Tuberculosis and Respiratory Diseases 결핵 및 호흡기질환, Vol. 52, No. 5, May, 2002

□원 저□

비소세포폐암에서 Matrix Metalloproteinase(MMPs)-2, 9와 Tissue Inhibitor of Metalloproteinase(TIMPs)-1, 2의 발현과 생존율과의 관계‡

원광대학교 의과대학 내과학교실

김학렬, 양세훈*, 정은택

= Abstract =

The Relationship Between Expression of Matrix Metalloproteinases(MMPs)-2, 9 and Tissue Inhibitors of Metalloproteinase(TIMPs)-1, 2 and Survival Time in Resected Non-Small Cell Lung Cancer

Hak Ryul Kim, M.D., Sei Hoon Yang, M.D., and Eun Taik Jeong, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Wonkwang University, Iksan, Korea

Background : Matrix metalloproteinases(MMPs) are a large family of proteolytic enzymes, which are involved in the degradation of many different components of the extracellular matrix. There is increasing evidence indicating that individual MMPs have important roles in tumor invasion and metastasis. A tissue inhibitor of metalloproteinase(TIMPs) has been reported to inhibit tumor invasion by inactivating the MMPs. In this study, the correlation between MMPs and TIMPs expression, and the clinical outcome was investigated.

Methods : Immunohistochemical staining of MMP-2, 9 and TIMP-1, 2 were performed on paraffin-embedded tumor sections from 74 resected primary non-small cell lung cancers.

Results : In 74 patients, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 immunoreactivity was demonstrated in 24 (34%), 19(26%), 27(36%) and 32(43%) of the paraffin-embedded tumors, respectively. The median survival of the MMP-2 positive cases was significantly shorter than that of the negative cases(20 vs 34 months). The median survival of the TIMP-2 positive cases was also was significantly longer than that of the negative

‡본 연구는 2000년도 원광대학교 교내 연구비 지원에 의해 이루어짐

Address for correspondence :
Sei-hoon Yang, M.D.
Department of Internal Medicine, Wonkwang University Hospital,
344-2 Shinyong-dong, Iksan, Jeonbuk, 570-711, Korea
Phone : 063-850-1078 Fax : 063-855-2025 E-mail : yshpul@wmc.wonkwang.ac.kr

cases (34 vs 18 months). The MMP-2, and MMP-9 expression level had a positively correlation with a more advanced stage and lymph node metastasis. There was inverse correlation between TIMP-2 expression and tumor invasion. The median survival of the MMP-2 negative/TIMP-2 positive cases was higher than that of the other cases.

Conclusion : These results suggest that tumor invasion and lymph node metastasis are closely related to MMP-2 and MMP-9 expression. There was an inverse correlation between TIMP-2 and MMP-9 expression, and tumor invasion. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2002, 52 : 453-462)

Key words : Non-small cell lung cancer, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, Survival time

서 론

폐암은 아직까지 예후가 나쁜 암에 속하며 2000년에는 암 사망율 1위를 차지하고 있다. 현재 폐암의 분자학적인 발생 기전은 아직 완전히 밝혀지지 않았으나 다른 종양에서와 마찬가지로 원인 인자들로 종양억제 유전자의 불활성화, 발암 유전자의 활성화 및 고사 조절유전자 등에 변화를 일으켜 세포 변형과 자발적으로 억제되지 않는 세포 성장을 일으키는 다단계 과정으로 알려져 있다[1].

또한 종양세포가 침윤 및 주위로의 전이에 있어 종양세포와 기저막의 상호작용이 중요한데 이 과정은 종양세포가 세포외 기질에 붙게 되고 이 기질의 단백 분해에 대한 결손이 생기게 되고 그 결손부위를 통해 종양세포가 이동하게 되는데 이 과정에 종양세포나 주변 간질세포에서 분비하는 여러 가지 단백 분해 효소가 관여하는 것으로 알려져 있다[2].

이 중에 세포외 기질 금속함유 단백질 분해효소 (Matrix Metalloproteinase, MMP)는 태생기 발달이나 면역세포의 이동 등과 같은 생리학적 상태에서, 류마티스 관절염 같은 병리상태에서 그리고 종양 전이의 주된 장벽인 기저막과 세포외 기질을 분해하여 암세포의 침습 및 전이에 주된 역할을 한다[3]. 이러한 MMP를 차단시키는 자연저해단백이 숙주나 종양세포 자체에서 생성되는데 이들 저해자는 전이저해 단백으로 세포외의 기질의 종양세포 침범을 저해하는데 관여하며 세포외 기질 금속함유 단백 분해효소 억제자 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase, TIMP)가 여기에 속한다[4].

MMP의 발현은 위암, 식도암, 유방암, 대장암, 전립선암, 췌장암, 폐암, 난소암 등에서 발현되는 것으로 알려져 있고 각각의 고형암에서 서로 다른 MMP가 발현되고 주위 림프절 전이 및 혈관 침범과 관계가 있으며, 종양에서 TIMP 발현은 전이를 억제하고 종양의 성장을 억제하는 것으로 알려져 있었으나 최근에는 예후가 나쁘다는 보고들이 있다[5].

폐암에서는 MMP-2, 9, stromelysin-1, 3, MT (membranous type)1-MMP, TIMP가 발현되는 것으로 알려져 있어 이에 저자들은 본원에서 비소세포 폐암으로 진단 받고 근치적 절제술을 시행 받은 환자의 조직에서 MMP-2, 9, TIMP-1, 2의 발현을 검색하였으며, MMP-2, 9, TIMP-1, 2 발현정도와 임상병기, 림프절전이에 따른 생존기간과의 관계를 분석하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1996년부터 2000년까지 본원에 내원하여 원발성 비소세포폐암으로 조직병리학적 진단 받은 후 근치 목적의 절제술을 받았던 환자 74명을 대상으로 하였다. 평균 연령은 63세, 남녀 비는 57 : 17였으며, 조직병리학적 분류는 편평상피암 47례, 선암 20례, 대세포

Table 1. Clinical Characteristics of the Patients

Age (mean, range)	63 (35-84)
Sex (male : female)	57 : 17
Histology	
Squamous cell carcinoma	47
Adenocarcinoma	20
Large cell carcinoma	7
TNM stage	
I	33
II	24
IIIA	17

암 7례였다. 병기는 TNM 방법(1997년 개정)으로 I 병기 33례, II 병기 24례, IIIA 병기 17례였다 (Table 1).

2. 방 법

수술한 환자의 모든 조직 슬라이드를 관찰하여 암종이 가장 깊숙히 침윤된 파라핀 포매 조직을 택하여 4㎛로 절편하여 5개의 슬라이드를 만들고 histoclear 용액으로 paraffin을 제거한 다음, 100%, 95%, 75%, 50% ethanol에 연속적으로 재수화시키고, 비특이적인 peroxidase 작용을 차단하기 위하여 3% H_2O_2로 처리한 후 증류수에 담근 다음 PBS(phosphate buffer saline)으로 세척하고, 비특이적 항체 결합을 막기 위하여 non-immune goat serum(5%, pH 7.6)으로 20분간 처리한 다음 Matrix Metalloproteinase (MMP)-2, 9와 Tissue Inhibitor of Metalloproteinase(TIMP)-1, 2일차 항체[mouse monoclonal antibody NEOMARKER and CHEMICON. CO, U.S.A.]를 40℃에서 반응시켰다. 이후의 반응은 면역조직 화학염색법의 공통적인 것으로서, biotin이 결합된 2차 항체를 작용시키고, avidin이 결합된 peroxidase reagent를 반응시키면 biotin과 avidin이 결합되어 Matrix Metalloproteinase(MMP)-2, 9와 Tissue Inhibitor of Metalloproteinase(TIMP)-1, 2

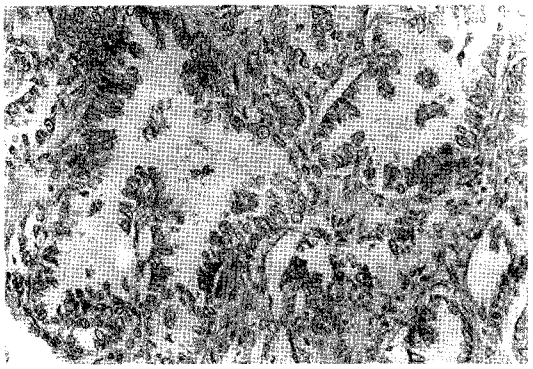

Fig. 1A. positive reaction to MMP-2 antigen stain in bronchioloalveolar carcinoma (Hematoxylin counterstain, 200X)

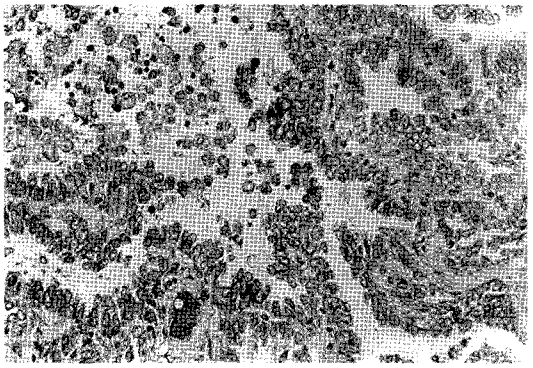

Fig. 1B. positive reaction to MMP-9 antigen stain in bronchioloalveolar carcinoma (Hematoxylin counterstain, 200X)

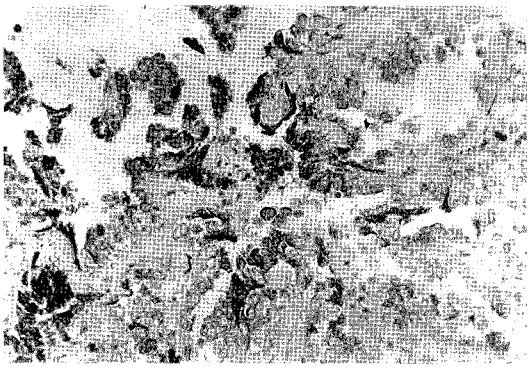

Fig. 1C. positive reaction to TIMP-1 antigen stain in adenocarcinoma (Hematoxylin counterstain, 200X)

Fig. 1D. positive reaction to TIMP-2 antigen stain in squamous cell carcinoma (Hematoxylin counterstain, 200X)

Table 2. Survival Time of Patients according to the Histology and TNM stage

	Median survival (months)
Histology*	
Squamous cell carcinoma	23
Adenocarcinoma	34
Large cell carcinoma	19
TNM stage**	
I	36
II	24
IIIA	13

Kaplan-Meier, Log-rank *:$p>0.05$, **:$p<0.05$

에 peroxidase가 부착된다. 여기에 3-amino-9-ethylcarbazole이 반응하여 갈색반응을 일으키게 한 후 Hematoxylin 염색으로 대조 염색시킨 후 Matrix Metalloproteinase(MMP)-2, 9와 Tissue Inhibitor of Metalloproteinase(TIMP)-1, 2의 발현을 확인하였다. Matrix Metalloproteinase(MMP)-2, 9와 Tissue Inhibitor of Metalloproteinase(TIMP)-1, 2의 발현은 2명의 숙련된 병리과 의사가 이중 맹검법(double blind method)으로 5개의 염색된 조직 슬라이드를 광학현미경 200배 하에서 여러 필드을 관찰하여 이중 가장 암세포가 많고 염색이 잘된 부위를 찾아 전체 암세포 중 세포질에서 과립상으로 염색이 확인된 MMP 와 TIMP가 발현된 암세포의 비율이 10% 미만인 경우는 음성, 10%이상인 경우는 양성으로 구분하였다(Fig. 1). MMP 와 TIMP 발현 정도에 따른 생존율과 폐암의 조직병리학적 분류, TNM병기, 림프절 전이에 따른 생존율은 Kaplan-Meier법으로 구하였으며, 각 군간의 생존율은 Log-rank로 비교하였고 $p<0.05$일 때 통계학적 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 병리 조직학적 분류 및 TNM 병기에 따른 생존율

전체 74례중 편평 상피암은 47례로 중간 생존기간은 23개월, 선암은 20례로 34개월, 대세포폐암은 7례로 19개월이었으나 각 군간의 유의한 생존율의 차이는 없었으며, TNM병기에 따른 중간 생존기간은 I 병기가 33례 36개월, II병기가 24례 24개월, IIIA가 17례 13개월로 각 군간의 유의한 차이를 보였다(Table 2).

2. 비소세포폐암조직에서 조직 병리학적 분류 및 TNM 병기에 따른 MMP-2, 9와 TIMP-1, 2항원의 발현 정도

총 74례중 MMP-2는 양성군이 34%(25/74례), 음성군이 66%(49/74례)였고, MMP-9은 26%(19/74례), 74%(55/74례), TIMP-1은 36%(27/74례), 64%(47/74례), TIMP-2는 43%(32/74례), 57%(42/74례)였다. TNM병기에 따른 MMP-2는 양성군이 I 병기 30%(10/33례), II병기 58%(14/24), IIIA 병기 71%(12/17)였고, MMP-9는 I 병기 33%(11/33례), II병기 71%(17/24), IIIA 병기 71%(12/17)로서 MMP-2, 9는 병기 상승에 따라 유의하게 발현이 증가되었고, TIMP-1는 I 병기

Table 3. Expression of MMP-2, 9 & TIMP-1, 2 according to TNM staging

	MMP-2*	MMP-9**	TIMP-1	TIMP-2***
Ⅰ(33)	10/33(30%)	11/33(33%)	13/33(39%)	19/33(58%)
Ⅱ(24)	14/24(58%)	17/24(71%)	7/24(29%)	10/24(42%)
ⅢA(17)	12/17(71%)	12/17(71%)	7/33(21%)	3/17(18%)

*, **, ***: $P<0.05$

Table 4. Expression of MMP-2, 9 & TIMP-1, 2 according to Lymph Node Metastasis

	MMP-2*	MMP-9**	TIMP-1	TIMP-2
N0	13/44(30%)	13/44(30%)	16/44(37%)	21/44(48%)
N1	10/19(53%)	13/19(68%)	6/19(31%)	8/19(42%)
N2	8/11(73%)	8/11(73%)	4/11(36%)	2/11(18%)

*, **: $P<0.05$

Table 5. Expression of MMP-2, 9 & TIMP-1, 2 according to Histological Cell Type

	MMP-2	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
Squa.(47)	12/47(26%)	8/47(17%)	17/47(36%)	19/47(40%)
Adeno(20)	10/20(50%)	8/20(40%)	8/20(40%)	10/20(50%)
Large(7)	3/7(43%)	3/7(43%)	2/7(28%)	3/7(43%)

39%(13/33례), Ⅱ병기 29%(7/24), ⅢA 병기 21%(7/33)였고, TIMP-2은 Ⅰ병기 58%(19/33례), Ⅱ병기 42%(10/24) ⅢA 병기 18%(3/17)로 병기상승에 따라 유의하게 발현이 감소하였다(Table 3). 특히 림파절 전이에 따른 발현은 MMP-2에서 양성군이 N0 30%(13/44례), N1 53%(10/19), N2 73%(8/11)였고, MMP-9는 N0 30%(13/44례), N1 68%(13/19), N2 73%(8/11)로 MMP-2, 9는 전이에 따라 유의하게 발현이 증가되었고, TIMP-1은 N0 37%(16/44례), N1 31%(6/19), N2 36%(4/11)였고, TIMP-2는 N0 48%(21/44례), N1 42%(8/19), N2 18%(2/11)로 유의한 발현의 차이는 없었다(Table 4). 또한 조직 병리학적 분류에 있어 MMP-2는 편평상피암에서 양성군이 26%(12/47례), 선암은 50%(10/20), 대세포암은 43%(3/7)였고, MMP-9는 편평상피세포암 17%(8/47례), 선암은 40%(8/20), 대세포암은 43%(3/7)로 유의한 발현의 차이는 없었고, TIMP-1는 편평상피암 36%(17/47례), 선암은 40%(8/20), 대세포암은 28%(2/7)였고, TIMP-2은 편평상피세포암 40%(19/47례), 선암은 50%(10/20), 대세포암은 43%(3/7)로 유의한 발현의 차이는 없었다. (Table 5).

3. 비소세포폐암조직에서 MMP-2, 9와 TIMP-1, 2 항원의 발현정도에 따른 생존율

MMP-2의 발현 정도에 따른 중간 생존 기간은 양성군이 20개월, 음성군이 34개월로 통계적으로 유의하게 음성군이 높았고, MMP-9은 양성군이 25개월, 음성군이 30개월로 음성군이 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 6). TIMP-1의 발현 정도에 따른 중간 생존 기간은 양성군이 34개월, 음성군이 19개월로 통계적 유의한 차이는 없었으나 양성군이

Table 6. Survival time of the patients according to expression of MMP-2, 9

	MMP-2		MMP-9	
	+	-	+	-
Median (Mo)	20*	34	25	30
Expression(%)	34		26	

*P<0.05

Table 7. Survival time of the patients according to expression of TIMP-1, 2

	TIMP-1		TIM-2	
	+	-	+	-
Median (Mo)	34	19	34*	28
Expression(%)	36		43	

*P<0.05

Table 8. Survival time of the patients according to expression of MMP-2/TIMP-2

TIMP-2 \ MMP-2	+	-
+	25mo♣	38*
-	19	13

♣Median *:P<0.05

음성군보다 양호하였으며, TIMP-2는 양성군이 34개월, 음성군이 28개월로 양성군이 통계적으로 유의하게 생존율이 높았다(Table 7).

4. 비소세포폐암조직에서 MMP-2/TIMP-2의 발현에 따른 생존율

MMP-2/TIMP-2에 대한 발현을 양성군/양성군, 음성군/양성군, 양성군/음성군, 음성군/음성군으로 나누어 생존율을 비교하면 양성군/양성군의 중앙 생존기간은 25개월, 음성군/양성군 38개월, 양성군/음성군 19개월, 음성군/음성군 13개월로 음성군/양성군에서 통계적으로 유의하게 생존율이 높았다(Table 8).

고 찰

Matrix metalloproteinase는 세포의 기질을 용해하는 효소로서[6] 체내에 존재하는 단백질 분해 효소의 한 가지로서 현재 20가지 이상의 효소가 밝혀져 있다. 이런 MMP는 세포외 기질 성분 중 적어도 한가지 이상을 분해시키며 Zn이온과 결합하는 catalytic domain을 공유하므로 chelating 약제에 의한 단백질 분해기능이 억제된다. 또한 비활성형(zymogen)으로 분비되어 활성화 과정을 거쳐 단백 분해능을 가지며, 공통의 아미노산 서열을 가진다[7]. MMP는 4가지 군으로 나뉘어지는데 collagen을 분해하는 collagenase, proteoglycan과 glycoprotein을 분해하는 stromelysin, gelatin을 분해하는 gelatinase, matrilysin으로 구분된다[8].

MMP는 정상인에서도 상처 치유, 임신과 분만[9], 골재생 및 유방퇴축과 같은 생리적 작용과 관절염과 다발성 경화증과 같은 비종양성 질환에도 관여하고 고형암의 전이나 침윤에 관여하는 것으로 알려져 있다[10-12].

MMP-2는 정상조직에서 가장 많이 생성되고 주로 기질세포에서 발현되며 MMP-7은 위장관 혹은 자궁내막의 선형 상피세포에서 주로 발현되고 MMP-9는 혈액 세포에서 발현된다 MMP는 일반적으로 암이 진행함에 따라 발현되는 종류와 수가 증가하고, 병기가 진행함에 따라 발현양이 증가하고, 종양이나 종양 주위의 간질 세포에서 주로 생성되고 MMP-2는 암조직에서 월등히 증가한다. 최근 암세포에서 발견된 MT-MMP는 침윤성 종양 주변의 간질조직에서 생성된 MMP-2를 활성화 시키는 것이 주된 기능으로 알려져 있다[9,13,14].

식도암에서 MMP-2, 3는 림파절의 전이와 혈관 침범과 밀접한 관계가 있고[15], MMP-1, 7의 발현은 예후가 불량하여 독립적인 예후인자로 보고되고 있다. 위암에서도 MMP-2, 9의 발현증가는 생존율이 불량하다는 보고도 있으나[16], 일부 보고는 종양의 병기나 림파절 전이와 관계가 없을 뿐 아니라 생존율과도 관계가 없다는 보고도 있다[17,18]. 대장암에서는 MMP-1

의 발현은 예후가 불량하고 MMP-2, 9 발현이 예후와의 관계는 상이한 결과를 보고하고 있다[19, 20].

전립선암에서는 MMP-2, 9이 발현되는데 이 중 MMP-9는 나쁜 예후를 시사한다고 하였으며[21], 유방암에서는 MMP-2와 stromelysin-3가 강하게 발현되며 독립적인 예후인자로 보고되고 있으며[22], 난소암에서 MMP-2, 9는 암세포의 침윤 및 전이와 밀접한 관계가 있다고 보고하였다.

Michael 등[23] 은 소세포 폐암에서 MMP-1, 9는 60-70%가, MMP-2, 3, 11, 13, 14는 70-100%가 발현되고, 이중에 MMP-3, 11, 14가 독립적인 불량 예후인자라고 보고하였고, Thomas 등[24] 은 115명의 수술한 비소세포폐암환자 조직에서 MMP-2, 9가 41%, 42%의 발현을 보였고, 선암이 편평상피암보다 MMP-1, 11, 13, 14가 각각 21%, 35%, 35%, 21%로 과발현됨을 보고하였으며 이러한 결과는 선암이 전신적 전이를 잘 하는 암세포라고 추측 할 수가 있다. 또한 Suzuki 등[25] 은 43명의 수술한 폐암환자 조직에서 MMP-2가 44%, MMP-9이 21%로 발현되고 MMP-2가 MMP-9보다 암세포 침윤에 중요한 역할이 있다고 보고하였다. Passlick 등[26] 은 수술한 비소세포폐암에서 MMP-2는 33%로 과발현되고, MMP-2 과발현군에서 짧은 생존기간을 보여 예후가 불량하다고 보고하였다. 본 연구에서도 MMP-2의 발현이 34%로 MMP-9보다 발현이 높았으며, MMP-2, 9의 발현군이 음성군에 비해 생존율이 낮아 예후가 불량함을 알 수 있었고, MMP-2는 유의하게 예후가 불량하였다. 또한 MMP-2, 9는 병기가 진행할수록 유의하게 발현이 증가되었으며, 림파절 전이가 진행할수록 발현이 증가하였다. 결론적으로 MMP-2, 9은 암세포의 침윤과 전이에 관여할 것이라고 본 연구에서도 확인 할 수 있었다.

MMP inhibitors는 크게 3가지로 분류되는데 chelating 하는 약제인 EDTA와 합성 peptide 그리고 TIMP가 있다. TIMP는 4가지 type이 발견되었으며[27], TIMP-1은 28kD으로 활성화된 collagenase을 억제하는 기능이 있으며 골, 난소에서 주로 발현되며, basic fibroblast growth factor, platelet-derived growth factor 등에 의해 fibroblast에서 발현이 증가하고 ras oncogene에 의해 간접적으로 조절된다[28, 29]. TIMP-2는 21kD으로 흑색세포종에서 처음으로 분리되었고, MMP-2의 억제제로서 주로 placenta에서 발현되며[30], TIMP-3는 24kD으로 유방암에서 분리되고 세포외 기질과 반응하며 주로, 신장, 뇌에서 발현된다[31]. TIMP-4는 22kD으로 심장에서 분리되었고 주로 암세포의 전이를 억제하는 것으로 알려져 있다[32]. 일반적으로 TIMP는 MMP의 활성 및 기능적 역할을 조절하여 침윤과 전이를 억제하는 것으로 알려져 있으나, 최근에는 전이에 밀접한 관계를 가지고 있다는 보고가 있어 다기능을 가진 물질로 보고하고 있다.

위암에서 TIMP-1이 전이를 억제하는 효과가 있다는 보고와 함께 임[18] 등은 MMP-2, 9의 발현이 증가한 림프절에서는 TIMP-1의 발현이 감소하였다고 보고하고 있지만[33], 최근의 연구 보고에서는 TIMP-1, 2의 발현과 병기, 조직학적 분류, 림프절 전이 정도, 생존율과는 관계가 없다는 보고도 있다[17]. 대장암에서는 TIMP-1, 2가 림프절 전이, 병기와 상관관계가 있고, 5년 생존율이 감소하였다고 보고하였고[34] 유방암에서도 역시 TIMP-1, 2의 발현은 림파절 전이 및 원격 전이와 밀접한 관계가 있다고 보고하였다. Michael 등[23] 은 4가지의 TIMP 중에 TIMP-2, 3이 87%, 74%로 높은 발현을 보였으나 병기에 따른 차이는 없었다고 보고하였다.

Thomas 등[24] 은 비소세포폐암에서 각각의 TIMP 발현은 45-51%로 비슷하였으나, TIMP-2의 발현이 편평상피암보다 선암에서 과발현되고, TIMP-1, 2는 1, 2병기보다 3, 4병기에서 과발현을 보여 진행된 폐암에서의 TIMP-1, 2는 예후인자로서의 역할을 보고하였고, Suzuki등[25] 은 TIMP-1, 2의 발현은 각각 35%, 67%로 TIMP-2가 높게 발현되었으며, TIMP-2의 발현은 진행된 폐암병기에서 유의하게 높게 발현되어 TIMP-2가 전이와 상관관계가 있음을 보고하였고, MMP와 TIMP사이에는 상관관계가 없

다고 보고하였다. 또한 Fong 등[35] 도 비소세포폐암에서 TIMP-1의 발현은 불량한 예후인자로 보고하고 있다. 본 연구에서는 TIMP-1, 2의 발현률은 각각 36%, 44%로 TIMP-2가 약간 높은 발현을 보였으며, 병기의 상승에 따른 TIMP-1, 2의 발현은 다른 보고와는 달리 감소하는 경향을 보였고, 특히 TIMP-2의 병기진행에 따른 발현은 통계적으로 유의하게 감소하였다. 림프절 전이에 따른 TIMP-2도 감소를 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 폐암 조직에서 MMP-2/TIMP-2의 발현에 따른 중앙생존기간을 비교해볼 때 양성/양성의 발현군보다 음성/양성의 발현군의 중앙 생존기간이 높아 MMP-2와 TIMP-2 발현이 밀접한 상관관계가 있을 것으로 사료된다. 결론적으로 비소세포폐암에서 MMP-2, 9의 발현은 불량한 예후를 보이고, TIMP-2의 발현은 MMP-2의 발현과 역비례 관계를 보여 폐암의 암세포 침윤과 전이에 있어 MMP inhibitor(MMPI)의 역할이 주목되고 향후 MMPI 의 개발이 활성화 될 것으로 사료된다.

요 약

연구배경 :

MMPs는 종양 전이의 주된 장벽인 기저막과 세포외 기질을 분해하여 암세포의 침습 및 전이에 주된 역할을 하며, TIMP는 MMP에 의한 기저막 단백질 분해를 억제하는 인자로 알려져있다. MMP의 발현은 임상 병기가 진행할수록 증가하며 주위 림프절 전이와 관계가 있으며, TIMP의 발현은 주위 림파절로 전이가 일어나면 감소 또는 증가하는 것으로 알려져 있다.

대상 및 방법 :

비소세포폐암으로 진단 받고 근치적 절제술을 시행 받은 74명 환자를 대상으로 paraffin에 보관된 조직에서 면역조직화학염색법을 이용하여 MMP-2, 9, TIMP-1, 2 항체로 발현을 검색하였으며, 발현에 따른 생존율을 Kaplan-Meier, Log-rank로 검색하였다.

결 과 :

MMP-2, 9의 발현은 각각 25/74례(34%), 19/74(26%)였고, TIMP-1, 2의 발현은 각각 27/74(36%), 32/74(43%)였다. 임상 병기에 따른 MMP-2, 9 발현은 병기의 진행에 따라 유의하게 증가하였고, TIMP-2는 유의하게 감소하였다. 임상 림프절의 전이에 따른 발현은 MMP-2, 9에서만 전이의 진행에 따라 유의하게 증가하였다 MMP-2 발현에 따른 중간 생존기간은 양성군이 20개월, 음성군이 34개월로 양성군이 유의하게 낮았으며, TIMP-2은 34개월, 18개월로 양성군이 유의하게 높았다. MMP-2/TIMP-2에 따른 중간 생존기간은 음성/양성이 유의하게 높았다.

결 론 :

MMP-2, 9 발현은 종양의 진행과 림프절의 전이에 관여할 것으로 사료되며, MMP-2와 TIMP-2의 발현은 역비례 관계가 있다.

참 고 문 헌

1. Pezzella F, Turley H, Kuzu I, Tungekar MF, Dunnill MS, Pierce CB, et al. Bcl-2 protein in non-small cell lung carcinoma. N Engl J Med 1993; 329:690-94.
2. Tryggvason K, H yhty M, Pyke C. Type Ⅳ collagenase in invasive tumors. Breast Cancer Res Treat 1993;24(3):209-18.
3. Ray JM. Stetler-Stevenson WG. The role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumor invasion, metastasis and angiogenesis. Eur Respir J 1994;7:2062-72.
4. Nakagawa T, Kubota T, Kabuto M, Sato K, Kawano H, Hayakawa T, et. al. Produciton of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 by human brain tumors. J Neurosurg 1994;81:69-77.
5. Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases

in tumour invasion and metastasis. J Pathol 1999;189:300-8.

6. Yurchenco PD, Schittny JC. Molecular architecture of basement membranes. FASEB J 1990;4: 1577-1590.
7. Woessner JF Jr : The matrix metalloproteinase family, in Parks WC, Mecham RP (eds) : Matrix Metalloproteinases. San Diego, CA, Academic Press, 1998,pp 1-14.
8. Birkel-Hansen H, Moore WGI, Bodden NK. Matix metalloproteinases. A Review. Crit Rev Oral Biol Med 1993;4:197-250.
9. Kinoh H, Sato H, Tsunezuka Y et al. MT-MMP, the cell surface activator of proMMP-2(pro-gelatinase A), is expressed with its substrate in mouse tissue during embryogenesis. J Cell Sci 1996;109:953-59.
10. Chambers AF, Matrisian LM. Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. J Natl Cancer Inst 1997;89:1260-70.
11. Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S, et al. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. Nature 1980;284:67-68.
12. Parsons SL, Watson S, Brown P, Collins H, Steele RJC. Matrix metalloproteinases. Br J Surg 1997;84:160-66.
13. Strongin AY, Collier IE, Bannikov G, et al. Mechanism of cell surface activation of 72-kDa type Ⅳ collagenase. Isolation of the activated form of the membrane metalloprotease. J Biol Chem 1995;270:5331-37.
14. Kn uper V, Will H, Lopez-Otin C, et al. Cellular mechanism for human procollagenase-3 (MMP-13) activation : Evidence that MT1-MMP(MMP-14) and gelatinase A (MMP-2) are able to generate active enzyme. J Biol Chem 1996;271: 17124-131.
15. Shima I, Sasaguri Y, Kusukawa J, et al. Production of matrix metalloproteinase-2 and metalloproteinase-3 related to malignant behaviour of esophageal carcinoma. Cancer 1992;70: 2747-53.
16. Sier CFM, Kubben FJGM, Ganesh S, et al. Tissue levels of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 are related to the overall survival of patients with gastric carcinoma. Br J Cancer 1996;74:413-17.
17. Murray GI, Duncan ME, Arbuckle E, Melvin WT. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer. Gut 1998;43:791-97.
18. 임성철. 위선암에서 세포외 기질 금속함유 단백분해효소(Matrix metalloproteinase)와억제인자의 발현. Cancer Res Treat 2001;33(3):199-206.
19. Murray GI, Duncan ME, O'Meil P, Melvin WT, Fothergill JE. Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in colorectal cancer. Nature Med 1996;2:461-62
20. Zeng ZS, Huang Y, Cohen AM, Guillem JG. Prediction of colorectal cancer relapse and survival via tissue RNA levels of matrix metalloproteinase -9. J Clin Oncol 1996;14:3133-40.
21. 심정원, 이영구, 이태진, 노재윤. 전립선 암에서 단백분해 효소의 발현 : MMP-2, -9, -3, -7의 면역조직화학염색. 대한암학회지 2000;32(3):629 -37.
22. Ahmad A, Hanby A, Dublin E, et al. Stromelysin-3 : an independent prognostic factor for relapse-free survival in node-positive breast cancer and demonstration of novel breast carcinoma cell expression. Am J Pathol 1998;152:721-28.
23. Michael M, Babic B, Khokha R, Tsao M, Ho J, Pintiline M, et al. Expression and prognos-

tic significance of metalloproteinases and their tissue inhibitors in patients with small-cell lung cancer. J Clin Onc. 1999;17-6:1802-1808

24. 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.
25. Suzuki M, Iizasa T, Fujisawa T, Baba M, Yamaguchi Y, Kimura H, et al. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases in non-small-cell lung cancer. Invasion Metastasis 1998/99;18:134-41.
26. Bernward P, Wulf S, Rita SH, Werner W, Olaf T, Wolf M, et al. Overexpressin of matrix metalloproteinase 2 predicts unfavorable outcome in early-stage non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2000;6:3944-48.
27. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. Eur J Cell Biol 1997; 74:111-22.
28. Denhardt DT, Feng B, Edwards DR, Cocuzzi ET, Malyankar UM. Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP, aka EPA) : structure, control of expression and biological functions. Pharmacol Ther 1993;59:329-41.
29. Tuck AB, Wilson SM, Khokha R, Chambers AF. Different patterns of gene expression in ras-resistant and ras-sensitive cells. J Natl Cancer Inst 1991;83:485-91.
30. Galis ZS, Sukhova GK, Libby P. Microscopic localization of active proteases by in situ zymography : detection of matrix metalloproteinase activity in vascular structure. FASEB J 1995;9:974-80.
31. Uria JA, Ferrando AA, Velasco G, Freije JMP, L pez-Otin C. Structure and expression in breast tumors of human TIMP-3, a new member of the metalloproteinase inhibitor family. Cancer Res 1994;54:2091-94.
32. Wang M, Liu YE, Green J, et al. Inhibition of tumour growth and metastasis of human breast cancer cells transfected with tissue inhibitor of metalloproteinase 4. Oncogene 1997;14:2767-74.
33. Wantanabe M, Takahashi Y, Ohta T, Mai M, Sasaki T, Seiki M. Inhibition of metastasis in human gastric cancer cells transfected with tissue inhibitor of metalloproteinase 1 gene in nude mice. Cancer 1996;77(Suppl):1676-80.
34. Murashige M, Miyahara M, Shiraishi N, Saito T, Kohno K, Kobayashi M. Enhanced expression of tissue inhibitors of metalloproteinases in human colorectal tumors. Jpn J Clin Oncol 1996;26:303-9.
35. Fong KM, Kida Y, Zimmerman PV, Smith PJ. TIMP1 and adverse prognosis in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 1996;2:1369-72.