비소세포폐암에서 점액유전자의 발현 양상과 임상적 의의

연세대학교 대학원
의학과
정 재 호

비소세포폐암에서 점액유전자의 발현 양상과 임상적 의의

지도 김 성 규 교수

이 논문을 석사학위논문으로 제출함

2002 년 12 월 일

연세대학교 대학원

의학과

정 재 호

정재호의 석사학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2002년 12월 일

감사의 글

처음으로 석사과정을 시작할 때 막연하기만 했던 제가 여러 선생님들의 도움으로 이렇게 실험을 완결하고 논문을 완성하게 되어 매우 기쁩니다. 의학연구의 발전에 있어 연구의 중요성을 강조하시고 이 길에 들어서기까지 이끌어 주신 선배님이시자 스승이신 김성규 교수님, 이 연구의 기본적인 개념과 연구방향을 제시하여 주시고 물심양면으로 적극적인 지도편달을 해주신 김세규 교수님과 연구의 내용 및 객관성에 대한 정확한 지적 및 지도를 해주신 신동환 교수님께 감사드립니다. 항상 세심한 지도를 해 주신 장 준 교수님, 김영삼 교수님께도 감사를 드립니다. 그리고 실질적인 실험을 하면서 잘 마무리하고 정리할 수 있게 도와준 연구원 기현정 선생님께도 감사드립니다.

이 자리에 오기까지 사랑과 격려로 키워주신 가족과 앞으로 평생의 반려자가 될 최지연양에게 이 논문을 바칩니다.

저 자 씀

차 례

표 차례

그림 차례

국문요약

비소세포폐암에서 점액유전자의 발현 양상과 임상적 의의

폐암은 전세계적으로 가장 중요한 사망 원인 중의 하나로 최근 우리나라에서도 발생률이 현저히 증가하고 있다. 폐암의 높은 사망율과 재발률로 인해 예후 인자로서 점액유전자의 역할을 알아보기 위하여 수술적 방법으로 얻어진 비소세포폐암중 26예의 파라핀포매 조직절편을 이용하여 MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6 면역조직화학염색을 시행하였다.

1. 남녀 비는 각각 16예(61%), 10예(39%)이었고, 편평 상피세포암이 14예(54%), 선암이 12예(46%) 이었다.
2. MUC1은 편평상피세포암과 선암에서 각각 8/10예(80%), 5/5예 100%), MUC5AC에서는 각각 6/10예(60%), 4/11예(36%), MUC6에서 3/7예(43%), 0/2예(0%)의 발현을 보였으나 조직형에 따른 차이는 보이지 않았고, MUC2에서는 각각 2/9예(22%), 3/3예(100%)로 편평상피세포암에 비해 선암에서 MUC2의 발현이 유의하게 높았다 (p=0.045).
3. MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6의 발현과 TNM병기, 병리학적 분화도, 흡연 여부와는 유의한 상관관계를 보이지 않았다.
4. MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6의 발현과 무병생존기간, 사망률과는 유의한 상관관계를 보이지 않았다.

이상의 결과로 비소세포폐암에서 MUC 유전자의 발현은 다양하게 나타나며, 선암에서 MUC2의 발현이 편평상피세포암에 비해 높게 나타난다는 것을 알 수 있었다. MUC 유전자의 과발현이 TNM병기, 수술 후 재발률, 사망률과의 상관관계는 유의하지 않은 것으로 나타났으나, 향후 이에 대한 보다 더 자세한 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

핵심되는 말: 비소세포폐암, 점액유전자, 임상적 의의

비소세포폐암에서 점액유전자의 발현 양상과 임상적 의의

<지도 **김 성 규** 교수>

연세대학교 대학원 의학과

정 재 호

Ⅰ. 서 론

폐암은 전세계적으로 증가 추세에 있으며, 우리 나라에서도 흡연 인구의 증가와 대기 오염 등의 영향에 의해 최근 급격히 증가하고 있다.

보건복지부가 발표한 2000년도 중앙 암 등록 현황(제20차 한국 중앙암 등록 사업 결과)에 따르면 2000년 한해 동안 전국 131개 수련병원(종합병원 이상)에서 새로 진단된 암은 모두 83,846건으로 전년(1999년 82,320건)에 비해 1.9% 증가하였다. 암이 발생한 장기별로는 위암(20.8%)이 가장 많았고, 폐암(12.2%), 간암(12.2%), 대장암(10.3%), 유방암(6.5%), 자궁경부암(4.5%) 등의 순이었다. 그러나 1984년 이후 추이를 보면 위암과 자궁경부암은 감소하고, 대장암, 유방암, 폐암, 간암 등은 증가하는 경향을 보여 한국인의 암 발생 유형이 선진국을 닮아가고 있는 것으로 생각된다. 또한 사망 원인 통계 연보에 의하면[1] 2000년 전체 암 사망자(58,042명) 가운데, 폐암 환자가 차지하는 비율이 20%로 가장 높았고, 위암(19.9%), 간암(17.4%), 대장암(7.3%), 췌장암(4.7%), 식도암(2.6%) 등의 순이었는데 이러한 결과는 폐암이 다른 암보다 예후가 더욱 불량하다는 것을 의미한다. 특히 남성에서의 폐암이 급격히 늘어 폐암 사망자가 1984년 1,726명에서 2000년 8,619명으로 5배나 증가하였다.

원발성 폐암의 문제점은 진단 당시 15%만이 국소적 병변을 가지고 있으며, 약 25% 정도에서 지역 림프절 침범이 있고, 나머지 55% 이상에서는 이미 원격 전이가 있는 것이다. 또한 일부에 국한된 병변을 가지고 있는 환자라고 하더라도 5년 생존율이 48%에 불과하고, 지역적 병변인 경우에는 18%의 생존율을 보여서 전체적으로는 5년 생존율이 14%에 불과

할 정도로 폐암의 예후는 매우 불량하다. 이러한 결과는 1960년대에 8% 이던 생존율이 수술과 방사선 요법, 항암화학요법 등의 복합 치료에 의해 향상된 것임에도 불구하고, 아직 만족할 만한 수준에 도달하지 못하고 있으므로 환자의 예후를 향상시키기 위해서는 정확한 진단 및 병기에 따른 적절한 치료 방법의 선택 뿐 아니라, 새로운 항암약제들을 이용한 치료 등 다양한 노력이 필요하다.

임상적으로 폐암의 예후에는 세포형태(cell types), TNM 병기, 수행능력(performance status), 체중감소 등이 관여하는 것으로 알려져 있으나, 최근 분자생물학, 세포유전학 등의 발전에 따라 폐암의 발암 및 전이 기전에 대한 많은 연구가 진행되면서 점액유전자가 암세포의 침습이나 전이에 관여한다는 것이 밝혀져 예후인자로서 제시되었다. 또한 질병 상태에서의 다양한 점액들과 종양에 관련된 활발한 연구 결과 점액유전자의 발현은 관련된 조직과 세포에 특이적으로 나타나기 때문에 조직별 병적상태에서 점액유전자의 발현 양상을 조사함으로써 질병의 병태생리를 이해하고, 점액 당단백질(mucin glycoprotein)에 대한 연구를 통해 암의 발생, 암세포의 전이와 침습, 그리고 암세포가 면역체계로부터 회피하는데 기여하는 기전을 밝힐 수 있다. 현재까지 폐암에서 점액유전자 및 점액과 연관된 항원에 대한 연구는 많지 않으나, 암세포 전이와 침습, 그리고 암세포 면역감시체계에 영향을 준다는 실험적 연구가 있었으며[2, 3], 폐암 환자에서의 장기생존 및 예후와 관련된 결과도 보고 되고 있으나 다소 상반된 결과를 보이고 있다[4, 5].

이에 본 연구자는 1) 폐암 환자의 폐암 조직에서 점액유전자의 발현양상을 밝히고, 2) 이러한 결과를 환자들의 임상 자료와 비교 검토함으로써, 폐암 환자의 재발 및 예후인자로서 점액유전자의 가능성을 밝히고자 수술적 방법으로 얻어진 비소세포폐암 26예를 대상으로 면역조직화학적 방법으로 비소세포폐암의 조직형에 따른 점액유전자의 발현과 TNM-병기와의 관계를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

1996년 1월부터 2000년 12월까지 연세대학교 의과대학 세브란스 병원에서 비소세포폐암으로 수술을 시행한 환자 중 26예의 파라핀포매 조직절편을 이용하여 면역조직화학염색을 시행하였다.

2. 방 법

가. 자료 분석

대상 환자들에 대하여 후향적 연구를 통해, 환자들의 연령, 성비, 암세포 조직형 등의 환자 특성과 수술 병기 등을 알아보았다. 의무기록 열람시 외래 추적 조사가 중단되었거나 자료가 부족할 경우에는 전화 및 서신 연락을 통해 자료를 수집하여 보충하였다. 무병생존기간은 수술일에서부터 재발일까지로 하였으며, 생존기간은 수술일에서부터 사망일 혹은 마지막 추적일까지로 하였다.

나. 병리조직학적 검사

비소세포폐암의 경우 종양 조직의 조직학적 분류와 등급은 WHO (World Health Organization)의 기준을 따랐으며, 조직학적 분화도에 따라 고분화도(well differentiated), 중등도 분화도(moderately differentiated), 저분화도(poorly differentiated)로 구분하였다.

다. 면역조직화학 검사

microtome을 이용하여 절편한 5㎛ 두께의 파라핀 블록 조직절편을 poly-L-lycine으로 코팅된 슬라이드위에 부착하여 56℃에서 1시간 건조시켰다. Xylene과 에탄올을 이용하여 탈파라핀하

고 수세 후 구연산 완충액에 넣고 가열한 다음 증류수로 세척하고, 3% 과산화수소수에서 20분간 전처치하고 phosphate 완충액으로 처리하여 내인성 과산화효소를 억제하였다. 실온에서 30분 동안 일차항체로 반응시킨 후, 잔여 혈청은 제거하고 4℃에서 하룻밤 동안 반응시켰다. 그리고 phosphate 완충액으로 세척한 후 streptavidin-biotin 방법인 Dako LSAB Kit (Dako, Carpinteria, CA, U.S.A)를 이용하여 발색시킨 후 증류수로 씻고, hematoxylin으로 대조 염색을 한 다음 수용성 봉입제로 봉입하였다. 일차항체로는 MUC1 (mouse monoclonal IgG_1, VU3C6, 1:1000 dilution; Biogenesis, England), MUC2 (mouse monoclonal IgG_1, Ccp58, 1:150 dilution; Biogenesis, England), MUC5AC (mouse monoclonal IgG_1, 45M1, 1:150 dilution; Biogenesis, England), MUC6 (mouse monoclonal IgG_1, Mucin 6Ab-1, 1:200 dilution; Neomarkers, California, U.S.A)를 사용하였다.

라. 염색 결과의 판독

MUC은 종양세포의 세포막과 세포질에서 적갈색의 염색반응을 보일 때 양성으로 판정하였다. 두 명의 판독자가 광학현미경의 200배 시야에서 선상피의 선단부와 세포질의 vacuoles에 depolarized pattern으로 발현되는 종양세포가 전체의 10% 이상인 경우를 MUC 양성이라고 정의하였다.

마. 통계 분석

면역조직화학염색에 의한 점액유전자 발현 결과와 환자의 TNM-병기, 암세포 조직형, 조직학적 분화도, 그리고 전이와의 관계를 Chi-square test로 분석하였으며, 생존율과 질병 무병기간은 Kaplan-Meier test로 구하였다. 통계적 유의 수준은 p값이 0.05 미만으로 하였다. 자료분석과 통계처리는 PC-SAS version 6.12 (SAS Institute Inc, Cary, NC)를 이용하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 대상 환자의 일반적 특성

Table 1. The clinicopathologic features of 26 patients with non-small cell lung cancer.

Characteristics	No. (%)
Age (yr)	58.5 ± 12.1
Sex	
Male	16 (61)
Female	10 (39)
ECOG	
0-1	20 (76)
≥ 2	6 (24)
Smoking	
Never	13 (50)
Ever	13 (50)
Cell Type	
SCC[1]	14 (54)
Ad[2]	12 (46)
Differentiation	
Poorly	11 (42)
Moderately	5 (19)
Well	2 (8)
Unclassfied	8 (31)
Stage	
IA	7 (27)
IB	10 (39)
IIA	1 (4)
IIB	4 (15)
IIIA	4 (15)

[1]SCC : squamous cell carcinoma, [2]Ad : adenocarcinoma

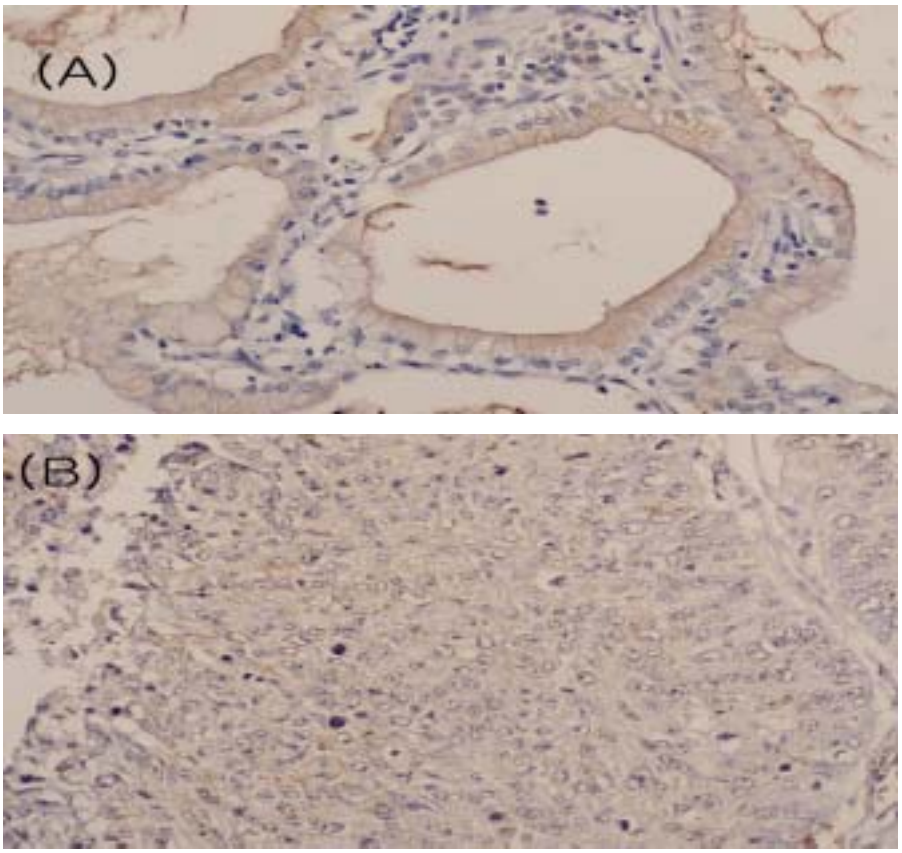
26명 환자의 평균 연령은 58.5세 이었고, 남자가 16예, 여자가 10예 이었다. 편평상피세포암이 14예, 선암이 12예 이었다. 병기는 IA 7예, IB 10예, IIA 1예, IIB 4예, IIIA 4예이었고, 조직

학적 분화도는 고분화도 2예, 중등도 분화도 5예, 저분화도가 11예이었고 8예는 조직학적 분화도를 알 수 없었다(Table 1).

2. 면역조직화학 염색 발현

면역조직화학 염색상 광학현미경의 200배 시야에서 적갈색의 염색반응이 선상피의 선단부와 세포질의 vacuoles에 depolarized pattern으로 발현되는 종양세포가 전체의 10%이상인 경우를 MUC 양성이라고 정의하였을때 다음과 같이 선암(Fig. 1A), 편평상피세포폐암(Fig. 1B)에서 발현하였다.

Figure 1. Immunohistochemical stain for MUC1 shows cell membrane positivity in tumor cells of adenocarcinoma (A) and of squamous cell carcinoma (B) (Immunostain, X200).



3. 비소세포폐암의 조직학적 유형, 분화도와 종양세포의 MUC 발현의 연관성

MUC1 (p=0.524)은 편평상피세포암과 선암에서 각각8/10예(80%), 5/5예(100%), MUC5AC (p=0.395)에서는 각각 6/10예(60%), 4/11예(36%), MUC6 (p=0.5)에서 각각 3/7예(43%), 0/2예(0%)로 MUC5AC와 MUC6에서 선암보다 편평상피세포암에서 MUC 발현이 높게 나타나는 양상을 보였으나 유의한 차이는 보이지 않았다. MUC2에서는 각각 2/9예(22%), 3/3예(100%)로 편평상피세포암에 비해 선암에서 MUC2의 발현이 유의하게 높았다(p=0.045, Table 2).

MUC1 (p=0.426)은 조직학적으로 저분화를 보이는 4/15예(36%), 중등도 분화를 보이는 4/15예(36%), 고분화도에서 1/15예(9%)에서 양성이었고, MUC2(p=0.699)에서는 각각 2/12예(17%), 1/12예(8%), 0/12예(0%), MUC5AC(p=0.879)에서는 각각 4/21예(19%), 2/21예(11%), 1/21예(5%), MUC6(p=1.0)에서 각각 2/9예(22%), 1/9예(11%), 0/9예(0%)로 발현 하였으나 조직학적 분화도와 MUC 발현은 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 3).

Table 2. Cell types and pathologic grade of 26 patients with non-small cell lung cancer and overexpression of MUC genes.

	MUC1 (n=15) No. (%)	MUC2 (n=12) No. (%)	MUC5AC (n=21) No. (%)	MUC6 (n=9) No. (%)
Cell type				
SCC[1]	8/10 (80)	2/9 (22)	6/10 (60)	3/7 (43)
Ad[2]	5/5 (100)	3/3 (100)	4/11 (36)	0/2 (0)
p-value	0.524	0.045	0.395	0.5
Differentiation				
Poorly	4 (36)	2 (17)	4 (19)	2 (22)
Moderately	4 (36)	1 (8)	2 (11)	1 (11)
Well	1 (9)	0 (0)	1 (5)	0 (0)
p-value	0.361	0.699	0.879	1.0

[1]SCC : squamous cell carcinoma, [2]Ad : adenocarcinoma

4. 비소세포폐암의 TNM-병기와 종양세포의 MUC 발현의 연관성

병기에 따른 MUC 발현은 MUC1 (p=0.426)에서는 병기 I기에서 9/15예(60%), 병기 II기는 3/15예(20%), 병기 IIIA에서 1/15예(7%) 양성이었고, MUC2 (p=0.665)에서는 각각 4/12예(34%), 1/12예(8%), 0/12예(0%), MUC5AC (p=0.686)에서는 각각 8/21예(38%), 1/21예(5%), 1/21예(5%), MUC6 (p=0.369)에서는 각각 2/9예(22%), 1/9예(11%), 0/9예(0%)로 발현 하였으나 각 병기별 MUC 발현의 차이는 통계학적으로 유의하지는 않았다(Table 3).

Table 3. TNM-stage of 26 patients with non-small cell lung cancer and overexpression of MUC genes.

	MUC1 (n=15) No. (%)	MUC2 (n=12) No. (%)	MUC5AC (n=21) No. (%)	MUC6 (n=9) No. (%)
T stage				
1	3 (20)	2 (17)	3 (14)	1 (11)
2	7 (47)	3 (25)	6 (29)	1 (11)
3	3 (20)	0 (0)	1 (5)	1 (11)
p-value	0.325	0.214	0.593	0.301
N stage				
0	11 (73)	4 (33)	8 (38)	3 (33)
1	2 (13)	1 (8)	2 (9)	0 (0)
2	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
p-value	0.432	1.0	0.197	1.0
Stage				
IA	3 (20)	2 (17)	3 (14)	1 (11)
IB	6 (40)	2 (17)	5 (24)	1 (11)
IIA	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
IIB	3 (20)	1 (8)	1 (5)	1 (11)
IIIA	1 (7)	0 (0)	1 (5)	0 (0)
p-value	0.426	0.665	0.686	0.369

5. 흡연과 종양세포의 MUC 발현의 연관성

흡연에 따른 MUC 발현은 MUC1 (p=0.215)에서 6/15예(40%), MUC2 (p=0.576)에서는 4/12예(33%), MUC5AC(p=0.669)에서는 5/21예(24%), MUC6 (p=0.5)에서는 3/9예(33%)로 발현 하였으나, 흡연에 따른 MUC 발현의 차이는 통계학적으로 유의하지는 않았다(Table 4).

Table 4. Smoking history of 26 patients with non-small cell lung cancer and overexpression of MUC genes.

	MUC1 (n=15) No. (%)	MUC2 (n=12) No. (%)	MUC5AC (n=21) No. (%)	MUC6 (n=9) No. (%)
Smoking				
Never	7 (47)	1 (8)	5 (24)	0 (0)
Ever	6 (40)	4 (33)	5 (24)	3 (33)
p-value	0.215	0.576	0.669	0.5

6. 비소세포폐암 수술후 재발과 MUC 발현의 연관성

MUC은 수술후 재발한 6예에서 발현 하였으나, 수술후 재발이 없었던 12예에서도 발현하여 수술후 재발의 예측인자로서 통계적으로 유의한 결과를 보이지는 않았다(p=0.375, Table 5).

Table 5. Correlation of MUC genes' expression with the post-operative recurrence in 26 patients with non-small cell lung cancer.

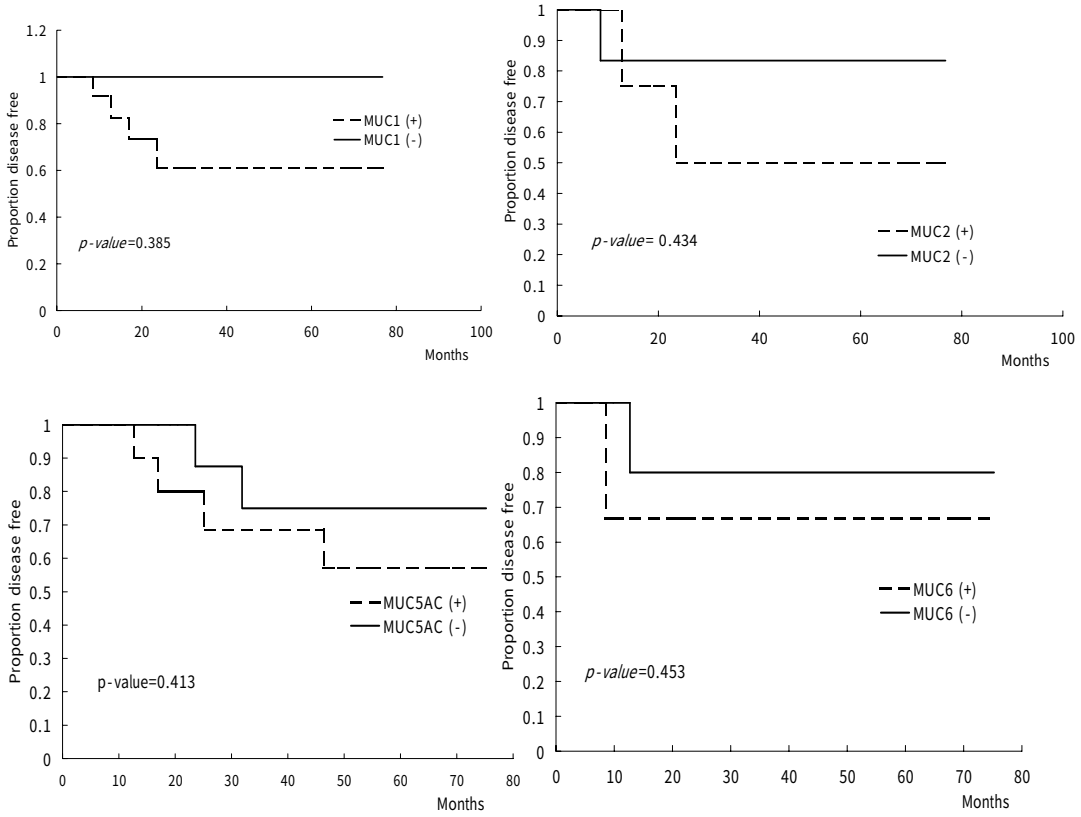
Mucin genes	Mucin overexpressed		Mucin not overexpressed		*p-value*
	Recur (+)	Recur (-)	Recur (+)	Recur (-)	
MUC1	4	9	0	2	1.0
MUC2	2	3	1	6	0.523
MUC5AC	4	6	2	9	0.362
MUC6	1	2	1	5	1.0
Overall	6	12	1	7	0.375

MUC1 (p=1.0), MUC2 (p=0.523), MUC5AC (p=0.362), MUC6 (p=1.0)으로 나누어 각각 수술 후 재발과 MUC 발현과의 연관성을 조사하였으나 유의한 결과를 보이지는 않았다 (Table 5).

7. 비소세포폐암의 무병생존율과 MUC 발현의 연관성

무병생존율과 MUC 발현은 MUC1 (p=0.385), MUC2 (p=0.434), MUC5AC (p=0.413), MUC6 (p=0.453)으로 MUC 발현과 무병생존율간에는 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 2).

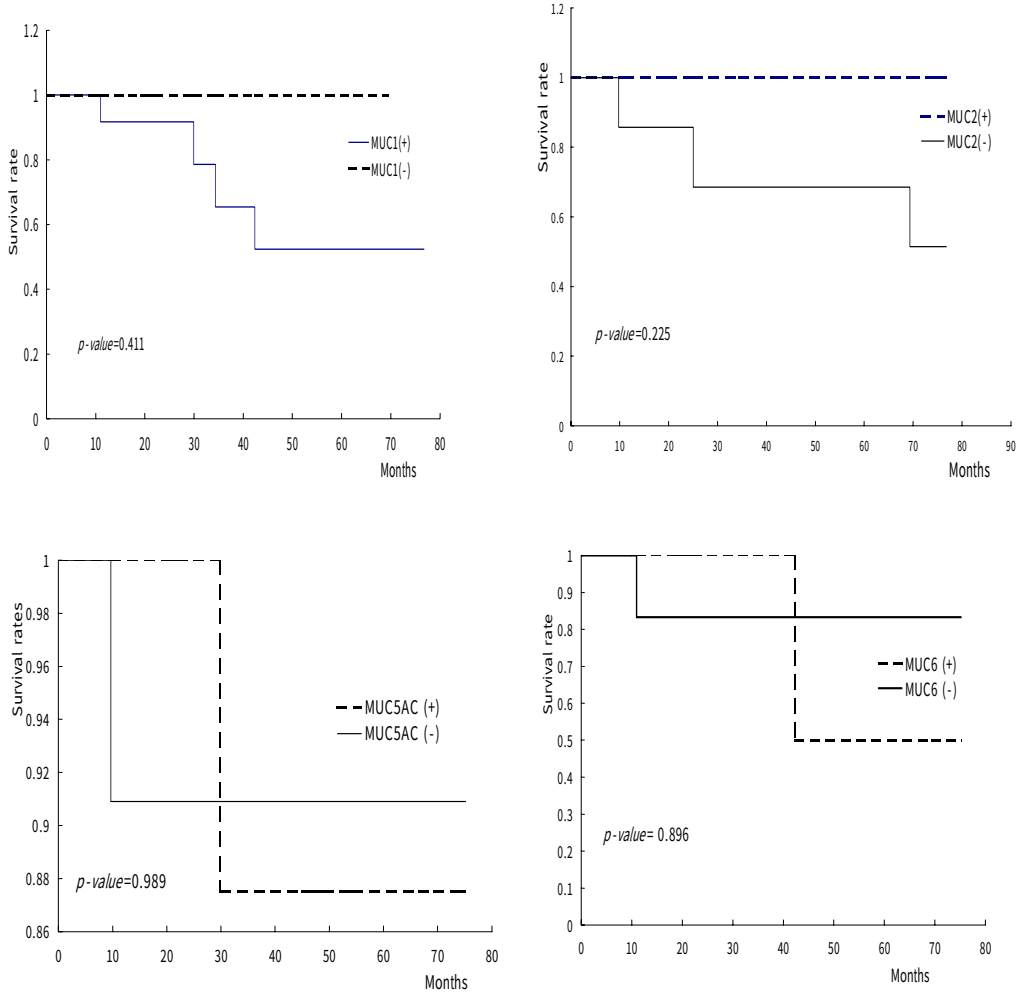
Figure 2. Actuarial curve for disease-free survival of all patients with non-small cell lung cancer according to overexpression of MUC genes.



8. 비소세포폐암의 생존율과 MUC 발현의 연관성

생존률과 MUC 발현은 MUC1 (p=0.411), MUC2 (p=0.225), MUC5AC (p=0.989), MUC6 (p=0.896)으로 MUC 발현과 생존율간에는 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 3).

Figure 3. Actuarial curve for overall survival of all patients with non-small cell lung cancer according to overexpression of MUC genes.



Ⅳ. 고 찰

점액(mucin)은 호흡기계, 소화기계, 비뇨기계 및 피부 표피세포의 표면에 있는 주요 당화단백질로 약 10~30MDa의 크기이며, 이황화결합에 의해 연결된 구조를 갖고 있다. 핵심 펩타이드는 중심부에 serine, threonine 및 proline이 풍부한 다양한 수의 반복되는 염기서열 부분(VNTR, variable number of tandem repeat)이 있고, 그 주위는 무수한 당화를 이루고 있다[6, 7]. 주기능은 감염, 탈수, 화학적 자극에 대하여 상피세포를 보호하고, 관을 따라서 물질의 이동에 기여하며, 기도의 만성적인 염증이나 천식, 만성기관지염, 낭성섬유증 같은 다수의 폐질환에서 병을 진행시키는 데에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 분비점액과 세포막형 점액당단백질은 생물학적으로 중요한 ligand나 종양관련 항원결정기(epitope)로 작용함으로써 세포의 생물학적 기능에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. 최근 다수의 점액유전자가 알려지고, 기도의 보호 기능과 병적 상태에서 점액의 과분비와 점액유전자의 과발현에 대한 연구가 진행되면서 점액의 기능과 역할에 대해서 보다 구체적으로 밝혀지고 있다.

현재까지 점액유전자는 14개(*MUC1, MUC2, MUC3A, MUC3B, MUC4, MUC 5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC8, MUC11, MUC12, MUC13, MUC16*)가 발견되었는데[8-10] *MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6*은 염색체 11p15부위에 위치하고[11], *MUC3A, MUC3B, MUC12*은 염색체 7q22에 위치한다(Fig. 4).

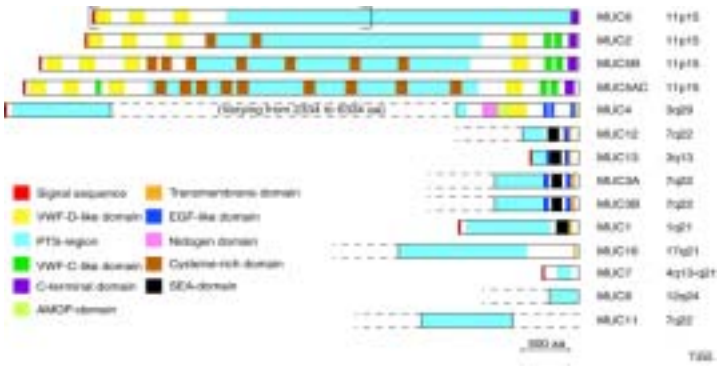


Fig. 4. A MUC family album. The relationships between the deduced polypeptide sequences of the mucins presently assigned to the *MUC* gene family by Human Genome Organization Gene Nomenclature Committee[8].

다수의 점액유전자는 정상분비조직에서 발현되는데 MUC1은 폐조직, 비용종에서 발현되며, MUC2, MUC4는 기도와 대장에서 발현한다. MUC3는 MUC2에 비해 기도 상피세포에서의 발현이 적게 나타나지만 여러종류의 기도세포에서 발현하며, MUC5B는 담낭에서, MUC5AC는 위와 기도에서 발현한다. 또한 MUC1, MUC2, MUC3, MUC6, MUC7은 기도상피세포에서 발현되며[12-14], MUC5AC와 MUC2는 기도의 배세포에서 발현되는 것으로 알려져 있고, MUC5AC와 MUC5B는 점액소중에서도 양이 많아 주요 점액소로 알려져 있다[15, 16].

점액유전자 발현은 흡연하는 경우 증가하는데 Yu 등[17]은 흡연과 폐암에서 점액유전자 과발현과의 연관성을 보고하면서 특히 MUC5AC와 MUC5B가 연관이 있다고 하였다. 그 기전으로 Yu 등은 정상 기도상피세포에서는 발견되지 않는 점액유전자와 유사한 항원이 점액성 화생이나 폐암 조직에서 발견되기 때문에 흡연이 기도와 기도상피에 섬모의 소실, 점액성 화생, 편평상피화생, 유전적 손상과 점액유전자발현을 일으키고, 이것이 cellular atypia에서 carcinoma in situ로 이행시키며, 궁극적으로 침습성 암종으로 진행된다고 하였다. 본 연구에서도 흡연과 MUC 발현과의 연관성을 조사하였으나 유의한 연관성을 관찰하지는 못하였다.

폐암조직과 주변정상조직간의 점액유전자의 발현도 다양하게 나타난다. Lopez-Ferrer A 등[18]은 정상 조직, 암주위 조직과 암조직에서 MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, MUC6, MUC8으로 면역화학조직염색검사를 시행한 결과 암주위 조직과 편평상피화생(squamous metaplasia)에서도 점액유전자 발현의 이상을 관찰하였고, 편평상피세포암과 선암사이에는 유사한 점액유전자 발현이 있다고 하였다. Nguyen 등[12]은 같은 방법으로 주위의 정상 폐조직에 비해 편평상피세포암에서 MUC4 발현이 높게 나타났으며, 분화도가 좋은 선암에서는 MUC3와 MUC4의 발현이 높게 나타났다고 하였다.

비소세포폐암에서 점액유전자의 발현은 다양하게 나타난다. 점액유전자 과발현과 병리조직학적 특성에 대한 차이는 Yu 등[17] 에 의하면 차이를 보이지는 않는다고 하였으나, Guddo 등[19]은 MUC1의 depolarized 형태가 선암에서 림프절 전이와 진행된 병기에 연관이 있다고 하였다. Seregni 등[20]은 northern blot으로 점액분비 선암에서 MUC2와 MUC4가 높게 반응함을 보였고, MUC4 mRNA 발현이 조직학적 아형과 암세포분화도에 영

향을 받는다고 하였다[12, 21]. 한편 국내에서는 박 등[22]이 비소세포폐암 80예에서 MUC1과 CD44s에 대한 면역조직화학염색을 시행하여 선암에서 MUC1의 양성이 림프절 침범과 연관이 있음을 보고하였다. Sialomucin은 선암에서만 발현되며, 특히 수술 후 재발과 암사망의 위험도와 연관이 있고, MUC5AC 발현과 관련성이 높은 것으로 알려져 있다. Sialomucin의 과발현이 erbB-2 oncoprotein의 발현과 같은조직에서 관찰되어 점액유전자와 oncogene이 상호 연관되어 있음도 시사되고 있다[23]. MUC2, MUC5AC, MUC5B와 MUC6는 염색체 11p15.5에 모여있으며[11], 대장암에서는 MUC2의 발현과 MUC5AC의 de novo 발현을 관찰하여[24] MUC2 발현의 변화가 MUC5AC, MUC6의 de novo 발현과 연관이 있을 가능성이 있음을 나타내기도 하였다. 본 연구에서도 MUC 발현은 다양하게 나타났으며, MUC2에서는 편평상피세포암과 선암에서 각각 2/9예(22%), 3/3예(100%)로 선암에서 MUC2 발현의 유의한 증가를 관찰하였다(Table 2).

TNM-병기에 따른 점액유전자 발현의 차이도 연구마다 다르게 보고되었다. Yu 등[17]은 MUC1-5의 점액유전자 과발현이 폐암조직의 41.7%에서 관찰되고 TNM-병기와는 연관이 없다고 하였으나, Allan 등[25]은 점액유전자의 과발현은 병의 진행과 연관이 있으며, 예후와는 반비례한다고 하였다. 본 연구에서는 MUC 발현과 TNM-병기와는 상관관계가 유의하지 않은 것으로 나타났다(Table 3).

폐암의 침습 및 전이에는 맥관형성, 내피세포의 이동, 세포-세포간 및 세포-기질간 부착능의 소실 등 여러 다른 단계로 구성되어 있으며, 이 중 임상적으로 명백한 전이가 일어나기 위해서는 세포부착인자의 장애가 필요하다. 그 중 세포부착을 방해하는 인자로 알려진 MUC1의 발현은 암세포 전이를 하는데 중요한 요소로 알려져 있다. Wesseling 등[26]은 MUC1이 E-cadherin을 통해 세포-세포간 전이가 가능하다고 하였고, selectin ligands에 부착하여 암세포가 혈관 바깥으로 유출된다고 하였다[27]. 높은 농도의 MUC1은 난소암에서 주변으로의 침습성이 크고[28], integrin을 통한 세포외기질로의 부착을 감소시킨다고 하였으며[29], 내피세포의 ICAM-1과 MUC1의 상호작용에 의해 혈성전이가 일어난다고 하였다[30]. 한편 Kemenade 등[31]은 MUC1 발현 세포는 T 림프구를 매개로 한 세포파괴에 덜 영향을 받게 되며 암세포가 면역감시체계에서 이탈하게 된다고 하였고,

Giatromanolaki 등[32]은 비소세포폐암에서 MUC1의 발현이 thymidine phosphorylase, vascular endothelial growth factor (VEGF), bFGF-receptor (FGFR-2)와 같은 종양혈관형성인자와 연관관계가 있음을 보여 악성세포전환이 종양 혈관형성 인자와 전이를 동시에 활성화시킨다고 하였다.

폐암 병기 1기로 완전 절제를 한다고 해도 30%의 환자는 재발하며 결국 사망하게 된다[33]. 폐암으로 완전 절제를 시행한 40%의 환자 골수에서 cytokeratin 18 양성인 세포가 관찰되었는데[34], 이것은 암세포가 전신적으로 순환한다는 것을 의미한다. 이러한 암세포가 다른 장기로 전이하는데에는 암세포의 악성도와 연관이 있으며 초기 폐암일수록 악성도를 검사하는 것이 더욱 중요하다. 지금까지 유방암, 대장암, 전립선암 등에서 점액유전자발현과 예후와의 관련성이 보고 되어왔고, 비소세포폐암에서도 Yu 등[17]은 MUC5B와 MUC5AC가 과발현된 경우 수술 후 재발과 연관이 있다고 하였으며, Hirosawa Y 등[35]은 30명의 비소세포폐암 환자의 혈청에서 IgG KL-6/MUC1 자가항체를 측정하여 60명의 정상대조군에 비해 IgG KL-6/MUC1 자가항체의 농도가 유의하게 높아 MUC1이 예후적 인자로 중요하다고 하였다. Ohgami 등[33]은 1기 선암에서 RT-PCR을 이용한 MUC1 mRNA의 과발현이 조기재발과 혈행성전이와 연관성이 높은 것으로 밝혀져 수술 후 보완적 치료의 가능성을 시사하였다.

점액유전자의 과발현은 예후인자, 면역치료, 유전자치료에도 시도되고 있다. 점액과 연관된 종양인자인 CA15-3은 조기 유방암의 예후인자로 사용되고[36], 백신개발로도 이용되고 있으며[37], Chen 등[38]은 MUC1 촉진자(promoter)를 가진 아데노바이러스를 이용하여 유전자치료를 시도하였고, Moase 등[39]은 유방암 세포주(cell lines)를 *Balb/c* 쥐에 주입하여 유방암의 폐전이 모델을 만들고 MUC1 항원기(epitope)에 대한 liposomal doxorubicin을 투여하여 MUC1에 대한 면역라이포솜이 유방암의 조기 폐전이를 치료하는데 도움이 된다고 하였다.

본 연구에서는 비소세포폐암에서 점액유전자의 발현이 매우 다양하게 나타남을 관찰하였고 비록 예후인자로서의 역할은 관찰하지 못하였으나 앞으로 이에 대한 더욱 다양한 실험적 연구가 진행되어야 할것으로 생각된다.

Ⅴ. 결 론

수술적 방법으로 얻어진 비소세포폐암중 26예의 파라핀포매 조직절편을 이용하여 MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6 면역조직화학염색을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 남녀 비는 각각 16예(61%), 10예(39%)이었고 편평상피세포암이 14예(54%), 선암이 12예(46%) 이었다.
2. MUC1은 편평상피세포암과 폐선암에서 각각 8/10예(80%), 5/5예(100%), MUC5AC에서는 각각 6/10예(60%), 4/11예(36%), MUC6에서 3/7예(43%), 0/2예(0%)로 발현을 보였으나 조직형에 따른 차이는 보이지 않았고, MUC2에서는 각각 2/9예(22%), 3/3예(100%)로 편평상피세포암에 비해 선암에서 MUC2의 발현이 유의하게 높았다(p=0.045).
3. MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6의 발현과 TNM병기, 병리학적 분화도, 흡연여부와는 유의한 상관관계를 보이지는 않았다.
4. MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6의 발현과 무병생존율, 사망률과는 유의한 상관관계를 보이지는 않았다.

이상의 결과로 비소세포폐암에서 MUC 유전자의 발현은 다양하게 나타나며, 선암에서 MUC2의 발현이 편평상피세포암에 비해 높게 나타난다는 것을 알 수 있었다. MUC 유전자의 발현이 TNM병기, 수술후 재발률, 사망률과의 상관관계는 유의하지 않은 것으로 나타났으나 향후 이에 대한 보다 더 자세한 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 사망원인 통계연보(2000년). 통계청, 2001년.
2. Fung PY, Longenecker BM. Specific immunosuppressive activity of epiglycanin, a mucin-like glycoprotein secreted by a murine mammary adenocarcinoma (TA3-HA). Cancer Res 1991;51:1170-6.
3. Berg EL, Robinson MK, Mansson O, Butcher EC, Magnani JL. A carbohydrate domain common to both sialyl Le(a) and sialyl Le(X) is recognized by the endothelial cell leukocyte adhesion molecule ELAM-1. J Biol Chem 1991;266:14869-72.
4. Kawai T, Suzuki M, Kase K, Ozeki Y. Expression of carbohydrate antigens in human pulmonary adenocarcinoma. Cancer 1993;72:1581-7.
5. Ogawa J, Tsurumi T, Yamada S, Koide S, Shohtsu A. Blood vessel invasion and expression of sialyl Lewis^{x} and prolixferating cell nuclear antigen in stage I non-small cell lung cancer. Relation to postoperative recurrence. Cancer 1994;73:1177-83.
6. Pigman W, Moschera J, Weiss M, Tettamanti G. The occurrence of repetitive glycopeptide sequences in bovine submaxillary glycoprotein. Eur J Biochem 1973;32:148-54
7. Strous GJ, Dekker J. Mucin-type glycoproteins. Crit Rev Biochem Mol Biol 1992;27:57-92.
8. Dekker J, Rossen JWA, Bűller HA, Einerhand AWC. The MUC family: An obituary. Trends Biochem Sci 2002;27:126-31.
9. Yin BW, Lloyd KO. Molecular cloning of the CA125 ovarian cancer antigen: identification as a new mucin, MUC16. J Biol Chem 2001;276:27371-5.
10. Gum JR.Human mucin glycoproteins: varied structures pre-

dict diverse properties and specific functions. Biochem Soc Trans 1995;23:795-9.
11. Pigny P, Guyonnet-Duperat V, Hill AS, Pratt WS, Galiegue-Zouitina S, d'Hooge MC, et al. Human mucin genes assigned to 11p15.5: identification and organization of a cluster of genes. Genomics 1996;38:340-52.
12. Nguyen PL, Niehans GA, Cherwitz DL, Kim YS, Ho SB. Membrane-bound (MUC1) and secretory (MUC2, MUC3, and MUC4) mucin gene expression in human lung cancer. Tumour Biol 1996;17:176-92.
13. Sharma P, Dudus L, Nielsen PA, Clausen H, Yankaskas JR, Hollingsworth MA, et al. MUC5B and MUC7 are differentially expressed in mucous and serous cells of submucosal glands in human bronchial airways. Am J Respir Cell Mol Biol 1998;19:30-7.
14. Reid CJ, Gould S, Harris A. Developmental expression of mucin genes in the human respiratory tract. Am J Respir Cell Mol Biol 1997;17:592-8.
15. Hovenberg HW, Davies JR, Herrmann A, Linden CJ, Carlstedt I. MUC5AC, but not MUC2, is a prominent mucin in respiratory secretions. Glycoconj J 1996;13:839-47.
16. Thornton DJ, Howard M, Khan N, Sheehan JK. Identification of two glycoforms of the MUC5B mucin in human respiratory mucus. Evidence for a cysteine-rich sequence repeated within the molecule. J Biol Chem 1997;272:9561-6.
17. Yu CJ, Yang PC, Shun CT, Lee YC, Kuo SH, Luh KT. Overexpression of MUC5 genes is associated with early postoperative metastasis in non-small-cell lung cancer. Int J Cancer 1996;69:457-65.
18. Lopez-Ferrer A, Curull V, Barranco C, Garrido M, Lloreta J, Real FX, et al. Mucins as differentiation markers in bronchial epithelium. Squamous cell carcinoma and adenocarci-

noma display similar expression patterns. Am J Respir Cell Mol Biol 2001;24:22-29.
19. Guddo F, Giatromanolaki A, Patriarca C, Hilkens J, Reina C, Alfano RM, et al. Depolarized expression of episialin (EMA, MUC1) in lung adenocarcinoma is associated with tumor progression. Anticancer Res 1998;18:1915-20.
20. Seregni E, Botti C, Lombardo C, Cantoni A, Bogni A, Cataldo I, et al. Pattern of mucin gene expression in normal and neoplastic lung tissues. Anticancer Res 1996;16:2209-13.
21. Yu CJ, Yang PC, Shew JY, Hong TM, Yang SC, Lee YC, et al. Mucin mRNA expression in lung adenocarcinoma cell lines and tissues. Oncology 1996;53:118-26.
22. 박혜경, 이지석, 이준희, 이정욱, 김윤석, 이민기, et al. 비소세포폐암에서 MUC1과 CD44s의 발현. 결핵 및 호흡기질환 2002; 52:117-27.
23. Guddo F, Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Reina C, Vignola AM, Chlouverakis G, et al. MUC1(episialin) expression in non-small cell lung cancer is independent of EGFR and c-erbB-2 expression and correlates with poor survival in node positive patients. J Clin Pathol 1998;51:667-71.
24. Sylvester PA, Myerscough N, Warren BF, Carlstedt I, Corfield AP, Durdey P, et al. Differential expression of the chromosome 11 mucin genes in colorectal cancer. J Pathol 2001;195:327-35.
25. Allan SG, Hay FG, McIntyre MA, Leonard RC. Prognosis in small cell carcinoma of the lung-relationship to human milk fat globule 2 (HMFG2) antigen and other small cell associated antigens. Br J Cancer 1987;56:485-8.
26. Wesseling J, van der Valk SW, Hilkens J. A mechanism for inhibition of E-cadherin-mediated cell-cell adhesion by the

membrane-associated mucin episialin/MUC1. Mol Biol Cell 1996;7:565-77.
27. Mannori G, Crottet P, Cecconi O, Hanasaki K, Aruffo A, Nelson RM, et al. Differential colon cancer cell adhesion to E-, P-, and L-selectin: role of mucin-type glycoproteins. Cancer Res 1995;55:4425-31.
28. Dong Y, Walsh MD, Cummings MC, Wright RG, Khoo SK, Parsons PG, et al. Expression of MUC1 and MUC2 mucins in epithelial ovarian tumours. J Pathol 1997;183:311-7.
29. Wesseling J, van der Valk SW, Vos HL, Sonnenberg A, Hilkens J. Episialin(MUC1) overexpression inhibits integrin-mediated cell adhesion to extracellular matrix components. J Cell Biol 1995;129;255-65.
30. Regimbald LH, Pilarski LM, Longenecker BM, Reddish MA, Zimmermann G, Hugh JC. The breast mucin MUC1 as a novel adhesion ligand for endothelial intercellular adhesion molecule 1 in breast cancer. Cancer Res 1996;56:4244-9.
31. van de Wiel-van Kemenade E, Ligtenberg MJ, de Boer AJ, Buijs F, Vos HL, Melief CJ, et al. Episialin (MUC1) inhibits cytotoxic lymphocyte-target cell interaction. J Immunol 1993;151:767-76.
32. Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Sivridis E, O'Byrne K, Cox G, Thorpe PE, et al. Coexpression of MUC1 glycoprotein with multiple angiogenic factors in non-small cell lung cancer suggests coactivation of angiogenic and migration pathways. Clin Cancer Res 2000;6:1917-21.
33. Ohgami A, Tsuda T, Osaki T, Mitsudomi T, Morimoto Y, Higashi T, et al. MUC1 mucin mRNA expression in stage I lung adenocarcinoma and its association with early recurrence. Ann Thorac Surg 1999;67:810-4.
34. Ohgami A, Mitsudomi T, Sugio K, Tsuda T, Oyama T, Nishida K, et al. Micrometastatic tumor cells in the bone

marrow of patients with non-small cell lung cancer. Ann Thorac Surg 1997;64:363-7.
35. Hirasawa Y, Kohno N, Yokoyama A, Kondo K, Hiwada K, Miyake M. Natural autoantibody to MUC1 is a prognostic indicator for non-small cell lung cancer. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:589-94.
36. Pectasides D, Pavlidis N, Gogou L, Antoniou F, Nicolaides C, Tsikalakis D. Clinical value of CA 15-3, mucin-like carcinoma-associated antigen, tumor polypeptide antigen, and carcinoembryonic antigen in monitoring early breast cancer patients. Am J Clin Oncol 1996;19:459-64.
37. Katayose Y, Kudo T, Suzuki M, Shinoda M, Saijyo S, Sakurai N, et al. MUC1-specific targeting immunotherapy with bispecific antibodies: inhibition of xenografted human bile duct carcinoma growth. Cancer Res 1996;56:4205-12.
38. Chen L, Chen D, Manome Y, Dong Y, Fine HA, Kufe DW. Breast cancer selective gene expression and therapy mediated by recombinant adenoviruses containing the DF3/MUC1 promoter. J Clin Invest 1995;96:2775-82.
39. Moase EH, Qi W, Ishida T, Gabos Z, Longenecker BM, Zimmermann GL, et al. Anti-MUC-1 immunoliposomal doxorubicin in the treatment of murine models of metastatic breast cancer. Biochim Biophys Acta 2001 ;1510:43-55.

Abstract

The Expression of Mucin Gene and it`s Clinical Significance in Non-Small Cell Lung Cancer

Jae Ho Chung

Department of Medicine,
The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor **Sung Kyu Kim**)

Lung cancer is one of the major cause of death and morbidity throughout the world. Because of high mortality and relapse rate in lung cancer, reliable predictive markers for relapse and poor outcome are needed. The aim of this study is to demonstrate the correlation of MUC genes' expression using monoclonal antibodies of MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 immunohistochemistry and the prediction of patient`s survival and relapse on the basis of staining in 26 cases of surgically resected non-small cell lung cancer. MUC1 was expressed in 8 (80%) of 10 cases in squamous cell carcinoma and 5 (100%) of 5 cases in adenocarcinoma. MUC5AC was expressed in 6 (60%) of 10 cases in squamous cell carcinoma and 4 (36%) of 11 cases in adenocarcinoma. MUC6 was expressed in 3 (43%) of 7 cases in squamous cell carcinoma and 0 (0%) of 2 cases in adenocarcinoma. MUC2 expression was increased significantly in adenocarcinoma (3 (100%) of 3 cases) compared to squamous cell carcinomas(2 (22%) of 9 cases, p=0.045). There was no statistical correlation between the expressions of MUC in non-small cell lung

cancers and the corresponding tumor stage, pathologic grade, and smoking. The disease-free survial and overall survival showed no significant difference between MUC (1, 2, 5AC, 6) positive and MUC (1, 2, 5AC, 6) negative tumors.

In conclusion, MUC expression in non-small cell lung cancer is variable and MUC2 expression is more common in adenocarcinoma than squamous cell carcinoma. Although our result did not show the significant correlation of MUC expression with the tumor stage, diasease-free survival, and overall survial, their roles as prognostic indicators should be further investigated.

Key Words : Non-small cell lung cancer, Mucin gene, Clinical significance.