

유방종양에서의 Telomerase Activity

삼성제일병원 외과, 조직병리과¹ 및 내분비연구실²

박병준 · 강성수 · 홍순기 · 이지현 · 김혜선¹ · 전이경¹
홍성란¹ · 강영순² · 문인걸² · 이성공 · 윤세옥

= Abstract =

Telomerase Activity in Human Breast Tumors

Byung Jun Park, M.D., Sung Su Kang, M.D., Soon Gi Hong, M.D.,
Ji Hyun Lee, M.D., Hye Sun Kim, M.D., Yi Kyeong Chun, M.D.,
Sung Ran Hong, M.D., Young Soon Kang, Ph.D., In Gul Moon, Ph.D.,
Sung Kong Lee, M.D. and Sei Ok Yoon, M.D.

*Departments of General surgery, pathology¹ and endocrinology²,
Samsung Cheil Hospital, Seoul, Korea*

Telomerase is a ribonucleoprotein enzyme that synthesizes telomeric DNA onto the ends of chromosomes, thereby preventing the replication-dependent shortening of these ends. Telomerase activity is detected in a wide range of cancers of various tissues, and its expression may be a critical step in tumor progression. Our objective was to determine if detection of telomerase activity may be an indicator for diagnosis of breast cancer and any association between telomerase activity and prognostic factors of breast cancer. Using a polymerase chain reaction-based telomerase activity assay, we examined telomerase activity in 30 breast cancer specimens (2 ductal carcinoma in situ, 28 invasive ductal carcinoma), 25 benign lesions (14 fibroadenomas, 11 fibrocystic diseases) and 24 normal breast tissues (13 adjacent to malignancy, 11 adjacent to benign lesion). Among surgically resected samples, telomerase activity was detected in 23 (77%) of 30 breast cancers. While telomerase activity was not detected in any of 11 specimens of fibrocystic disease and 11 adjacent normal tissues to benign lesion, surprisingly low levels of telomerase activity were detected in 5 (36%) of 14 fibroadenomas and 1 (7%) of 13 adjacent normal tissues to malignancy. There was no significant difference in expression of telomerase among prognostic factors of breast cancer. In summary, telomerase activity in breast cancer may be useful in diagnosis of breast cancer. We found no correlation between telomerase activity and stage, tumor size or LN status. Mechanisms of telomerase expression are still under investigation; therefore, the significance of telomerase expression in malignant tumors and their progression remains to be determined. (*Korean J of Breast Cancer 1998;1:203~207*)

Key Words: Telomerase, Breast cancer, Fibroadenoma

서 론

Telomere-Telomerase 가설은 암생성 연구에 새로운 모범(paradigm)이 되었다. 이 가설은 대부분의 종양세포는 telomerase 활성도(activity)가 있지만 정상적인 체세포는 그렇지 않다는 사실에 근거를 두고 있다. Telomere 길이는 telomere를 길게 하는 과정과 짧게 하는 과정 사이의 균형에 의하여 유지된다. Telomerase는 chromosome의 telomere 말단부위에 hexameric (TTAGGG) repeats을 첨가시켜 telomere 길이를 안정화시키는 ribonucleoprotein 효소로 이 효소가 없으면 telomere의 침식이 계속된다. 정상적인 체세포에서는 telomerase가 존재하지 않아 계속적으로 telomere가 짧아져 복제능력이 제한되어 노쇠화 과정을 거친다. 그러나 정상적인 세포와는 대조적으로 대부분의 악성종양세포에서는 telomerase에 의한 telomere의 안정화가 이루어져 노쇠화하지 않고 계속적으로 증식한다. 본 연구는 telomerase activity의 측정이 유방암 진단에 도움이 될 수 있는가와 이미 알려진 유방암 예후인자들과 telomerase activity 사이에 어떤 상관관계가 있는가를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1997년 9월부터 1998년 5월까지 삼성제일병원 외과에서 유방종양으로 수술받은 환자들 중 유방암 30예(관상피내암 2예, 침윤성유방암 28예), 양성유방병소 25예(섬유선종14예, 섬유성낭종질환 11예) 그리고 정상유방조직 24예(유방암주위의 정상조직13예, 양성유방병소주위의 정상조직 11예)를 대상으로 각각 telomerase activity를 측정하였다.

2. 방 법

Telomerase activity는 Telomeric Repeat Amplification Protocol (TRAP) assay라고 불리는 Polymerase Chain Reaction (PCR)-based telomerase assay 방법을 이용하여 telomere product를 증폭시킨 후 15% Acrylamide gel에 전기영동 한 후 X-ray film에 autoradiography 하였다(Fig. 1).

결 과

1. 유방병소에서의 telomerase activity

유방의 관상피내암 2예 중 2예가 양성, 침윤성유

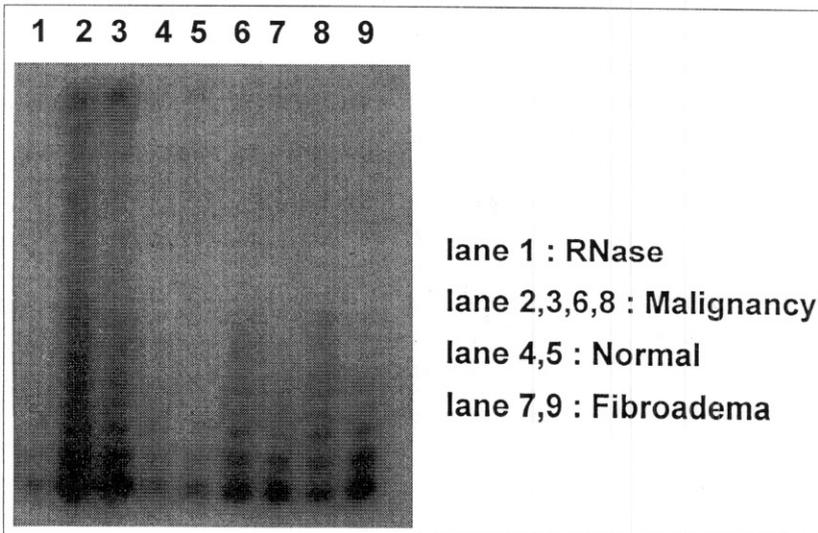


Fig. 1. Telomerase activity in breast tumors.

방암 28예 중 21예에서 양성을 보여 전체 유방암 30예 중 23예인 77%에서 telomerase activity 양성을 보여주었다. 양성유방병소에서는 섬유성낭종 질환 11예에서는 모두 음성이었고 섬유선종 14예 중 5예인 36%에서는 양성을 보여주었다. 정상조직에서는 양성종양주위조직 11예에서는 모두 음성, 악성종양 주위조직 13예 중 1예에서만 양성소견을 보여주었다 (Table 1).

2. 유방암 예후인자들과 telomerase activity와의 관계

유방암 병기 차이에 따른 telomerase activity의 상

관관계를 보면 1기 7예 중 5예, 2기 15예 중 12예, 3기 6예 중 4예에서 telomerase activity가 양성으로 판명되어 각각의 양성률은 71%, 80%, 67%로 병기간의 유의한 차이는 없었다. 종양크기의 차이에 따른 관계는 2 cm 미만인 13예 중 10예, 2 cm 이상 5 cm 미만인 12예 중 9예, 5 cm 이상인 3예 중 2예에서 양성으로 판명되어 각각의 양성률은 77%, 75%, 67%로 종양 크기에 따른 상관관계에서도 유의한 차이는 없었다. 임파절전이 여부와 telomerase activity의 상관관계를 보면 임파절전이 음성인 11예 중 8예, 임파절전이 양성인 17예 중 13예에서 양성으로 보여 각각의 양성률은 73%, 76%로 역시 유의한

Table 1. Telomerase activity in human breast lesions

	No. of specimen	Negative	Positive	%
Malignac	30	7	23	77
DCIS	2	0	2	100
IDC	28	7	21	75
Benign				
F/A	14	8	5	36
F/C	11	11	0	0
Normal				
adj.mal.	13	12	1	7
adj.ben.	11	11	0	0

* DCIS, ductal carcinoma in situ; IDC, invasive ductal carcinoma; F/A, fibroadenoma; F/C, fibrocystic disease; adj.mal., adjacent to malignancy; adj.ben., adjacent to benign.

Table 2. Comparison of stage, size and LN metastasis with telomerase activity in breast cancer

	No. of specimen	Negative	Positive	%
Stage				
I	7	2	5	71
II	15	3	12	80
III	6	2	4	67
Tumor size (cm)				
< 2	13	3	10	77
2 ≤ -- < 5	12	3	9	75
≥ 5	3	1	2	67
LN metastasis				
Negative	11	3	8	73
Positive	17	4	13	76
Total	28	7	21	75

차이가 없었다(Table 2).

고 안

현재까지의 연구에서 telomerase activity는 거의 모든 악성유방종양에서 발견되고 정상유방조직과 섬유선종을 제외한 양성유방조직에서는 검출이 안 되는 것으로 보고되고 있다.

본저자들의 경우 유방암의 77%에서 telomerase activity가 양성을 나타냈고 다른연구^{1,8,16)}에서도 유방암의 73-95%에서 양성률을 보여 본 연구와 비슷한 결과를 보여주었다.

그러나 유방암의 일부에서 telomerase activity가 검출이 안 되는 이유는 확실치는 않지만 한 가지 가능성은 일부 경우에서 telomerase expression이 매우 낮아 현재의 검사법에 검출이 안 되거나 억제제(inhibitor)가 있어 위음성(false negative)을 나타낸다고 생각된다. 또 다른 가능성은 일부 불멸의(immortal) 인간 cell lines에서 telomere 길이는 telomerase-dependent & telomerase-independent 기전에 의해 결정될 수 있다는 것이다¹⁵⁾.

Telomerase activity가 없는 정상 체세포에서는 telomere 길이가 점차로 짧아져 여러번 분열 후에 세포가 노쇠화된다^{5,6)}. 그러나 불멸(immortalization) 세포의 무제한적인 성장능력은 telomere 안정화와 동시에 얻어지는데 이것은 telomerase reactivation때문이라고 한다¹¹⁾. 최근 연구에서 telomerase activity는 유방암 이외의 여러가지 다른 형태의 악성종양 즉 폐암¹⁰⁾, 직장암³⁾, 위암⁹⁾, 간암¹⁷⁾의 85-90%에서도 나타난다고 한다. 이러한 결과는 거의 모든 인간의 악성종양은 불멸화된 세포의 집단으로 구성되는 것을 암시한다.

임상병기, 종양크기 그리고 임파절상태는 유방암 환자의 예후인자로 알려져 있다^{2,7)}. 본 연구에서는 유방암환자에 있어서 telomerase activity와 유방암 예후인자들 사이에 어떤 상관관계가 있는가를 알아 보고자 하였다. 표본크기(sample size)가 적어 통계 분석에 불충분 하였지만 서로간에 유의한 차이는 없었다. Nawaz 등¹³⁾의 보고는 본 저자들의 경우와 일치하였지만 Hiyama 등⁸⁾에 의하면 telomerase

activity와 병기분류 사이에 유의한 상관관계가 있다고 보고하여 본 연구와는 다른 결과를 보고하였다. Hiyama 등⁸⁾에 따르면 telomerase activity가 없는 종양이 telomerase activity가 있는 종양보다 병기가 더 초기이고 종양크기가 더 작고 임파절 전이의 빈도도 더 적다고 하였다.

양성유방병소에서는 본 연구에서 telomerase activity가 섬유성낭종 질환에서는 검출이 안 되었지만 섬유선종에서는 놀랍게도 36%에서 양성을 보였다. Hiyama 등⁸⁾과 Nawaz 등¹³⁾의 연구에서도 섬유선종 이외의 양성유방병소에서는 검출이 되지 않았지만 섬유선종에서는 각각 45%, 11%에서 검출되었다. 이렇게 일부 섬유선종에서 telomerase activity를 나타내는 것은 섬유선종의 병인론을 잘 이해할 수 없어 정확히 설명할 수는 없지만 아마도 섬유선종의 근원이 heterogeneous이기 때문으로 생각된다^{12,14)}. 섬유선종은 젊은 여성에서 흔히 진단되는 양성종양이지만 일부 연구⁴⁾에서는 섬유선종이 오랜시간이 지나면 유방암으로 변할 수 있는 위험률이 있다고 하였다. 위와 같은 경우에서 불멸화(immortalization)가 늘 악성변형과 동시에 생기는 것은 아니라고 생각된다. 또 다른 가설¹³⁾은 섬유선종에서의 일시적인 telomerase의 재활성화는 다소간 estrogen에 의해 조절되어지고 가역적이다. 그래서 섬유선종은 성장기 동안에 telomerase가 활성화되지만 섬유선종이 어느 정도 크기가 되거나 퇴화되면 telomerase의 활성화는 멈출 것이라고 하였다. 향후 섬유선종에 대한 더욱더 많은 연구가 이러한 현상을 설명할 수 있을거라 사료된다.

본 연구에서 정상유방조직 중 악성종양주위 정상조직 13예 중 1예에서만 telomerase 활성화가 검출된 것은 아마도 미세한 침윤(microinvasion)이 있었던 것으로 생각된다.

결 론

- 1) 유방암에 있어서 telomerase activity는 초기진단과 정확한 진단을 얻는데 유용하리라 생각된다.
- 2) Telomerase activity와 병기, 종양크기, 또는 임파절전이 사이에 유의한 상관관계는 없다.

3) Telomerase expression의 기전은 아직도 분명치 않아 추후 연구가 더 필요하리라 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Bednarek AK, Sahin A, Brenner AJ, Johnston DA, et al: Analysis of telomerase activity levels in breast cancer: positive detection at the in situ breast carcinoma stage. *Clin Cancer Res* 3:11-16, 1997
- 2) Carter CL, Allen C, Henson DE: Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24740 breast cancer cases. *Cancer* 63:181-7, 1989
- 3) Chadeneau C, Hay K, Hirte HW, Gallinger S, et al: Telomerase activity associated with acquisition of malignancy in human colorectal cancer. *Cancer Res* 55:2533-36, 1995
- 4) Dupont WD, Page DL, Parl FF, Vnencak-Jones CL, et al: Long-term risk of breast cancer in women with fibroadenoma. *N Engl J Med* 331:10-5, 1994
- 5) Harley CB: Telomerase loss: mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat Res* 256:271-82, 1991
- 6) Harley CB, Kim NW, Prowse KR, Weinrich SL, et al: Telomerase, cell immortality, and cancer. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 59:307-15, 1994
- 7) Henson DE, Ries L, Freedman LS, Carriaga M: Relationship among outcome, stage, of disease, and histologic grade for 22616 cases of breast cancer. The basis for prognostic index. *Cancer* 68:2143-49, 1991
- 8) Hiyama E, Gollahon L, Kataoka T, et al: Telomerase activity in human breast tumors. *J Natl Cancer Inst.* 88:116-122, 1996
- 9) Hiyama E, Yokoyama T, Tatsumoto N, Hiyama K, et al: Telomerase activity in gastric cancer. *Cancer Res* 55:3258-62, 1995
- 10) Hiyama K, Hiyama E, Ishioka S, Yamakido M, et al: Telomerase activity in small-cell and non-small-cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 87:895-902, 1995
- 11) Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, et al: Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 266:2011-15, 1994
- 12) Koerner FC, O'Connell JX: Fibroadenoma: morphological observations and a theory of pathogenesis. *Pathol Annu* 29:1-19, 1994
- 13) Nawaz S, Hashizumi T, Markham N, et al: Telomerase expression in human breast cancer with and without lymph node metastases. *Am J Clin Pathol* 107:542-547, 1997
- 14) Noguchi S, Motomura K, Inaji H, Imaoka S, et al: Clonal analysis of fibroadenoma and phyllodes tumor of breast. *Cancer Res* 53:4071-4, 1993
- 15) Strahl C, Blackburn EH: Effects of reverse transcriptase inhibitors on telomere length and telomerase activity in two immortalized human cell lines. *Mol Cell Biol.* 16:53-65, 1996
- 16) Sugino T, Yoshida K, Bolodeoku J, et al: Telomerase activity in human breast cancer and benign breast lesions: diagnostic applications in clinical specimens, including fine needle aspirates. *Int J Cancer (Pred Oncol)* 69:301-306, 1996
- 17) Tahara H, Nakanishi T, Kitamoto M, Nakashio R, et al: Telomerase activity in human liver tissues: comparison between chronic liver disease and hepatocellular carcinomas. *Cancer Res* 55:2734-6, 1995