

THE CLINICOPATHOLOGICAL RELEVANCE FOR THE EXPRESSION OF SECRETED PROTEIN ACIDIC AND RICH IN CYSTEINE IN EPITHELIAL OVARIAN TUMORS

Sang-Il Park, MD¹, Eui-Don Lee, MD¹, Dong Soo Suh, MD², Ki Hyung Kim, MD², Man Soo Yoon, MD²

Department of Gynecology Oncology, ¹Dongnam Institute of Radiological and Medical Sciences (DIRAMS) Cancer Center; ²Pusan National University School of Medicine, Busan, Korea

Objective

Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) is an extracellular matrix-associated protein implicated in the modulation of cell adhesion, migration, cell cycle regulation, and angiogenesis. It has been associated with the progression or suppression of various cancers. This study was aimed at correlating SPARC protein expression with tumor progression and clinicopathological features in ovarian epithelial tumors.

Methods

Epithelial ovarian cancer (n=69), borderline tumor (n=18), benign tumor (n=10) and normal ovary tissues were obtained after operation. SPARC protein expression was examined using immunohistochemistry. With a retrospective review, patients' characteristics and slide samples were analyzed.

Results

Cytoplasmic SPARC immunoreactivity was observed in stromal cells in nearly all cases of normal ovary, benign and borderline tumors (100%, 94.7%, and 100%). In contrast, SPARC was detected in the stroma of 63.8% (44/69) and the score of immunoreactivity was significantly reduced in malignant tumors ($P<0.001$). SPARC expression in ovarian epithelial cancers was significantly associated with International Federation of Gynecology and Obstetrics stage. However, it was not correlated with other clinicopathologic parameters, including histologic type, tumor grade, nuclear grade, mitosis, tumor size, local recurrence, distant metastasis, and survival.

Conclusion

This study showed that reduction of SPARC expression in ovarian epithelial tumors is significantly correlated with tumor invasiveness and SPARC may act as tumor suppressor.

Keywords: Epithelial ovarian tumor; Secreted protein acidic and rich in cysteine

난소종양은 여성 생식기계 종양의 약 30%를 차지하는데, 그중 상피성 난소암은 가장 치명적인 부인과암으로 전체 여성암의 약 4~5%를 차지한다[1]. 상피성 난소암은 대개 초기에 증상이 없어 2/3 이상에서 진행 병기(advanced stage)로 발견되고, 최근의 치료기술의 발달에도 불구하고 진행 병기의 상피성 난소암의 경우 5년 생존율이 20~30%에 불과하다[2]. International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) 병기, 종양의 분화도 복수의 유무, 용적축소수술(debulking surgery) 후 잔류종양의 크기 등이 알려진 예후인자이지만, 종양의 생물학적 행동(biologic behavior)을 예측하는 데 부족하다. 따라서, 최근에는 난소암의 분자생물학적 발병기전을 이해하여 좀 더 민감하고 민

Received: 2011. 6. 9. Revised: 2011. 9. 2. Accepted: 2011.10.11.

Corresponding author: Man Soo Yoon, MD

Department of Obstetrics and Gynecology, Pusan National University School of Medicine, Ami-dong 1-ga, Seo-gu, Busan 602-739, Korea

Tel: +82-51-240-7284 Fax: +82-51-248-2384

E-mail: msyoon@pusan.ac.kr

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2011. Korean Society of Obstetrics and Gynecology

을 만한 예후인자를 찾기 위해 노력하고 있다[3].

상피성 난소암의 암발생 과정은 다양한 유전학적 변화와 관련되어 있는데, 최근의 상피성 난소암의 발생모델은 발생과정에 따라 1형과 2형 종양으로 나누어 설명하고 있다[1]. 1형 종양은 대체로 천천히 자라고 경계성 종양을 전구 병변(precursor lesion)으로 가지는 것으로 저등급의 소유두 장액성 암종(low grade micropapillary serous carcinoma)와 점액성, 자궁내막성, 투명세포암종 등이 여기에 속한다. 1형 종양 발생에 관여하는 유전학적 변화는 *KRAS*, *BRAF*, *PTEN*, 그리고 β -catenin의 돌연변이이다. 2형 종양의 경우 빠르게 자라는 공격적 성격의 종양으로 전구 병변은 알려져 있지 않으며 대부분 진행 병기에서 발견된다. 고등급의 장액성 암종, 미분화 암종, 그리고 malignant mixed mesodermal tumors 등이 해당되고, 관여하는 유전학적 변화로서는 p53 돌연변이가 알려져 있다. 이러한 상피성 난소암의 발생모델을 통해 난소암의 조기 발견과 표적 치료에 접근하기 위한 노력이 이루어지고 있다[4].

세포외 기질 물질의 정상 그리고 종양 조직에서의 역할은 다양한 각도에서 연구되고 있는데, 그중 하나인 secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC)는 기질세포 당단백(matricellular glycoprotein)으로서 osteonectin 또는 BM-40으로도 불리며, 1984년 시험관내 혈관 내피세포에서 분리되었다[5]. SPARC는 세포 부착과 운동, 세포외 기질 성분과의 상호작용, 상처 수복, 세포 분화, 세포 증식, 그리고 혈관형성 등 다양한 생물학적 과정에 관여한다[6-8].

인체 악성종양에서 SPARC는 다양한 장기에서 복잡한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 식도암, 방광암, 간암, 유방암 및 악성 흑색종에서는 발현이 증가되어 있고, 그 발현이 종양의 혈관형성, 종양의 진행, 특히 침윤과 관련이 있는 것으로 알려져 있다[9-13]. 한편 SPARC는 뇌신경교종에서 세포주기를 억제하고[14] 대장암에서도 유전자 촉진부(promoter) 과메틸화(hypermethylation)에 의해 발현이 억제된다고 보고되었다[15]. 특히 난소암에서는 SPARC가 종양 억제자로서 작용하는 것으로 알려져 있는데[16,17], Yiu 등[18]은 SPARC가 난소암 세포에서 세포자멸사를 유도하고 이러한 SPARC가 난소상피암에서 감소되어 나타날 뿐만 아니라 악성도와 역상관관계를 보인다고 하였다. 그러나, Paley 등[19]은 상피성 난소암의 종양 간질에서 SPARC 발현이 증가되어 난소상피암의 종양발생과정에 SPARC가 관여한다고 하여 난소의 상피종양 발생 및 진행에 있어 SPARC의 역할은 아직 명확하지 않다.

본 연구의 목적은 난소상피종양에서 면역조직화학염색을 통하여 SPARC 단백질의 발현 양상을 분석하여, 난소상피종양 발생 및 진행에 있어 SPARC의 역할과 SPARC 발현양상과 임상병리학적 인자들과의 상관관계를 알아보고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

1998년 1월부터 2006년 12월까지 부산대학교병원에서 수술로써 절

Table 1. Patients characteristics

Variables	Cases (n=112)
WHO criteria	
Histologic type	
Benign	19
Serous	7
Mucinous	12
Borderline	24
Serous	6
Mucinous	18
Malignancy	69
Serous	26
Mucinous	15
Endometrioid	10
Clear cell	15
Undifferentiated	3
FIGO stage	
I	25
II	7
III	31
IV	6
Silverberg grading system	
Nuclear grade	
1	23
2	36
3	10

WHO, World Health Organization; FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics.

제된 난소상피종양 중 보존상태가 양호한 112예를 대상으로 하였다. Hematoxylin-eosin 염색표본들을 World Health Organization분류[20]에 따라 분류한 결과 양성종양 19예, 경계성 종양 24예, 그리고 악성 종양 69예였다. 양성종양의 경우 장액성 7예, 점액성이 12예였고, 경계성 종양의 경우 장액성이 6예, 점액성이 18예였으며 악성종양의 경우 장액성, 점액성, 자궁내막성, 투명세포, 그리고 미분화암종이 각각 26예, 15예, 10예, 15예, 그리고 3예였다. 악성종양은 Silverberg 종양 등급체계[21]에 의하여 등급을 I, II, III으로 분류하였는데, 고분화도(G1)가 23예, 중등도 분화도(G2)가 36예, 저분화도(G3)가 10예였다. FIGO 분류법[22]에 따라 병기를 정하였으며, FIGO 병기 I기는 25예, II기는 7예, III기가 31예, 그리고 IV기가 6예였다(Table 1). 정상 난소 조직은 비종양성 질환 또는 난소 상피종양이 아닌 부인과 양성종양으로 인해 수술하여 얻어진 정상 난소 조직 10예를 이용하였다. 각 증례의 대표적인 파라핀 포매괴를 선택하였다.

2. 면역조직화학염색

4 μ m 두께의 절편으로 된 슬라이드를 xylene으로 탈파라핀하고 함수과정을 거친 후 0.01 M citrate buffer (pH 6.0)에 넣고 steamer에서 95°C로 20분간 가열하여 항원성을 증가시켰다. 내인성 peroxidase의 작용 방지를 위해 3% 과산화수소수를 이용하여 5분간 처리하였다. 면역조직화학염색은 avidin-biotin peroxidase 방법인 Vectastain ABC elite kit (Vector laboratories, Burlingame, CA, USA)를 사용하였다. 먼저 5% 정상염소혈청으로 비특이적인 항원-항체반응을 억제시킨 후, 일차 단클론성 항체인 SPARC (Clone ON1, ZYMED Laboratories, Carlsbad, CA, USA)를 1:100으로 희석하여 사용하였다. 발색은 diaminobenzidine으로 하였으며 대조염색은 Mayer hematoxylin을 이용하였다. 양성 대조군으로 연골 조직을 사용하였고, 음성 대조군으로는 일차 항체 대신 phosphate buffered saline을 사용하였다. 종양내 간질세포의 세포질에 갈색으로 염색될 때 양성으로 판정하였으며, 양성인 세포와 전체 종양내 간질세포의 비율을 보아 10% 미만인 경우 음성, 10% 이상인 경우를 양성으로 하였다. 10-25%인 경우 1점, 25-50%인 경우 2점, 50-75%인 경우 3점, 그리고, 75% 이상인 경우 4점으로 반정량화하였다[15,19,23].

3. 통계학적 분석

통계학적 처리는 SPSS ver. 10.1 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계프로그램을 이용하여 Pearson chi-square 검정과 independent *t*-test, 그리고, one-way analysis of variance test를 이용하여 분석하였고, 유의 수준은 $P < 0.05$ 로 정하였다.

결 과

1. 정상 난소 조직과 양성, 경계성 악성종양 조직에서 SPARC의 발현 양상

SPARC 면역조직화학염색에서 정상 난소 및 종양 조직의 간질세포의 세포질에 양성 소견을 보였으며, 일부 정상 및 종양 조직의 상피 세포의 세포질에도 양성 소견을 보였다. 정상 난소 조직의 경우 모든 조직에서 50-75% 이상의 간질세포가 양성 소견을 보였다(평균점수 3.60 ± 0.52). 양성 난소종양의 경우 19예 중 18예(94.7%)에서 양성 소견

을 보였고, 1점이 1예, 2점이 4예, 3점이 2예, 4점이 11예였으며, 경계성 난소종양의 경우 모든 예(24/24)에서 양성을 보이면서 1점이 7예, 2점이 7예, 3점이 6예, 그리고 4점이 4예로서 평균 점수는 각각 3.11 ± 1.24 과 2.29 ± 1.08 이었다. 난소상피암의 경우는 양성률이 크게 떨어져 69예 중 44예(63.8%)만이 양성을 보였고, 1점이 23예, 2점이 11예, 3점이 5예, 그리고 4점이 5예로서 평균점수가 1.16 ± 1.20 이었다. 따라서, 난소상피종양에 있어 양성종양, 경계성 종양, 그리고 명확한 침윤을 보이는 난소상피암으로 진행할수록 간질세포에 대한 SPARC 단백 발현은 의미 있게 감소하는 경향을 보였다($P < 0.001$). Table 2에서 이러한 결과를 보여주고 있으며, 대표적인 조직 사진은 Figs. 1, 2에 있다.

2. 난소상피암에서 SPARC의 발현 양상과 임상병리학적 인자들과의 상관 관계

상피성 난소암의 경우 총 69예 중 44예(63.8%)에서 양성을 보였는데, 알려진 임상병리학적 인자들과 비교하여 보았다. SPARC 음성인 예들의 경우 평균연령이 52.6 ± 10.45 세로 양성인 예들의 평균연령 47.6 ± 14.40 세에 비해 약간 높았으나, 통계학적 유의성은 없었다($P = 0.573$). 조직학적 유형에 따른 비교에서 장액성, 점액성, 자궁내막형, 투명세포형, 그리고 미분화형에서 모두 60-70%의 유사한 양성률을 나타내었다($P = 0.984$). 난소상피암의 조직학적 등급에 따른 양성률의 경우 고등급일 경우 10-20% 정도 양성률이 증가하는 경향이 있었으나, 유의하지 않았다($P = 0.663$). 그 외 종양세포의 핵등급, 세포분열수, 그리고, 종양의 크기에 따른 SPARC의 발현율의 차이는 유의하게 보이지 않았다($P = 0.406$, $P = 0.669$, $P = 0.618$).

FIGO 병기의 경우 SPARC 음성인 예 중 36% (9/25)만이 진행병기였으나, SPARC 양성인 경우 63.6% (28/44)가 진행병기를 보여 통계적으로 유의하게 SPARC의 간질세포 발현이 증가하였다($P = 0.044$). 환자의 예후와 관련된 종양의 국소 재발과 원격전이가 있는 경우 SPARC의 발현이 증가하는 경향을 보였으나, 유의하지 않았다($P = 0.445$, $P = 0.614$). 생존율 분석에서는 SPARC 음성인 예 중 28% (7/18)에서 사망하였고, SPARC 양성인 예 중 52.3% (23/44)에서 사망하여 SPARC 발현 증가가 나쁜 예후와 연관되는 경향을 보였지만, 역시 통계적 유의성은 없었다($P = 0.077$) (Table 3).

Table 2. Scores for the immunohistochemical staining of SPARC in ovarian epithelial tumors

Ovarian tissue	Specimens with positive staining (%)	Mean score	P-value ^a
Normal (n=10)	10 (100)	3.60 ± 0.52	<0.001
Benign (n=19)	18 (94.7)	3.11 ± 1.24	
Borderline (n=24)	24 (100)	2.29 ± 1.08	
Malignant (n=69)	44 (63.8)	1.16 ± 1.20	

SPARC, secreted protein acidic and rich in cysteine.

^aOne-way analysis of variance test.

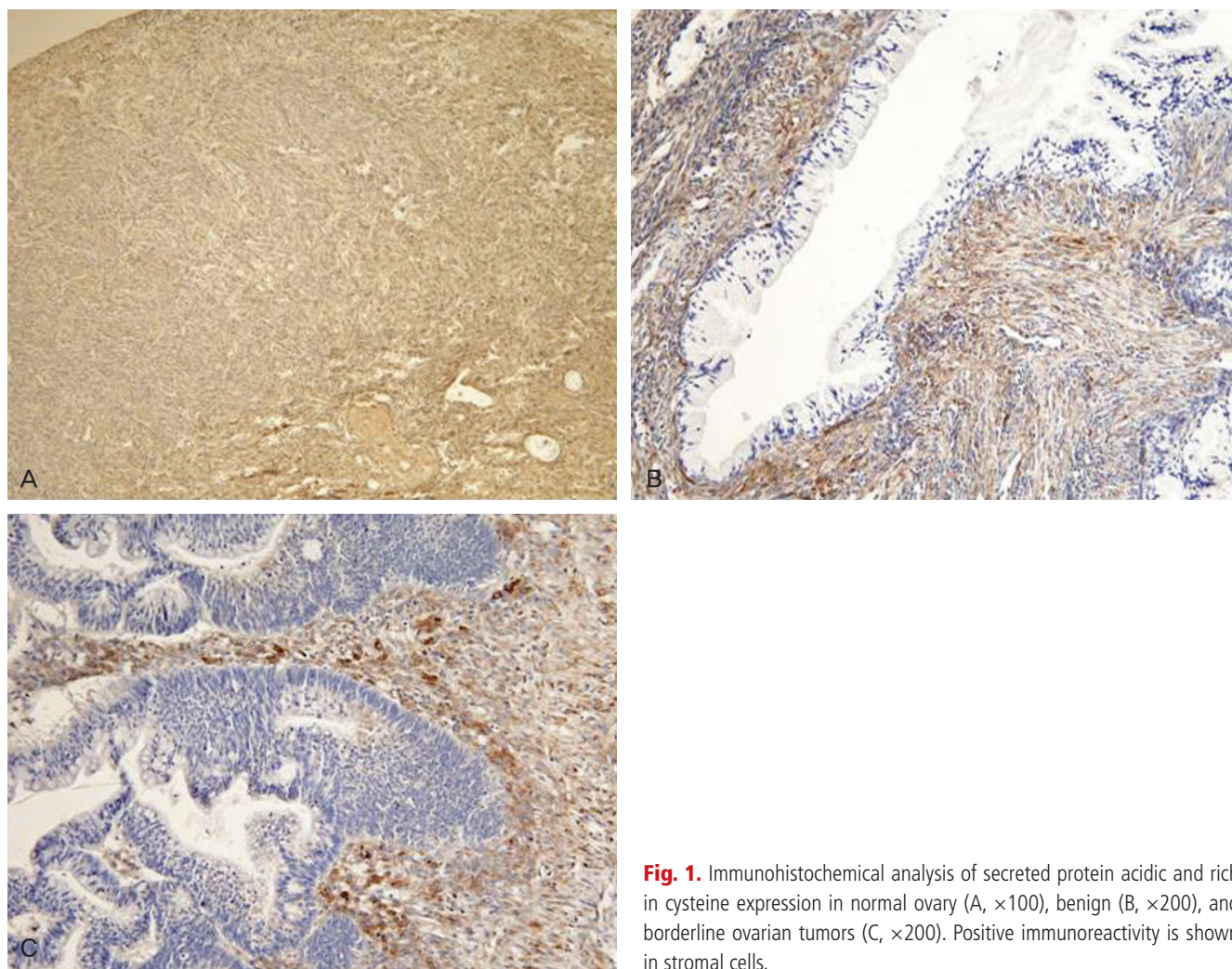


Fig. 1. Immunohistochemical analysis of secreted protein acidic and rich in cysteine expression in normal ovary (A, $\times 100$), benign (B, $\times 200$), and borderline ovarian tumors (C, $\times 200$). Positive immunoreactivity is shown in stromal cells.

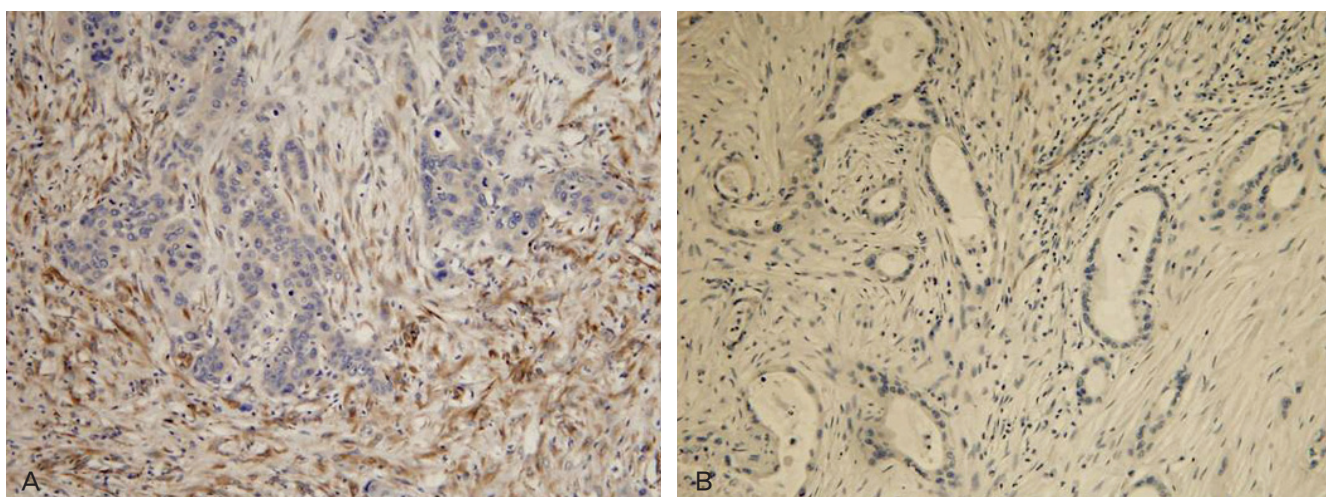


Fig. 2. Secreted protein acidic and rich in cysteine immunoreactivity in ovarian epithelial cancers. Stromal cells in ovarian epithelial cells showed positive (A, $\times 200$) and negative immunoreactivity (B, $\times 200$).

Table 3. Comparison between immunoreactivity of SPARC and clinicopathologic variables

Variables	Negative (n=25)	Positive (n=44)	P-value ^a
Age (yr)	52.6	47.6	0.573
Histologic grade			0.663
G1	10 (43.5)	13 (56.5)	
G2	12 (33.3)	24 (66.7)	
G3	3 (30.0)	7 (70.0)	
FIGO stage			0.044
Early (I/II)	16 (50.0)	16 (50.0)	
Advanced (III/IV)	9 (24.3)	28 (75.7)	
Histologic type			0.984
Serous	10 (38.5)	16 (61.5)	
Mucinous	5 (33.3)	10 (66.7)	
Endometrioid	3 (30.0)	7 (70.0)	
Clear cell	6 (40.0)	9 (60.0)	
Undifferentiated	1 (33.3)	2 (66.7)	
Nuclear grade			0.406
1	5 (55.6)	4 (44.4)	
2	10 (31.3)	22 (68.7)	
3	10 (35.7)	18 (64.3)	
Mitoses			0.669
1 (<10 per 10 hpf)	11 (37.9)	18 (62.1)	
2 (10≤, <20 per 10 hpf)	11 (39.3)	17 (60.7)	
3 (≥20 per 10 hpf)	3 (25.0)	9 (75.0)	
Tumor size			0.618
<10 cm	11 (32.4)	23 (67.6)	
≥10 cm	14 (40.0)	21 (60.0)	
Local recurrence			0.445
No recurrence	17 (40.5)	25 (59.5)	
Recurrence	8 (29.6)	19 (70.4)	
Distant metastasis			0.614
No metastasis	17 (38.6)	27 (61.4)	
Metastasis	8 (32.0)	17 (68.0)	
Survival			0.077
Alive	18 (46.2)	21 (53.8)	
DOD	7 (23.3)	23 (76.4)	

Values are presented as number (%).

SPARC, secreted protein acidic and rich in cysteine; FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics; DOD, died of disease.

^aPearson's chi-square test.

고찰

SPARC는 35 kDa의 칼슘 결합 당단백으로서 골조직(bone)에 존재하는 가장 흔한 비콜라겐 단백질이다. SPARC는 마우스(mouse) 발생과정 중 세 가지 원시 배엽에서 모두 일정 시기에 발현되고[24], 인체배아에서 발생 중인 골과 치아 조직, 특히 골모세포, 상아질모세포(odontoblast), 섬유모세포, 연골 세포 등에서 SPARC mRNA와 단백질이 모두 높게 발현된다[25]. 또한 SPARC는 상처 치유, 세포 분화, 세포 이동 및 혈관 생성과정에서 세포-기질 간 상호작용에 중요한 역할을 한다[26]. 난소에서 SPARC는 태아기와 신생아기에 초기 난모세포와 과립층세포에서 높게 발현되다가 차차 감소하지만[25] 성인 여성의 경우 난소상피세포에서 높게 발현된다고 알려져 있다[16].

이와 같이 SPARC는 다양한 기능을 가진 단백질로서 인체 종양에서의 역할은 종양의 종류에 따라 상당히 다르다. 많은 종양에서 SPARC upregulation이 종양주위 간질 세포에서 관찰되고 이러한 양상으로 종양 주변의 섬유모세포에서 유래한 SPARC가 종양-간질 간 상호작용을 일으켜 종양의 진행에 관여한다고 볼 수 있다[23]. 또한, SPARC는 유방암, 식도암, 방광암, 간암, 그리고 악성흑색종에서 발현이 증가하면서 종양 세포의 침윤능력을 향상시키는 역할을 한다고 보고되어 'proinvasive protein'으로 불려지기도 한다[9-13].

자궁내막암과 췌장암의 경우 과메틸화에 의해 SPARC mRNA 발현이 감소되어 있었지만, 실제 SPARC 단백질이 Western blot에서 과발현되고 면역조직화학염색에서는 종양세포 주변의 간질세포, 특히 섬유모세포에서 발현이 증가되는 모습을 보인다[23,27]. 이러한 양상은 종양 주변의 섬유모세포에서 유래한 SPARC가 종양-간질 간 상호작용을 일으켜 종양의 진행에 관여한다고 볼 수 있다. 이러한 사실은 분자생물학적 연구과정에서 포함된 종양조직이 대개 간질세포보다 종양세포를 많이 포함하고 있다는 점으로 설명될 수도 있지만, 또 다른 유전암호해독 후(post-translational) 기전이 존재하거나 단백질생성 후 분해(degradation) 과정의 감소의 영향일 수도 있다.

Yang 등[15]은 대장암의 세포주와 인체 대장암 조직에서 과메틸화에 의해 SPARC의 발현이 감소되는 것을 보여주었고 이러한 감소가 종양의 성장을 억제하므로 SPARC가 종양세포증식을 억제하는 기능을 한다고 하였다. 이와 더불어 SPARC 단백질 발현 소실과 대장암의 나쁜 예후가 상관관계가 있었다. 폐암에서도 DNA 과메틸화가 SPARC downregulation의 주요기전이고, DNA 과메틸화와 종양세포의 SPARC 단백질발현 소실이 뚜렷한 상관관계가 있었다. 더불어 폐암종(adenocarcinoma)의 경우 SPARC 유전자의 과메틸화가 나쁜 예후와 관련이 있었다[28].

난소상피종양에서 SPARC의 역할은 더욱 복잡하게 보고되어지고 있다. Brown 등[29]의 연구에서는 SPARC mRNA를 제자리부합화(*in situ* hybridization)를 통하여 관찰한 결과 상피성 난소암의 간질, 특히 종양세포 및 간질세포 경계면에서 정상난소 조직의 간질과 명확한 침윤을 보이지 않는 경계성 상피종양보다 증가되어 관찰되었다. SPARC mRNA의 발현 증가는 상피성 난소암의 조직학적 유형과 관계없이 모

두 증가되어 있었고, 림프절 전이를 보이는 상피성 난소암의 경우 림프절의 간질에서도 증가되어 나타나서 전이 시 침윤 과정에서도 SPARC가 작용한다는 사실을 시사하였다. 특히 Brown 등[29]은 면역조직화학염색을 통해서 간질세포의 세포질에 SPARC 단백질이 증가하여 있음을 보여주었고, 이 때 일부 종양세포에서도 SPARC 면역염색성을 보이는데, 간질세포에서 분비된 SPARC가 이동하여 종양세포에 의해 내면화(internalized)된 것으로 가정하였다. 이러한 결과를 바탕으로 SPARC가 종양세포가 간질로 침윤하도록 도와서 종양 진행을 촉진하는 것으로 보고하였다. 그리고, Porter 등[30]과 Paley 등[19]의 연구에서도 면역조직화학염색에서 정상 난소 조직에서보다 난소상피암 조직의 간질세포에서 SPARC의 발현이 증가함을 보고하였다.

Northern blotting을 이용한 연구에서는 사람의 상피성 난소암 세포주에서 정상 상피 세포주보다 SPARC의 발현이 현저히 떨어져 있었고, SPARC cDNA full length를 난소상피암 세포주에 형질전환(transfection)하여 배양 시 암세포의 성장이 감소하는 것을 관찰하여 난소상피암에서 SPARC의 역할은 종양 억제 유전자라고 주장하였다[16,17]. 이후 Yiu 등[18]은 인체조직을 이용한 연구에서 면역조직화학염색을 통하여 정상 난소 조직, 양성종양, 경계성 종양, 악성종양을 살펴본 결과 SPARC의 면역염색성이 의미 있게 감소하고 악성종양의 조직학적 악성도도 의미 있는 역상관 관계를 보이는 것을 관찰하였다. 또한 SPARC가 종양세포의 증식을 억제하고 세포자멸사를 유도하여 종양 억제효과를 나타내는 것을 보여주었다. 최근 시험관내 연구에 의하면 SPARC가 종양세포의 침윤을 방해하면서 종양세포의 증식 억제 및 세포자멸사 유도로 난소상피암의 복막암종증(peritoneal carcinomatosis)을 개선시키는 양상을 보여 상피성 난소암의 치료제로서 SPARC를 제안하였다[31,32].

SPARC의 발현양상과 역할에 대한 보고가 이렇게 다양한 것은 첫째, 연구방법의 다양성, northern blotting, reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), methylation-specific PCR 등 다양한 방법을 생체내 또는 시험관내 연구에 적용하여 얻은 결과이며, 특히 면역조직화학염색의 경우 다양한 항체를 이용하였다. 둘째, SPARC의 역할 분석을 종양세포 자체 발현과 종양세포의 간질세포 발현 중 어느 쪽에 초점을 맞추는가가 일치하지 않았다. 위의 많은 보고들이 SPARC의 발현을 종양 세포 또는 간질세포에서 발현 여부를 분석하였으므로, 그 양성률과 발현의 의미가 다르게 해석되었다. 마지막으로 난소종양 연구의 경우 연구에 포함된 조직의 유형이 매우 다양하여 연구의 일치도를 얻는데 어려움이 있었다.

본 연구에서는 SPARC의 단클론성 항체(clone ON1)를 이용한 면역조직화학염색법을 이용하여 SPARC 단백질 발현을 관찰하였고, 정상 난소 조직, 양성 상피종양, 경계성 상피종양을 비롯하여 악성종양을 모두 포함한 연구 대상을 설정하였다. 연구 결과는 SPARC 단백질 발현이 난소의 양성 상피종양, 경계성 상피종양, 악성종양으로 진행할수록 발현율이 감소하였다. 특히 종양세포의 분명한 침윤을 보이지 않는 경계성 종양과 명확한 침윤을 동반하는 상피성 난소암 사이에 현저한 발현율 감소를 보여 SPARC가 난소종양 세포의 조직 침윤 능력을 억제하는 것

으로 보인다. 이와 같은 결과는 SPARC가 난소상피종양에서 종양 억제 역할(tumor suppressor)을 한다는 이전의 연구들을 뒷받침하는 결과라고 생각한다. 그러나, SPARC 단백질 발현이 상피성 난소암에서 종양의 병기가 높을수록 발현이 오히려 증가하는 경향을 보이지만, 종양의 국소재발, 원격전이, 생존율과는 뚜렷한 상관관계를 보이지 않아서 상피성 난소암의 진행에 있어 SPARC 단백질 발현의 증가 또는 감소의 역할은 명확하지 않았다. 또한, 상피성 난소암의 종양세포의 세포분열 수와도 연관성이 없어서 SPARC의 세포증식능에 대한 역할 역시 명확하지 않았다.

결론적으로, SPARC 단백질 발현은 난소상피종양 발생과정에 있어 종양 억제 인자로서 작용할 것으로 생각한다. 그러나, 난소상피암 진행과정에서의 역할은 명확하지 않아 SPARC 단백질이 난소상피종양 발생과정 중 초기 단계에서 일어나는 변화로 해석할 수 있으나 이를 뒷받침하는 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음.

References

- Seidman JD, Russell P, Kurman RJ. Surface epithelial tumors of the ovary. In: Blaustein A, Kurman RJ, editors. Blaustein's pathology of the female genital tract. Vol 1. 5th ed. New York: Springer-Verlag; 2002. p.791-810.
- Piver MS. 16,090: the 2004 estimated U.S. mortality from ovarian cancer. Gynecol Oncol 2005;97:301-2.
- Bonome T, Lee JY, Park DC, Radonovich M, Pise-Masison C, Brady J, et al. Expression profiling of serous low malignant potential, low-grade, and high-grade tumors of the ovary. Cancer Res 2005;65:10602-12.
- Kurman RJ, Visvanathan K, Roden R, Wu TC, Shih Ie M. Early detection and treatment of ovarian cancer: shifting from early stage to minimal volume of disease based on a new model of carcinogenesis. Am J Obstet Gynecol 2008;198:351-6.
- Sage H, Johnson C, Bornstein P. Characterization of a novel serum albumin-binding glycoprotein secreted by endothelial cells in culture. J Biol Chem 1984;259:3993-4007.
- Bradshaw AD, Sage EH. SPARC, a matricellular protein that functions in cellular differentiation and tissue response to injury. J Clin Invest 2001;107:1049-54.
- Francki A, Motamed K, McClure TD, Kaya M, Murri C, Blake DJ, et al. SPARC regulates cell cycle progression in mesangial cells

- via its inhibition of IGF-dependent signaling. *J Cell Biochem* 2003;88:802-11.
8. Motamed K, Blake DJ, Angello JC, Allen BL, Rapraeger AC, Hauschka SD, et al. Fibroblast growth factor receptor-1 mediates the inhibition of endothelial cell proliferation and the promotion of skeletal myoblast differentiation by SPARC: a role for protein kinase A. *J Cell Biochem* 2003;90:408-23.
 9. Briggs J, Chamboredon S, Castellazzi M, Kerry JA, Bos TJ. Transcriptional upregulation of SPARC, in response to c-Jun overexpression, contributes to increased motility and invasion of MCF7 breast cancer cells. *Oncogene* 2002;21:7077-91.
 10. Ledda MF, Adris S, Bravo AI, Kairiyama C, Bover L, Chernajovsky Y, et al. Suppression of SPARC expression by antisense RNA abrogates the tumorigenicity of human melanoma cells. *Nat Med* 1997;3:171-6.
 11. Lau CP, Poon RT, Cheung ST, Yu WC, Fan ST. SPARC and Hevin expression correlate with tumour angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *J Pathol* 2006;210:459-68.
 12. Yamanaka M, Kanda K, Li NC, Fukumori T, Oka N, Kanayama HO, et al. Analysis of the gene expression of SPARC and its prognostic value for bladder cancer. *J Urol* 2001;166:2495-9.
 13. Yamashita K, Upadhyay S, Mimori K, Inoue H, Mori M. Clinical significance of secreted protein acidic and rich in cysteine in esophageal carcinoma and its relation to carcinoma progression. *Cancer* 2003;97:2412-9.
 14. Schultz C, Lemke N, Ge S, Golembieski WA, Rempel SA. Secreted protein acidic and rich in cysteine promotes glioma invasion and delays tumor growth in vivo. *Cancer Res* 2002;62:6270-7.
 15. Yang E, Kang HJ, Koh KH, Rhee H, Kim NK, Kim H. Frequent inactivation of SPARC by promoter hypermethylation in colon cancers. *Int J Cancer* 2007;121:567-75.
 16. Mok SC, Chan WY, Wong KK, Muto MG, Berkowitz RS. SPARC, an extracellular matrix protein with tumor-suppressing activity in human ovarian epithelial cells. *Oncogene* 1996;12:1895-901.
 17. Mok SC, Wong KK, Chan RK, Lau CC, Tsao SW, Knapp RC, et al. Molecular cloning of differentially expressed genes in human epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1994;52:247-52.
 18. Yiu GK, Chan WY, Ng SW, Chan PS, Cheung KK, Berkowitz RS, et al. SPARC (secreted protein acidic and rich in cysteine) induces apoptosis in ovarian cancer cells. *Am J Pathol* 2001;159:609-22.
 19. Paley PJ, Goff BA, Gown AM, Greer BE, Sage EH. Alterations in SPARC and VEGF immunoreactivity in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2000;78:336-41.
 20. Scully RE, Young RH, Clement PB. Tumors of the ovary, maldeveloped gonads, fallopian tube and broad ligament. In: Rosai J, editor. *Atlas of tumor pathology*. Washington (DC): Armed Forces Institute of Pathology; 1998. p.107.
 21. Silverberg SG. Histopathologic grading of ovarian carcinoma: a review and proposal. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19:7-15.
 22. Pecorelli S, Odicino F, Maisonneuve P, Creasman W, Shepard J, Sideri M, et al. Carcinoma of the ovary. Annual report on the results of treatment in gynaecological cancer. *J Epidemiol Biostat* 1998;3:75-102.
 23. Sato N, Fukushima N, Maehara N, Matsubayashi H, Koopmann J, Su GH, et al. SPARC/osteonectin is a frequent target for aberrant methylation in pancreatic adenocarcinoma and a mediator of tumor-stromal interactions. *Oncogene* 2003;22:5021-30.
 24. Nomura S, Wills AJ, Edwards DR, Heath JK, Hogan BL. Developmental expression of 2ar (osteonectin) and SPARC (osteonectin) RNA as revealed by in situ hybridization. *J Cell Biol* 1988;106:441-50.
 25. Mundlos S, Schwahn B, Reichert T, Zabel B. Distribution of osteonectin mRNA and protein during human embryonic and fetal development. *J Histochem Cytochem* 1992;40:283-91.
 26. Lane TF, Sage EH. The biology of SPARC, a protein that modulates cell-matrix interactions. *FASEB J* 1994;8:163-73.
 27. Rodríguez-Jiménez FJ, Caldés T, Iniesta P, Vidart JA, García-Asenjo JL, Benito M. Overexpression of SPARC protein contrasts with its transcriptional silencing by aberrant hypermethylation of SPARC CpG-rich region in endometrial carcinoma. *Oncol Rep* 2007;17:1301-7.
 28. Suzuki M, Hao C, Takahashi T, Shigematsu H, Shivapurkar N, Sathyanarayana UG, et al. Aberrant methylation of SPARC in human lung cancers. *Br J Cancer* 2005;92:942-8.
 29. Brown TJ, Shaw PA, Karp X, Huynh MH, Begley H, Ringuette MJ. Activation of SPARC expression in reactive stroma associated with human epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1999;75:25-33.
 30. Porter PL, Sage EH, Lane TF, Funk SE, Gown AM. Distribution of SPARC in normal and neoplastic human tissue. *J Histochem Cytochem* 1995;43:791-800.
 31. Said N, Motamed K. Absence of host-secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) augments peritoneal ovarian carcinomatosis. *Am J Pathol* 2005;167:1739-52.
 32. Said N, Najwer I, Motamed K. Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) inhibits integrin-mediated adhesion and growth factor-dependent survival signaling in ovarian cancer. *Am J Pathol* 2007;170:1054-63.

상피성 난소종양에서 SPARC 발현과 임상병리학적 연관성에 관한 연구

¹동남권 원자력의학원 부인암센터, ²부산대학교 의학전문대학원 산부인과학교실

박상일¹, 이의돈¹, 서동수², 김기형², 윤만수²

목적

Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC)는 세포 부착과 운동, 세포 분화, 세포 증식, 그리고 혈관형성 등에 영향을 주는 기질 세포 당단백이다. 이 물질은 다양한 암세포의 증식과 억제에 관련된 것으로 알려져 왔다. 본 연구의 목적은 난소상피종양 발생 및 진행에 있어 SPARC 발현양상과 임상병리학적 인자들과의 상관관계를 알아보고자 한다.

연구방법

수술 후 획득한 악성 상피성 난소종양 69예, 경계성 종양 18예, 양성종양 10예 그리고 정상 난소 조직을 대상으로 하였고, SPARC 단백질 발현은 면역조직화학염색을 통하여 조사하였다. 후향적 분석을 통하여 환자의 성향과 표본을 분석하였다.

결과

SPARC 면역조직화학염색에서 정상 난소 조직의 경우 거의 모든 조직에서 간질세포가 양성 소견을 보였으며, 일부 양성 및 경계성 종양 조직에서도 양성 소견을 보였다(100%, 94.7%, and 100%). 반면 명확한 침윤을 보이는 상피성 난소암으로 진행할수록 간질세포에 대한 SPARC 단백질 발현은 의미 있게 감소하는 경향을 보였고(63.8% [44/69]), 면역반응 점수도 유의하게 감소되었다($P < 0.001$). 상피성 난소암에서의 SPARC의 발현은 International Federation of Gynecology and Obstetrics 병기와 유의한 상관관계가 있었다. 그러나 조직학적 유형, 종양 분화도, 핵등급, 세포분열 수, 종양의 크기, 국소재발, 원격전이, 그리고 생존율 등의 다른 임상병리학적 인자들과는 유의한 상관관계를 보이지 않았다.

결론

본 연구는 SPARC 단백질 발현의 감소는 종양의 악성도와 유의하게 관련되어 있으며 SPARC는 상피종양 발생과정에 있어 종양억제 인자로서 작용함을 보여준다.

중심단어: 상피성 난소종양, Secreted protein acidic and rich in cysteine 단백질