

## 두경부암 세포주에서 항체의존성 세포독성의 확립과 Prostaglandin이 항체의존성 세포독성에 미치는 영향\*

이화여자대학교 의과대학 이비인후과학교실  
김춘동 · 변성완 · 홍순관

= Abstract =

### Establishment of Antibody-dependant Cellular Cytotoxicity against Human Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck and The Effect of Prostaglandin on Antibody-dependant Cellular Cytotoxicity

Chun Dong Kim · Sung Wan Byun · Soon Kwan Hong

Department of Otolaryngology, College of Medicine, Ewha Womans University

**Background** : Head and neck squamous cell carcinoma(HNSCC) has been associated with host immunosuppression, including depressed T-lymphocyte and natural killer cell function. This immunosuppression has been shown to be most pronounced in the locoregional environment of the tumor and appears to be mediated by soluble suppressor factor prostaglandinE<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>). PGE<sub>2</sub> is a product of cell membrane phospholipid metabolism that is known to have potent immunoregulatory activity including inhibition of natural killer cell activity and antibody dependant cell mediated cytotoxicity(ADCC).

**Method** : In our experiment, we have established an ADCC assay with IgG1 cMAB SF-25, 323A/3 using human squamous cell carcinoma of the head and neck cell line(PCI-50) as target. The measurement of cytotoxicity was determined by measuring the release of <sup>51</sup>Chromium from the target cells after 4 hour incubation.

**Result** : PGE<sub>2</sub> inhibited antibody dependant cell mediated cytotoxicity.

**Conclusion** : It thus implies that the production of prostaglandins by tumor cells may constitute a means by which the tumor cells subvert the effect of a cellular immune response that is directed against them and arming of NK cells with chimeric antibody could be considered in developing means for treatment of human SCCHN in adjuvant setting.

KEY WORDS : ADCC · PG · SCCHN.

## 서 론

두경부암 환자들은 면역기능이 저하되어 있다는 관찰

\*이 논문은 1997년도 이화여대 교내연구비 지원으로 이루어졌음.

이 종종 보고되고 있다. 두경부암 환자에서 나타나는 면역기능저하는 환자에 따라 다르지만 국소적으로 또는 전신적으로 나타나고 그 원인으로 종양에 의해 유발된 면역억제 물질(tumor-derived immunosuppressive factor) 혹은 억제세포(suppressor cell)의 활성화 등이

제시되고 있다. 그리고 두경부암 환자의 면역억제에 관여하는 여러 가지 매개물질로 specific tumor cells, prostaglandin, TGF- $\beta$ , tumor-derived glycoproteins, tumor-derived specific suppressor molecules 등이 제시되었다. 이전의 보고들 중 두경부암 환자의 말초혈액 임파구나 림프절 임파구(lymph node lymphocyte)는 mitogen이나 IL-2에 대한 성장능력 혹은 LAK 세포 활동을 나타내는 능력을 일부 혹은 완전히 소실했다<sup>12)</sup>. 이런 관찰들은 두경부암 환자들의 면역저하가 종양에 의해 유발된 억제(tumor-induced suppression)임을 나타낸다고 할 수 있다.

면역요법이나 유전자요법을 포함하여 항암치료는 결국 세포 killing의 주요 기전인 세포독성(cell mediated cytotoxicity)기전을 이용하는 것이다. 항체 의존성 세포독성(Antibody-dependent cellular cytotoxicity(A-DCC))는 종양과 바이러스 감염에 반응하는 가장 중요한 방어기전의 하나로 항체의존성 세포독성은 효과세포(effector cell)가 표면에 Fc receptor를 가지고 있고 표적세포(target cell)가 IgG 항체로 coating되어 있을 때 효과세포와 표적세포의 결합을 촉진하여 결국 표적세포를 용해(lysis)시키는 것을 말한다. 그동안 종양세포에 대한 항체의존성 세포독성 모델이 몇 가지 제시되었으나 고형종양(solid tumor)에는 그 효용성이 기대에 미치지 못했다. 두경부종양환자의 adjuvant therapy로 unconjugated mMAbs의 효용성에 대해서도 두경부암에 특이하게 반응하는 것으로 알려진 pan-carcinoma mMAbs SF-25, 323/A3이 정상조직에도 광범위하게 반응하는 것이 밝혀졌다<sup>45)</sup>. 최근에 이런 생쥐에서 만든 단클론항체의 variable region과 human  $\kappa$ -light and  $\gamma$ -heavy chains의 constant region을 결합시킨 chimeric MAbs(cMAbs)가 mMAbs보다 효과적으로 효과세포와 반응함을 이용하여 NK 세포에 cMAbs를 붙여 효과적인 항체의존성 세포독성을 제시하였다.

일반적으로 두경부암 세포와 두경부암 세포주들은 NK-mediated cytotoxicity에 저항성이 있어서 세포독성의 유도가 어려워 두경부암에 대한 세포독성의 연구는 드물었다. 그러나 cMAbs를 이용한 항체의존성 세포독성은 효과적인 세포독성의 연구를 가능하게 하였는데 여기에 관여하는 주세포는 NK 세포인 것처럼 보인다. 한편 NK 세포는 IFN- $\gamma$  등 여러 종류의 cyto-

kine을 분비하고 두경부암과 반응하여 그 결과로 표적세포의 민감도(sensitivity)를 변화시켜 면역용해(immunolysis)를 유발한다. 즉 종양세포를 cytokine으로 전처리하면 종양세포의 면역 효과세포(immune effector cell)에 대한 민감도가 변화하고 항체의존성 세포독성은 두경부암 세포를 IFN- $\gamma$ 로 전처리하였을 때 감소한다<sup>7)</sup>. 즉 cytokine 등 매개물질에 의해 항체의존성 세포독성의 기능이 조절될 수 있음을 보여준다고 할 수 있다.

종양면역억제(Tumor-induced immunosuppression)의 매개물질중에서 prostaglandin(PG)이 두경부종양환자의 면역반응에 중요하게 관여하는 것으로 알려져 있는데 PGE<sub>2</sub>는 prostaglandin의 대사물질로 종양의 성장 및 전이에 관한 동물모델에서 *in vivo*와 *in vitro* 면역억제 효과가 있음이 밝혀졌고 단핵구(monocytes), 대식세포(macrophage), 림프구(lymphoid cell) 혹은 종양세포에서 PG는 생산된다<sup>8)</sup>. PGE<sub>2</sub>는 T and B 림프구 성장, lymphokine 생성, NK 세포독성, cytotoxic T 세포와 LAK cell generation 등을 억제한다<sup>9-11)</sup>. 결국 PG는 두경부암의 종양세포에서 분비되어 NK cell과 반응함으로 면역조절기능을 한다고 생각할 수 있는바 본 연구는 보다 효과적인 세포독성제인 cMAb인 SF-25와 323/A3를 이용한 항체의존성 세포독성에서 PG의 영향을 파악해서 세포독성 기전을 이해하고 두경부종양에서 PG의 생물학적, 면역학적 역할을 규명하고자 한다.

## 연구재료 및 방법

### 1. 세포주의 선정

두경부 편평상피암 환자로부터 수립한 세포주로서 Pittsburg Cancer Institute에서 수립된 PCI-50을 이용하였으며 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM; GIBCO, Grand Island, NY)에 10% fetal bovine serum, penicillin, streptomycin, amphotericin B을 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> air 항온기에서 배양 하였으며 계대배양이나 세포주를 사용할 때에는 0.05% trypsin-EDTA(GIBCO, Grand Island, NY)를 사용하였다.

### 2. 항 체

실험에 사용된 chimeric 단클론 항체로는 pan-car-

cinoma 항체인 SF-25(IgG2a/IgG1)과 323A/3(IgG1a/IgG1)(Centocor, Malvern, PA)를 사용하였으며 사용농도는 0.5 $\mu$ g/ml에서 2.5 $\mu$ g/ml를 사용하였다.

### 3. 세포독성검사의 수립

#### 1) 표적세포와 효과세포

표적세포는 PCI-50을 이용하고 효과세포는 정상인 자원자(normal doner)의 신선혈액을 Ficoll-Hypaque 원심분리를 하여 말초혈액단핵세포(peripheral blood mononuclear cell : PBMC)를 추출하여 이용하였다. 추출된 PBMC를 37도에서 2시간동안 배양플라스크에서 배양하여 비접착세포군(non-adherent cell ; monocyte-depleted cell)과 접착세포군(adherent cell ; monocyte-rich cell)으로 분리하였고 이 중 비접착세포군을 효과세포로 이용하였다.

#### 2) 세포독성검사(Cytotoxicity assay)

4시간  $^{51}\text{Cr}$  방출검사(4-hr  $^{51}\text{Cr}$ -release assay)를 이용하여 세포독성을 측정하였다. 표적세포에 trypsin을 처리하여 단세포 부유액을 만든 후  $1 \times 10^6$ 개의 세포를 100 $\mu$ Ci의  $^{51}\text{Cr}$ (NEN, Boston, MA ; specific activity 500mCi/mM)과 37 $^{\circ}$ C에서 45분간 반응시킨 후 수차례 세척을 시행하였다. 표적세포를 U-bottomed 96 well plate(Costar, Cambridge, MA)에  $5 \times 10^3$ 개씩 분주하고 다양한 효과세포 : 표적세포비(E : T ratio)로 반응시켰다(50 : 1, 25 : 1, 12 : 1, 6 : 1 등). 37 $^{\circ}$ C에서 4시간 반응 후 상청액(supernatant)에 방출된  $^{51}\text{Cr}$ 의 양을 감마계측기( $\gamma$ -counter)로 측정하였다. 최대 방사성동위원소 방출(maximal radioisotope release)은 표적세포에 5%(v/v) Triton-X-100(Sigma)을 넣어서 방출된  $^{51}\text{Cr}$ 의 양을 구하였다. 감마계측기로 측정된 방사능(radioactivity)으로부터 다음의 공식을 이용하여 % specific lysis를 구하였다.

$$\% \text{ specific lysis} = \frac{\text{experimental cpm} - \text{spontaneous cpm}}{\text{maximum release cpm} - \text{spontaneous cpm}} \times 100$$

세포독성검사자료의 표준화를 위하여 lytic units(LU)를 계산하였는데 Pross의 공식을 이용하여  $5 \times 10^3$ 개의 표적세포의 20%를 용해하는데 필요한 효과세포의 수를 1 lytic unit로 정의하고  $10^7$ 개의 효과세포내에 존재

하는 LU를 컴퓨터를 이용하여 산출하였다.

#### 3) *in vitro* PG의 효과

$^{51}\text{Cr}$ -release assay시 4-hr incubation시 PG( $10^{-6}\text{M}$ )로 incubation시킨 후 PG를 처치하지 않은 표적세포를 PG를 처치하지 않은 효과세포와 PG를 처치한 효과세포로 각각 세포독성 검사를 시행하여 비교하였다.

## 결 과

### 1. Chimeric 단클론 항체사용에 따른 cytotoxicity assay

PCI-50을 target cell로 아무 처치 없이 cytotoxicity assay를 하였을 때 lytic unit가 29.91이었으나 SF-25 1 $\mu$ g/ml를 target cell에 처치하였을 때에는 lytic unit가 114.72, SF-25 2.5 $\mu$ g/ml를 target cell에 처치하였을 때에는 lytic unit가 446.41로 증가하였고 323/A3 2.5 $\mu$ g/ml를 target cell에 처치하였을 때에는 lytic unit가 293.45로 항체사용시 cytotoxicity의 현저한 증가를 확인하여 *in vitro* ADCC system을 확립하였다(Fig. 1, 2).

### 2. PGE<sub>2</sub>의 cytotoxicity에 미치는 영향

PGE<sub>2</sub>  $10^{-6}\text{M}$ 을  $^{51}\text{Cr}$ -release assay시 4-hr 배양직전에 넣었을 때, 4-hr 배양시 SF-25, 323/A3 항체로 target cell을 처치하지 않았을 때는 lytic unit가 11.14

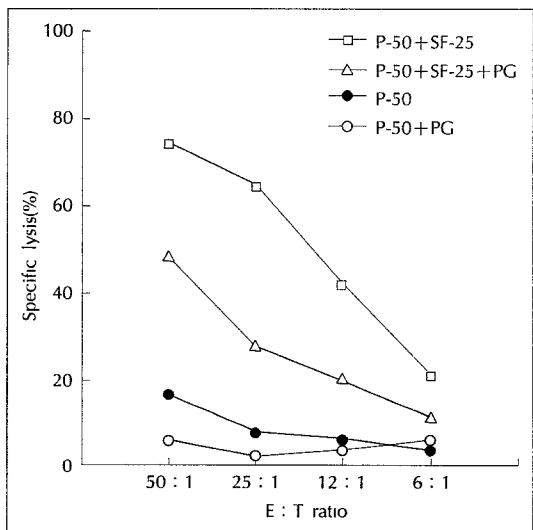


Fig. 1. Effect of SF-25 and PGE<sub>2</sub> on ADCC.

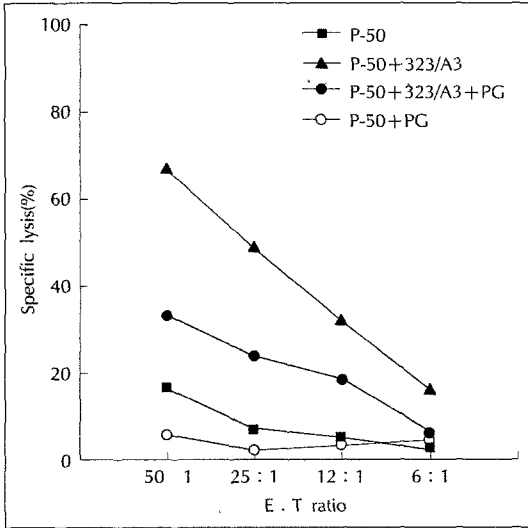


Fig. 2. Effect of 323/A3 and PGE<sub>2</sub> on ADCC.

로 PG처치하지 않았을 때(29.91)보다 감소하였고 SF-25 2.5µg/ml, 323/A3 2.5µg/ml를 target cell에 각각 전처리하였을 때에도 각각 160.18, 103.52로 PG를 주지 않았을 때의 lytic unit인 446.41(SF-25), 293.45(323/A3)보다 현저히 감소하여 PG가 ADCC를 감소시키는 역할을 하는 것을 확인하였다(Fig. 1, 2).

## 고 찰

ADCC는 종양과 바이러스 감염에 대한 방어기제로서 주요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. ADCC는 표면에 Fc receptor를 갖고 있는 효과세포가 IgG가 표면에 붙은 표적세포에 결합되었을 때 나타난다. 현재 사람의 종양세포에 대한 ADCC모델은 흑색종에서 단클론항체 R24, 소세포폐암에서 단클론항체 SCLC1096, 5023, 대장암에서 17-1A, 두경부종양 세포주에서 SF-25 등이 알려져 있다. 특히 대장암에서의 17-1A는 수술 후 보조적인 치료로 사용하였을 때 5년생존율을 30%정도 올리는 것으로 알려져 있다<sup>10)</sup>. 따라서 두경부암 환자들은 많은 경우에 종양에 의해 유발된 면역억제(tumor-induced immunosuppression)에 의해 면역기능이 저하되어 있다는 보고에 의거하여, 억제되어 있는 환자의 면역기능을 정상으로 되돌려 주거나 또는 강화시켜 주려는 시도로 ADCC의 이용은 암치료의 좋은 전략이 될 수 있다. 자연살해(natural killer : NK)세

포는 과거에 감작되지 않은 상태에서도 종양세포를 인지하고 파괴할 수 있으며(natural killing), 표면에 Fc 수용체(Fc receptor)를 가지고 있어 효과세포와 IgG 항체로 덮혀있는 표적세포의 결합을 촉진하여 결국 표적세포를 파괴시키는 항체의존성 세포독성에도 관여하는 것으로 알려져 있다. ADCC에 관여하는 이상적인 효과세포는 항체의 isotype과 종양세포의 특성에 달려 있으므로 어떤 세포가 가장 중요한 역할을 할지는 예측하기 어렵다고 하나<sup>11)</sup>, NK세포가 FcγRⅢ(CD 16)를 발현하고 있으며 다양한 종양세포에 대해 세포독성을 나타내고 있으므로 ADCC에서 중요한 역할을 하는 효과세포로 생각되고 있다<sup>11-13)</sup>.

최근 두경부편평상피암 세포주에 대한 ADCC의 연구에서도 NK세포가 주된 효과세포이고 이 효과는 chimeric monoclonal antibody(cMAb)에 의해 항진된다는 것이 밝혀짐으로써 실험적인 ADCC모델이 확립된 바 있다<sup>12)</sup>. 또한 NK세포가 분비하는 IFN-γ 등의 cytokine이 종양세포에 작용해서 NK세포나 림프카인 활성화 살해세포(lymphokine activated killer cell : LAK)에 대한 종양세포의 감수성을 변화시키기도 함이 보고되었다<sup>14)</sup>.

이러한 관점에서 본 연구에서는 두경부암세포주인 PCI-50에서 ADCC를 확립하고 프로스타글란딘 E<sub>2</sub>(prostaglandin E<sub>2</sub> : PGE<sub>2</sub>)가 SCCHN 세포주를 대상으로 하는 ADCC에 영향을 줄 수 있는 매개물질로서 가능성이 있는지, 또 그 기전은 무엇인지 알아보고자 했다. PGE<sub>2</sub>는 PG의 대사물질로 종양의 성장 및 전이에 관한 연구에서 체내 또는 체외 면역억제효과가 있음이 밝혀지고 있다. PGE<sub>2</sub>는 T 또는 B림프구의 증식, 림프카인의 생성, NK세포, 세포독성 T 림프구, 거식세포(macrophage)의 세포독성을 억제한다고 하는데<sup>15)16)</sup>, 두경부종양조직에서 이러한 PGE<sub>2</sub>가 정상조직에서 보다 4배정도 많이 생산된다는 보고가 있는 것으로 보아<sup>17)</sup> PGE<sub>2</sub>를 두경부종양환자에서 면역저하의 원인물질 중의 하나로 의심해 볼 수 있다. 또한 SCCHN세포주에서 PGE<sub>2</sub>의 효과가 규명이 된다면 PG를 생성하는 cyclooxygenase를 억제하는 인도메타신(indomethacin ; INDO) 등의 비스테로이드성 항염증물질들의 항암효과도 규명될 수 있을 것이다.

본 실험의 결과는 chimeric 단클론항체 SF-25, 323 A/3가 effector cell인 NK세포에 붙어있지 않을 때에

는 두경부암세포주인 PCI-50에 NK세포가 작용을 거의 하지 못하나 chimeric 단클론항체 SF-25, 323A/3로 무장된 NK세포는 두경부암세포주인 PCI-50에 세포독성을 가지며 세포독성도 크게 증가하는 것을 알 수 있다. 이 결과는 종양항원(tumor-associated antigen)과 결합할 수 있는 chimeric 단클론항체가 있다면 보조적인 면역요법의 치료에 이용될 수 있다는 것을 의미한다. Chimeric 단클론항체 SF-25는 Wilson등에 의해 사람의 간세포종양 세포주인 FOCUS에서 만들어졌으며 이 항체가 Takahashi등에 의해 사람의 carcinoma 세포주에 널리 반응을 하는 것을 알아내어 pan-carcinoma 항체로 알려져 있다<sup>10)</sup>. Chimeric 단클론항체 SF-25는 사람의  $\kappa$  light chain과  $\gamma$ -1 heavy chain의 constant region gene에 생쥐의 단클론항체 SF-25의 variable region gene을 결합하여 만들어졌다. Chimeric 단클론항체 SF-25는 두경부편평상피세포암의 세포막에 있는 125-kDa의 물질에 붙는 것으로 알려져 있다. 하지만 이 항원이 대장암에서도 표현이 되며 정상조직에서는 신장의 원위세뇨관에서도 표현이 된다. 323A/3는 MCF-7이라는 사람의 유방암세포를 생쥐에 감작시켜 만든 항체이다. 323A/3에 의해 인식되는 항원은 세포표면에 위치한 43kDa의 단백질이며 단클론항체 K931과 17-1A와 인식하는 항원이 유사하다. 이 항원은 자궁내막암, 대장암, 갑상선암, 전립선암에서도 표현이 되는 항원이며 정상조직에서는 신장, 대장에서 표현이 된다<sup>18)</sup>. 종양의 진단 및 치료에 종양에 특이적인 단클론항체의 사용은 다른 부위에는 반응을 보이지 않고 종양에 특이적으로 반응할 때 그 유용성이 증가한다. 종양이 종양특이적 항원을 가지고 있다고 가정하면 종양조직내에서만 발견이되고 정상조직에서는 발견이 되지 않아야 한다. 이 가정이 충족되어야만 종양에 특이한 면역치료를 할 수 있다. 하지만 이것은 실험실에서나 가능하고 인체에서 자연발생적으로 생성되는 종양에서는 종양특이적 항원이 발견되어 있지 않다. 따라서 대부분의 단클론항체는 종양과 관계된 항원(tumor associated antigen)과 결합되고 만들어진다. 하지만 종양과 관계된 항원은 종양조직자체에도 존재하지만 정상조직에서도 어느 정도 표현되고 있다. 따라서 면역화학요법에 특징적으로 많이 발현되는 단클론항체를 인체에 투여하였을 때 종양 이외의 다른 부위에도 결합이 되어 많은 부작용이 따를 수 있다.

본 연구에서 cMab인 SF-25와 323/A3가 SCCHN 세포주인 PCI-50에 대해서도 현저하게 세포독성을 증가시키는 결과를 얻었는데 이러한 cMab의 효과는 농도에 비례하였으며 효과세포와 표적세포를 여러 가지 다른 비율로 반응시켰을 때도 마찬가지로 결과를 볼 수 있었다. cMab는 표적세포 뿐만 아니라 효과세포와도 직접 결합한다고 알려져 있으며 효과세포를 전치치했을 경우 ADCC를 통한 세포독성이 효과적으로 증가한다고 알려져 있다<sup>12)</sup>.

이러한 ADCC모형을 바탕으로 SCCHN세포주에 대한 ADCC에 미치는 PGE<sub>2</sub>의 효과에 대한 연구를 시행하였는데, 이것은 SCCHN세포주나 PBMC에서 PGE<sub>2</sub>가 분비되어 이것이 ADCC에 관여하는 요인들과 반응함으로써 면역조절기능을 할 수 있을 것이라는 가정을 전제로 한 것이다. PGE<sub>2</sub>가 어디에서 생산되느냐에 대해서는 많은 저자들이 생체내에서 단핵구(monocyte)나 거식세포(macrophage) 등이 PGE<sub>2</sub>를 생성한다고 보고 하였다<sup>9)15)16)</sup>. 다른 견해로는 종양조직에서 PGE<sub>2</sub>가 높은 농도로 발견되는 것으로 보아 주로 종양세포<sup>9)17)</sup>가 PGE<sub>2</sub>를 생산하며 이것을 통하여 종양이 숙주의 면역계를 통한 방어기전을 회피할 수 있게 된다는 보고가 있다. 하지만 SCCHN 환자의 종양세포가 생산하는 PGE<sub>2</sub>의 양은 정상 각질세포(keratinocyte)가 생산하는 양보다 의미있게 감소되어 있고 또한 PGE<sub>2</sub>의 농도가 종양의 생물학적 양상과 연관이 없다는 점에서 종양에서 생산되는 PGE<sub>2</sub>는 큰 역할을 하지 않는다는 보고도 있다<sup>6)</sup>. 한편 종양조직에는 종양침윤림프구(tumor infiltrating lymphocyte)가 포함되어 있으므로 이것을 분리하여 PGE<sub>2</sub>의 생산을 연구한 결과 PGE<sub>2</sub>는 종양세포가 아니라 종양침윤림프구<sup>6)17)</sup>에 의해서 생산된다는 견해도 있다. 저자의 견해로서는 이들 모두가 PGE<sub>2</sub>를 생산하지만 각각의 세포에서 생산하는 양이 중요하다고 생각된다. 한편 본 연구에서 사용된 PBMC에서도 상당한 양의 PGE<sub>2</sub>가 생산이 된다<sup>18)</sup>.

본 연구에서 SCCHN 표적세포를 대상으로 한 ADCC에서 PGE<sub>2</sub>의 효과에 대한 실험결과 반응도중 PGE<sub>2</sub>가 계속 존재하는 상태에서는 세포독성이 현저히 감소하였다. 이것은 cMab를 처치했을 때와 마찬가지로 농도에 비례하였고 효과세포와 표적세포의 비율을 달리 하였을 때에도 마찬가지로 결과를 보였다. 그동안 사람의 만성골수성백혈병 세포주인 K562<sup>19)</sup>나 방광암 세포주<sup>16)</sup>

를 대상으로 또는 동물실험에서<sup>9)21)</sup> PGE<sub>2</sub>의 ADCC에 대한 효과를 연구한 결과는 보고되었다. 본 연구의 결과는 이러한 연구에서의 결과와 마찬가지로 사람의 두경부암 세포주와 효과세포를 대상으로 한 ADCC에 대해서도 PGE<sub>2</sub>가 같은 효과를 보인다는 것을 처음으로 제시한 것이라는 점에서 의의가 있다고 생각된다.

PGE<sub>2</sub>의 전처치가 표적세포에 선택적으로 작용하는 지에 대한 실험결과 표적세포에 선택적으로 작용하지는 않는다는 것에 대해서는 문헌들마다 일치된 견해를 보이고 있지만<sup>20)21)</sup> 효과세포에 대해 어떤 작용을 하는지에 대한 실험결과는 문헌마다 차이를 보이고 있다.<sup>9)20)21)</sup> 본 연구에서는 PGE<sub>2</sub>가 표적세포와 반응하기 전의 효과세포 수준에서 어떤 작용을 미리 하는지 알아보기 위하여 효과세포를 PGE<sub>2</sub>로 전처리한 후 세척하여 PGE<sub>2</sub>를 제거한 후 반응시킨 결과 세포독성의 감소를 볼 수 없었다. 이것은 본 연구에서와 다른 효과세포와 표적세포를 사용하여 실험한 다른 연구에서의 결과와 일치하는 결과이다<sup>20)21)</sup>. 이 결과는 전처치가 NK세포에 영향을 주지 않았거나 PGE<sub>2</sub>의 효과가 가역적일 수 있다는 가정을 가능하게 한다. 한편 세포독성검사를 시행하는 도중 PGE<sub>2</sub>의 농도가 유지되었을 때는 세포독성이 현격히 감소하는 것으로 보아 PGE<sub>2</sub>는 표적세포 또는 효과세포에 각각 작용한다기 보다는 양세포가 상호작용을 하는 단계에서 이것을 억제하는 효과가 있다고 생각된다.

세포독성 T 림프구와 마찬가지로 NK세포의 세포독성은 우선 표적세포와의 결합에서 시작한다. 결합후 NK세포의 칼슘의존성 세포용해(cytolytic)기전이 활성화되어 골지체나 세포독성 과립(cytotoxic granule)들이 표적세포로 향하게 된다. 이후 serine protease나 perforin 등의 세포용해단백질이 세포내 과립에서 분비되어 세포독성을 나타낸다고 한다. 본 연구의 결과와 앞에 제시한 보고의 결과를 보면 PGE<sub>2</sub>는 표적세포와 효과세포에 독립적으로 작용하는 것이 아니고 이 두 세포의 결합과 이후에 일어나는 일련의 과정중의 어느 단계를 차단하는 효과를 가지리라고 생각된다. 현재까지의 연구 결과 크게 2가지 기전이 제시되고 있는데 첫째는 PGE<sub>2</sub>가 효과세포와 표적세포의 결합에 관여한다는 것으로서 효과세포인 NK 세포와 표적세포인 K562의 결합을 억제한다는 보고가 있었다<sup>15)</sup>. 둘째는 PGE<sub>2</sub>가 NK세포내에서 cAMP의 농도를 증가시켜서 이것이 세포용해단백질(cytolytic protein)의 분비를 억제시킨다는 보고

도 있었다.<sup>9)21)22)</sup>. PGE<sub>2</sub>가 세포독성을 억제하는 정확한 기전은 아직 알 수 없지만 생체내에서 NK세포의 기능을 제어하는 데에 중요한 요인이 될 것이므로 PGE<sub>2</sub>가 작용하는 정확한 기전에 대해 더 많은 연구가 필요하다고 하겠다.

## References

- 1) Letessier EM, Sacchi M, Johnson JT, Herberman RB, Whiteside TL : *The absence of lymphoid suppressor cells in tumor-involved lymph nodes of patients head and neck cancer. Cell Immunol 1986 ; 130 : 1899*
- 2) Synderman CH, Heo DS, Johnson JT, d'Amic F, Barnes L, Whiteside TL : *Functional and phenotypic analysis of lymphocytes isolated from tumors and lymph nodes of patients with head and neck cancer. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1991 ; 117 : 899*
- 3) De Bree R, Roos JC, Quak JJ, Den Hollander W, Van den Brekel MWM, Vand der Wal JE, et al : *Clinical imaging of head and neck cancer with technetium-99m-labeled monoclonal antibody E48 IgG or F(ab')<sub>2</sub>. J Nucl Med 1994 ; 35 : 775*
- 4) Quak JJ, Schrijvers HGJ, Brakkee JGP, Davis HD, Scheper RJ, Meijer CJLM, et al : *Expression and characterization of two differentiation antigens in human stratified squamous epithelia and carcinomas. Int J Cancer 1992 ; 50 : 507*
- 5) Sung M-W, Johnson JT, van Dongen G, Whiteside TL : *Protective effects of interferon-γ on squamous cell carcinoma of the head and neck targets in antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by human NK cells. Int J Cancer In Press, 1996*
- 6) Synderman CH, Klapan I, Milanovich M, Heo DS, Wagner R, Schwartz D, et al : *Comparison of in vivo and in vitro prostaglandin E<sub>2</sub> production by squamous cell carcinoma of the head and neck. Otolaryngol Head and Neck Surg 1994 ; 111 : 189-196*
- 7) Nara K, Odagiri H, Fujii M, et al : *Increased production of tumor necrosis factor and prostaglandin E<sub>2</sub> by monocytes in cancer patients and its unique modulation by their plasmas. Cancer Immunol Immunother 1987 ; 25 : 125-132*
- 8) Murray JL, Dowd J, Hersh EM : *In vitro inhibition of interleukin-2 production by peripheral blood lymphocytes from stage III melanoma patients by pros-*

- taglandin E<sub>2</sub> : Enhancement of lymphocyte proliferation by exogenous interleukin -2 plus indomethacin. J Biol Response Mod 1986 ; 5 : 12-19*
- 9) Lala PK, Parhar RS, Singh P : *Indomethacin therapy abrogates the prostaglandin-mediated suppression of natural killer activity in tumor-bearing mice and prevents tumor metastasis. Cell Immunol 1986 ; 99 : 645-650*
  - 10) Sung M-W, Satoshi Y, Johnson JT, Van Dongen GAMS, Whiteside TL : *Natural killer(NK) cells as effectors of antibody-dependent cytotoxicity with chimeric antibodies reactive with human squamous-cell carcinomas of the head and neck. Int J Cancer 1995 ; 61 : 864-872*
  - 11) Greenman J, Hogg N, Nikoletti S, Slade C, Stevenson G, Glennie M : *Comparative efficiencies of bispecific F(ab'gamma)2 and chimeric mouse/human IgG antibodies in recruiting cellular effectors for cytotoxicity via Fc gamma receptors. Cancer Immunol Immunother 1992 ; 34(6) : 361-369*
  - 12) Sung M-W, Yasumura S, Johnson JT, Van Dongen GAMS, Whiteside TL : *Natural killer(NK) cells as effectors of antibody-dependent cytotoxicity with chimeric antibodies reactive with human squamous-cell carcinomas of the head and neck. Int J Cancer 1995 ; 61 : 864-872*
  - 13) Whiteside TL, Herberman RB : *Role of human natural killer cells in health and disease. Clin Diag Lab Immunol 1994 ; 1 : 125-133*
  - 14) Jung TTK, Berlinger NT, Juhn SK : *Prostaglandins in squamous cell carcinoma of the head and neck : A preliminary study. Laryngoscope 1985 ; 95(3) : 307-312*
  - 15) Balch CM, Dougherty PA, Tilden AB : *Excessive prostaglandin E2 production by suppressor monocytes in head and neck cancer patients. Ann Surg 1982 ; 196(6) : 645-650*
  - 16) Berlinger NT : *Deficient immunity in head and neck cancer due to excessive monocyte production of prostaglandins. Laryngoscope 1984 ; 94(11) : 1407-1410*
  - 17) Milanovich MR, Snyderman CH, Wagner R, Johnson JT : *Prognostic significance of prostaglandin E2 production by mononuclear cells and tumor cells in squamous cell carcinomas of the head and neck. Laryngoscope 1995 ; 105(1) : 61-65*
  - 18) Reed WR, Degowin RL : *Suppressive effects of pentoxifylline on natural killer cell activity. J Lab Clin Med 1992 ; 119(6) : 763-771*
  - 19) Malygin AM, Meri S, Timonen T : *Regulation of natural killer cell activity by transforming growth factor-beta and prostaglandin E2. Scand J Immunol 1993 ; 37(1) : 71-76*
  - 20) Droller MJ, Schneider MU, Perlmann P : *A possible role of prostaglandins in inhibition of natural and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity against tumor cells. Cellular Immunol 1978 ; 39 : 165-177*
  - 21) Brunda MJ, Herberman RB, Holden HT : *Inhibition of murine natural killer cell activity by prostaglandins. J Immunol 1980 ; 124(6) : 2682-2687*
  - 22) Butcher RW, Baird CE : *Effects of prostaglandins on adenosine 3',5'-monophosphate levels in fat and other tissues. J Biol Chem 1968 ; 243(8) : 1713-1717*