

## 이식종양세포수 및 종양의 외과적 적출이 숙주면역 반응에 미치는 영향에 관하여

### Influence of Tumor Cell Number at Primary Transplantation and Surgical Removal of Tumor on the Development of the Host Immune Reaction

서울대학교 의과대학 외과학교실

김 우 기

서울대학교 의과대학 미생물학교실, 서울대학교 의과대학 암연구소

장우현 · 김익상 · 신희섭 · 이광호

#### 서 론

종양은 숙주의 정상조직항원과는 다른 종양특이항원을 가지고 있으며(Foley; 1953, Prehn; 1957, Klein; 1960, Kronman; 1969, Hellström; 1969) 종양의 외과적 적출이 동일 종양에 대한 숙주의 면역반응에 커다란 변화를 초래함은 Foley, (1953) Prehn과 Main (1957) 및 이후의 많은 연구자들에 의해 밝혀진 바 있다. (Hellström; 1969, Whitney; 1974, Le Francois; 1971)

이식된 종양세포가 새로운 숙주내에 정착하기 위해서는 종양세포에 따라 다소 차이가 있으나 대략  $10^3$  이상의 종양세포가 필요한 것으로 보고되어 있으며 (Chang; 1976) 이 보다 적은 수의 종양세포를 이식할 경우에는 종양세포 자체는 이식된 숙주내에서 생존하여 당분간 분열은 하나 숙주내 조직에 정착하지 못함이 보고 되었다. (Chang; 1976) 정상동물의 체내에는 여러 종류의 암유발물질과의 접촉으로 암세포로 전환된 세포가 항상 발생하지만 이 암세포는 종양을 형성하기 전에 숙주의 면역기구에 의해 감지되어 제거될 것이라는 가설 (Burnet; 1970, Burnet; 1971)의 입장에서 볼 때 실험적으로 이식한 소수의 암세포의 운명 및 이들이 숙주의 면역기구에 미치는 영향은 많은 사람들의 관심대상이 되어왔다. (Greenberg; 1976)

본 실험에서는 Methylcholanthrene(MCA)유발육종세포를 소량 이식하고 이 종양세포의 생착 및 이에 따른 숙주의 면역학적 기억을 측정하였던 바 아주 적은 수의 종양세포의 이식을 거부한 마우스는 동일 종양에 대

하여 면역학적 기억을 형성하지 않으나 이 보다 많은 수의 종양세포의 이식을 거부한 마우스는 면역학적 기억을 형성한다는 결과를 얻었다.

한편 숙주의 연령과 성별이 종양세포에 대한 면역반응에 미치는 영향을 조사한 결과, MCA로 유발한 종양세포의 생착 여부로 숙주의 면역상태를 측정할 본 실험에서는 유의한 차이를 발견할 수 없었다.

#### 실험재료 및 방법

##### 1. 사용동물

본 실험에 사용한 마우스는 형매교배를 통하여 본 교실에서 사육한, C<sub>3</sub>H/HeN 순계마우스로서 총 299마리의 C<sub>3</sub>H/HeN 마우스를 성별 및 연령(6주이상 8주 미만과 2개월이상 12개월 미만)으로 구분하여 실험에 사용하였다.

##### 2. 사용된 종양

C<sub>3</sub>H/HeN 자성 마우스에 20-Methylcholanthrene(Cal Biochem Lot No. 800956, M.W. 268.4)으로 유발한 MCA 육종으로서 37°C에서 20분간 Trypsin(0.25%)으로 처리한 세포 부유액을 마우스 등쪽 피하조직에 이식하여 본 교실에서 9대이상 유지해온 육종을 사용하였다.

##### 3. 종양이식방법

종양이식은 C<sub>3</sub>H/HeN마우스에 발생한 육종을 Trypsin으로 처리하여 얻은 세포 부유액을 일정세포수가 포함되도록 등장인산 완충식염수(pH 7.4)로 희석한 후 0.05ml을 마우스 발바닥에 주사하여 실시하였으며 종양세포의 생착여부 및 숙주의 면역학적 저항은 종양의 발생여부(발바닥 두께 3mm 이상 되었을 경우)를 확인하여 측정하였다. 숙주의 면역학적 기억형성유무는 종

양이 형성된 다리를 절제하고(Vanwikck; 1971) 13~19일 후에 이들 마우스의 등쪽 피하조직에 TD<sub>50</sub>(Tumor Dose 50%)보다 약간 많은 10<sup>4</sup>의 종양세포를 재이식하여 이식한 종양의 생착율 및 이식한 날로부터 종양발생일까지의 기간을 관찰하여 측정하였다. 초회의 종양이식을 거부한 마우스의 기억형성유무는 첫 이식 5주 후에 10<sup>4</sup>의 종양세포를 마우스 등쪽 피하조직에 재이식한후 종양의 발생여부를 관찰하여 측정하였으며 관측된 결과는 분산분석법 및  $\chi^2$ -검사법으로 유의성을 검정하였다.

수가 증가함에 따라 종양발생일까지의 기간이 단축됨을 관찰할 수 있었으며(P<0.005) 성별 및 연령에 따른 차이는 발견할 수 없었다.

**2. 종양의 외과적 적출이 동일 종양의 재이식에 대한 반응에 미치는 영향**

종양세포를 이식받은 마우스 발바닥에 종양이 형성된 것을 확인한 후 다리를 절단하여 종양을 제거하고 TD<sub>50</sub>의 종양세포수보다 약간 많은 10<sup>4</sup>의 종양세포를 마우스 등피하 조직에 이식하여 동일 종양세포 재이식에 대한 반응을 본 결과, 표 2와 같은 성적을 얻었다.

처음 5×10<sup>5</sup>, 5×10<sup>4</sup> 및 5×10<sup>3</sup>의 종양세포를 이식받

**Table 1.** Tumor incidence of C<sub>3</sub>H/HeN mice which have received foot-pad inoculation of tumor cells.

| Mice       |        | Tumor cell dose per mouse |                  |                   |                   |                   |                 |
|------------|--------|---------------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
|            |        | Incidence                 | 10 <sup>6</sup>  | 5×10 <sup>5</sup> | 5×10 <sup>4</sup> | 5×10 <sup>3</sup> | 10 <sup>3</sup> |
| 6~8 weeks  | male   | incidence (%)             | 13/14*<br>(92.4) | 16/16<br>(100.0)  | 17/21<br>(81.0)   | 13/21<br>(61.9)   | 3/16<br>(18.8)  |
|            |        | day of tumor formation**  | 6.8±1.0          | 10.1±0.8          | 25.5±8.0          | 26.5±4.8          | 23±0.8          |
|            | female | incidence (%)             | 11/11<br>(100.0) | 11/11<br>(100.0)  | 15/17<br>(88.2)   | 9/16<br>(56.3)    | 1/11<br>(9.1)   |
|            |        | day of tumor formation    | 6.2±1.5          | 9.6±1.4           | 16.9±1.3          | 29.2±6.3          | 21.0±0          |
| 2~12 month | male   | incidence (%)             | 8/8<br>(100.0)   | 8/8<br>(100.0)    | 6/9<br>(100.0)    | 5/9<br>(55.6)     | 4/8<br>(50.0)   |
|            |        | day of tumor formation    | 6.4±1.5          | 8.5±0.5           | 13.6±2.8          | 17.2±1.0          | 22.5±2.1        |
|            | female | incidence (%)             | 8/8<br>(100.0)   | 8/8<br>(100.0)    | 11/11<br>(10.0)   | 5/10<br>(50.0)    | 2/7<br>(28.6)   |
|            |        | day of tumor formation    | 6.9±3.7          | 8.3±0.7           | 14.2±2.2          | 23.2±3.1          | 21.0±0          |
| Total      |        | incidence (%)             | 40/41<br>(97.6)  | 43/43<br>(100)    | 52/58<br>(89.7)   | 32/56<br>(57.1)   | 10/42<br>(23.8) |
|            |        | day of tumor formation    | 6.6±2.0          | 9.3±1.2           | 18.6±7.0          | 25.3±6.2          | 22.2±1.6        |

\* Number of tumor bearing mice per total number of mice tested.

\*\* Meanlatent period from the day of tumor inoculation to that of palpable tumor formation.

**실험성적**

**1. 이식종양세포수에 따른 생착율과 50% 생착에 필요한 종양세포수(TD<sub>50</sub>)**

MCA 육종세포를 마우스당 1×10<sup>3</sup>, 5×10<sup>3</sup>, 5×10<sup>4</sup>, 5×10<sup>5</sup> 및 10<sup>6</sup>으로 세포량을 달리하여 이식한 실험성적은 표 1에 표시한 바와 같이 각각 23.3%, 57.1%, 89.7%, 100% 및 97.6%의 생착율을 보였다. (P<0.005) 50%의 종양세포생착에 필요한 종양세포수는 표 1의 성적을 Probit 분석법에 의하여 계산하였으며 TD<sub>50</sub>은 3.9×10<sup>3</sup>세포/마우스였다. 종양발생일은 각각 22.2일, 25.2일, 18.6일, 9.3일, 및 6.6일로서 이식한 종양세포

아 종양이 형성된 마우스의 종양을 절제수술한 후 동일 종양세포를 재이식하여 얻은 종양발생율은 각각 29.4%, 26.7% 및 11.1%로서 이들 3군사이에는 통계적으로 유의한 종양발생율의 차이가 없었으나 전 처리를 받지 않은 대조군의 종양발생율(64.4%)과는 통계적으로 유의한 차를 보여 종양의 외과적 적출이 동일 종양에 대한 면역을 가지온다는 결과를 (P<0.005) 얻었다.

종양세포이식일로부터 종양발생일까지의 기간도 대조군에 있어서는 19.2일인데 비하여 종양절제군은 각각 25일, 29일 및 30.5일로서 생착된 세포의 종양발생이 또한 지연된다는 사실을 보여주어 종양세포 이식일부터 종양발생일까지의 기간도 종양에 대한 숙주의 저항을 나타내는 지침이 될 수 있다는 점을 시사해 주

**Table 2.** Tumor incidence of mice rechallenged subcutaneously with  $10^4$  cell/mouse 2~4 weeks after the surgical removal of the tumor which had been established at foot pad by indicated tumor cell dose.

| Mice        | Initial tumor cell dose at primary transplantation** |                        |                 |                 |                 |                 |
|-------------|--|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|             |  | $5 \times 10^5$        | $5 \times 10^4$ | $5 \times 10^3$ | Control         |                 |
| 6~8 weeks   | male   | incidence (%)          | 2/10*<br>(20.0) | 1/1<br>(100)    | 0/4<br>(0.0)    | 14/20<br>(70.0) |
|             |  | day of tumor formation | 30±4            | 16±0.0          | —               | 16.6±1.4        |
|             | female   | incidence (%)          | 3/10<br>(30.0)  | —               | 0/3<br>(0.0)    | 11/18<br>(61.1) |
|             |  | day of tumor formation | 30±0            | —               | —               | 20±4.0          |
| 2~12 months | male   | incidence (%)          | 3/8<br>(37.5)   | 2/6<br>(33.3)   | 0/1<br>0.0      | 8/12<br>(66.7)  |
|             |  | day of tumor formation | 25.7±3.7        | 21.5±3.5        | —               | 24.1±4.9        |
|             | female   | incidence (%)          | 2/6<br>(33.3)   | 1/8<br>(12.5)   | 1/1<br>(100)    | 5/9<br>(55.6)   |
|             |  | day of tumor formation | 39±18.0         | 57.0±0          | 25.0±0          | 17.0±2.0        |
| Total       | incidence (%)  | 10/34<br>(29.4)        | 4/15<br>(26.7)  | 1/9<br>(11.1)   | 38/59<br>(64.4) |                 |
|             | day of tumor formation                               | 30.5±9.6               | 29.0±16.5       | 25±0            | 19.2±4.4        |                 |

\* Number of tumor bearing mice per total number of mice tested.

\*\* Mean latent period from the day of tumor inoculation to that of palpable tumor formation.

었다. 본 실험 결과에서도 성별 및 연령에 따른 종양발생율의 차이를 관찰할 수 없었다.

### 3. 초회종양세포이식을 거부한 마우스의 동일 종양세포 재이식에 대한 반응

표 1에서 보던 마우스의 종양세포를  $5 \times 10^5$  혹은  $1 \times 10^6$  이식할 경우에는 97.6% 이상의 종양세포 생착율을 보였으나 이보다 적은 수의 종양세포를 이식하는 경우에는 종양세포의 생착이 이루어지는 마우스군과 종양세포의 생착이 이루어지지 않는 마우스군이 동시에 나타났다.

이들 가운데에 종양세포의 생착이 이루어지지 않는 마우스에 어떤 면역학적 특성이 있는가를 규명하고자 초회의 종양세포이식을 거부한 마우스에 첫 종양세포 이식 후 5주 후에  $10^4$ 의 종양세포를 재차 이식하여 생착율 및 종양발생일까지의 기간을 관찰하였다.

표 3에서 보는바와 같이 초회에 이식한 종양세포수가  $5 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ 인 마우스에서는 이식을 거부한 마우스가 없었고  $5 \times 10^4$ 의 종양세포이식을 거부한 마우스는 동일 종양세포 재이식시에 12.5%의 종양생착율을 보였으며  $5 \times 10^3$  및  $10^3$ 의 종양세포이식을 거부한 마우스군은 각각 48.0% 및 60.0%의 종양생착율을 보였다. 또 초회에 종양세포이식을 받지 않았던 대조군은 64.4%의 종양생착율을 보여주었다.

$5 \times 10^3$  및  $1 \times 10^3$ 의 종양세포를 이식받은 군 사이에는 통계적으로 유의한 차이는 없었으나  $5 \times 10^4$ 의 종양세포 이식군은  $5 \times 10^3$  종양세포 이식군,  $1 \times 10^3$ 의 종양세포 이식군 및 대조군에 비해 유의한 종양세포생착율의 저하를 나타내었다. ( $P < 0.005$ )

즉  $5 \times 10^4$ 의 종양세포 이식군은 첫 종양이식에서 종양은 형성하지는 않았어도 면역학적 기억은 성립되었다고 해석할 수 있었다. 그러나  $5 \times 10^3$ 군과  $1 \times 10^3$ 군은 첫 종양이식에 대하여 종양형성 및 면역학적 기억이 모두 이루어지지 않았다고 추측된다. 각군 사이에 종양발생일까지의 기간비교는  $5 \times 10^4$ 의 종양세포 이식군에서 종양을 형성한 마우스가 한 마리 뿐이어서 비교가 불가능하였으며 이 실험에서도 성별 및 연령에 따른 차이는 관찰할 수 없었다.

## 고 안

종양세포이식에 소량의 종양세포를 이식한 경우에는 이 종양세포가 숙주내에서 생존하고 또 분열능력도 있다는 사실이 증명됨(Chang; 1976)에도 불구하고 종양이 형성되지 못한다는 사실은 여러 연구자들 및 앞서 보고한 저자들의 실험결과등으로 잘 알려져 있는 사실이며 이 현상은 Burnet가 제창한 면역감시기전의 표

**Table 3.** Tumor incidence among mice which had survived the indicated tumor cell dose without palpable tumor mass and were rechallenged subcutaneously with  $10^4$  cell/mouse, 5 weeks after the primary tumor inoculation

|            |        | Primary tumor cell dose per mouse |                 |                 |                 |                 |
|------------|--------|-----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mice       |        | Incidence                         | $5 \times 10^4$ | $5 \times 10^3$ | $1 \times 10^3$ | Control         |
| 6~8 weeks  | male   | incidence (%)                     | 1/5*<br>(20.0)  | 3/9<br>(33.3)   | 9/13<br>(69.2)  | 14/20<br>(70.0) |
|            |        | day of tumor formation**          | 26.0±0          | 17.7±2.4        | 8.9±14.1        | 16.6±1.4        |
|            | female | incidence (%)                     | 0/3<br>(0.0)    | 5/7<br>(71.4)   | 6/9<br>(66.7)   | 11/18<br>(61.1) |
|            |        | day of tumor formation            | —               | 20.6±4.0        | 31.3±14.8       | 20.0±4.0        |
| 2~12 month | male   | incidence (%)                     | —               | 2/4<br>(50.0)   | 1/4<br>(25.0)   | 8/12<br>(66.7)  |
|            |        | day of tumor formation            | —               | 25.5±9.5        | 18.0±0          | 24.1±4.9        |
|            | female | incidence (%)                     | —               | 2/5<br>(40.0)   | 2/4<br>(50.0)   | 5/9<br>(55.6)   |
|            |        | day of tumor formation            | —               | 30.5±4.5        | 23.0±2.0        | 17.0±2.0        |
| Total      |        | incidence (%)                     | 1/8<br>(12.5)   | 12/25<br>(48.0) | 18/30<br>(60.0) | 38/59<br>(64.4) |
|            |        | day of tumor formation            | 26.0±0          | 22.3±6.8        | 28.4±13.6       | 19.2±4.4        |

\* Number of tumor bearing mice per total number of mice tested.

\*\*Mean latent period from the day of tumor inoculation to that of palpable tumor formation.

현된 한 현상으로 인식되어져 왔다. (Greenberg, 1976) 다세포동물이 자체의 무수한 세포형의 일관성을 유지하면서 생존하기 위해서는 이러한 동종의 종양세포이식거부와 유사한 기능이 필요한 것으로 추측되며 이러한 기능은 생체내에서 돌연변이등으로 발생 할 수 있는 종양세포의 출현에 대비한, 진화적으로 구비된 자연방어기전이라 생각된다.

적은 수의 종양세포 이식은 생체내에서 자연적으로 일어나는 종양발생의 초기 상황과 유사할 것으로 생각 할 수 있으며, 이 경우, 이식된 적은 수의 종양세포는 종양을 형성하지 못한다는 사실은 Burnet의 면역 감시기전에 의한 결과로 해석될 수 있다고 사료된다. 그러나 이를 증명하기 위해서는 이러한 반응에서 면역 반응의 상대특정인 특이성, 기억현상 및 면역반응에 관계하는 항원은 숙주항원과는 차이가 있어야 한다는 요소를 증명할 수 있어야 한다. 이 점에 착안하여 Greenberg(1976) 등은 실험을 통하여 적은 수의 종양세포이식을 거부한 숙주에서는 특이적인 방어력은 있으나 면역학적 기억현상은 증명하지 못하였다고 보고 한 바 있다.

본 실험에서는 종양세포이식으로 종양형성 및 면역학적 기억현상을 모두 유발할 수 없는 정도의 세포량과 종양은 형성하지 않으나 면역학적 기억을 유발시킬 수 있는 세포량이 존재할 수 있다는 결과를 얻어 Greenberg등의 결과와는 일부 다른 점을 보여 주었다.

이 결과는 다른 연구자들이 종양에 대한 면역반응을 유발시키는데 사용한 여러방법, 즉 죽은 종양세포를 사용하거나 종양이식후 외과적 적출을 시행하는 방법 외에 살아서 분열가능한 종양세포를 사용하여도 면역효과를 얻을 수 있다는 결과로 해석되며 이 현상을 유발시키기 위해서는 Greenberg등과 본 연구자들이 확인한 무종양—무면역학적 기억현상 유발에 필요한 세포수보다 더 많은 수의 종양세포가 필요한 것으로 관찰되었다. 본 실험에 사용된 육종과 동일한 육종을 냉동용해하여 죽인 육종세포를 세포수를 달리하여 숙주를 면역시킨 결과를 본 저자들이 보고한 바 있다. (Chang) 그 실험에서는 죽은 종양세포를  $10^3$ 에서  $10^6$ 까지 각각 마우스 복강내로 매주 일회씩 5주일 동안 면역하여 숙주의 면역 기억반응 현상을 측정한 결과  $10^5 \sim 10^6$ 의 종양세포로 면역한 군은 기억 현상을 나타내었으나  $10^3 \sim 10^4$ 의 종양세포를 면역한 군은 대조군과 차이가 없는, 즉 면역학적 관용상태를 나타내어 숙주의 종양세포항원에 대한 면역반응에는 저농역 및 고농역관용이 있다는 결과 (Chang; 1976)를 보고한 바 있다.

본 실험에서 나타난, 무기역의 종양세포를 이식했을 때 숙주체내에서 일어나리라고 예상되는 숙주에 대한 종양 세포의 반응기전 및 소량의 종양세포에 대한 숙주의 반응기전은 앞으로 종양—숙주상호관계 및 종양발생기전을 이해하기 위해서 필수적으로 밝혀져야 할

중요한 과제로 생각된다.

본 실험에 사용된 MCA 육종은 자성마우스에서 얻은 것이므로 이 종양에 대한 숙주의 면역반응에서 성별에 따른 차이는 없을 것으로 기대되었으며 실험성적에서도 암수간의 차이는 발견하지 못하였다.

6~8주 및 2개월 이상 12개월 미만의 두 실험군사이에 성적차이가 없었음은 Stjernswärd 등의 보고로 예측할 수 있는 결과로서(Stjernswärd; 1966) 종양에 대한 면역반응 실험에 있어서 6~8주의 마우스를 사용할 수 없을 경우에는 1년미만의 마우스를 사용해도 생체내 측정결과에 유의한 차이를 나타내지 않을 것이라는 점을 시사해 주고 있다.

### 총괄

C<sub>3</sub>H/HeN마우스에서 20-Methylcholanthrene으로 유발한 육종세포를 세포수를 달리하여 총 299마리의 마우스에 이식하고 형성된 종양을 수술적으로 절제한 후 재차 종양세포를 이식하여 이식한 종양세포수와 종양의 수술적 절제가 숙주의 면역반응에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. MCA로 유발한 육종세포를 마우스당  $1 \times 10^3$ ,  $5 \times 10^3$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^5$  및  $1 \times 10^6$ 씩 이식한 경우 각각 23.3%, 57.1%, 89.7%, 100% 및 97.6%의 생착율을 보여주었으며 50%의 종양세포생착에 필요한 세포량(TD<sub>50</sub>)은  $3.9 \times 10^3$  세포/마우스였다.

2. 소량의 종양세포를 이식한 경우에는 이식을 거부한 마우스군이 생겼으며 이들 마우스에  $10^4$ 종양세포를 재접종하여 이에 대한 반응을 보면  $5 \times 10^4$ 의 초회종양세포이식을 거부한 마우스는 면역기억현상을 획득하였으나  $5 \times 10^3$  및  $1 \times 10^3$ 의 종양세포이식을 거부한 마우스는 면역기억현상이 유발되지 않았다.

3. 종양이 형성된 마우스에서 수술적으로 종양을 적출한 경우 동일종양세포의 재이식시에 종양형성율이 크게 저하되었다.

4. 종양이식에 대한 숙주의 면역학적 반응은 종양세포이식일로부터 종양형성일까지의 기간으로도 표현되었다.

5. 성별 및 6~8주 및 8주이상 1년미만의 마우스 연령에 따른 면역반응의 차이는 관찰되지 않았다.

### —ABSTRACT—

## Influences of Tumor Cell Number at Primary Transplantation and Surgical Removal of Tumor on the Development of the Host Immune Reaction

Woo-ki Kim, Woo-Hyun Chang,  
Ik-Sang Kim, Hee-Sup Shin,  
Kwang-Ho Rhee

Department of Surgery and Microbiology,  
College of Medicine, Seoul National University  
Cancer Research Institute, Seoul National University

In order to know about some aspect of immunological surveillance mechanism which has been postulated to be operating in normal host, in-vivo MCA tumor challenge experiments were carried out with varying dose of tumor cells at different host conditions. Results of tumor incidence in C<sub>3</sub>H/HeN mice transplanted with varying number of tumor cells, C<sub>3</sub>H/HeN mice rechallenged with certain number of autochthonous tumor cells after the surgical removal of tumor and C<sub>3</sub>H/HeN mice rechallenged with certain number of autochthonous tumor cells which had rejected the primary cell transplantation, and of latent period in tumor formation are summarized as follows;

1. Tumor incidence obtained from foot-pad inoculation of  $10^3$ ,  $5 \times 10^3$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^5$  and  $10^6$  tumor cell dose per mouse was 23.8%, 57.1%, 89.7%, 100% and 97.6%, respectively and 50% tumor cell dose (which is defined as tumor cell number necessary for the establishment of tumor in 50% of mice tested) calculated by Probit analysis was  $3.9 \times 10^3$  cells per mouse.

2. Mice surviving the initial foot-pad inoculation of small numbers of tumor cell doses were divided into two groups by the existence of immune memory which had been assessed by rechallenging with more than TD<sub>50</sub> at 5 weeks after the date of primary-inoculation.

The memory was induced in the mice which had rejected the  $5 \times 10^4$  tumor cell inoculum per mouse, but not induced in the other mice group which had rejected  $5 \times 10^3$  or  $10^3$  tumor cell inoculum per mouse.

3. C<sub>3</sub>H/HeN mice were resistant to the rechallenging autochthonous MCA tumor after the surgical resection of the primary tumor mass.

4. No statistical differences in the resistance to the MCA tumor were observed between young (6-8 weeks old) and old (2~12 months) C<sub>3</sub>H/HeN mice groups.

5. Latent period from the day of initial tumor graft to that of development of palpable tumor mass was prolonged in mice of which the tumor was removed surgically.

## REFERENCE

- Burnet, F.M.: *Immunological Surveillance in neoplasia. Transplant. Rev.* 7:3, 1971.
- Burnet, F.M.: *Immunological Surveillance. Pergamon Prses, Oxford, 1970.*
- Chang, W.H. and Rhee, K.H.: *Studies on the Cellular Immunity and Enhancing Factors in MCA-induced Sarcoma in C<sub>3</sub>H/HeN Mice. Seoul J. Med.*, 17:369, 1976.
- Helstrom, K.E. and Hellstrom, I.: *Cellular Immunity Against Tumor Antigens. Adv. Cancer Res.*, 12:167, 1969.
- Foley, E.J.: *Antigenic Properties of Methylcholanthrene-Induced Tumors in mice of Origin. Cancer Res.*, 13:835, 1953.
- Greenberg, A.H. and Greene, M.: *Non-adaptive Rejection of Small Tumor Inocula as a Model of Immune surveillance. Nature*, 264:356, 1976.
- Klein, G., Sjogren, H.O., Klein, E. and Hellstrom: K. E., *Demonstration of Resistance Against Methylcholanthrene Induced Sarcomas in Primary Autochthonous Host. Cancer Res.*, 20:1516, 1960.
- Kronman, B.S., Wepsic, H.T. Churchill, W.H. Jr., Zbar, B. Borsos, T. Rapp: H.J. *Tumor-specific Antigens Detected by Inhibition of Macrophage Migration. Science*, 169:296, 1969.
- Le Francois, D., Youn, J.K., Belehradek, J., et al: *Evolution of Cell Mediated Immunity in Mice Bearing Tumors by a Mammary Carcinoma Cell Line. Influence of Tumor Growth, Surgical Removal and Treatment with Irradiated Tumor Cells. J. Natl. Cancer Inst.*, 46:981, 1971.
- Prehn, R.T., and Main, J.: *Immunity to MCA-induced Sarcomas. J. Natl. Cancer Inst.*, 18:769, 1957.
- Stjernsward, J.: *Age-dependent Tumor-host Barrier and Effect of Carcinogen-induced Immunodepression on Rejection of Isografted Methylcholanthrene-induced Sarcoma Cells. J. Natl. Cancer Inst.*, 37:505, 1966.
- Vanwikck, R.R., Godrick, E.A. and et al.: *Stimulation of Metastases with Graded Doses of Tumor Cells. Cancer Res.*, 31:1559, 1971.
- Whitney, R.B., Levy J.G., and Smith, A.G. *Influences of Tumor Size and Surgical Resection on the Cell Mediated Immunity. J. Natl. Cancer Inst.*, 53:111, 1974.