

담낭 선종 및 선암종의 진행에
Matrix Metalloproteinase (MMP)-2,
MMP-9, Tissue Inhibitor of MMP
(TIMP)-1, TIMP-2의 역할

연세대학교 대학원

의 학 과

배 종 엽

담낭 선종 및 선암종의 진행에
Matrix Metalloproteinase (MMP)-2,
MMP-9, Tissue Inhibitor of MMP
(TIMP)-1, TIMP-2의 역할

지도교수 박영년

이 논문을 석사학위 논문으로 제출함

2002년 6월 일

연세대학교 대학원
의 학 과
배 종 엽

배종엽의 석사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2002년 6월 일

감사의 글

본 논문을 완성하기까지 제가 미처 보지 못하거나 표현에 어려움을 겪었던 모든 부분에서 상세히 지도해주신 박영년 선생님께 감사 드립니다. 연구계획 및 진행과정 중에 자문에 응해주신 정현철 선생님께 감사 드립니다. 실험 진행 중 처음 기대와 다른 결과를 보였을 때 선생님께서 해석해 주셨기에 확신을 가지고 끝까지 마무리할 수 있었습니다. 자문과정 중에 병리학적 기본 관점에서 의문을 제기해 주신 박찬일 선생님 덕분에 중요한 부분을 놓치지 않을 수 있었고, 또 앞으로의 과제에 대한 이해를 할 수 있었습니다. 선생님께서는 예전부터 한결같은 순수한 학문적 열정을 보여주셨고, 특히 과학적 기술에 관한 많은 가르침을 주셨기에 좋은 논문을 쓸 수 있었습니다. 귀한 임상자료를 주신 포천 중문의대 외과학 교실 권성원 선생님께 감사 드립니다. 번역염색을 처음부터 끝까지 도와주신 포천 중문의대 구미 차병원 병리과 임대성 기사와 밤늦게까지 통계학적 자문을 해주신 예방의학 교실원에게 감사 드립니다. 께은 일을 도와주신 연세 대학교 병리학 교실원에게 감사 드립니다.

저 자 씀

차 례

국문요약	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	5
1. 연구재료	5
2. 병리조직학적 검색	5
3. 면역조직화학적 염색	5
4. 통계처리	6
III. 결과	7
1. 임상 및 병리조직학적 소견	7
2. MMP-2에 대한 면역조직화학 염색	7
3. MMP-9에 대한 면역조직화학 염색	9
4. TIMP-1에 대한 면역조직화학 염색	11
5. TIMP-2에 대한 면역조직화학 염색	14
6. MMP-2와 TIMP-2의 발현 관계	16
7. MMP-9과 TIMP-1의 발현 관계	18
IV. 고찰	19
V. 결론	23
참고문헌	25
영문요약	30

그림 차례

Fig. 1. Immunohistochemistry for MMP-2	8
Fig. 2. Immunohistochemistry for MMP-9	10
Fig. 3. Immunohistochemistry for TIMP-1	13
Fig. 4. Immunohistochemistry for TIMP-2	15

표 차례

Table 1. Expression of MMP-2 in adenoma of the gallbladder	8
Table 2. Expression of MMP-2 in adenocarcinoma of the gallbladder	9
Table 3. Expression of MMP-9 in adenoma of the gallbladder	11
Table 4. Expression of MMP-9 in adenocarcinoma of the gallbladder	11
Table 5. Expression of TIMP-1 in adenoma in the gallbladder	13
Table 6. Expression of TIMP-1 in adenocarcinoma of the gallbladder	14
Table 7. Expression of TIMP-2 in adenoma of the gallbladder	16
Table 8. Expression of TIMP-2 in adenocarcinoma of the gallbladder	16
Table 9. Relationship of MMP-2/TIMP-2 expression in adenocarcinoma of the gallbladder	17
Table 10. Relationship of MMP-9/TIMP-1 expression in adenocarcinoma of the gallbladder	18

담낭 선종 및 선암종의 진행에 Matrix Metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, Tissue Inhibitor of MMP (TIMP)-1, TIMP-2의 역할

Matrix metalloproteinase (MMP)-2와 MMP-9은 기저막의 주성분인 제 4형 교원 섬유를 분해하는 효소로 최근 종양의 침윤 및 예후와 관련 있음이 보고되었다. 이들 효소에 대한 내인성 억제 물질로 tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1은 MMP-9을 TIMP-2는 MMP-2를 각각 길항한다. 결국 이들 물질들의 상호작용에 의한 효과가 종양의 생물학적 특성을 나타낼 것으로 기대할 수 있다. 저자들은 담낭 선암종의 진행에서 이들 효소들의 역할을 알아보려고 담낭 선종 36예와 선암종 72예를 대상으로 하여 MMP-2, MMP-9, TIMP-1과 TIMP-2에 대한 면역조직화학적 연구를 통한 이들 효소들의 발현 양상을 조사한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2는 모두 담낭 선종에서부터 발현되기 시작하여 초기 암종으로 진행하면서 점점 더 강하게 발현되었다. MMP-2, MMP-9과 TIMP-1은 선종의 이형성 등급에 따라 고등급에서 저등급 보다 더 강하게 발현되었다. TIMP-2는 고등급 선종에서 발현율이 더 높았으나 통계적 의의는 없었다. 이들 모든 효소들은 담낭 선암종의 침윤 깊이에 따라 고유 점막 층이나 근 층까지 침범한 예가 그 이상 침범한 예보다 더 높은 발현율을 보였다. MMP-2, MMP-9과 TIMP-1은 종양의 분화도에 따라 고도 또는 중등도 분화 암종은 저분화 암종보다 더 높은 발현율을 보였다. TIMP-2는 고도 또는 중등도 분화 암종이 저분화 암종보다 더 높은 발현 경향을 보였다. 성장양상에 따라 이들 효소들은 모두 돌출형이 침윤형 보다 더 높은 발현율을 보였다. 림프절 전이가 없는 예에서 MMP-2

의 발현율이 유의하게 높았다. MMP-9과 TIMP-1도 림프절 전이가 없었던 예에서 발현율이 더 높은 경향이였다. MMP-2와 TIMP-2, MMP-9과 TIMP-1은 담낭 선종과 선암종에서 발현율에 있어 각각 유의한 상관관계를 보였다. 이들 효소와 각각의 길항 효소의 발현 양상은 담낭 선암종의 침윤 깊이, 분화도 및 성장 양상과 유의한 상관관계를 보였다. 특히 TIMP-2는 담낭 선암종의 초기 진행에서 MMP-2에 대한 길항작용을 보였다.

이상의 결과에서 MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2는 담낭 암종의 초기 발생과정 및 침윤성 성장 초기에 주로 작용하며, MMP-2와 TIMP-2, MMP-9과 TIMP-1은 서로 상관관계를 가지며 동시에 발현하는 양상을 보여 이들이 담낭 선암종의 초기 진행에서 상호작용이 이루어짐을 알 수 있었다.

핵심되는 말; 담낭, 선종, 선암종, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2

담낭 선종 및 선암종의 진행에 Matrix Metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, Tissue Inhibitor of MMP (TIMP)-1, TIMP-2의 역할

<지도교수 박영년>

연세대학교 대학원 의학과

배 종 업

I. 서 론

일반적으로 종양의 발생은 최초의 유전적 변형에서 시작하여 점차적으로 국소 침윤과 전이를 할 수 있는 악성종양으로 진행된다. 이는 종양세포가 기저막을 뚫고 침윤을 시작하여 기질을 통하여 이동한 후 기질 내 혈관의 내벽을 뚫고 종양 색전을 형성함으로써 이루어진다. 이런 종양세포의 침윤과 전이 과정은 종양세포와 주변 기질간의 상호작용에 의해 이루어지며 여기에는 기저막과 세포외 기질을 분해하는 단백 분해효소가 작용한다.¹⁻⁴ 이 단백 분해효소는 matrix metalloproteinases (MMPs), serine proteases, cystein proteases 와 aspartic proteases로 크게 나눌 수 있으며, 이 중 MMPs는 가장 강력하고 중요한 단백 분해효소이다.¹ 지금까지 약 20종의 MMPs가 발견되었으며 이 중 MMP-2와 MMP-9은 기저막을 형성하는 제 4형 교원섬유를 분해하는 효소로 구강,⁵ 식도,⁶ 위,⁷ 대장,^{8,9} 간내 담도,¹⁰ 췌장,¹¹⁻¹³ 요도,¹⁴ 방광,¹⁵ 난소^{16,17} 종양의 국소 침윤이나 전이 과정과 관련하여 많은 연구 보고가 있다.

MMPs의 조절은 크게 유전자 전사 조절과 전사 후 조절로 나눌 수 있으며 유전자 전사 조절은 매우 복잡한 과정을 거쳐 MMPs의 생산량을 조절할

수 있으며, MMPs의 활성을 조절하는 데는 전사 후 조절이 더 중요하게 작용한다.² 대부분 용해성 MMPs는 비활성형으로 분비되어 N-말단 전구영역이 분리된 다음 활성화되는데 여러 단백질 분해 효소들이 이 전구효소의 활성화에 관여한다. 활성형 MMPs는 주로 tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs)에 의해 억제된다.^{1,2,4} TIMPs는 지금까지 4군이 알려져 있고 이 중 TIMP-1은 MMP-9을, TIMP-2는 MMP-2를 각각 길항함으로써 췌장,¹³ 폐,¹⁸ 간¹⁹ 종양에서 종양의 침윤이나 예후 인자들과 연관성을 보였다는 보고가 있다. 결국 이들 물질들의 상호작용에 의한 효과가 종양에서 침윤과 전이 및 환자의 예후와 밀접한 관련이 있을 것으로 기대된다.

담낭 암은 담도 암 중에서는 가장 흔하고 서구에서 보다 우리 나라를 비롯한 동아시아에 더 흔하다. 다른 소화기계 암종과 마찬가지로 담낭 암도 전암 병소로 선종^{20,21}이나 장형 화생, 이형성증, 상피내 암을 거쳐 침윤성 암종으로 진행되는 것으로 알려져 있다. 최근 종양세포와 기질의 상호작용에 관여하는 단백질 분해 효소들이 여러 종양의 진행에 관련되어 있음이 활발히 연구되고 있으나 담낭 암에서는 아직 체계적인 연구가 없다. 따라서 본 연구에서 저자들은 담낭 선종과 선암종에서 MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2에 대한 면역조직화학적 검색을 통하여 이들 효소들의 담낭 암종의 진행에 기여하는 역할을 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구재료

1986년부터 2000년까지 연세대학교 신촌세브란스병원 외과에서 담낭 절제술을 받은 담낭 선종 36예와 원발성 담낭 선암종 72예를 대상으로 하였다.

2. 병리조직학적 검색

종양의 대표적인 부분을 포함하는 파라핀 포매 조직을 4 μ m 두께로 박절하여 HE 염색을 시행하여 조직학적 소견을 관찰하였다. 선종은 대한병리학회 소화기 병 연구회의 이형성 등급 분류법²²에 따라 저등급과 고등급으로 나누었다. 침윤성 선암종은 WHO의 조직학적 분화도 기준²³에 따라 고도, 중등도, 저분화 암종으로 나누었다. 종양의 국소 침윤 정도에 따라 고유 점막 층 또는 근 층까지 침범 한 경우와 그 이상 침범한 예로 나누었다. 또 암종의 성장 양상에 따라 돌출형, 침윤형, 혼재형으로 나누었다. 같이 절제된 림프절에서 종양의 전이 여부를 확인하여 음성과 양성으로 나누었다.

3. 면역조직화학적 염색

10% 중성 포르말린 용액에 고정하고 파라핀 포매한 조직을 4 μ m 두께로 절편을 만들어 xylene으로 탈파라핀하고 고 농도에서 저 농도의 알코올을 거쳐 증류수로 함수 시켰다. 항원의 노출을 위하여 citric acid buffer에서 극초단파를 이용하여 1분 30초간 끓였다. 내인성 peroxidase의 활성을 억제하기 위하여 3% 과산화수소수로 15분간 처리하였다. 다시 증류수로 2분간 세척하고 Tris buffer로 10분간 처리하였다. 정상 염소 혈청을 도포하여 비특이적 결합을 억제하였다. 일차 항체인 MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 (Oncogene, Boston, MA, USA)를 각각 1:50으로 희석하여 4℃에서 밤새 반응시켰다. 이차항체를 12분간 처리하고 다시 Tris buffer에서 10분간 처리한 후 streptavidin-biotin universal detection system (Immunotech, Marseille, France)를 적용하였다. Tris buffer에 10분간 수세하고 DAB chromogen kit

(Immunotech, Marseille, France)로 발색한 다음 증류수로 수세하고 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색을 하여 각 항원을 발현하는 세포와 부위를 조사하였다. 판독은 종양세포의 10% 미만에서 약 양성이거나 염색이 되지 않는 예를 음성으로 하였다. 양성 군은 염색 정도에 따라 각각 종양세포의 10%이상 50%미만에서 양성을 보인 경우를 1+로 하였고 종양세포의 50% 이상에서 양성을 보인 경우를 2+로 하였다.

4. 통계처리

통계처리는 SPSS 프로그램을 이용하여 각 변수들 간의 유의성을 Pearson Chi-square test로 검정하여 p 값이 0.05 미만인 경우를 유의하다고 판정하였다.

III. 결 과

1. 임상 및 병리조직학적 소견

담낭 선종의 평균 연령은 48.2세였고, 남자가 16명, 여자가 20명으로 남녀 비는 1 : 1.25였다. 담낭 선종의 이형성 정도는 저등급이 19예, 고등급이 17예였다.

담낭 선암종의 평균 연령은 60.8세였고, 남자가 28명, 여자가 44명으로 남녀 비는 1 : 1.6였다. 조직학적 분화도에 따라 고도 또는 중등도 분화 암종이 51예, 저분화 암종이 21예였다. 침윤 깊이에 따라 고유 점막 층 또는 근 층까지 침범한 예가 20예, 그 이상 침범한 예가 52예였다. 암종의 성장 양상에 따라 돌출형이 18예, 침윤형이 44예, 혼재형이 10예였다. 선암종 중 림프절이 확인된 예는 41예였고 이 중 음성이 23예, 양성이 18예였다.

2. MMP-2에 대한 면역조직화학 염색

담낭 선종 36예는 모두 MMP-2를 표지 하였고, 이형성 등급에 따라서는 저등급 19예는 모두 1+였고, 고등급 17예는 1+가 10예 (58.8%), 2+가 7예 (41.2%)로 고등급이 더 강하게 발현되었다 ($p < 0.05$) (Fig. 1) (Table 1).

담낭 선암종 72예는 MMP-2에 음성이 27예 (37.5%), 양성이 45예 (62.5%)였다 (Table 2). 침윤 정도에 따른 발현은 고유 점막 층 또는 근 층까지 침윤한 20예는 음성이 1예 (5.0%), 양성이 19예 (95.0%)였고, 그 이상 침윤한 선암종 52예는 음성이 26예 (50.0%), 양성이 26예 (50.0%)로 고유 점막 층이나 근 층까지 침윤한 예가 그 이상 침윤한 예보다 발현율이 높았다 ($p < 0.05$). 분화도에 따라 고도 또는 중등도 분화 암종 51예는 음성이 12예 (23.5%), 양성이 39예 (76.5%)였으며, 저분화 암종 21예는 각각 음성이 15예 (71.4%), 양성이 6예 (28.6%)로 분화가 좋은 종양에서 더 높은 발현율을 보였다 ($p < 0.05$). 성장 양상에 따라 돌출형 18예는 음성이 1예 (5.6%), 양성이 17예 (94.4%)였고, 침윤형 44예는 음성이 24예 (54.5%), 양성이 20예 (45.5%)로 돌출형이 침윤형보다 높은 발현율을 보였다 ($p < 0.05$). 혼합형 10

예는 각각 음성이 2예 (20.0%), 양성인 8예 (80.0%)로 침윤 초기에 해당하는 부위에서 강 양성을 보였다. 림프절 전이가 없었던 23예는 음성이 5예 (21.7%), 양성인 18예 (78.3%)였고, 전이가 있었던 18예는 음성이 10예 (55.6%), 양성인 8예 (44.4%)로 림프절 전이가 없는 예에서 발현율이 더 높았다 ($p<0.05$).

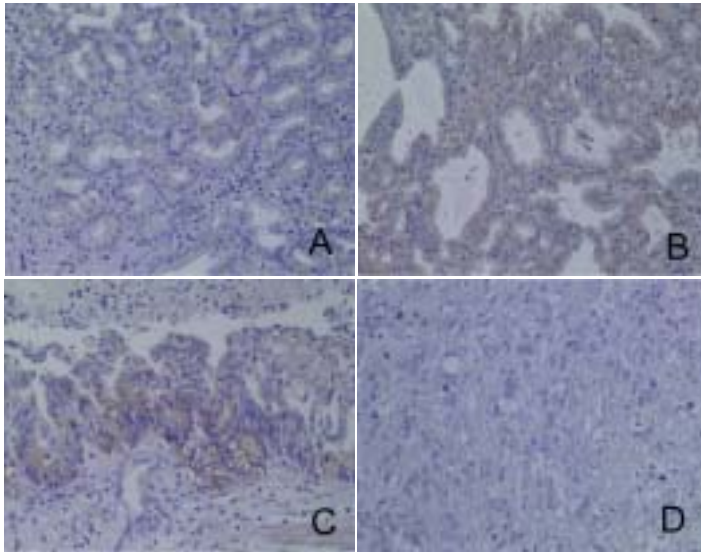


Fig. 1. Immunohistochemistry for MMP-2. MMP-2 expression was 1+ in low grade (A) and 2+ in high grade (B) adenoma, and 2+ in early stage (C) and negative in advanced stage (D) of invasive adenocarcinoma of the gallbladder.

Table 1. Expression of MMP-2 in adenoma of the gallbladder

	MMP-2 immunoreactivity (%)		
	Positive		Negative
	1+	2+	
Dysplasia grade*			
Low (n=19)	19 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
High (n=17)	10 (58.8)	7 (41.2)	0 (0.0)

*; p value<0.05

Table 2. Expression of MMP-2 in adenocarcinoma of the gallbladder

	MMP-2 immunoreactivity (%)	
	Positive	Negative
Depth of invasion*		
Lp/Pm (n=20)	19 (95.0)	1 (5.0)
S (n=52)	26 (50.0)	26 (50.0)
Differentiation*		
Well/Moderate (n=51)	39 (76.5)	12 (23.5)
Poorly (n=21)	6 (28.6)	15 (71.4)
Growth pattern*		
Fungating (n=18)	17 (94.4)	1 (5.6)
Infiltrative (n=44)	20 (45.5)	24 (54.5)
Mixed (n=10)	8 (80.0)	2 (20.0)
LN metastasis*		
Positive (n=18)	8 (44.4)	10 (55.6)
Negative (n=23)	18 (78.3)	5 (21.7)
Unidentified (n=31)	19 (61.3)	12 (38.7)

Lp; lamina propria, Pm; proper muscle,

S; perimuscular connective tissue and beyond serosa

LN; lymph node, *, p value<0.05

3. MMP-9에 대한 면역조직화학 염색

담낭 선종 36예는 MMP-9에 음성이 2예 (5.6%), 양성인 34예 (94.4%)였다. 이형성 등급에 따라 저등급 19예는 음성이 2예 (10.5%), 1+가 17예 (89.5%)였고, 고등급 17예는 1+가 6예 (35.3%), 2+가 11예 (64.7%)로 고등급에서 더 강하게 발현되었다 ($p<0.05$) (Fig. 2) (Table 3).

담낭 선암종 72예는 음성이 34예 (47.2%), 양성인 38예 (52.8%)였다 (Table 4). 종양의 침윤 정도에 따른 발현은 고유 점막 층 또는 근 층까지 침윤한 20예는 음성이 2예 (10.0%), 양성인 18예 (90.0%)였고, 그 이상 침윤한 52예는 음성이 32예 (61.5%), 양성인 20예 (38.5%)로 고유 점막 층이나 근 층까지 침범한 예가 그 이상 침윤한 예보다 더 높은 발현율을 보였다 ($p<0.05$). 분화도에 따라 고도 또는 중등도 분화 암종 51예는 음성이 18예

(35.3%), 양성인 33예 (64.7%)였고, 저분화 암종 21예는 각각 음성이 16예 (76.2%), 양성인 5예 (23.8%)로 분화가 좋은 종양에서 더 높은 발현율을 보였다 ($p<0.05$). 성장 양상에 따라 돌출형 18예는 음성이 1예 (5.6%), 양성인 17예 (94.4%)였고, 침윤형 44예는 음성이 28예 (63.6%), 양성인 16예 (36.4%)로 돌출형이 침윤형보다 높은 발현율을 보였다 ($p<0.05$). 혼합형 10예는 각각 음성이 5예 (50.0%), 양성인 5예 (50.0%)로 침윤 초기에 해당하는 부위에서 강 양성을 보였다. 림프절 전이가 없었던 23예는 음성이 8예 (34.8%), 양성인 15예 (65.2%)였고, 전이가 있었던 18예는 음성이 9예 (50.0%), 양성인 9예 (50.0%)로 림프절 전이가 없었던 예에서 더 발현율이 높았으나 통계적 유의성은 없었다.

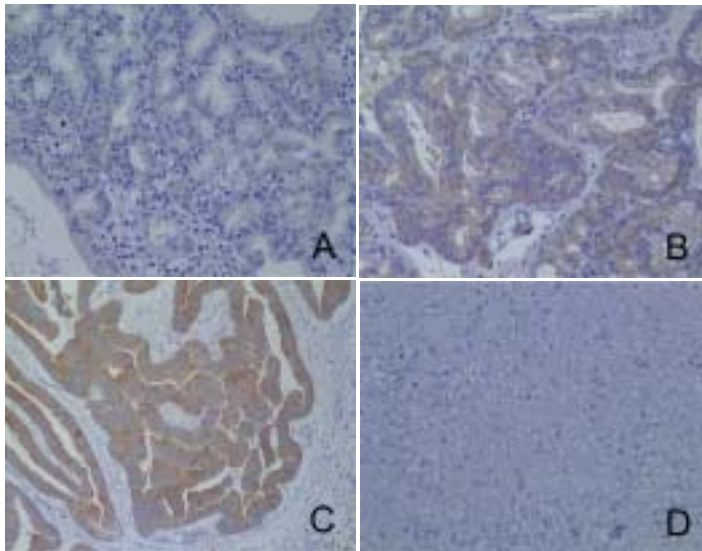


Fig. 2. Immunohistochemistry for MMP-9. MMP-9 expression was 1+ in low grade (A) and 2+ in high grade (B) adenoma, and 2+ in well differentiated (C) and negative in poorly differentiated (D) adenocarcinoma of the gallbladder.

Table 3. Expression of MMP-9 in adenoma of the gallbladder

	MMP-9 immunoreactivity (%)		
	Positive		Negative
	1+	2+	
Dysplasia grade*			
Low (n=19)	17 (89.5)	0 (0.0)	2 (10.5)
High (n=17)	6 (35.3)	11 (64.7)	0 (0.0)

*; p value<0.05

Table 4. Expression of MMP-9 in adenocarcinoma of the gallbladder

	MMP-9 immunoreactivity (%)	
	Positive	Negative
Depth of invasion*		
Lp/Pm (n=20)	18 (90.0)	2 (10.0)
S (n=52)	20 (38.5)	32 (61.5)
Differentiation*		
Well/Moderate (n=51)	33 (64.7)	18 (35.3)
Poorly (n=21)	5 (23.8)	16 (76.2)
Growth pattern*		
Fungating (n=18)	17 (94.4)	1 (5.6)
Infiltrative (n=44)	16 (36.4)	28 (63.6)
Mixed (n=10)	5 (50.0)	5 (50.0)
LN metastasis†		
Positive (n=18)	9 (50.0)	9 (50.0)
Negative (n=23)	15 (65.2)	8 (34.8)
Unidentified (n=31)	4 (12.9)	27 (87.1)

Lp; lamina propria, Pm; proper muscle,

S; perimuscular connective tissue and beyond serosa

LN; lymph node, *, p value<0.05, †; p value≥0.05

4. TIMP-1에 대한 면역조직화학 염색

담낭 선종 36예는 모두 양성이었다. 이형성 등급에 따라 저등급 19예는 1+이 19예 (100.0%), 고등급 17예는 1+가 12예 (70.6%), 2+가 5예 (29.4%)로 고등급에서 발현율이 더 높았다 (p<0.05) (Fig. 3) (Table 5).

담낭 선암종 72예는 음성이 40예 (55.6%), 양성인 32예 (44.4%)였다 (Table 6). 침윤 정도에 따른 발현은 고유 점막 층 또는 근 층까지 침윤한 20예는 음성이 3예 (15.0%), 양성인 17예 (85.0%)였고, 그 이상 침윤한 52예는 음성이 37예 (71.2%), 양성인 15예 (28.8%)로 고유 점막 층이나 근 층까지 침윤한 예가 그 이상 침윤한 예 보다 높은 발현율을 보였다 ($p<0.05$). 분화도에 따라 고도 또는 중등도 분화 암종 51예는 음성이 21예 (41.2%), 양성인 30예 (58.8%)였고, 저분화 암종 21예는 각각 음성이 19예 (90.5%), 양성인 2예 (9.5%)로 분화가 좋은 종양에서 더 높은 발현율을 보였다 ($p<0.05$). 성장 양상에 따라 돌출형 18예는 음성이 2예 (11.1%), 양성인 16예 (88.9%)였고, 침윤형 44예는 음성이 35예 (79.5%), 양성인 9예 (20.5%)로 돌출형이 침윤형보다 높은 발현율을 보였다 ($p<0.05$). 혼합형 10예는 각각 음성이 3예 (30.0%), 양성인 7예 (70.0%)로 침윤 초기에 해당하는 부위에서 강 양성을 보였다. 림프절 전이가 없었던 23예는 음성이 9예 (39.1%), 양성인 14예 (60.9%)였고, 전이가 있었던 18예는 음성이 12예 (66.7%), 양성인 6예 (33.3%)로 림프절 전이가 없었던 예에서 더 발현율이 높았으나 통계적 유의성은 없었다.

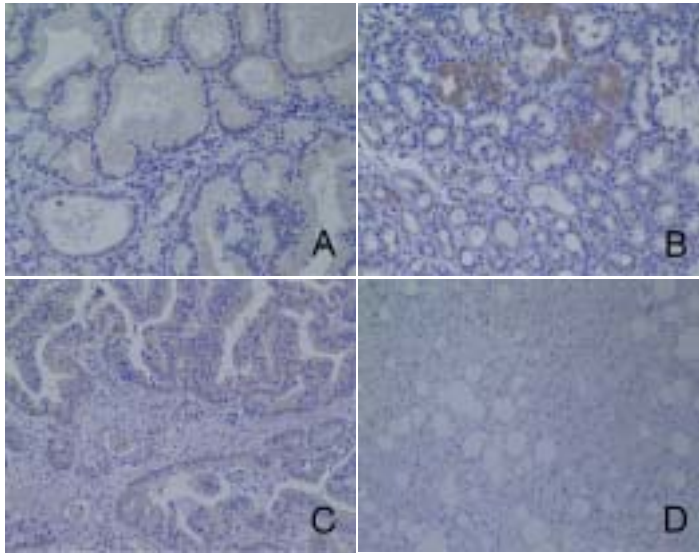


Fig. 3. Immunohistochemistry for TIMP-1. TIMP-1 expression was 1+ in low grade (A) and 2+ in high grade (B) adenoma, and 2+ in fungating (C) and negative in infiltrative (D) type of adenocarcinoma of the gallbladder.

Table 5. Expression of TIMP-1 in adenoma of the gallbladder

	TIMP-1 immunoreactivity (%)		
	Positive		Negative
	1+	2+	
Dysplasia grade*			
Low (n=19)	19 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
High (n=17)	12 (70.6)	5 (29.4)	0 (0.0)

*; p value<0.05

Table 6. Expression of TIMP-1 in adenocarcinoma of the gallbladder

	TIMP-1 immunoreactivity (%)	
	Positive	Negative
Depth of invasion*		
Lp/Pm (n=20)	17 (85.0)	3 (15.0)
S (n=52)	15 (28.8)	37 (71.2)
Differentiation*		
Well/Moderate (n=51)	30 (58.8)	21 (41.2)
Poorly (n=21)	2 (9.5)	19 (90.5)
Growth pattern*		
Fungating (n=18)	16 (88.9)	2 (11.1)
Infiltrative (n=44)	9 (20.5)	35 (79.5)
Mixed (n=10)	7 (70.0)	3 (30.0)
LN metastasis [†]		
Positive (n=18)	6 (33.3)	12 (66.7)
Negative (n=23)	14 (60.9)	9 (39.1)
Unidentified (n=31)	12 (38.7)	19 (61.3)

Lp; lamina propria, Pm; proper muscle,

S; perimuscular connective tissue and beyond serosa

LN; lymph node, *; p value<0.05, [†]; p value≥0.05

5. TIMP-2에 대한 면역조직화학 염색

담낭 선종 36예는 TIMP-2에 음성이 3예 (8.3%), 양성인 33예 (91.7%)였다. 담낭 선종은 이형성 정도에 따라 저등급 19예는 음성이 2예 (10.5%), 1+가 17예 (89.5%)였고, 고등급 17예는 음성이 1예 (5.9%), 1+가 12예 (70.6%), 2+가 4예 (23.5%)로 고등급에서 더 높은 발현율을 보였으나 통계적 의의는 없었다 (Fig. 4) (Table 7).

담낭 선암종 72예는 음성이 48예 (66.7%), 양성인 24예 (33.3%)였다 (Table 8). 침윤 정도에 따른 발현은 고유 점막 층 또는 근 층까지 침윤한 20예는 음성이 5예 (25.0%), 양성인 15예 (75.0%)였고, 그 이상 침윤한 52예는 음성이 43예 (82.7%), 양성인 9예 (17.3%)로 고유 점막 층이나 근 층까지 침윤한 예가 그 이상 침윤한 예보다 높은 발현율을 보였다 ($p<0.05$). 분화도에 따라 고도 또는 중

등도 분화 암종 51예는 음성이 30예 (58.8%), 양성인 21예 (41.2%)였고, 저분화 암종 21예는 각각 음성이 18예 (85.7%), 양성인 3예 (14.3%)로 분화가 잘된 종양에서 높은 발현율을 보였으나 통계적 의미는 없었다. 성장 양상에 따라 돌출형 18예는 음성이 4예 (22.2%), 양성인 14예 (77.8%)였고, 침윤형 44예는 음성이 39예 (88.6%), 양성인 5예 (11.4%)로 돌출형이 침윤형보다 높은 발현율을 보였다 ($p<0.05$). 혼합형 10예는 각각 음성이 5예 (50.0%), 양성인 5예 (50.0%)로 침윤 초기에 해당하는 부위에서 강 양성을 보였다. 림프절 전이가 없었던 23예는 음성이 13예 (56.5%), 양성인 10예 (43.5%)였고, 전이가 있었던 18예는 음성이 13예 (72.2%), 양성인 5예 (27.8%)로 림프절 전이와 TIMP-2의 발현과는 유의한 상관관계가 없었다.

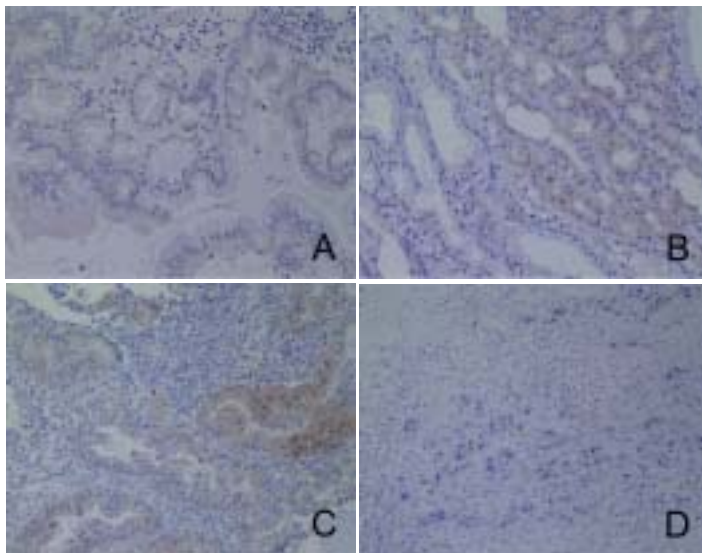


Fig. 4. Immunohistochemistry for TIMP-2. TIMP-2 expression was 1+ in low grade (A) and 2+ in high grade (B) adenoma, and 2+ in well differentiated (C) and negative in poorly differentiated (D) adenocarcinoma of the gallbladder.

Table 7. Expression of TIMP-2 in adenoma of the gallbladder

	TIMP-2 immunoreactivity (%)		
	Positive		Negative
	1+	2+	
Dysplasia grade [†]			
Low (n=19)	17 (89.5)	0 (0.0)	2 (10.5)
High (n=17)	12 (70.6)	4 (23.5)	1 (5.9)

[†]; p value ≥ 0.05

Table 8. Expression of TIMP-2 in adenocarcinoma of the gallbladder

	TIMP-2 immunoreactivity (%)	
	Positive	Negative
Depth of invasion [*]		
Lp/Pm (n=20)	15 (75.0)	5 (25.0)
S (n=52)	9 (17.3)	43 (82.7)
Differentiation [†]		
Well/Moderate (n=51)	21 (41.2)	30 (58.8)
Poorly (n=21)	3 (14.3)	18 (85.7)
Growth pattern [*]		
Fungating (n=18)	14 (77.8)	4 (22.2)
Infiltrative (n=44)	5 (11.4)	39 (88.6)
Mixed (n=10)	5 (50.0)	5 (50.0)
LN metastasis [†]		
Positive (n=18)	5 (27.8)	13 (72.2)
Negative (n=23)	10 (43.5)	13 (56.5)
Unidentified (n=31)	9 (29.0)	22 (71.0)

Lp; lamina propria, Pm; proper muscle,

S; perimuscular connective tissue and beyond serosa

LN; lymph node, ^{*}; p value < 0.05 , [†]; p value ≥ 0.05

6. MMP-2와 TIMP-2의 발현 관계

담낭 선종 및 선암종 전체 108예 중에서 MMP-2가 음성인 예는 27예였고 이 중 24예 (88.9%)가 TIMP-2도 음성이었다. MMP-2가 양성인 81예 중

54예 (66.7%)가 TIMP-2도 양성으로 이들 두 효소의 발현에 유의한 상관관계를 보였다 ($p<0.05$).

두 효소의 발현 양상은 침윤 깊이, 분화도, 성장 양상에서 유의한 차이를 보였다 ($p<0.05$) (Table 9). 특히 침윤 깊이와 성장 양상은 MMP-2가 양성이고 TIMP-2가 음성인 예에서 두 효소가 모두 양성인 예보다 침윤성 성장이 증가하여, MMP-2와 TIMP-2가 모두 음성인 예에서 근 층 이상 침윤한 예와 침윤형의 비율이 가장 높았다. 분화도는 MMP-2가 음성인 예에서 뚜렷이 나빠지는 양상이었다. 림프절 전이는 이들 효소의 발현 양상과 상관관계가 없었다.

Table 9. Relationship of MMP-2/TIMP-2 expression in adenocarcinoma of the

	MMP-2/TIMP-2 immunoreactivity (%)			
	+/+	+/-	-/+	-/-
Depth of invasion*				
Lp/Pm (n=20)	14 (70.0)	5 (25.0)	1 (5.0)	0 (0.0)
S (n=52)	7 (13.5)	19 (36.5)	2 (3.8)	24 (46.2)
Differentiation*				
Well/Moderate (n=51)	18 (35.3)	21 (41.2)	3 (5.9)	9 (17.6)
Poorly (n=21)	3 (14.3)	3 (14.3)	0 (0.0)	15 (71.4)
Growth pattern*				
Fungating (n=18)	13 (72.2)	4 (22.2)	1 (5.6)	0 (0.0)
Infiltrative (n=44)	5 (11.4)	15 (34.1)	0 (0.0)	24 (54.5)
Mixed (n=10)	3 (30.0)	5 (50.0)	2 (20.0)	0 (0.0)
LN metastasis [†]				
Positive (n=18)	4 (22.2)	4 (22.2)	1 (5.6)	9 (50.0)
Negative (n=23)	9 (39.1)	9 (39.1)	1 (4.3)	4 (17.4)
Unidentified (n=31)	8 (25.8)	11 (35.5)	1 (3.2)	11 (35.5)

+, positive, -, negative

Lp; lamina propria, Pm; proper muscle,

S; perimuscular connective tissue and beyond serosa

LN; lymph node, *, p value <0.05 , [†]; p value ≥ 0.05

7. MMP-9과 TIMP-1의 발현 관계

담낭의 선종 및 선암종 전체 108예 중 MMP-9이 음성인 예는 36예였고 이 중 30예 (83.3%)는 TIMP-1도 음성이었다. MMP-9이 양성인 72예 중 62예 (86.1%)가 TIMP-1도 양성으로 이들 두 효소의 발현에 유의한 상관관계를 보였다 ($p<0.05$). 담낭 선암종에서 이 두 효소의 발현 양상은 침윤 깊이, 분화도, 성장 양상과 유의한 차이를 보였다 ($p<0.05$) (Table 10). 이들 효소의 발현과 림프절 전이와는 유의한 상관관계가 없었다.

Table 10. Relationship of MMP-9/TIMP-1 expression in adenocarcinoma of the gallbladder

	MMP-9/TIMP-1 immunoreactivity (%)			
	+/+	+/-	-/+	-/-
Depth of invasion*				
Lp/Pm (n=20)	16 (80.0)	2 (10.0)	1 (5.0)	1 (5.0)
S (n=52)	12 (23.1)	8 (15.4)	3 (5.8)	29 (55.8)
Differentiation*				
Well/Moderate (n=51)	26 (51.0)	7 (13.7)	4 (7.8)	14 (27.5)
Poorly (n=21)	2 (9.5)	3 (14.3)	0 (0.0)	16 (76.2)
Growth pattern*				
Fungating (n=18)	15 (83.3)	2 (11.1)	1 (5.6)	0 (0.0)
Infiltrative (n=44)	8 (18.2)	8 (18.2)	1 (2.3)	27 (61.4)
Mixed (n=10)	5 (50.0)	0 (0.0)	2 (20.0)	3 (30.0)
LN metastasis [†]				
Positive (n=18)	4 (22.2)	5 (27.8)	2 (11.1)	7 (38.9)
Negative (n=23)	13 (56.5)	2 (8.7)	1 (4.3)	7 (30.4)
Unidentified (n=31)	11 (35.5)	3 (9.7)	1 (3.2)	16 (51.6)

+, positive, -, negative

Lp; lamina propria, Pm; proper muscle,

S; perimuscular connective tissue and beyond serosa

LN; lymph node, *, p value <0.05 , [†]; p value ≥ 0.05

IV. 고 찰

본 연구에서 담낭의 전암병소인 선종에서부터 MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2가 발현되기 시작하여, 고등급 선종, 초기 암종으로 진행하면서 점점 더 강하게 발현되었다. MMP-2와 MMP-9은 각각 proMMP-2와 proMMP-9 형태로 생성되어 세포 밖으로 분비된 후 활성화되어 생물학적 작용을 나타내는데² 일반적으로 면역조직화학적 염색에 사용되는 항체는 pro-form과 활성형에 모두 결합하게 되어있다. 따라서 주로 종양 세포 내에서 발현되는 형태는 pro-form 이므로 이미 담낭 선종에서부터 pro-form의 생성은 증가되어 있는 것으로 보인다. 기관지 전암 병소와 진행 암종에서 MMP-2와 MMP-9이 기저세포 증식증, 편평세포 화생과 같은 전암 병소에서부터 발현되기 시작하여, 상피내 암, 침윤성 암종으로 진행하면서 강하게 발현된 결과와²⁴ 유사하다. 후두의 전암 병소와 암종에서도 MMP-2는 비정형 증식증에서 부터 발현되어, 상피내 암, 침윤 암으로 진행하면서 더 강하게 발현됨을 보여주었다.²⁵ 기저막이나 세포외 기질을 분해하는 이들 효소가 왜 침윤을 하지 않는 선종에서부터 높게 발현되는 지는 아직 정확히 알 수 는 없으나, 이미 발현된 이들 pro-form이 더 진행하면서 활성형으로 바뀔 것으로 생각된다. 대장의 선종이나 비 전이성 암종에서도 이미 proMMP-2와 proMMP-9 이 발현되며 전이성 암종에서는 각각의 활성형의 비율이 유의하게 높았다고 보고되었으며,⁹ 난소 종양에서도 양성, 저등급 악성, 악성 종양으로 갈수록 proMMP-2와 proMMP-9의 발현이 증가하였으나 활성형 은 단지 암종과 전이 병소에서만 발현됨을 보고하였다.¹⁷ 따라서 암종으로 진행에는 효소의 전체 양보다 활성형의 양이 중요한 것으로 보인다.

본 연구에서 고등급 이형성 선종과 상피내 암종 및 초기 침윤 암까지 이들 효소들의 발현이 증가하다가 본격적인 심한 침윤을 보이는 예에서는 다시 발현이 감소하였다. 이는 침윤성 암종으로 진행하는 과정에 있어 이들 효소들은 종양의 초기 진행에 주로 작용하는 것으로 생각된다. 조직학적 분화도에 따른 이들 효소들의 발현이 분화가 나쁜 경우에 발현율이 낮은 결과

를 보였다. 이는 폐 선암종에서¹⁸ MMP-2가, 대장암에서⁸ MMP-2와 MMP-9이 종양의 분화가 좋은 경우가 나쁜 경우 보다 더 강하게 발현됨을 보여준 것과 같은 결과이다. Sakamoto 등도 간세포 암종에서 MMP-9은 분화가 좋은 작은 암종에서 더 강하게 발현되었다고 보고하였다.²⁶ 또 침윤성 선암종에서 선 구조를 잘 형성하지 않는 부위에서는 발현이 거의 안되었으나 선 구조를 형성하는 부위에서는 선 구조 내에서 침윤 전방부에 해당하는 세포들에서 다시 발현되었다. 이 사실은 이들 효소들이 선 구조를 형성하지 않고 침윤이 진행되는 과정 중에는 발현이 일시적으로 억제되었다가 새로운 선구조의 침윤 전방부를 형성할 때 다시 발현이 증가되는 것으로 이해할 수 있다. 그리고 분화가 나쁜 선암종에서는 주변 기질로 침윤하는 과정에 MMP-2나 MMP-9 외에 다른 기질 분해 효소들이 작용할 것으로 기대된다. Brinckerhoff 등²⁷의 고찰에 의하면 MMP-2와 MMP-9이 주로 기저막의 파괴에 관여하는 것과는 달리 제 1형 또는 제 3형 교원질을 분해하는 효소인 membrane type 1-MMP (MT1-MMP), MMP-1, MMP-13 등이 일부 상피암종과 간엽 기원 육종에서 침윤 전방부의 종양세포와 기질에서 높게 발현됨을 보고하고 있어 최근 이들 간엽 교원질 분해효소에 대한 관심이 고조되고 있다. 림프절 전이와의 관계에 있어서 MMP-2, MMP-9, TIMP-1이 전이가 없는 군에서 발현율이 높았다. 이 결과는 이들 효소의 발현이 림프절 전이를 억제하기보다는 이들 효소가 림프절 전이가 있기 전 선암종 진행 초기에 발현됨으로 인한 결과로 보는 것이 타당하겠다.

한편 다른 장기의 종양에서 MMPs와 TIMPs에 관한 연구들은 다소 다양한 결과를 보고하였는데, 췌장 암종에서는 MMP-2의 m-RNA 및 면역조직화학적 발현이 침윤성과 섬유증식과 관계 있음이 보고되었다.¹² 종양의 병기나 조직학적 분화도에 관련되어 난소 종양에서 MMP-2, MMP-9, TIMP-2의 면역조직화학적 발현율은 진행 암 일수록, 분화가 나쁠수록 높았음이 보고되어 있다.¹⁶ 이행상피 종양에 대한 Nakanishi 등¹⁴과 Papathoma 등¹⁵은 각각 MMP-2의 m-RNA 및 면역조직화학적 발현과, MMP-9의 면역조직화학적 발현은 침윤 정도와 조직학적 등급에 비례해서 발현이 증가함을 보

고하여 본 연구 결과와 상이하였다. 또한 같은 담관계 종양이지만 간내 담도 암종에서 MMPs의 면역조직화학적 발현율이 주위로 침윤이 심할수록 높았다는¹⁹ 결과와도 달라 담낭 암과 간내 담도암의 진행에 있어 분자생물학적 과정은 서로 다를 수 있음을 시사한다.

TIMPs는 MMPs에 대한 길항 작용으로 종양진행을 억제하거나 이와 관련된 임상병리학적 지표들과 연관이 있을 것으로 기대되었으나, 여러 장기 종양에서 연구들에 의하면 더 다양하고 복잡한 결과들이 보고되었다. 간내 담도암에서 침윤이 심할수록 TIMPs의 면역조직화학적 발현율이 높았고,¹⁹ 간세포 암종에서 TIMP-2 m-RNA는 조직학적 등급이 높을수록 발현율이 높았다는 보고가²⁸ 있다. 비소세포성 폐암에서 TIMP-1와 TIMP-2의 면역조직화학적 발현은 높은 병기일수록 높았다.¹⁸ 췌장암에서 Gong 등의 연구에 의하면 TIMP-1 m-RNA 발현은 피막침윤과 림프절 전이와 상관관계를 보였으나,¹³ Yamamoto 등의 연구에서는 TIMPs의 면역조직화학적 발현은 췌장암의 임상병리적 지표와는 관계가 없음을 보고하였다.²⁹ 난소 종양에서 면역조직화학적 및 m-RNA 발현에 관한 연구에서 MMP-2, MMP-9, TIMP-2의 과 발현과 TIMP-1의 하향조절이 종양의 진행과 관련 있었다.¹⁶

본 연구에서는 TIMP-1과 TIMP-2의 발현이 각각 MMP-9와 MMP-2의 발현과 대체로 병행하는 결과를 보인 것은 이들 효소들이 작용할 때 상호작용이 있어, 담낭 선암종의 초기 진행에 관여함을 알 수 있다. MMP-2와 TIMP-2가 같은 종양에서 유사한 정도의 발현을 보이는 것은 증가된 MMPs의 활성을 길항하기 위한 생체의 노력으로도 볼 수 있다.⁴ 이 사실은 본 연구의 MMP-2와 TIMP-2의 발현 양상과 병리학적 소견과의 비교 분석에서 MMP-2만 발현되는 군이 MMP-2와 TIMP-2 모두 발현하는 군보다 큰 층 이상 침윤한 예와 침윤성 성장을 보인 예가 뚜렷이 증가하는 양상을 보여 TIMP-2의 발현이 담낭 선암종 초기에 MMP-2의 작용을 억제하는 것으로 보이는 것으로 이해할 수 있다. 그리고, TIMPs의 주된 생물학적 작용은 MMPs를 억제하는 것이지만 최근 단순히 억제하는 기능 외에 활성화에도 관여하는 것이 알려졌으며, MMP-2가 활성화되는 방법으로는

proMMP-2가 MT1-MMP와 결합하여 N-말단 영역을 분리하는 과정에 TIMP-2가 같이 결합한다는 사실이^{1,2,4} MMP-2와 TIMP-2의 발현이 병행하는 이유에 대한 또 다른 설명이 될 수 있겠다. TIMP-1의 경우는 성장인자와 많은 구조적 동질성을 보여,⁴ 최초의 TIMPs가 MMPs의 기질분해 작용을 억제함으로써 종양 진행을 억제할 것이라는 기대와는 달리 최근 종양의 성장과 진행을 촉진하는 작용 등 다양한 기능을 가지고 있음이 밝혀지고 있다.^{1,2,4} 그 이외에 각각 효소들의 복잡한 작용과 상호작용이 존재하여 각각 효소들의 절대적인 양보다 서로의 상대적인 양에 의해 생물학적 효과를 나타낸다. 즉 고농도의 TIMP-2는 proMMP-2의 활성화를 억제하며, MMP-9/TIMP-1의 비율이 1보다 크면 MMP-9는 오히려 활성화된다.² MMPs와 TIMPs의 효소 활성의 정량적인 차이가 결국 이들 효소의 작용을 반영하므로 효소 활성치에 관한 정량적 비교를 하면 좀 더 정확한 생물학적 효과를 이해할 수 있을 것이다.

결론적으로, 본 연구에서 MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2는 담낭암의 진행에 있어 침윤성 성장 초기에 주로 작용하며 종양의 분화가 나쁘고 침윤이 아주 심한 종양에서는 더 이상의 침윤에는 별로 관여하지 않음을 알 수 있었다. 그리고 MMP-2와 TIMP-2, MMP-9과 TIMP-1은 서로 상관 관계를 가지며 동시에 발현하는 양상을 보여 이들 효소는 담낭 선암종의 초기 진행에 각각 독립적으로 작용하기보다는 상호작용이 이루어짐을 알 수 있었다. 특히 TIMP-2는 담낭 선암종의 초기 진행에 MMP-2의 작용을 억제함을 알 수 있었다. 이들 효소들의 자세한 상호작용 결과를 알기 위해서는 각각 효소와 그 길항 효소의 활성치에 관한 정량적 연구가 더 필요할 것으로 생각한다.

V. 결 론

담낭 선종 36예와 담낭 선암종 72예를 대상으로 하여 MMP-2, MMP-9, TIMP-1과 TIMP-2에 대한 면역조직화학적 연구를 통한 이들 효소들의 발현 양상을 조사한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2는 저등급 담낭 선종에서부터 발현되기 시작하여 고등급 담낭 선종 및 초기 선암종으로 진행함에 따라 점점 더 강하게 발현되었다.
2. MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2는 침윤 깊이에 따라 고유 점막층이나 근 층까지 침윤한 예가 그 이상 침윤한 예보다 더 높은 발현율을 보였다.
3. MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2는 분화도에 따라 고도 또는 중등도 분화 암종이 저분화 암종보다 더 높은 발현율을 보였다.
4. MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2는 성장 양상에 따라 돌출형이 침윤형보다 더 높은 발현율을 보였다.
5. MMP-2, MMP-9, TIMP-1의 발현율이 림프절 전이가 없었던 예에서 더 높았다.
6. MMP-2와 TIMP-2, MMP-9과 TIMP-1은 담낭 선종과 선암종에서 발현율에 있어 서로 유의한 상관관계를 보였으며, 선암종의 침윤 깊이, 분화도 및 성장 양상과 유의한 상관관계를 보였다. 특히 TIMP-2는 담낭 선암종의 초기 진행에서 MMP-2를 억제하는 결과를 보였다.

이상의 결과에서 MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2는 담낭 암종의 초기 발생과정 및 침윤성 성장 초기에 주로 작용하며 종양의 분화가 나쁘고 침윤이 아주 심한 종양에서는 더 이상의 침윤에는 별로 관여하지 않음을 알 수 있었다. 그리고 MMP-2와 TIMP-2, MMP-9과 TIMP-1은 서로 상관관

계를 가지며 동시에 발현하는 양상을 보여 이들이 담낭 암종의 초기 진행에 각각 독립적으로 작용하기보다는 상호작용이 이루어짐을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *J Pathol* 1999;189:300-8.
2. Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumor invasion and metastasis. *Eur J Cancer* 2000;36:1621-30.
3. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: multifunctional contributors to tumor progression. *Mol Med Today* 2000;6:149-56.
4. Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J Clin Oncol* 2000;18:1135-49.
5. Hong SD, Hong SP, Lee JI, Lim CY. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 in oral squamous cell carcinomas with regard to the metastatic potential. *Oral Oncol* 2000;36:207-13.
6. Ohashi K, Nemoto T, Nakamura K, Nemori R. Increased expression of matrix metalloproteinase 7 and 9 and membrane type 1-matrix metalloproteinase in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer* 2000;88:2201-9.
7. Mori M, Mimori K, Shiraishi T, Fujie T, Baba K, Kusumoto H, et al.

Analysis of MT1-MMP and MMP2 expression in human gastric cancers. *Int J Cancer* 1997;74:316-21.

8. Kim TS, Kim YB. Correlation between expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and angiogenesis in colorectal adenocarcinoma. *Korean Med Sci* 1999;14:263-70.
9. Zeng ZS, Cohen AM, Guillem JG. Loss of basement membrane type IV collagen is associated with increased expression of metalloproteinases 2 and 9 (MMP-2 and MMP-9) during human colorectal tumorigenesis. *Carcinogenesis* 1999;20:749-55.
10. Shirabe K, Shimada M, Kajiyama K, Hasegawa H, Gion T, Ikeda Y, et al. Expression of matrix metalloproteinase-9 in surgically resected intrahepatic cholangiocarcinoma. *Surgery* 1999;126:842-6.
11. Koshiha T, Hosotani R, Wada M, Fujimoto K, Lee JU, Doi R, et al. Detection of matrix metalloproteinase activity in human pancreatic cancer. *Surg Today* 1997;27:302-4.
12. Ellenrieder V, Alber B, Lacher U, Hendler SF, Menke A, Boeck W, et al. Role of MT-MMPs and MMP-2 in pancreatic cancer progression. *Int J Cancer* 2000;85:14-20.
13. Gong YL, Xu GM, Huang WD, Chen LB. Expression of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of metalloproteinases and their local invasiveness and metastasis in chinese human pancreatic

cancer. J Surg Oncol 2000;73:95-9.

14. Nakanishi K, Kawai T, Sato H, Aida S, Kasamatsu H, Aurues T, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and of membrane-type-1-matrix metalloproteinase (MT1-MMP) in transitional cell carcinoma of the upper urinary tract. Hum Pathol 2000;31:193-200.
15. Papathoma AS, Petraki C, Grigorakis A, Papakonstantinou H, Karavana V, Stefanakis S, et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinases 2 and 9 in bladder cancer. Anticancer Res 2000;20:2009-14.
16. Sakata K, Shigemasa K, Nagai N, Ohama K. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9, MT1-MMP) and their inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in common epithelial tumors of the ovary. Int J Oncol 2000;17:673-81.
17. Schmalfeldt B, Prechtel D, Härting K, Späthe K, Rutke S, Konik E, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases (MMP)-2, MMP-9, and the urokinase-type plasminogen activator is associated with progression from benign to advanced ovarian cancer. Clin Cancer Res 2001;7:2396-404.
18. Thomas P, Khokha R, Shepherd FA, Feld R, Tsao MS. Differential expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in non-small cell lung cancer. J Pathol 2000;190:150-6.

19. Terada T, Okada Y, Nakanuma Y. Expression of immunoreactive matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in human normal livers and primary liver tumors. *Hepatology* 1996;23:1341-4.
20. Kijima H, Watanabe H, Iwafuchi M, Ishihara N. Histogenesis of gallbladder carcinoma from investigation of early carcinoma and microcarcinoma. *Acta Pathol Jpn* 1989;39:235-44.
21. Kozuka S, Tsubone N, Yasui A, Hachisuka K. Relation of adenoma to carcinoma in the gallbladder. *Cancer* 1982;50:2226-34.
22. Kim H, Jin SY, Jang JJ, Kim WH, Song SY, Kim KR et al. Grading system for gastric epithelial proliferative diseases-standardized guidelines proposed by korean study group for pathology of digestive diseases-. *Korean J Pathol* 1997;31:389-400.
23. Albores-Saavedra J, Henson DE, Sobin LH. The WHO histological classification of tumors of the gallbladder and extrahepatic bile ducts. A commentary on the second edition. *Cancer* 1992;70:410-4.
24. Galateau-Salle FB, Luna RE, Horiba K, Sheppard MN, Hayashi T, Fleming MV, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in bronchial squamous preinvasive lesions. *Hum Pathol* 2000;31:296-305.
25. Sarioğlu S, Özer E, Kirimca F, Sis B, Pabuçcuoğlu U. Matrix metalloproteinase-2 expression in laryngeal preneoplastic and

- neoplastic lesions. *Pathol Res Pract* 2001;197:483-6.
26. Sakamoto Y, Mafune KI, Mori M, Shiraishi T, Imamura H, Mori M, et al. Overexpression of MMP-9 correlates with growth of small hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2000;17:237-43.
27. Brinckerhoff CE, Rutter JL, Benbow U. Interstitial collagenases as markers of tumor progression. *Clin Cancer Res* 2000;6:4823-30.
28. Theret N, Musso O, Turlin B, Lotrian D, Bioulac-Sage P, Campion JP, et al. Increased extracellular matrix remodeling is associated with tumor progression in human hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 2001;34:82-8.
29. Yamamoto H, Itoh F, Iku S, Adachi Y, Fukushima H, Sasaki S, et al. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human pancreatic adenocarcinomas: clinicopathologic and prognostic significance of matrilysin expression. *J Clin Oncol* 2001;19:1118-27.

Abstract

The roles of matrix metalloproteinase(MMP)-2, MMP-9, tissue inhibitor of MMP(TIMP)-1 and TIMP-2 in the progression of adenoma and adenocarcinoma of the gallbladder

Jong Yup Bae

Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Associate Professor Young Nyun Park)

Matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 degrade type IV collagen and tissue inhibitor of MMP (TIMP)-1 and TIMP-2 antagonize MMP-9 and MMP-2, respectively. Therefore, interaction of these substances is expected to be involved in tumor progression. We studied MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in 36 cases of adenoma and 72 cases of adenocarcinoma of the gallbladder by immunohistochemistry.

Expression of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 were found in almost all cases of adenomas and the degrees of expression of MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 were significantly higher in high grade dysplasia than in low grade dysplasia. The expression rates of MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 were significantly higher in well/moderately differentiated adenocarcinomas than in poorly differentiated ones, in adenocarcinomas with invasion into the lamina propria/proper muscle than in those with invasion into the perimuscular connective tissue or beyond the serosa, and in adenocarcinomas with fungating growth than in those with

infiltrative growth. The expression of TIMP-2 showed a similar pattern, although there was no statistical significance. According to the status of lymph node metastasis, the expression rate of MMP-2 was significantly higher in cases without lymph node metastasis.

The expression patterns of MMP-2 and MMP-9 were significantly related to that of TIMP-2 and TIMP-1, respectively with regard to depth of invasion, differentiation and growth pattern of adenocarcinomas.

In conclusion, MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 are suggested to play important roles in progression to early invasion of adenocarcinomas in which the function of MMP-2 is inhibited by TIMP-2.

Key Words: gallbladder, adenoma, adenocarcinoma, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2.