

암의 전이와 혈관 신생 (Tumor Metastasis and Angiogenesis)

김 규 원

부산대학교 분자생물학과

1. 암세포의 전이과정과 전이기작

암세포의 전이과정에는 일련의 복잡한 상호작용들이 암세포와 숙주 사이에 지속적으로 일어나게 된다. 즉, 전이가 성공적으로 일어나기 위해서 암세포들은 1차 종양으로 부터 이동을 시작하여 인접조직으로의 침윤을 일으키고 혈관, 임파관과 같은 순환계로 들어간다. 그 다음 적당한 부위에서 다시 혈관을 뚫고 간질(interstitium)과 실질(parenchyma) 속으로 관의 유출을 한 후 증식을 하면서 혈관 신생을 유발시켜 전이 암을 만드는 복잡한 단계를 거치게 된다(그림 1).

1) 혈관과 임파관을 통한 이동

암세포의 확산은 직접적인 확산(direct spread)이나 체강(coelomic cavity)을 통한 이동에 의해서도 일어날 수 있으나, 혈관이나 임파관을 통한 것이 주 경로가 된다. 정상조직에서 침윤성종양(invasive tumor)으로 전환이 된 뒤에 이차 종양으로의 시발과 진행이 뒤따르며, 종양혈관 생성인자(tumor angiogenesis factor)를 분비하여 주변조직으로부터 새로운 모세혈관형성도 수반하게 된다¹⁾. 이때 새로 형성된 종양 주변의 혈관들은 흔히 결함을 가지 있으며, 일차 종양덩어리의 종양세포들에 의해 쉽사리 침투가 된다(intravasation)(그림 2). 또한 종양세포들은 이미 존재하고 있는 숙주의 혈관을 침투하기도 한다. 이 경우 전이성의 종양세포들은 주로 얇은 막의 모세혈관을 침투하고, 탄력섬유가 많은 동맥이나 세동맥의 침투는 드물게 일어난다²⁾. 그러나 침투의 저지는 혈관벽과 같이 기계적인 강도에 의해서도 일어나지만 주변의 결합조직들이 종양세포들이 혈관의 침투를 위해 분비하는 단백질 분해효소의 저해제를 생성하고, 이것들이 전이성 암세포들의 단백질 분해효소활성을 억제하여 전이를 차단시킬 가능성

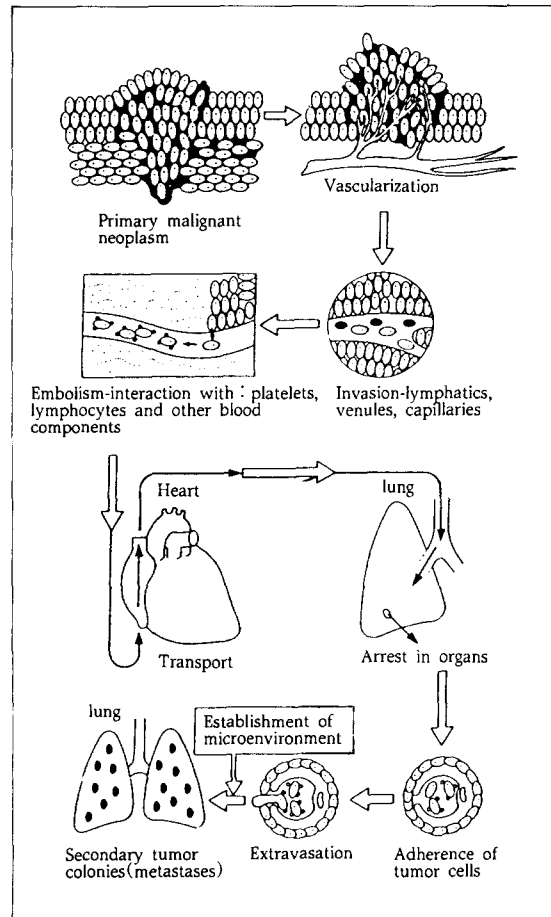


그림 1. 암세포의 전이과정

도 있다³⁾.

혈관내에서는 단일세포 또는 세포덩어리 상태에서 수동적인 이동을 하거나, 침투부위에서 증식하여 혈관속으로 암세포덩어리를 방출하기도 한다. 급속히 증식하는 종양인

경우에는 크기가 1cm 정도인 수백만개의 종양세포 덩어리들을 매일 순환계로 방출할 수가 있다. 그러나 이렇게 순환계로 들어온 종양세포들 중 대부분은 급속히 제거가 되고 극히 일부(0.001% 미만)만이 전이성클론을 유발시킬 수 있다. 혈류중에서 암세포는 스스로 응집체(homotypic aggregation)을 만들거나, 혈소판 또는 임파구 같은 다른 세포들과 결합된 응집체(heterotypic aggregation)를 형성하기도 한다. 이런 응집체, 즉 다세포덩어리의 형성에 의해 혈액순환과정중 암세포의 생존율이 높아지고, 결과적으로 전이를 도와주는 역할을 하게 된다. 즉 암세포덩어리의 표면에 있는 세포들은 혈관내의 이동중에 파괴될 수 있지만, 응집체 내부에 있는 손상을 입지않은 암세포들에 의해 전이가 일어날 수 있을 것이다. 종양에는 일반적으로 임파관의 형성이 부진하므로, 임파관과의 접촉은 종양의 바깥둘레에서만 일어나며 종양덩어리의 내부에서는 일어나지 않는다. 임파순환계로 들어간 종양세포들은 국부임파선으로 이동이 되며, 그곳에서 피막하동(subcapsular sinus)의 대임파관에 포착이 된다. 이렇게 임파선(lymph node)에 포착된 후 다시 상당수의 종양세포들은 떨어져 나와 임파 수입관(efferent lymphatics)으로 들어가게 된다. 이렇게 임파관으로 들어간 종양세포들은 임파관과 혈관간의 수많은 연결에 의해 결국은 혈관으로 들어가게 된다. 따라서 많은 수의 암세포들이 임파관과 혈관 사이를 쉽게 왕래할 수 있는데 이때 임파선이 전이성암에 대해 기계적인 장벽역할을 할 수 있는지 아직 명확하지 않다. 이렇게 이동이 된 암세포들은 목표부위에서 다시 혈관을 뚫고 나와서(extravasation) 새로운 혈관을 형성하고 영양분을 공급 받아서 증식을 하게 된다(그림 2).

① 전이 암세포에 의한 기저막의 파괴

포유동물의 세포외기질(extracellular matrix)은 프로테오글리칸(proteoglycan)과 당단백질(glycoprotein)로 구성된 점탄성(vascoelastic)의 기저구조속에 콜라젠과 엘라스틴(elastin) 등과 같은 단백질들이 밀집하게 격자를 형성하고 있다³⁾. 이런 기질(matrix)들은 조직의 기본 골격을 결정하고, 중요한 생물학적 기능을 발휘하며, 침투에 대한 기계적인 장벽으로 작용하기도 한다. 포유동물의 조직은 세포외기질의 일종인 기저막(basement membrane)과 간질기질(interstitial stroma)에 의해 여러 종류로 나누어져 있다. 즉 기초막은 상피조직과 그 밑에 있는 연결조직을

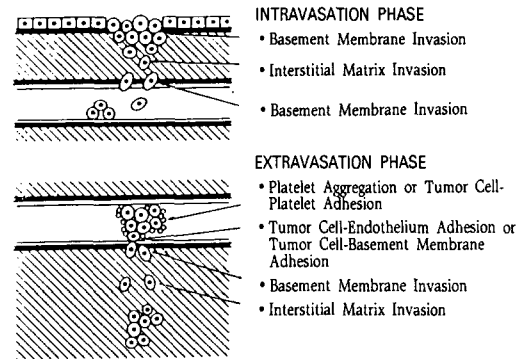


그림 2. 전이 암세포의 혈관내 침투와 혈관외 침투²⁸⁾.

두가지 과정에 공통적으로 기저막의 관통이 반드시 일어나야 한다.

분리하고, 신경세포, 근 세포, 지방세포 등을 둘러싸고 있음으로써 정상적인 조직구조를 구성하고 유지하는 골격역할을 하며, 신장이나, 모세혈관에서 단백질의 여과기능도 담당한다. 기저막의 구조는 타입 IV 콜라젠(type IV collagen)과 라미닌(laminin), 엔탁틴(entactin)같은 당단백질, 그리고 헤파란 설페이트(heparan sulfate), 프로테오글리칸(proteoglycan) 등이 서로 연결되어 격자구조를 형성하고 있다³⁾(그림 2).

종양세포들은 정상상태에서 침투성암종(invasive carcinoma)으로 전환되면서 상피 세포의 기저막을 관통하여, 그 밑에 있는 간질기질(interstitial stroma)로 침입하게 된다. 일단 기질로 들어가게되면 임파관이나 혈관으로 침투하여 그 이상의 확산이 가능하게 된다³⁾. 그리고 말초신경과 대부분의 기관선세포조직(organ parenchyma)을 침투하기 위해서도 종양세포들은 기초막을 반드시 관통하여야 한다. 그리고, 혈관내 침윤(intravasation)과 혈관외침윤(extravasation) 동안에도 종양세포들은 내피하기저막(subendothelial basement membrane)을 반드시 통과하여야 한다⁴⁾. 그뿐 아니라 전이콜로니가 시작되는 기관에서도 종양세포들은 그 기관의 선세포조직에서 콜로니의 증식이 일어나기 전에 혈관주변의 간질기질(perivascular interstitial stroma)를 통하여 이동하여야 한다. 즉 종양세포가 일차종양을 벗어나면 전이과정의 많은 단계에 걸쳐서 숙주의 기저막과 상호작용을 하고, 이를 관통하여야 한다. 예를 들면 혈관을 들어가거나 나올 때, 근육이나 신경 등

을 침윤할 때, 그 외 대부분의 상피조직을 관통할 때이다. 한편 전이성 종양의 부위에 있는 기저막의 구조 분포, 그리고 그 양에 있어서 광범위한 변화가 일어난다⁴⁾. 섬유선종(fibroadenoma)과 내관성 유두종(intraductal papilloma) 등과 같은 양성종양에서는 구조적인 이상이 있다 하더라도 기질과 상피세포들을 분리시킬 수 있는 기저막이 항상 유지되고 있다. 이에 비해 침윤성 관성암종(invasive ductal carcinoma) 등과 같은 악성종양 부근에서는 기저막의 손실이 나타난다. 악성종양 부근에서 기저막의 이상과 손실은 기저막 구성성분의 생합성이 감소하여 기저막생성이 저하되거나, 기저막 성분간의 비 정상적인 결합에 의해 이상이 생길 수 있다. 이와는 반대로 종양자체 또는 숙주에서 분비된 단백질 분해효소들에 의해 기저막이 파괴되는 것도 추정할 수 있다. 악성종양에 의해 파괴되는 기저막 구성성분들을 요약하면 표 1과 같다.

표 1. 전이 암세포에 의해 파괴되는 세포의 기질의 구성 성분⁹⁹⁾

Structural element	Example molecular components
Basement membranes	Type IV collagen Fibronectin Laminin Entactin Type V collagen Heparin sulfate proteoglycan
Collagen fibers	Type I collagen
Elastic fibers	Type III collagen
Ground substance	Type V collagen
Anchoring fibrils	Other collagen types Elastin Proteoglycans Fibronectin Glycoproteins
Ground substance	Type II collagen
Collagen fibers	Type I collagen
Mineralyed lattice	Hydroxyapatite Elastin Proteoglycans 1 α , 2 α , and 3 α collagen Short chain collagens

② 혈관내의 이동과 혈관의 침윤(extravasation)

혈관속을 순환하는 종양세포들이 목표기관의 혈관에 정착하기 위하여 다음과 같이 여러가지 수단을 이용하게 된다⁵⁾. 순환하는 종양세포 중 약 80%가 단일세포 상태이며 이런 세포들은 내피표면에 직접 붙거나, 내피 아래의 노출된 기저막(basement membrane)에 부착되기도 한다. 그리고 종양 덩어리 상태거나 숙주의 백혈구, 섬유소 또는 혈소판등과 결합된 상태일때는 세동맥(precapillary venule) 속에서 기계적인 충동에 의해 직접 혈전을 일으키기도 한다. 세동맥에서는 단일 세포 또는 덩어리 상태의 종양세포들이 내피표면에 결합되기도 한다. 이렇게 부착된 종양세포들이 내피세포들의 수축을 급속히(1~4시간내에) 유발시킨다. 그러면 내피세포들의 수축에 의해 기저막이 노출되고, 이 노출된 기저막에 종양세포들이 붙게 되면, 인접한 내피세포들이 종양세포 바깥으로 확장이 되어 뒤덮게 되고 따라서 종양세포들을 혈류와 분리시키게 된다(그림 3). 이렇게 내피와 기저막사이에 놓이게 된 종양세포들은 이런 상태로 8~24시간동안 유지가 된다. 그런 다음 기저막을 관통하기 위하여 종양세포들의 원형질돌기(pseudopodium)가 일어나면서 기저막의 부분적인 분해가 일어난 다음 종양세포는 완전히 혈관밖으로 나가게 되고, 파괴된 혈관에는 다시 혈액이 흐르게 된다. 세동맥에 침착된 종양세포들은 동맥내피의 수축이 일어나지 않을 경우에도 그런 상태로 2~3주씩 머물기도 한다. 이런 경우 동맥내의 종양세포들은 증식을 하여 종양집합체(colony)로 확대될 수 있다. 종양의 집합체로 커짐에 따라 내피에 대해 기계적인 손상을 일으키고, 이렇게 하여 기저막을 노출시키게 되므로 종양세포와 기초막간의 접촉이 일어나게 된다. 이렇게 되면 종양 덩어리의 표면에 있는 종양세포들이 기초막과 동맥벽의 탄력판(elastic lamina)을 통해 침투하게 되어 혈관 밖으로 나가게 된다.

2) 전이과정의 3단계

Liotta⁴⁾ 등은 전이과정을 그림 4와 같이 제안하였으며 그가 제한한 전이의 3단계중 첫번째 단계는 종양세포가 기저막에 부착되는 과정이다. 이 부착은 종양세포의 세포막 수용체와 기저막의 라미닌(laminin) 또는 세포외기질(extracellular matrix)의 파이브로넥틴(fibronectin)과 같은 특정 당단백질과의 결합에 의해 이루어 질 수 있다.

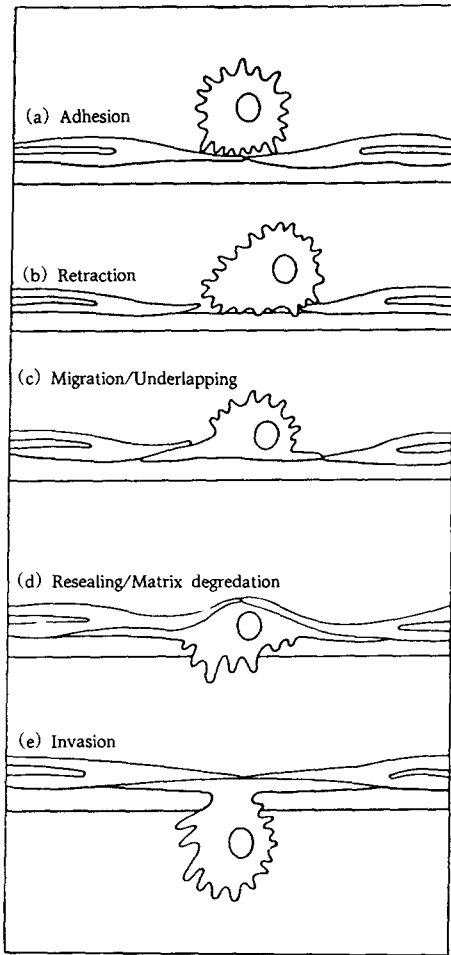


그림 3. 전이암세포의 혈관외 침투과정⁷⁵⁾.

- (a) 전이암세포가 내피세포 표면에 부착된다.
- (b) 내피세포의 수축
- (c) 기저막으로 이동
- (d) 기저막의 지엽적인 파괴와 내피세포 집합의 재형성
- (e) 주변조직으로의 침투

종양세포에 의한 부착(adhesion) 분자들은 파이버넥틴 외에도 라미닌, 타입 IV 콜라겐, 헤파란 설페이트, 프로테오글리칸, 비트로넥틴(vitronectin) 그리고 von willebrand factor 등이 알려져 있다. 그 외에도 기저막 성분은 아니지만 extracellular matrix component로서 전이암 세포들

과 결합하는 것으로 엘라스틴(elastin)과 히알루론산(hyaluronic acid)이 있다. 이렇게 부착이 된 후 두번째 단계는 종양 세포들이 가수분해 효소들을 스스로 분비하거나, 숙주세포로 하여금 분비하도록 하여 라미닌 같은 당단백질을 포함하여 기저막의 지엽적인 분해가 일어난다. 기저막의 분해는 종양세포 표면과 밀착된 극히 한정된 부위에서 일어날 것으로 추정하고 있다. 왜냐하면 분해를 일으키기 위해서는 혈관과 기저막에 존재하고 있는 단백질 분해효소 저해제 보다 많은 양의 분해효소들이 필요하기 때문이다. 이 단계에서 정상 세포나 양성종양 세포들은 기저막에 부착이 된 후 정지 상태로 유지되거나 분화과정으로 진행이 될 것이다(이에 관련된 효소들에 대해서는 표 1을 참조할 것). 세번째 단계는 단백질 분해작용에 의해 변형이 된 기저막 속으로 종양세포의 이동이 일어날 것이다. 이동의 방향은 숙주로 부터 분비된 화학유인 인자(chemotactic factor)나 종양세포 스스로가 분비한 이동인자(motility factor)에 의해 영향을 받을 것이며 기관의 실직조직(organ parenchyma) 또는 기저막 그 자체로부터 나온 화학유인 인자들은 전이의 기관 특이성에 영향을 미칠 것이다. 이런 세단계 과정의 반복에 의해 기저막을 통과하여 기질(matrix) 속으로의 침투가 계속 진행될 수 있을 것이다.

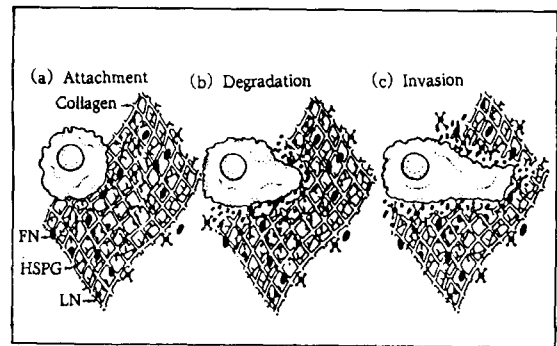


그림 4. 악성암세포의 3단계 전이과정^{7,75, 103)}.

FN, fibronectin ; HSPG, heparan sulfate proteoglycan ; LN, laminin.

2. 전이관련 효소

전이의 과정에서 암세포들은 간질 기질(interstitial stroma)이나 기저막과 같은 장애를 통과하여 조직간의 경

계를 관통하여야 하므로 이런 장벽의 주성분인 타입 I, II, III, IV, V 콜라젠, 파이브로넥틴, 프로테오글리칸(proteoglycan) 등을 분해시킬 수 있는 효소들의 활성을 필요로 한다. 실제로 다수의 악성종양조직에서 단백질 분해 효소들의 활성이 증가하고, 배양중의 종양세포에서도 이들 효소들이 분비된다고 알려졌다(표 2). 이런 효소들은 종양세포 자체뿐만 아니라, 숙주조직세포에서도 생성되므로, 악성종양에서 세포외기질을 분해시키기 위해서는 종양세포와 숙주세포 둘다에 있어서 단백질 분해 효소의 유전자들이 비정상적으로 발현이 되어야 하는 극히 복잡한 과정이다. 악성종양과 가장 밀접하게 관련되는 분해효소들은 콜라지나제, 플라즈미노젠 활성화인자(plasminogen activators), 카텝신(cathepsin), 프로테오글리카나제(proteoglycanase) 등이다. 그외에도 엘라스타제(elastase), 젤라티나제(gelatinase), 트랜신(또는 스트로멜리신)stromelysin) 등도 악성종양의 전이에 관련이 된 것으로 알려져 있다⁶⁾. 이러한 전이 과정에 관련된 분해효소들에 의해 기질이 분해되면 종양세포가 침윤할 수 있는 통로를 제공할 뿐 아니라, 분해된 기질 성분들, 예를 들면 콜라젠, 파이브로넥틴, 라미닌, 그리고 엘라스틴등이 종양세포의 이동에 대한 자극인자로서 작용하기도 하여 전이과정을 더욱 촉진하게 된다.

3. 전이 관련 유전자

여러가지 유전자 생성물들이 종양의 전이에 관여하리라는 것은 충분히 예상할 수 있으며 특히 수종의 암유전자들이 이 과정에 관계한다는 연구가 최근에 보고되었다^{7-11, 17, 33, 35-38)}. 이들 중 가장 신빙성이 있는 암유전자는 *H-ras*이다. 쥐(rat) 또는 생쥐(mouse)의 배(embryo)에서 유래한 섬유아세포(fibroblast)에 *ras*계열의 암유전자를 transfection방법에 의해 집어 넣으면 전이성을 나타내게 된다⁷⁻¹⁰⁾. 이들 세포에서 전이성의 증가는 면역세포들에 의한 파괴기능의 변화와는 무관함이 알려졌으며, 외부에서 들어간 *ras*의 활성화에 기인함이 밝혀졌다^{11, 12)}. 전이에 관련된 *H-ras* 암유전자에는 하나이상의 점 돌연변이(point mutation)가 발견이 된다¹³⁾. 그 중 T24 인간 방광암 세포주에서 분리된 *ras*에서는 돌연변이의 위치가 12번째 아미노산에 있음이 알려졌다. 이런 돌연변이가 없는 정상

표 2. 전이암세포의 분해 효소들⁷⁵⁾

Enzyme class/enzyme	Natural substrates
Serine proteases	
Tissue-type plasminogen activator	Fibrin, plasminogen
Urokinase-type plasminogen activator	Plasminogen
Cathepsin G	Laminin, fibronectin, HSPG, Col I
Cysteine proteinase	
Cathepsin B	Laminin, fibronectin, HSPG, Col I, IV, V
Cathepsin L	Laminin, fibronectin, HSPG, Col I, IV,
Cathepsin H	Laminin, fibronectin, HSPG, Col I
Aspartic proteinase	
Cathepsin D	Laminin, fibronectin, HSPG, Col I
Metalloproteinase	
Interstitial collagenase	Col I, II, III
Type IV collagenase	Col IV, V
Gelatinase	Gelatin, Col IV
Endoglycosidase	
Heparanase	HSPG side chains

Col, collagen ; HSPG, heparan sulfate proteoglycan.

ras 원발생암유전자(proto-oncogene)는 transfection을 시켜도 형질전환을 일으키지 않는다. 그러나 Chang 등¹⁴⁾에 의하면 *ras* 원발생암유전자를 바이러스 촉진자와 증진자에 결합시키면 *ras* 유전자의 정상적인 p21 단백질의 생성량이 증가되고 따라서 NIH-3T3 세포들을 형질전환시킬 수 있음을 보고 하였다. 그러나 전이는 돌연변이 *ras*에 의한 것이 훨씬 효율적임이 밝혀졌다^{7, 9)}. 즉 돌연변이된 p21 단백질이 아주 적을 경우에는 미약한 전이성종양을 일으키고 그 양이 어느 정도 될때는 강한 전이성 종양을 야기시킨다. 이에 비해 정상 p21 단백질의 양이 적거나 중간 정도일때는 종양을 생성시키고 아주 양이 많을 때에는 역

시 전이성종양을 일으킨다. Muschel 등⁷⁾에 의해 NIH-3T3 세포외에도 쥐피부세포(rat skin cell), 쥐근세포(rat muscle cell), 차이니즈 햄스터 폐 섬유아세포(chinese hamster lung fibroblast) 등도 *ras*에 의해 전이능력을 가지게 됨을 보고 하였다⁷⁾. 그리고 Pozzatti 등¹⁰⁾은 이배체의 쥐배세포 클론(diploid rat embryo cell clone)들을 *H-ras* 단독, 또는 SV-40 증진자에 연결한 *H-ras* 등으로 형질전환시켜서 nude mice에 주사한 결과 극히 전이성이 높음을 보고하였다. 따라서 *H-ras* 암유전자에 의한 전이의 유발은 NIH-3T3 세포에만 한정되지 않고, 다른 이배체세포들에도 적용됨을 알 수 있다. 또한 Collard 등³⁷⁾에 의해 돌연변이의 *ras* 암유전자를 T-림프종양(T-lymphoma) 세포에 집어 넣었을 때 이들 림프종세포들이 *H-ras*의 mRNA 양에 비례하여 전이성을 나타내었다. 그 외에도 유방암(breast carcinoma)에서 *ras* 생성물인 p21 단백질 양과 그 종양의 전이와 공격능력 사이에 상관관계가 있다고 보고되었다¹⁵⁾. 그러나 비전이성 쥐의 유방 선암(mouse mammary adenocarcinoma) 세포주인 SP1에 대해 칼슘-포스페이트 방법으로 *H-ras* 유전자를 transfection시켰을 경우 전이성 세포를 유발하지만 *H-ras* 유전자 없이 칼슘-포스페이트 방법 그 자체만으로도 전이성 세포로 변화시킬 수 있다는 보고¹⁶⁾도 있으므로, 세포주의 유전적 안정성에 따라 *ras* 암유전자의 생성물이 없어도 전이성 세포 주로 형질전환이 될 수 있다고 볼 수 있다.

그리고 *H-ras* 암유전자가 전이를 유발할 수 있는 능력은 세포 종류에 따라 다르다. 즉 C127쥐의 세포에 집어 넣었을 경우 종양세포로 변하나, 이를 nude mice에 주사하였을 때는 전이를 나타내지 않으며, 발암물질인 N-나이트로조 메틸우레아로 특정 스트레인(strain)의 쥐에 유두종(papilloma)와 유방 종양(mammary tumor)을 유발시키면^{17, 18)} 이들 종양의 대부분에서 *ras* 암유전자가 활성화되어있음을 볼 수 있으나 전이성을 나타내지는 않기 때문이다. 어떤 종양에서는 *H-ras* 암유전자만으로 전이를 일으킬 수 없는 경우가 있다. 따라서 이런 세포에서는 전이를 억제시킬 수 있는 인자나 기작이 있을 것으로 추정할 수 있다. 이런 예로서 아데노바이러스2 E1A 유전자를 들 수가 있다. 즉 Pozzatti 등¹⁰⁾에 의하면 E1A와 *ras*에 의해 동시에 형질전환시키면 비전이성 종양을 얻게 된다고 한다. 그러므로 E1A 유전자의 생성물인 12S RNA가 *ras* 작

용을 억제할 것으로 추정이 된다. 이런 결과로부터 정상 세포에는 *ras*를 비롯한 특정암유전자들이 야기시킬 수 있는 전이성 활성들을 억제할 수 있는 정상유전자가 존재함을 예측할 수 있다. *H-ras* 암유전자에 의한 전이유발기작은 확실하게 알려지지 않았으나, 여러 유전자들의 활성화를 유발시킬 것으로 예측된다. 왜냐하면 *H-ras*에 의해 형질전환된 세포들은 새로운 작용을 많이 나타내기 때문이다(표 3). 예를 들면 부착성(adhesiveness)의 증가, 전이와 관련이 된 세포표면 탄수화물의 변화¹⁹⁾, 이동성(motility), 그리고 조직속으로 침투할 수 있는 능력의 변화(타입 IV 콜라제나제 생성의 증가 등) 등을 들 수가 있다^{8, 19~22)}. *H-ras* 작용 기작에 대한 또 다른 설명으로는 *H-ras*의 transfection에 의해 유전적 또는 핵형(karyotypic)의 불안정성이 증가하여 전이성이 강한 새로운 변이세포들을 생성한다는 것이다²³⁾. 그 외의 설명으로는 *H-ras*가 전이와 관련된 유전자들의 인접부위에 선택적으로 삽입되었을 것으로 추정해 볼 수 있다. 그러나 현재까지의 결과에 의하면 이런 가정들이 적합치 않은 것으로 판단이 된다. 왜냐하면, *H-ras*에 의한 전이 암세포들의 핵형(karyotype)에서 변화가 없으며 특정부위에 삽입되었다는 증거가 없기 때문이다. 따라서 *ras* P21 단백질은 좀더 일반적인 경로를 거칠 것으로 보이고, 이런 경로로서 G 단백질을 경유한 신호전달계가 제안되기도 하였다^{20, 22, 25)}. 그외에 *H-ras* 암유전자에 의한 전이의 유발과정에 특정 종류의 콜라제나제(타입 IV)^{8, 24)}, 이동촉진 사이토카인(motility-stimulating cytokines)²⁰⁾ 등이 관련되어 있음이 밝혀지기도 하였다. 그리고 전이성 결장암(colon cancer)인 경우, 전이성

표 3. C-H-ras 암유전자의 transformation에 의한 전이성의 증가¹⁰⁰⁾

Cellular alteration

- Augmentation of type IV collagenase production
 - Induction of motility factors and their receptors
 - Hypothetical genetic instability leading to selection
 - Altered phosphatidylinositol pathway
 - B1~6 branching of Asn-linked oligosaccharides
 - Altered growth factor independence
-

을 획득하기 위해서는 5, 18, 17번 염색체를 비롯한 여러 염색체를 비롯한 여러 염색체들에 포함된 수종의 암억제 유전자들이 상실되면서 *ras* 암유전자의 활성화가 누적되어 일어나야한다. *H-ras* 이외에도 단백질 카이나제(protein kinase)를 생성하는 *mos*, *raf*, *src*, *fes* 그리고 *fms* 등의 암 유전자들도 전이를 일으킬 수 있음이 최근에 보고 되었으며²⁵⁾, 이 중 *src*, *fes*, *fms* 등은 *ras*와 같은 기작에 의하여 전이를 유발시킬 것으로 추정이 된다. 또한 인간 유방암(breast carcinoma)의 전이와 관련있는 암유전자는 HER-2/neu로서 이것의 증폭이 이 종류의 종양에서 보고되었다²⁶⁾. 이 암유전자는 *erb-B* 계통의 암유전자에 속한다. 그리고 *N-myc*일 경우에는 이 암유전자의 증폭과 신경아세포종(neuroblastoma)의 급속한 악성진행과 관련이 있음이 보고되었다²⁷⁾. 이 *N-myc*이 종양의 전이 및 공격성을 증가시키는 기작은 알려져 있지 않으며, 이 신경아세포종을 제외한 종양들의 전이와 *N-myc*의 증폭이 관련된 경우는 아직 알려져 있지 않다.

최근에 종양의 전이를 억제시키는 기능을 가진 유전자가 Steeg 등²⁸⁾에 의해 분리되었다. 이 유전자는 NM23으로 명명되었으며, 이를 동정하기 위하여 쥐의 배설유아세포(rat embryo fibroblast, REF) 세포주를 사용하였으며, 이 REF 세포에 *H-ras* 단독 또는 *H-ras*와 아데노바이러스2 E1A의 동시 transfection에 의해 각각 전이성이 높은 세포와 전이성이 없는 세포를 분리하였다. 전이성이 높은 REF 세포에서는 NM23 유전자의 발현이 낮고, 이와 반대로 전이성이 없는 REF 세포에서는 NM23 유전자의 발현이 전이성이 높은 세포보다 2~8배 정도 증가되어 있음이 밝혀졌다. 따라서 NM23 유전자가 전이 능력을 수반하는 악성종양상태로의 전환을 억제하는 항전이 유전자일 가능성이 Steeg 등에 의해 제시되었다. 그 후 NM23 유전자는 초파리의 *awd* 유전자와 동일한 것으로 판명이 되었고²⁹⁾, 이 유전자들은 세포-세포 communication과정의 신호전달에 관여를 하며, 조직의 정상적인 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 추정이 된다³⁰⁾. 뿐만아니라 NM23/*awd* 단백질의 아미노산 서열이 Dictyostelium, Myxococcus, rat에서 분리된 nucleoside diphosphate(NDP) kinase와 매우 유사하고, *awd* 단백질은 그 자체에 NDP kinase 활성도 있음이 확인 되었다³¹⁾. 이 NDP kinase는 microtubule의 assembly/disassembly 기능과 G 단백질을 통한 신호전달

기능등의 적어도 2가지 중요한 세포내 기능을 가지고 있다. 즉 NDP-kinase는 microtubule의 assembly에 필요한 GDP-GTP간의 transphosphorylation을 촉매하여 mitotic spindle formation과 cell locomotion 기작에 관계를 한다. 그러므로 전이성이 강한 암세포에서 발견되는 높은 빈도의 aneuploidy는 NDP kinase활성의 저하에 의한 비정상적인 mitosis에 기인할 것이라는 추정도 있다³⁰⁾. 그리고 G 단백질을 통한 신호전달과정에서는 transphosphorylation에 의해 GDP를 GTP로 전환시킨다음, 이 GTP를 G 단백질에 제공해 주는 역할을 하여 결과적으로 signal-coupling 단백질의 활성화를 일으키게 한다. 따라서 NDP kinase, 즉 NM23 단백질은 발암과정 또는 전이과정에서 어떤 조절 기능을 담당할 것으로 여겨진다³²⁾. 실제 종양과의 관련성은 인간유방암 등에서 연구가 되고 있으며, gene transfection 실험에 의해 NM23이 종양억제유전자로 작용한다는 것이 murine melanoma³³⁾에서 확인이 되었다.

4. 전이암의 혈관형성(Angiogenesis)

새로운 모세혈관이 증식하는 과정을 혈관형성이라 하고, 이 혈관형성은 상처가 치유될 때 일어나며 평상시에는 거의 일어나지 않는다. 그러나 종양은 새로운 혈관의 형성을 통해 필요한 영양분과 산소를 공급받아야 지속적인 증식이 가능하므로 계속 증식하는 종양은 혈관이 자신에 집중이 되도록 새로운 혈관형성을 계속 일으킨다³⁴⁾(그림 5). 이런 과정은 암세포의 전이가 일어나기 위해서 필요할 뿐만아니라, 전이성 암세포들이 목표조직에 도달한 다음에도 일어날 것이다.

종양세포들은 밀착된 세포의 형태에도 불구하고 계속 분열이 가능하고 세포증식에 따라 세포 밀도가 증가하여 산소공급이 여의치 않은 상태에서도 정상 세포에 비해 혐기성 대사(anaerobic metabolism)의 능력을 증가시킴으로써, 계속 증식을 일으킬 수 있다. 그러나 이런 능력에 의해 종양세포들은 직경이 수 mm의 크기까지 증식할 수 있으나, 그 이상의 증식은 혈관의 형성이 이루어져야 가능하다. 종양의 혈관생성 기능이 활성화가 되어 혈관과 연결이 되면 종양크기에 거의 제한이 없게 된다. 혈관이 아직 형성되지 않은 종양을 전혈관종(prevascular tumor)이라 하고,

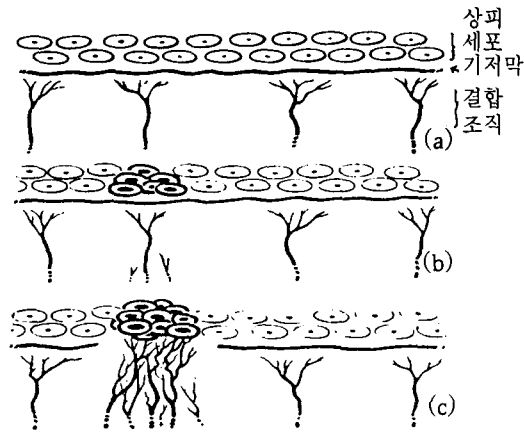


그림 5. (a) 상피세포, 기저막, 혈관 그리고 결합조직의 정상적인 배열. 이런 구조는 피부, 경관, 내장 그외 상피조직 등에 존재한다.

(b) 암의 초기단계. 이 단계에서는 종양세포들이 기저막 위에 존재하고, 새로운 혈관과의 연결은 이루어지지 않고 있다. 따라서 종양의 크기는 모세혈관에서 확산되어 나오는 영양분과 산소의 양에 의존한다.

(c) 악성암의 단계. 기저막의 지역적인 파괴와 더불어 종양과 모세혈관의 연결이 일어난다. 이때부터 종양의 크기가 급속히 증가하고, 전이도 일어난다⁹³⁾.

in situ 암종(carcinoma)이 여기에 속한다³⁴⁾. 이 때는 기저막 아래에 있는 혈관에서 확산되어 나오는 영양분과 산소에 의해 세포분열이 지속되지만, 영양분과 산소공급이 원활하지 못한 부분의 세포들은 떨어져 나가므로 그 크기는 수백만개의 세포들의 덩어리로서 한정이 된다. 그러나 종양아래의 기저막의 부분적인 분해와 더불어 혈관형성이 일어나면, 종양세포와 혈관과의 연결이 일어나게 된다(그림 5). 이렇게 된 종양을 혈관종(vascular tumor)이라 하고 이렇게 되면 종양 세포의 급속한 증식이 일어나고, 어떤 경우에는 전혈관 상태로 수개월동안 있던 종양이 혈관 신생(vascularize)이 된 후 불과 2주만에 16,000배로 크기가 증대된 경우도 있다³⁴⁾. 이 상태에서는 연결된 혈관속으로 종양세포들을 내 보낼 수 있으므로 전이를 일으킬

수 있고, 이미 전이된 종양에서는 또다른 전이를 일으킬 수 있다. 이런 과정을 거치는 종양으로 자궁경부암(cervix carcinoma), 흑색종, 결장암, 유방암, 방광암, 간암 등이 있다.

혈관생성의 과정은 다음과 같이 단계적으로 일어난다. 먼저 혈관형성 인자에 의해 혈관의 내피세포들이 자극을 받으면, 이 세포들을 부터 효소가 분비되어 혈관벽과 기저막을 분해시켜 내피세포가 관통할 수 있는 통로를 만들게 된다³⁴⁾. 이렇게 혈관을 빠져 나온 내피세포들은 종양이 분비하는 인자들에 의해 종양쪽으로 이동하기 시작한다. 종양 부위로 이동하면서 이 내피세포들은 도관을 형성하여 그 끝이 서로 연결이 되어 혈관이 흐를 수 있는 고리(loop)를 형성하게 된다. 그런 다음 이 고리로 부터 또 새로운 혈관형성과정이 반복되어 복잡한 모세혈관의 네트워크를 종양주변에 구성할 수 있다.

종양세포들이 혈관형성을 유발하기 위해서는 새로운 혈관의 형성을 자극시키는 화학적 신호물질들을 분비할 것으로 보인다³⁴⁾. 혈관을 이루고 있는 내피세포들은 체내에서 가장 느리게 분열하는 세포들로서, 교체 시간(turnover time)이 수년, 또는 어떤 조직에서는 10~30년이 걸리기도 한다. 그러나 혈관형성이 일어나면 혈관 내피세포들은 교체시간이 수일 정도인 골수(bone marrow) 세포와 거의 같은 정도까지 증식이 자극을 받게 된다. 현재까지 10여년 종류의 혈관 형성 인자(angiogenesis factor)들이 발견이 되었고 이들의 단백질의 구조와 기능상 특징등도 일부 밝혀졌다(표 4)^{35, 36)}. 이들 대부분은 단백질이며, 일부는 prostaglandin E1, E2같은 nicotinamide, 비타민등도 포함이 된다. 이들 대부분은 *in vitro*에서의 작용은 잘 알려지고 있으나, *in vivo*에서 tumor angiogenesis에서의 역할은 불분명하다. 이중 TNF α 와 말초혈액단구에서 분비되는 angiotropin은 활성화된 macrophage와 관련이 되어 상처치유, inflammation, 종양 발생에서의 혈관 신생에 관여되는 것으로 보고되어 있다³⁶⁾. TNF α 는 Folkman과 Klagsbrun³⁷⁾이 제안한 바에 의하면 혈액중으로 전달이 되어 혈관 내부에 존재하게 될때는 coagulation, hemorrhage, 그리고 괴사(necrosis)를 일으키고, 종양세포 또는 대식세포에 의해 생성이 된 후 혈관 외부에 있게 될 때는 혈관 내피세포의 이동과 혈관 신생을 유발시킨다고 하였다. 따라서 TNF α 는 체내에서 어디서 생기고, 어떤 경로로 이동하

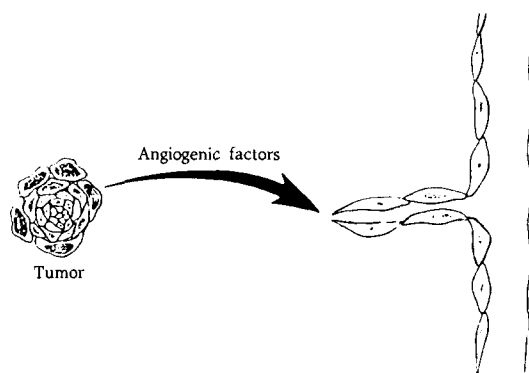
표 4. *Angiogenic molecules*

Angiogenin	Murine and human carcinomas, normal plasma
Angiotropin	Peripheral blood monocytes
Macrophage-derived factor	Macrophages
Epidermal growth factor(EGF)	Mouse parotid gland, saliva, urine, milk
Fibrin	Tumors, wound granulation tissue
Basic fibroblast growth factor(bFGF)	Broad distribution
Acidic fibroblast growth factor(bFGF)	Primarily neural tissue
Nicotinamide	Walker carcinoma
Platelet-derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF)	Platelets
Transforming growth factor α	Transformed fibroblasts, tumors, macrophages
Transforming growth factor β	Platelets, bone
Tumor necrosis factor α	Activated macrophages
Vascular endothelial growth factor	Tumors, Pituitary cells

n. t. = not tested.

느냐에 따라 종양에 대한 그 작용이 달라진다고 볼 수 있다. 그리고 섬유아세포 성장인자(FGF)에 대해서는 그 작용기작이 다음과 같이 알려져 있다^{35, 38)}. 즉, 종양세포가 FGF를 스스로 분비하기도 하고 대식세포를 유인하는 물질을 분비하여, 그 대식세포로 하여금 FGF를 분비하도록 하는 기작도 있다³⁴⁾. 이 FGF는 많은 종양세포에 존재할 뿐만 아니라, 여러종류의 정상조직에서도 발견이 되고 특히 뇌하수체(pituitary)인 경우는 500 μ g/kg까지 존재한다. 따라서 정상조직에 광범위하게 분포되어 있는 FGF는 왜 혈관 형성을 일으키지 않는가 하는 의문이 있을 수 있고 이에 대해 다음과 같이 설명이 되고 있다. 혈중에는

FGF가 검출되지 않으므로 FGF분자들이 세포내에 저장되어 있고, 이 중 염기성 FGF는 정상조직과 혈관의 기저막에 저장되어 있음이 알려졌다³⁴⁾. 따라서 조직이나 혈관이 손상을 입을 경우, 이렇게 저장된 FGF들이 유리되어 나와 비로서 혈관형성을 일으킬 것으로 보이므로, 종양세포들은 기저막을 분해시키는 효소들에 의해 기저막에 저장된 FGF를 분비시키는 것으로 추정이 된다^{39~41)}. 한편 혈관형성의 저해제도 발견이 되었으며 이중 혈액중에서 분리된 것은 부신(adrenal gland)에서 분비되는 코르티손(cortisone)의 조각이다. 이 코르티손은 혈압과 혈당을 조절하는 작용이 있고, 이것이 간에서 분해되면 테트라하이드로 코르티졸(tetrahydrocortisol)이 된다. 이 테트라하이드로 코르티졸은 코르티손의 기능은 상실하였으나, 최근에 혈관의 성장을 억제하는 작용이 있음이 알려졌다^{34, 42)}. 따라서 이를 혈관신생억제 스테로이드(angiostatic steroid)라 하고, 이의 작용은 헤파린에 의해 크게 증가가 된다. 실제 혈중에서 헤파린 또는 헤파린 유사물질이 혈관 신생억제 스테로이드와 더불어 혈관생장의 억제제로 작용함이 보고되었다³⁴⁾(그림 6). 이들의 작용기작에 대한 Ingber 등⁴³⁾의 연구에 의하면 계배의 CAM(Chorioallantoic membrane)에 스테로이드와 헤파린을 부여하면 혈관생성 부위의 기저막이 분해됨을 관찰하였고, 기저막이 혈관형성의 유지에 필수적이라는 사실에 의해 이들의 혈관 생성억제기작은 기저막의 파괴와 밀접한 관련이 있음을 보고하였다.

그림 6. 종양의 혈관 형성인자⁹³⁾.

종양에서 분비되어 나오는 혈관형성인자는 수 mm의 거리를 이동하여 새로운 모세혈관이 성장하도록 자극을 한다.

그외의 혈관생성억제제로는 hyaluronate가 알려졌고, 이 약물 역시 혈관내피세포와 extracellular matrix간의 상호작용에 손상을 줌으로써 이런 작용이 있을 것으로 추정된다⁴⁴⁾. 그외에도 Rastinejad 등⁴⁶⁾이 hamster에서 발견한 분자량 140kd의 당단백질이 혈관생성억제 기능이 있고, 이 기능은 항암유전자의 발현과 관련이 있음을 보고하였다(그림 7).

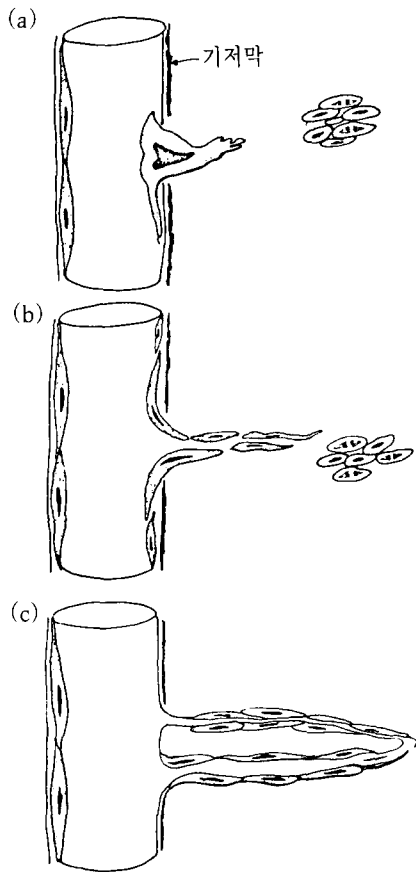


그림 7. 새로운 모세혈관형성의 과정⁹³⁾.

손상된 기저막을 통하여, 혈관내피세포들이 중앙 쪽으로 확산이 되고(a), 내피세포들이 지속적으로 이동하면서 도관을 형성하고(b), 두개의 도관이 서로 연결되어 혈액이동이 가능한 모세혈관 고리를 만든다(c).

참 고 문 헌

1. Folkman, J. & Handenschild, C. *Nature*. **288**, 551~556(1980).
2. Carr, I. *Cancer Met. Rev.* **2**, 307~319(1983).
3. Pauli, B. U., Schwartz, D. E., Thonar, E. J. M. & Kuttner, K. E. *Cancer Met. Rev.* **2**, 129~153(1983).
4. Liotta, L. A. *Cancer. Res.* **46**, 1~7(1986).
5. Weiss, L. *Principles of Metastasis*, pp96~133. Academic Press. Inc.(1985).
6. Tryggvason, K., Höyhty, M & Salo, T. *Biochem. Biophys. Acta.* **907**, 191~217(1987).
7. Muschel, R., Williams, J. E., Lowy, D. R., et al. *Am. J. Pathol.* **121**, 1(1985).
8. Thorgeirsson, U. P., Turpeennie-Hujanen, T., Williams, J. E. et al. *Mol. Cell. Biol.* **5**, 259(1985).
9. Egan, S. E., McClarty, G. A., Jarolim, L. et al. *Mol. Cell. Biol.* **7**, 830(1987).
10. Pozzatti, R., Muschel, R., Williams, J. et al. *Science.* **232**, 223(1986).
11. Bondy, G. P., Wilson, S., Chambers, A. F. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **82**, 3698(1985).
12. Liotta, L. A. *Oncogene induction of metastasis*, In *Metastasis*, Ciba Foundation Symposium **141**, pp 94~108 John Wiley & Sons(1988).
13. Hunter, T. *J. N. C. I.* **73**, 773(1984).
14. Chang, E. H., Furth, M. E., Scolnick, E. M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **78**, 3328(1981).
15. Liotta, L. A. *Breast Cancer Res. Treat.* **11**, 113~124(1988).
16. Kerber, R. S., Waghorne, C., Man, M. S., Elliott, B. & Breitman, M. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **84**, 1263~1267(1987).
17. Gullino, P. M., Pettigrew, N. M., Grantham, F. H. *J. N. C. I.* **54**, 401(1975).
18. Sukumar, S., Notairo, V., Martin-Zanca. et al. *Nature.* **306**, 658(1983).
19. Dennis, J. W., Laferte, S., Waghorne, C. et al. *Science*, **236**, 582(1987).

20. Liotta, L. A., Madler, R., Murano, G. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **83**, 3302(1986).
21. Stryer, L., Bourne, H. R. Annu. Rev. Cell. Biol. **2**, 291(1986).
22. Fleischman, L. F., Chahwala, S. B., Cantley, L. et al. Science, **231**, 407(1987).
23. Nicolson, G. L. Cancer Res. **47**, 1473~1487(1987).
24. Garbisa, S. E., Pozzatti, R., Muschel, R. J. et al. Cancer Res. **47**, 1523(1987).
25. Egan, S. E., Wright, J. A., Jarolim, L. et al. Science. **238**, 202(1987).
26. Slamon, D. J., Clark, G. M., Wong, S. G. et al. Science. **2235**, 177(1987).
27. Seeger, R. C., Brodeur, G. M., Sather, H. et al. N. Engl. J. Med. **313**, 1111(1985).
28. Steeg, P. C., Bevilacqua, G., Pzzatti, R., Liotta, L. A. & Sobel, M. E. Cancer Res. **48**, 6550~6554(1988).
29. Rosengard, A. M., Krutzsch, H. C., Shearn, A., Biggs, J. R., Barker, E., Margulies, I. M. K., King, C. R., Liotta, L. A. & Steeg, P. S. Nature **342**, 177~180(1989).
30. Liotta, L. A., Steeg, P. S. & Stetler-Stevenson, W. G. Cell **64**, 327~336(1991).
31. Biggs, J., Hersperger, E., Steeg, P. S., Liotta, L. A. & shearn, A. Cell **63**, 933~940(1990).
32. Liotta, L. A. & Stetler-Stevenson, W. G. Cancer Res. **51**, 5054~5059(1991).
33. Leone, A., Flatow, U., King, C. R., Snadeen, M. A., Margulies, I. M. K., Liotta, L. A. & Steeg, P. S. Cell **65**, 25(1991).
34. Folkman, J. Angiogenesis. In Cancer : The Outlaw Cell 2nd ed.(ed. Lafond, R. E.) American Chemical Society, Washington. D. C.(1988).
35. Folkman, J. & Klagsbrun, M. Science. **235**, 442~447(1987).
36. Blood, C. H. & Zetter, B. R. Biochem. Biophys. Acta. **1032**, 89~118(1990).
37. Folkman, J. & Klagslorum, M. Nature **329**, 442~447(1987).
38. Rafkin, D. D. & Klagsbrun, M. Angiogenesis. Mechanisms and Pathobiology in Current communications in Molecular Biology. Cold Spring Harbor Laboratory. New York(1987).
39. Faumenshaft, R., Moscatelli, D., Saksela, O. & Rifkin, D. B. J. Cell. Physiol. **140**, 75~81(1989).
40. rogelj, S., Klagsbrun, M., Atzman, R., Kurokawa, M., Haimovitz, A., Fuks, Z. & Vlodavsky, I. J. Cell Biol. **109**, 823~831(1989).
41. Bachkin, P., Doctrow, S., Klagsbrun, M., Svaahn, C. M., Folkman, J. & Vlodavvsky, I. Biochemistry **28**, 1737~1743(1989).
42. Crum, R., Szabo, S. & Folkman, J. Science. **230**, 1375~1378(1985).
43. Ingber, D. E., Madri, J. A. & Folkman, J. Endocrinology, **119**, 1768~1775(1987).
44. Feinberg, R. N. & Beebe, D. C. Science **220**, 1177~1179(1983).
46. Rastinejad, F., Polverini, P. J. & Bouck, N. P. Cell **56**, 345~355(1989).