

갑상선 유두선암 환자의 말초 혈액 단핵구로부터 수지상세포 분화와 자가 세포독성 T 림프구 활성화 유도

송수근, 최영식, 박요한, 이대희¹⁾, 장희경²⁾

고신대학교 의과대학 내과학교실, 약리학교실¹⁾, 병리학교실²⁾

Stimulation of autologous cytotoxic T - lymphocyte responses by dendritic cell from patients of thyroid papillary carcinoma

Soo-Keun Song, Young-Sik Choi, M.D., Yo-Han Park, M.D.,
Dae-Hee Lee, M.D.,¹⁾ Hee-Kyung Chang, M.D.,²⁾

*Department of Internal Medicine, Department of Pharmacology,¹⁾ Department of Pathology,²⁾
Kosin University College of Medicine, Busan, Korea*

Abstract

Background: Dendritic cells (DCs) are rare leucocytes that are uniquely potent in their ability to capture, process and present antigens to T cells, and so selectively migrate through tissues to reach lymph nodes and spleen where initiation of immune responses takes place. It has been reported that a dense infiltration of dendritic cells correlates with a favorable prognosis in several types of cancer. A similar correlation also has been noted in patients with papillary carcinoma of thyroid. The purpose of this study is to determine whether DCs are generated from peripheral blood monocytes by using cytokines such as GM-CSF, TNF- α , and IL-4 and whether cytotoxic T cells activated by DCs attack the papillary carcinoma tissues. **Methods:** Peripheral blood was obtained from 2 patients with thyroid papillary cancer. DCs were established from monocytes by culturing in the presence of GM-CSF, Flt-3 ligand, TNF- α , and IL-4 for 14 days. At day 14, expression of surface markers typical for DCs was analyzed morphologically. The immunophenotypic features of DCs such as CD1a, CD83, and CD86 were analyzed by phase contrast microscopy. At day 15 DCs were incubated with thyroid cancer tissues and normal thyroid tissues for 7 days. **Results:** DCs were generated from the peripheral blood monocytes. The generated cells had the classic morphology of DCs. Activated cytotoxic T lymphocytes (CTLs) were observed. Veiled cell known as circulating DCs attached to the thyroid cancer tissues were observed. The CTLs activated by DCs were observed to attack the papillary carcinoma tissues by scanning electron microscope. However, normal tissues were not attacked by CTLs. **Conclusion:** DCs can be generated from the peripheral blood monocytes. Furthermore, the CTLs activated by DCs also can attack the papillary carcinoma tissues. These results suggest that DCs can be used as adjuvants for adoptive immunotherapy of papillary thyroid cancer.

Key words : Dendritic cell, Papillary carcinoma, Immunotherapy

서론

악성종양은 숙주면역반응을 피하거나, 저항할 수 있는 기전을 가지고 있다. 종양면역에 관한 연구의 주된 목표는 종양세포가 면역반응을 회피하는 방법을 알아내어 숙주의 면역반응을 증대시키는 것이다. 인체의 종양

교신저자 : 최 영 식
주소: 부산시 서구 암남동 34번지 고신대학교 복음병원
내분비내과
전화: 051-990-6641(연구실), 990-6102 (외래)
FAX: 051-248-5686
Email: yschoi@ns.kosinmed.or.kr

에서 면역반응을 회피하는 종양도피(tumor escape) 기전에는 주조직적합복합체(Major histocompatibility, MHC) 분자 발현의 조절약화, 종양항원을 발현하지 않는 암세포, 면역억제 물질 생성, 종양항원에 대한 내성 유도 등이 관여하며, 이러한 종양도피는 주로 종양 항원이 발현된 세포를 죽일 수 있는 세포독성 T 세포(cytotoxic T cell, CTL)가 항원을 인식하는 단계에서 일어난다.¹⁻³⁾ 종양에 대해 면역반응을 증강시키기 위해 종양이 자라는 부위에 BCG(Bacille Calmette-Guerin)와 같은 염증물질을 주사하여 비특이적으로 면역을 자극하거나, 종양환자로부터 분리한 말초혈액 내 백혈구를 고농도 IL-2 존재 하에 배양하여 생성된 림포카인-활성화 살해(lymphokine-activated killer, LAK) 세포를 환자에게 다시 주입하여 수동면역을 유도하는 방법들이 이용되었으나 그 효과가 미미하여,^{4,5)} 최근에는 죽은 종양세포나 종양항원을 이용하여 종양에 대한 면역반응을 증강시키려는 많은 연구가 시도되고 있다.

수지상세포는 생체 내에서 가장 강력한 항원제시세포로 알려져 있는 드물게 존재하는 백혈구로,⁶⁾ 다른 항원제시세포에 비해 주조직적합 펩타이드 복합체가 10배에서 100배 더 발현되는 것으로 알려져 있다.⁷⁾ 수지상세포는 항원 특이 T 세포에 항원을 제시할 뿐만 아니라, naive 및 memory CD4(+) 와 CD8(+) T 세포를 활성화시켜서,⁸⁻⁹⁾ 면역효과기 세포들의 수를 팽창시키는데 필요한 강력한 동시자극 신호(costimulatory signal)을 발생한다.¹⁰⁾ 또한 수지상세포가 직접 자연살해세포의 기능을 유도할 수도 있으므로,¹¹⁾ 수지상세포는 선천성 면역과 후천성 면역의 상호관계를 조절하는 기능도 있을 것으로 추정된다. 종양조직에서 수지상세포의 침윤은 종양의 예후와 관련이 있으며, 폐암, 비인두암, 식도암, 대장암 및 위암 등에서 수지상세포가 침윤한 경우 예후가 양호하다고 알려져 있으며,¹²⁻¹⁷⁾ 갑상선 유두선암에서도 수지상세포가 침윤된 경우 예후가 양호하다고 보고되어 있다.¹⁸⁻²⁰⁾

수지상세포의 면역학적 특성에 비추어 볼 때 수지상세포는 특정한 종양 백신(specific tumor vaccine)을 생산하는데 필요한 잠재적인 세포(cellular adjuvants)로 주목받고 있을 뿐아니라, 수지상세포를 이용한 능동면역을 증강시키는 치료법이 이전의 면역치료에 비해 훨씬 효

율적일 것으로 생각된다.²¹⁻²⁴⁾ 수지상세포를 이용한 면역치료는 흑색종, 전립선암, 비호지킨 림프종, 유방암, 난소암, 백혈병 및 다발성골수종에서 보고되고 있다.²⁵⁻²⁹⁾ 갑상선암에서 수지상세포를 이용한 종양백신 치료는 갑상선 수질암 7예 중 1예에서 부분 관해를 보고한 Schott 등의 연구가 있으나³⁰⁾ 다른 분화암에 관한 연구는 보고되어 있지 않다. 갑상선암은 다른 조직에서 발생한 암에 비해 비교적 천천히 자라고 예후가 양호하여, 수술 및 방사선 동위원소 치료로 대부분 치료가 되나, 이러한 치료에도 불구하고 약 10%의 환자가 사망하므로 새롭고 더 나은 치료 방법이 필요하며, 면역요법은 갑상선암에서 시도된 적이 별로 없어 새로운 치료 방법이 될 수 있다고 한다.¹⁾

본 연구는 갑상선 유두선암 환자의 말초혈액 단핵구에서 수지상세포의 분화를 유도시키고, 분화된 수지상세포에 의해 활성화된 자가 세포독성 T 세포가 유두선암 조직을 공격하는 지를 알아보고자 하였다.

대상과 방법

1. 대상

고신대학교 복음병원에서 갑상선 유두선암으로 진단된 환자 2예의 말초 혈액을 50 ml 씩 채집하였으며, 갑상선절제술 후 환자에서 획득한 악성종양조직과 결절주변의 정상조직으로부터 얻은 정상조직을 대상으로 연구를 시행하였다.

2. 방법

1) 말초혈액으로부터 단핵구의 분리

2예의 갑상선 유두선암 환자의 말초혈액 50 ml를 heparinized tube에 채취하여 1시간 이내에 Ficall-Hypaque (Histopaque-1077, Sigma, USA)로 처리하였다. 처리된 혈액은 50 ml 튜브에 넣은 후 1,800 rpm에서 20분 동안 원심분리하여 계면층의 단핵구를 파스퇴르 피펫으로 분리하였다. 얻어진 단핵구 분획에 phosphate buffered saline을 섞어 25 ml로 만들고 혈구계로 세포수를 계산한 후 1,200 rpm에서 2분간 원심분리하여 세척한 후 상층액을 제거했다.

2) 수지상세포 배양

분리한 말초 혈액 단핵구는 각각 2개로 나누어 X-Vivo 20 배지가 들어있는 배양용 플라스크(Corning Inc, Corning NY, T-75mm²)에 옮겼다. 5% CO₂와 95%의 공기가 공급되는 37 °C의 배양기에서 배양하였다. 1개의 플라스크에 수지상세포 분화유도제로 GM-CSF(LG chemical) 100 ng/ml, Flt3 Ligand(R&D system, Minneapolis, MN, USA) 100ng/ml, IL-4(RND system, Minneapolis, Mn, USA) 50 ng/ml, TNF-α((R&D system, Minneapolis, MN, USA)는 20 ng/ml로 최종 농도를 맞춰 배양하였다. 배양액은 매 3-4일마다 교환하였고 그때마다 같은 농도가 되도록 cytokine을 첨가하여 14일 동안 배양하였다.

3) 배양된 수지상세포 형태 관찰

배양 2일째부터 매일 위상차 현미경을 이용하여 세포 크기의 변화 및 집락형성 등을 관찰하였다. 14일 동안 배양하였으며 세포가 크고 세포질내에 과립이나 공포가 없는 풍부한 회색의 세포질을 갖고 장형의 세포질 돌기가 형성된 것을 성숙 수지상세포로 간주하였다.

4) T 림프구 배양

각각의 말초혈액 림프구는 수지상세포가 들어있는 X-Vivo 20 배지에서 혼합 배양하였다.

5) 자가 T 세포 활성화 및 갑상선조직의 감작

갑상선종양과 정상조직은 수술 당시 분리하여 X-Vivo 20배지에 넣어 보관하였다. 14일동안 배양된 수지상세포와 갑상선암 조직을 함께 혼합 배양을 하였으며 배양 1일째부터 T 림프구를 활성화시키기 위해 1000 IU/ml의 IL-2(proleukin, Chiron, USA)를 추가하여 7일간 혼합 배양하였다.

6) 병리조직학적 검사

(1) 광학현미경검사

배양된 조직을 10% 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매한 후 포매된 조직을 4um 두께로 3장씩 박절하고, 각각을 항온기에서 56-58 °C로 30분간 건조시킨후 실온에서 파라핀을 제거한 뒤, 다단계 농도의 알코올로 탈수시

킨 후 헤마톡실린-에오진 염색을 실시하였다(Fig. 1, 2).



Fig. 1. The microscopic finding of non-neoplastic thyroid tissue culture after being formalin fixed paraffin embedded. This view shows dilated thyroid follicles with few lymphocyte infiltration (H-E, x 100).

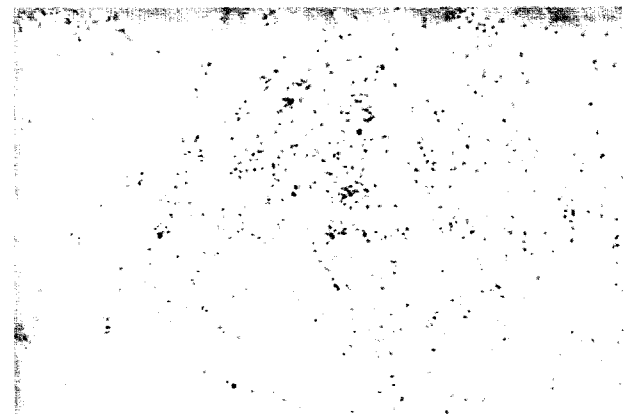


Fig. 2. The microscopic finding of tumor culture after being formalin fixed paraffin embedded. The papillary carcinoma with increased lymphocyte infiltration is noted (H-E, x 100).

(2) 면역 조직 화학적 검사

갑상선 조직 여부를 확인하기 위하여 티로글로불린, 과 T-임파구를 확인하기 위하여 CD45 면역 염색을 실시하였다. 면역 조직 화학적 검사는 10% 중성 포르말린에 고정한 후 파라핀에 포매한 조직을 4 μm 두께로 2장씩 박절하고, 각각을 항온기에서 56-58 °C로 30분간 건조시킨후 실온에서 파라핀을 제거한 뒤, 다단계 농도의 알코올로 탈수시켰다. 파라핀 절편을 내인성 과산화 효소 활성을 억제하기 위하여 methanol에서 0.3% 과산화 수소를

사용하여 30분간 처리한 후 인산염 완충액으로 2-3회 세척한다. 비특이적 반응을 제거하기 위하여 정상 차단 양혈청(Dako kit 1:5)으로 15분간 전처리하였다. 일차 항체인 티로글로불린과 T-세포 항체를 각각의 슬라이드 위에 상온에서 2시간 반응시킨 후 DAKO-LSAB kit를 이용하여 biotinylated antibody와 과산화수소가 부착된 streptavidin을 결합시켰다. 3-amino-9-ethyl carbazole를 사용하여 3-5분간 발색과정을 거친 후 헤마톡실린으로 대조 염색하여 봉입제로 봉입하고 광학 현미경으로 관찰하였다. 음성 대조군으로는 일차 항체 대신에 정상 양혈청을 사용하였다.

(3) 주사전자현미경 검사

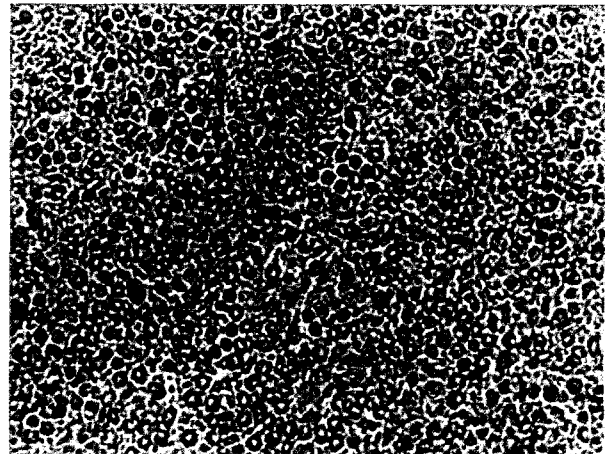
3x2x2 mm 크기의 배양된 종양조직 검체를 0.1 M phosphate 완충액에 수세한 후 2.5% glutaraldehyde에 24시간 고정하였다. 후고정은 1% osmium tetroxide로 하였다. 그 후 1시간 증류수에 수세한 후 에탄올을 이용하여 탈수하고, isoamyl acetate로 치환하였다. 임계점건조기를 이용하여 액체 CO₂로 건조한 후 시료대에 부착하였다. 마지막으로 검체를 ion sputter장치 내에서 20nm gold palladium을 이용하여 증착한 후 갑상선종양 세포표면에서의 수지상세포, T세포의 분포 및 이동을 주사형 전자현미경(Hitachi, S-520)으로 15 kV에서 검정하였다.

결 과

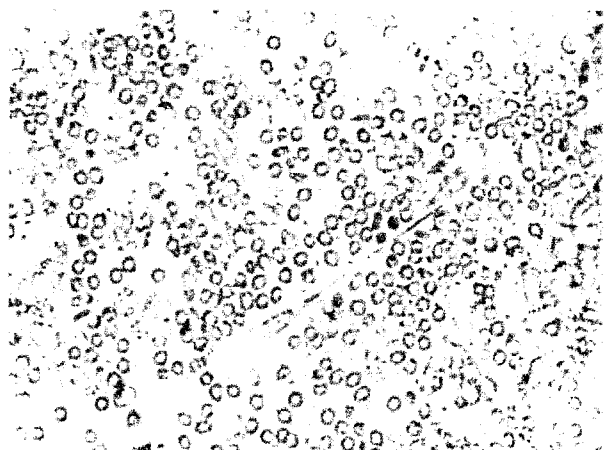
1) 환자의 말초혈액 단핵구로부터 수지상세포 배양

배양 중 위상차 현미경을 통하여 세포의 형태를 관찰한 결과 세포는 배양 3-4일부터 세포의 크기가 커지며 돌기가 생성되기 시작하였다(Fig 3). 각각의 배양 플라스크에서의 돌기생성 및 세포질의 변화 등을 매일 사진 촬영으로 기록하였다. 세포가 점차 거대해지고 세포핵이 엷상으로 변하며 세포질 주위로 가늘고 긴세포질 돌기를 관찰할 수 있었다. 14일 동안 단핵구를 배양해서 유도시킨 결과 전형적인 돌기를 가진 세포질이 풍부한 세포를 관찰할 수 있었다(Fig 4). 14일 동안 배양된 수지상세포와 갑상선 암조직과 장상조직을 각각 혼합 배양한 후, 배양 1일째부터 T 림프구를 활성화시키기 위

해서 1000 IU/ml 의 IL-2(proleukin, Chiron, USA)를 추가하여 T 림프구가 활성화됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 4).

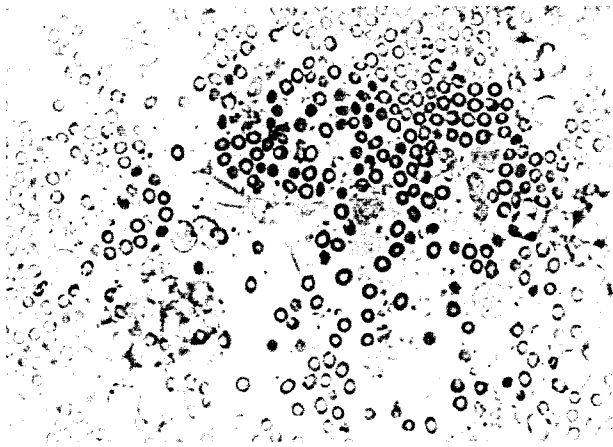


(a)

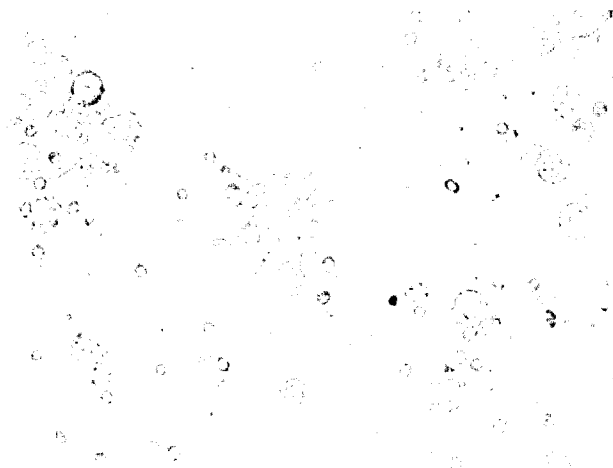


(b)

Fig. 3. Morphology of freshly isolated and cultured peripheral blood mononuclear cells (PBMNCs) of papillary thyroid carcinoma patients with best yield of a dendritic cell. Phase contrast micrograph shows freshly isolated PBMNCs on day 2 (a, x 100) and a typical dendritic cell developing from PBMNCs after 5 day culture in GM-CSF, IL-4, Flt3-L, and TNF- α (b, x 400).



(c)



(d)

Fig. 4. Phase contrast micrographs of freshly isolated PBMNCs during the course of culture. Cells were cultured for 8 days (a, x 400) and for 14 days (b, x 400) in Flt3-L, GM-CSF, IL-4, and TNF- α . The generate cells showed typical morphology of mature DCs including multiple dendrites and profuse cytoplasm at day 14.

2) 배양된 수지상세포의 표현형

FITC 단클론 항원을 이용하여 수지상세포를 현미경으로 관찰한 결과 수지상세포의 가장 특이표현형인 항 CD83과 항CD86 항체에 대하여 세포표면에 녹색형광물질로 염색이 되어 있는 것을 관찰 할 수 있었다. 이러한 발현은 정상조직에 감작시킨 대조군에 비해서 종양조직에 감작시킨 군에서 보다 더 현저하게 관찰되었다.

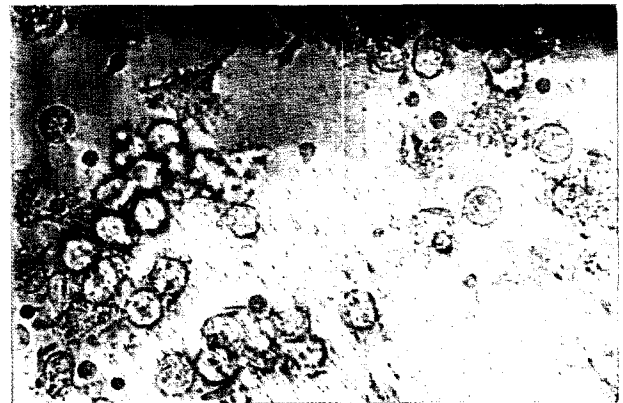
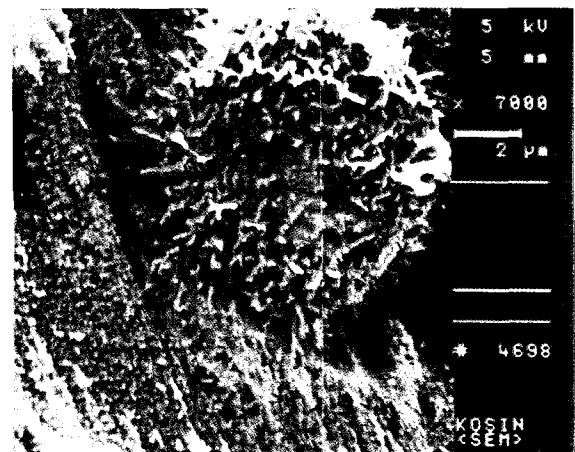
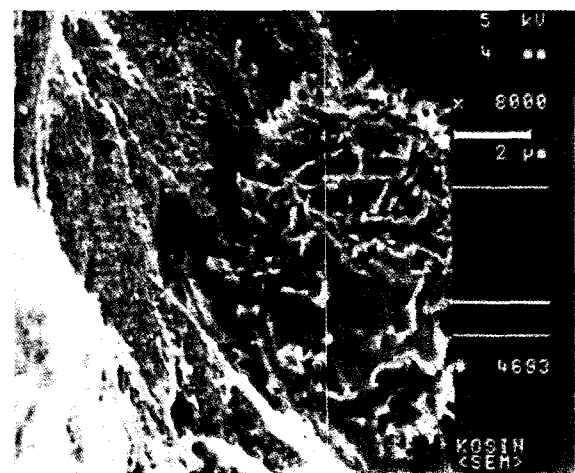


Fig. 5. The morphology of activated T cells. This view shows activated T cells and dendritic cells during culture with IL-2 (x 400 original magnification). Activated T cells show multiple pseudopods and abundant nucleosomes.



(a)



(b)

Fig. 6. Scanning electron micrographs of activated T cell. An activated T cell adheres to the papillary thyroid cancer tissue

(a, x 7000) and attacks the thyroid cancer tissue (b, x 8000).

3) 수지상세포에 의한 자가 T 세포 활성화 및 활성화 T 세포의 종양조직에 대한 살해능

2명의 환자로 부터 채취한 정상조직과 종양조직에 대한 림프구의 반응을 주사전자현미경으로 관찰한 결과 수지상세포를 정상조직에 감작시킨 대조군에 비하여 종양조직에 감작시킨 군에서 배양된 림프구가 보다 더 현저하게 세포독성 T 림프구로 분화되고 활성화되었으며 (Fig. 6a), 세포 표면에도 위족(pseudopodia) 모양의 세포질 돌기가 왕성하게 발달하여 종양조직을 파괴하고 암조직을 용해시키고 있는 부위도 관찰되었다(Fig. 6b). 반면 정상 대조군에서는 수지상세포가 관찰되지 않았고 T 세포의 세포질 돌기도 뚜렷하게 발현되지 않았다(Fig. 7).

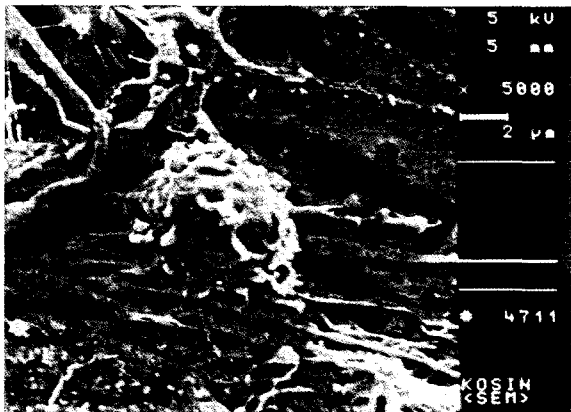


Fig. 7. Scanning electron micrograph of a non-activated T cell. This view shows a T cell was not activated when cultured with normal thyroid tissue (x 5000).

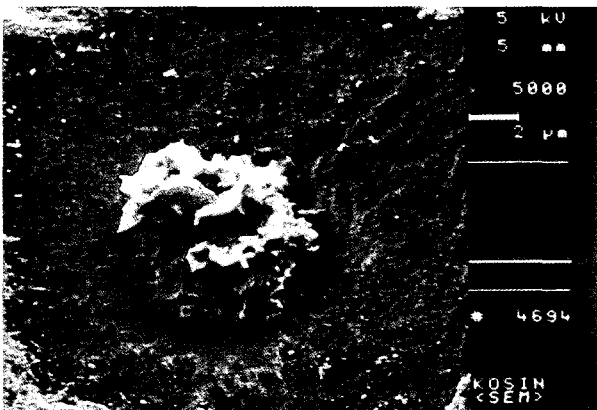


Fig.. 8. Scanning electron micrograph of a veiled cell. A veiled cell is attached to the papillary thyroid cancer tissue (x 5000).

4) 말초 혈구세포에서 유래된 수지상세포의 종양조직 침윤

활성화된 T 림프구와 더불어 갑상선 유두선암 조직에 부착되어 있는 veiled cell 형태의 수지상세포를 관찰하였다(Fig. 6).

고찰

수지상세포는 1973년 Steinman과 Cohn에 의해 항원 제시 세포로서의 중요성이 밝혀지게 되었으나,³¹⁾ 불과 10년 전까지만 해도 인체 내에서 세포 수가 적고 특정한 세포표면 표지자가 밝혀지지 않아 수지상세포에 관한 면역학적 연구는 거의 보고되지 않았다. 골수의 전구세포로부터 기원하는 수지상세포는 뇌를 제외한 거의 모든 조직에 산재하며, 말초 단핵구의 1% 이하를 차지한다.³²⁾ 수지상세포의 계통은 그들이 상주하는 해부학적인 구획에 따라 4 가지 단계로 구분할 수 있다. 전구세포는 골수와 혈액에, 미성숙 수지상세포는 말초의 림프조직이 아닌 곳에, 성숙단계 과정의 이동중인 수지상세포는 유입성 림프관과 혈액에, 그리고 성숙한 수지상세포는 2차 림프조직에 존재한다.³³⁾ 전구세포는 골수에서 기원하여 혈액으로 들어가서 림프조직이 아닌 곳에 산재하면서 미성숙 수지상세포로 분화해 간다. 미성숙 수지상세포는 소화관을 포함한 많은 기관의 상피와 간질조직에 존재한다.³⁴⁾ 이들 미성숙 수지상세포는 항원의 포획과 처리, 주조직적합체의 생산, 그리고 주조직적합체-외부 펩타이드의 결합을 생성할 수 있는 능력이 있으나 T세포를 활성화시키는 기능은 거의 없다. 2차 림프조직으로 이동해온 수지상세포는 MHC class I 및 II, leukocyte function associated-3 antigen(LFA-3), CD54, CD40, CD80 그리고 CD86 같은 세포표면항원과 costimulatory molecules의 발현 또는 발현의 증가와 두 종류의 CC chemokine 수용체, CCR1과 CCR5의 발현 감소로 1차 T세포의 면역 반응을 유발할 수 있는 능력을 가지게 된다.³⁵⁾ 성숙단계에서 수지상세포는 IFN- α 와 IL-12를 생성하고 다른 macrophage inflammatory protein (MIP)-1 γ , IL-1, IL-6 그리고 IL-15들과 함께 1차적인 면역반응을 유발한다.³⁶⁾ 수지상 세포에 의해 자극받은 CD4

helper T cell은 cytokines을 분비하여 종양이 있는 병소에서 세포독성 T 세포뿐만 아니라 자연살해세포, 항원제시세포, 그리고 다른 염증 세포들이 활성화시킨다.

수지상세포는 존재하는 부위에 따라 분류할 수 있다. 피부나 점막부위에 위치한 경우 Langerhans 세포, 심장, 폐, 신장등의 주요 장기에 분포하는 경우 interstitial 수지상세포, 2차림프조직과 흉선수질에 위치한 경우 interdigitating 수지상세포라고 하며, 혈액 중에 존재하는 수지상세포는 circulating 수지상세포 또는 veiled 세포라고 한다. 본 연구에서 주사현미경에서 관찰된 veiled 세포는 말초혈구에서 유래된 것임을 알 수 있다.

말초 혈액의 단핵구를 이용한 수지상세포의 분화에는 GM-CSF, IL-4, TNF- α , Flt-3 ligand (FL), CD40L 등의 cytokine이 필요하다. 본 연구에서도 이들 cytokine들을 이용하였다. GM-CSF는 골수계와 대식세포계의 조상세포에 반응하는 것과 같이 골수계로부터 유래한 수지상세포에 보편적으로 반응하며 분화를 촉진한다. IL-4는 골수단핵계 조상세포로부터 골수 세포나 대식세포로의 분화를 억제한다. 특히 Flt-3 ligand 는 tyrosine kinase 수용체와 결합해서 미성숙한 수지상세포를 지지해준다. TNF- α 는 정상 말초혈액의 단핵구가 항원을 포획하여 MHC와 부분자(accessory molecule)의 발현을 증가시킬 수 있으며, T 세포의 자극효과를 극대화시키는 성숙 수지상세포의 기능을 갖게 한다. 본 연구에서 배양된 수지상세포의 표현형은 정도의 차이는 있었지만 성숙 수지상세포에서 양성인 CD83 표현형과 CD86, CD1a에 모두 양성 반응을 나타내었다.

면역체계가 종양의 증식을 제한하거나 예방한다는 것은 많은 연구들에 의해 알려져 왔으며, 면역감시에 대한 개념은 종양세포의 표면항원이 면역효과 분자들에 의해 인지된다는 가설에 기초를 두고 있다. 부검한 환자의 약 10%에서 갑상선 잠재암이 발견되었는데, 이는 갑상선암은 indolent 한 형태의 암이 많음을 시사한다. 이러한 indolent 한 종양이라도 면역체계가 파괴되면 급격한 전환이 일어나 주위로 전이가 되는 중독한 경우로 진행할 수 있다. 갑상선암에서 종양주위에 림프구의 침윤이 관찰되고 있으며, 림프구의 침윤이 있는 경우가 림프구의 침윤이 없는 경우에 비해 예후가 양호한 것으로 보고되고 있다.^{37,38)} 종양조직에서 수지상세포의 침윤 또한 여

러 종양에서 예후와 관련이 있으며, 갑상선 유두선암에서도 수지상세포가 침윤된 경우 예후가 양호하다고 보고되어 있다.¹⁸⁻²⁰⁾ 본 연구에서도 수지상세포가 T세포의 분화를 유도할 뿐아니라 수지상세포에 의해 감작된 T세포가 갑상선암 세포를 직접공격하여 암세포를 용해시키는 것을 관찰할 수 있었다.

갑상선암에서 HLA 항원이 발현됨을 보고 되어있으며, 발현되는 HLA 항원은 갑상선암 종류 및 인종간에 차이가 있다.³⁹⁾ 본 연구에서 수지상세포에 의해 증식된 T세포가 갑상선암세포를 공격하는 것은 갑상선암세포에서는 HLA class I 분자에 종양항원이 표현되나, 반면 정상조직에서는 종양항원이 발현되지 않음을 시사해준다.

갑상선암은 면역치료가 가장 먼저 시도되었던 종양이다. 1975년에 Amino 등⁴⁰⁾은 원격전이 된 2예의 유두선암과 1예의 유두상-여포선암 환자의 자가 조직을 추출하여(homogenized extract) 면역치료를 시행하여 1예에서 종양의 크기가 33% 줄어들었으며 이런 효과가 1년이상 지속됨을 보고하였다. 갑상선종양에서의 수지상세포를 이용한 면역치료는 수질암 환자에 calcitonin과 CEA를 double pulsed 시킨 수지상세포를 이용하여 간 전이가 있는 7예의 환자 중 1예에서 부분적 관해를 보고하였다. 실험실 연구에서는 Tumor lysate-pulsed 수지상세포를 이용하여 수지상세포가 자가 수질암조직에 대해 HLA-class I에 제한된 세포독성 T세포의 반응을 증가시키는 것을 관찰하였다.수질암에 대한 연구가 가능한 것은 수질암은 calcitonin과 CEA등의 종양특이 항원이 존재하기 때문이다. 그러므로 유두선암에 대한 입양면역요법을 위해서는 갑상선 유두선암에 특이적인 항원이 존재하여야 한다. 갑상선에 특이적인 항원으로는 현재 자가면역 갑상선질환의 연구에서 밝혀진 갑상선 특이항원인 티로글로블린, 갑상선 과산화효소(thyroid peroxidase, TPO) 및 갑상선자극호르몬 수용체와 갑상선암에 특이적인 항체인 epithelial membrane antigen (EMA), 전사효소인 TTF-1과 PAX-8, 및 Leu-7 등의 항원이 알려져 있다. 갑상선암은 모든 내분비계 악성종양의 90%를 차지하고, 전체 악성종양으로 인한 사망의 약 0.5%를 차지한다. 분화된 갑상선암은 다른 조직에서 발생한 암에 비해 비교적 천천히 자라며, 예후가 양호한

것으로 알려져 있으나, 유두선암의 30-50%는 진단 당시에 경부 및 림프절의 전이가 있으며, 5%에서는 원격전이가 동반된다고 한다.⁴¹⁻⁴³⁾ 갑상선암의 치료는 갑상선절제술과 방사선요오드 치료 그리고 지속적으로 갑상선호르몬을 이용한 억제요법이 표준적인 치료방법으로 이용되고 있으나, 초기에 적절히 치료를 하여도 수술 후 5-20%의 환자에서 원격전이가 발생하고, 원격전이가 발생한 경우 5년 생존율은 50% 정도로 감소하므로 원격전이는 갑상선암의 주요한 사인으로 작용한다. 또한 20년 누적재발율이 30%에 이를 정도로 재발하는 경향이 높으므로, 수술 및 방사선 동위원소 치료외에 새롭고 더 나은 치료 방법이 필요하며, 면역요법은 갑상선암에서 시도된 적이 별로 없으나 향후 새로운 치료 방법이 될 수 있다고 한다.¹⁾

결 론

본 연구에서는 말초혈액에서 수지상세포의 분화를 유도할 수 있었고, 말초혈액에서 분화된 수지상세포가 T세포의 분화를 증가시키는 것과 수지상세포에 의해 활성화된 세포독성 T세포가 갑상선 유두선암세포를 공격하는 것을 관찰할 수 있었다. 갑상선 유두선암의 면역치료를 수지상세포를 이용한 연구를 위해서는 향후 tumor lysate-pulsed 수지상세포나 갑상선암에 특이적인 항원을 감작시킨 수지상세포를 이용한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Boyd CM, Baker JR: The immunology of thyroid cancer. *Endocrinol and Metab Clin North Am* 25: 159-179, 1996
2. Cheever MA, Bernhard H, Gralow JR, Huseby ES, Takahashi M, Chen W: Immunity to oncogenic proteins. *Immunological Reviews* 145:33-60, 1995
3. Coulie PG: Human tumor antigens recognized by T cells: new perspectives for anticancer vaccines? *Molecular Med Today* 3:261-268, 1997
4. Pardoll DM: Cancer vaccines. *Nat Med* 4: 525-531, 1998
5. Ockert D, Schmitz M, Hampl M, Rieber EP: Advances in cancer immunotherapy. *Immunol Today* 20: 63-65, 1999
6. Banchereau J, Steinman RM: Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 392: 245-252, 1998
7. Inaba K, Pack M, Inaba M, Sakuta H, Isdell F, Steinman RM: High levels of a major histocompatibility complex II-self peptide complex on dendritic cells from the T cell areas of lymph nodes. *J Exp Med* 186:665-672, 1997
8. Steinman RM: The dendritic cell system and its roll in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 9:271-296, 1991
9. Dhodapkar MV, Krasovsky J, Steiman RM, Bhardwaj N: Mature dendritic cells boost functionally superior CD8(+) T-cell in humans without foreign helper epitopes. *J Clin Invest* 105:9-14, 2000
10. Bottomly K: Immunology - T cells and dendritic cells get intimate. *Science* 283: 1124-1125, 1999
11. Fernandez NC, Lozier A, Flament C: Dendritic cells directly trigger NK cell functions: Cross-talk relevant in innate anti-tumor immune responses in vivo. *Nat Med* 5: 405-11, 1999
12. Ambe K, Mori M, Enjoji M: S-100 protein positive dendritics in colorectal adenocarcinomas. *Cancer* 63:496-503, 1989
13. Furihata M, Ohitsuki Y, Ido E, Iwata J, Sonobe H, Araki K, Ogoshi S, Ohimori K: HLA-DR antigen- and S-100 protein-positive dendritic cells in esophageal squamous cell carcinoma and their distribution in relation to prognosis. *VirchowsArchiv B Cell Pathol.* 61: 409-414, 1992
14. Furukawa T, Watanabe S, Kodama T, Sato Y, Shimosato Y, Suemasu K: T-zone histocytes in adenocarcinoma of the lung in relation to postoperative prognosis. *Cancer* 56: 2651-1656, 1985
15. Matruura H, Sugimachi K, Ueo H, Kuwano H, Koga Y, Okamura T: Malignant potentiality of squamous cell carcinoma of the esophagus predictable by DNA analysis. *Cancer* 57:1810-1814, 1986
16. Nomori H, Watanabe S, Nakajima T, Shimosato Y, Kameya T: Histocytes in nasopharyngeal carcinoma in relation to prognosis. *Cancer* 57:100-105, 1986
17. Tsujitani K, Kakeji Y, Watanabe S, Kohnoe S, Maehara Y, Sugimachi K: Infiltration of dendritic cells in relation to tumor invasion and lymph node metastasis in human gastric cancer *Cancer* 66:2012-2016, 1990
18. Schroder S, Schvartz W, Rehpenning W, Loning T, Bocker W: Dendritic/Langerhans cells and prognosis in patients with papillary thyroid carcinomas. *Immunohistochemical study of 106 thyroid neoplasms correlated to follow-up data. Am. J. Clin. Pathol.* 89:295-300, 1988
19. Schroder S, Bay V, Bocker W, Kastendieck H: Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma. S-100 protein immunohistochemistry and prognosis. *Virchows Archiv. A Pathol Anat.* 416:367-371, 1990
20. Yamakawa M, Kato H, Takagi S, Karube Y, Seki K, Imai T: Dendritic cells in various human thyroid diseases. *In Vivo* 7: 249-256, 1993
21. Kolb HJ, Holler E: Adoptive immunotherapy with donor lymphocyte Transfusion. *Curr Opin Oncol* 9:139-145 1997
22. VanVoorhis WC, Valinsky J, Hoffman E, Luban J, Hair LC, Steinman RM: Relative Efficacy of human monocyte and

- dendritic cell as an accessory cell for T cell replication. *J Exp Med* 184: 456-472, 1996
23. Harrison BD, Adams JA, Briggs M, Brereton M, Yin JA. Stimulation of autologous proliferative and cytotoxic T-cell responses by "leukemic dendritic cells" derived from blast cells in acute myeloid leukemia. *Blood* 97: 2764-2771, 2001
24. Takayama T, Sekine T, Makuuchi M, Yamasaki S, Kosuge T, Yamamoto J, Shimada K, Sakamoto M, Hirohashi S, Ohashi Y, Kakizoe T: Adoptive immunotherapy to lower postsurgical recurrence rates of hepatocellular carcinoma: a randomised trial. *Lancet* 356: 802-807, 2000
25. Tjoe B, Erickson S, Barren III R, Ragde H, Kenny G, Boynton A, Murphy G: In vitro propagated dendritic cells from prostate cancer immunotherapy. *prostate* 27: 63-69, 1995
26. Nestle FO, Alijagic S, Gillet M, Sun Y, Grabbe S, Dummer R, Burg G, Schadendorf D: Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nature Med* 4: 328-332, 1998
27. Reichardt VL, Okada CY, Liso A, Benike CJ, Stockerl-Goldstein KE, Engleman EG, Blume KG, Levy R: diotype vaccination using dendritic cells after autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma--a feasibility study. *Blood* 93:2411-2419, 1999
28. Hsu FJ, Benike F, Fagnoni: Vaccination of patients with B cell lymphoma using autologous antigen- pulsed dendritic cells. *Nat. Med* 2 : 52-58, 1996
29. Brugger W, Brossart P, Scheding S, Stuhler G, Heinrich K, Reichardt V, Grunebach F, Buhning HI, Kanz L: Approaches to dendritic cell-based immunotherapy after peripheral blood stem cell transplantation. *Ann N Y Acad Sci.* 872: 363-371, 1999
30. Schott M, Seissler J, Lettmann M, Fouxon V, Scherbaum WA, Feldkamp J: Immunotherapy for medullary thyroid carcinoma by dendritic cell vaccination. *J Clin Endocrinol Metab* Oct;86(10):4965-9, 2001
31. Steinman RM, Cohn ZA: Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med* 137:1142-1162, 1973
32. Fearnley DB, Whyte LF, Carnoutsos SA, Cook AH, Hart DNI: Monitoring human blood dendritic cell numbers in normal individuals and in stem cell transplantation. *Blood* 93: 728-736, 1999
33. Austyn JM: New insights into the mobilization and phagocytic activity of dendritic cells. *J Exp Med* 183: 1287-1292, 1996
34. Matsuno K, Ezaki T, Kudo S, Uehara Y: A life stage of particle-laden rat dendritic cells in vivo: Their terminal division, active phagocytosis, and translocation from the liver to the draining lymph. *J Exp Med* 183: 1865-1878, 1996
35. Sozzani S, Allavena P, D'Amico G: Differential regulation of chemokine receptors during dendritic cell maturation: A model for their trafficking properties. *J Immunol* 161: 1083-1086, 1998
36. Lotze MT: Getting to the source: dendritic cells as therapeutic reagents for the treatment of patients with cancer. *Ann Surg* 226: 1-5, 1997
37. Maceri DR, Sullivan MJ, McClatchney KD: Autoimmune thyroiditis: Pathophysiology and relationship to thyroid cancer. *Laryngoscope* 96:82, 1986
38. McConahey WM, Hay ID, Woolner LB: Papillary thyroid cancer treated at the Mayo Clinic, 1946 through 1979: Initial manifestations, pathologic findings, therapy, and outcome. *Mayo Clin Proc* 61:978, 1986
39. Rigopoulou D, Martinez-Laso J, Martinez-Tello F: Both class I and II HLA antigens are thyroid cancer susceptibility factors. *Tissue Antigens* 43:281-285, 1994
40. Amino N, Pysher T, Cohen EP: Immunologic aspects of human thyroid cancer. Human and cell-mediated immunity and a trial of immunotherapy. *Cancer* 36:963, 1975
41. Mazzaferri EL, Young RL, Ortel JE, Kemmerer WT, Page CP: Papillary thyroid cancer: the impact of therapy in 576 patients. *Medicine* 57:171-196, 1977
42. Donohue JH, Goldfien SD, Miller TR, Clark OH: Do the prognosis of papillary and follicular thyroid cancer differ? *Am J Surg* 148: 168-173, 1984
43. Ruegemer JJ, Hay ID, Bergstrahl EJ, Ryan JJ, Offord KP, Gorman CA: Distant metastases in differentiated thyroid carcinoma: a multivariate analysis of prognostic variables. *J Clin Endocrinol Metab* 67:501-508, 1988