

## 자궁내막암의 예후인자로서의 MMP-2,-9, TIMP-1,-2 발현

최종렬 · 이태화 · 오영림 · 이천준 · 김원규

고신대학교 의과대학 산부인과학교실

**목적** : 세포외기질의 항상성 유지는 MMP (matrix metalloproteinases)와 TIMP (tissue inhibitors of metalloproteinases)로 알려진 단백질분해 효소 시스템의 작용에 의하여 주로 조절된다. MMP와 TIMP 시스템은 결합조직 재구성 부위와 정도를 조절함으로써 세포외기질의 분해 및 합성을 조절한다. 병적인 상태에서 MMP와 TIMP 시스템은 기저막과 세포외기질 분해 기전에 주요 역할을 함으로써 종양의 증식, 침습, 전이에 참여한다. 이 논문의 목적은 자궁내막암에서 MMP와 TIMP의 발현 그리고 이들과 임상병리학적 예후인자들과의 상관관계 및 생존율과의 관계를 분석함으로써 이들 발현이 어떠한 예후적 의미가 있는지를 알아보기 위함이다.

**연구 방법** : 55명의 자궁내막암 환자를 대상으로 면역조직화학적 염색을 통한 MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2의 발현을 조사한 뒤, 이들과 자궁내막암의 임상병리학적 예후인자들과의 상관관계 및 생존율과의 관계를 통계학적으로 분석하였다.

**결과** : 자궁내막암 환자의 MMP-2,-9, TIMP-1,-2 발현율은 각각 71.7%, 54.9%, 41.2%, 76.5%이었다. MMP-2,-9, TIMP-1,-2 발현과 개별적인 임상병리학적 예후인자들과의 상관관계 분석에서는 림프절 전이 양성군에서 통계학적으로 유의한 MMP-2 발현 증가를 나타내었고( $p=0.04$ ), 복강세포진 양성군에서는 통계학적으로 유의하지는 않았으나 MMP-2 발현이 증가하는 경향을 나타내었다( $p=0.07$ ). 그리고 특히 림프절 전이 양성군에서는 MMP-2와 TIMP-2 동시 발현하는 성향이 매우 의미있게 높았으며( $p<0.01$ ), 복강 세포진 양성군에서도 MMP-2와 TIMP-2 동시 발현하는 성향이 매우 의미있게 높았다( $p=0.03$ ). 자궁내막암 환자 55명의 전체 5년 생존율은 88.8%이었으며, MMP-2,-9, TIMP-1,-2 발현 여부에 따른 생존율 분석상에서는 통계학적으로 의미있는 차이가 없었다.

**결론** : 이번 연구에서는 MMP와 TIMP의 발현이 전체 5년 생존율과 직접 연관성은 없었지만, 림프절 전이 양성군과 복강세포진 양성군에서 통계학적으로 유의하게 MMP-2 및 TIMP-2가 동시 발현되는 상관 관련성이 있었다.

**중심단어** : 자궁내막암, MMP, TIMP, 예후인자

## 서 론

폐경기 이후의 여성에서 주로 발생하는 자궁내막암은 현재 서구 선진국에서는 가장 흔히 발생하는 여성 생식기암으로서, 2006년 미국에서는 약 41,200명의 신환이 발생하고 7,350명 정도가 사망하였다고 보고되었다.<sup>1</sup> 국내에서는 자궁경부암, 난소암에 이어 3위의 발생빈도를 보이는 여성 생식기암이며, 1991년 부인암 등록사업을

시작한 이후 꾸준히 증가하여 2002년에는 5배 이상의 가장 현저한 증가를 보이고 있으며, 한국 여성의 점차 서구화되고 있는 생활 행태, 호르몬 노출, 임신 횟수, 초경 연령, 폐경 연령 등의 변화와 관련되어 향후 급속히 증가할 것으로 예상되는 여성생식기암이다.<sup>2</sup>

국내 문헌 보고상 우리나라 여성의 자궁내막암 발생 평균 연령은 52-56세이었으며, 가장 흔한 증상은 질출혈로서 환자의 74.0-90.9%에서 발생하였다고 보고되었으며, 병리조직학적 분류상 자궁내막양성암이 82.0-99.0%로 가장 많이 발생하였으며, 세포분화도 1이 22.2-65.7%로 가장 흔하였고, FIGO 수술적 병기상으로는 제 1기가 57.8-83.2%로 가장 많았다고 보고되었다. 자궁내막암 환자의 70-80% 정도는 진단시 병변이 자궁에 국한된 초기

논문접수일 : 2008년 2월 15일 채택일 : 2008년 2월 28일

교신저자 : 김원규, 602-702 부산광역시 서구 압남동 34번지  
고신대학교 의과대학 산부인과학교실  
전화 : 051) 990-6463 · 전송 : 051) 244-6939  
E-mail : kwg@kosinmed.or.kr

상태로 발견되지만, 자궁내막암 환자의 전체 5년 생존율은 약 75%로서 자궁경부암의 생존율보다 낮아 예후와 관련된 인자를 규명하는 것은 임상적 의의가 크다고 하겠다.<sup>3-5</sup>

자궁내막암의 예후와 관련된 위험 인자들로는 환자의 연령, 병리조직학적 유형, 조직학적 분화도, 자궁근층 침범도, FIGO의 수술적 병기, 림프절 전이, 복강세포진, 술 전 CA-125, 종양의 크기, 림프혈관 침습, 자궁부속기 전이, 호르몬 수용체, DNA ploidy, 암 유전자 발현 및 종양 억제 유전자 소실 등이 있다.<sup>3,6</sup> 최근 들어서는 이러한 종양의 임상병리학적 예후인자와 생존율과의 연구뿐만 아니라, 분자생물학적 인자들의 예후와의 관련성 연구가 많이 진행되고 있다.

종양이 성장하여 침습, 전이를 일으키기 위해서는 암 세포 침습에 일차적인 장벽역할을 하는 기저막층 및 세포외기질의 분해 과정이 필수적인데,<sup>7</sup> 최근 종양의 단백질 분해 효소 발현의 변화를 연구함으로써 종양 세포의 생물학적 특징 및 예후 추측에 관련된 연구가 시도되고 있다. 특히 matrix metalloproteinases (MMP)는 종양의 침습과 전이 과정 중에서 중요한 역할을 하며, 이들의 억제 인자인 tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP)는 MMP에 의한 기저막 파괴 및 세포외기질 분해 작용을 조절한다.<sup>8,9</sup>

MMP는 아연 또는 칼슘 의존성의 효소군으로서 현재까지 23종류(MMP-1, MMP-23)가 발견되었으며, 이들은 각각이 분해하는 기질의 종류에 따라서 interstitial collagenases (MMP-1,-8,-13,-18), gelatinases (MMP-2,-9), stromelysins (MMP-3,-10), elastases, membrane-type MMP의 5군으로 나뉜다.<sup>10,11</sup> 이들 중 gelatinases (MMP-2, MMP-9)는 실험실 상에서 기저막의 중요한 구성 성분인 제 4형 collagen과 fibronectin을 분해하고 신생혈관 형성에도 관여하여 종양의 침습을 유도하는 것으로 알려져 있다.<sup>12</sup> 특히 MMP-2는 종양세포의 악성도와 밀접한 연관성이 있다고 알려져 있으며 결장선암, 췌장암, 전립선암, 유방암, 난소암, 구강암, 두경부암, 간암, 뇌종양 등에서 MMP-2의 발현 증가를 보이는 경우 주위조직으로의 침습과 림프절 전이의 빈도가 증가하였다는 보고도 있다.<sup>13-18</sup>

TIMP는 MMP에 의한 기질 분해작용을 조절하는 억제 인자인데, 정상조직에서는 MMP와 TIMP의 분비가 균형

을 이루으로써 기저막의 분해 대사가 적절히 조절되고 있으나 악성종양에서는 이들 간의 불균형으로 인해 암의 침습과 전이가 조장될 수 있다.<sup>19,20</sup> 현재까지 TIMP는 다양한 조직에 분포하는 TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3와 심장에만 국한되어 존재하는 TIMP-4가 알려져 있다.<sup>21,22</sup> TIMP-1은 활성형의 interstitial collagenases, stromelysins, gelatinases (MMP-2, MMP-9)들과 화학적으로 1 : 1 복합체를 형성하여 이들의 분해능을 억제하며, TIMP-2는 TIMP-1과 밀접한 연관성을 가지며 활성형의 MMP-2와 가장 강력한 결합력을 보인다. 특징적으로 TIMP의 기능 중에는 경우에 따라 MMP 기능을 활성 촉진 역할을 하기도 하는데, 예를 들어 TIMP-2의 기능 중에는 비활성화 Pro-MMP-2를 활성화 MMP-2로 전환 촉진시키는 기능도 있다.<sup>23</sup>

TIMP-1과 TIMP-2는 암조직의 간질세포에서 주로 발현되는데, 보고에 따르면 이들의 발현은 암세포의 침습에 대한 생체 방어반응으로서 불량의 예후를 의미한다는 주장이 제기되기도 하고,<sup>24</sup> 다른 연구에서는 TIMP의 생산 저하시에 MMP의 분비 조절에 이상이 생기거나 과다하게 활성화하게 된다고 보고되고 있다.<sup>25</sup> 또 다른 연구에서 MMP와 TIMP의 발현은 암의 종류에 따라 각각의 발현 정도와 발현세포가 다르다고 보고되어 있다.<sup>12,26,27</sup> 그리하여 MMP와 TIMP는 매우 복잡한 기전에 의해 조절되고 있음을 시사하고 있기에, 본 저자는 자궁내막암에서 MMP-2,-9 및 TIMP-1,-2의 발현이 주요 임상병리학적 예후인자들과 어떤 관련이 있는지, 그리고 생존율과 어떤 관련이 있는지를 연구하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구대상

1995년 1월부터 2003년 12월까지 본원 산부인과에서 자궁내막암으로 진단받고 자궁적출술을 시행한 환자들 중 병리학적 재검토가 가능하였던 55명의 환자를 대상으로 임상병리학적 특징을 조사하였으며, MMP-2,-9 및 TIMP-1,-2에 대한 면역조직학적 검사를 시행하였다. 이를 토대로 상관관계 분석 및 생존율 분석을 하였으며, 생존율 분석을 위한 대상 환자의 평균 추적기간은 61개월이었다.

## 2. 연구방법

### 1) 임상병리학적 특징

환자의 임상병리학적 특징은 의무기록을 통하여 연령, 병리조직학적 분류, 조직학적 분화도, 자궁근층 침범도, FIGO의 수술적 병기, 림프절 전이 유무, 복강세포진 유무, 그리고 술전 CA-125치로 나누어 확인하였다. 환자의 병리조직학적 분류 및 조직학적 분화도는 수술 후 병리조직학적 소견을 기준으로 하였으며, 환자의 병기 분류는 FIGO의 수술적 병기 분류를 따랐다. 환자의 질병 상태 및 생존여부 확인을 위하여 의무기록지와 전화연락을 통하여 확인하였으며, 최초 진단일부터 마지막 생존여부 확인일까지를 생존기간으로 하였다.

### 2) 면역조직화학적 검사

면역조직화학적 표본의 제작, 염색 및 판정은 다음과 같이 하였다. 파라핀에 포매된 조직을 4  $\mu$ m 두께의 절편 aminopropyltri-ethoxysilane (APEOS, Sigma, USA)이 도포된 유리 슬라이드에 부착시키고 60도에서 1시간 파라핀을 녹인 후 100% xylene에서 10분간 2회 탈파라핀 과정과 90%, 85%, 80%, 70%, 60%, 50% 계열 알코올로 10분간 함수 과정을 거친 후 증류수로 세척하였다. 항원성 회복을 위하여 1% zinc sulfate (Sigma, USA)가 포함된 10 mM citrate 완충액(pH 6.0)에 슬라이드를 넣고 microwave 오븐을 이용하여 5분간 3회 가열하였다. 항체에 대한 비특이적 Tris buffer에 30분간 실온에서 반응시켰다. 메탄올과 30% 과산화수소수가 9 : 1 비율로 섞인 용액에 10분간 처리하여 내인성 peroxidase를 차단한 후 Tris buffered saline (10 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7.2)으로 3회 수세하였다. 이후의 과정은 DAKO 회사의 LSAB (Labeled streptavidin biotin) kit를 이용하여 시행하였다. 15분간 normal goat serum을 처리한 후 단클론 일차항체인 MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2를 희석하여 실온에서 60분간 반응시켰다. TBS로 10분간 3차례 수세한 후 이차항체인 horser biotinylated anti-rabbit IgG (1 : 50 in TBS, sigma)을 실온에서 30분간 반응시켰다. TBS로 다시 3차례 수세한 후 peroxidase-conjugated streptavidin (1 : 500 in TBS, DAKO)과 실온에서 30분간 반응시킨 후 TBS로 수세하고 AEC (3-amino-9-ethyl-carbazole)로 10-20분간 실온에서 발색시켰다. 다시 TBS로 세 차례 수세한 후 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색

하고 Crystal mount를 사용하여 봉입한 후 검정하였다. 사람의 태반조직을 양성 대조 표본으로 사용하였으며, 음성 대조 표본을 일차항체 대신 TBS를 사용하여 위의 동일한 방법으로 염색하였다.

MMP-2, MMP-9, TIMP-1 및 TIMP-2의 발현에 대한 판독은 종양세포의 세포질이나 종양세포 주변 기질 세포질에서의 염색이 주변 비종양성 림프구나 선상피 조직의 염색 정도보다 유사하거나 더 강하게 세포질에 염색될 때, 그 발현 범위가 검색 범위의 비특이적인 국소 발현을 제외한 5% 이상일 경우를 양성으로 판독하였다.

### 3) 통계학적 분석

통계학적 분석은 SPSS 12.0 프로그램을 이용하여 구하였다. 자궁내막암의 각각의 주요 임상병리학적 예후인자들에 대한 MMP-2, -9, TIMP-1, -2와의 상관관계 분석에서는 Pearson의 카이제곱 검정을 이용하였으며, 전체 5년 생존율 분석에서는 Kaplan-Meier법과 Log-Rank법을 이용하였으며, 통계학적 유의수준은 p-value <0.05 미만으로 하였다.

## 결 과

### 1. 환자의 임상병리학적 특징

55명의 자궁내막암 환자들의 연령 분포는 34-82세, 평균 연령은 51.8세이었다. 50세를 기준으로 나눈 연령별 분류상 50세 이상의 환자 34명(61.8%), 50세 미만의 환자 21명(38.2%)이었으며, 연령대별 발생빈도는 50-59세가 23명(41.8%)으로 가장 많은 빈도를 보였고, 다음으로 40-49세 15명(27.3%), 60-69세 9명(16.4%)의 순이었다. 병리조직학적 분류상 자궁내막양 선암(endometrioid adenocarcinoma)이 51명(92.7%)으로 대부분을 차지하였으며, 그 외 비자궁내막양 선암(non-endometrioid adenocarcinoma)이 4명(7.3%)이었다. 조직학적 세포분화도 분류상 세포분화도 1은 24명(43.6%), 세포분화도 2는 23명(41.8%), 세포분화도 3은 8명(14.6%)을 나타내었다. 술후 병리조직학적 검사상 자궁내막에 국한된 환자가 7명(12.7%), 자궁근층 1/2 미만 침범한 환자가 20명(36.4%), 자궁근층 1/2 이상 침범한 환자는 28명(50.9%)이었다. FIGO의 수술적 병기상 분포를 보면 병기 I이 40명(72.7%)으로서 대부분을 차지하였고, 병기 II는 8명

(14.6%), 병기 III은 6명(10.9%), 병기 IV는 1명(1.8%)이었다. 개복 직후 복강세포진 검사에서는 음성 환자가 46명(83.6%)으로 대부분이었으며, 양성 환자 7명(12.7%), 불명 2명(3.6%)이었다. 수술시 골반림프절 절제술을 시행하여 검사한 결과에서 림프절 전이 음성 환자 45명(81.8%), 림프절 전이 양성 환자 9명(16.4%), 불명 1명(1.8%)이었다. 술전 CA-125치는 35 U/ml 미만 환자 32명(58.2%), 35 U/ml 이상 환자 19명(34.5%), 불명 4명(7.3%)이었다(Table 1).

## 2. MMP-2,-9, TIMP-1,-2 발현율

전체 55명의 자궁내막암 환자에서 MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2의 발현율은 각각 71.7%, 54.9%, 41.2%, 76.5%이었다(Table 2, Fig. 1-4).

**Table 1. The clinicopathologic characteristics of patients with endometrial cancer**

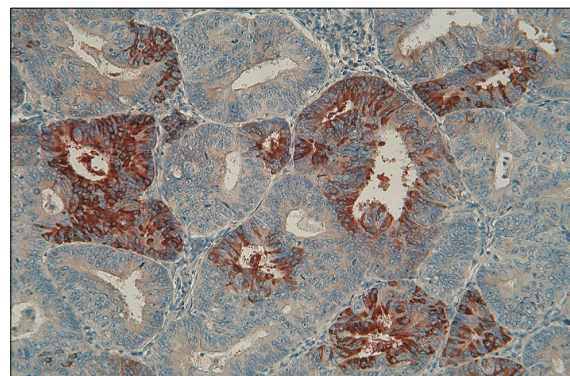
Clinicopathologic factors	Numbers of patients (%)
Age (n=55)	
<50	21 (38.2)
≥50	34 (61.8)
Histological type (n=55)	
Endometrioid carcinoma	51 (92.7)
Non-endometrioid carcinoma	4 (7.3)
Histological grade (n=55)	
Grade 1	24 (43.6)
Grade 2	23 (41.8)
Grade 3	8 (14.6)
Myometrial invasion (n=55)	
Negative	7 (12.7)
<1/2	20 (36.4)
≥1/2	28 (50.9)
Surgical stage (n=55)	
Stage I	40 (72.7)
Stage II	8 (14.6)
Stage III	6 (10.9)
Stage IV	1 (1.8)
Peritoneal cytology (n=55)	
Negative	46 (83.6)
Positive	7 (12.7)
Unknown	2 (3.6)
Lymph node metastasis (n=55)	
Negative	45 (81.8)
Positive	9 (16.4)
Unknown	1 (1.8)
CA-125 level (n=55)	
<35 U/ml	32 (58.2)
≥35 U/ml	19 (34.5)
Unknown	4 (7.3)

## 3. 임상병리학적 예후인자들과 MMP-2,-9, TIMP-1,-2 발현과의 상관관계

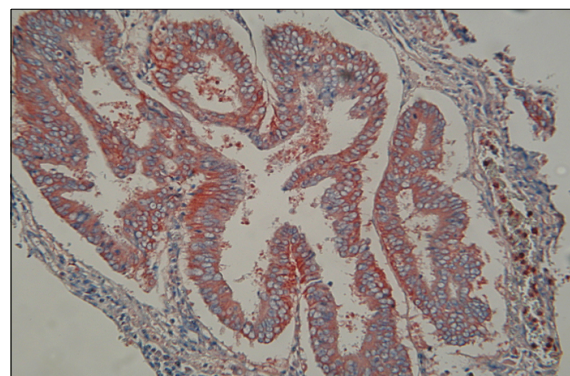
FIGO의 수술적 병기에 따른 MMP-2,-9, TIMP-1,-2의 발현과의 상관관계 분석에서는 모두 통계학적 유의성이 없었으나, 특징적으로 병기 3기와 4기 환자군 7명 모두가 TIMP-2 발현 증가되는 경향을 나타내었다( $p=0.11$ ).

**Table 2. The expression rate of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in endometrial cancer**

Biologic factor	Numbers and rate of expression
MMP-2	38/53 (71.7%)
MMP-9	28/51 (54.9%)
TIMP-1	21/51 (41.2%)
TIMP-2	39/51 (76.5%)



**Fig. 1. Isolated endometrial tumor glands show focal immunostaining to MMP-2 in tumor cell cytoplasm ( $\times 200$ , MMP-2).**



**Fig. 2. Endometrial tumor glands show diffuse immunostaining to MMP-9 in tumor cell cytoplasm and stromal cell components ( $\times 200$ , MMP-9).**

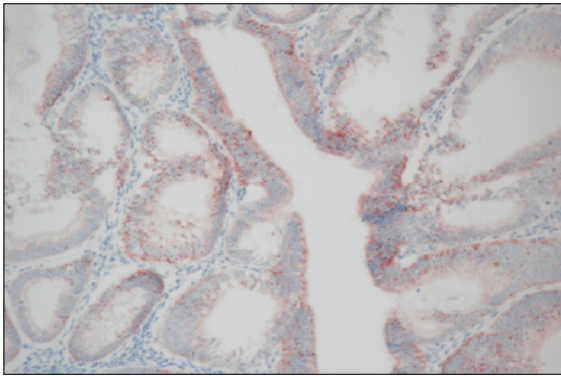


Fig. 3. Endometrial tumor glands show diffuse immunostaining to TIMP-1 in tumor cell (×200, TIMP-1).

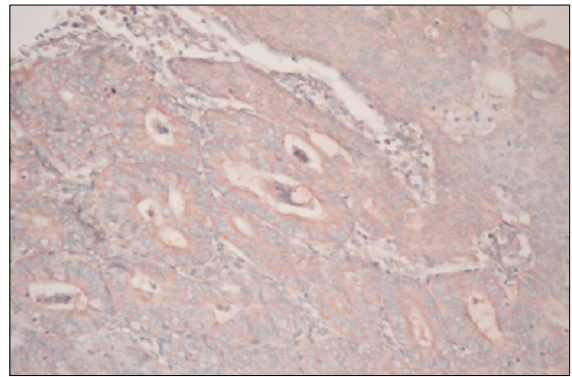


Fig. 4. Endometrial tumor glands show diffuse immunostaining to TIMP-2 in tumor cell (×200, TIMP-2).

Table 3. The correlation between the expression of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 and the clinicopathologic parameters in endometrial cancer

Clinicopathologic factors	MMP-2 (-) (+)	MMP-9 (-) (+)	TIMP-1 (-) (+)	TIMP-2 (-) (+)
Age				
<50 (n=21)	5 16	9 11	14 7	6 14
≥50 (n=34)	10 22	14 17	16 14	6 25
Histological type				
Endometrioid ca. (n=51)	13 36	20 27	28 19	11 36
Non-endometrioid ca. (n=4)	2 2	3 1	2 2	1 3
Histological grade				
Grade 1 (n=24)	4 18	11 11	11 10	5 19
Grade 2 (n=23)	9 14	10 11	14 8	5 14
Grade 3 (n=8)	2 6	2 6	5 3	2 6
Myometrial invasion				
Negative (n=7)	2 4	1 4	5 1	3 4
< 1/2 (n=20)	5 15	8 12	9 10	4 13
≥ 1/2 (n=28)	8 19	14 12	16 10	5 22
Surgical stage				
Stage I, II (n=48)	14 32	20 26	26 19	12 32
Stage III, IV (n=7)	1 6	3 2	4 2	0 7
Peritoneal cytology				
Negative (n=46)	15 29	20 23	26 17	11 31
Positive (n=7)	0 7	3 3	3 3	0 7
Lymph node metastasis*				
Negative (n=45)	15 28	19 23	24 19	12 30
Positive (n=9)	0 9	4 4	6 1	0 8
CA-125 level				
<35 U/ml (n=31)	11 18	16 13	20 9	9 21
≥35 U/ml (n=20)	3 17	7 11	9 10	3 15

\*Expression of MMP-2 is significantly correlated with the group of positive lymph node metastasis in endometrial cancer (p=0.04)

복강세포진 유무에 따른 MMP-2,-9, TIMP-1,-2의 발현과의 상관관계 분석에서는 모두 통계학적으로 유의성이

없었으나, 특징적으로 복강세포진 양성인 군 7명 모두에서 MMP-2의 발현(p=0.07) 및 TIMP-2 발현이 증가하는

**Table 4. The correlation between the coexpression of MMP-2 and TIMP-2 and the clinicopathologic factors in endometrial cancer**

Clinicopathologic factors	Coexpression of (-)	MMP-2 and TIMP-2 (+)	p-value
Surgical stage			
Stage I, II (n=45)	22	23	0.10
Stage III, IV (n=7)	1	6	
Peritoneal cytology			
Negative (n=43)	22	21	0.03
Positive (n=7)	0	7	
Lymph node metastasis			
Negative (n=43)	23	20	<0.01
Positive (n=8)	0	8	
CA-125 level			
<35 U/ml (n=30)	16	14	0.14
≥35 U/ml (n=19)	6	13	

경향을 나타내었다( $p=0.12$ ).

림프절 전이 유무에 따른 MMP-2, -9, TIMP-1, -2의 발현과의 상관관계 분석에서는 림프절 전이가 존재하는 군 9명 모두에서 MMP-2 발현이 통계학적으로 유의하게 증가하는 상관관계를 나타내었으며( $p=0.04$ ), TIMP-2 발현은 통계학적으로 유의하지는 않았지만 8명 모두에서 증가하는 경향을 나타내었다( $p=0.08$ ).

술전 CA-125치에 대한 MMP-2, -9, TIMP-1, -2의 발현과의 상관관계 분석에서는 모두 통계학적으로 유의성이 없었으나, 술전 CA-125치 35 U/ml 이상인 군에서 MMP-2 발현이 증가하는 경향이 있었다( $p=0.08$ ) (Table 3).

그 외 연령, 병리조직학적 유형, 세포분화도, 그리고 자궁근층 침범정도에 대한 MMP-2, -9, TIMP-1, -2의 발현과의 상관관계 분석에서는 모두 통계학적 유의성이 없었다.

#### 4. 임상병리학적 예후인자들과 MMP-2, TIMP-2 동시 발현군과의 상관관계

자궁내막암의 임상병리학적 예후인자들과 MMP-2, -9, TIMP-1, -2 발현과의 개별적 상관관계 분석에서는 단지 림프절 전이 양성인 군에서 MMP-2 발현이 통계학적으로 유의하게 증가하였다. 나머지 상관관계 분석에서는 통계학적 유의성이 없었으나, 특징적으로 림프절 전이 양성군, 복강세포진 양성군, 수술적 병기 3-4기, 술전 CA-125  $\geq 35$  U/ml 군에서 MMP-2 발현 및 TIMP-2 발현되는 성향이 높았다. TIMP-2는 MMP-2의 억제조절인자

이면서 Pro-MMP-2의 활성화 촉진인자이기 때문에 MMP-2, TIMP-2 동시 발현군에 대해서만 다시 조사하였다.

림프절 전이 양성군은 통계학적으로 매우 유의하게 MMP-2, TIMP-2 동시 발현 성향을 나타내었으며( $p < 0.01$ ), 복강세포진 양성군에서도 통계학적으로 유의한 상관관계를 나타내었다( $p=0.03$ ). 수술적 병기와 CA-125에 대한 상관관계 분석에서는 통계학적으로 유의하지 않았다(Table 4).

#### 5. 생존율 분석

자궁내막암의 임상병리학적 예후인자들과 MMP-2, -9, TIMP-1, -2의 발현 여부가 환자의 생존율에 있어서 의미 있는 예후 관련성이 있는지를 단변량 분석으로 조사하였다. 이 연구에서 55명의 자궁내막암 환자의 전체 5년 생존율은 88.79%이었으며, 개별적인 예후인자에 대한 자궁내막암과의 생존율 분석상에서는 수술적 병기에 대해서만 통계학적으로 유의한 전체 5년 생존율 감소를 보였고( $p < 0.01$ ), MMP-2, -9, TIMP-1, -2 발현 여부를 비롯한 나머지 임상병리학적 예후인자들에 따른 생존율 분석상에서는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다(Table 5, 6).

## 고 찰

세포외기질의 항상성은 MMP 시스템, 즉 matrix metalloproteinases (MMP)로 알려진 단백분해효소와 그

**Table 5. The survival analysis for clinicopathologic factors in endometrial cancer**

Clinicopathologic factors	Mean survival times (months)	5-year survival (%)	p-value
Age			
<50 (n=21)	125	95.24	0.15
≥50 (n=34)	91	84.40	
Histological type			
Endometrioid carcinoma (n=51)	107	90.20	0.50
Non-endometrioid carcinoma (n=4)	108	75.00	
Histological grade			
Grade 1 (n=24)	121	95.83	>0.1
Grade 2 (n=23)	93	81.84	
Grade 3 (n=8)	94	87.50	
Myometrial invasion			
Negative (n=7)	NA*	100.0	>0.1
< 1/2 (n=20)	104	95.00	
≥ 1/2 (n=28)	105	81.63	
Surgical stage			
Stage I, II (n=48)	120	93.38	<0.01
Stage III, IV (n=7)	76	57.14	
Peritoneal cytology			
Negative (n=46)	94	88.77	0.99
Positive (n=7)	116	85.71	
Lymph node metastasis			
Negative (n=45)	96	88.51	0.78
Positive (n=9)	119	88.89	
CA-125 level			
<35 U/ml (n=31)	110	93.32	0.19
≥35 U/ml (n=20)	108	80.00	
Total	115	88.79	

\*NA; nonassessment

**Table 6. The survival analysis for MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in endometrial cancer**

Biologic factors	Mean survival times (months)	5-year survival rate (%)	p-value
MMP-2			
Negative (n=15)	91	92.31	0.96
Positive (n=38)	116	86.84	
MMP-9			
Negative (n=23)	117	90.87	0.68
Positive (n=28)	101	92.86	
TIMP-1			
Negative (n=30)	106	89.60	0.82
Positive (n=21)	119	90.48	
TIMP-2			
Negative (n=12)	NA*	100	0.13
Positive (n=39)	110	84.37	
Coexpression of MMP-2, TIMP-2			
Negative (n=23)	95	94.74	0.39
Positive (n=29)	111	82.76	
Total	115	88.79	

\*NA; nonassessment



와 관련된 내분비 억제인자 tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP)의 작용에 의해 유지된다. MMP 시스템은 신체의 결합조직 재구성을 섬세하게 조절하는데, 태아 발달, 장기 형성, 신생혈관 형성, 연골 개조, 뼈 성장, 각막 복구, 상처 치료 등 다양한 과정에 참여한다. 그러나 종양, 관절염, 심혈관 질환과 같은 병적인 상태에서는 MMP 시스템의 미세한 조절기능이 붕괴되어 광범위한 세포외기질의 분해, 재구성이 발생한다.<sup>7-9</sup>

종양세포가 침습, 전이하는 기전은 매우 복잡한 과정을 거치게 되는데, 암세포 침습에 일차적인 장벽역할을 하는 기저막과 세포외기질 단백질을 분해하는 과정이 중요한 요소가 된다.<sup>7</sup> 특히 gelatinase (MMP-2, MMP-9)는 실질질 상에서 기저막의 중요한 구성 성분인 제 4형 collagen과 fibronectin을 분해하고 신생혈관 형성에도 관여하여 종양의 침습, 전이를 유도한다.<sup>12</sup> 정상조직에서는 MMP와 TIMP의 분비가 균형을 이루으로써 기저막의 분해, 재구성이 적절히 조절되고 있으나 악성종양에서는 이들 간의 불균형으로 인해 암의 침습과 전이가 조장될 수 있다. TIMP-1과 TIMP-2는 암조직의 간질세포에서 주로 발현되며, 특히 TIMP-2는 활성형의 MMP-2와 가장 강력한 결합력을 보인다. 특이한 것은 TIMP의 기능이 항상 MMP 기능을 억제하는 것만 있는 것이 아니라는 것인데, 예를 들어 TIMP-2의 기능 중에는 MMP-2 활성화 과정을 촉진시키는 기능도 있어 비활성화 Pro-MMP-2를 TIMP-2와 MT1-MMP가 관여하여 MMP-2로 활성화시킨다.<sup>8,9</sup> 최근 보고에 따르면 이들의 발현이 암세포의 침습에 대한 생체 방어반응으로서 불량한 예후를 의미한다고 제기되기도 하고,<sup>24</sup> 다른 연구에서는 TIMP의 생산 저하시에 MMP의 분비 조절에 이상이 생기거나 과다하게 활성화하게 된다고 보고되기도 한다.<sup>25</sup> 그리하여 MMP와 TIMP는 매우 복잡한 기전에 의해 조절되고 있음을 시사하고 있기에, 본 연구에서는 자궁내막암에서 MMP-2, 9 및 TIMP-1, 2의 발현이 주요 임상병리학적 예후인자들과 어떤 관련이 있으며 전체 생존율에는 어떠한 영향을 미치는지를 연구하게 되었다.

본 연구에서는 림프절 전이 양성군 9명 모두에서 MMP-2의 발현이 나타나 통계학적으로 유의한 상관관계를 나타내었다( $p=0.04$ ). 림프절 전이 양성군과 TIMP-2의 발현군과의 상관관계 분석에서는 통계학적 유의성이 없었으나 8명 모두에서 TIMP-2의 발현이 나타났는데

( $p=0.08$ ), 더 많은 모집단 크기에서 연구가 필요할 것으로 사료된다. 특히 림프절 전이 양성군과 MMP-2 및 TIMP-2 동시 발현군과의 상관관계 분석에서는 통계학적 유의성이 매우 높은 것으로 나타났는데, 림프절 전이 양성군 8명 모두에서 MMP-2 및 TIMP-2의 동시 발현이 나타났다( $p<0.01$ ).

복강세포진 검사와 MMP-2 발현 여부 혹은 TIMP-2 발현 여부와의 상관관계 분석에서는 모두 통계학적으로 유의하지 않았으나, 복강세포진 양성 6명 모두에서 MMP-2의 발현( $p=0.07$ ) 및 TIMP-2의 발현이 나타나( $p=0.12$ ) 더 많은 모집단 연구가 필요할 것으로 사료된다. 특히 복강세포진 양성군과 MMP-2, TIMP-2 동시 발현군과의 상관관계 분석에서는 복강세포진 양성인 6명 모두에서 통계학적으로 유의하게 MMP-2 및 TIMP-2의 동시 발현이 나타났다( $p=0.03$ ).

본 연구의 결과에서는 림프절 전이 양성군과 복강세포진 양성군에서 MMP-2, TIMP-2 동시 발현하는 성향이 통계학적으로 매우 의미있게 나타났는데, 이는 비활성화 Pro-MMP-2를 TIMP-2가 MMP-2로 활성화시키는 과정과 관련된 것으로 생각된다. Maatta 등은 자궁내막암에서 TIMP 발현과 함께 MT1-MMP 발현시에 자궁내막암의 침습, 성장에 중요 역할을 한다고 보고하였고,<sup>28</sup> Di Nezza 등은 MT1-MMP, MMP-2, MMP-9 연구에서 활성화 형태가 자궁내막암의 침습, 전이에 중요한 역할을 한다고 보고하였는데,<sup>29</sup> 이들 역시 Pro-MMP-2의 MMP-2로의 활성화 과정과 관련된 연구들이었다. 그런데 향후 연구에서는 이러한 TIMP-2의 발현이 활성화 MMP-2에 대한 억제인자로서 증가한 것인지, 아니면 비활성화 Pro-MMP-2에 대한 활성화 촉진 매개인자로서 증가한 것인지에 대한 확인 과정이 필요할 것으로 사료된다.

자궁내막암과 MMP, TIMP와의 관련성을 다룬 다른 연구들을 보면, Graesslin 등은 세포분화도에 따라서는 MMP-2 발현 증가 및 TIMP-2 발현 감소되고, 근층침범도와 림프절 전이에 따라서는 MMP-2 발현 증가 및 TIMP-2 발현 감소를 보고하였다.<sup>30</sup> Guo 등은 자궁내막암에서 MMP-2, MMP-9의 발현은 세포분화도와 침습 및 전이와 관련있으며, MMP-2가 주된 형태라고 보고하였다.<sup>31</sup> Moser 등은 MMP-1, -2, TIMP-2는 자궁내막암 환자의 전체 생존율과 관련이 없어 예후 인자로 도움이 안 된다고 하였고,<sup>32</sup> Honkavuori 등은 자궁내막암에서 MMP-2



가 악성도와 관련된 예후 가치를 지니지만 CA-125보다 못하다고 하였고,<sup>33</sup> Aglund 등은 임상 경과에 대한 지표로서 추가적인 치료의 필요성을 결정하는데 유용하다고 하였다.<sup>34</sup>

한편, 본 연구에서 자궁내막암의 예후인자들에 대한 전체 5년 생존율 분석은 단변량 분석상 수술적 병기 3기, 4기군에서만 통계학적으로 유의한 생존율 감소를 보였으며( $p < 0.01$ ), 나머지 임상병리학적 예후인자들과 MMP, TIMP 발현과의 생존율 분석에서는 유의한 차이를 보이지 않았다. MMP, TIMP 발현에 대한 생존율 분석에서는 통계학적으로 유의한 생존율 차이가 없었지만, 림프절 전이 및 복강세포진 양성군에서 MMP-2, TIMP-2 동시 발현하는 성향이 매우 강한 것으로 볼 때 좀 더 많은 모집단의 전향적 연구가 필요할 것으로 보인다.

본 연구의 전체적인 결과로 보았을 때, 자궁내막암에서 MMP-2과 TIMP-2 동시 발현시에 자궁밖으로의 전이 위험성을 예측하는데 보조적 역할을 하리라 기대된다. 즉, MMP-2, TIMP-2 동시 과다 발현이 있는 경우에서 예후가 안 좋은 질병의 경과로 진행할 수 있다는 것을 암시할 수 있으며, 추가적인 치료 결정에 유용할 것으로 보인다.

## 참고문헌

1. Jemal A, Siegel R, Ward E. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 106-30.
2. Annual report of gynecologic cancer registry program in Korea for 2002 (2002.1.1-2002.12.31). *Korean J Obstet Gynecol* 2004; 47: 1029-70.
3. Oh SH, Jun CY, Kim JW, Park JS, Namkoong, Kim SJ. Endometrial carcinoma; Clinicopathologic analysis. *Korean J Obstet Gynecol* 1987; 30: 1661-72.
4. Shin SC, Han SW, Kim KL, Kwon JY, Jung IB, Cha DS. Endometrial carcinoma; Clinicopathologic analysis. *Korean J Obstet Gynecol* 1994; 37: 1821-8.
5. Jeon WJ, Moon EJ, Ryu SY, Kim JH, Kim BG, Park SY, et al. Clinicopathologic characteristics and prognosis of endometrial cancer: A study of 100 cases. *Korean J Obstet Gynecol* 2000; 43: 1616-23.
6. Jonathan SB. Berek & Novak's gynecology. 14th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p.1362-6.
7. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia: Saunders; 1999. p.106-7.
8. Robert V, Hideaki N. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92: 827-39.
9. Curry TE, Osteen KG. Cyclic changes in the matrix metalloproteinase system in the ovary and uterus. *Biol Reprod* 2001; 64: 1285-96.
10. Stetler-Stevenson WG. Dynamics of matrix turnover during pathologic remodeling of the extracellular matrix. *Am J Pathol* 1996; 148: 1345-50.
11. Jones JL, Walker RA. Control of matrix metalloproteinase activity in cancer. *J Pathol* 1997; 183: 377-9.
12. Heppner KJ, Matrisian LM, Jensen RA, Rodgers WH. Expression of most matrix metalloproteinase family members in breast cancer represents a tumor induced host response. *Am J Pathol* 1996; 149: 273-82.
13. Kawami H, Toshiba AK, Ohsaki A, Kuroi K, Nishiyama M, Toge T. Stromelysin-3 mRNA expression and malignancy: Comparison with clinicopathologic features and type IV collagenase mRNA expression in breast tumors. *Anticancer Res* 1993; 13: 2319-24.
14. Nakagawa T, Kubota T, Kabuto M. Production of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinase-1 by human brain tumor. *J Neurosurg* 1994; 81: 69-77.
15. Stearns ME, Stearns M. Autocrine factors, type IV collagenase secretion and prostatic cancer cell invasion. *Cancer Metastasis Rev* 1993; 12: 39-52.
16. Takemura M, Azuma C, Kimura T, Kanai T, Saji F, Tanizawa O. Type IV collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinase in ovarian cancer tissues. *Inj J Gynecol Obstet* 1994; 46: 303-9.
17. Miyajima Y, Nakano R, Morimatsu M. Analysis of expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 in hypopharyngeal squamous cell carcinoma by in situ hybridization. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104: 678-84.
18. Ashida K, Nakatsukasa H, Higashi T. Cellular distribution of 92kd type IV collagenase/gelatinase B in human hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol* 1996; 149: 1803-11.
19. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG. Cancer metastasis and angiogenesis: An imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991; 64: 327-36.
20. Nuovo GJ, MacConnel PB, Simsir A, Valea F, French DL. Correlation of the in situ detection of polymerase chain reaction-amplified metalloproteinase complementary DNAs and their inhibitors with prognosis in cervical carcinoma. *Cancer Res* 1995; 55: 267-75.
21. Birkedal HH, Moore WG, Bodden MK. Matrix metalloproteinases: A review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4: 197-250.
22. Greene J, Wang M, Liu YE, Raymond LA, Rosen C, Shi YE. Molecular cloning and characterization of human tissue inhibitor of metalloproteinases 4. *J Biol Chem* 1996; 271: 30375-80.
23. Hurskainen T, Hoyhtya M, Tuuttila A, Oikarinen A, Autio-Harmainen H. mRNA expressions of TIMP-1, -2, and -3 and 92-KD type IV collagenase in early human placenta and decidua as studied by in situ hybridization. *J Histochem Cytochem* 1996; 44: 1379-88.

24. Paloff N, Sraskus PW, Kishmanai NS, Hawkes SP. A new inhibitor of metalloproteinase from chicken. *J Biol Chem* 1992; 267: 17321-6.
25. Lokeshwar BL, Selzer MG, Block NL, Gunja-Smith Z. Secretion of matrix metalloproteinase and their inhibitors (tissue inhibitor of metalloproteinase) by human prostate in explant culture: Reduced tissue inhibitor of metalloproteinase secretion by malignant tissues. *Cancer Res* 1993; 63: 4493-8.
26. Lindsay CK, Thorgeirsson UP, Tsuda H, Hirohashi S. Expression of tissue inhibitor of metalloproteinase and type IV collagenase/gelatinase messenger RNAs in human breast cancer. *Hum Pathol* 1977; 28: 359-66.
27. Ueno H, Nakamura H, Inoue M. Expression and tissue localization of membrane-type 1, 2 and 3 matrix metalloproteinase in human invasive breast carcinomas. *Cancer Res* 1997; 57: 2055-60.
28. Maatta M, Soini Y, Liakka A, Autio-Harmainen H. Localization of MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2, and TIMP-3 messenger RNA in normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium. Enhanced expression by endometrial adenocarcinoma is associated with low differentiation. *Am J Clin Pathol* 2000; 114: 402-11.
29. Di Nezza LA, Misajon A, Zhang J, Jobling T, Quinn MA, Ostor AG, et al. Presence of active gelatinases in endometrial carcinoma and correlation of matrix metalloproteinase expression with increasing tumor grade and invasion. *Cancer* 2002; 94: 1466-75.
30. Graesslin O, Cortez A, Fauvet R, Lorenzato M, Birembaut P, Darai E. Metalloproteinase-2, -7 and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium: A clinical-pathological correlation study. *Ann Oncol* 2006; 17: 637-45.
31. Guo W, Chen G, Zhu C, Wang H. Expression of matrix metalloproteinase-2, 9 and its tissue inhibitor-1, 2 in endometrial carcinoma. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2002; 37: 604-7.
32. Moser PL, Hefler L, Tempfer C, Neunteufel W, Kieback DG, Gitsch G. Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinase (MMP) 1 and 2, and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP 2) in stage I and II endometrial cancer. *Anticancer Res* 1999; 19: 2365-7.
33. Honkavuori M, Talvensaaari-Mattila A, Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T, Santala M. MMP-2 expression associates with CA 125 and clinical course in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 2007; 104: 217-21.
34. Aglund K, Rauvala M, Puistola U, Angstrom T, Turpeenniemi-Hujanen T, Zackrisson B, et al. Gelatinases A and B (MMP-2 and MMP-9) in endometrial cancer - MMP-9 correlates to the grade and the stage. *Gynecol Oncol* 2004; 94: 699-704.

**=ABSTRACT=**

**Expressions of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 as prognostic factors in endometrial cancer**

**Jong-Ryeol Choi, Tae-Hwa Lee, Young-Lim Oh, Chun-Jun Lee, Won-Gyu Kim**

*Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Kosin University, Busan, Korea*

**Objective** : Homeostasis of the extracellular matrix (ECM) is maintained by the action of a specific system of proteolytic enzymes known as matrix metalloproteinases (MMP) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP). The MMP/TIMP system regulates the composition and turnover of ECM to control the site and extent of connective tissue remodeling. In pathologic conditions, MMP play a key role in degradation of basement membrane and extracellular matrix, and is responsible for cancer invasion, progression and metastasis. The aim of this study is to evaluate the correlation between expressions of MMP/TIMP and clinicopathologic factors in endometrial cancer.

**Methods** : Expressions of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 were assessed by immunohistochemistry in a total of 55 endometrial cancers and were analyzed by the correlation between expressions of MMP/TIMP and clinicopathologic factors in endometrial cancer.

**Results** : Expression rates of MMP-2,-9, TIMP-1, and TIMP-2 were 71.7%, 54.9%, 41.2%, and 76.5% respectively. Expression of MMP-2 was correlated with the group of positive lymph node metastasis in endometrial cancer ( $p=0.04$ ). Specially, coexpression of MMP-2 and TIMP-2 was significantly more frequent in the group of positive lymph node metastasis ( $p<0.01$ ) and the group of positive peritoneal cytology ( $p=0.03$ ). In survival analysis, expressions of MMP and TIMP were not related to poor survival rate.

**Conclusion** : The expressions of MMP and TIMP were not a significant difference in survival analysis, but this study was recognized that the coexpression MMP-2 and TIMP-2 is correlated with lymph node metastasis and positive peritoneal cytology.

**Key Words** : Endometrial cancer, Matrix metalloproteinase, Tissue inhibitors of metalloproteinase, Prognostic factor

---

Address reprint requests to Won-Gyu Kim

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Kosin University

34, Amnam-dong, Seo-gu, Busan 602-702, Korea

Tel : 82-51-990-6463, Fax : 82-51-244-6939, E-mail : kwg@kosinmed.or.kr