

## 위암에서 Collagen-IV 및 Type-IV Collagenase의 발현과 예후인자로서 임상적 응용

연세대학교 의과대학 외과학교실, 내과학교실, 연세암센터, 연세암연구소, 아주대학교 의과대학 병리학교실\*

노성훈 · 이종인 · 정현철 · 박준오 · 조재용 · 라선영  
유내춘 · 김주황 · 노재경 · 민진식 · 김병수 · 어기범\*

= Abstract =

### Expression and Clinical Relevance of Collagen-IV & Type-IV Collagenase in Gastric Cancer

Sung Hoon Noh, M.D., Chong In Lee, M.D., Hyun Cheol Chung, M.D., Joon Oh Park, M.D.,  
Jae Yong Cho, M.D., Sun Young Rha, M.D., Nae Choon You, M.D., Joo Hang Kim, M.D.,  
Jae Kyung Roh, M.D., Jin Sik Min, M.D., Byung Soo Kim, M.D. and Kyi Beom Lee, M.D.\*

*Departments of General Surgery and Internal Medicine, Yonsei Cancer Center, Institute for Cancer Research,  
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

*\*Department of Pathology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea*

**Background/Aims:** In Korea, gastric cancer is the commonest cancer and the leading cause of cancer-related death. Though the most effective treatment for gastric cancer is radical resection, there are many patients with gastric cancer inoperable at the time of diagnosis. Collagen-IV, one of the major intrinsic components of the basement membrane, has cell adhesion function and it is known to be associated with tumor invasion or penetration. Type-IV collagenase, a metallo-proteinase purified from highly metastatic tumor cells, has been implicated in the process of invasion of epithelial and endothelial basement membranes in several steps of tumor invasion and metastasis. **Methods:** We retrospectively reviewed the clinical records of 50 patients with histologically proven gastric cancer who had been treated in Yonsei University Medical Center and Yonsei Cancer Center between June 1985 and June 1990. We performed immunohistochemical staining of surgically resected specimens of stomach cancers to investigate the expression rate and clinical relevance of collagen-IV and type-IV collagenase as prognostic markers. **Results:** Collagen-IV expression rate was 50% in 40 gastric cancers and type-IV collagenase expression rate was 76% in 50 gastric cancers. Six cases(30%) recurred in 20 collagen-IV positive cases and six cases(30%) recurred in 20 collagen-IV negative cases( $p=1.00000$ ). Eleven cases(29%) recurred in 38 type-IV collagenase positive cases and four cases(33%) recurred in 12 type-IV collagenase negative cases( $p=0.77255$ ). In the collagen-IV positive and negative group, 5-year disease-free survival rate was 60% and 67%, respectively( $p=0.6725$ ), and 5-year overall survival rate was 71% and 82%, respectively( $p=0.3953$ ). In the type-IV collagenase positive and negative group, 5-year disease-free survival rate was 63% and 60%, respectively( $p=0.6407$ ), and 5-year overall survival rate was 78% and 60%, respectively ( $p=0.3822$ ). **Conclusions:** Collagen-IV and type-IV collagenase were found in gastric tissues. However, together with recurrence rate and survival rate, expressions of collagen-IV and type-IV collagenase were not significantly correlated with T state, nodal status, TNM stage and histologic differentiation of gastric cancer. Further studies to define the biological role of collagen-IV and type-IV collagenase is required. (**Korean J Gastroenterol 1996;28:1 - 10**)

**Key Words:** Gastric cancer, Collagne-IV, Type-IV collagenase, Prognostic marker

접수: 1995년 9월 16일, 승인: 1996년 1월 14일

연락처: 노성훈, 서울특별시 서대문구 신촌동 134, 연세의료원 외과

본 연구는 1993년도 연세대학교 의과대학 과별 project 연구비로 이루어 졌음

## 서 론

위암은 국내에서 발생하는 악성종양중 발생빈도와 사망률이 가장 높은 종양으로, 효과적인 치료는 근치적 절제술이나 환자의 약 2/3는 진단시 이미 진행되어 3기 혹은 4기로 근치적 절제술을 시행하여도 예후가 불량하다.<sup>1</sup> 침윤 및 전이는 악성종양의 특성으로 암의 예후와 밀접한 관련이 있다. 전이 발생의 복잡한 여러단계중 주위조직으로의 종양 침투가 첫 번째 과정이며 이후 혈관벽이나 림프관벽을 뚫고 전신적으로 퍼지게 되며, 이때 세포외간질(extracellular matrix)이 중요한 역할을 한다.<sup>2</sup> 세포외간질은 세포가 통과하는 과정에서 장애물 및 부착기질로서 작용하며, 세포의 운동과 종양의 침윤에도 관여하고, 세포부착을 매개하는 수용체나 성장인자 및 cytokine 등을 통하여 세포에 신호를 전달하기도 한다. 이러한 세포외간질은 여러 구성성분으로 이루어져, collagen-I, collagen-III, fibronectin 및 hyaluronic acid 등으로 구성된 결합조직 기질과 laminin, collagen-IV 및 heparan sulfate proteoglycan 등으로 구성된 기저막으로 구성된다.<sup>2</sup> 따라서 collagen-IV는 기저막의 주요 구성성분으로서 세포부착 기능이 있고 종양의 침윤 과정에 관여한다.<sup>2,3</sup> 기저막 분해효소의 하나인 type-IV collagenase도 종양의 침윤과 전이의 여러 단계에 작용하는 것으로 알려져 있다.<sup>4</sup> Collagen-IV와 type-IV collagenase는 악성종양의 침윤과정과 관련이 있을 뿐 아니라, 일부 종양에서는 암세포의 분화도와와의 연관성이 보고되고 있다.<sup>5,6</sup> 특히 대장암에서 laminin과 collagen-IV를 대상으로한 면역조직화학적 검사에서 기저막이 소실되거나 불규칙하게 배열되어 있는 경우 생존율이 감소하고,<sup>7</sup> 미분화암인 경우 기저막 소실이 더 많은 것으로 보고 되었다.<sup>3</sup> 대장암 이외에도 유방암, 췌장암 및 방광암등에서 기저막의 소실과 예후 및 종양의 조직학적 분화도와와의 연관성이 보고 되었다.<sup>8-10</sup>

본 연구에서는 위암환자들을 대상으로 collagen-IV와 type-IV collagenase의 발현 빈도를 조사하고, 이들의 발현유무에 따른 환자들의 임상경과를 비교하여 예후인자로서의 가치를 평가하며, 위암의 병기

및 조직학적 분화도와와의 연관성을 조사하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

1985년 6월부터 1990년 6월까지 연세의료원 및 연세 암센터에 내원하여 위암으로 진단 받고 근치적 절제술을 시행 받은 50예를 대상으로 하였다.

### 2. Collagen-IV 및 type-IV Collagenase의 면역조직화학 염색법

면역조직화학 염색시 사용한 collagen-IV(Sigma Chemical Company, USA) 및 type-IV collagenase 단클론 항체(Sigma Chemical Company, USA)는 사람의 항원에 대한 mouse 항체였다. 위암 환자의 파라핀 포매조직을 5  $\mu$ m 두께로 절단한 슬라이드를 이용하여 조직표면에 존재하는 비특이 수용체를 제거하기 위하여 blocking액 100  $\mu$ l를 조직이 고정된 슬라이드에 점적한 후, 37 $^{\circ}$ C 가습 항온기에서 20분간 배양하였다. 배양 후 슬라이드를 세척하지 않고 기울여서 과다한 용액을 제거하고, 1 : 200으로 희석한 일차항체 50  $\mu$ l를 점적하였다. 일차항체를 점적한 슬라이드를 다시 37 $^{\circ}$ C 가습 항온기에 넣고 30분간 배양하고 phosphate buffered saline(PBS)으로 10분씩 3회 세척하였다. 다음에 2차 항체를 100  $\mu$ l 점적한 후, 37 $^{\circ}$ C 가습 항온기에서 30분간 배양하였다. 2차 항체 배양이 끝난 다음 PBS로 10분씩 3회 세척하고, avidin-biotin peroxidase complex(ABC) 용액을 2방울씩 슬라이드에 점적 후 실온에서 30분간 배양하였다. 다시 PBS로 10분씩 3회 세척 후, diaminobenzidine(DAB) 용액에서 발색시킨 후, PBS로 10분, 증류수로 10분간 세척하고 methyl-green으로 대조 염색하였다.

### 3. 결과 판독

결과 판독은 병리의사를 포함한 2인의 판독자가 임상정보를 받지 않은 상태에서 판독하였으며, 광학현미경하 중배울 시야에서 종양의 괴사가 없는 부위를 선택하여 검색하였다. 적어도 광학현미경 시야 한부위 이상에서 종양세포의 염색이 주위 조직보다

따라 정하였다.<sup>11</sup>

### 5. 환자의 추적관찰

외래에서 정기적 검진에 의해 추시 관찰 하였으며, 추적이 중단되었던 환자는 엽서 및 전화로 추적 하였다. 무병생존기간은 수술시행일로부터 재발이 확인된 날까지로 하였고, 전체 생존기간은 수술시행 일로부터 최종관찰일(1995년 6월) 또는 사망일까지 로 하였다.

### 6. 통계학적 처리

각군간의 비교는 Fisher's exact test와 chi-square test로 하였으며, 생존율은 Kaplan-Meier법으로 구하고 유의성 검정은 log-rank test로 하였다.

## 결 과

### 1. 대상환자의 특성 및 임상경과

전체 대상 환자 50예의 남녀비는 1.6:1(남 31예, 여 19예)이었으며, 중앙연령은 59 세(범위 36~81)였다. Borrmann형 별로는 I형 3예(6%), II형 19예(38%), III형 28예(56%)였다. 위암의 원발부위는 체부 25예(50%), 전정부 25예(50%)였다. 종양의 조직학적 분화도상 고분화선암은 없었고, 중등도 분화 선암 13예, 미분화 선암 31예, 인환세포형(signet-ring cell) 4예, mucin형 2예였다. 종양크기의 중앙값은 5 cm(범위 1~13)이었다. T병기상 T<sub>2</sub> 8예(16%), T<sub>3</sub> 41예(82%), T<sub>4</sub> 1예(2%)이었고, 림프절 전이가 없는 경우(No)가 12예(24%), N<sub>1</sub> 19예(38%), N<sub>2</sub> 17예(34%), N<sub>3</sub> 2예(4%)였다. TNM병기상 병기 II 17예(34%), III<sub>a</sub> 16예(32%), III<sub>b</sub> 15예(30%), IV 2예(4%)였다(Table 1).

수술후 보조 약물요법이 시행된 경우는 43예(86%), 수술만을 시행한 경우는 7예(14%)였다.

약물요법은 5-fluorouracil(5-FU)과 adriamycin이 투여된 예가 39예(13예는 면역치료로 poly-A-U 추가)였으며, 5-FU, adriamycin 및 mitomycin(FAM)이 투여된 예가 4예였다.

전체 50예중 15예(30%)에서 재발하였으며, 재발 부위는 림프절 4예, 간 및 복막전이가 각각 3예, 난

Fig. 1. Collagen-IV immunohistochemical staining in gastric cancer(grade-III, ×400)

Fig. 2. Type-IV Collagenase immunohistochemical staining in gastric cancer(grade-III, ×400)

확실하게 염색되는 경우를 양성으로 하였다(Fig. 1, 2). 양성으로 염색된 암세포의 백분율에 따라 grade 0(0~5%, -), grade-I(6~25%, +), grade-II(26~50%, ++), grade-III(51~75%, +++), grade-IV(76~100%, ++++)로 정의 하였으며, 본 연구에서는 grade-I 부터 양성으로 판정하였다. 양성대조는 internal control을 사용하였고, 음성대조는 일차항체를 생략한 염색법을 사용하였으며 염색의 강도는 고려하지 않았다.

### 4. 환자의 병리학적 병기 및 분화도 분류

수술 후 적출된 암조직의 조직절편을 Hematoxylin & Eosin(H&E)으로 염색 후, 암의 침윤도 및 림프절 전이에 따른 병기와 종양분화도를 American Joint Committee on Cancer(AJCC, 4th ed, 1992) 기준에

소 2예, 잔위, 췌장 및 폐가 각각 1예였다. 수술 후 보조 약물요법을 시행한 43예중 14예(33%)에서 재

발하였고, 수술만을 시행한 7예중 1예(14%)에서 재발하였다. 중앙 추적관찰 기간 52개월(범위 1~110)에서 전체 환자의 5년 무병생존율은 61%, 전체 생존율은 68%이었다.

**Table 1. Patient Characteristics**

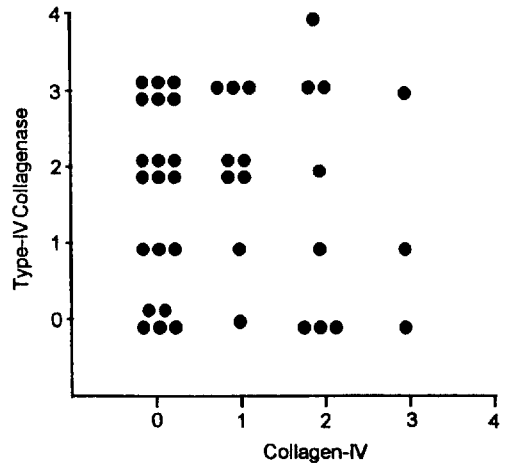
Total No. of patients	50
Sex ratio	1.6 : 1
Male : Female	31 : 19
Age(years)	
Median	59
Range	36~81
Tumor location	
Cardia	0
Body	25
Antrum	25
Borrmann type	
I	3
II	19
III	28
IV	0
Histologic differentiation	
Moderately-differentiated	13
Poorly-differentiated	31
Signet-ring cell	4
Mucinous	2
T stage	
T <sub>2</sub>	8
T <sub>3</sub>	41
T <sub>4</sub>	1
N stage	
N <sub>0</sub>	12
N <sub>1</sub>	19
N <sub>2</sub>	17
N <sub>3</sub>	2
TNM stage	
II	17
III <sub>a</sub>	16
III <sub>b</sub>	15
IV	2

**2. Collagen-IV 및 type-IV Collagenase 발현율**

전체 50예중 collagen-IV 면역조직화학 염색은 40예에서 시행되어, collagen-IV 양성 20예, 음성 20예로 발현율은 50%였다(+ : 9예, ++ : 8예, +++ : 3예, ++++ : 0예). Type-IV collagenase 면역조직화학 염색은 50예에서 시행되어 양성 38예, 음성 12예로 발현율은 76%였다(+ : 7예, ++ : 13예, +++ : 14예, ++++ : 4예)(Table 2).

**3. Collagen-IV와 type-IV Collagenase 발현도 비교**

Collagen-IV와 type-IV collagenase 발현도간의 상관성을 grade별로 비교하였을 때 유의한 상관성을



**Fig. 3.** Correlation between Collagen-IV and Type-IV Collagenase expressions

**Table 2. Expression Rates of Collagen-IV and Type-IV Collagenase**

Grade	0	I	II	III	IV	positive rate
Collagen-IV(n=40)	20	9	8	3	0	20(50%)
Type-IV Collagenase(n=50)	12	7	13	14	4	38(76%)

관찰할 수 없었다( $r=0.04$ ,  $p=0.82$ )(Fig. 3).

#### 4. T 병기에 따른 Collagen-IV 및 type-IV Collagenase 발현율

Collagen-IV는 T<sub>2</sub> 병기에서 6예중 2예(33%), T<sub>a</sub> 병기에서 34예중 18예(53%)에서 양성반응을 보였으며( $p=0.37583$ ), Type-IV collagenase는 T<sub>2</sub> 병기에서 8예중 5예(63%), T<sub>3</sub> 병기에서 41예중 32예(78%), T<sub>4</sub> 병기에서 1예중 1예(100%)에서 양성반응을 보여( $p=0.54622$ ), 위벽 침윤도가 증가 할수록 collagen-IV 및 type-IV collagenase 발현이 증가하는 경향이였다.

#### 5. N 병기에 따른 Collagen-IV 및 type-IV Collagenase 발현율

Collagen-IV는 림프절 음성군(No)에서 10예중 3예(30%), N<sub>1</sub> 병기에서 14예중 11예(79%), N<sub>2</sub> 병기에서 15예중 5예(33%), N<sub>3</sub> 병기에서 1예중 1예(100%)에서 양성반응을 보여, 림프절 음성군에서는 30%, 양성군에서는 57%의 발현율을 나타내( $p=0.14413$ ), 전이가 발생함에 따라 collagen-IV의 발현율이 증가하는 경향이였다.

Type-IV collagenase는 림프절 음성군(No)에서 12예중 9예(75%), N<sub>1</sub> 병기에서 19예중 15예(79%), N<sub>2</sub> 병기에서 17예중 12예(71%), N<sub>a</sub> 병기에서 2예중 2예(100%)에서 양성반응을 보여, 림프절 음성군에서 75%, 양성군에서 76%의 발현율을 나타내( $p=0.92587$ ), 림프절 전이 유무와 type-IV collagenase 발현간의 연관성은 관찰할 수 없었다.

#### 6. 병기별 Collagen-IV 및 type-IV Collagenase 발현율

Collagen-IV는 병기 II에서 13예중 5예(38%), 병기 III에서 26예중 14예(54%; 병기 III<sub>a</sub> 69%, 병기 III<sub>b</sub> 38%), 병기 IV 1예(100%)에서 양성반응을 보여, 병기가 증가 할 수록 collagen-IV 발현이 증가하는 경향이였다( $p=0.23010$ ). Type-IV collagenase는 병기 II에서 17예중 12예(71%), 병기 III에서 31예중 24예(77%; 병기 III<sub>a</sub> 81%, 병기 III<sub>b</sub> 73%), 병기 IV 2예(100%)에서 양성반응을 나타내( $p=0.75185$ ), TNM 병기와 type-IV collagenase 발현간의 유의한 상관관

계는 관찰할 수 없었다.

#### 7. 종양분화도에 따른 Collagen-IV 및 type-IV Collagenase 발현율

Collagen-IV는 중등도분화 선암에서는 14예중 8예(57%), 미분화 선암에서는 26예중 12예(46%)에서 양성반응을 보여 분화도에 따른 양성률의 차이가 없었다( $p=0.74229$ ). Type-IV collagenase도 중등도분화 선암에서는 19예중 14예(74%), 미분화 선암에서는 31예중 24예(77%)에서 양성반응을 나타내 조직학적 분화도에 따른 양성률의 차이가 없었다( $p=0.7519$ ).

#### 8. Collagen-IV 및 type-IV collagenase 발현에 따른 재발률

Collagen-IV의 경우, 양성군 20예중 6예(30%), 음성군 20예중 6예(30%)에서 재발하여 collagen-IV 발현에 따른 재발률의 차이가 없었다( $p=1.00000$ ). Type-IV collagenase의 경우도 양성군 38예중 11예(29%), 음성군 12예중 4예(33%)에서 재발하여 Type-IV collagenase 발현에 따른 재발률의 차이는 없었다( $p=0.77255$ )(Table 3).

#### 9. Collagen-IV 및 type-IV Collagenase 발현에 따른 생존율

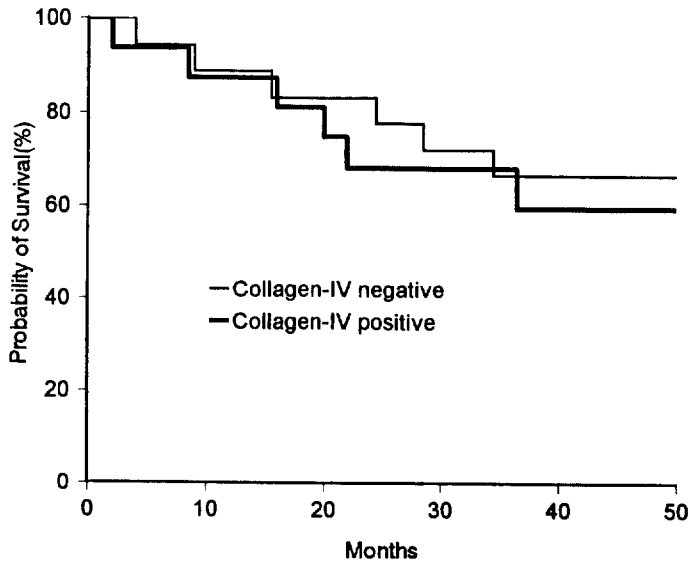
Collagen-IV 발현유무에 따른 5년 무병생존율은 양성군 60%, 음성군 67%( $p=0.6725$ )(Fig. 4), 5년 전체 생존율도 양성군 71%, 음성군 82%( $p=0.3953$ )로 차이가 없었다. Type-IV collagenase 발현유무에 따른 5년 무병생존율은 양성군 63%, 음성군 60%( $p=0.6407$ )였으며(Fig. 5), 5년 전체생존율도 양성군 78%, 음성군 60%( $p=0.3822$ )로 차이가 없었다(Table 4).

#### 10. 약물치료 효과

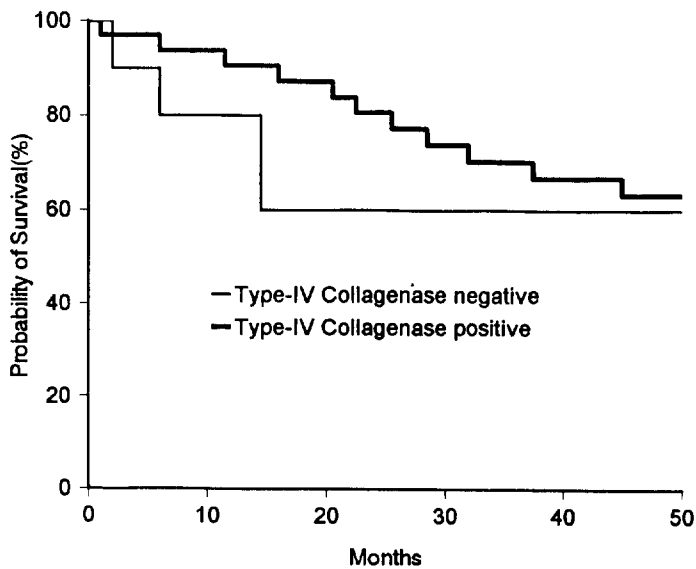
Collagen-IV 양성군 중에서 약물치료를 시행한 15예중 6예(40%)에서 재발하였고, 약물치료를 시행하지 않은 5예에서는 재발례가 없었다( $p=0.26045$ ). 음성군에서는 약물치료를 시행한 19예중 6예(32%)에서 재발하였고, 약물치료를 시행하지 않은 1예는 재발하지 않아( $p=1.0000$ ), 약물치료 유무에 따른 재발률의 차이는 없었다.

**Table 3.** Recurrence Rate according to Collagen-IV or Type-IV Collagenase Expression

Collagen-IV		p-value	Type-IV collagenase		p-value
positive	negative		positive	negative	
6/20(30%)	6/20(30%)	1.00000	11/38(29%)	4/12(33%)	0.77255



**Fig. 4.** Disease free survival curve according to Collagen-IV expression in gastric cancer



**Fig. 5.** Disease free survival curve according to Type-IV Collagenase expression in gastric cancer

**Table 4.** Survival Rate according to Collagen-IV or Type-IV Collagenase Expression

	Collagen-IV		p-value	Type-IV collagenase		p-value
	positive	negative		positive	negative	
5-year DFS	60%	67%	0.6725	63%	60%	0.6407
OS	71%	82%	0.3953	78%	60%	0.3822

DFS : disease free survival, OS : overall survival

Type-IV collagenase 양성군 중에서 약물치료를 시행한 29예중 10예(34%), 약물치료를 시행하지 않은 9예중 1예(11%)에서 재발하였다(p=0.23733). 음성군에서는 약물치료를 시행한 11예중 4예(36%)에서 재발하였고, 약물치료를 시행하지 않은 1예는 재발하지 않아(p=1.0000), 약물치료 유무에 따른 재발률의 차이는 없었다.

### 고 찰

정상조직의 점막에서는 collagen-IV가 상피조직 주위에 선형으로 존재하며, type-IV collagenase도 일부 정상 점막세포와 결합조직 세포에서 관찰할 수 있다.<sup>5</sup> 기저막은 결합조직 기질의 상피를 싸고 있는 구조로 침윤성 암에서는 본질적으로 기저막 소실의 특징이 있어, Barsky 등<sup>3</sup>은 유방, 피부, 위장 및 전립선등에서 양성병변의 암화과정중 기저막의 현격한 변화가 일어남을 보고하였다. Broders<sup>12</sup>는 여러 악성 암종에서 기저막의 침습(penetration)이 발생함을 처음으로 보고하였고, 이후 Ozzello 등<sup>13</sup>은 유방의 관내암(intraductal carcinoma)에서 기저막의 소실을 관찰하였다. 아직까지 암세포에서 기저막 소실의 기전은 확실해 밝혀져 있지 않으나 이는 암화의 과정에서 암세포 기질의 변형, 기저막 분해효소의 증가로 인한 기저막 형성의 감소, 암세포에 의한 기저막 교체(turnover)의 증가 등에 기인하는 것으로 알려져 있다.<sup>14,15</sup> 많은 상피병변이 조직학적으로는 침윤성 병변과 유사성을 보이지만, 상피병변들은 정상 기저막이 유지되며 일반적으로 기저막의 소실은 침윤이 일어나기전 까지는 발생하지 않는다. 상피내암(carcinoma in situ)도 세포학적으로는 악성이나, 침윤성은 없어 기저막 소실은 발생하지 않는다. 그러나 기

저막의 소실 또는 침윤이 악성종양의 결정적인 근거는 되지 못하는데 이는 일부 암, 특히 고분화 편평상피암이나 선암은 부분적으로 collagen-IV 양성반응을 보이며, 활액육종 같은 종양에서는 전이암의 경우에서도 collagen-IV가 관찰되기 때문이다. 이는 기저막이 내피세포, 평활근세포, 일부 간엽세포와 상피세포에서도 정상적으로 합성되므로 이러한 세포에서 유래한 종양의 경우 침윤암의 경우에도 기저막 형성이 가능하다. 기저막의 소실은 일부 염증과정, 예를 들어 포진성 피부염등의 염증성 질환에서도 관찰된다.<sup>16</sup>

본 연구에서 collagen-IV는 정상 위선, 혈관 및 평활근 세포의 기저막에서도 염색이 되었고 암 세포의 세포막에서 관찰되었다. Collagen-IV 양성인 암에서 부분적으로 기저막에 염색이 되지 않는 부위도 관찰되었다. Collagen-IV는 저자들의 연구에서 전체 40예의 위암 환자중 20예(50%)에서 양성반응을 보여, David 등<sup>17</sup>의 40%, Nakamura 등<sup>18</sup>의 45%의 발현율과 유사하였다. David 등<sup>19</sup>과 Carneiro 등<sup>20</sup>은 위암에서 collagen-IV나 laminin 등의 기저막 항원 발현과 조직 분화도와는 연관성이 없으며, 이는 대부분의 침윤형암이 세포주기상 합성기 분획이 낮기 때문으로 설명 하였으며, 본 연구에서도 위암의 분화도와 collagen-IV 발현과의 연관성은 관찰할 수 없었다.

반면 Grigioni 등<sup>5</sup>은 특히 위암의 경우 동일한 종양내에서도 조직학적 분화도가 다양하게 분포되므로 기저막의 염색형태는 암세포의 구조적 배열과 연관이 있다고 하였다.<sup>21</sup> Nakamura 등<sup>18</sup>도 위암세포에서 기저막의 형태와 염색양상이 조직학적 분화도에 따라 다양함을 보고하였다. 즉, 고분화 선암의 경우 다형태의 핵(pleomorphic nucleus), 극성의 소실 및 유두형 구조가 많기 때문에 기저막의 두께가 감소하

고 부분적으로 단락된 선형(discontinuous, linear pattern)을 보이며, 미분화 암에서는 종양세포가 고형소(solid nest)를 형성하거나 선양구조(gland-like structure)로 배열되므로 절편형(fragmentary pattern)으로 나타나 전체적인 기저막의 발현이 감소하며, 이러한 기저막의 변화는 암세포의 조직 침윤정도 보다는 부착강도에 따라 나타남을 제시하기도 하였다.

Sugihara 등<sup>22</sup>은 위암에서 laminin과 fibronectin등의 기저막 항원의 발현이 증가할 수록 암의 위벽 침윤도는 감소하여, 위벽 침윤도와 기저막 항원의 발현사이에 유의한 역상관 관계를 관찰하였고, Nakamura 등<sup>18</sup>도 위암에서 5년 생존율이 collagen-IV 양성인 예에서 64%, 음성인 예에서 27%로 collagen-IV 발현유무에 따라 생존율의 차이가 있음을 보고하였다. 반면, Foster 등<sup>7</sup>은 직장암에서 장벽 침윤도와 collagen-IV 발현과의 연관성은 찾을 수 없었으나, 고분화암에서 기저막 항원인 laminin의 발현이 증가하며, laminin의 발현이 증가 할 수록 생존율도 향상됨을 관찰하여, laminin의 발현이 암의 분화도 및 생존을 증가와 관련성이 있음을 보고 하였다. 본 연구에서는 침윤도 및 림프절 전이가 증가 할 수록 암조직에서 collagen-IV의 양성률이 증가하는 경향이 있었으나 재발률 및 생존율에는 차이가 없었다.

이와 같이 collagen-IV의 발현과 종양의 침윤도, 조직학적 분화도 및 생존율간의 관계에 대해서는 발현되는 조직과 주위기질에 따라 여러 상반된 결과가 나타나는데, 현재까지 제시된 가능한 기전으로 collagen-IV 수용체의 변이가 제시된다.<sup>23</sup> 따라서 본 연구결과와 같이 위암의 침윤이 증가됨에 따라 암세포로부터의 증가된 collagen-IV의 발현은 수용체의 변화에 따라 주변 collagen의 변화 혹은 암조직에서 생산된 collagen과 주위 기저막의 변형에 따른 면역반응의 증가에 대해 염색상 양성률이 증가함으로 생각된다.

세포기질 분해효소인 type-IV collagenase는 전이 암 세포에서 추출된 metalloproteinase family 중의 하나로 기저막의 침윤과정에 주로 관여한다. 기저막의 파괴 또는 소실은 주로 기저막 분해효소에 의하며, 이외에 기저막 소실의 다른 기전으로는 관강내압(intraluminal pressure)의 증가로 암세포가 기저막

을 침습하여 기저막 소실이 일어나는 것으로 알려져 있다.<sup>4</sup> David 등<sup>17</sup>은 87예의 위암 환자중 75예(86%)에서 type-IV collagenase 발현을 보고하였으나, type-IV collagenase 발현유무와 위벽 침윤도, 림프절 전이 및 위암의 조직학적 분화도와와의 유의한 연관성은 관찰하지 못하였다. 저자들의 경우 전체 50예의 위암환자중 38예(76%)에서 type-IV collagenase에 대한 양성반응을 보였으나, 위벽 침윤도, 림프절 전이 및 조직학적 분화도와와의 상관성은 없었다.

Type-IV collagenase는 세포기질 분해효소로서 암의 침습 및 전이에 관여하는 효소이나 본 연구결과와 같이 암의 침윤도, 림프절 전이 및 생존율 등과 유의한 연관성이 없는 이유로 현재까지 몇가지 개념이 제시된다. 첫째는 type-IV collagenase는 잠재형(latent form)으로 분비되며, 실제로 type-IV collagenase의 활성을 결정하는 것은 type-IV collagenase의 분비 및 활성화와 활성억제제 사이의 균형으로 알려져 있다.<sup>14,24</sup> 면역조직화학 염색상의 반응정도는 활성화 정도와 활성억제도를 고려하지 않고 잠재형 및 활성형 모두를 나타내므로 실제의 활성화와 일치되지 않을 수도 있기 때문이다.<sup>17</sup> 둘째는 type-IV collagenase의 생성이 면역조직화학적 검사상으로는 암세포에서 관찰되나 in situ hybridization 방법상으로는 주위 섬유아세포의 기질에서 주로 발현되고 있다는 점이다. 따라서 type-IV collagenase의 생성장소 및 활성화 장소에 대한 규명이 시행됨으로써 보다 적절한 임상적 응용이 가능하겠다.

본 연구 결과 위암에서도 collagen-IV 및 type-IV collagenase 발현이 관찰되었으나 해부학적 병기, 위벽 침윤도, 림프절 전이 및 조직학적 분화도간의 유의한 상관성은 관찰할 수 없었다. 향후 위암에서 발현되는 collagen-IV와 type-IV collagenase의 생물학적 의미 및 그 임상적 응용에 대한 연구가 필요하겠다.

## 요 약

**목적:** 위암 환자들을 대상으로 암의 침윤과 전이의 지표로서 collagen-IV 및 type-IV collagenase 면역조직화학 염색을 시행하여 collagen-IV와 type-IV collagenase의 발현빈도를 조사하고, 이들의 발현유



무에 따른 임상경과를 비교하여 예후인자로서의 가치를 평가하며, 위암의 병기 및 조직학적 분화도와 의 연관성을 조사하였다. **대상 및 방법:** 근치적 절제술 후 파라핀 포매조직을 얻을 수 있었던 환자로 collagen-IV는 40예, type-IV collagenase는 50예의 환자를 대상으로 면역조직화학 염색을 시행하였다. **결과:** 전체 40예를 대상으로 한 위암환자에서의 collagen-IV 발현율은 50%였고, 50예를 대상으로 한 type-IV collagenase는 76%의 발현율이 관찰되었다. Collagen-IV 및 type-IV collagenase 양성군 및 음성군 사이에 유의한 재발률 및 생존율의 차이는 없었고, collagen-IV 및 type-IV collagenase 발현유무에 따른 해부학적 병기 및 조직학적 분화도와 의 유의한 상관성은 관찰할 수 없었으나 암의 침윤과 전이가 증가 할 수록 type-IV collagen의 발현은 증가하는 경향이였다. **결론:** 위암에서 collagen-IV 및 type-IV collagenase 발현의 임상적 의의에 대한 생물학적 연구가 필요하겠다.

**색인단어:** 위암, 콜라젠-IV, IV형 콜라제네이스, 예후인자

### 참 고 문 헌

1. Moertel CG. The natural history of advanced gastric cancer. *Surg Gynecol Obstet* 1986;162:197 - 208.
2. Liotta LA, Rao CN, Barsky SH. Tumor invasion and extracellular matrix. *Lab Invest* 1983;49:636 - 649.
3. Barsky SH, Siegal GP, Jannotta F, Liotta LA. Loss of basement membrane components by invasive tumors but not by their benign counterparts. *Lab Invest* 1983;49:140 - 147.
4. Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S, Hart I, Foltz CM, Shafie S. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature* 1980;284:67 - 68.
5. Grigioni WF, Biagini G, Errico AD, et al. Behavior of basement membrane antigens in gastric and colorectal cancer: Immunohistochemical study. *Acta Pathol Jpn* 1986;36:173-184.
6. Mori M, Shimono R, Kido A, Kuwano H, Akazawa K, Sugimachi K. Distribution of basement membrane antigens in human esophageal lesions: an immunohistochemical study. *Intl J Cancer* 1991;47:839 - 842.
7. Foster SJ, Talbot IC, Critchley DR. Laminin and fibronectin in rectal adenocarcinoma: Relationship to tumor grade, stage and metastasis. *Br J Cancer* 1984;50:51 - 61.
8. Albrechtsen R, Nielsen M, Wewer U, Engvall E, Ruoslahti E. Basement membrane changes in breast cancer detected by immunohistochemical staining for laminin. *Cancer Res* 1981;41:5076 - 5081.
9. Haglund C, Nordling S, Robert PJ, Ekblom P. Expression of laminin in pancreatic neoplasms and in chronic pancreatitis. *Am J Surg Pathol* 1984;8: 669 - 676.
10. Daher N, Abourachid H, Bove N, Petit J, Burtin P. Collagen-IV staining pattern in bladder carcinomas: relationship to prognosis. *Br J Cancer* 1987;55:665 - 671.
11. Beahrs OH, Henson DE, Hutter RV, Kennedy BJ. American Joint Committee on Cancer. Manual for staging of Cancer. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott 1993:63 - 67.
12. Broders AC. Carcinoma in situ contrasted with benign penetrating epithelium. *J Am Med Assoc* 1932;99:1670 - 1674.
13. Ozzello L. The behavior of basement membrane in intraductal carcinoma of breast. *Am J Pathol* 1959; 35:887 - 900.
14. Stevenson WG. Type-IV collagenases in tumor invasion and metastasis. *Cancer Met Rev* 1990;9:289 - 303.
15. Barsky SH, Togo S, Garbisa N, Liotta LA. Type-IV collagenase immunoreactivity in invasive breast carcinoma. *Lancet* 1983;1:296 - 297.
16. Kefalides NA, Denduchis B. Structural components of epithelial and endothelial basement membranes. *Biochemistry* 1969;8:4613 - 4621.
17. David L, Nesland JM, Holm R, Sobrinho M. Expression of laminin, collagen-IV, fibronectin, and

- type-IV collagenase in gastric carcinoma: an immunohistochemical study of 87 patients. *Cancer* 1994; 73:518 - 527.
18. Nakamura K, Mori M, Enjoji M. Distribution of basement membrane antigens in clinical gastric adenocarcinomas: an immunohistochemical study. *J Clin Pathol* 1987;40:1418 - 1423.
19. David L, Sansonetty F, Soares P, et al. DNA content of gastric lesions with particular emphasis on gastric carcinoma: A study of 71 consecutive cases using flow cytometry. *Surg Pathol* 1993;5:211 - 224.
20. Carneiro F, Moutinho RM, David L, et al. Signet-ring cell carcinoma of the stomach: A morphometric, ultrastructural and DNA cytometric study. *Ultrastruct Pathol* 1992;16:603 - 614.
21. Oota K, Sobin LH. Histological typing of gastric and oesophageal tumors. International classification of tumors. No. 18 Geneva: WHO, 1977.
22. Sugihara H, Hattori T, Fujita S, Fukuda M. Distribution of fibronectin and laminin in early and advanced signet-ring cell carcinomas of stomach. *Int J Cancer* 1989;43:263 - 269.
23. Aznavoorian S, Murphy AN, Stevenson WG, Liotta LA. Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis. *Cancer* 1993;71:1368 - 1383.
24. Pronton A, Coulombe B, Skup D. Decreased expression of tissue inhibitor of metalloproteinase in metastatic tumor cells leading to increased level of collagenase activity. *Cancer Res* 1991;51:2138 - 2143.