

자궁경부암 및 난소암에서 세포자멸사 억제인자인 c-IAP1과 c-IAP2의 발현 양상

계명대학교 의과대학 산부인과학교실, *미생물학교실, † 병리학교실,
‡ 성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 산부인과학교실
조준형[‡] · 조치흠 · 권상훈 · 백원기* · 권건영[†] · 박준철 · 이정호
김종인 · 윤성도 · 차순도

Expression of c-IAP1, c-IAP2 as of Inhibitor of Apoptosis Proteins in Cervical and Ovarian Cancers

Jun Hyung Cho, M.D.[‡], Chi Heum Cho, M.D., Sang Hoon Kwon, M.D.,
Won Ki Baek, M.D.*, Kun Young Kwon, M.D.[†], Jun Cheol Park, M.D.,
Jung Ho Rhee, M.D., Jong In Kim M.D., Sung Do Yoon M.D., Soon Do Cha, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology,

**Microbiology, † Pathology, Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea*

*‡ Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Sungkyunkwan University,
Samsung Cheil Medical Center, Seoul, Korea*

Objective : The inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) constitutes a family of highly conserved apoptosis suppressor proteins that were originally identified in baculoviruses. Although IAP homologs have recently been demonstrated to suppress apoptosis in mammalian cells, their expression and role in human gynecologic cancers are unknown. In this study author used ovarian and cervical cancer tissues to examine the role of IAP in the regulation of apoptosis in cervical and ovarian cancers compared with normal tissues.

Methods : Fresh tissues were retrieved from 10 cases each with ovarian cancers, cervical cancers and 4 normal ovarian tissues, 6 benign ovarian tumors, and 10 normal cervical tissues. Expression of mRNA was determined by RT-PCR. Western blot analysis was also used for assessment of protein expression.

Results : The overexpression of c-IAP1,2 was identified in ovarian cancers compare with normal ovaries. All cases of cervical cancer tissues were negative and normal cervical tissues were positive for c-IAP1,2 by RT-PCR assay. Using Western blot analysis, the overexpression of c-IAP1,2 was observed in ovarian cancer tissues compared with normal ovarian tissues and overexpression of c-IAP1 in normal cervical tissues. However differences were not observed with expression of c-IAP2 in cervical cancer tissues. On immunohistochemical results, the expression of c-IAP1,2 was observed in ovarian cancer tissues, normal corpus luteum, and normal cervical tissues, whereas c-IAP1 was not shown in cervical cancer tissues. There was no correlation in c-IAP2 expression between cervical cancer and normal cervical tissues.

Conclusion : These results suggest that c-IAP1,2 are important elements in growth of ovarian cancers, whereas c-IAP1 may play role of down regulation to cervical carcinogenesis.

Key Words : c-IAP1,2, Cervical cancer, Ovarian cancer

서 론

인체에서 발생하는 암의 원인을 유전자 변이의 한 스펙트럼으로 이해하게 되면서 암화 과정은 다중적인 요인에 의해 다양한 단계의 유전자 변이를 거치면서 발생한다고 생각하고 있다. 그리고 세포분화, 노화, 암화 또는 세포증식의 조절이 세포자멸사에 의해 진행되는 것을 알게 되었다. 1972년에 처음으로 세포자멸사에 대한 개념이 보고되었을 때는 병태 생리학적인 개념으로 생각하였고 그 후 세포자멸사에 관한 많은 연구가 진행되어 암화과정의 조절인자로서 중요하게 작용한다는 것을 알게 되었다.¹

세포자멸사는 세포가 DNA 손상을 받았을 때 작동되고 복구되지 않으면 세포사를 초래하는 정상세포에서 일어나는 기전이다. 종양에서는 세포자멸사 조절인자의 돌연변이가 일어나면서 세포가 악성변화를 하게 되고 결국에는 암으로 되는 것이다. 대표적인 억제 조절인자인 p53은 DNA가 손상된 세포를 쉬게 하고 다시 원상복구 시키지만, 이 손상이 회복될 수 없을 때는 p53이 증가하면서 세포자멸사를 유발시킨다. 반대로 암의 약 50%에서 p53의 변이가 관찰되어 세포자멸사가 일어나지 못하는 것을 증명하였다.² 세포자멸사 억제인자인 bcl-2는 세포의 이형성과 암화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.³ 이러한 관점에서 난소암에서 bcl-2 유전자의 발현은 억제 내성을 야기시키는 중요한 인자로 생각하고 있다.⁴ 그러나 bcl-2의 과 발현이나 변이만으로 난소암이 유발되는 것을 설명할 수 없고 다른 세포 생존 인자가 존재할 것으로 생각된다.⁵ 세포자멸사 억제단백질(inhibitor of apoptosis proteins:IAPs)은 처음 baculoviruses에서 동정되었고 바이러스가 복제되는 동안 숙주 세포의 생존을 유지하는 기능을 한다.^{6,7} 또한 다양한 자극에 의한 세포사를 IAPs가 억제하는 것이 보고되었으나,^{8,9} 암화 과정에 관여하는 정확한 기전은 아직까지 알려져 있지 않다. 지금까지 알려진 IAP 단백질들과 부인 암과의 관계는 Xiap와 Hiap-2가 난소암 세포주에서 세포 성장에 관여한다는 보고를 하고 있고 이것은 난소암의 항암화학요법에서 저항성을 가지는 인자로 작용할 것이라 생각하고 있다.¹⁰ 또한 난소암에서 Hiap-2의 발현 증가를 보고하고 있다.¹¹ 저자들은 난소암과 자궁경부암에서의 세포자멸사 억제인자인 c-IAP1, c-IAP2

의 발현 양상은 보고된 바 없어 조직에서의 발현 차이를 관찰하여 암화 과정의 원인으로 IAP의 관련성을 밝히고자 이 연구를 계획하였다.

연구 대상 및 방법

2000년 1월부터 2001년 5월까지 계명대학교 의과대학 산부인과에 내원한 부인 암 환자를 대상으로 하여 수술시 조직을 채취하여 -70℃ 냉동고에 보관하였다가 상온에서 녹여 실험을 하였다. 대상 군으로 자궁경부암 10예, 난소암 10예, 대조군으로는 정상 자궁경부조직 10예, 정상 난소 및 양성 난소 낭종 10예를 실험하였다. 난소 암 환자의 평균 연령은 55.4세(37-65세), 정상 난소 환자 및 양성 난소 낭종 환자의 평균 연령은 42.3세(29-51세)이었다. 자궁경부암 환자의 평균 연령은 49.3세(41-59세), 정상 자궁 경부 환자의 평균 연령은 47.5세(39-52세)이었다. 난소 암 중의 병기는 1기가 1예, 2기가 1예, 3기가 8예이었고, 자궁경부암의 병기는 Ib1이 4예, Ib2가 4예, IIa가 2예였다. 조직학적으로는 상피성 난소 종양이 8예, 생식세포 종양이 2예이었고, 양성 난소 낭종은 자궁 내막종이 2예, 점액성 난소 낭종이 2예이었다. 자궁경부암에서는 편평상피암종이 8예, 선암이 1예, 소세포암이 1예 있었다 (Table 1).

1. RNA 분리

Trireagent (Sigma, Inc.,USA)를 사용하여 total RNA를 분리한 후 mRNA만을 분리하였다.

조직 100 mg에 trireagent를 2 mL 넣고 homogenizer로 15,000 rpm에서 3분 정도 조직을 파쇄시키고 세포주는 직경 3.5 cm petri dish 당 1 mL의 trireagent를 넣고 3-4번 피펫을 통과시킨 후, 세포 용해액 2 mL 당 0.2 mL의 chloroform을 넣고 15초간 잘 혼합하고 4℃로 15분 원심하여 상층액을 새 튜브로 옮긴 후 동량의 2-propanol을 넣고 -70℃에 2시간 방치하였다. 이를 12,000 rpm에서 4℃로 15분 원심하여 RNA 침착을 얻은 후 75% cold ethanol로 세척하고 Speedvac concentrator (Savant Co, USA)에서 5분간 건조시킨 다음 여기에 diethyl pyrocarbonate (DEPC) 처리된 증류수 100 µL를 넣어 녹인 후 UV spectrophotometer로 농도 및 순도를 측정하고 -70℃에 보관하였다.

Table 1. Patient Characteristics

	Ovarian cancer (N = 10)	Cervical cancer (N = 10)	Normal and benign ovarian cyst (N = 10)	Normal cervix (N = 10)
Mean age (range)	55.4 (37-65)	49.3 (41-59)	42.3 (29-51)	47.5 (39-52)
Histology				
Serous cystadenocarcinoma	5			
Mucinous cystadenocarcinoma	2			
Endometrioid carcinoma	1			
Immature teratoma	2			
Endometriotic cyst			2	
Mucinous cystadenoma			2	
Squamous cell carcinoma		8		
Adenocarcinoma		1		
Small cell carcinoma		1		
Normal ovary			6	
Normal cervix				10
Stage (FIGO*)				
I	1	8		
II	1	2		
III	8			

* FIGO; International Federation of Gynecology and Obstetrics.

2. RT-RCR (reverse transcription-polymerase chain reaction)

cDNA 합성은 분리된 RNA 2 µg을 oligo dT (16 mer)를 사용하여 40 µL 용량으로 역전사(reverse transcription)를 시행하였다. 반응혼합액의 조성은 RNA 2 µg, 5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 1 mM dATP, 1 mM dTTP, 1 mM dCTP, 1 mM dGTP, 1 U/µL RNase inhibitor (Perkin-Elmer Co.), 2.5 U/µL MuLV reverse transcriptase (Perkin-Elmer Co.), 2.5 µM oligo d (T)₁₆로, 반응 조건은 42℃ 1시간, 99℃ 5분, 5℃ 5분으로 하였다. PCR은 10X reaction buffer (15 mM MgCl₂, 100 mM Tris-HCl pH 8.3, 500 mM KCl) 5 µL와 10 mM dATP, dTTP, dCTP, dGTP 각 1 µL씩, 그리고 30 µM c-IAP1,2 sense (5' CCGGAAGAATAGAA TGGCAC-3) 및 antisense primer (5'-ACAGCTTCAGC TTCTTGACAG-3')를 각각 1 µL를 넣은 mixture에 1 µL의 반응시킨 cDNA reaction mixture와 2.5 unit의 Taq polymerase (Perkin-Elmer Co.)를 넣은 후 증류수로 50 µL로 용량을 맞추고 30 µL의 mineral oil을 증충한 후

DNA thermal cycler (Perkin-Elmer Co.)를 사용하여 PCR을 시행하였다. 증폭된 PCR 산물 10 µL를 1% agarose gel에 전기영동한 후 관찰하였다.

3. Western Blot analysis

분쇄한 조직에서 lysis buffer (10 mM Tris-Cl (pH 7.4), 5 mM EDTA (pH 8.0), 130 mM NaCl, 1% TritonX-100), 0.2 M phenyl-methyl-sulfonyl fluoride, proteinase inhibitor cocktail을 넣고 얼음에 30분간 둔 후 원심하여 상층액을 취하고 Biorad protein assay kit (Bio-Rad, USA)로 정량하였다. 얻어진 단백질 분획을 SDS-PAGE로 전기영동하고 nitrocellulose paper (Immobilon, Milipore Co., USA)로 전기영동을 시행하였다. 영동된 막을 Blotto용액(5% skim dry milk in TBS-T buffer)에 넣어 cold chamber내에서 12시간 진탕하였다. Blotto용액을 제거하고 일차 항체용액(실온)에 2시간 두고 TBS-T buffer로 행군 다음 이차 항체용액(실온)에서 1시간 두었다. 이를 다시 TBS-T buffer로 세척한 후 ECL (Amersham Lifescience, USA)로 검출하였다.

4. Immunohistochemistry

조직에서 c-IAP1,2 단백질의 증명을 위해 4 μ M 두께의 파라핀 절편을 유리슬라이드에 부착시키고 60°C에서 1시간 동안 방치한 후 xylene과 계열알코올로 탈파라핀 및 함수를 하였다. 내인성 peroxidase의 차단을 위해 메탄올과 30% 과산화수소수가 9:1의 비율로 섞인 용액에서 15분간 처리하고 PBS (phosphate buffered saline, pH 7.2)로 세척하였다. 그 후 포르말린 고정으로 조직 내에 감추어진 항원을 노출시키기 위해 1% zinc sulfate용액에 담그어 microwave 오븐을 이용하여 15분간 가열하였다. 실온에서 20분 가량 식힌 후 30분간 normal horse serum (Vector Laboratories, USA)을 가한 후 항체인 c-IAP1,2 폴리클론항체(Santa Cruz Biotechnology, USA)를 1:10으로 희석하여 2시간 동안 37°C에서 반응시켰다. PBS로 세척하고 peroxidase-conjugated streptavidin (Dako, USA) 1:500을 37°C에서 15분간 반응시킨 후 PBS로 세척하고 DAB (3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride)로 10-20분간 실온에서 발색하고 Mayer's hematoxylin으로 대비 염색을 한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 광학 현미경상에서 c-IAP1,2 단백질에 대한 면역조직화학적 반응의 판독은 종양세포의 세포질에 갈색으로 진하게 염색된 경우에 한해서 양성반응으로 하였다. 먼저 100배 시야의 저 배율에서 염색된 부위를 선택한 후 400배 시야에서 염색된 세포가 전체세포의 10% 이상인 경우 양성으로 판정하였다.

결 과

난소에서의 c-IAP1의 mRNA의 발현은 난소암조직에서 정상 난소 조직에서 보다 8예에서 증가가 있었고(Fig. 1a), c-IAP2는 7예에서 정상 조직 보다 발현의 증가가 있었다(Fig. 1b). 자궁 경부조직에서는 c-IAP1의 발현증가가 정상 자궁 경부에서 전 예에서 높게 나타났다으며(Fig. 2a), c-IAP2의 발현도 정상 자궁경부조직에서 모두 증가되었다(Fig. 2b). Western-blot을 시행하여 난소암조직에서의 c-IAP1 단백질의 발현이 난소암 조직에서 일관되게 증가함을 보여 주었으며(Fig. 3a), c-IAP2 단백질도 RNA와 같이 난소암조직에서와 같은 증가를 보였다(Fig. 3b). 자궁경부 조직에서의 c-IAP1 단백질의 발현은 자궁경부정상조직에서 자궁경부 암

조직보다 일관된 증가를 보였고(Fig. 4a), c-IAP2 단백질은 RT-PCR에서 보여준 일관된 정상 자궁경부에서의 증가가 없이 자궁암에서도 증가가 나타났다(Fig. 4b). 면역 조직화학염색을 시행하여 난소암조직에서 c-IAP1 단백질은 암세포의 세포질에 정확히 침착되고(Fig. 5a), 정상 난소에서는 발현되지 않음을 관찰하였다(Fig. 5b). c-IAP2 단백질도 난소암조직에서 발현됨을 관찰하였고(Fig. 5c), 양성 난소 낭종인 자궁내막종과 황체에서도 발현을 보였다(Fig. 5d). c-IAP1 단백질은 자궁경부 암조직에서 암세포에서는 발현이 없었으나 주위 정상 조직에서는 발현을 나타내었고(Fig. 5e), 정상 자궁경부 조직의 상피세포에서도 발현을 보였다(Fig. 5f). 그러나 c-IAP2는 자궁경부암이나 정상 조직에서 일관된 발현 양상을 볼 수 없었다.

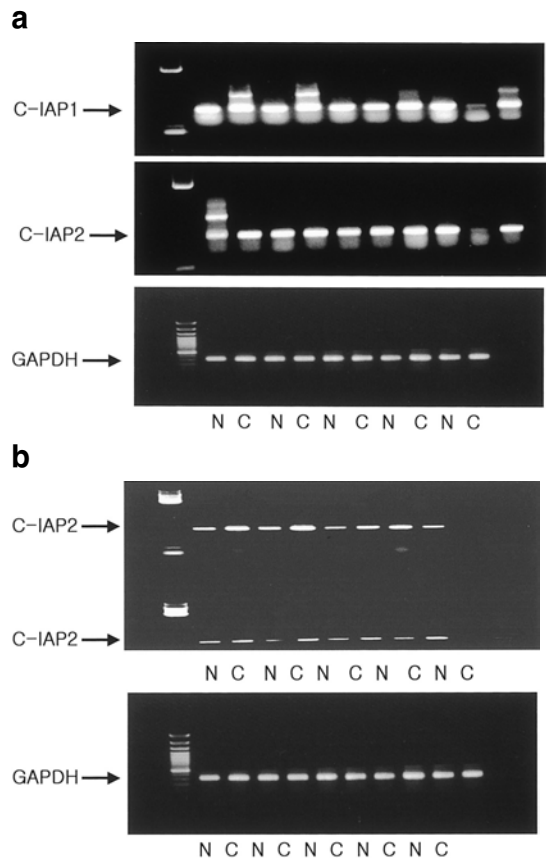


Fig. 1. RT-PCR analysis of c-IAP1 (a), c-IAP2 (b) and GAPDH mRNA expression in normal ovaries and ovarian cancers. N: normal ovaries, C: ovarian cancers.

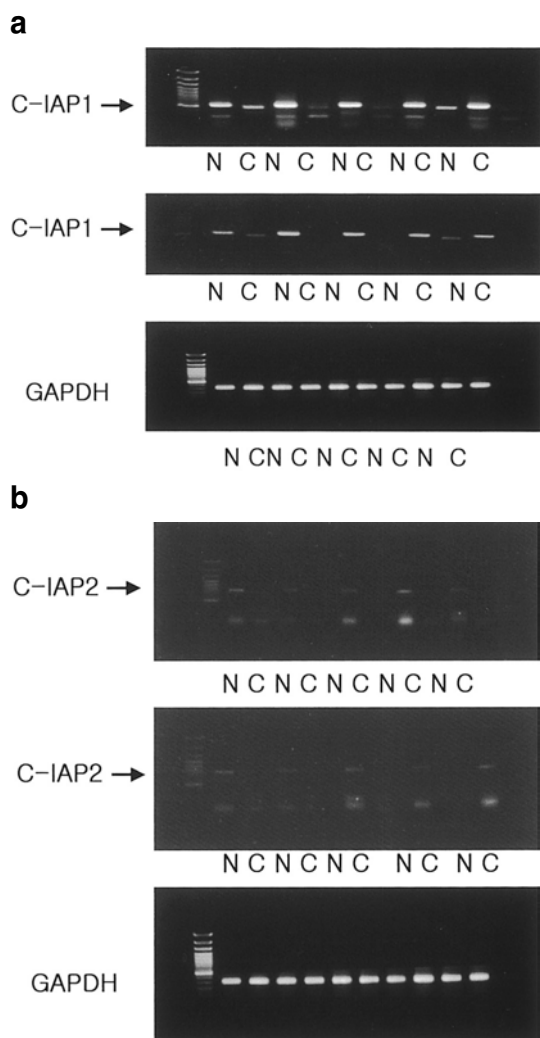


Fig. 2. RT-PCR analysis of c-IAP1 (a), c-IAP2 (b) and GAPDH mRNA expression in normal cervixes and cervical cancers. N: normal cervixes, C: cervical carcinomas.

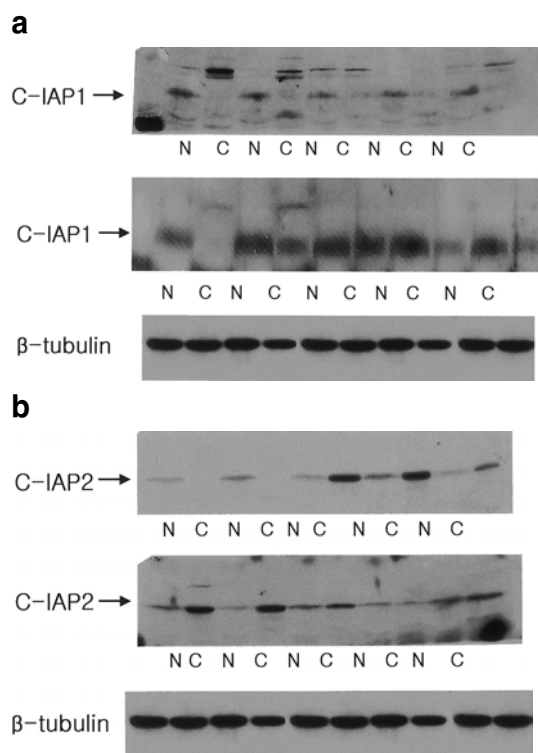
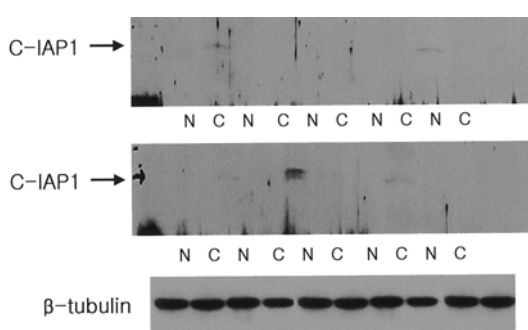


Fig. 4. Western blot analysis of c-IAP1 (a), c-IAP2 (b) and β-tubulin protein expression in normal cervixes and cervical cancers. N: normal cervixes, C: cervical cancers.

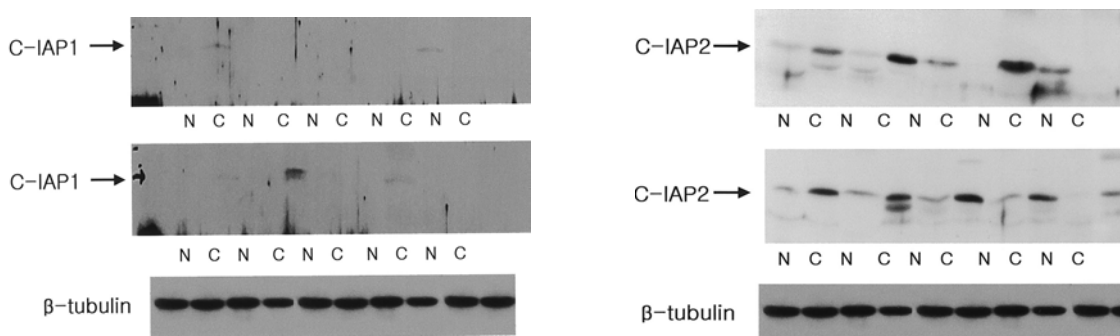


Fig. 3. Western blot analysis of c-IAP1 (a), c-IAP2 (b) and β-tubulin protein expression in normal ovaries and ovarian cancers. N: normal ovaries, C: ovarian cancers.

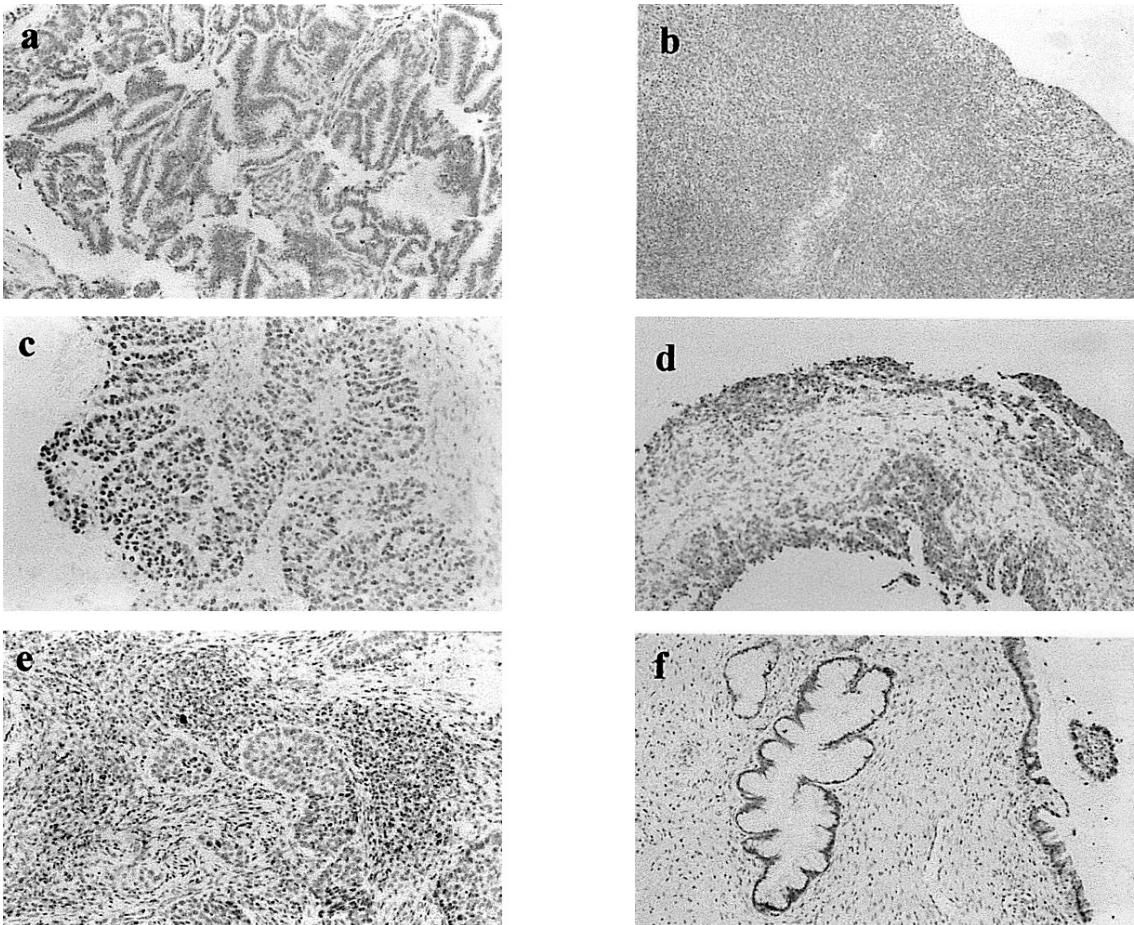


Fig. 5. Immunohistochemistic analysis of c-IAP1 and c-IAP2 proteins. a: Ovarian cancer cells show strong positive cytoplasm for c-IAP1 protein, b: Normal ovarian stromal cells show negative for c-IAP1 protein, c: Ovarian endometrioid cancer cells show strong positive cytoplasm for c-IAP2 protein, d: Endometriotic cyst shows positive for c-IAP2 protein, e: Cervical cancer cells show negative cytoplasm for c-IAP1 protein, f: Normal cervical stromal cells show positive for c-IAP1 protein.

고 찰

암화는 세포의 성장과 세포자멸사 사이의 불균형에 의해서 발생한다는 것이 정설로 받아들여지고 있다.² 세포자멸사는 기관의 발달, 조직의 평형성과 유기체에서 위험한 세포나 결함있는 세포를 제거시키는 중요한 역할을 한다.¹² 이것은 세포내 다양한 자극에 의해서 시작되어 세포자멸사를 수행하는 것과 방해하는 것의 균형에 의해서 조절된다. 이러한 세포자멸사 과정의 불균형이 인간에 발생하는 많은 종류의 병과 암, 자가면역성 질환의 병인론에 중요한 내용이 되고 있다.¹³ 세포자멸사를 억제하는 단백질 IAPs는 많

은 중에 분포하고 있다. 인간에서 밝혀진 IAP들은 5개로 NAIP (neuronal apoptosis inhibitory protein), Hiap-1 (Human IAP-1, c-IAP2), Hiap-2 (Human IAP-2, c-IAP1), Xiap (X-linked IAP), survivin 이다.^{9,14,15} 그러나 이러한 IAP들이 세포자멸사를 억제하는 기전에 대해서는 명확히 규명되어 있지 않으나 death protease인 caspase family를 억제하는 과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 되어 있다. 즉 Xiap, Hiap-1,2는 caspase-3, caspase-7과 결합하여 활성을 억제하여 세포자멸사를 방해한다고 한다.¹⁶ Hiap-1,2는 TNF 수용체 관련인자와 결합하여 TNF 수용체의 신호 체계를 방해한다.¹⁴ 한편 survivin은 태아 조직에서 발견되며 성인의 분화된 조직에서는 발현되지 않는다. 그러나 폐암, 장암, 유방

암, 전립선암, 췌장암, 위암에서 높게 발현되어 이것이 암화 과정의 중요한자이거나 예후 인자로서의 가능성을 제시하고 있다.¹⁷ 이러한 IAPs들 중에 cIAP1,2와 부인 암 중에서 우리나라에서 가장 많은 자궁경부암과 난소암에서의 상관관계를 보고자 이 실험을 계획하였다.

난소암과 자궁경부암에서 정상을 대조군으로 하여 mRNA의 발현을 비교해본결과 c-IAP1의 발현이 난소암에서 정상과 비교하여 발현이 증가되었고, 자궁경부암에서는 반대로 정상에서 높은 발현이 있었다. 이러한 결과는 난소암에서의 증가는 IAP의 역할로 보아 예상되는 결과이었으나 자궁경부암에서는 반대의 결과를 보여 단백질에서의 발현을 검증하여 보았다. Western blot을 시행하여 c-IAP1 단백질은 난소암에서는 정상과 비교해서 유의한 발현 증가가 있었으며 자궁경부암에서는 RT-PCR에서와 같이 정상보다 발현이 감소한 일치된 결과였다. c-IAP2 단백질은 난소암에서는 RNA와 마찬가지로 암에서 정상보다 발현이 많았으나, 자궁경부암에서는 암과 정상에서의 발현이 일관된 결과를 보이지 않았다. c-IAP1,2가 정상 난소 조직이나 자궁내막중에서 증가가 관찰된 것은 난소에서는 정상적으로 배란이 이루어지므로 난포의 성장과 퇴화에서 세포자멸사가 관여함으로 나타나는 것으로 유추할 수 있다. 이러한 것을 뒷받침해 주는 보고로 난포의 생성과 퇴화 과정에서 쥐의 과립층세포에서 IAP 단백질들의 과 발현을 증명하였다.¹⁸ 이외의 다른 보고에서도 난포 및 황체에서 난포의 선택과정과 황체의 퇴화과정에서 세포사가 관계한다고 하여 정상 난소에서의 발현을 설명할 수 있겠다.^{19,20} 그러나 c-IAP1의 자궁경부암에서의 감소와 정상 자궁경부 조직에서의 높은 발현은 의외의 결과라 하겠다. 자궁경부암과 c-IAP1과 관련된 보고로 IAP발현과 암의 성장과 세포자멸사를 측정하여, IAP가 자궁경부암과 정상 자궁경부 조직에서 면역조직화학적 염색을 통해 모두 발현을 보았고 이것의 발현이 암의 예후나 환자의 생존율에는 영향을 미치지 않는다고 보고하였다.²¹ 위의 보고에서는 파라핀 고정된 조직을 사용하여 면역 조직화학적 염색을 통한 시도만을 하여 조직에서의 발현을 보아 암에서 70%의 양성 발현과 정상조직에서 66%의 양성율을 보고하였다. 그러나 저자의 경우에는 신선한 조직을 얻어 RNA와 단백질의 발현을 보아 일관되게 암에서 보다 정상 자궁경부 조직에서의 발현 증가를 관찰하였다. 그러므로 조직에서의 발현을 보기

위해 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 난소암에서는 c-IAP1,2의 발현이 암세포의 세포질 및 핵내에서 관찰할 수 있었고 정상 난소 조직에서는 황체에서만 발현이 있었고, 정상 난소 기질이나 초기 난포에서는 발현을 보이지 않았다. 또한 양성 난소 낭종에서는 점액성 낭종에서는 발현이 없었으며 자궁 내막중에서는 발현을 보였다. 자궁경부암에서는 c-IAP1의 경우에 일관되게 암세포에서는 발현이 없었으나 정상 자궁경부의 상피 세포에서 강한 발현을 보였고, c-IAP2는 자궁경부암이나 정상 조직에서의 일관된 결과를 보이지 않았다. 이 결과로 보아 자궁경부암에서의 c-IAP1은 세포자멸사를 억제하는 기전이 아닌 다른 역할을 수행하는 것으로 유추할 수 있다. 이러한 c-IAP1의 자궁경부암에서의 감소를 유추하면, 첫째는 자궁경부암의 원인으로 잘 알려진 인유두종 바이러스의 감염과 관련하여서 c-IAP의 고유한 역할의 변화로 인해 발현의 감소를 초래할 수 있다는 생각과 둘째는 드물게 암에서 보이는 hypermethylation에 의한 유전자 발현의 감소로²² 추측되나 정확한 기전을 알기 위해서는 좀 더 연구가 필요 할 것으로 사료된다. 난소암에서의 c-IAP1,2의 발현 증가는 암세포에서 세포자멸사를 억제하는 고유의 기능으로 암화 과정에 관여한다고 할 수 있고, IAP와 난소암의 관계에 대한 보고에서는 Xiap가 난소암의 항암화학요법에 있어 민감도를 결정하는 더욱 중요한 요소라 하였다.²³

이 연구 결과로 보아 난소암에서는 c-IAP1,2가 암화 과정에 관여한다는 것을 규명하였고 자궁경부암에서는 c-IAP1의 감소가 암화에 관계한다는 것을 규명하였다. 그러나 c-IAP1과 자궁경부암과의 역할 관계를 설명하기에는 좀 더 많은 연구가 있어야겠다. 이것을 바탕으로 난소암에서는 항암제 치료에 있어서 c-IAP1,2가 미치는 영향에 대한 조사를 하여야 하겠고, 자궁경부암에서는 c-IAP1과 생존율과의 관계를 조사하여야겠다. 또한 조기 발견 인자로 사용할 수 있다면 암으로 인한 사망률을 감소시킬 수 있으리라 예상된다. 분자생물학적으로는 세포자멸사의 또 다른 기전을 밝혀 새로운 억제 유전자 연구에 도움이 될 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications

- in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-57.
2. Sheets EE, Yeh J. The role of apoptosis in gynaecological malignancies. *Ann Med* 1997; 29: 121-6.
 3. Nunez G, Clarke MF. The bcl-2 family of protein: regulators of cell death and survival. *Trends in Cell Biol* 1994; 4: 399-403.
 4. Eliopoulos AG, Kerr DJ, Herrod J, Hodgkins L, Krajewski S, Reed JC, et al. The control of apoptosis and drug resistance in ovarian cancer: influence of p53 and bcl-2. *Oncogene* 1995; 11: 1217-28.
 5. Diebold J, Baretton G, Felchner M, Meier W, Karin D, Schmidt M, et al. bcl-2 expression, p53 accumulation, and apoptosis in ovarian carcinomas. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 341-9.
 6. Birnbaum MJ, Clem RJ, Miller LK. An apoptosis inhibiting gene from a nuclear polyhedrosis virus encoding a peptide with Cys/His sequence motifs. *J Virol* 1994; 68: 2521-8.
 7. Crook NE, Clem RJ, Miller LK. An apoptosis-inhibiting baculovirus gene with a zing finger-like motif. *J Virol* 1993; 67: 2168-74.
 8. Liston P, Roy N, Tamai K, Lefebvre C, Baird S, Cherton-Horvat G, et al. Suppression of apoptosis in mammalian cells by NIAP and a related family. *Nature* 1996; 379: 349-53.
 9. Uren AG, Pakusch M, Hawkins CJ, Puls KL, Vaux DL. Cloning and expression of apoptosis inhibitory protein homologs that function to inhibit apoptosis and/or bind tumor necrosis factor receptor-associated factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4974-8.
 10. Dragovich T, Rudin C, Thompson C. Signal transduction pathways that regulate cell survival and cell death. *Oncogene* 1998; 17: 3207-13.
 11. Sasaki H, Li J, Schneiderman D. Life, death and immortality: cellular and molecular perspectives in human ovarian cancer cell growth. *Frontiers in Endocrin* 1999; 21: 349-58.
 12. 조치흠, 이태성, 차순도, 백원기, 서성일, 서민호 등. cDNA microarray 기술로 동정된 난소암 종의 c-IAP1 유전자 과발현. *대한산부회지* 1999; 42: 1556-63.
 13. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-62.
 14. Rothe M, Pan MG, Henzel WJ, Ayres TM, Goeddel DV. The TNFR2-TRAF signaling complex contains two novel proteins related to baculoviral inhibitor of apoptosis proteins. *Cell* 1995; 83: 1243-52.
 15. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997; 3: 917-21.
 16. Deveraux QL, Takahashi R, Salvesen GS, Reed JC. X-linked IAP is a direct inhibitor of cell-death proteases. *Nature* 1997; 388: 300-4.
 17. Adida C, Crotty PL, McGrath J, Berrebi D, Diebold J, Altieri DC. Developmentally regulated expression of the novel cancer anti-apoptosis gene survivin in human and mouse differentiation. *Am J Pathol* 1998; 152: 43-9.
 18. Li J, Kim JM, Linston P, Li M, Mijazaki T, Mackenzie AE. Expression of inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) in rat granulosa cells during ovarian follicular development and atresia. *Endocrinol* 1998; 139: 1321-8.
 19. Kim JM, Boone DL, Auyeung A, Tsang BK. Granulosa cell apoptosis induced at the penultimate stage of follicular development is associated with increased levels of Fas and Fas ligand in the rat ovary. *Biol Reprod* 1998; 58: 1170-6.
 20. Yuan W, Giudice LC. Programmed cell death in human ovary is a function of follicle and corpus luteum status. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3148-55.
 21. Liu SS, Tsang BK, Cheung ANY, Xue WC, Cheng DKL, Ng TY, et al. Anti-apoptotic proteins, apoptotic and proliferative parameters and their prognostic significance in cervical carcinoma. *Eur J Cancer* 2001; 37: 1104-10.
 22. Ferguson AT, Evron E, Umbricht CB, Pandita TK, Chan TA, Hermeking H, et al. High frequency of hypermethylation at the 14-3-3 sigma locus leads to gene silencing in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 6049-54.
 23. Li J, Feng Q, Kim JM, Schneiderman D, Liston P, Li M, et al. Human ovarian cancer and cisplatin resistance: possible role of inhibitor of apoptosis proteins. *Endocrinol* 2001; 142: 370-80.

국문초록

목적 : 처음 baculoviruses에서 동정된 세포자멸사 억제단백들(inhibitor of apoptosis proteins;IAPs)은 바이러스가 복제하는 동안 숙주 세포의 생존을 유지하는 기능을 하고 다양한 자극에 의한 세포자멸사를 억제하는 것이 보고 되었으나 암화 과정에 관여하는 기전은 아직까지 정확히 알려져 있지 않다. 난소 암 및 자궁경부암과 그들의 정상 조직에서 IAPs의 발현을 비교하여 암화과정에서의 역할을 알아보았다.

연구 방법 : 난소 암 10예와 자궁경부암 10예를 대상군으로, 정상 난소 및 양성 난소 낭종 10예, 정상 자궁 경부 조직 10예를 대조군으로 사용하였다. c-IAP1,2의 mRNA에서의 변화를 보기 위해 RT-PCR을 시행하였고 RNA의 변화를 단백질에서 검증하기 위해 Western blot을 시행하였다.

결과 : c-IAP1,2 단백질의 발현은 난소 암에서 정상 난소 조직에서 보다 높은 발현이 있었고, 정상 자궁 경부조직에서는 c-IAP1,2 단백질이 전 예에서 높게 발현되었다. RNA의 변화를 단백질에서 검증하기 위해 Western blot을 시행한 결과 c-IAP1,2 단백질이 난소암에서 일관되게 높게 발현되었다. 자궁경부 조직에서의 c-IAP1 단백질의 발현은 정상 자궁경부에서 자궁경부암보다 일관된 증가를 보여 주었고, c-IAP2 단백질은 RT-PCR에서 보여준 일관된 정상 자궁경부에서의 증가가 없이 자궁암에서도 증가가 나타났다. 조직에서의 정확한 발현부위를 알기 위해 면역조직화학염색을 시행하여 난소 암에서 c-IAP1 단백질은 암세포의 세포질에 정확히 침착되나 정상 난소에서는 발현이 일어나지 않음을 관찰하였다. c-IAP2 단백질은 난소암과 양성 난소 낭종인 자궁내막종과 황체에서 발현을 보였다. c-IAP1 단백질은 자궁경부암에서 암세포에서는 발현이 없었으며 주위 정상 조직에서는 발현을 나타내었고, 정상 자궁경부 조직에서도 상피세포에서 발현을 나타내었다. 그러나 c-IAP2 단백질은 자궁경부암이나 정상 조직에서 일관된 결과를 보이지 않았다.

결론 : 이상의 연구 결과로 보아 난소 암에서는 c-IAP1,2의 증가가, 자궁경부암에서는 c-IAP1의 감소가 암화 과정에 관여한다고 추정할 수 있다.

중심단어 : cIAP1, cIAP2, 자궁경부암, 난소암