

장간막정맥혈전증으로 소장절제술을 시행받은 환자에서 발견된 Antithrombin Northwick Park

인하대학교 의과대학 내과학교실, 외과학교실¹, 한국과학기술원 생물학과²

김경아*, 이문희, 이홍복, 김철수, 신석환¹, 이홍준², 유옥준²

배경 : Antithrombin은 항응고성 당단백 물질로 thrombin, IXa, Xa 등의 응고인자를 억제하며 heparin에 의해 그 작용이 강화된다. 선천성 antithrombin 이상은 돌연변이에 의해 발생되며 혈전증의 발병원인으로 감별하여야 한다. 국내에서는 분자구조의 이상이 antithrombin Seoul과 Kosung 2례에서 규명된 바 있으며 이번에 antithrombin Northwick Park가 발견되었다.

환자 및 방법 : 남자 31세 환자로 내원 10일전 발생한 상복부 통증과 내원 2일 전부터 혈변으로 타병원으로부터 진원되었다. 과거력과 가족력상 특이 사항 없었다. 내원시 활력증후는 정상이었으며, 복부에 전반적인 압통 및 반발통이 있었다. 복부 및 골반 CT 촬영상 장간막 정맥혈전증이 의심되어 개복술을 시행하였다. 우장간막 정맥 혈전과 Treitz 인대 하방 80cm에서 ileocecal valve 상방 50cm까지 소장 경색이 관찰되어 소장 부분절제술을 시행하였으며 2차례의 추가 개복술과 heparin 투여로 환자의 상태는 호전되었다. 입원중 측정된 antithrombin 활성도는 30-72%로 감소되어 있었다. 본 환자의 혈액에서 genomic DNA를 추출하여 PCR로 증폭시킨 다음 Sanger 방법으로 DNA 염기서열을 분석하였다. Eae I 제한효소의 분석과 antihuman antithrombin 항체를 이용한 Western blot을 시행하였다.

결과 : 염기서열 분석에서 exon 6의 codon 393이 CGT에서 TGT로 치환된 돌연변이를 확인하였으며 이는 393번째 아미노산이 arginin에서 cysteine으로 치환된 것이다. Eae I 제한효소 분석에서 정상에서는 단일 band였으나 환자에서는 두개의 band가 관찰되었다. Western blot에서는 정상에서는 하나의 band였으나 환자에서는 두개의 band가 관찰되었다.

결론 : 본 환자에서는 염기서열 분석에서 단일 염기치환이 발견되었으며 이는 문헌상에 보고된 antithrombin Northwick Park와 동일한 돌연변이였다. Eae I 제한효소분석은 보인자를 찾아내는데 유용할 것으로 생각되며 western blot에서 관찰되는 또 하나의 band는 antithrombin과 albumin의 복합체로 추정되며 문헌상의 보고와 일치하였다. 본 환자에서와 같이 흔하지 않은 혈전증의 경우에는 발병원인으로 antithrombin의 분자구조이상 여부를 확인하여야 할 것으로 생각된다.

Tricistronic retroviral vector를 이용하여 INF- γ 와 GM-CSF 유전자를 동시에 transduction시킨 CT26종양세포의 항종양효과

김 승택*, 이 기형, 오 태근, 김 영규*

충북대학교 의과대학 내과학교실, 신경외과학교실*

배경 : Cytokine 유전자는 종양유전자요법에 널리 사용되고 있다. 두가지 이상의 cytokine, 특히 gamma-interferon(INF- γ)과 granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF) 유전자의 복합유전자요법이 상승효과가 있음이 보고되고 있으나 두가지 유전자를 한 종양세포에 동시에 이입하는 것은 매우 힘든 일이다.

연구목적 : 본 연구자들은 이러한 문제점을 극복하고자 INF- γ 와 GM-CSF 유전자를 동시에 발현시킬 수 있으며, G418로 선택할 수 있는 tricistronic retroviral vector를 encephalocardiomyositis virus의 internal ribosome entry site(IRES)와 foot-and-mouth disease virus IRES를 이용하여 제작하고, 이 vector의 효용성을 CT26종양세포를 이용한 mouse 종양모델에서 관찰하고자 하였다.

대상 및 방법 : LNX와 LXS, LAEN plasmid를 근간으로 LvSN, LGMSN, LNFGM, LyFGMEN plasmid를 제작하고 PA317세포를 이용하여 amphotropic retrovirus를 만들었다. 다음 이들 virus를 CT26세포주에 감염시켜 cytokine을 분비하는 세포주를 확립하였다. 이어 이 세포 5x10⁵개를 balb/c mice의 피하에 주사하고 종양의 생성여부를 관찰하였다.

결과 : 유전자가 이입된 CT26세포에서 분비되는 GM-CSF의 양은 CT26/LGMSN의 경우에는 81.5pg/10⁶cells/day, CT26/LNFGM의 경우에는 18.1pg/10⁶cells/day, CT26/LyFGMEN에서는 16.3pg/10⁶cells/day이었다. INF- γ 는 CT26/LvSN과 CT26/LyFGMEN에서 각각 63.0pg/10⁶cells/day 및 71.6pg/10⁶cells/day로 분비되었다. 피하주사후 15일째의 종양크기는 CT26세포는 809mm³(95% CI 302-1316), CT26/LNFGM은 474mm³(95% CI 378-569), CT26/LGMSN은 179mm³(95% CI 71-286), CT26/LvSN은 180mm³(95% CI 69-291), CT26/LyFGMEN의 경우에는 99mm³(95% CI 21-178)으로 각 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다.

결론 : recombinant retrovirus에 감염된 종양세포에서 생성되는 cytokine의 양과 mouse에 이식된 종양세포의 효과적인 성장억제효과에서 tricistronic retroviral vector의 효용성을 확인할 수 있었다.