

면역결핍누드쥐에 이식된 neuroblastoma에서의 물질전달에 미치는 인자의 특성

이종빈, G. R.* DiResta, E. Arbit

=Abstract=

The Characterization of Mass Transfer Factors in Neuroblastoma Implanted in Immunosuppressed Nude Rats

Jong bin Lee, Gene R. DiResta* and Ehud Arbit

The chemotherapy using macromolecules, i.e., monoclonal antibodies loaded with anticancer agents hasn't been successful in delivering therapeutic amount of the conjugates. The comprehensive evaluation of mass transfer factors in tumor is prerequisite for the development of the effective chemotherapy. Characterization of neuroblastoma implanted in immunosuppressed athymic nude rats was performed. Its growth kinetics, glucose metabolic rate(GMR) were measured along with the interstitial fluid pressure(IFP), blood perfusion rate(BPR) and pH distribution throughout the tumor radius.

Volume doubling time and GMR were 8.1 days (SD 0.44 day), 23.53 mg/min/100 g (SD 3.54 mg/min/100 g), respectively. The IFP in tumor center was increased with tumor volume, and approached to 3 mmHg (SD 2.6 mmHg) when the tumor was 3 cm high. The radial distribution of IFP, BPR and pH in 2 cm high tumors showed that BPR and pH were decreased, while IFP was increased as the sensors moved toward the tumor center. The elevated IFP, decreased BPR and pH in tumor center suggested that the delivery of conjugates might be increased by properly manipulating mass transfer factors.

Key words : Growth kinetics, Glucose metabolic rate, Interstitial fluid pressure, Blood perfusion rate, Tumor, Neuroblastoma

서 론

암은 전체 미국인의 사망원인 순위중에서 심장마비에 이어 두번째를 차지하고 있어서 오늘날까지도 심각한 공

중보건문제로 대두되고 있다. 암치료는 항암제치료, 수술 제거, 방사선치료, 면역치료 등으로 분류되며 현재는 이들의 장단점을 서로 보완하는 혼합치료법이 발달하여 완치율도 점차 높아지고 있다. 그러나 발생률이 높은 암을 연

신경외과 연구실

Neurosurgical Research Laboratory

* 핵의학 연구실

메모리얼 슬로온 케터링 암연구소

* Nuclear Medicine Research Laboratory, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, 1275 York Avenue, New York, New York 10021 U.S.A.

통신저자: Jongbin Lee, Neurosurgical Research Laboratory, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, 1275 York Ave., New York, NY 10021, U.S.A.

구하는 동안 다른 암의 발생이 증가하는 경향이 있어서 근본적인 치료법 개발이 시급하다.

항암제란 암세포를 죽이거나 분열을 제어할 수 있는 화학물질을 말한다. 대부분 항암제들은 세포분열이나 에너지사이클 중 필수화합물과의 경쟁반응으로 암성장과정을 억제하므로 정상세포 중에서도 계속 분열하는 골수, 장자점막, 모발세포, 정낭세포 등에 치명적인 부작용을 일으킨다¹⁾. 그러므로 이상적인 항암제는 부작용이 일어나지 않을 정도의 소량을 주입해서 치료효과를 얻을 수 있어야 할 것이다.

Kohler와 Milstein²⁾에 의하여 개발된 하이브리도마법은 특정한 암세포를 항원 (tumor-associated antigen)으로 하는 단세포군항체 (monoclonal antibody)의 대량생산을 가능케 하여 암전문사의와 연구진들의 큰 관심을 모았다. 단세포군항체에 항암독소, 항암치료제, 동위원소, 인공유전자 등을 결합하여 환자에 주사하면, 그 항원을 가지고 있는 암세포속으로만 선별적으로 전달될 것이라는 가정아래 많은 연구가 진행되어 왔다. 그러나 처음에 기대했던 것과는 달리, 내부에 전달된 단세포군항체가 이론적인 양에 미치지 못하자³⁾, 최근에는 암내부의 물질전달에 미치는 인자들에 대한 연구가 시작되었다^{4, 5)}. 특히, 유전공학 또는 면역학용 용으로 개발된 화합물을 단세포군항체와 결합시킨 공합체 (conjugates)는 종래의 항암제에 비하여 큰 분자임으로 전달인자들에 대한 연구가 더욱 절실하다고 여겨졌다.

본 연구에서는 면역결핍누드쥐에 이식된 neuroblastoma의 성장특성을 규명하고, 암내부의 포도당대사속도 (GMR)를 측정하여 세포의 활동성을 확인하고자 하였다. 또한 세포간체액압력 (IFP), 국부혈액속도 (BPR)와 pH 등을 측정하여 전달현상을 밝히고, 단세포군항체와 그 공합체의 전달을 증가시킬 수 있는 새로운 방법을 개발하고자 하였다.

실험방법

1. 암 이식법 (tumor implantation)

체중 220g의 면역결핍누드쥐 (Cr: NIH-rnu)를 미국암연구소 (NCI, Md)로부터 구입하여 완전소독된 음압조건의 특수시설에서 관리하였다. neuroblastoma를 쥐로 이종이식시키기위해서 하루전에 1.2 ml/Kg body wt의 cyclophosphamide (ASTA Pharma AG, Germany)를 복강내에 주사하였다. 환자로부터 얻어진 조직에서의 암세포를 분리배양하여 안정시키고 누드쥐에 피하주사하여 일세대 암조직을 얻었는데, 그 후로는 암조직을 5~10mm³ 크기로 잘라

서 등아랫쪽의 근육질상부에 이식시켰다. 실험에 사용된 neuroblastoma NMB-7은 이와같이 쥐에게 연속피하이식하여 유지하였다.

2. 암성장 특성 (growth characteristics)

암성장특성은 시간에 따른 암부피의 증가함수로부터 부피배가시간을 구하여 결정하였다. 이식후 약 3주가 지나 암조직이 5mm 정도 자라면 캘리퍼로 크기를 측정하여 부피로 환산했다. 암부피의 계산은 암을 넓이, 길이, 높이로 측정하여 피부두께를 제한 후 타원체부피공식에 대입하였다.

$$V = \frac{4\pi}{3} (W/2)(L/2)(H/2) = \frac{\pi}{6} WLH \quad (1)$$

식 1에서 V는 암부피 (cm³)이며, W, L, H는 암의 넓이, 길이, 높이 (cm)로 나타내었다. 측정계산된 암부피와 실제 암부피와의 관계를 규명하기위하여 크기가 다른 10개의 암을 캘리퍼로 측정된 뒤, 쥐에서 떼어내어 증류수로 반쯤 채워진 눈금매긴 비이커에 침강시킨 후의 증가된 물높이를 실제 암부피로 정의하여 그 상관계수를 얻었다.

암부피는 시간에 따라 지수함수로 증가하므로 부피배가 시간 (volume doubling time) Td를 계산하기 위하여 다음식을 사용하였다.

$$V_t = V_0 \exp(0.63t/Td) \quad (2)$$

식 2에서 V_t는 계산된 암부피 (cm³), V₀는 초기암부피 (cm³), t는 시간 (day)이며, Td는 부피배가시간 (day)으로 써, 부피데이터를 반로그좌표에 그려 Td를 얻을 수 있었다.

3. 포도당 대사속도 (glucose metabolic rate, GMR)

BGO coincidence detecting system⁷⁾은 single positron emission tomography (PET)로써 뇌, 심장, 암조직 등의 물질대사 연구와 BPR측정에 이용되고 있다. 본 실험에서는 양성자방출 동위원소인 F18을 deoxyglucose와 결합시킨 후 주사하여 Fig. 1과 같은 NIM BIN module로 측정하였다.

쥐를 1.5% halothane (Halocarbon Lab, SC)으로 마취시킨 다음 대퇴부동맥과 정맥에 각각 PE50 및 PE90 (Clay Adams, NJ)관를 삽입하여 넣은 후 NIM BIN module로 옮겨, 암이 BGO detector사이에 위치하도록 실험대를 조절하였다. 그후 3uCi/g body wt의 F18DG를 주입함과 동시에 대퇴부동맥관으로 혈액검체를 계획된 시간마다 얻었

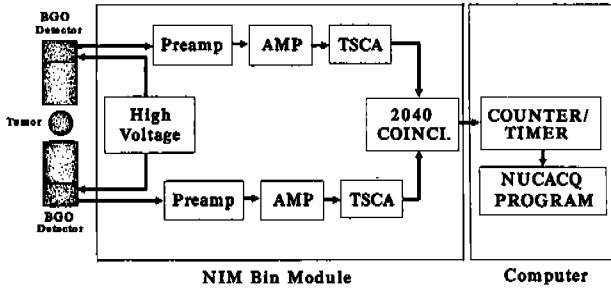


그림 1. Coincidence detecting system 의 구성도
Fig. 1. Block diagram of coincidence detecting system

다. 45분 동안의 실험을 마친 다음 얻어진 count데이터를 activity값으로 바꾸기 위하여 쥐와 암의 크기로 만들어진 pirez phantom으로 sensitivity계수를 구하였다. coincidence detecting system으로 얻은 암내 F18DG 체적곡선과 혈액검체에서 얻은 혈중 F18DG 농도-시간데이터를 Sokoloff의 compartmental model⁹⁾에 대입하여 GMR을 계산하였다.

4. 세포간 체액압력 (interstitial fluid pressure, IFP)

IFP는 wick-in-needle (WIN)법으로 측정하였다¹⁰⁾. WIN 압력센서는 Fig. 2a와 같은 피하주사 바늘의 끝에서 0.5 mm지점에 작은 구멍을 만들고 내부를 폴리에스터실(wick)로 충전시켰으며, 다른 끝은 폴리에틸렌관을 에폭시레진(Devcon Corp., MA)으로 연결하였다. 완성된 WIN 압력센서는 수두압력 조절장치에 부착되어 테스트하였는데, 50mmHg 압력을 step함수로 입력시켰을 때, 출력 응답시간 상수가 5초보다 작은 것을 선정하였다.

쥐를 마취시킨 다음 실험테이블로 옮겨 암주위를 베타던프리로 살균하였다. 암의 크기를 측정하고 나서 암중심과 무차원반경 (r/R) 각 0.2눈금에 해당되는 위치를 정하였다. 반경방향의 IFP변화를 측정키 위해 테이블의 눈금매긴 미동조절나사를 돌려서 WIN압력센서를 전진시켰다. IFP는 주위조직과의 압력평형시간을 10분으로 하여, 그 후 2분 동안의 값을 평균하여 얻었다. 암조직 삽입전후에 WIN압력센서를 식염수에 담구어 초기값을 확인하였으며 실험중 압력곡선에 이상변화가 관찰될 때에는 실험을 중단하고 새로운 압력센서로 반복하였다.

5. 국부혈액속도 (blood perfusion rate, BPR)

BPR측정은 국부발생수소제거 (clearance for the locally generated hydrogen, CLGH)법으로 측정하였다¹¹⁾. CLGH

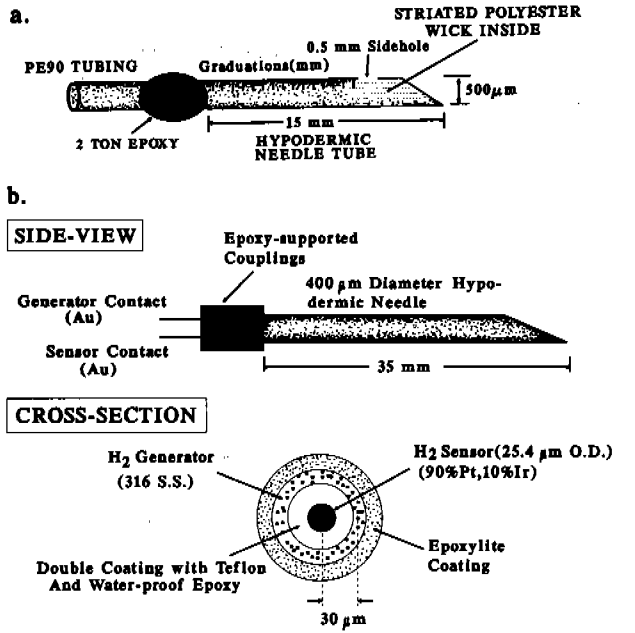


그림 2. 본 실험에서 사용된 WIN압력센서와 CLGH조합전극.
a. IFP측정을 위한 WIN압력센서, b. BPR측정을 위한 CLGH조합전극
Fig. 2. Diagram of WIN pressure sensor and CLGH combination electrode. a. WIN pressure sensor for IFP measurement, b. CLGH combination electrode for BPR measurement

조합전극은 Fig. 2b와 같이 S.S.316재질의 피하주사바늘로 제작되었다. 수소센서전극으로는 외경 25.4μm의 백금선을 테프론으로 코팅하여 바늘중심에 고정시켰다. 수소발생전극으로는 바늘배럴을 에폭시라이트(EpoxyLite Ltd., CA)로 코팅한 다음 끝부분을 샌드페이퍼로 갈아내어 발생표면으로 사용하였다. 완성된 CLGH 조합전극은 국부 혈액모니터 (Micro Flow Assoc., NY)에 연결하여 사용되었으며, 그 출력데이터는 CODAS로 해석되었다.

BPR측정시에는 표준전극을 암주위 피하조직에 위치시키고 CLGH조합전극을 삽입하였다. 수소발생전극을 작동하여 전극주위를 수소로 포화시킨 다음, 혈액에 의해서 제거되는 수소농도를 측정하였다. 수소계거곡선은 지수형곡선으로써 농도반감시간을 얻어 BPR을 계산하였다. 측정된 BPR에는 실제흐름에 의한 속도성분 뿐 아니라 자연수소확산성분이 포함되어있다. 자연수소확산성분을 고려해 주기 위하여 심장으로 KCl을 주사하고 숨이 멈춘 뒤 측정하여 얻은 BPR을 제하여 순수한 혈액속도에 의한 BPR을 얻었다.

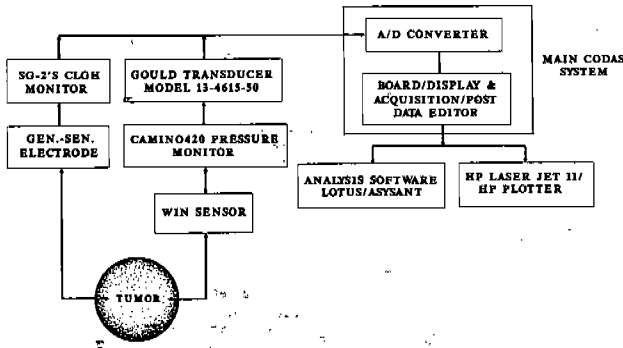


그림 3. CODAS 시스템의 구성도
Fig. 3. Block diagram of the CODAS system

6. pH 측정방법

pH바늘전극(Diamond General Corp, MI)은 깨지기 쉬운 pH유리전극을 외경 500um의 피하주사바늘에 삽입포강하여 만들었으며, 감도는 55mV/pH, 안정성은 0.05 pH/day이었다. 표준전극으로는 고감도 liquid junction인 소형 표준전극이 사용되었다. pH바늘전극과 표준전극을 PHM62 pH측정기(Cole-Parmer, NY)에 연결한 다음 calibration하였다.

피하조직에 소형 표준전극을 위치시킨 다음 미동조절나사를 사용하여 pH바늘전극을 압표면에 삽입하고 0.2 무차원반경씩을 전진하며 전극안정시간 3분후의 pH를 기록하였다.

7. CODAS 데이터 획득시스템

CODAS는 computer-based oscillograph and data acquisition system(Dataq Inc., OH)의 약자로써 하드웨어와 소프트웨어가 함께 갖추어진 데이터획득시스템이다. 소프트웨어는 real-time 화면출력과 파형편집프로그램으로 구성되어 있다. 전자는 다중입력채널로 들어오는 데이터를 화면에 나타내면서 저장시키고, 후자는 데이터해석프로그램으로써 파형분석과 포맷전환능력이 있다. Fig. 3에 주어진 CODAS시스템의 구성도에서 보면 WIN압력센서와 CLGH조합전극으로 얻어진 데이터는 모니터를 거쳐 A/D converter(Dataq Inc., OH)를 통해 컴퓨터(AT&T Inc., NY)로 전달되어 asystant로 해석되었다.

실험결과 및 고찰

1. 암성장 특성

neuroblastoma를 누드쥐에서 성장시켰더니 이식성공을

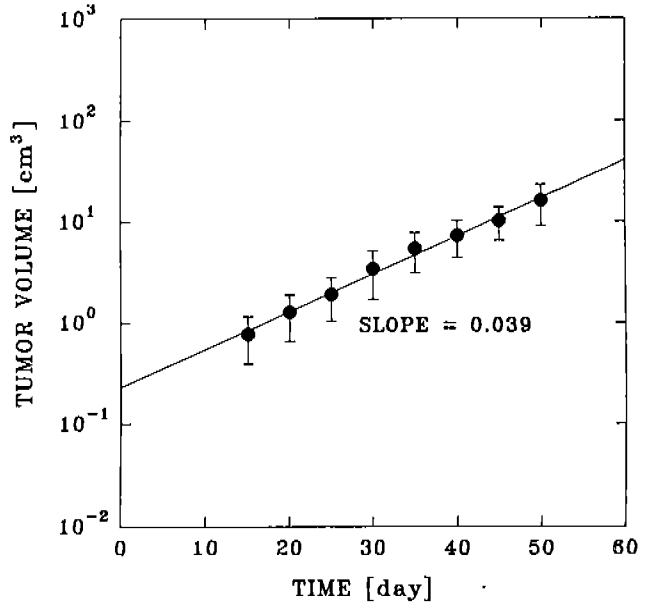


그림 4. Neuroblastoma의 성장특성곡선
Fig. 4. Growth profile of the neuroblastoma

은 85%였다. 암은 잠복기 2~3주가 지나서 자라기 시작하였으며 커질수록 구형에서 벗어나 평균높이 2cm암에서는 길이, 넓이, 높이가 각각 3.05 cm (SD 0.22 cm), 2.61 cm (SD 0.16 cm), 2.04 cm (SD 0.06)가 되었으며, 이 크기로 자라기까지는 50일 (SD 3 day)이 경과되었다. 측정계산된 부피와 실제암부피와의 상관계수는 0.989 (P<0.05)였으며 기울기는 0.950이었다.

Fig. 4에는 시간(day)에 따른 성장특성을 반로그좌표에 나타내었으며, 이로부터 얻은 부피배가시간은 8.1일 (SD 0.4 day)이었다. 배양된 암세포를 주사하여 기른 일세대암과 연속 조직이식된 이십세대의 암이 같은 크기로 자라는데 걸리는 시간은 거의 동일하여 이식된 암의 세포안정성과 활동력이 양호함을 알 수 있었다. 피사조직(necrotic tissue)은 1cm 크기에서 부터 생기기 시작하여, 암높이 2cm 크기에 이르면 약 10%가 산발적으로 존재하였다.

기발표된 실험결과와 비교하니 잠복기는 Hata 등¹²⁾의 데이터와, 측정부피와 실제부피의 상관계수는 Cheung 등¹³⁾과 일치하였다. 또한, 부피배가시간은 Mooju 등¹⁴⁾과 일치하여, 실험에 사용된 neuroblastoma-누드쥐모델이 인체 암연구에 적합하다는 결론을 얻었다.

2. 포도당 대사속도

BGO coincidence detecting system으로 얻은 데이터를

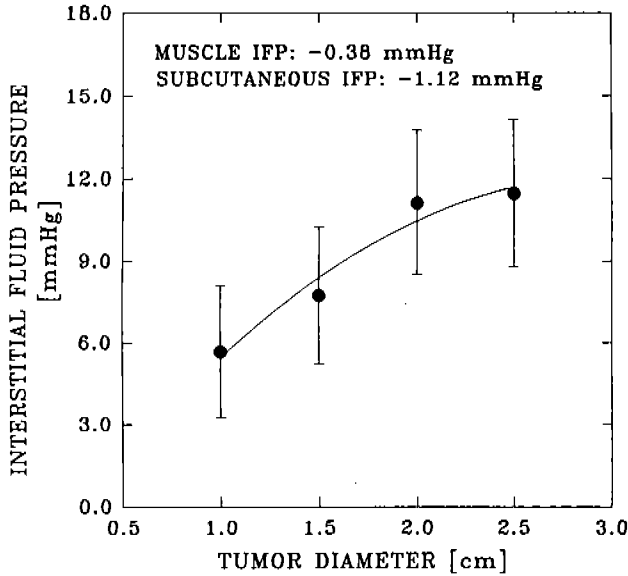


그림 5. 암크기에따른 중심 IFP 곡선
Fig. 5. IFP in tumor center with respect to tumor size

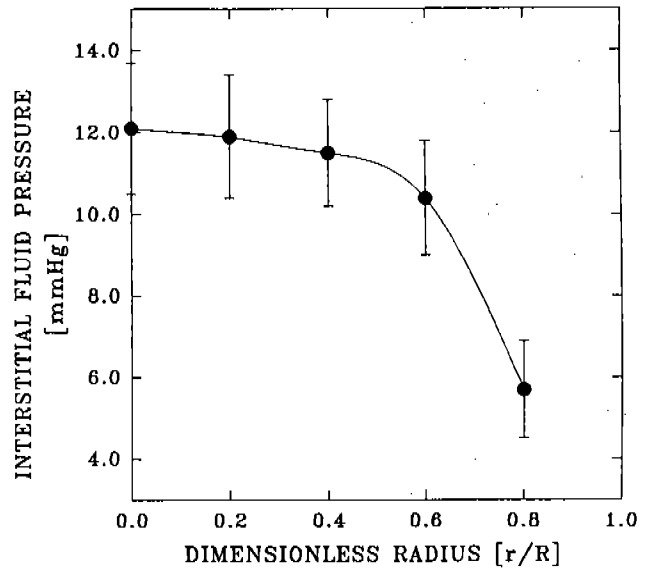


그림 6. 무차원반경에 따른 IFP 곡선
Fig. 6. IFP profile with respect to dimensionless radius

Sokoloff Model에 대입계산하여 암GMR 23.53 mg/min/100 g (SD 3.54 mg/min/100 g)를 얻었다 (n=6). 이 값을 Sokoloff가 쥐의 뇌에서 얻은 GMR⁹⁾과 Kato의 뇌종양 GMR¹⁵⁾을 Student's t-test ($P < 0.05$)로 비교하였더니, neuroblastoma의 GMR은 쥐뇌의 GMR보다 크고 뇌종양 GMR과는 통계적 차이를 보이지 않았다. 그러므로, neuroblastoma도 뇌종양과 같이 포도당을 세포에너지원으로 사용하고 있어 PET의 연구대상이 되는 암이라는 사실을 확인하였다.

포도당은 암과 뇌세포의 중요한 에너지원이다¹⁶⁾. F18DG는 천연포도당의 유사화합물로서 환자에 주사되면 세포내부에까지는 천연포도당과 함께 이동하다가 크렘스 사이클로 전이되지 못하고 세포조직내에 축적된다. 그리하여 F18DG 축적정도에 따라 조직의 GMR을 결정할 수 있어서 PET를 이용한 뇌, 심장, 암 등의 물질대사연구^{8, 9)}와 입체촬영, 항암치료효과 모니터 등에 응용되고 있다.

3. 세포간 체액압력

Fig. 6은 크기에 따라 중심에서 측정된 IFP (n=6)이다. 암IFP는 항상 양의 압력으로써, 성장함에 따라 증가하여 높이 3cm의 암에서는 12.3 mmHg (SD 2.6 mmHg)가 되었다. 암 IFP와 비교하기 위하여 근육과 피하조직 IFP를 측정하였는데, 이들은 음의 압력으로써 통계적으로 암 IFP보다 낮은 값이었다 ($P < 0.05$).

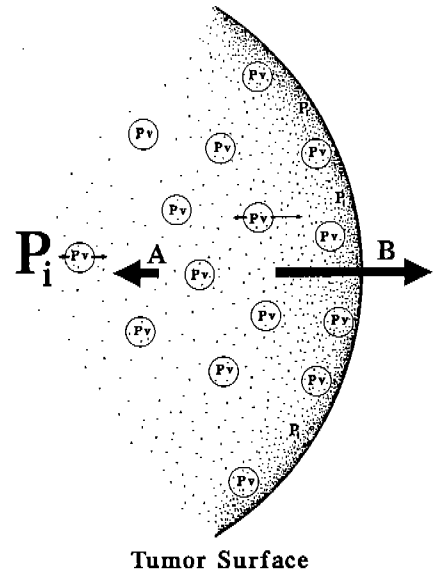


그림 7. 증가된 IFP의 영향을 받은 단세포균향체의 분포단면도. Pi는 암세포간체액압력, Pv는 모세혈관압력. 화살표는 단세포균향체가 받는 힘의 상대적 크기
Fig. 7. Diagram of monoclonal antibody distributed through the tumor section under the influence of the elevated IFP

Fig. 7은 높이 2cm의 암에서 무차원반경에 따라 측정된 IFP곡선이다 (n=6). 그림에 나타난 바와같이, IFP는 표면 쪽인 무차원반경 0.8에서 5.7 mmHg (SD 1.7 mmHg)이었으

나 압중심인 무차원반경 0에서는 12.1 mmHg(SD 2.3 mmHg)으로 비교적 완만한 증가를 보였다.

본 실험에서 측정된 압 IFP는 기발표된 인체^{17, 18)}이나 동물¹⁹⁾에서와 같이 정상조직 IFP보다 훨씬 높은 값이었다. 이들의 데이터는 압력단위(mmHg) 또는 Jain과 Baxter²⁰⁾가 유도한 물질전달파라미터로 환산발표되었다. 압 IFP증가패턴을 보면, Wiig와 Gadeholt²¹⁾의 데이터는 본 실험에서 보다 완만한 IFP증가를 보였으나, Boucher 등¹⁹⁾에 의한 압 IFP는 표면으로부터 급상승하는 경향을 보였는데, 이는 측정방법과 압특성의 차이에 기인된 것으로 보인다.

단세포균형체가 이론양만큼 전달되지 못하는 이유로 압내부 항원의 불균일분포, 항원항체반응후의 진로방해, 압조직혈액의 불규칙한 전달 등이 거론되어 왔다³⁾. Jain과 Baxter²⁰⁾는 압내부의 물질전달 저해요인이 높은 IFP와 세포간체액속도(IFV)에 기인한다는 가설로 macroscopic fluid transport model을 제시하였다. 압에는 정상조직과는 달리 림프조직이 없으며, 대칭구형체라는 사실을 근거로써 압 IFP의 상승원인을 설명하였다. Fig. 7에서 처럼, 모세혈관압력 P_v 가 세포간체액압력 P_i 보다 커야 단세포균형체가 혈관을 빠져나와 암세포로 전달될 수 있지만 이미 상승되어 있는 P_i 때문에 P_i 가 낮은 압표면의 모세혈관이 이용된다. 일단 모세혈관을 빠져나온 단세포균형체는 중심방향(A), 또는 외부방향(B)으로 이동될 수 있는데 중심은 압력이 높아서, 압력이 낮은 압외부방향으로 세포간체액과 함께 흐르게 된다. 이와같이 압내외부의 압력차이에서 생긴 세포간체액속도는 압중심 방향으로 이동하고자 하는 단세포균형체가 이겨야 할 또 하나의 방해요인으로 제시되었다. 그림에서의 화살표는 단세포균형체가 받게되는 힘을 상대적 크기로 나타내었다.

압 IFP는 정상조직의 IFP보다 훨씬 높으므로 정확한 압 위치탐지연구에 이용될 수 있으며, IFP를 효과적으로 감소시킬 수 있다면 항암제치료와 방사능치료에도 응용될 수 있을 것이다^{18, 19)}. IFP감소법으로는 열치료법과 mannitol, nicotinamide, dexamethasone 등이 제시되었으며 압중심으로 다공관을 삽입하여 IFP를 감소시켜 항암제전달을 증가시킬 수 있는 인공림프계도 개발중에 있다. 앞으로 IFP개념은 더욱 상세히 정의되어 의공학분야에 응용될 것으로 보인다.

4. 국부혈액속도

Fig. 8은 CLGH조합전극으로 얻은 BPR곡선이다(n=6). IFP증가와와는 반대로, BPR에 있어서는 무차원반경 0.8지

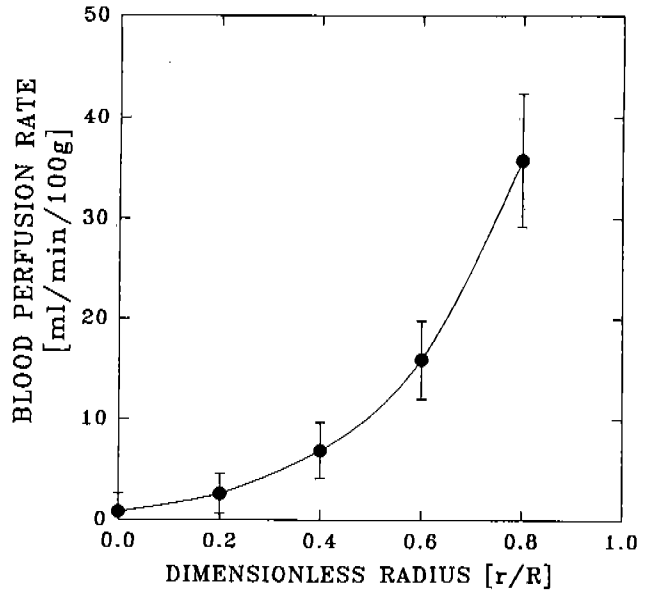


그림 8. 무차원반경에 따른 BPR곡선

Fig. 8. BPR profile with respect to dimensionless radius

점에서 34.5 ml/min/100 g(SD 8.23 ml/min/100 g)이었는데 중심에서는 1.12 ml/min/100 g(SD 0.53 ml/min/100 g)으로 감소하였다. 이와같이 압내부에는 혈액흐름이 낮아서 항암제와 단세포균형체가 효과적으로 전달될 수 없다. 왜냐하면, 단세포균형체가 내부에까지 전달되려면, IFP가 낮고 BPR이 큰 외부혈관을 빠져나와 위에서 제시된 IFP와 IFV의 저항력을 극복해야 압중심으로 이동될 수 있기 때문이다. 연구중인 BPR의 임상실험으로는 angiotensin등의 혈관수축제주입으로 BPR을 증가시켜 더 많은 항암제를 전달시키고 있다.

본 실험에 사용된 CLGH기술은 0.1~1.0mm³의 미세부피에서의 혈액흐름을 측정할 수 있어서 뇌, 심장, 콩팥, 피부, 위등에서의 BPR모니터에 이용된다¹¹⁾. 암은 발생초기에 혈관생성인자를 분비하여 스스로 혈관을 유도하지만 일정크기를 벗어나면 산소와 영양분이 공급되기 전에 계속 자라서 혈관사이는 멀어지고, 혈관세포사이에도 격차가 생겨서 압내부에 위치한 세포들은 기사하면서 괴사조직을 형성한다. 그러므로, BPR데이터를 이용하여 압내의 전달조건을 이해하고 BPR변화에 의한 항암제 치료효과를 연구할 수 있을 것이다.

5. pH 변화곡선

Fig. 9는 pH바늘전극으로 측정한 pH곡선이다(n=6). 압 pH는 내부로 갈수록 낮아졌으며, pH가 7.25인 근육조직

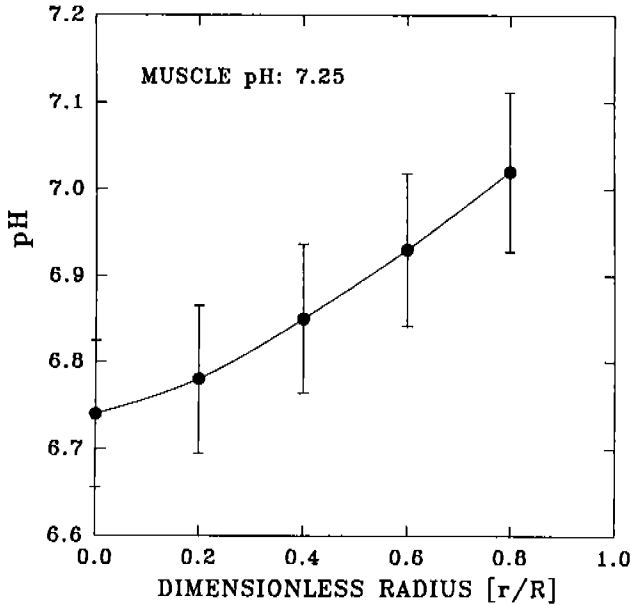


그림 9. 무차원반경에 따른 pH곡선
Fig. 9. pH profile with respect to dimensionless radius

과 비교하니 통계적 차이를 보여주었다 ($P < 0.05$). 평균 암 pH는 6.86 (SD 0.11)이었으며 기발표된 데이터²²⁾와 잘 일치하였다. 증가된 IFP와 감소된 BPR을 주요인으로 암세포는 산소의 결핍이 초래되어 무기호흡을 하게 되며 이때 발생하는 다량의 유산으로 산성조직을 형성한다.

암내부의 산성환경을 응용하려는 몇가지 연구가 발표되었다. 먼저 방사선치료는 암 pH와 조직산소분압에 밀접한 관계가 있다. 방사선치료 효과는 산성암조직에서 감소한다²²⁾. 또한 조직의 산성환경은 세포의 활동을 억제하고 적혈구성질을 변화시켜 산소전달을 감소시킨다는 사실이 보고되었다. 아울러 암내의 산성pH는 열치료의 효과를 증진시켜 주기도 한다²³⁾. 둘째, 단세포균향체에 결합된 항암제의 암내선별투하법의 개발이다. Lavie 등²⁴⁾은 암내부의 산성체액에서 반응고리가 끊어질 수 있도록 단세포균향체 L6와 도노마이신을 결합시켜 주사하였더니 암으로 전달된 도노마이신의 농도가 증가되었다고 발표하였다. 셋째, quantitative autoradiography (QAR)로 얻어진 데이터의 정량해석에 문제가 제기되었다. 동위원소에 결합된 단세포균향체의 분포연구에 사용되는 QAR기술은 '주입된 공합체는 암내부에 전달될 때까지 결합상태를 그대로 유지하고 있다'는 가정하에 실시되어 왔다. 만일 암내부에 전달된 공합체가 산성환경 때문에 분리된다면 실제로 암에 전달된 단세포균향체는 더 많을 수도 있을 것이다. 그러므로 암내부의 정확한 pH측정은 단세포균향체의 전달현상을

이해하여 보다 효과적인 치료방법을 개발하는데 공헌할 것이다.

결론

본 연구에서는 면역결핍누드쥐에 neuroblastoma NMB-7를 이식하여 물질전달에 미치는 인자들을 측정하였다. 성장특성곡선에서 부피배가시간을 얻었으며, coincidence detecting system을 사용하여 GMR을 측정하였더니 기발표된 데이터와 일치하였다. 이로써 실험에 사용된 암의 세포안정성과 neuroblastoma-누드쥐 모델의 적합성을 확인할 수 있었다.

지금까지 발표된 암 IFP데이터는 WIN기술을 이용하여 얻은 본 실험에서의 데이터와 일치하는 값으로써 암내 IFP는 중심으로 갈수록 상승되어 단세포균향체와 같은 거대분자의 물질전달 방해원인으로 작용할 수 있음을 확인했으며, 더우기 암중심으로 갈수록 감소한 BPR은 이미 상승되어있는 IFP와 결합하여 암내부로의 단세포균향체전달을 더욱 저해할 수 있다는 판단을 내렸다.

암세포의 무기호흡으로 인하여 유산이 발생되고, 림프조직의 부재로 인해 세포분비물이 정체되어 있는 암내부의 산성환경도 단세포균향체전달에 저해요인이 될 수 있을 것으로 보인다. 본 실험을 통하여 암내에서의 물질전달 조건을 이해할 수 있었으며, neuroblastoma의 IFP, BPR, pH를 적당히 조절하면 더 많은 단세포균향체를 암내부로 전달시킬 수 있을 것으로 믿어지며, 앞으로 우리가 계속해야 될 연구과제라 생각한다.

References

1. Tannock, I.F., Hill, R.P. *The basic science of oncology*, Pergamon Books Inc., 1987
2. Kohler, G., Milstein, C. *Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity*, Nature, vol.256, pp.495-497, 1975
3. Jain, R.K. *Commentary: Delivery of novel therapeutic agents in tumors: Physiological barriers and strategies*, J. Nat. Can. Ins., vol. 81, pp. 570-576, 1989
4. Jain, R.K. *Vascular and interstitial barriers to delivery of therapeutic agents in tumors*, Cancer and Metas. Rev., vol. 9, pp. 253-266, 1990
5. Baxter, L.T., Jain, R.K. *Transport of fluid and macromolecules in tumors: III. Role of binding and metabolism*, Microvascular Res., vol. 41, pp. 5-23, 1991
6. Cheung, N. K., Saarinen, U.M., Neely, J.E. *Monoclonal antibodies to a glycolipid antigen on human neuroblas-*

- toma cells*, Cancer Res., vol. 45, pp. 2642-2649, 1985
7. Redies, C., Matsuda, H., Diksic, M., Meyer, E., Yamamoto, Y.L. *In vivo measurement of [¹⁸F]fluorodeoxyglucose rate constants in rat brain by external coincidence counting*, Neuroscience, vol. 22, No. 2, pp. 593-599, 1987
 8. Ogawa, T., Uemura, K., Shishido, F., Yamaguchi, T., Murakami, M., Inugami, A., Kanno, I., Sasaki, H., Kato, T., Hirata, K., Kowada, M., Mineura, K., Yasuda, T. *Changes of cerebral blood flow, and oxygen and glucose metabolism following radiochemotherapy of gliomas: a PET study*, J. Comput. Assist. Tomogr., vol. 12, No. 2, pp. 290-297, 1988
 9. Sokoloff, L., Reivich, M., Kennedy, C., Des Rosiers, M.H., Patlak, C.S., Pettigrew, K.D., Sakurada, O., Shinohara, M. *The [¹⁴C] Deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat*, J. Neurochemistry, vol. 28, pp. 897-916, 1977
 10. Fadnes, H.O., Reed, R.K., Auckland, K. *Interstitial fluid pressure in rats measured with a modified wick technique*, Microvascular Res., vol. 14, pp. 27-36, 1977
 11. Suzuki, S., Isshiki, N., Ogawa, Y., Ohtsuka, M., Nose, K., Nishimura, R. *Measurement of cutaneous blood flow by clearance of hydrogen gas generated by electrolysis*, Ann. Plast. Surg., vol. 15, pp. 183-189, 1985
 12. Hata, J.I., Ueyama, Y., Tamaoki, N., Furukawa, T., Morita, K., *Human neuroblastoma serially transplanted in nude mice and metastases*, Cancer, vol. 42, pp. 468-473, 1978
 13. Cheung, N.-K.V., Landmeier, B., Neely, J., Nelson, D., Abramowsky, C., Ellery S., Adams, R.B., Miraldi, F. *Complete tumor ablation with iodine 131-radiolabeled disialoganglioside GD2-specific monoclonal antibody against human neuroblastoma xenografted in nude mice*, JNCL, vol. 77, pp. 739-745, 1986
 14. Mujoo, K., Kipps, T.J., Yang, H.M., Cheresch, D.A., Wargalla, U., Sander, D.J., Reisfeld, R.A. *Functional properties and effect on growth suppression of human neuroblastoma tumors by isotype switch variants of monoclonal antiganglioside GD2 antibody 14.18*, Cancer Res, vol. 49, pp. 2857-2861, 1989
 15. Kato A., Diksic M., Yamamoto Y.L., Feindel, W. *Quantification of glucose utilization in an experimental brain tumor model by the deoxyglucose method*, J. Cereb. Blood Flow Metab., vol. 5, pp. 108-114, 1985
 16. Gullino, P.M., Grantham, Courtney, A.H. *Glucose consumption by transplanted tumors in vivo*, Cancer Res., vol. 27, pp. 1031-1040, 1967
 17. Boucher, Y.B., Kirkwood, J.M., Opacic, D., Desantis, M., Jain, R.K. *Interstitial hypertension in superficial metastatic melanomas in patients*, Cancer Res., vol. 51, pp. 6691-6694, 1991
 18. Roh, H.D., Boucher, Y., Kalnicki, S., Buchsbaum, R., Bloomer, W. D., Jain, R.K. *Interstitial hypertension in carcinoma of uterine cervix in patients: possible correlation with tumor oxygenation and radiation response*, Cancer Res., vol. 51, pp. 6695-6698, 1991
 19. Boucher, Y., Baxter, L.T., Jain, R.K. *Interstitial pressure gradients in tissue-isolated and subcutaneous tumors: implications for therapy*, Cancer Res., vol. 50, pp. 4478-4484, 1990
 20. Jain, R.K., Baxter, L.T. *Mechanisms of heterogeneous distribution of monoclonal antibodies and other macromolecules in tumors: significance of elevated interstitial pressure*, Cancer Res., vol. 48, pp. 7022-7032, 1988
 21. Wiig, H., Gadeholt, G. *Interstitial fluid pressure and hemodynamics in a sarcoma implanted in the rat tail*, Microvascular Res., vol. 29, pp. 176-189, 1985
 22. Wike-Hooley, J.L., Haveman, J., Reinhold, H.S. *The relevance of tumour pH to the treatment of malignant disease*, Radiotherapy and Oncology, vol. 2, pp. 343-366, 1984
 23. Von Ardenne, M. *Selective multiphase cancer therapy: conceptual aspects and experimental basis*, Adv. Pharmacol., vol. 10, pp. 339-380, 1972
 24. Lavie, E., Hirschberg, D.L., Schreiber, G., Thor, K., Hill, L., Hellstrom, I., Hellstrom, K. E. *Monoclonal antibody L6-daunomycin conjugates constructed to release free drug at the lower pH of tumor tissue*, Cancer Immunol. Immunother., vol. 33, pp. 223-230, 1991

=국문초록=

단세포군항체 (monoclonal antibody)를 이용한 항암제치료법이 다각적인 방법으로 실험되고 있으나, 환자에 주입된 단세포군항체중에서 실제의 암전달량은 언제나 기대치에 미치지 못하고 있다. 그러므로, 효과적인 항암제치료와 조기암진단을 위하여 암내부에서의 물질전달에 미치는 인자들의 포괄적인 측정이 필요하였다. 본 실험에서는 면역결핍누드쥐에 이식된 neuroblastoma의 물질전달환경을 이해하기 위하여 성장특성과 포도당대사속도(GMR)를 측정하였으며, 세포간체액압력(IFP), 국부혈액속도(BPR)와 pH를 높이 2cm의 암에서 반경방향으로 측정하였다.

성장특성으로써 체적배가시간을, 세포활동성으로써 GMR를 측정하였더니, 각각 8.1일(SD 0.44일), 23.53 mg/min/100g(SD 3.54 mg/min/100g)이었다. 암중심 IFP는 암부피가 커짐에 따라 증가하여 높이 3cm의 암에서는 12.3mmHg(SD 2.6mmHg)이 되었다. 반경방향에 따른 IFP, BPR, pH를 측정한 결과, 암중심에 접근할수록 IFP는 증가되었고, 반면에 BPR과 pH는 감소되었다. 이로써 암내부에서의 증가된 IFP, 감소된 BPR과 pH가 단세포군항체와 그 공합체의 내부전달을 저해하는 원인으로 작용할 수 있다는 사실이 제시되었으며, 이들 인자들을 적당한 기술로 조절하여 더 많은 단세포군항체를 암내부로 전달시킬 수 있을 것으로 판단되었다.