Immune Network Vol. 1, No. 1, 2001

위암세포에서 세포유착물질의 발현 및 위암세포의 복막 내피세포에 대한 결합 능에 미치는 retinoic acid의 영향

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실[1], 외과학교실[2]

홍영선[1] · 박조현[2] · 박진노[1] · 이경식[1] · 김인철[2]

The effect of retinoic acid on the expression of cell adhesion molecules and binding ability to peritoneal mesothelium in gastric cancer cells

Young Seon Hong[1], Cho Hyun Park[2], Jin-No Park[1], Kyung Shik Lee[1], In Chul Kim[2]

Department of Internal Medicine[1], Surgery[2], Catholic University Medical College of Korea, Seoul, Korea

Background : Peritoneal metastasis is one of the major types of the stomach cancer recurrence and the role of the adhesion molecules is thought to be very much important in this event. Retinoic acid (RA) has been known to induce the growth inhibition and differentiation of various malignancies, and apoptpsis and the change of expression of adhesion molecules have been reported to be involved in the action of RA. **Methods :** We studied the adhesion abilities of SNU-1, SNU-5, and SNU-6 cells to the peritoneal endothelial cells as well as the expression of the adhesion molecules (CD44, ICAM-1) in Western blot analysis. And also we studied the expression of apoptosis and the change of expression patterns of the various isoforms of CD44 and the change of the adhsion abilities of the cell line cells after RA treatment. **Results:** CD44 was expressed in SNU-5 and -16, together with an isoform in SNU-16. ICAM-1 was not expressed in any of the cell line cells tested. After the treatment of RA in the concentration range of 1 - 5×10^{-5}M to three stomach cancer cell lines, growth inhibition, apoptosis and the change of expression of the CD44 were noted. After RA treatment, the expression of CD44H was weakly increased in SNU-1, and was markedly increased in SNU-5. In SNU-16, the expression of CD44H was decreased while that of CD44E were markedly increased. The adhesibility of cells to peritoneal cells was increased in relation with the increase of the CD44H expression, which shows the fact that the adhesibility of tumor cells to peritoneal mesothelial cells is mediated by CD44H recognizing hyaluronic acid. **Conclusion :** RA induces growth inhibition of stomach cancer cell line cells and increase the adhesiblity of stomach cancer cell line cells to peritoneal mesothelium. It is believed that RA decreases the metastatic ability of stomach cancer cells by upregulating the CD44H expression.

Key Words: retinoic acid, stomach cancer, adhesion molecules

서 론

위암의 사망원인은 다른 암의 경우와 마찬가지로 암의 재발 및 전이가 주를 이루며, 침윤된 장막으로부터 암세포가 떨어져 나와 복막내피세포에 생착 함으로써

책임저자: 홍영선, 가톨릭 대학교 의과대학, 성모병원 내과
150-713, 서울특별시 영등포구 여의도동 62
Tel: (02) 3779-1026, Fax: (02) 780-3132,
E-mail: y331@chollian.net

발생하는 복막전이가 가장 중요한 재발양상으로 알려져 있다(1-3). 그러나 복막전이를 예측하거나 이를 효과적으로 치료할 수 있는 만족할 만한 방법은 아직 개발되지 않았으며 따라서 복막전이는 위암환자의 삶의 질을 떨어뜨리고 사망에 이르게 하는 주원인으로 남아있다.

암 전이에 있어 암세포의 유착과정은 전이의 거의 모든 단계에 관여하는 것으로 알려져 있는데, 복막전이는 혈행성 전이나 림프행성 전이에 비하여 상대적으로 암세포의 생착이 용이하여 생착 성공 율이 10^6배나 높은 것으로 알려져 있으며(4) 이 때 세포유착물질의 역할이 매우 중요한 것으로 생각된다. 그러므로 암의 전이기전을 분자생물학적 수준에서 이해하고 이를 토대로 임상적으로 암의 전이를 조기에 예측하고 전이 억제대책을 수립함에 있어 세포 유착물질의 역할을 규명하는 것이 매우 중요하다. 그러나 지금까지 대부분의 연구는 암세포의 혈행성 전이기전에 치중되어 있으며 복막전이에 있어 세포유착물질의 역할에 관해서는 거의 보고된 바 없다.

retinoic acid(RA)는 급성 전 과립구성 백혈병이나(5) 구강 내 백반증(6)에서 탁월한 치료 및 암 예방효과가 발표된 이래 여러 가지 고형종양의 성장을 억제하고 분화를 유도하는 사실이 알려졌다(7-9). 최근에는 위암 세포 주에 RA를 투여 후 증식억제가 일어나며 이때 retinoic acid receptor(RAR)들의 발현이 의미 있게 증가하는 한편 apoptosis가 유발된다는 사실이 보고되었으며 또한 이들이 세포유착물질의 발현양상의 변화와 관련이 있다는 보고가 있어(10) RA의 작용기전에 대한 관심이 점점 높아지고 있는 현실이다.

저자들은 우리나라에서 가장 흔한 악성종양인 위암의 주 재발양상이 복막전이라는 점에 유의하여 복막전이에 관여하는 세포유착물질을 규명하고 RA 투여가 이에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 위암세포의 CD44와 ICAM-1 발현

1) 위암 세포 주

위암 세포 주 SNU-1, SNU-5, SNU-16(11)은 RPMI-1640 배지에 10% 우 태아 혈청, glutamine, 항생제 등을 첨가하여 37℃, 5% CO_2 습식 배양기에서 배양하며 일주일에 2회 계대하여 유지하였다. all-trans retinoic acid (RA, Sigma, USA)를 10% dimethylsulfoxide (DMSO, Sigma, USA)에 녹여서 연구개시일에 SNU-1, SNU-5, SNU-16 세포는 10-5M의 농도가 되게 배양액으로 희석하여 처치하였고, 배양 기간 중 3일마다 RA가 포함된 새로운 배양액으로 교체하였다.

2) Western blot

각각의 위암세포 10×10^6을 lysing buffer(10 mM Hepes, pH 7.9, 60 mM KCI, 1 mM EDTA, 1 % Triton X-100, 1 mM PMSF, 10 ㎍/㎖ Aprotinin)에서 10분간 처리한 후 13,000 g에서 10분간 원심 분리하여 상청 액을 얻은 다음, 단백질 정량분석을 시행하였다. 100 ㎍의 단백질을 취하여 동량의 sample buffer와 mercaptoethanol 처리 후 5분간 끓인 후 7% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis에 의해 분리를 시행하고 nitrocellulose membrane에 옮겨 5% dried milk (in TBS-T)로 밤새 4℃에서 block하였다. membrane을 세척 후 각 세포유착물질에 대한 단일클론항체 (2 ㎍/㎖)를 4℃에서 1시간 반응시킨 후 세척하고 이차항체를 1 : 5,000 농도로 상온에서 1시간 반응시켰다. ECL kit (Amersham, England)에 의해 chemiluminescence 방식으로 autoradiography film에 감광한 뒤 densitometry에 의해 정량 비교하였다.

2. 세포증식과 분화

세포배양 개시 직전에 각 농도의 RA 로 처치한 SNU-1의 세포 수를 Coulter counter를 이용하여 계산 기록하며, 5일간의 배양중 매일 같은 방법으로 세포수의 변화를 계산 비교하였다. 또한 RA처치 후 세포의 증식억제 및 분화여부를 알아보기 위하여 각 농도의 세포를 cytospin하여 고정 후 Papanicolou염색을 실시하고 위상차 현미경으로 형태학적 변화를 관찰하였다. 또 apoptosis의 형태학적 변화 및 세포분화에 따른 점액 과립구생성을 관찰하기 위하여 각 군의 세포를 5일간 배양한 후 900 rpm으로 20분간 원심분리하고 그 세포들을 통상 전자현미경 관찰을 위하여 4% paraformaldehyde/2.5% glutaraldehyde 혼합액과 1% osmium tetroxide액 (phosphate 완충 액, pH 7.4)에 고정한 다음, 탈수과정을 거쳐 Epon 812에 포매하여 초박 절편을 작성하였고, uranyl acetate와 lead citrate로 전자 염색하여 투과전자 현미경(JEM-1200 EX, Joel, Japan)으로 관찰하였다.

3. 위암세포의 복막내피세포에 대한 유착 능 연구

1) 복막 내피세포 배양

복막 내피세포는 Rheinwald등의 방법을 변형하여 암성복수로부터 얻었다. 간략하면, 암성 복수세포를 무균적으로 얻어 Hank's balanced salt solution(HBSS)로 2 회 세척한 후 10 % FCS/RPMI-1640에 5×10^6 /㎖로 재 부유 시킨 후 세포배양 플라스크에 붙도록 밤새 배양시켰다. 부유 물을 버린 후 복막내피세포가 풍부하게 부착된 세포들에 20% FCS/lsocove's 배지에 epidermal growth factor (5 ng/㎖)과 hydrocortisone (0.5㎍/㎖)을 더해 배양하였다. 이후 대식세포는 희석되어 없어지며 섬유세포의 성장도 미약해질 때까지 계속 계대 배양하였다. 섬유세포의 성장이 관찰되면 limiting dilution으로 핵이 작고 세포질이 넓게 퍼지며 세포질의 끝이 주름진 특징적인 형태를 보이는 복막 내피세포 만을 선택적으로 골라내었다.

2) 암세포 유착실험

복막 내피세포를 flat bottom microtiter well에 넣어 confluent growth를 얻은 다음 위암 세포를 ^{51}Cr(1 mCi/㎖)로 표지 한 후 $0.5\text{-}1\times 10^4$ 개의 세포를 넣고 2시간 유착하도록 하였다. 미 부착 부유 세포를 세척하고 0.1N NaOH로 부착세포를 녹여 gamma counter로 유리방사능을 측정하였다. 세포 부착 율은 평균 cpm(복막 내피세포 표면) - 평균 cpm (무세포 표면) / cpm (total) x 100 으로 계산하였다.

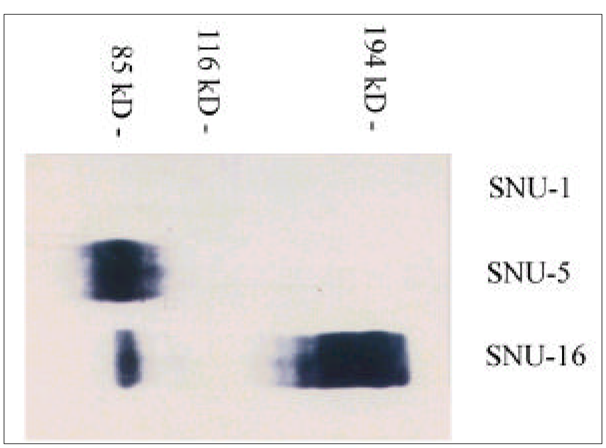


Fig. 1. Western blot analysis of CD44 expression in cancer cell lines.

결 과

1. 위암세포의 CD44, ICAM-1 발현

Western blot 검사 상 각 위암 세포 주 SNU-1, -5 및 -16의 세포유착물질 CD44의 발현은 다음과 같았다(그림 1). 즉 SNU-1에서는 CD44의 발현이 거의 없는데 반하여 SNU-5 및 SNU-16에서는 CD44H에 해당하는 80-90 kDa 크기의 띠가 뚜렷이 관찰되었다. SNU-5의 띠가 SNU-16에 비하여 넓게 관찰되는 것은 glycosylation의 정도가 심한 때문으로 생각되었다. 또한 SNU-16에서는 CD44H와 더불어 분자량이 큰 CD44 아형의 발현이 관찰되었다. Western blot은 CD44 단백질의 발현을 보기에 유용한 방법이나 CD44는 glycosylation을 포함한 post-

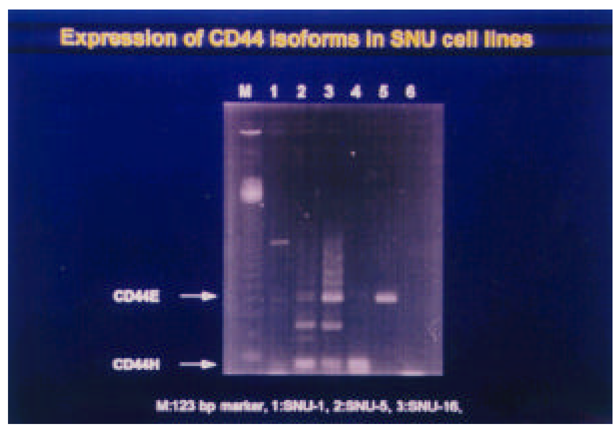


Fig. 2. PCR amplification of CD44 cDNA from gastric cancer cell lines.

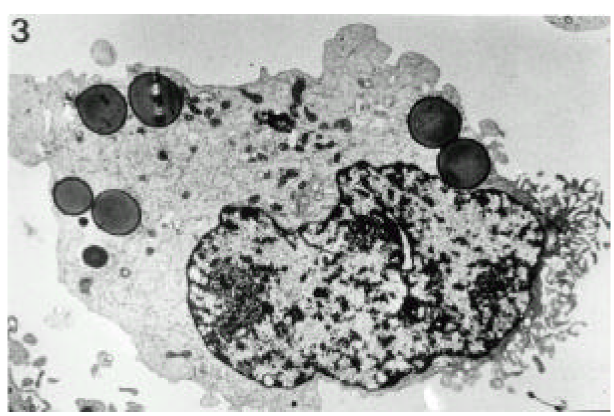


Fig. 3. The electron microscopic (EM) finding of a SNU-1 cell treated with 10^{-5} M RA for 5 days; the formation of mucin granules were observed inside the cytoplasm.

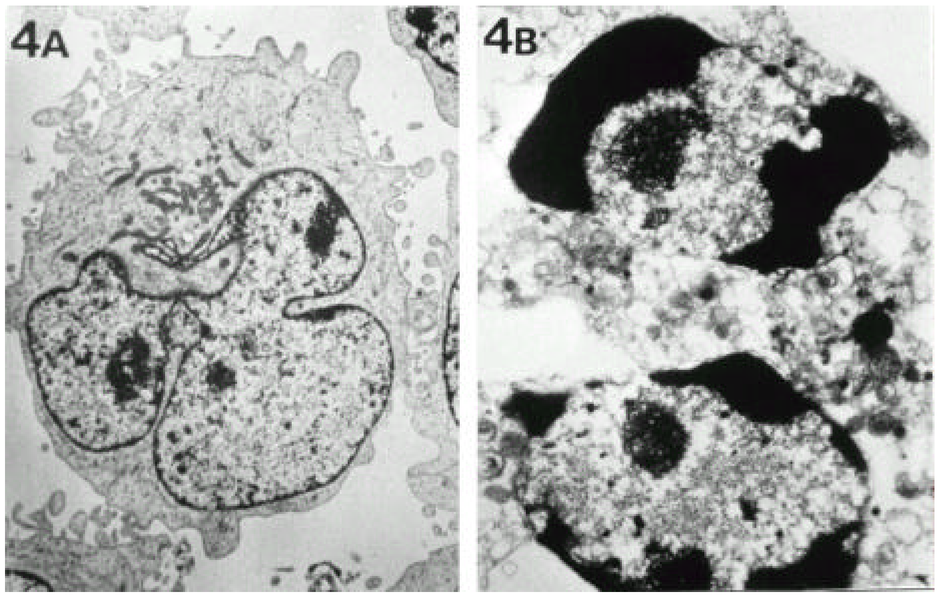
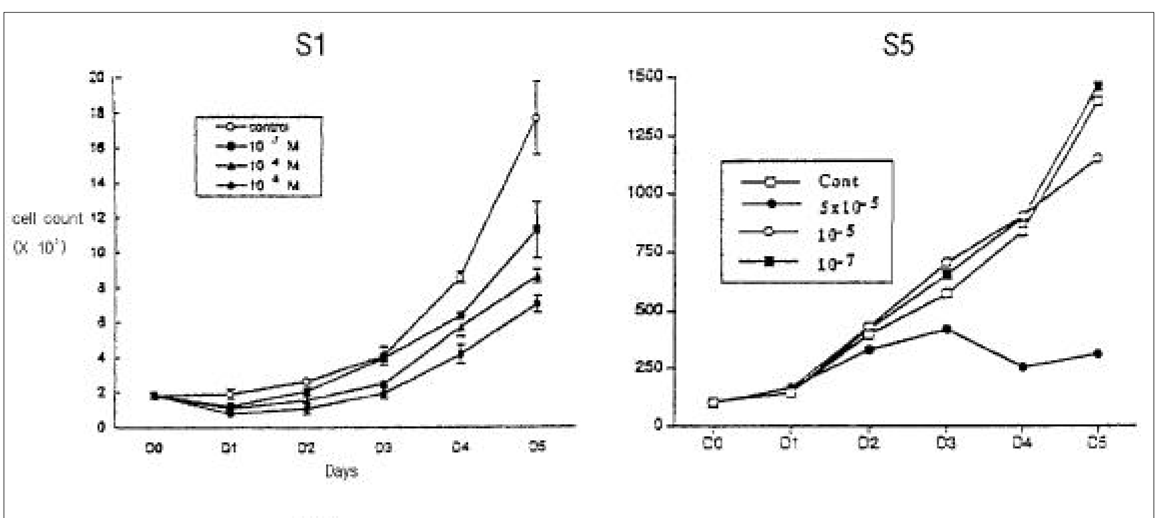


Fig. 4. (A) EM findings of a SNU-1 cell, cultured without RA for 5 days. (B) Apoptosis were observed in a SNU-1 cell treated with 10^{-5} M RA for 5 days.



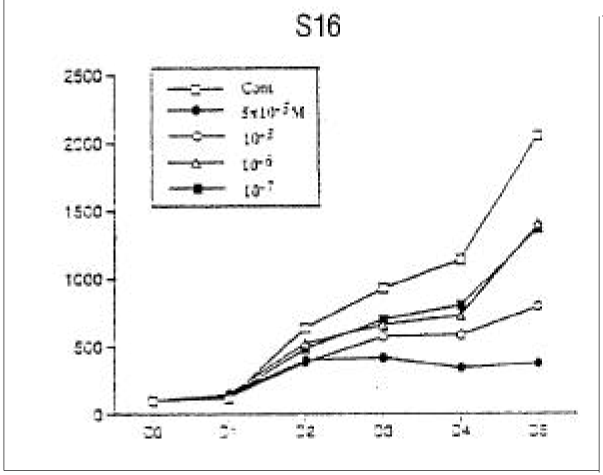


Fig. 5. The growth of SNU-1, SNU-5, and SNU-16 cells were maximally suppressed by 10^{-5} M RA treatment.

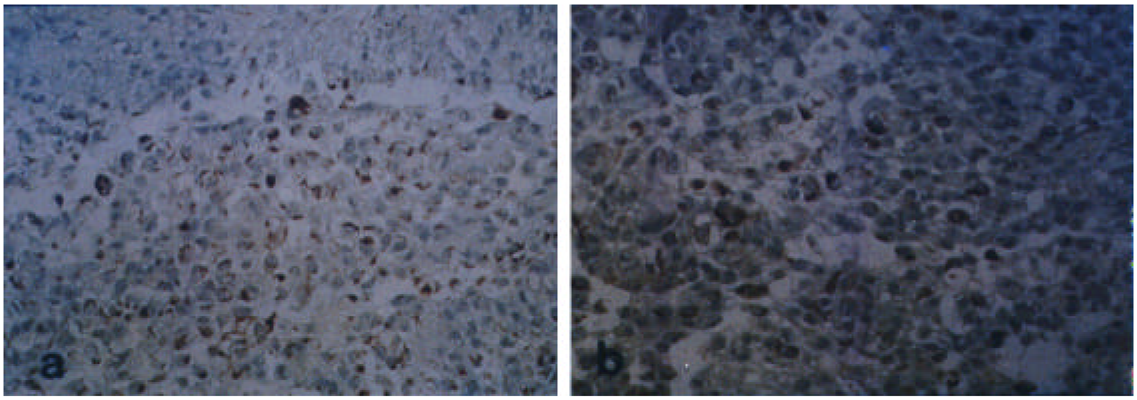


Fig. 6. Immunohitochemical staining for cytokeratin (a) and vimentin (b) reveals positive staining in cytoplasm of cultured mesothelial cells.

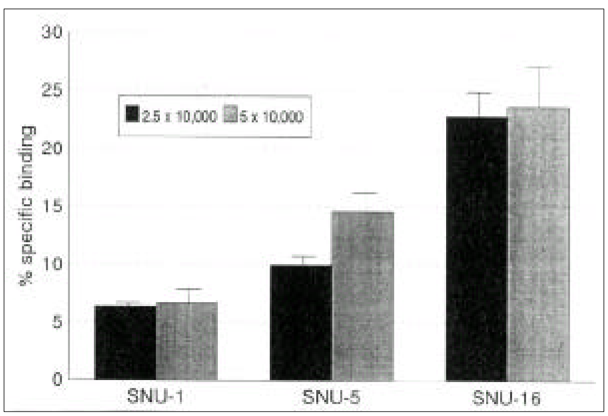


Fig. 7. Binding of stomach cancer cells to peritoneal mesothelium.

translational modification의 정도가 심하여 Western blot 상 넓은 띠를 형성하므로 개개의 아형을 정확하게 구별하기에는 한계가 있었다. 따라서 연구자들은 보다 정확한 개개의 아형의 발현을 조사하기 위하여 reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)을 시행한 바, Western blot의 결과와 마찬가지로 SNU-1에서는 CD44의 발현이 관찰되지 않았다. 반면 SNU-5에서는 CD44H의 발현이 뚜렷하였고 CD44E의 발현은 미약하게 관찰되었다. SNU-16에서는 CD44H와 아울러 CD44E의 발현이 뚜렷하여 Western blot상의 high-molecular-weight의 띠는 CD44E의 발현인 것을 알 수 있었다(그림 2). ICAM-1은 각 위암 세포 주에서 발현이 관찰되지 않았다.

2. RA에 의한 위암세포의 증식억제 및 Apoptosis

전자현미경 사진 상 RA 10^{-5}M로 5일간 처치한 SNU-1 세포에서 전형적인 apoptosis의 소견이 관찰되었다(그림 3, 4A, 4B). SNU-1의 경우 RA 10^{-5}M에서 성장억제 작용이 가장 뚜렷하게 관찰되었으며 10-4 M에서는 cell death가 관찰되어 toxic dose로 생각되었다. SNU-5 및 -16은 공히 5×10^{-5} M에서 성장억제 효과가 뚜렷하였다(그림 5).

3. 위암세포의 복막 내피세포에 대한 유착 능 연구

1) 복막 내피세포 배양

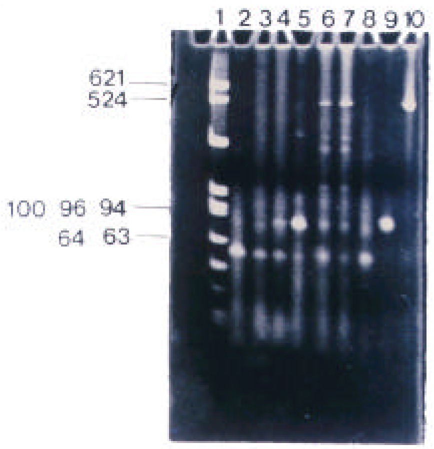
복막 내피세포는 핵이 작고 세포질이 넓게 퍼지며 세포질의 끝이 주름진 특징적인 형태를 보였다. 섬유세포 및 암세포증식과의 구별은 cytokeratin 및 vimentin 염색 양성으로 판정하였다(그림 6).

2) 암세포 유착실험

2.5×10^4 및 5×10^4개의 세포를 사용한 유착실험에서 SNU-1은 각각 6.4%, 6.7%, SNU-5는 각각 10.0%, 14.6%, SNU-16은 각각 22.9%, 23.7%의 유착 율을 보였다(그림 7).

4. RA에 의한 CD44 발현의 변화 및 유착 능의 변화

SNU-1을 이용한 연구자들의 전 실험에서 RA 10^{-5} M 농도에서 apoptosis가 관찰되었으므로 상기의 RA 농도를 사용하여 RA처치 후 CD44 발현의 변화를 조사하였다(그림 8). SNU-1은 RA 처치 후 CD44H의 발현이 미약하지만 증가함을 알 수 있으며 SNU-5는 RA처치 후 CD44H의 발현이 뚜렷이 증가하였다. SNU-16은 CD44E의 발현이 뚜렷이 증가한 반면 CD44H의 발현은 감소하였다. 이러한 결과로 보아 SNU-1 및 SNU-5 세포 주는



lane 1. size maker - pBS Alu digestion
lane 2. SNU-1 control
lane 3. SNU-1 retinoic acid treatment
lane 4. SNU-5 control
lane 5. SNU-5 retinoic acid treatment
lane 6. SNU-16 control
lane 7. SNU-16 retinoic acid treatment
lane 8. No template
lane 9. CD44 H control
lane 10. CD44 E control

Fig. 8. PCR amplification of CD44 cDNA from gastric cancer cells after treatment of retinoic acid.

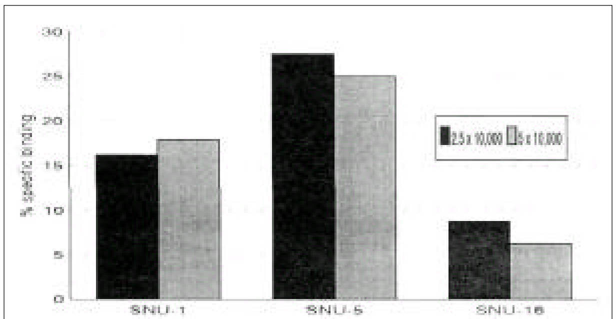


Fig. 9. Binding of stomach cancer cells to peritoneal mesothelium after treatment of retinoic acid.

RA 처치에 의해 분화가 유도됨을 의미한다고 생각되었다. RA 처치 후 2.5×10^4 및 5×10^4 개의 세포를 사용한 유착실험에서 SNU-1은 각각 16.2%, 17.9%, SNU-5는 각각 27.5%, 25.0%, SNU-16은 각각 8.8%, 6.3%의 유착 율을 보였다(그림 9). 이러한 결과는 상기의 RA처치 후 CD44 발현의 변화와 일치하는 소견으로 SNU-1은 RA 처치 후 CD44H의 발현이 미약하지만 증가하는 소견과 아울러 복막내피세포에 대한 유착 능이 증가함을 알 수 있다. 가장 뚜렷한 변화는 SNU-5에서 관찰되었는데 CD44H의 발현이 뚜렷이 증가함에 비례하여 암세포의 유착 능이 약 2배 이상 증가함을 볼 수 있었다. SNU-16은 CD44H의 발현이 CD44E에 비해 상대적으로 감소함에 따라 복막내피세포에 대한 유착 능이 현저히 감소함을 알 수 있었다. 상기의 결과는 암세포의 복막내피세포에 대한 유착이 hyaluronic acid를 인지하는 CD44H의 매개에 의함을 다시 한 번 증명하는 소견이었다.

고 찰

암 전이에 있어 암세포의 유착과정은 전이의 거의 모든 단계에 관여하는 것으로 알려져 있는데 암세포간의 유착 (homotypic cell-cell adhesion)에 관여하는 물질의 발현이 감소함으로써 원발 성 암 종에서의 암세포 유리가 용이해지거나(12) 특정한 세포유착물질의 발현이 증가함으로써 암세포와 혈관내피세포 혹은 세포 외 기질 간의 유착 (heterotypic cell-cell adhesion)능이 증가하여(13) 결과적으로 암의 전이를 촉진하게 된다. 그러므로 암 전이에 있어 세포유착물질의 역할에 관한 규명은 암의 전이기전을 분자생물학적 수준에서 이해하고 이를 토대로 임상적으로 암의 전이를 조기에 예측하고 전이 억제대책을 수립함에 있어 매우 중요하다.

세포유착에 관여하는 물질들은 몇 가지 서로 다른 family로 대별 할 수 있는데 Integrin, Immunoglobulin, Cadherin 및 Selectin 등이며 이외에도 세포표면에 발현되는 glycoprotein (예, CD44), 그 외의 glycoconjugate (예, glycosphingolipids) 및 laminin 수용체 등 다양한 물질이 세포유착을 매개함으로써 암 전이와 연관된 작용을 수행한다(14). CD44의 다양한 기능은 CD44 mRNA의 alternative splicing을 포함한 다양한 post-translational modification에 기인하는데(15,16) 그 결과로 생긴 각각의 아형들의 기능은 아직 완전히 밝혀져 있지 않다. CD44의 주요 아 종으로는 CD44H와 CD44E(R1)형이 있는데 CD44H는 80-90/180 kDa의 두 가지 형으로 존재하며 180 kDa형은 80-90 kDa형에 chondroitin sulfate moiety가 결합된 결과로 생각되고 있다. CD44H는 일명 'hematopoietic form'으로 불리며 소위 membrane proximal region의 exon v2-v10이 spliced out 된 기본형으로 hyaluronic acid 에 강한 결합력을 보인다(17,18). 이에 반해 CD44E(R1)(110-130 kDa)은' epithelial form'으로 불리며 상피세포 및 일부 carcinoma에서 발현되고

exon v8-v10이 기본형에 추가된 아형으로 hyaluronic acid에 대한 결합력은 낮다(19,20). 최근 Gunthert 들이 쥐의 췌장암모델에서 Mr 230,000 에 해당하는 CD44아형의 발현이 암의 전이와 관련이 있다고 보고한 이래 인체 암의 전이 능과의 관련에 대하여 국제적으로 활발한 연구가 진행되고 있다. 그러므로 연구자들이 얻은 SNU-1, -5 및 -16 위암세포주의 다양한 CD44아형의 발현은 세포 유착 능에 관한 연구에 좋은 모델을 제공할 것으로 생각된다. 특히 SNU-16의 다양한 CD44 아형의 발현은 암 전이에 있어 소위 CD44v의 역할을 연구하는데 매우 가치 있는 소견으로 CD44H의 hyaluronate에 대한 유착 능과 더불어 암세포의 전이 능 획득에 대한 역할이 기대된다. 이를 위하여 연구자들은 reverse transcription에 의한 PCR을 통해 각각의 variant isofrom에 대한 연구를 진행중이다. 또한 대장암세포나 다른 상피세포종양에서의 보고에 의하면 정상세포에서 암세포로 형질변환이 일어남에 따라 CD44H 의 발현이 감소되며 반대로 CD44H를 transfection 시키면 tumorigenecity가 감소함이 알려져 있다. CD18(β2 integrin family)은 αL(CD11a/CD18, LFA-1), αM(CD11b/CD18, Mac-1) 및 αX(CD11c/CD18, Leukocyte adhesion receptor p150,95)와 dimer를 형성하며 이들은 염증 반응 시 백혈구가 ICAM-1을 인식하여 혈관내피세포에 유착하는 과정에서 매우 중요한 역할을 수행한다(17). ICAM-1 발현에 관해서는 현재 연구가 진행 중이나 지금까지의 결과에 의하면 이들 위암 세포 주에서의 발현은 매우 미약한 것으로 생각된다. ICAM-1(CD54)은 단핵 구 및 혈관내피세포 등에서 발현되며 IFN-γ, IL-1β, TNFα 및 lipopoly-saccharide 등에 의해 발현이 유도되거나 증가되어 다양한 면역반응 및 염증반응을 매개하는데 중요한 역할을 한다. ICAM-1에 의한 유착반응은 calcium 의존적으로 일어나며 LFA-1, Mac-1 및 CD43 등을 ligand로 인식한다. ICAM-1은 thrombin이나 histamine을 비롯한 다양한 cytokine에 의해 활성화된 혈관내피세포에서 발현이 증가함으로써 암세포의 유착을 증가시키는 것으로 보고된 바 있는데 흑색 종 세포에서 ICAM-1의 발현이 암세포간의 세포결집에 관련되어 있으며 결과적으로 암세포의 전이 능에 관련된다고 보고된 바 있다(21,22).

RA는 종양세포의 증식억제(antiproliferative), 분화(differentiative), 면역조절(immunomodulatory)작용이 있는 것으로(7-9) 널리 알려져 있다. RA는 직・간접적으로 유전자 발현에 영향을 미치고 있다고 생각되며, 최근 retinoid acid 수용체 (RARs)의 발견으로 그 작용의 기전에 대한 연구가 활발해 졌다. 서로 다른 종류의 RAR 수용체는 성인 조직과 발생중의 배아에서 분포가 서로 다르고 서로 다른 기능을 가지고 있다고(23-26) 생각된다. HL-60 세포 주에서 발견된 RARs이 RA에 의한 myeloid differentiation에 관여하며 RA resistant HL-60 세포 주에서는 RARα가 부족하므로 RA에 resistant 하게 나타나는데(27) 이것은 mutant cell에서 RARα의 single copy의 transduction이 RA에 반응을 어렵게(28-29) 하는 것으로 설명이 된다. 더욱이 만성 과립구성 백혈병의 blast crisis 시기에서 발췌해낸 RA resistant 한 K562 transformed HL-60 세포와 비교하여 매우 적은 RAR-α를 나타내었다. K562 세포에 RARα cDNA를 retroviral-mediated transduction 시켰을 때 수용체의 수를 증가시켜 RA에 반응을 하게 하였다. 이와 같은 transfected cell에 RA를 작용시킨 것과 세포의 증식의 감소를 나타내었는데 RA로 유도한 분화가 나타나지 않는 것은 RARα의 증가가 세포증식에 있어서 RA의 효과를 조절하는 것으로 풀이되고 있다. 상기와 같은 실험들을 통해 RARα가 RA의 약리 작용 조절에 강한 역할을 하는 것이 증명되고 있으나 RARs의 존재 자체가 retinoid에 의한 종양세포증식의 저하나 종양세포 분화에 직접 영향을 미친다고는 이야기하기 힘들다. 예를 들면 RARα는 RA의 반응에 상관없이 대부분의 인형 백혈병 세포 내에 존재한다는데 문제가 되는 것이다. 이렇게 보면 아마도 RAR 사이는 transcriptionally competent한 complex나 polymerase와 DNA를 형성할 때는 RAR co-regulatory protein이 필요할지도 모르겠다는 생각을 할 법도 하다. 또한 retinoid는 TGF-β와 EGF-R 같은 growth factor를 변화시킬 뿐만 아니라 angiogenesis, programmed cell death, immune response등에 관여 할 것으로(30-34) 간주된다. 이 중 일부는 연구자들의 전 실험에서 이미 관찰된 바 있다.

RA가 세포유착물질의 변화에 어떤 영향을 미치는지에 대하여는 연구자들의 조사범위 내에서는 아직 보고된 바 없다. 그러나 RA가 위암세포의 여러 가지 암적 표현형을 변화시켜 정상세포로의 변환을 유도하고 apoptosis를 일으키는 한편 세포유착물질의 변화가 apoptosis의 발생과 유관하다는 보고가 있어(35) RA가 세포유착물질의 발현에 영향을 미침으로써 위암의 복강내 전이를 조절하는데 도움이 될 가능성은 크다고 하겠다. 본 연구에서도 RA 처치 후 SNU-1, SNU-5, SNU-16 세포 주들에서 성장이 억제되고 apoptosis를 보였다.

CD44의 발현 양상도 RA처치 후 변화를 보였는데 SNU-1 에서는 CD44H의 미약한 발현 증가가, SNU-5 에서는 CD44H의 뚜렷한 발현 증가가 SNU-16에서는 CD44E 발현의 뚜렷한 증가와 CD44H의 미약한 발현 감소가 관찰되었고, 각 세포 주에서 CD44H의 발현 증가 시 유착 능의 상승을 보여, 암세포의 복막 내피세포에 대한 유착이 hyaluronic acid를 인지하는 CD44H의 매개에 의하며 아울러 RA가 CD44H의 발현에 영향을 줌으로써 유착 능의 변화에 영향을 미치고, 궁극적으로는 위암의 복막전이를 감소시킬 가능성이 있음을 시사한다고 하겠다.

참 고 문 헌

1. Gunderson LL, Sosin H : Areas of failure in a reoperation series (second symptomatic look). Clinicopathologic correlation and implications for adjuvant therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 8;1-11, 1982
2. 이창현, 박재갑, 김진복 : 재발위암의 재수술에 관한 임상적 고찰. 대한암학회지 19;107-113, 1987
3. Iwanaga T, Koyama H, Furukawa H, Taniguchi H, Wada A, Tateishi R : Mechanisms of late recurrence after radical surgery for gastric carcinoma. Am J Surg 135;637-640, 1978
4. Weiss L : Principles of metastasis. OrlandoFL: Academic Press, p 134-159, 1985
5. Warrell RP Jr, Frankel SR, Miller WH Jr, Scheinberg DA, Itri LM, Hittelman WN, Vyas R, Andreeff M, Tafuri A, Jakubowski A : Differentiation therapy of acute pronyelocytic leukemia with tretionin (all-trans-retinoic acid). N Engl J Med 324;1385-1393, 1991
6. Hong WK, Endicott J, Itri LM, Doos W, Batsakis JG, Bell R, Fofonoff S, Byers R, Atkinson EN, Vaughan C : 13-cis-retinoic acid in the treatment of oral leukoplakia. N Engl J Med 315;1501-1505, 1986
7. Peck R, Bollag W : Potentiation of retinoid induced differentiation of HL-60 and U937 cell lines by cytokines. Eur J Cancer 27;53-57, 1991
8. Frey J. Peck R, Bollah W : Antiproliferative activity of retinoids, cytokines and their combination in four human transformed epithelial cell lines. Cancer Lett 62; 167-172, 1992
9. Higuchi T, Hannigan G, Malkin D, Yeger H, Williams BR : Enhancement by retinoic acid and dibutyryl cyclic adenosine 3',5'-monophosphate of the differentiation and gene expression of human neuroblastoma cells induced by interferon. Cancer Res 51;3958-3964, 1991
10. Glass CK, Devary OV, Rosenfeld MG. : Multiple cell type-specific protein differentially regulate target sequence recognition by the α- retinoic acid receptor. Cell 63;729-738, 1990
11. Park JG, Frucht H, LaRocca RV, Bliss DP Jr, Kurita Y, Chen TR, Henslee JG, Trepel JB, Jensen RT, Johnson BE : Characteristics of cell lines established from human gastric carcinoma. Cancer Res 50;2773-2780, 1990
12. Takeichi M : Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. Science 251:1451-1458, 1991
13. Honn KV, Tang DG : Adhesion molecules and tumor cell interaction with endothelium and subendothelial matrix. Cancer Metastasis Rev 11;353-375, 1992
14. Van Roy F, Mareel M : Tumor invasion: effects of cell adhesion and cell motility. Trends Cell Biol 2;163-169, 1992
15. Cooper DL, Dougherty G, Harn HJ : The complex CD44 transcription unit : Alternative splicing of three internal axons generates the epithelial form of CD44. Biochem Biophys Res Commun 182;509-576, 1992
16. Tanabe KK, Nishi T, Ssya H : Novel variants of CD44 arising from alternative splicing pattern of MCF-7 breast carcinoma cells treated with hyaluronidase. Mol Carcinogenesis 7;212-220, 1993
17. Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M, Underhill CB, Seed B : CD44 is the principle cell surface receptor for hyaluronate. Cell 61;1303-1308, 1990
18. Jalkanen S, Bargatz RF, Toyos J, Butcher EC : Lymphocyte recognition of high endothelium : antibodies to distinct epitopes of an 85-95 kD glycoprotein antigen differentially inhibit lymphocyte binding to lymph node, mucosal, or synovial endothelial cells. J Cell Biol 105;983-990, 1987
19. Brown TA, Bouchard T, St. John T, Wayner E, Carter WG : Human keratinocytes express a new CD44 core protein(CD44E) as a heparan-sulfate intrinsic membrane proteoglycan with additional exons. J Cell Biol 113;207-221, 1991
20. Dougherty GJ, Landorp PM, Cooper DL, Humphries RK

: Molecular cloning of CD44R1 and CD44R2, tw0 novel isoforms of the human CD44 lymphocyte "homing" receptor expressed by hemopoietic cells. J Exp Med 74;1-5, 1991

21. Casasnovas JM, Bickford JK, Springer TA : The domain structure of ICAM-1 and the kinetics of binding to rhinovirus. J Virol 72;6244-6246, 1998
22. Sartor WM, Kyprianou N, Fabian DF, Lefor AT : Enhanced expression of ICAM-1 in a murine fibrosarcoma reduces tumor growth rate. J Surg Res 59;66-74, 1995
23. Ishidawa T, Umesono K, Mangelsdorf DJ : A functional retinoic acid receptor encoded by the gene on human chromosome 12. Molec Endocrinol 4;837-844, 1990
24. Giguere V, Shago M, Zirngibl R, Tate R, Rossant J, Varmuza S : Identification of a novel isoform of the retinoic acid receptor γ expressed in the mouse embryo. Mol Cell Biol 10;2335-2340, 1990
25. Cretax M, Baron A. Siegenthaler G, Hunziker W : Ligand specificities of recombinant retinoic acid receptors RAR-α and RAR-β. Biochem 27;391-397, 1990
26. Mangelsdorf DJ, Ong ES, Dyck JA, Evans RM : Nuclear receptor that identifies a novel retinoic acid response pathway. Nature 345;224-229, 1990
27. Collins SJ, Robertson KA, Mueller L : Retinoic acid induced granulocytic differentiation of HL-60 myeloid leukemia cells is mediated directly through the retinoic acid receptor (RAR-α). Mol Cell Biol 10;2154-2163, 1990
28. Robertson KA, Nueller L, Collins SJ : Retinoic acid receptors in myeloid leukemia: characterization of receptors in retinoic acid-resistant K-562 cells. Blood 77;340-347, 1991
29. Gallangher RE, Said F, Pua I, Papenhausen PR, Paietta E, Wiernik PM : Expression of retinoic acid receptor a-mRNA in human leukemia cells with variable responsiveness to retinoic acid. Leukemia 3;789-795, 1989
30. Lippman SM, Parkinson DR, Itri LM, Weber RS, Schantz SP, Ota DM, Schusterman MA, Krakoff IH, Gutterman JU, Hong WK : 13-cis-retinoic acid and interferon alpha-2a: effective combination therapy for advanced squamous cell carcinoma of the skin. J Nat1 Cancer Inst 84;235-241, 1992
31. Peck R, Bollag W : Potentiation of retinoid induced differntiation of HL-60 and U937 cell lines by cytokines. Eur J Cancer 27;53-57, 1991
32. Toma S, Palumbo R, Vincenti M, Aitini E, Paganini G, Pronzato P, Grimaldi A, Rosso R: Efficacy of recombinant alpha-interferon 2a and 13-cis-retinoic acid in the treatment of squamous cell carcinoma. Ann Oncol 5;463-465, 1994
33. Lancilotti F, Affabris E, Fiorucci G, Romeo G, Rossi G. B. : Antiproliferative effects of RA and recombinant interferon α 2b on human cervix carcinoma cells. Mol Cell Diff 1;464(abstr), 1993
34. Majewski S, Szmurlo A, Marczak M, Jablonska S, Bollag W : Synergistic effect of retinoids and interferon α on tumor-induced angiogenesis anti- angiogenesis effect on HPV harboring tumor cell lines. Int J Cancer 57;81-85, 1994
35. Shyu RY, Jiang SY, Huang SL, Chang TC, Wu KL, Roffler SR, Yeh MY : Growth Regulation by All-trans-retinoic Acid and Retinoic Acid Receptor Messenger Ribonucleic Acid Espression in Gastric Cancer Cells. Eur J Cancer 31A; 237-243, 1995