adriamycin을 병합사용하여 세포 독성의 상승효과가 있었다고 보고하였다. 박¹¹의 실험에 의하면 두경부편평상피세포암에 대해 cisplatin과 종양괴사인자를 병행투여하면 종양괴사인자 단독투여시보다 세포독성이 세포주에 따라 약 20%에서 75%까지 증가하였다.

종양괴사인자의 항암효과를 나타내기 위해서는 수용체의 역할 및 수용체와의 결합이 중요하다. Heller RA 등¹³⁰은 mouse TA1 세포들은 인간 종양괴사인자에 의하여는 죽지 않고, 쥐 종양괴사인자에 의해 죽으며, mouse p75 수용체는 오직 쥐 종양괴사인자에만 인지되므로, 이들은 TA1 세포의 파괴에 관여한다고 하였다. 사람의 HeLa 세포들은 주로 p55 수용체를 함유하고 있고, 인간 종양괴사인자 단독으로는 죽일 수 없으며 인간의 p75 수용체를 transfection했을 때, HeLa 세포는 24시간 이내에 죽는다. NIH3T3 mouse fibroblasts는 오직 쥐 종양괴사인자에만 민감하나, 인간의 p75 수용체의 과다발현은 인간 종양괴사인자에 의한 세포사멸을 유발하고 쥐 종양괴사인자에 대한 감수성을 증가시키므로 p75는 종양괴사인자에 의해 유발된 세포독성에 결정적인 역할을 한다고 보고하였다. Ostade XV 등¹³⁰은 인체에서 32번 위치에 Arg 대신에 Trp을 가진 R32W 종양괴사인자 변종과 29번 위치에 Leu 대신에 Ser을 가진 L29S 종양괴사인자 변종, 그리고 대조군으로 84번 위치에 Ala 대신에 Val을 가진 비활성인 A84V 종양괴사인자 변종을 이용하여, HEP-2(human larynx carcinoma-derived

cell line), U937(human promyelocytic cell line), U929(murine fibrosarcoma cell line)에서 친화력과 활성성을 실험한 결과 R32W 종양괴사인자 변종은 실제로 인간 종양괴사인자 p75 수용체에 결합하지 않지만, 인간 종양괴사인자 p55 수용체에 대한 활성성을 보유하고 있으며, 체내에서 직접적인 항암활동성을 보유하고 있다고 보고하였다.

종양괴사인자의 항암효과는 직접적인 세포 독성 이외에 혈관내피세포 활성화와 출혈성괴사로 나타나는 혈관손상과 연관이 있는 것으로 보이며, 이러한 반응은 종양괴사인자를 종양내로 투입후 4시간 이내에 일어난다. 종양괴사인자의 국소투여 후 일어나는 세포독성 이외의 생체반응으로는 Interleukin-2와 lymphokine-activated killer cells로 처치한 환자에서 관찰되는 활성화된 다형핵세포에 의한 elastase의 방출로 유발되는 외세포기질(extracellular matrix)의 용해로 이는 중성구에 의해 유발된 혈관내피세포의 손상의 중요한 기전이다.

종양괴사인자의 혈장 반감기는 3.5분이며, 콩팥에서의 사구체여과, 단백질분해, 간흡수를 통해 신속히 대사되고 배설된다. 최근에 종양괴사인자를 polyethylene glycol(PEG)로 화학적으로 변형 시켜서, 혈장 반감기를 2.5시간으로 증가시키고 부작용은 실질적으로 감소시키는 연구가 진행되고 있다. Tsutsumi 등¹³¹은 종양괴사인자를 PEG로 화학적으로 변형시켰을 때 변형하지 않은 종양괴사인자보다 100배정도 큰 항암효과를 보였고, 종양괴사인자에 PEG의 공유부착은 종양괴사인자의 생체이용율을 증가시켰다. 사람에서 종양괴사인자의 최대허용 단일용량은 정맥내로는 350 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 이하이며, 근육내로는 522 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 이하이다.

저자들은 인체 하인두암세포주를 nude mouse에 이종이식하고 종양내에 종양괴사인자를 투여하고 종양의 변화를 관찰하여 투여후 3일만에 종양전체에 발생한 출혈성 괴사를 관찰할 수 있었고, 2주후에는 종양이 소실되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 2, 3, 4).

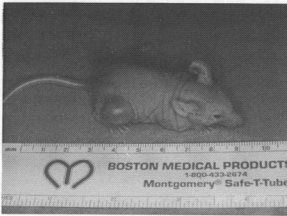


Fig. 2. Just after intratumoral injection of TNF- α

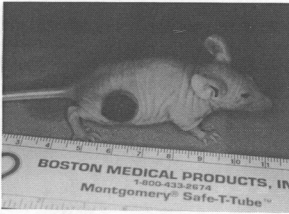


Fig. 3. Three days after intratumoral injection of TNF- α

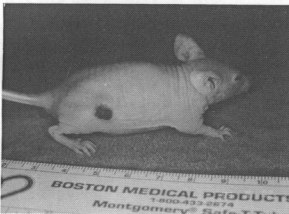


Fig. 4. Two weeks after intratumoral injection of TNF- α

결 론

이상의 고찰에서 종양괴사인자의 여러 생체 내 작용 및 항암효과에 대해 기술하였고 저자들의 실험에서 이종이식된 두경부암종에 대해 출혈성 괴사를 일으키는 것을 관찰할 수 있었다. 두경부 영역의 종양에 가장 효과가 있다고 알려진 cisplatin과 5-fluorouracil에서 종양괴사인자를 병용해서 사용할때 세포독성효과의 현저한 상승을 보여주었다는 점에서 후두암과 하인두암의 항암 화학요법에 종양괴사인자를 병용함으로써 치료효과를 증가시킬 수 있는 가능성을 보여준다. 이러한 결과는 후두암과 하인두암 환자에서 생존율의 향상 뿐만 아니라 수술의 범위를 가능한 적게 하여 후두의 기능보전과 수술후 합병증의 감소를 기대할 수 있다.

그러나 아직까지 항암제로서의 종양괴사인자의 사용은 연구중이고, 독성을 줄이고 특정한 종양에 항암효과를 높인 변종 종양괴사인자가 속속 개발되어 임상시험 중에 있고 또한 다양한 약제와의 병행요법을 이용한 치료전략이 개발중이다.

References

- 1) 박미향 : 두경부 편평상피암 세포주에 종양괴사인자와 항암제 투여가 세포 생존율에 미치는 영향에 대한 연구. 이화여대, 1993
- 2) Aderka D, Engelmann H, Hornik V : Increased serum levels of soluble receptors for tumor necrosis factor in cancer patients. *Cancer Res* 51 : 5602~5607, 1991
- 3) Aderka D, Engelmann H, Maor Y, et al : Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med* 175 : 323~329, 1992

- 4) Aggarwal BB : Tumor necrosis Factors- TNF alpha and TNF beta : their structure and pleiotropic biological effects. *Drugs of the Future* 12 : 891~898, 1987
- 5) Alexander RB, Nelson WG, Coffey DS : Synergistic enhancement by tumor necrosis factor of in vitro cytotoxicity from chemotherapeutic drugs targeted at DNA topoisomerase II. *Cancer Res* 47 : 2403~2406, 1987
- 6) Bauer KA, ten Cate H, Barzegar S, et al : Tumor necrosis factor infusions have a procoagulant effect on the hemostatic mechanism of humans. *Blood* 74 : 165~172, 1989
- 7) Beutler B, Milsark IW, Cerami AC : Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science* 229 : 869~871, 1985
- 8) Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, et al : *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 72 : 3666~3670, 1975
- 9) Coley WB : The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas : with a report of ten original cases. *Am J Med Sci* 105 : 487~511, 1893
- 10) Fiers W., Brouckaert P., Devos R. et al : In molecular biology of Homo Sapiens. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY 1986
- 11) Fong Y, Tracey KJ, Moldawer LL, et al : Antibodies to cachectin/tumor necrosis factor reduce interleukin 1 beta and interleukin 6 appearance during lethal bacteremia. *J. Exp. Med* 170 : 1627~1633, 1989
- 12) Gifford GE, Flick DA : Natural production and release of tumour necrosis factor. [Review] *Ciba. Found. Symp* 131 : 3~20, 1987
- 13) Girardin E, Grau GE, Dayer J-M, et al : Tumor necrosis factor and interleukin-1 in the serum of children with severe infectious purpura. *N. Engl. J. Med* 319 : 379~400, 1988
- 14) Han J, Heuz G, Beutler B : Interactive effects of the tumor necrosis factor promoter and 3'-untranslated regions. *Journal of Immunology* 146 : 1843~1848, 1991
- 15) Heller R.A., Song Kyung, Fan Nancy et al : The p70 tumor necrosis factor receptor mediates cytotoxicity. *J. Cell Biol* 70 : 47~56, 1992
- 16) Iwasaka T., Hara K., Hayashi Y. et al : Antitumor effects of human recombinant interferon and tumor necrosis factor on five cervical adenocarcinoma cell lines, in vivo and in vitro. *Gynecologic oncology* 42 : 39~43, 1991
- 17) Iwasaka T., Tsugitomi H., Ohkuma T. et al : Antitumor activities of human recombinant interferon against cervical tumor transplanted into nude mice. *Acta Obstet. Gynecol. Scand* 66 : 501~505, 1987
- 18) Iwasaka T., Yoshimura T., Tsugitomi H. et al : Anticellular activities of human fibroblast interferon and human recombinant interferon : Cytologic changes of a cervical cancer cell line. *Acta Cytol* 31 : 941~945, 1986
- 19) Kruys V, Kemmer K, Shakhov A, et al : Constitutive activity of the tumor necrosis factor promoter is canceled by the 3' untranslated region in nonmacrophage cell lines : a trans-dominant factor overcomes this suppressive effect. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 89 : 673~677, 1992

- 20) Leudke CE, Cerami A : Interferon-gamma overcomes glucocorticoid suppression of cachectin/tumor necrosis factor biosynthesis by murine macrophages. *J. Clin. Invest* 86 : 1234~1240, 1990
- 21) Lienard D., Ewalenko P. Delmotte JJ. et al : High-dose recombinant tumor necrosis factor alpha in combination with interferon gamma and melphalan in isolation perfusion of the limbs for melanoma and sarcoma. *J of Cli Oncology*, Vol 10 No 1 : 52~60, 1992
- 22) Manda T., Shimomura K., Mukumoto S. et al : Recombinant human tumor necrosis factor- α : Evidence of an indirect mode of antitumor activity. *Cancer Res* 47 : 3707~3711, 1987
- 23) North RJ, Havell EA : The antitumor function of tumor necrosis factor(TNF) II. Analysis of the role of endogenous TNF in endotoxin-induced hemorrhagic necrosis and regression of an established carcinoma. *J. Exp. Med* 167 : 1086~1099, 1988
- 24) Ostade X.V., Vandenabeele Peter, Everaerd Bart et al : Human TNF mutants with selective activity on the p55 receptor. *Nature* Vol 361 : 21, 1993
- 25) Starnes HR Jr, Warren RS, Jeevanandam M, et al : Tumor necrosis factor and the acute metabolic response to tissue injury in man. *J. Clin. Invest* 82 : 1321~1325, 1988
- 26) Takahashi N, Brouckaert P, Fiers W : Induction of tolerance allows separation of lethal and antitumor activities of tumor necrosis factor in mice. *Cancer Research* 51 : 2366~2372, 1991
- 27) Tartaglia LA, Ayres TM, Wong GHW, et al : A novel domain within the 55 Kd receptor signals cell death. *Cell* 74 : 845~853, 1993
- 28) Tartaglia LA, Weber RF, Figari IS, et al : The two different receptors for tumor necrosis factor mediate distinct cellular responses. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88 : 9292~9296, 1991
- 29) Tartaglia LA, Rothe M, Hu YF, et al : Tumor necrosis factor's cytotoxic activity is signaled by the p55 TNF receptor. 「Review」 *Cell* 73 : 213~216, 1993
- 30) Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, et al : Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 234 : 470~474, 1986
- 31) Tracey KJ, Lowry SF, Beutler B, et al : Cachectin/tumor necrosis factor mediates changes of skeletal muscle plasma membrane potential. *J. Exp. Med* 164 : 1368~1373, 1986
- 32) Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, et al : Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature* 330 : 662~664, 1987
- 33) Tracey KJ, Lowry SF, Fahey TJ, et al : Cachectin/tumor necrosis factor induces lethal shock and stress hormone responses in the dog. *Surg. Gynecol. Obstet* 164 : 415~422, 1987
- 34) Tracey KJ, Wei H, Manogue KR, et al : Cachectin/tumor necrosis factor induces cachexia, anemia, and inflammation. *J. Exp. Med* 167 : 1211~1227, 1988
- 35) Tracey KJ, Lowry SF : The role of cytokine mediators in septic shock. 「Review」 *Adv. Surg* 23 : 21~56, 1990
- 36) Tracey KJ, Morgello S, Koplin B, et al : Metabolic effects of cachectin/tumor necrosis factor are modified by site of production. Cachectin/tumor necrosis factor-secreting tumor in skeletal muscle

- induces chronic cachexia, while implantation in brain induces predominantly acute anorexia. *J. Clin. Invest* 86 : 2014~2024, 1990
- 37) Tsutsumi Y., Kihira T., Yamamoto S. et al : Chemical modification of natural human tumor necrosis factor- α with polyethylene glycol increases its anti-tumor potency. *Jpn J Cancer Res* 85 : 9~12, 1994
- 38) van Moorselaar RJA., Hendriks B.T., van Stratum P. et al : Synergistic antitumor effects of rat γ -interferon and human tumor necrosis factor α against androgen-dependent and -independent rat prostatic tumors. *Cancer research* 51 : 2329~2334, 1991
- 39) van der Poll T, Buller HR, ten Cate H, et al : Activation of coagulation after administration of tumor necrosis factor to normal subjects [see comments]. *N. Engl. J. Med* 322 : 1622~1627, 1990
- 40) Zuckerman SH, Evans GF : Endotoxin tolerance : in vivo regulation of tumor necrosis factor and interleukin-1 synthesis is at the transcriptional level. *Cell Immunol* 140 : 513~519, 1992
- 41) Zuckerman SH, Evans GF, Butler LD : Endotoxin tolerance : independent regulation of interleukin-1 and tumor necrosis factor expression. *Infect. Immun* 59 : 2774~2780, 1991