

The Relationship between the Expression of Melanoma Differentiation-Associated Gene-7/Interleukin-24 (MDA-7/IL-24) and Clinicopathological Features in Colorectal Adenocarcinomas

Boram Seo¹, Young Seob Hong², Youngmin³ and Mee Sook Roh^{4,†}

¹Department of Pathology, Dong-A University Medical Center, Busan 602-715, Korea

²Department of Preventive Medicine, ³Department of Radiation Oncology, and ⁴Department of Pathology, Dong-A University College of Medicine, Busan 602-715, Korea

The melanoma differentiation-associated gene-7 (MDA-7) protein, also known as interleukin-24 (IL-24), is a novel candidate of tumor suppressor that can induce apoptosis experimentally in a variety of human malignant cells. However, there have been few studies about its role in colorectal cancer. We performed immunohistochemical detection of MDA-7/IL-24 in 399 tissue samples from primary colorectal adenocarcinoma patients using a tissue microarray. Western blotting was then done to confirm the immunohistochemical observations. MDA-7/IL-24 immunoreactivity was observed in 116 (29.1%) of the 399 colorectal adenocarcinoma cases. Analysis of the MDA-7/IL-24 expression by Western blotting confirmed the immunohistochemical results. The tumors with a negative MDA-7/IL-24 expression more frequently showed poor differentiation ($P=0.004$), lymph node metastasis ($P=0.001$), deep invasion ($P=0.008$) and high stage ($P=0.001$). A subset of colorectal adenocarcinoma revealed a decreased expression of MDA-7/IL-24, and this was associated with progressive pathologic features. These findings suggest that loss of MDA-7/IL-24 expression may play a role in tumor growth and progression of colorectal adenocarcinomas.

Key Words: MDA-7/IL-24, Colorectal adenocarcinoma, Immunohistochemistry, Clinicopathological feature

서 론

결직장암은 흔한 악성 종양 중 하나이며 전 세계적으로 암 관련 사망의 3번째 주된 원인이다(Parkin, 2001). 우리나라에서 결직장암은 서양에 비해 발생 빈도가 낮았으나 최근 식생활의 서구화 등으로 인해 발생이 급격하게 증가하고 있다. **2012년 통계청 통계에 따르면 결직장암은 현재 우리나라 암 사망률 4위의 종양이며 국내 전체 암 발생의 13.2%를 차지한다(Korean National Statistical Office. 2012 annual report on the cause of death statistic).**

결직장암의 98%는 샘암종이며 이는 결직장 정상 점막의 여러 단계에 걸친 세포의 유전적 변화 또는 후생유전학적 변화에 의해 발생한다(Fearon and Vogelstein, 1990). 지금까지 알려진 대표적인 결직장암 발생 기전은 염색체불안정성(chromosomal instability), 현미부수체불안정성(microsatellite instability), CpG island 메틸화 표현형(CpG island methylator phenotype) 등이 있다(Lee, 2009). 이와 같이 결직장암은 종양의 발생에 관여하는 유전학적 기전이 비교적 많이 알려져 있는 종양 중 하나이고, 많은 연구들이 분자생물학적 기전에 근거하여 다양한 종양 발생, 성장 및 예후인자를 제시하고 있으나, 그 확일적 적용에 대해서는 아직까지 논란이 있다. 우리나라 결직장암의 발생이 점차 증가하고 치료 생존율에 대한 관심도 증가하고 있어 결직장암의 생물학적 특징, 발생 과정, 치료 표적 및 예후인자에 대한 더 많은 추가적인 연구가 뒤따라야 할 것이다.

Melanoma differentiation-associated gene-7/Interleukin-24

*Received: August 16, 2012 / Revised: October 26, 2012
Accepted: November 14, 2012

†Corresponding author: Mee Sook Roh. Department of Pathology, Dong-A University College of Medicine 1,3-ga, Dongdaeshin-dong, Seo-gu, Busan 602-715, Korea.
Tel: +82-51-240-2833, Fax: +82-51-243-7396
e-mail: msroh@dau.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

(MDA-7/IL-24)는 흑색종 세포주에서 세포의 성장을 정지시키거나 말단 분화를 유도하며, 흑색종의 진행을 억제하는 역할을 가진 종양억제유전자로 Subtraction Hybridization 방법을 통해 클로닝 되었다(Jiang et al., 1995). MDA-7/IL-24는 원래는 MDA-7으로 불리었으나, 사이토카인인 IL-10과 그 구조 및 염색체의 위치가 유사하다는 특징을 근거로 MDA-7/IL-24로 새로이 명명되었다(Jiang et al., 1995). MDA-7/IL-24 유전자 단백질은 206개의 아미노산으로 구성되며 B 세포, 자연살해세포, 수지상세포, 단핵구, 멜라닌세포 등에서 발현된다고 보고되었다(Huang et al., 2001; Patani et al., 2010).

암세포에서 MDA-7/IL-24의 발현은 암세포의 비가역적인 성장억제와 말단 분화를 초래한다고 보고되었다(Jiang et al., 1996). 최근까지 발표된 논문들은 암세포에서 MDA-7/IL-24가 발현될 경우, 종양 치사와 세포자멸사를 유도하여 종양의 성장을 억제하는 것으로 보고하였지만, MDA-7/IL-24의 정확한 발현 조절 기전이나 암세포 선택력의 기전은 아직 밝혀지지 않았다(Ellerhorst et al., 2002; Yacoub et al., 2003; Fisher, 2005). 또한 본 저자들이 림프절 전이가 있는 직장암 환자에서 MDA-7/IL-24 발현과 환자의 예후인자와의 연관성을 분석한 연구(Choi et al., 2011) 외에는 우리나라 결직장 샘암종에서 MDA-7/IL-24 단백질 발현의 역할에 관한 연구는 아직 드문 실정이다.

이에 본 연구에서는 우리나라 결직장암 환자의 수술 절제 조직에서 면역조직화학 방법으로 MDA-7/IL-24 단백질 발현 정도를 알아보고 환자의 나이, 성별, 종양 크기, 분화도, 림프혈관 침범, 림프절 전이, 침윤 깊이, 병기 등 임상병리학적 특징에 따른 발현의 차이를 분석하여 MDA-7/IL-24의 결직장암종에서의 예후 및 치료 지표로서의 유용성을 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

연구재료

동아대학교 의료원에서 2002년부터 2007년까지 외과적으로 적절한 결직장암종 조직 중 병리과에서 결직장 샘암종으로 진단된 399예를 대상으로 하였으며, 본 연구의 수행 전 동아대학교 생명윤리심의위원회의 허가를 얻은 후 본 연구를 수행하였다. 수술 전에 방사선요법이나 화학요법을 받은 예는 연구대상에서 제외하였으며, 연구대상의 병리진단 보고서를 참고하고 보관된 조직 슬라이드를 재검토하였다. WHO 분류 방법(Bosman et al., 2010)에

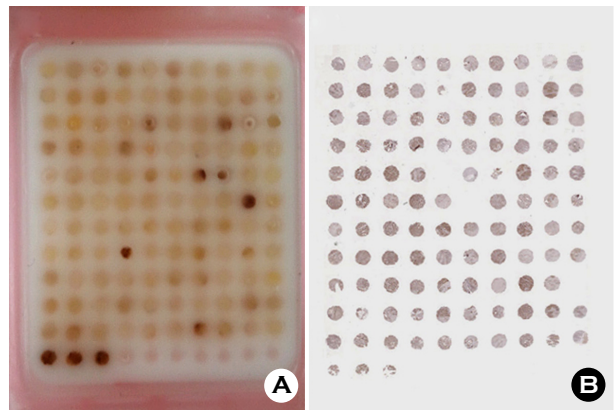


Fig. 1. Tissue microarray (TMA). (A) TMA paraffin block of colorectal adenocarcinoma; (B) Immunohistochemically stained TMA slide

의해 조직학적 유형을 분류하였고, 대상 환자의 의무기록 추적조사를 통해 나이, 성별, 종양 크기, 분화도, 림프혈관 침범, 림프절 전이, 침윤 깊이, AJCC 병기(American Joint Committee on Cancer, 2010) 등 임상병리학적 양상을 조사하였다.

조직 재배열(Tissue microarray)

현미경으로 조직 슬라이드를 검경 후 대표적인 파라핀 블록에 종양 부위를 표시했다. Quick-Ray™ array (UNITMA, Korea)를 이용하여 파라핀 블록으로부터 1 mm 직경의 원통형 조직(core)을 3~4 mm 길이로 떼어내어 조직 재배열 블록에 순서대로 이식하여 제작하였다 한 장의 슬라이드에 10열 11행의 총 110개의 조직 절편을 이식하였으며, 가장자리 12행은 대조군 블록에서 채취한 조직을 삽입하여 조직 채취 순서를 표시하였다(Fig. 1).

면역조직화학 염색

4 μm 두께로 절편된 조직을 100% xylene에서 탈파라핀하고 100%, 95%, 70% 알코올에서 차례대로 함수 과정을 거친 후 흐르는 물에서 10분간 씻어냈다. 항원성 회복을 위하여 pH 9.0 Tris-EDTA 용액으로 전자레인지에서 10분간 끓이는 전처리를 하였다. 조직 내의 내인성 과산화효소를 비활성화 시키기 위하여 실온에서 3% H₂O₂에서 10분간 반응시킨 후 Tris buffered saline (pH 7.4)로 세척하였다. 산양 다클론성 일차항체 MDA-7 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)를 1:200 희석하여 실온에서 한 시간 동안 반응시킨 후, biotinylated secondary antibody (DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA)에서 30

분간, streptavidin-HRP (DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA)에서 30분간 반응시켰다. 면역염색 후 3,3'-Diaminovenzidine로 발색시킨 후 Gill's hematoxylin으로 대조염색 하였다.

면역조직화학 염색 판독

MDA-7/IL-24는 세포의 세포질에 갈색 과립상으로 염색되었다. MDA-7/IL-24 발현 유무는 반정량적 분석을 시행하여, 100배 시야에서 염색되지 않은 경우 즉, 0%를 0점, 1~10%의 종양세포가 염색되는 경우 1점, 11~50% 2점, 51% 이상을 3점으로 하였다. 그리고 염색 강도에 따라 음성인 경우를 0점, 약양성인 경우를 1점, 강양성인 경우를 2점으로 분류하였다 최종적으로 염색 강도에 따른 점수와 분포 점수를 합하여 0~3점이면 MDA-7/IL-24 발현 음성, 4점 이상이면 MDA-7/IL-24 발현 양성으로 판정하였다.

웨스턴블롯 분석(Western blot analysis)

8예의 결직장 샘암종 조직(MDA-7/IL-24 양성 발현 4예, MDA-7/IL-24 음성 발현 4예)을 이용하여 Western blot을 시행하였다. Western blot을 위해 수술 후 20분 안에 정상 결직장 조직과 결직장암종 조직을 채취하여 실험을 진행할 때까지 영하 80℃에서 보관하였다. 냉동 보관된 조직을 단백 추출용액 PRO-PREP™ (iNtRON Biotechnology Inc., Korea)으로 용해시키고, 5분간 13,000 rpm에서 원심 분리하여 단백 추출을 얻었다. Bio-Rad Protein Assay kit를 사용하여 단백 농도를 측정하고 5분간 가열하여 변성시킨 후 단백질을 12% SDS-PAGE gel로 전기 영동하여 nitrocellulose 막에 전이시켰다. Blot을 blocking buffer (5% nonfat milk, Tris buffered saline pH 7.4)에서 1시간 반응시킨 후 일차항체 MDA-7 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)를 blocking buffer에 1:500 희석하여 4℃에서 24시간 반응시켰다. Anti β -actin (GeneTex, Irvine, CA, USA, 1:1,000 dilution)을 loading 대조군으로 사용하였다. 일차항체의 신호는 anti-goat IgG-HRP (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA, 1:5,000 dilution)에 의해 증폭시키고 enhanced Chemi-luminescence Plus (Amershan Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA)로 검출하여 반응을 확인하였다.

통계학적 분석

통계 처리는 SPSS (Version 14.0, SPSS Inc., Chicago, IL,

USA)을 이용하였다. 임상병리학적 변수에 따른 MDA-7/IL-24 단백 발현의 차이를 평가하기 위해서는 χ^2 검정방법을 사용하여 분석하였다. $P < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

임상병리학적 소견

총 399예의 환자 연령은 22세에서 84세(평균 연령: 60.8세)였고, 이 중 남성은 216명(54.1%), 여성은 183명(45.9%)이었다. 종양 크기가 5 cm 미만인 경우가 154예(38.6%), 5 cm 이상인 경우가 245예(61.4%)이었다. 분화 정도에 따라 나누면 고분화 257예(64.4%), 중등도분화 107예(26.8%), 저분화 24예(6.0%), 그 외 점액암종이 11예(2.8%)이었다. 림프혈관 침범 양성인 경우가 79예(19.8%), 음성인 경우가 320예(80.2%), 림프절 전이가 있는 경우가 185예(46.4%), 림프절 전이가 없는 경우가 214예(53.6%)이었다. 침윤 깊이에 따라서 점막 2예(0.5%), 점막하층 9예(2.3%), 근육층 46예(11.5%), 결직장 주위 조직에까지 침범한 경우가 342예(85.7%)였고, AJCC 병기별로 병기 I 51예(12.8%), 병기 II 162예(40.6%), 병기 III 173예(43.4%), 병기 IV 13예(3.2%)이었다.

면역조직화학 염색에 의한 MDA-7/IL-24의 발현

결직장 샘암종 조직에서 MDA-7/IL-24는 정상 점막세포 및 종양세포의 세포질에서 갈색 과립상으로 강하게 염색되었으며 핵에서는 발현이 관찰되지 않았다(Fig. 2). 염색 강도가 강한 종양세포에서는 거의 모든 세포가 균일하게 미만성으로 염색되었고 염색 강도가 약한 종양세포에서는 국소적으로 약하게 염색되어 염색 범위와 강도가 비례하는 양상을 나타내었다. 399예의 결직장 샘암종 조직에서 MDA-7/IL-24에 양성 발현을 보인 경우는 116예(29.1%), 음성 발현을 보인 경우는 283예(70.9%)이었다.

Western blot 분석

면역조직화학 염색 결과를 확인하기 위해 MDA-7/IL-24 양성 샘암종 4예, MDA-7/IL-24 음성 샘암종 4예로부터 추출한 동량의 lysate를 사용해 실시하였다. Western blot 분석은 MDA-7/IL-24 양성인 결직장암 조직이 MDA-7/IL-24 음성인 결직장암 조직과 비교해 MDA-7/IL-24 단백질 양이 더 강하게 발현되어, 면역조직화학 염색의 결과와 일치함을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

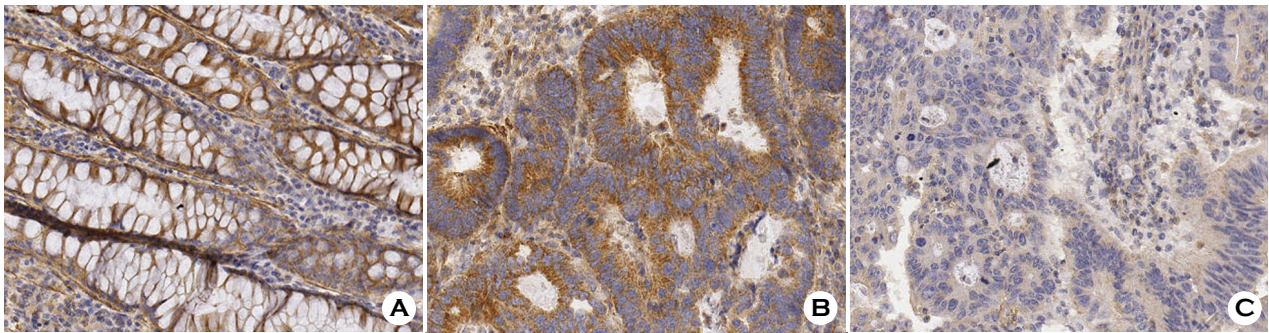


Fig. 2. Immunohistochemical findings of MDA-7/IL-24 in colorectal adenocarcinoma tissues. (A) In the normal colorectal mucosa tissue, the glandular epithelial cells were strongly positive for MDA-7/IL-24. (B) A well-differentiated adenocarcinoma showed strong positive expression of MDA-7/IL-24. (C) A poorly differentiated adenocarcinoma showed negative expression of MDA-7/IL-24 ($\times 200$)

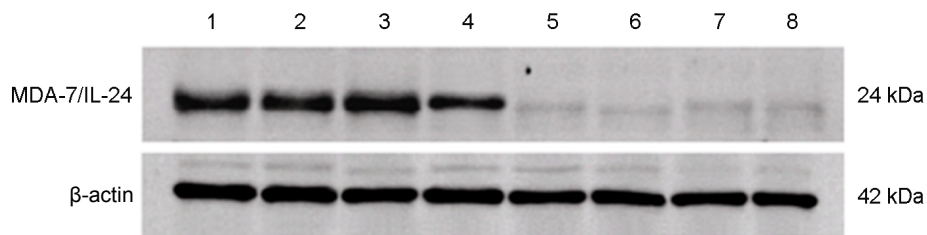


Fig. 3. Western blot detection of MDA-7/IL-24 in the tumor tissues with a positive MDA-7/IL-24 expression (lanes 1-4) compared with the tumor tissues with a negative MDA-7/IL-24 expression (lanes 5-8). Equal amounts of protein were loaded and separated on sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and subsequently transferred to a nitrocellulose membrane. Immunodetection was performed with anti MDA-7/IL-24 antibody. Anti β -actin antibody was used to control for equal loading. The Western blot analysis showed consistent results with the immunohistochemical study.

MDA-7/IL24 단백질 발현과 임상병리학적 인자의 상관관계

MDA-7/IL-24 발현과 임상병리학적 인자와의 상관관계는 Table 1에 요약하였다. MDA-7/IL-24 발현 빈도는 분화도가 나쁘고($P=0.004$), 림프절 전이가 있을수록($P=0.001$), 종양의 침윤 깊이가 깊을수록($P=0.008$), 또 AJCC 병기가 진행될수록($P=0.001$) 감소되어 통계적으로 유의한 차이를 보였으며 나이, 성별, 종양의 크기, 림프혈관 침범과는 연관성이 없었다($P>0.05$) (Table 1).

고 찰

본 연구에서는 MDA-7/IL-24의 발현이 결직장암의 진행 및 전이에 미치는 영향을 알아보기 위해 수술로 절제된 결직장 샘암종 조직에서 MDA-7/IL-24의 발현에 대해 면역조직화학 염색을 시행하여 결직장암 환자의 임상병리학적 여러 인자와의 관계에 대해 분석하였다. 연구 결과 전체 399예의 결직장 샘암종 중 116예(29.1%)에서

양성 발현을 보였고, 283예(70.9%) 음성 발현을 보였다. 분화도가 나쁠수록, 림프절 전이가 있을수록, 종양의 침윤 깊이가 깊을수록, AJCC 병기가 진행될수록 MDA-7/IL-24 단백질 발현 음성 빈도가 높아 결직장암 진행에 MDA-7/IL-24가 중요한 역할을 하는 것으로 추정되었다.

MDA-7/IL-24는 암 특이적 세포자멸사 유도 특성을 지닌 유전자로 알려져 있으며 많은 암종에서 항종양 활성이 보고되었다(Dumouties et al., 2001; Mhashilkar et al., 2001; Ellerhorst et al., 2002; Yacoub et al., 2003; Fisher, 2005; Ishikawa et al., 2005; Wang et al., 2006). 지금까지 보고된 여러 암종의 세포주를 이용한 연구에서, 신세포암종의 경우 GST (glutathione S-transferase)-MDA-7을 통한 MDA-7/IL-24 단백질 발현이 신세포암종의 증식을 억제시키는 것으로 보고하였으며 이 때 삼산화비소(arsenic trioxide)와 같은 자유라디칼을 발생시키는 약물과 함께 사용하면 그 효과가 상승한다고 밝혔다(Yacoub et al., 2003). 간세포암종의 경우에도 인간 간암세포주 HepG2에서 Ad-MDA7의 발현이 종양 특이적 세포자멸사와 성장억제를 활성

Table 1. The relationship between MDA-7/IL-24 protein expression and clinicopathological characteristics in 399 colorectal adenocarcinoma patients

Clinicopathological Characteristics	MDA-7/IL-24 expression		P value
	Negative (n=283, %)	Positive (n=116, %)	
Age			0.991
<60	118 (70.7)	49 (29.3)	
≥60	165 (71.1)	67 (28.9)	
Gender			0.138
Male	146 (67.6)	70 (32.4)	
Female	137 (74.9)	46 (25.1)	
Tumor size			0.284
<5 cm	104 (67.5)	50 (32.5)	
≥5 cm	179 (73.1)	66 (26.9)	
Differentiation			0.004
Well	170 (66.1)	87 (33.9)	
Moderate	80 (74.8)	27 (25.2)	
Poor	23 (95.8)	1 (4.2)	
Others	10 (90.9)	1 (9.1)	
Lymphovascular invasion			0.130
Negative	221 (69.1)	99 (30.9)	
Positive	62 (78.5)	17 (21.5)	
Lymph node metastasis			0.001
Negative	137 (64.0)	77 (36.0)	
Positive	146 (78.9)	39 (21.1)	
Invasion depth			0.008
Mucosa	0 (0)	2 (100)	
Submucosa	5 (55.6)	4 (44.4)	
Muscle	26 (56.5)	20 (43.5)	
>Pericorectal tissue	252 (73.7)	90 (26.3)	
AJCC stage			0.001
I	24 (47.1)	27 (52.9)	
II	112 (69.1)	50 (30.9)	
III	137 (79.2)	36 (20.8)	
IV	10 (76.9)	3 (23.1)	

화시킨다는 보고가 있다(Wang et al., 2006). 유방암의 경우 인간 유방암세포 MDA-MB-231을 이용한 연구에서 MDA-7/IL-24 단백질이 유방암세포의 운동성과 이동을 억제한다고 보고하였다(Patani et al., 2010). 이 외에도 전립선암, 자궁경부암, 섬유육종, 교모세포종 등의 종양세포에서 종양 치사와 세포자멸사를 유도하는 특이성을 보이는 것으로 보고되었다(Mhashilkar et al., 2001; Ellerhorst et

al., 2002; Fisher, 2005). 결직장 샘암종을 대상으로 한 본 연구에서도 병이 진행될수록 MDA-7/IL-24 단백질의 발현이 감소되는 양상이 관찰되었고 이는 MDA-7/IL-24의 발현이 종양세포 성장억제에 관여함을 시사하여 이전의 연구들과 일치함을 알 수 있었다.

유방암종을 대상으로 한 연구에서 면역조직화학 염색을 통해 정상세포에 비하여 암세포에서 MDA-7/IL-24의 단백질 발현이 감소함을 관찰하였고(Patani et al., 2010), 폐암의 경우에도 폐샘암종에서 MDA-7/IL-24의 단백질 발현이 좋은 예후와 관계가 있음을 보고하였다(Ishikawa et al., 2005). 이는 MDA-7/IL-24 단백질 발현 감소가 림프절 전이를 포함한 불리한 병리학적 변수들과 유의하게 관련이 있어 MDA-7/IL-24의 발현이 환자의 예후와 관련이 있을 것으로 추정되었던 본 연구 결과와 일치함을 알 수 있었고, 이는 MDA-7/IL-24 단백질 발현을 여러 암의 예후 지표로 사용할 수 있는 가능성을 제시해준다.

종양세포 내에서의 MDA-7/IL-24의 역할은 세포자멸사 유도, 정상과 암세포의 구별, 강력한 방관자(bystander) 항종양 활성, 면역 조절 활성 및 항 혈관형성 작용, 방사선 요법에 대한 상승작용을 포함한 다양한 작용들이 밝혀져 있다(Mhashilkar et al., 2001; Ellerhorst et al., 2002; Fisher, 2005). 그러나 MDA-7/IL-24의 항종양 활성, 종양 선택력의 기전은 아직 완전히 밝혀지지 않는 것이다. MDA-7/IL-24의 선택적 종양억제기능은 분비(세포 외), 비분비(세포 내) 경로 모두를 통해 이루어진다고 보여진다(Sauane et al., 2004; Su et al., 2005). 분비형 MDA-7/IL-24는 다른 사이토카인과 유사한 기능을 가지고 있어, IL-20R1/IL-20R2 또는 IL-22R1/IL-20R2를 포함한 세포표면 수용체를 통해 작용한다고 알려져 있다. 사이토카인은 수용체에 결합하여 수용체에 위치한 Janus Kinases (JAK)를 활성화시키고 활성화된 JAK에 의해 수용체의 여러 티로신 잔기가 인산화 된다. Signal transducers and activators of transcription (STAT)와 같은 세포질 내 단백질이 JAK에 의해 인산화된 후 활성화된 STAT가 heterodimer 형태로 핵 내로 들어가 target gene의 전사를 증가시킨다(Dumouties et al., 2001). 사이토카인으로 작용하는 분비형 MDA-7/IL-24는 이 JAK/STAT 경로를 통하여 종양혈관생성 억제, 면역반응 조절 및 세포성장 지연에 관여하는 유전자를 발현시켜 종양생성억제 기능을 하는 것으로 추정된다(Lebedeva et al., 2008).

분비형 MDA-7/IL-24의 수용체 활성화는 JAK/STAT 신호 전달 통로와 연관이 되지만, MDA-7/IL-24의 특이적 종양

억제기능이 이 경로에 완전히 의존하는 것은 아니라고 밝혀졌다(Sauane et al., 2003). 비분비형 MDA-7/IL-24의 세포 내 활성은 세포막 수용체 비의존 방식으로 이루어지며, MDA-7/IL-24와 ER 샤페론과의 상호작용으로 ER 스트레스 반응에 관련된 여러 유전자들의 유도에 의해 항세포자멸사 단백질 발현 감소로 이어진다고 보고되었다(Su et al., 2003; Gupta et al., 2006). 이러한 비분비 형태의 MDA-7/IL-24는 세포자멸사를 초래하는 여러 신호조절 기전에 영향을 주어 종양 특이적 종양억제기능을 나타낸다.

한편 MDA-7/IL-24의 치료 표적인자로서의 가치가 연구되고 있다. Ad.MDA-7은 동물실험에서 화학요법, 생물학적요법, 방사선요법과 결합하여 부가적 상승작용을 일으킨다고 밝혀졌다(Chada et al., 2006). 현재 Ad.MDA-7의 안정성과 효능은 흑색종을 포함한 여러 고형암의 종양 내 주입을 통한 제1상 임상시험에서 입증되고 있다(Cunningham et al., 2005; Tong et al., 2005). 선택적이고 빠른 종양세포 살해능력 그리고 방관자 종양억제 활성을 가지는 분비형 MDA-7/IL-24의 생산 등은 Ad.MDA-7이 항암유전자치료에 사용될 수 있는 가능성을 제시하였다(Mhashilkar et al., 2001). 하지만 발현 조절 기전에 대한 완전한 이해와 미래의 치료제로서의 적용을 위해 더 많은 연구가 계속되어야 할 것이다.

결론적으로 본 연구에서는 399예의 많은 증례의 결직장 샘암종에서 MDA-7/IL-24의 발현 소실이 불량한 예후 지표와 관련 있으며, MDA-7/IL-24의 면역조직화학적 검출이 결직장암의 예후과악에 유용한 정보로 이용될 수 있음을 증명하였다. 하지만 MDA-7/IL-24 단백질 대장암 환자의 치료 표적인자로서 사용이 가능한지를 입증하고 예후를 예측할 수 있는 지표로 이용되기 위해서는 MDA-7/IL-24 단백질 발현에 따른 생존 분석과 함께 MDA-7/IL-24 단백질 발현의 조절 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 동아대학교 교내연구비 지원에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

American Joint Committee on Cancer. AJC cancer staging manual. 7th edition. New York: Springer; 2010.

Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system. Lyon: IARC Press; 2010.

Chada S, Mhashilkar AM, Liu Y, Nishikawa T, Bocangel D, Zheng M, Vorbuerger SA, Pataer A, Swisher SG, Ramesh R, Kawase K, Meyn RE, Hunt KK. Mda-7 gene transfer sensitizes breast carcinoma cells to chemotherapy, biologic therapies and radiotherapy: correlation with expression of bcl-2 family members. *Cancer Gene Ther.* 2006. 13: 490-502.

Choi YM, Roh MS, Hong YS, Lee HS, Hur WJ. Interleukin-24 is correlated with differentiation and lymph node numbers in rectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2011. 17: 1-7.

Cunningham CC, Chada S, Merritt JA, Tong A, Senzer N, Zhang Y, Mhashilkar A, Parker K, Vukelia S, Richards D, Hood J, Coffee K, Nemunaitis J. Clinical and local biological effects of and intratumoral injection of mda-7 (IL24; INGN 241) in patients with advanced carcinoma: a phase I study. *Mol Ther.* 2005. 11: 149-159.

Dumouties L, Leemans C, Lejeune D, Kotenko SV, Renauld JC. Cutting edge: STAT activation by IL-19, IL-20 and mda-7 through IL-20 receptor complexes of two types. *J Immunol.* 2001. 167: 3545-3549.

Ellerhorst JA, Prieto VG, Ekmekcioglu S, Broemeling L, Yekell S, Chada S, Grimm EA. Loss of MDA-7 expression with progression of melanoma. *J Clin Oncol.* 2002. 20: 1069-1074.

Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* 1990. 61: 759-767.

Fisher PB. Is mda-7/IL-24 a 'magic bullet' for cancer? *Cancer Res.* 2005. 65: 10128-10138.

Gupta P, Walter MR, Su ZZ, Lebedeva IV, Emdad L, Randolph A, Valerie K, Sarkar D, Fisher PB. BiP/GRP78 is an intracellular target for MDA-7/IL-24 induction of cancer-specific apoptosis. *Cancer Res.* 2006. 66: 8182-8191.

Huang EY, Madireddi MT, Gopalkrishnan RV, Leszczyniecka M, Su Z, Lebedeva IV, Kang D, Jiang H, Lin JJ, Alexandre D, Chen Y, Vozhilla N, Mei MX, Christiansen KA, Sivo F, Goldstein NI, Mhashilkar AB, Chada S, Huberman E, Pestka S, Fisher PB. Genomic structure, chromosomal localization and expression profile of a novel melanoma differentiation associated (mda-7) gene with cancer specific growth suppressing and apoptosis inducing properties. *Oncogene.* 2001. 48: 7051-7063.

Ishikawa S, Nakagawa T, Miyahara R, Kawano Y, Takenaka K, Yangihara K, Otake Y, Katakura H, Wada H, Tanaka F. Expression of MDA-7/IL-24 and its clinical significance in

- resected non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2005. 11: 1198-1202.
- Jiang H, Lin JJ, Su ZZ, Goldstein NI, Fisher PB. Subtraction hybridization-identifies a novel melanoma differentiation associated gene, mda-7 modulated during human melanoma differentiation, growth and progression. *Oncogene.* 1995. 11: 2477-2486.
- Jiang H, Su ZZ, Lin JJ, Goldstein NI, Young CS, Fisher PB. The melanoma differentiation associated gene mda-7 suppresses cancer cell growth. *Proc Natl Acad Sci.* 1996. 9160-9165.
- Lebedeva IV, Su ZZ, Vozhilla N, Chatman L, Sarkar D, Dent P, Athar M, Fisher PB. Mechanism of in vitro pancreatic cancer cell growth inhibition by melanoma differentiation-associated gene-7/interleukin-24 and perillyl alcohol. *Cancer Res.* 2008. 68: 7439-7447.
- Lee KY. Genomic instability in colorectal cancer; from Bench to Bed. *J Korean Soc Coloproctol.* 2009. 25: 129-138.
- Mhashilkar AM, Schrock RD, Hindi M, Liao J, Sieger K, Kourouma F, Zou-Yang XH, Onishi E, Takh O, Vedvick TS, Fanger G, Stewart L, Watson GJ, Snary D, Fisher PB, Saeki T, Roth JA, Ramesh R, Chada S. Melanoma differentiation associated gene-7 (mda-7): a novel anti-tumor gene for cancer gene therapy. *Mol Med.* 2001. 7: 271-282.
- Korean National Statistical Office. 2012 annual report on the cause of death statistic. Available at <http://www.kostat.go.kr/portal/korea> [accessed on 11 October 2012]**
- Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol.* 2001. 2: 533-543.
- Patani N, Douglas-Jones A, Mansel R, Jian W, Mokbel K. Tumour suppressor function of MDA-7/IL-24 in human breast cancer. *Cancer Cell Int.* 2010. 10: 29.
- Sauane M, Gopalkrishnan RV, Lebedeva IV, Mei MX, Sarkar D, Su ZZ, Kang DC, Dent P, Pestka S, Fisher PB. Mda-7/IL-24 induces apoptosis of diverse cancer cell lines through JAK/STAT-independent pathways. *J Cell Physiol.* 2003. 196: 334-345.
- Sauane M, Lebedeva IV, Su ZZ, Choo HT, Randolph A, Valerie K, Dent P, Gopalkrishnan RV, Fisher PB. Melanoma differentiation associated gene-7/interleukin-24 promotes tumor cell-specific apoptosis through both secretory and nonsecretory pathways. *Cancer Res.* 2004. 64: 2988-2993.
- Su ZZ, Lebedeva IV, Sarkar D, Gopalkrishnan RV, Sauane M, Sigmon C, Yacoub A, Valerie K, Dent P, Fisher PB. Melanoma differentiation associated gene-7, mda-7/IL-24, selectively induces growth suppression, apoptosis and radiosensitization in malignant gliomas in a p53-independent manner. *Oncogene.* 2003. 22: 1164-1180.
- Su ZZ, Emdad L, Sauane M, Lebedeva IV, Sarkar D, Gupta P, James CD, Randolph A, Valerie K, Walter MR, Dent P, Fisher PB. Unique aspects of mda-7/IL-24 antitumor bystander activity: establishing a role for secretion of MDA-7/IL-24 protein by normal cells. *Oncogene.* 2005. 51: 7552-7566.
- Tong AW, Nemunaitis J, Su D, Zhang Y, Cunningham C, Senzer N, Netto G, Rich D, Mhashilkar A, Parker K, Coffee K, Ramesh R, Ekmekcioglu S, Grimm EA, Van Wart Hood J, Merritt J, Chada S. Intratumoral injection of INGN 241, a nonreplicating adenovector expressing the melanoma-differentiation associated gene-7 (mda-7/IL24): biologic outcome in advanced cancer patients. *Mol Ther.* 2005. 11: 160-172.
- Wang CJ, Xue XB, Yi JL, Chen K, Zheng JW, Wang J, Zeng JP, Xu RH. Melanoma differentiation-associated gene-7, MDA-7/IL-24, selectively induces growth suppression, apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 by replication-incompetent adenovirus vector. *World J Gastroenterol.* 2006. 12: 1774-1779.
- Yacoub A, Mitchell C, Brannon J, Rosenberg E, Qiao L, McKinstry R, Linehan WM, Su ZS, Sarkar D, Lebedeva IV, Valerie K, Gopalkrishnan RV, Grant S, Fisher PB, Dent PL. MDA-7 (interleukin-24) inhibits the proliferation of renal carcinoma cells and interacts with free radicals to promote cell death and loss of reproductive capacity. *Mol Cancer Ther.* 2003. 2: 623-632.