수술 절제를 시행받은 제1기 비소세포폐암 환자에서의 Fascin 발현과 예후

동아대학교 의과대학 [1]내과학교실, [2]방사선종양학교실, [3]영상의학교실, [4]흉부외과학교실, [5]병리학교실
노미숙[5], 엄수정[1], 최영민[2], 김기남[3], 최필조[4], 이수걸[1], 손춘희[1], 양두경[1]

Prognostic Significance of Fascin Expression in Stage I Non-small Cell Lung Cancer

Mee-Sook Roh, M.D.[5], Su-Jung Um, M.D.[1], Youngmin Choi, M.D.[2], Ki-Nam Kim, M.D.[3], Pil Jo Choi, M.D.[4], Soo-Keol Lee, M.D.[1], Choonhee Son, M.D.[1], Dookyung Yang, M.D.[1]
Departments of [1]Internal Medicine, [2]Radiation Oncology, [3]Radiology, [4]Thoracic Surgery, [5]Pathology, Dong-A University College of Medicine, Busan, Korea

Background: Fascin is an actin-bundling protein that plays an important role in cellular motility. Fascin is normally expressed in the neuronal and mesenchymal cells and its expression is low or absent in the epithelia. However, an overexpression of fascin has been linked to the invasive behavior of some neoplasms such as breast, stomach and ovarian tumors. In this study, we evaluated the expression of fascin and its prognostic significance in stage I non-small cell lung cancer (NSCLC).
Methods: Immunohistochemical staining for fascin was performed on the paraffin-embeded tissue sections of 81 cases of resected NSCLC. Staining of more than 5% of the tumor cells was recorded as positive immunoreactivity.
Results: Fascin expression was seen in 73% (59/81) of the cases and this was more frequently seen in squamous cell carcinoma than in adenocarcinoma (93% vs 42%). There were no significant correlations of fascin immunoreactivity with tumor recurrence and overall survival.
Conclusion: The expression rate of fascin was relatively high in NSCLC, but this was without prognostic significance. The exact clinical role of fascin should be defined through further investigations. *(Tuberc Respir Dis 2008;65: 105-109)*

Key Words: Fascin, Lung cancer, Prognosis

서 론

비소세포폐암은 예후가 나쁜 암으로 평균 5년 생존율은 14% 정도이다[1]. 폐암의 가장 중요한 예후 인자는 종양의 병기이며, 일반적으로 병기와 조직학 유형이 동일한 환자에서는 유사한 임상 경과와 생존율을 기대할 수 있다[2,3]. 그러나 폐암의 병기와 조직학 유형이 같더라도 근치적 수술을 받은 후 일부 환자는 재발로 사망하게 된다. 따라서 종양의 병기나 조직학 유형 이외에 종양의 생물학적 특성을 고려한 여러 가지 지표들이 폐암의 예후를 예측하고 나아가 치료 계획을 결정할 수 있는 인자로서 역할을 수행하는지에 대한 연구가 진행되어 오고 있다[4,5].

암세포는 운동성을 가지고 세포간에 유지되던 유착력을 극복함으로써 주변 조직으로 침범하는데[6], 이러한 변화에는 여러 종류의 액틴 결합 단백질들이 관여하는 것으로 추측된다[6-8]. Fascin은 55 kDa 크기의 액틴 결합 단백질로서, 세포 운동에 관여하는 미세융모나 미세돌기 같은 역동적 구조물에서 증가되어 있다. Fascin은 정상적인 상피세포에는 증가되어 있지 않지만, 신경세포나 가지돌기세포 등 특별한 형태의 정상세포에서는 증가되어 있다[9]. 최근 난소암, 유방암, 췌장암, 잘록창자암, 위암, 갑상샘암 등 다양한 암종에서 fascin 발현이 증가되어 있으며, 이러한 암종에서 fascin 발현은 보다 광범위한 종양의 침범이나 원격 전이와 관련성이 있다는 연구들이 보고되고 있다[10-12].

이와 같은 배경에서 본 연구는 수술 절제를 시행 받은 제 1병기 비소세포폐암 환자의 조직에서 fascin 발현을 조

본 연구는 2005학년도 동아대학교 신진과제 학술연구비의 지원에 의해 이루어진 것임.
Address for correspondence: **Dookyung Yang, M.D.**
Department of Internal Medicine, Dong-A University College of Medicine, 1, Dongdaisin-dong 3-ga, Seo-gu, Busan 602-714, Korea
Phone: 82-51-240-2623, Fax: 82-51-242-5852
E-mail: imyang1@yahoo.com
Received: Jul. 2, 2008
Accepted: Jul. 28, 2008

사하여 재발률 및 생존율과의 관련성을 검토함으로써 fascin이 예후 인자로서 역할을 하는지 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자 선정과 조사 방법

1995년 9월부터 2004년 2월까지 동아대학교 병원을 방문하여 비소세포폐암으로 근치적 절제수술을 받은 환자 중 수술 후 3개월 이상 생존하여 추적조사가 가능했던 제1병기 비소세포폐암 환자 81명을 대상으로 연구하였다. 환자들의 임상 정보와 생존 유무는 의무기록 및 전화통화를 통해 후향적으로 조사하였다.

2. 면역조직화학 염색 방법

10% 중성 포르말린에 고정하여 파라핀에 포매한 조직을 4 μm 두께로 박절하여 probe-on 슬라이드에 부착하여 자일렌으로 파라핀을 제거한 후 100%, 90%, 80% 및 70% 알코올에 순서대로 1분씩 두어 함수시켰다. 조직을 포르말린에 고정하고 파라핀으로 포매하는 과정에서 감추어졌던 항원을 노출시키고 복구하여 예민도를 높이기 위하여 citrate 완충액(pH 6.0)에 조직 슬라이드를 담근 후 700 W 마이크로파로 5분간 2회 처리하였다. PBS 완충액으로 씻은 후 3% 과산화수소수로 5분간 처리하여 세포내의 내인성 과산화효소 활성을 저지시킨 다음 면양 혈청에 5분간 접촉시켜 비특이적 항체 결합을 억제시켰다. 단클론 항체인 mouse anti-fascin (DakoCytomation, Carpinteria, Ca, USA, A;50)을 떨어뜨려 습윤 상태의 실온에서 1 시간 반응시킨 후 PBS 완충액으로 5분간 2번 씻었다. Anti-mouse IgG 2차 항체 (LSAB+ Kit, DakoCytomation, Denmark)로 30분간 반응시켜 PBS 완충액으로 씻은 후 streptavidin peroxidase로 30분간 염색하였다. 다시 PBS 완충액으로 씻고 발색시약 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC)로 10분간 염색한 후 물로 세척하고 hematoxylin으로 3분간 대조 염색을 한 후 다시 물로 씻고 crystal mount로 봉입하여 광학 현미경으로 검경하였다.

3. 염색 결과의 판독

염색된 폐암 조직을 현미경으로 관찰하여 종양 세포가 염색되지 않거나 약한 반응 흔적만 있는 경우는 음성으로 판독하였다. Fascin이 세포질에 5% 이상 적갈색 과립으로 염색되면 양성으로 판독하였는데, fascin 양성 세포의 백분율에 따라 5～50%인 경우는 저발현군, 50%를 초과하는 경우를 고발현군으로 분류하였다[13,14].

4. 통계적 분석

통계 처리는 PC용 SPSS (version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하였다. 임상병리학적 인자와 fascin 발현 정도와의 관련성을 평가하기 위해 Chi-square test를 이용하였고, $p<0.05$ 일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다. 환자들의 생존기간 산출은 Kaplan-Meier Method를 사용하였으며, 각 군간의 생존율 비교는 log rank test를 사용하였다.

결 과

1. 환자들의 특성

대상 환자들의 평균 연령은 60.9±8.3세(25～74세)이었고, 성별 분포는 남자가 63예(77%), 여자가 18예(23%)이었다. 비소세포폐암의 조직학 유형은 편평세포암종이 44예(54%), 샘암종이 33예(41%), 기타가 4예(5%)이었다. 병리적 병기는 IA가 38예(47%)이었고, IB가 43예(53%)이었다.

2. Fascin 발현과 임상병리학적 인자들과의 관련성

Fasin 발현은 전체 81예 중 59예(73%)에서 양성이었다(Figure 1). 조직학 유형에 따라 fascin 발현을 비교하였을 때, 샘암종에서는 42%(14/33예)가 양성이었고 저발현군과 고발현군이 각각 7예이었다. 편평세포암종에서는 93%(41/44예)가 양성이었으며 저발현군이 6예, 고발현군이 35예로 관찰되어 샘암종에 비해 유의하게 fascin 발현이 높았다($p<0.05$). 조직의 분화 정도를 적용하기 어려운 세기관지폐포암종10예와 다형암종 2예를 제외한 69 예에서 조직의 분화 정도에 따른 fascin 발현을 비교해 보았을 때 유의한 차이는 없었다($p=0.98$). 그 밖에 성별이나 연령, 흡연 여부, TNM 병기 등도 fascin 발현과 관련성은 없었다(Table 1).

3. Fasin 발현 정도에 따른 재발률 및 생존율의 비교

대상 환자 81명의 수술 후 평균 추적 기간은 70.4개월(6.2～149.2개월)이었다. 17예(21%)에서 재발하였고 20예(25%)에서 사망하여 Kaplan-Meier생존 분석에 의한 5년 생존율은 75.7%이었다. Fascin 발현 정도에 따른 5년 무병생존율은 fascin 발현 음성군, fascin 저발현군, fascin 고발현군에서 각각 79%, 84%, 76%로 통계적으로 유의한

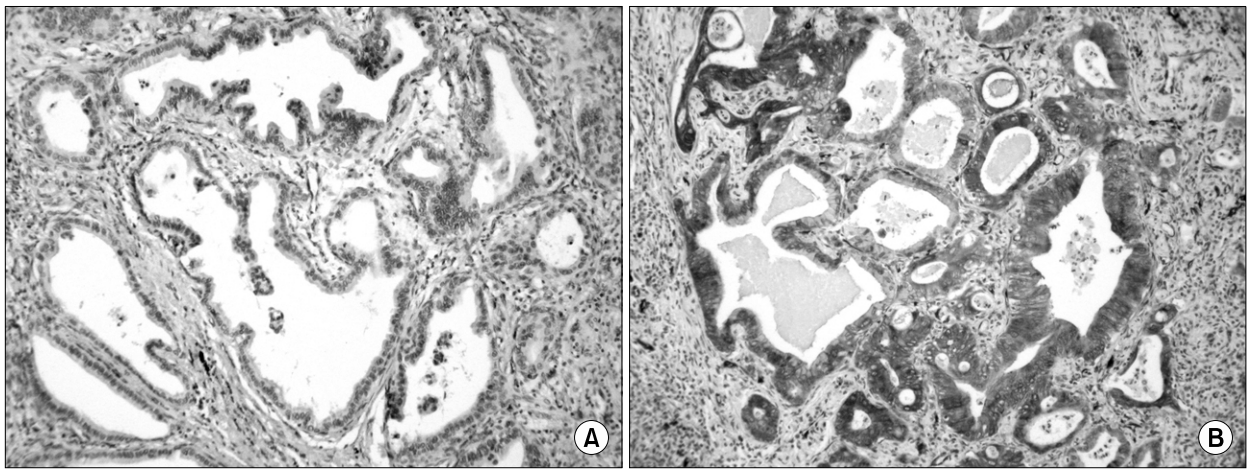

Figure 1. Immunohistochemical stainings for fascin in non-small cell lung cancer. (A) Negative fascin expression (x100). (B) Positive fascin expression (×100).

Table 1. The relationship between clinicopathologic variables and the expression of fascin

Characteristics	Expression of fascin			p value
	Negative (n=22)	Low grade (n=13)	High grade (n=46)	
Age				0.48
<65	13	7	32	
≥65	9	6	14	
Gender				0.22
Male	15	9	39	
Female	7	4	7	
Histology				<0.05
Adenocarcinoma	19	7	7	
Squamous cell carcinoma	3	6	35	
Others	0	0	4	
Grade (n=69)				0.98
Well	6	3	17	
Moderate	8	6	21	
Poor	2	1	5	
TNM stage				0.38
1A	13	6	19	
1B	9	7	27	
Smoking	12	6	33	0.15

차이가 없었다(p=0.75). 또한 fascin 발현 정도에 따른 5년 생존율은 fascin 발현 음성군에서 68%, fascin 저발현군에서 76%, fascin 고발현군에서 79%로 각 군간에 유의한 차이가 없었다(p=0.86)(Figure 2).

사망 원인으로는 폐암의 진행에 의한 경우가 17예, 폐암 이외의 다른 질환에 의한 경우가 3예이었으며 각 군간에 차이를 보이지는 않았다(p=0.89).

고 찰

초기 병기의 비소세포폐암은 수술 절제로 완치를 기대할 수 있으나 재발률은 여전히 높다. 따라서 종양의 병기나 조직학 유형 이외에 종양의 생물학적 특성을 고려한 여러 가지 지표에 대한 연구가 진행되어 오고 있다. 본 연구에서는 수술 절제를 받은 제1기 비소세포폐암 환자의 조직에서 면역조직화학 염색법으로 fascin 발현 정도를 평가하여 환자의 재발이나 생존에 영향을 미치는지 알아보았으나 유의한 관련성을 보이지 않았다.

암세포가 주변 조직으로 침범하기 위해서는 기저막을 가로질러 이동할 수 있는 능력이 필요한데 이러한 과정에 여러 종류의 액틴 결합 단백질이 관여하는 것으로 알려져 있다. Fascin은 이러한 액틴 결합 단백질의 일종으로 1975년 Kane에 의해 바다 성게알의 세포질에서 처음 발견되었다[15]. Fascin은 정상 상피에서는 발현되지 않지만 다양한 종류의 악성 종양에서 발현이 증가되어 있음이 보고되고 있는데 Hu 등[16]은 34 예의 난소 조직을 조사하여 정상 난소 조직에서는 fascin 발현이 관찰되지 않지만 경계선 종

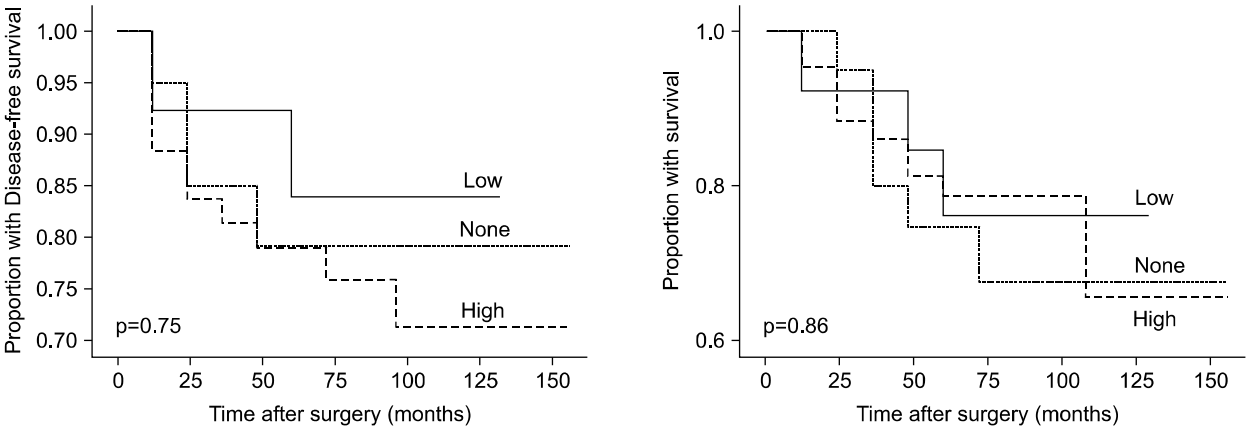

Figure 2. Disease-free survival and overall survival curve according to the expression of fascin in stage I non-small cell lung cancer.

양, 원발성 종양, 전이성 종양에서는 fascin 발현이 증가되어 있음을 보고하였다. 이들은 또한 환자의 난소 종양 세포를 배양 후 마우스 복막으로 접종하여 이종 이식을 시도하였는데 성공한 4예 중 3예에서 fascin이 발현되는 결과를 관찰하고 fascin 발현이 난소 종양 세포가 복강 내로 전이할 수 있는 능력과 유의한 관련성이 있다는 보고를 하였다. 또한 Pelosi 등[14]은 220명의 제 1기 비소세포폐암 환자의 조직에서 면역세포화학적 방법으로 fascin 발현을 조사하였는데 89%에서 fascin발현이 양성이었다. 그리고 조직학 유형별로는 샘암종에서 78%, 편평세포암종에서 98%의 fascin 발현율을 보였다고 보고한 바 있다. 본 연구에서도 수술 절제를 받은 비소세포폐암 환자의 조직에서 fascin 발현을 조사하여 73%가 양성을 보였으며 특히 편평세포암종에서는 93%의 높은 fascin 발현율을 관찰할 수 있었다. 비소세포폐암에서 편평세포암종과 샘암종의 fascin 발현율에 차이가 나는 이유에 대해서는 Pelosi 등[14]의 선행 연구에서도 명확한 이유를 제시하지는 못하였다. 다만 세기관지폐포암종은 비침습적 종양으로서 유두모양 혹은 관모양의 샘암종과 비교했을 때 fascin 발현이 거의 나타나지 않았음을 보고하였다. 본 연구에서도 샘암종 33예 중 세기관지폐포암종이 10예가 포함되어 있었는데 이 중 8예에서 fascin의 발현이 관찰되지 않았다. 따라서 fascin은 향후 임상적으로는 검체가 충분하지 않은 조직에서 비소세포폐암 특히 편평세포암종을 진단할 때 도움이 되는 표지자로서의 가능성이 있을 것으로 생각된다.

Fascin의 예후 인자로서의 가능성은 다양한 암종을 대상으로 연구되었다. Hashimoto 등[10]은 위암에서 fascin 발현 양성인 경우가 음성인 경우보다 림프절 전이와 재발률이 높다는 보고를 하였으며, Yoder 등[11]도 fascin 발현 양성인 유방암이 음성인 경우에 비해 호르몬 수용체 음성의 빈도가 높으며 임상적인 경과도 훨씬 나쁘다는 보고를 하였다. 비소세포폐암의 경우에는 Choi 등[13]이 3 cm 미만의 말초 샘암종 49예를 대상으로 연구하여 fascin 발현이 증가된 경우에는 림프절 전이나 림프관 침범이 더 빈번하다는 보고를 한 바 있고, Pelosi 등[14]도 비소세포폐암 환자의 조직에서 fascin 발현이 광범위하거나 fascin 면역 반응성이 강한 경우에는 생존기간 및 무병생존기간이 유의하게 짧았음을 보고하였다. 이러한 결과들은 fascin 발현이 증가되어 있는 경우는 조직의 기원에 상관없이 암종이 훨씬 공격적인 성향을 가질 수 있음을 시사하는 것으로 볼 수 있을 것이다. 따라서 저자들도 비소세포폐암 조직에서 fascin 발현이 높은 경우에 환자의 임상 예후가 더욱 나쁠 것으로 예측하고 본 연구를 수행하였지만 fascin 발현 정도와 재발률 및 생존율과는 통계적으로 유의한 관련성이 없었다. 이러한 이유로는 본 연구가 단일 기관에서 시행된 후향적 연구인 점, 비교 대상군이 균질하지 않고 증례 수도 충분하지 않아 정확한 분석이 어려웠다는 점, 그리고 대상 환자가 1995년부터 2004년까지의 수술 환자로서 그 동안의 진단적 방법과 수술 방법의 변화 및 발전을 고려하면 실제로는 제1병기로 진단되었다 하더라도 최근의 PET 등의 병기 결정 검사로는 제1병기가 아니었을 수도 있을 가능성이 있다는 점 등을 고려할 수 있을 것이다. 또한 암종이 주변 조직으로 침범하고 전이되는 과정에는 다양한 인자들이 상호작용을 하기 때문에 하나의 인자만으로 환자의 예후를 정확하게 예측하기 어려울 수도 있을 것이다.

결론적으로 본 연구에서는 fascin 발현이 비소세포폐암

으로 수술 받은 환자에서 재발이나 생존에 영향을 미치는 예후 인자로서 역할을 하는지 알아보았으나 통계학적으로 유의한 관련성이 없었다. 이러한 사실을 확증하기 위해서는 보다 많은 수의 환자를 포함하는 전향적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경: Fascin은 세포 운동에 관여하는 액틴 결합 단백질로서 정상적인 상피세포에는 증가되어 있지 않으며, 일부 악성종양에서 fascin이 증가되어 있다는 보고가 있다. 본 연구는 비소세포폐암 환자의 조직에서 fascin 발현을 조사하고 fascin이 예후 인자로 역할을 하는지를 알아보고자 하였다.

방 법: 제 1기 비소세포폐암으로 근치적 절제수술을 받고 추적조사가 가능했던 환자 81명의 조직에서 fascin 발현을 면역조직화학 염색 방법으로 조사하였다.

결 과: Fasin 발현은 전체 81예 중 59예(73%)에서 양성이었다. Fascin 발현 정도에 따른 5년 생존율은 fascin 발현 음성군에서 68%, fascin 저발현군에서 76%, fascin고발현군에서 79%으로 각 군간에 유의한 차이가 없었다 (p=0.86).

결 론: Fascin발현이 비소세포폐암으로 근치적 수술을 받은 환자에서 예후 인자로서 역할을 하는지 알아보았으나 통계학적으로 유의한 관련성이 없었다.

참 고 문 헌

1. Minna JD. Chapter 75. Neoplasms of the lung. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. Harrison's principles of internal medicine. 16th ed. New York: McGraw-Hill Co, Inc.; 2005. p. 506-15.
2. Hilsenbeck SG, Raub WA Jr, Sridhar KS. Prognostic factors in lung cancer based on multivariate analysis. Am J Clin Oncol 1993;16:301-9.
3. Mountain CF. New prognostic factors in lung cancer. biologic prophets of cancer cell aggression. Chest 1995; 108:246-54.
4. Zhu CQ, Shih W, Ling CH, Tsao MS. Immunohistochemical markers of prognosis in non-small cell lung cancer: a review and proposal for a multiphase approach to marker evaluation. J Clin Pathol 2006;59:790-800.
5. Niklinski J, Niklinska W, Laudanski J, Chyczewska E, Chyczewski L. Prognostic molecular markers in non-small cell lung cancer. Lung Cancer 2001;34:S53-8.
6. Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. Nat Med 2006;12:895-904.
7. Carragher NO, Frame MC. Focal adhesion and actin dynamics: a place where kinases and proteases meet to promote invasion. Trends Cell Biol 2004;14:241-9.
8. Kureishy N, Sapountzi V, Prag S, Anikumar N, Adams JC. Fascins, and their roles in cell structure and function. Bioessays 2002;24:350-61.
9. Yamashiro S, Yamakita Y, Ono S, Matsumura F. Fascin, an actin-bundling protein, induces membrane protrusions and increases cell motility of epithelial cells. Mol Biol Cell 1998;9:993-1006.
10. Hashimoto Y, Shimada Y, Kawamura J, Yamasaki S, Imamura M. The prognostic relevance of fascin expression in human gastric carcinoma. Oncology 2004; 67:262-70.
11. Yoder BJ, Tso E, Skacel M, Pettay J, Tarr S, Budd T, et al. The expression of fascin, an actin-bundling motility protein, correlates with hormone receptor-negative breast cancer and a more aggressive clinical course. Clin Cancer Res 2005;11:186-92.
12. Hashimoto Y, Skacel M, Adams JC. Roles of fascin in human carcinoma motility and signaling: prospects for a novel biomarker? Int J Biochem Cell Biol 2005;37: 1787-804.
13. Choi PJ, Yang DK, Son CH, Lee KE, Lee JI, Roh MS. Fascin immunoreactivity for preoperatively predicting lymph node metastases in peripheral adenocarcinoma of the lung 3 cm or less in diameter. Eur J Cardiothorac Surg 2006;30:538-42.
14. Pelosi G, Pastorino U, Pasini F, Maissoneuve P, Fraggetta F, Iannucci A, et al. Independent prognostic value of fascin immunoreactivity in stage I nonsmall cell lung cancer. Br J Cancer 2003;88:537-47.
15. Bryan J, Edwards R, Matsudaira P, Otto J, Wulfkuhle J. Fascin, an echinoid actin-bundling protein, is a homolog of Drosophila singed gene product. Proc Natl Acad Sci U S A 1993;90:9115-9.
16. Hu W, McCrea PD, Deavers M, Kavanagh JJ, Kudelka AP, Verschraegen CF. Increased expression of fascin, motility associated protein, in cell cultures derived from ovarian cancer and in borderline and carcinomatous ovarian tumors. Clin Exp Metastasis 2000;18:83-8.