

자궁경부암과 상피내종양 환자에서의 혈청 TGF- β_1 , MMP-2 측정

이화여자대학교 의과대학 산부인과학교실
문혜성 · 김승철

= Abstract =

Clinical Significances of Serum TGF- β_1 and MMP-2 Levels in the Patients with Cervical Cancer and Cervical Intraepithelial Neoplasia

Hye Sung Moon M.D., Seung Cheol Kim M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Ewha Womans University,
Seoul, Korea*

Objectives: The TGF- β_1 (transforming growth factor- β_1), which has been shown to inhibit cellular proliferation in vitro as a growth regulator, has been demonstrated to enhance tumorigenicity in vivo. The proteolytic processes of cancer are thought to be the crucial point in tumor invasion and metastasis, mainly by matrix metalloproteinases.(MMPs)

We investigated the serum TGF- β_1 and MMP-2 levels in patients with cervical cancer in contrast to those of normal, patients with benign myoma, and cervical intraepithelial neoplasia (CIN). And we questioned whether these serum levels are different according to the therapy of cancer or not.

Methods: We measured serum TGF- β_1 , MMP-2 concentrations by ELISA in 34 patients with cervical cancer, as well as 5 normal volunteers, 14 patients with benign myoma and 23 patients with CIN. Especially in 7 patients with cervical cancer, we measured serum TGF- β_1 , MMP-2 levels before and after therapy.

Results: The serum TGF- β_1 levels in patients with cervical cancer(37.8 ± 15.4 pg/ml) were significantly lower than those of the patients with CIN(46.2 ± 9.2 pg/ml)($p < 0.05$). But there is no differences among the serum MMP-2 levels in the patients with cervical cancers(680.30 ± 116.6 pg/ml), CIN(715.2 ± 150.0 pg/ml), and benign myoma(682.4 ± 112.5 pg/ml)($p > 0.05$). Patients undergoing cancer therapy did not have different values of serum TGF- β_1 and MMP-2 levels as those without cancer therapy.($p > 0.05$)

Conclusion: So we suggest that serum TGF- β_1 may be helpful in differential diagnosing cervical cancers from CIN.

Keywords: serum TGF- β_1 , serum MMP-2, cervical cancer

I. 서 론

고형성 암에서는 종양세포 자체에서 분비되는 물질에 의해 암세포가 자극을 받아 증식, 성장하며, 단백질분해효소에 의한 기저막의 파괴, 기저막하 기질층의 변형, 내피세포의 이동과 증식, 새로운 혈관의 형성 등 일련의 복잡한 과정을 거쳐서 주위의 결합조직이나 다른 장기로 전이한다.¹⁻³⁾

현재 암의 진행에 관여하는 성장인자로 알려진 물질은 20여 가지가 있으며, 그 가운데 주로 transforming growth factor β (TGF- β), basic fibroblast growth factor(bFGF), acidic fibroblast growth factor(aFGF), epidermal growth factor(EGF), hepatocyte growth factor(HGF), vascular endothelial growth factor(VEGF), tumor necrosis factor α (TNF- α), platelet derived endothelial growth factor (PDGF), pleiotrophin (PTN) 등이 있다.⁴⁾

TGF- β 는 분자량 25,000인 이중체 단백질로서 사람에서는 TGF- β 1, 2, 3 의 3가지 이형이 알려져 있으며^{5,6)} 이들은 같은 TGF- β 수용체(TGF- β receptor)에 결합한다.⁷⁻⁹⁾ TGF- β 는 생체 내에서 면역반응, 분화, 상처 치유, 세포유착, 세포의 기질 유지에 관여하는데^{5,6)} 주로 대부분의 상피세포 및 임파계세포의 성장을 억제하고 apoptosis에 관여한다고 보고되었다.¹⁰⁾ 여러 종류의 성장인자의 생성과 정상적인 성장조절의 불균형으로 초래되는 암화과정에서는 TGF- β 는 주로 암발현 억제 역할을 한다고 하였다.^{11,12)} 그러나 최근 연구에 의하면 정상세포와는 달리 이미 발현된 암세포에서는 TGF- β 에 대한 반응이 소실됨으로써 TGF- β 에 대한 저항성을 나타내기 때문에 TGF- β 발현이 침윤 정도와 관계한다고 보고되었다.¹³⁾

MMP-2(matrix metalloproteinase)는 72kDa type IV collagenase로 세포의 기질을 분해하는 단백질 분해효소이며 상피세포, 섬유세포, 내피세포 등에서 분비되고 상처치유나 조직의 형태유지, 조직분화 등의 생리적인 변형과정에 관여한다.¹⁴⁾ 대장암 세포주나 다른 장기의 암에서 연구된 바에 의하면 MMP-2의 발현은 암의 전이성향과 밀접한 관련이 있다고 하였으며^{15,16)} in vitro와 in vivo상의

상피세포암에서도 MMP-2의 발현이 암의 악성화와 전이과정에 관계된다는 것이 연구되었다.¹⁷⁻¹⁹⁾

이에 본 저자는 자궁경부암 환자와 자궁경부상피내종양 환자, 양성 자궁종양 환자에서 혈청 TGF- β_1 와 MMP-2를 측정하여 각 환자군에서의 혈청 TGF- β_1 와 MMP-2 분포를 알아보고 혈청 TGF- β_1 와 MMP-2가 자궁경부암 환자의 진단에 유용하게 이용될 수 있는지를 알아보려고 하였다. 또한 자궁경부암 환자군에서 암 치료 전과 치료 후에 혈청 TGF- β_1 와 MMP-2를 연속적으로 측정함으로써 자궁경부암의 치료를 예측하는 인자로도 유용하게 이용될 수 있는지 알아보려고 하였다.

II. 연구 대상 및 방법

1. 연구 대상군 수집

본 연구는 1995년 9월부터 1997년 6월까지 이화여자대학교 목동병원 산부인과를 내원한 환자 중에서 정상인 5명과 자궁근종 진단하에 자궁적출술을 시행받은 정상 자궁경부 조직을 가진 14명과 원추생검술이나 자궁적출술을 시행받은 중등도 이형성 이상의 자궁경부상피내종양 환자 23명과 조직검사에 의해 침윤성 자궁경부암으로 진단받고 광범위 자궁적출술 등의 치료를 받은 자궁경부암 환자 34명을 대상으로 하였다. 각각의 환자에서 혈액을 5cc 채취하여 원심분리한 후 혈청을 준비하였다. 또한 자궁경부암 환자 7명에서 치료 전과 치료 후에 같은 방법으로 혈액을 채취하였다.

2. 혈청 TGF- β_1 , MMP-2 측정

혈청 TGF- β_1 측정은 TGF- β_1 ELISA kit(R & D, Minneapolis, U.S.A.)로, 혈청 MMP-2 측정은 MMP-2 ELISA kit(Calbiochem, Cambridge, U.S.A.)를 이용한 enzyme linked immunosorbent assay 방법으로 시행하였다.

혈청 TGF- β_1 측정은 먼저 준비한 microplate의 각각의 well 안에 내용물을 흡입하여 제거한 후 희석된 표준액 및 각 연구군의 검체를 각각 200 μ L씩 넣은 후, 덮어 실온(20-30 $^{\circ}$ C)에서 3시간 동안 보온(incubation)하였다.

각 well의 내용물을 제거한 후 세척용 완충제 (Wash buffer) 400 μ L로 세척과정을 3회 반복하였으며 세척액을 완전히 제거후 각 well 안에 TGF- β_1 conjugate 200 μ L 씩을 분주한 후 실온에서 2 시간 동안 보온하였다.

보온이 끝난 후 세척용 완충제의 세척과정을 3회 반복하였으며 희석된 substrate 용액을 각 well 안으로 200 μ L씩 분주한 후 실온에서 20분간 두었다.

Stop 용액을 각각의 well안에 50 μ L씩 넣었으며 30분 내에 450nm 분광광도계(spectrophotometer, Pharmacia, Head Office, Uppsala, Sweden)에서 optical density(O.D.) 값을 읽고, 측정된 표준에 대한 검체의 농도를 산출하였다.

혈청 MMP-2 측정은 microplate의 각각의 well 안에 내용물을 흡입하여 제거한 후 희석된 표준액 및 각 연구군의 검체를 각각 100 μ L씩 넣은 후, 덮어 실온(20-27 $^{\circ}$ C)에서 2시간 동안 보온하였다.

각 well의 내용물을 제거한 후 세척용 완충제 (Wash buffer) 400 μ L로 세척과정을 4회 반복하였으며 세척액을 완전히 제거후 각 well 안에 peroxidase conjugate 100 μ L 씩을 분주한 후 20-27 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 보온하였다.

보온이 끝난 후 세척용 완충제의 세척과정을 4회 반복하였으며 equilibrated TMB substrate 용액을 각 well 안으로 100 μ L씩 분주한 후 20-27 $^{\circ}$ C에서 30분간 두었다.

파란색으로 변색되면 630nm 분광광도계(spectrophotometer, Pharmacia, Head Office, Uppsala, Sweden)에서 optical density(O.D.) 값을 읽고, 측정된 표준에 대한 검체의 농도를 산출하였다.

III. 결 과

1. 각군의 혈청 TGF- β_1 , MMP-2 측정

자궁경부암 환자, 자궁경부상피내종양 환자, 양성 자궁근종 환자에서 분비한 혈청 TGF- β_1 , MMP-2 는 Fig. 1, 2과 같은 분포를 나타내었다.

혈청 TGF- β_1 는 자궁경부암 환자에서 37.8 \pm 15.4pg/ml, 자궁경부상피내종양 환자에서는 46.2 \pm 9.2pg/ml, 양성 자궁근종 환자에서는 46.0 \pm 8.5 pg/ml로 통계적으로 각군과의 유의한 차이는 있

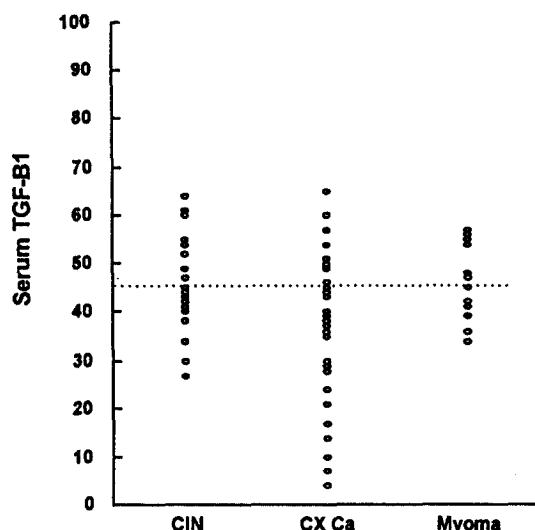


Fig. 1. The circulating levels of serum TGF- β_1 in normal controls, patients with benign myoma, CIN and cervical cancer. The cut off level of serum TGF- β concentrations was decided to be 45.5pg/ml, which was calculated as the mean \pm 2SD of normal controls

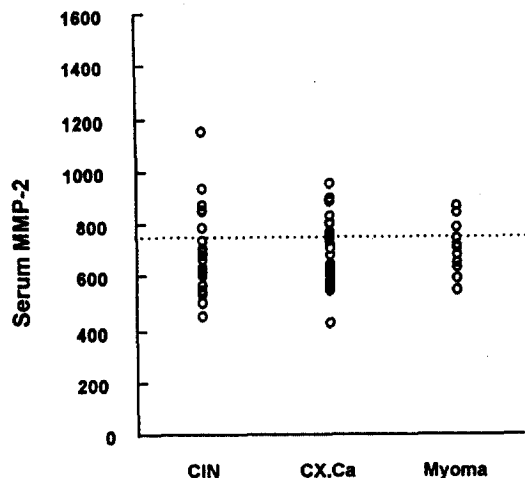


Fig. 2. The circulating levels of serum MMP-2 in normal controls, patients with benign myoma, CIN and cervical cancer. The cut off level of serum MMP-2 concentrations was decided to be 747.4pg/ml, which was calculated as the mean \pm 2SD of normal controls

었으며 특히 자궁경부암 환자와 자궁경부상피내종양 환자군과의 통계적 차이를 나타내었다.(Ta-

ble 1, $p<0.05$)

혈청 MMP-2는 자궁경부암 환자에서 $680.30 \pm 116.6\text{pg/ml}$, 자궁경부상피내종양 환자에서는 $715.2 \pm 150.0\text{pg/ml}$, 양성 자궁근종 환자에서는 $682.4 \pm 112.5\text{pg/ml}$ 로 통계적으로 각군과의 유의한 차이는 없었다.(Table 1, $p<0.05$)

Table 1. Serum TGF- β_1 and MMP-2 levels of each groups

	Case(n)	TGF- β_1 (Mean \pm S.D.)*	MMP-2 (Mean \pm S.D.)
Normal	5	$45.7 \pm 3.9\text{pg/ml}$	$607.7 \pm 70.2\text{pg/ml}$
Myoma	14	$46.0 \pm 8.5\text{pg/ml}$	$682.4 \pm 112.5\text{pg/ml}$
CIN	23	$46.2 \pm 9.2\text{pg/ml}^\#$	$715.2 \pm 150.0\text{pg/ml}$
Cervical cancer	34	$37.8 \pm 15.4\text{pg/ml}^\#$	$680.30 \pm 116.6\text{pg/ml}$

* $p<0.05$ Anova with multiple comparison

CIN=cervical intraepithelial neoplasia

2. 자궁경부암 환자의 치료 전후 TGF- β_1 , MMP-2 측정

자궁경부암 IIb기 이상 7명의 환자에서 기존의 예후인자로 이용하는 종양표지물질인 SCCA가 치료 전과 치료 후 의미있게 감소하였으나(Table 2, $p<0.05$) CEA는 통계적으로 의미있게 감소하지 않았으며 혈청 TGF- β_1 와 MMP-2도 자궁경부암 치료 전과 치료 후에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.(Table 2, $p>0.05$)

IV. 고 찰

일반적으로, 암은 세포수준에서 증식 및 성장 조절기전의 이상으로 인한 세포의 과증식이라는 일차적인 변화에 의해 야기된다. 세포의 증식 및 분화는 여러 성장인자나 호르몬 등과 같은 여러 외부 신호에 의해 세포와 세포의 기질과의 작용에 영향을 받으며 자극인자와 억제인자들의 상호작용에 의해 특정세포의 증식과 분화를 조절하게 된다.²⁰⁻²²⁾ 이러한 조화를 이루고 있는 조절기전이

Table 2. Comparison of serum TGF- β_1 & MMP-2 levels according to treatment and clinico-pathologic characteristics in cervical cancer patients

	Case(n=7)
Stage	
II b	5
IIIa	2
Tx	
Radiotherapy	5
Operation with Adj.	2
Tumor	
< 4cm ³	3
> 4cm ³	4
Histology	
Keratinizing, large cell	2
Nonkeratinizing, large cell	3
Small cell	2
Before treatment(Mean \pm S.D.)	
TGF- β_1	$49.2 \pm 10.5\text{pg/ml}$
MMP-2	$757.0 \pm 225.7\text{pg/ml}$
SCCA	$45.3 \pm 87.8^\# \text{pg/ml}$
CEA	$28.0 \pm 22.5\text{pg/ml}$
After treatment(Mean \pm S.D.)	
TGF- β_1	$34.7 \pm 22.4\text{pg/ml}$
MMP-2	$655.3 \pm 336.9\text{pg/ml}$
SCCA	$19.3 \pm 36.7^\# \text{pg/ml}$
CEA	$9.4 \pm 14.2\text{pg/ml}$

* $p<0.05$ Wilcoxon signed rank test

손상되면 세포증식, 분화기전이 파괴되어 암이 발생하게 된다.^{23,24)}

암의 진행에 관여하는 성장인자 중의 하나로 알려진 TGF β 는 분자량 25,000인 이종체 단백질로써 TGF- β 1, 2, 3의 3가지 이형이 알려져 있으며,^{5,6)} 이들은 같은 TGF- β 수용체(TGF- β receptor)에 결합한다고 보고되었다.⁷⁻⁹⁾ TGF- β 이형들은 상호간에 약 70% 이상에서 아미노산 서열이 유사하며 각각의 발현양상이 특징적인 양상을 보이나 대부분의 세포에서 거의 동일한 반응을 나타낸다고 한다.⁶⁾

TGF- β 는 생체 내에서 면역반응, 분화, 상처 치유, 세포유착, 세포의 기질 유지에 관여하며^{6,7)} 주로, 대부분의 상피세포 및 임파계세포의 성장을 억제하고 세포주기 G1 말기의 정지를 유도하거나 apoptosis에 관여하며¹⁰⁾ 혹은 fibronectin, laminin, collagen, integrin, proteoglycan 등의 세포유착 물질 발현을 유도한다.²⁵⁻²⁸⁾ 세포증식이나 분화의 조절, 세포의 기질의 합성에도 중요한 역할을 하며⁵⁾ 여러 종류의 성장인자의 생성과 정상적인 성장조절의 불균형으로 초래되는 암화과정에서는 주로 암 발현 억제역할을 한다고 보고되었다.^{11,12)}

그러나 최근 연구에 의하면 정상세포와는 달리 이미 발현된 암세포에서는 TGF- β 에 대한 반응이 소실됨으로써 TGF- β 에 대한 저항성을 나타내기 때문에 TGF- β 발현이 침윤 정도와 관계한다고 보고되었다.^{13,29)} TGF- β 의 저항성은 다수의 악성종양, 망막세포종, 편평상피암, 유방암, 전립선암, 위암, 대장암 등에서 연구 보고되었다.³⁰⁻⁴⁰⁾

TGF- β 의 작용기전으로는, TGF- β 의 자극을 받은 세포들이 TGF- β 를 분비하지만 주위의 TGF- β 에 민감한 세포들에 대해 억제작용을 하며 자체 암세포만이 선택적으로 증식하며 혈관형성과정에 관여하는 인자를 유도하고 암의 진행을 촉진시킨다.⁷⁾ TGF- β 에 대한 암세포의 저항성의 정확한 기전은 알려져 있지 않으나 주로 TGF- β 과 결합하는 수용체의 유전자 변이에 의한 것으로 연구되고 있다.⁴¹⁻⁴³⁾ 이외에 암의 침윤과정에서도 TGF- β 가 단백질 분해효소의 작용에 관여하고 apoptosis를 야기하는 인자에 대한 반응도 소실시키는 것으로 밝혀지고 있다.⁷⁾

대장암에서는 TGF- β 의 억제조절 작용에 의한 반응이 감소되며 암의 침윤과정에 필요한 단백질 분해효소를 활성화시키는 성장인자를 유도하고 apoptosis를 야기하는 인자의 소실과 반응을 감소시킨다고 연구보고되었다.^{42,43)} 또한 유방암에서^{33,34,39)} 전립선암에서^{35,36)} TGF- β 발현이 침윤 정도와 관계한다고 보고되었으며 췌장암 환자의 생존율과 TGF- β 발현이 관계가 있다고 알려졌다.⁴⁶⁾ 그러나 아직 자궁경부암에서의 TGF- β 발현이나 역할에 대해서는 국내외적으로 연구된 바 없으며 자궁경부암 세포주의 TGF- β 발현에 대한 연구도 적다.

본 연구에서는 자궁경부암 환자에서 혈청 TGF- β_1 를 측정하여 정상인과 양성 자궁근종 환자, 자궁경부암 전단계인 상피내종양 환자와 비교하였는데 자궁경부암과 전암단계 상피내종양에 비해 통계적으로 유의한 감소를 보임으로써 자궁경부암 진단에 혈청 TGF- β_1 를 유용하게 이용할 수 있음을 나타내었다. 그러나 자궁경부암 환자의 치료 전과 치료 후에 측정된 혈청 TGF- β_1 는 유의한 차이를 나타내지 않았는데 이는 본 연구 결과만으로는 혈청 TGF- β_1 가 자궁경부암의 예후를 예측하는 데는 유용하지 않다고 하겠다. 자궁경부암 조직에서 면역화학염색방법에 의한 TGF- β 발현을 연구해봄이 자궁경부암 예후에 미치는 TGF- β_1 역할을 규명하는 데 도움이 되리라 사료된다.

암 전이의 첫단계는 암세포의 이동으로 세포의 기질의 분해가 필수조건이다. 세포의 기질(extracellular matrix)⁴⁷⁾은 생물체 조직의 형태를 유지하게 하고 암세포 침윤에 대한 기계적인 장벽의 역할을 담당하는 것으로 collagen, laminin, fibronectin, elastin, proteoglycans, glycosaminoglycan 등으로 구성된다. 세포의 기질을 분해하는 단백질 분해효소로는 MMP(matrix metalloproteinase) 군,⁴⁸⁻⁵⁰⁾ cathepsin,⁵¹⁾ plasminogen activator^{52,53)} 등이 존재한다.

MMP-2(gelatinase A), MMP-9(gelatinase B)은 metalloproteinase군에 속하며 암의 전이와 맥관형성에 관여하는 endopeptidase로써 여러 종류의 암에서 증가한다고 보고되었다. MMP-2는 type IV, V, VII, X, XI collagen, fibronectin, elastin, proteoglycan을 분해하는 72 kDa의 type IV collagenase로⁵⁴⁻⁵⁶⁾ proMMP-2에서 아미노산기가 제거되어 MMP-2로 활성화된 후 기능한다.⁵⁷⁻⁵⁸⁾ MMP-2는 in vitro에서 여러 종류의 암에서 발현된다.⁵⁹⁻⁶¹⁾ MMP-2 기능은 TIMP(tissue inhibitor of metalloproteinase)에 의해 억제되며 MMP-2와 TIMP와의 균형적인 조절에 의해 암의 진행을 유도하거나 저해하는 작용을 한다.

암세포에서 MMP-2가 생성되면 국소적인 암의 침윤과 전이에 중요한 역할을 담당한다고 한다. 아직까지는 MMP-2의 작용기전이 정확히 알려져 있지 않으나 기저막의 구성성분이 되는 type IV collagen을 분해하여 암이 전이되는데 역할을 하

며 MMP-2 생성은 이러한 암의 침윤, 전이과정의에도 세포의 악성화와 관계된다고 보고되었다.^{2,63-65)}

난소암에서 면역화학 염색방법에 의해 기저막 변화와 MMP-2 발현을 검사하여 난소암의 초기 침윤단계를 진단할 수 있었다고 보고되었으며⁶⁶⁾ 임파절로 전이된 구강암 조직에서 전이되지 않은 조직에서보다 MMP-2 발현이 강하게 증가함으로써 암에 의한 MMP-2 생성이 암의 악성화 정도와 관련이 있다고 하였다.⁶⁷⁾ 구강 편평상피암의 작은 암종피에서도 MMP-2 전구물질인 proMMP-2를 다량 분비한다고 하였으며 이 소견은 구강암이 MMP-2를 분비함으로써 주위의 정상조직으로 암이 퍼지는 과정을 설명할 수 있다고 하였다.

정상세포에서의 MMP-2 분비는 성장인자나 cytokine에 의해 조절되며^{68,69)} 암 조직에서 MMP-2를 분비하는 성향이 이질적이라고 하였다. 이러한 이질성은 암세포에서 각각의 성장인자의 수용체 발현에 의해 설명될 수 있다고 하였다.⁷⁰⁾ 침윤성 암세포에서의 MMP-2 생성의 부족은 MMP-2 발현 소실이나 암조직의 이질성을 의미한다고 하겠다. 따라서 MMP-2 생성보다 MMP-2 활성화에 관여하는 인자가 더욱 중요하다. 암세포는 정상인에서도 많이 분비되는 외인성 MMP-2를 이용한다고 알려져 있으며⁷¹⁾ 모든 병기의 유방암에서도 나타나며 MMP-2를 활성화시키는 단계가 유방암 전이에 중요하다고 하였다.⁷²⁻⁷⁴⁾ 암세포는 섬유화 세포를 활성화시키는 인자를 분비한 후 암세포 증식부위로 이동하여 기저막을 분해하게 하며 암 진행 초기에 암세포가 성장인자에 반응하여 MMP-2를 활성화시키고 침윤케 하는 것이다.

본 연구에서 자궁경부암 환자에서 측정된 혈청 MMP-2가 다른 양성 자궁근종 환자나 자궁경부상피내종양 환자에 비해 의미있게 증가하지 않은 것은 위와 같이 이질적인 자궁경부암세포의 MMP-2 분비성향에 기인한 것으로 생각된다. 또한 혈청 MMP-2 측정은 자궁경부암 환자에서는 진단뿐만 아니라 예후를 예측하는 데는 유용하지 않았다.

반면에 전이된 폐암환자에서는 전이되지 않은 폐암환자에서보다 혈청 MMP-2가 의미있게 증가하였다고 보고되었으며 혈청 MMP-2 증가는 암의

병리학적 성향과는 무관하고 암의 단계, 암 종괴와 밀접한 관련이 있다고 하였다.⁷⁵⁾ 따라서 전이된 폐암환자에서는 혈청 MMP-2를 연속검사하는 것이 치료효과를 예측하는 데 유용하다고 하였다. 다른 많은 연구자들은 전이성 암세포가 다량의 MMP-2를 분비하지만 비전이성 암세포는 MMP-2를 분비하지 않는다고 하였다.^{2,76)}

요도암 환자에서 혈청 MMP-2 외에 TIMP-2를 동시에 측정함으로써 재발 가능성이 적은 요도암 환자나 정상인에 비해 재발이 가능한 진행된 요도암 환자에서는 혈청 MMP-2/TIMP-2 비가 높다고 하였다.⁷⁷⁾ 그러나 혈청 MMP-2/ TIMP-2 비는 요도암의 크기와 관계되지 않았다고 하였다.

따라서 자궁경부암 환자에서 혈청 proMMP-2와 TIMP를 측정하고 MMP-2를 활성화 시키는 기전에 대한 연구가 더욱 필요하다고 생각된다.

결론적으로, 본 연구에서는 최근 여러 악성종양의 전이과정에 중요한 역할을 하는 성장인자로 알려진 TGF- β_1 를 혈액에서 검사하는 것이 임상적으로 기존의 종양표지물질에 비해 자궁경부암의 진단하는 데 더욱 유용하지 않았으며 기저막을 분해하는 단백질 분해효소인 MMP-2도 혈액에서 검사하는 것이 자궁경부암 진단이나 예후예측에는 유용하지 않았다. 앞으로 자궁경부암 조직에서 TGF- β 가 기능하는데 필요한 TGF- β 수용체의 발현여부나 TGF- β 및 TGF- β 수용체의 유전자 변이 등에 대한 연구, MMP-2 활성화 전단계인 proMMP-2 및 TIMP에 대한 연구가 수행된다면 아직까지 연구가 부족한 암 성장인자나 혈관형성인자, 단백질 분해효소가 자궁경부암 전이과정에 미치는 역할에 대해 규명할 수 있으며 이로써 임상적인 활용도 가능하리라 사료된다.

V. 결 론

1995년 9월부터 1997년 6월까지 이화여자대학교 목동병원 산부인과를 내원한 정상인 5명과 자궁근종 환자 14명, 중등도 이형성 이상의 자궁경부상피내종양 환자 23명과 침윤성 자궁경부암 환자 34명을 대상으로 하여 혈청 TGF- β_1 , MMP-2를 측정하였으며 자궁경부암 IIb기 이상의 환자 7

명에서 치료 전과 치료 후에 혈청 TGF- β_1 , MMP-2를 연속적으로 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

혈청 TGF- β_1 는 자궁경부암 환자에서 $37.8 \pm 15.4\text{pg/ml}$, 자궁경부상피내종양 환자에서는 $46.2 \pm 9.2\text{pg/ml}$, 양성 자궁근종 환자에서는 $46.0 \pm 8.5\text{pg/ml}$ 로 통계적으로 각 군과의 유의한 차이는 있었으며 특히 자궁경부암 환자와 자궁경부상피내종양 환자군과의 통계적 차이를 나타내었다.

혈청 MMP-2는 자궁경부암 환자에서 $680.30 \pm 116.6\text{pg/ml}$, 자궁경부상피내종양 환자에서는 $715.2 \pm 150.0\text{pg/ml}$, 양성 자궁근종 환자에서는 $682.4 \pm 112.5\text{pg/ml}$ 로 통계적으로 각군과의 유의한 차이는 없었다.

자궁경부암 IIb기 이상 7명의 환자에서 기존의 예후인자로 이용하는 종양표지물질인 SCCA가 치료 전과 치료 후 의미있게 감소하였으나 혈청 TGF- β_1 와 MMP-2도 자궁경부암 치료 전과 치료 후에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

본 연구 결과, 기저막을 분해하는 단백질 분해 효소인 혈청 MMP-2를 검사하는 것이 자궁경부암 진단이나 예후예측에는 유용하지 않았고 최근 여러 악성종양의 전이과정에 중요한 역할을 하는 성장인자로 알려진 혈청 TGF- β_1 를 검사하는 것도 임상적으로 기존의 종양표지물질에 비해 자궁경부암의 진단하는 데 더욱 유용하지 않았으나, 혈청 TGF- β_1 는 자궁경부암과 자궁경부상피내종양을 감별진단하는 데 조직병리학적 진단 외에 보조적으로 이용될 수 있으리라 사료되는 바이다.

- References -

1. Fidler IJ, Hart IR: Biologic diversity in metastatic neoplasms-origins and implications. *Science*, 1982; 217:998.
2. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG: Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cell*, 1991;64:327.
3. Barsky SH, Siegal GP, Jannotta FA: Loss of basement membrane components by invasive tumors but not their benign counterparts. *Lab Invest*. 1983; 49:140.
4. Bikfalvi A: significance of angiogenesis in tumour progression and metastasis. *Eur J Cancer*, 1995; 31:1101.
5. Roberts AB, Sporn MB: The transforming growth factor betas. In: Sporn MB, Roberts AB, eds. *Peptide growth factors and their receptors I, handbook of experimental pharmacology*, 95/I. Berlin, Springer-Verlag: 1990, 417.
6. Massague J, Cheifetz S, Laiho M et al.: Transforming growth factor- β . *Cancer Surv*, 1992;12:81.
7. Massague J, Like B: Cellular receptors for type β transforming growth factor, *J Biol Chem*, 1985; 260:2636.
8. Chieftetz S, Hernandez H, Laiho M et al.: Distinct transforming growth factor- β (TGF- β) receptor subsets as determinants of cellular responsiveness to three TGF- β isoforms. *J Biol Chem*, 1990;265:20533.
9. Wrana JL, Attisano L, Wieser R et al.: Mechanism of activation of the TGF- β receptor. *Nature*, 1994, 370:341.
10. Lin P, Liu C, Tsao MS et al.: Inhibition of proliferation of cultured rat liver epithelial cells at specific cell cycle stages by transforming growth factor- β . *Biochem Biophys Res Comm*, 1987;143:26.
11. Rodriguez GC, Berchuck A, Whitaker RS: Epidermal growth factor receptor expression in normal ovarian epithelium and ovarian cancer II. Relationship between receptor expression and response to epidermal growth factor. *Am J Obstet Gynecol*, 1991;164:745.
12. Gajduawak CM, Luo Z, Mayberg MR: Basic fibroblast growth factor and transforming growth factor beta-1: synergistic mediators of angiogenesis in vitro. *J Cell Physiol*, 1993;157:133.
13. Manning AM, Williams AC, Game SM et al.: Differential sensitivity of human colonic adenoma and carcinoma cells to transforming growth factor β (TGF β): conversion of an adenoma cell line to a tumorigenic phenotype is accompanied by a reduced response to the inhibitory effect of TGF- β . *Oncogene*, 1991;6:1471.
14. Matrisian L: The matrix degrading metalloproteinases. *Bioassays*, 1992;14:455.

15. Poulson R, Pignatelli M, Stetler Stevenson WG et al.: Stromal expression of 72kDa type IV collagenase(MMP-2) and TIMP-2 mRNAs in colorectal neoplasia. *Am J Path*, 1992;141:389.
16. Gray ST, Wilkins RJ, and Yun K: Interstitial collagenase gene expression in oral squamous cell carcinoma. *Am J Path*, 1992;141:301.
17. Chen WT: Membrane proteases: roles in tissue remodeling and tumour invasion. *curr Opin Cell Biol*, 1992;4:802.
18. Stetler-Stevenson WG, Aznavoorian S, Liotta LA: Tumor cell interactions with the extracellular matrix during invasion and metastasis. *Annu Rev Cell Biol*, 1993;9:541.
19. Morikawa K, Walker SM, Nakajima M et al.: Influence of organ environment on the growth, selection and metastasis of human colon carcinoma cells in nude mice. *Cancer Res*, 1988;48:6863.
20. Nowell PC: The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*, 1976;194:23.
21. Vogelstein B, Kinzler KW: The multistep nature of cancer. *Trends Genet*, 1993;9:138.
22. Farber E, Cameron C: The sequential analysis of cancer development. *Adv Cancer Res*, 1980;31:125.
23. Weinberg RA: A molecular basis of cancer. *Sci Am*, 1983;249:126.
24. Quintanilla M, Brown K, Ramsden M et al.: Carcinogen specific mutation and amplification of Ha-ras during mouse skin carcinogenesis. *Nature*, 1986;322:78.
25. Ignatz RA, and Massague J: Transforming growth factor- β stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J Biol Chem*, 1986;261:4337.
26. Ignatz RA, and Massague J: Cell adhesion receptors as targets for transforming growth factor- β action. *Cell*, 1987;51:189.
27. Pignatelli M, Bodmer WF: Integrin receptor mediated differentiation and growth inhibition is enhanced by transforming growth factor- β in colorectal tumor cells grown in collagen gels. *Int J Cancer*, 1989;44:518.
28. Ruoslahti E, Pierschbacher MD: New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science*, 1987;238:491.
29. Arrick BA, Lopez AR, Elfmann F et al.: Altered metabolic and adhesive properties and increased tumorigenesis associated with increased expression of transforming growth factor β I. *J Cell Biol*, 1992;118:715.
30. Chang HL, Gillett N, Fogaro O et al.: Increased transforming growth factor β expression inhibits cell proliferation in vitro, yet increases tumorigenicity and tumor growth of Meth A sarcoma cells. *Cancer Res*, 1993;53:4391.
31. Manning AM, Williams AC, Game SM et al.: Differential sensitivity of human colonic adenoma and carcinoma cells to transforming growth factor β (TGF- β): conversion of an adenoma cell line to a tumorigenic phenotype is accompanied by a reduced response to the inhibitory effect of TGF- β . *Oncogene*, 1991;6:1471.
32. Ma D, Luyten GP, Luder TM et al.: Relationship between natural killer cell susceptibility and metastasis of human uveal melanoma cells in a murine model.
33. Osamura RJ, Oda K, Horis et al.: Evaluation of immunohistochemical expression of TGF- β as a prognostic factor for mammary carcinomas. *Lab Invest*, 1990;62:A76.
34. Gorsch SM, Memoli VA, Stukel TA et al.: Immunohistochemical staining for TGF- β 1 associates with disease progression in human breast cancer. *Cancer Res*, 1992;52:6949.
35. Thompson TC, Truong LD, Timme TL et al.: TGF- β 1 as a biomarker for prostate cancer. *J Cell Biochem*, 1992;16H:54.
36. Steiner M, and Barrack ER: Transforming growth factor- β 1 overproduction in prostate cancer: effects on growth in vivo and in vitro. *Mol Endocrinol*, 1992;6:15.
37. Houssein HM, McKnight MK, Levine AE et al.: Differential sensitivity of subclass of human colon carcinoma cell lines to the growth inhibitory effects of transforming growth factor- β . *Exp Cell Res*, 1989, 181:442.
38. Suardet L, Gaide A-C, Calmes J-M et al.: Responsiveness of three newly established human colorectal

- cancer cell lines to transforming growth factor- β 1 and β 2. *Cancer Res*, 1992;52:3705.
39. Knabbe C, Lippman ME, Wakefield LM et al.: Evidence that transforming growth factor-beta is hormonally regulated negative growth factor in human breast cancer cells. *Cell*, 1987;48:417.
40. Kim IY, Ahn HJ, Zelner DJ et al.: Genetic change in transforming growth factor β (TGF- β) receptor type I gene correlates with insensitivity to TGF- β 1 in human prostate cancer cells. *Cancer Res*, 1996;56:42.
41. Park K, Kim SJ, Bang YJ et al.: Genetic changes in the transforming growth factor β (TGF- β) type II receptor gene in human gastric cancer cells: correlation with sensitivity to growth inhibition by TGF- β . *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994;91:8772.
42. Markowitz S, Wang J, Meyeroff L et al.: Inactivation of the type II TGF- β receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science*, 1995; 268:1336.
43. Wang J, Sun LZ, Meyeroff L et al.: Demonstration that mutation of type II TGF- β receptor inactivates its tumor suppressor activity in replication error-positive colon carcinoma cell. *J Biol Chem*, 1995; 270:22044.
44. Edward DR, Murphy G, Reynolds JJ et al.: Transforming growth factor β modulates the expression of collagenase and metalloproteinase inhibitor. *EMBO J*, 1987;6:1899.
45. Overall CM, Wrana JL, Sodek J: Transcriptional and posttranscriptional regulation of 72kDa gelatinase /type IV collagenase by transforming growth factor- β 1 in human fibroblasts. *J Biol Chem*, 1991; 266:14064.
46. Friess H, Yamanaka Y, Buchler M et al.: Enhanced expression of TGF β isoforms in pancreatic cancer correlates with decreased survival. *Gastroenterology*, 1993;105:1846.
47. Liotta LA: Tumor invasion: role of the extracellular matrix. *Cancer Res*, 1986;46:1.
48. Birkedal-Hansen H, Werb Z, Welgus HG: Matrix metalloproteinases and inhibitors. Stuttgart, Ger: Gustav, fisher, Verlag, 1992.
49. Liotta LA, Rao CN, Barsky SH: Tumor invasion and the extracellular matrix. *Lab Invest*, 1983; 49:636.
50. Yamagata S, Ito Y, Tanaka R et al.: Gelatinases of metastatic cell lines of murine colonic carcinoma as detected by substrate gel electrophoresis. *Biochem Biophys Res Comm*. 1988;151:158.
51. Mullins DE, Rohrich ST: Role of proteinases in cellular invasiveness. *Biochem Biophys Acta*. 1983; 49:636.
52. Dufft MJ, Ogradt P: Plasminogen activator and cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1984;20:577.
53. Niedbala MJ, Sartorelli AC: Regulation by epidermal growth factor of human squamous cell carcinoma plasminogen activator mediated proteolysis of extracellular matrix. *Cancer Res*. 1989;49:3302.
54. Liotta LA, Abe S, Robey PM et al.: Preferential digestion of basement membrane collagen by an enzyme derived from a metastatic murine tumor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979;76:2268.
55. Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S et al.: Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature*, 1980; 284:67.
56. Martinez-Hernandez A, Amenta PS: The basement membrane in pathology. *lab Invest*, 1983;48:656.
57. Stetler-Stevenson WG: Type IV collagenases in tumor invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 1990;9:289.
58. Stetler-Stevenson W, Kruttsch HC, Wachter MP et al.: The activation of human type IV collagenase proenzyme. Sequence identification of the major conversion product following organomercurial activation. *J Biol Chem*, 1989;264:1353.
59. Sato H, Kida Y, Mai M et al.: Expression of genes encoding type IV collagen degrading metalloproteinases and inhibitors of metalloproteinase in various human tumor cells. *Oncogene*, 1992;7:77.
60. Mackay AR, Ballin M, Pelina MD et al.: Effect of phorbol ester and cytokine on matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase expression in tumor and normal cell lines. *Invasion Metastasis*. 1992;12:168.
61. Aznavoorian S, Murphy AN, Stetler-Stevenson WG et al.: Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis. *Cancer*, 1993;71:1368.

- metastatic potential of a v-Ha-ras-transformed human bronchial epithelial cell line. *J Natl Cancer Inst*, 1989;81:587.
63. Garbisa S, Pozzati R, Muschel RJ et al.: Secretion of type IV collagenolytic protease and metastatic phenotype: induction by transfection with c-Ha-ras but not c-Ha-ras plus Ad2-Ela. *Cancer Res*, 1987; 47:1523.
64. Goldberg GI, Marmer BL, Grant GA et al.: Human 72-kilodalton type IV collagenase forms a complex with a tissue inhibitor of metalloproteases designated TIMP-2. *Proc natl Acad Sci USA*, 1989; 86:8207.
65. Monteasudo C, Merino MJ, SanJuan J et al.: Immunohistochemical distribution of type IV collagenase in normal, benign, and malignant breast tissue. *Am J Pathol*, 1990;136:585.
66. Campo E, Merino MJ, Tavassoli FA et al.: Evaluation of basement membrane components and the 72 kDa type IV collagenase in serous tumors of the ovary. *Am J Surg Pathol*, 1992;16:500.
67. Kusakawa J, Sasaguri Y, Shima I et al.: Expression of matrix metalloproteinase-2 related to lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. *Am J Clin Pathol*, 1993;99:18.
68. Yanagi H, Sasaguri Y, Sugama K et al.: Production of tissue collagenase(matrix metalloproteinase 1) by human aortic smooth muscle cells in response to platelet-derived growth factor. *Atherosclerosis*. 1991; 91:207.
69. Bauer EA, Cooper TW, Huang JS et al.: Stimulation of in vitro human skin collagenase expression by platelet derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;264:1860.
70. Overall CM, Wrana JL, Sodek J: Independent regulation of collagenase, 72 kDa progelatinase, and metalloproteinase inhibitor expression in human fibroblasts by transforming growth factor- β . *J Biol Chem*. 1989;264:1860.
71. Vartio T, Baumann M: Human gelatinase/type IV procollagenase is a regular plasma component. *FEBS Lett*, 1989;255:285.
72. D'Errico A, Garbisa S, Liotta LA: Augmentation of type IV collagenase, laminin receptor, and Ki67 proliferation antigen associated with human colon, gastric, and breast carcinoma progression. *Mod Pathol*, 1991;4:239.
73. Monteagudo C, Merino MJ, San-Juan J: Immunohistochemical distribution of type IV collagenase in normal, benign, and malignant breast tissue. *Am J Pathol*, 1990;136:585.
74. Brown PD, Bloxidge RE, anderson E: Expression of activated gelatinase in human invasive breast carcinoma. *clin Exp Metastasis*. 1993;11:183.
75. Garbisa S, Scagliotti G, Masiero L et al.: Correlation of serum metalloproteinase levels with lung cancer metastasis and response to therapy. *Cancer Res*, 1992;52:4548.
76. Nakajima M, Chop AM: Tumor invasion and extracellular matrix degradative enzyme: regulation of activity by organ factors. *Sem Cancer Biol*, 1991; 2:115.
77. Gohji K, Fujimoto N, Fujii A et al.: Prognostic significance of circulating matrix metalloproteinase-2 to tissue inhibitor of metalloproteinases-2 ratio in recurrence of urothelial cancer after complete resection. *Cancer Res*, 1996;56:3196.