

□ 원 저 □

## 인체 폐암종의 TGF- $\alpha$ 및 TGF- $\beta$ 의 발현에 관한 면역 조직화학적 연구

한양대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실\*

류우진 · 신동호 · 박성수 · 이동후 · 이종달\* · 이정희

= Abstract =

### Expression of Transforming Growth Factor- $\alpha$ and Transforming Growth Factor- $\beta$ In Human Primary Lung Cancers

Woo Jin Lew, M.D., Dong Ho Shin, M.D., Sung Soo Park, M.D., Dong Hoo Lee, M.D.,  
Jung Dal Lee, M.D.\* and Jung Hee Lee, M.D.

*Departments of Internal Medicine and Pathology,\* Hanyang University, College of Medicine, Seoul, Korea*

**Background:** Transforming growth factor-  $\alpha$ (TGF- $\alpha$ ) may play important roles in carcinogenesis, tumor growth, and angiogenesis. Transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ ) are known to be involved in cell-cycle control and regeneration. TGF- $\alpha$  positively acts on growth control of many epithelial cells in contrast to the negative role of TGF- $\beta$ .

**Method:** To evaluate the possible role of TGF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  in human primary lung cancers, the expression of TGF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  were immunohistochemically investigated in tissue sections from forty seven cases with lung cancers and ten cases with non-cancerous lung tissues. Recombinant cloned monoclonal antibody of TGF- $\alpha$  and neutralizing antibody of TGF- $\beta$  were employed as primary antibodies after dewaxing the formalin-fixed, paraffinized tissue sections.

**Results:** TGF- $\alpha$  was expressed in the cytoplasm of tumor cells in thirty five cases of forty seven(74.5%) primary lung cancers, whereas the control expressed in two of ten bronchial epithelial cells. The expression of TGF- $\alpha$  was disclosed in four cases of eleven(36.4 %) small cell carcinomas and thirty one cases of thirty six(86.1%) non-small cell carcinomas of the lung. Expressions of TGF- $\beta$  was discernible in bronchial epithelium in eight of ten non-cancerous lung tissues. The expression of TGF- $\beta$  was noted in the cytoplasm of tumor cells in eight cases of forty seven(17.0%) primary lung cancers. The expression of TGF- $\beta$  disclosed in two cases of eleven(18.2%) small cell carcinomas and six cases of thirty six(16.7%) non- small cell carcinomas of the lung.

**Conclusion:** These findings suggest that up-regulation of TGF- $\alpha$  and down-regulation of TGF- $\beta$  are involved during development and growth of primary lung cancers.

**Key Words:** Expression, Transforming growth factor alpha and beta, Lung cancer

## 서 론

발암과정은 proto-oncogene들의 활성화, 암억제 유전자들의 비활성화, 성장인자들에 관련되어 있는 여러 가지 유전자들의 제어되지 않는 활성화 등에 의한 다단계 변화로 이루어진다. Proto-oncogene의 활성화는 유전자의 증폭, 대립유전자의 소실, 전위, 점돌연변이, 유전자의 재배열 등 여러 가지 기전들에 의하여 유발될 수 있다고 보고되고 있다<sup>1-6)</sup>.

암은 대부분 세포성장의 조절결함이 있는 경우로 정의되고 있다<sup>7)</sup>. 이러한 결함들은 정상세포의 성장을 자극하거나 억제하는 신호들의 불균형, 정상 세포의 신호들에 대한 세포해석의 이상, 성장과 분화와 관련된 신호경로들의 누전 단계들에 의하여 일어날 수 있다. 실제 악성 또는 형질전환된 세포에서는 세포의 억제인자들에 대한 감수성이 감소된다<sup>8)</sup>. 이러한 현상은 유전자 생산물의 기능이나 유전자들의 발현에 영향을 주는 돌연변이를 통하여 나타난다. 암과 관련이 있는 세포성장의 조절이탈은 정상적으로 세포성장을 자극하는 myc이나 ras와 sis 유전자들의 활성화나 정상적으로 세포성장을 억제하는 망막모세포종 유전자나 p53 같은 암억제 유전자들의 불활성이거나 이들 양자의 결과로 유발될 수 있다<sup>9-11)</sup>.

성장인자들은 세포의 증식, 이주, 분화, 및 세포의 기질(matrix)의 생성과 흡수에 중요한 조절자로 작용한다. 세포증식의 조절에 있어서 epidermal growth factor(EGF), transforming growth factor-alpha(TGF- $\alpha$ ), fibroblast growth factor, heparin-binding epidermal growth factor, platelet-derived growth factor, insulin-like growth factor들은 세포증식을 자극하는 순기능 조절인자들인데 반하여 transforming growth factor-beta(TGF- $\beta$ )는 증식을 억제하는 역기능인자로 작용한다<sup>12)</sup>. 순기능 성장인자들의 발현 과다는 상피세포의 증식을 가져와 암발생의 빈도를 증가시키며 특히 TGF- $\alpha$ 의 발현과다는 암유전자의 활성화와 유사하게 작용하여 암발생의 빈도를 증가시키는 것으로 알려져 있다<sup>12)</sup>.

포유류 세포는 휴지기나 증식기 상태로 존재하는데

성장하는 세포들은 G1기, S기, G2기, 그리고 M기로 된 세포주기를 거쳐서 최종적으로 두개의 낭세포를 형성한다. 세포주기의 진행은 첫째는 G1기에서 S기로의 이행 및 둘째는 G2기에서 M기로 이행을 지배하는 두가지 주요한 조절 단계에 의한다. 특히, G1기에서 S기로의 이행은 포유류 세포들의 증식을 결정짓는 시점이 된다<sup>13)</sup>. 세포성장의 정상조절은 수 많은 세포내 여러인자들의 활성화에 의한 많은 단계적 변화로 이루어지며, 돌연변이가 유발되면 조절유전자 생산물의 활성화 및 발현에 영향을 주어 결국 조절고리에 손상을 주게되어 탈선적인 세포성장을 가져와 암이 발생한다<sup>10)</sup>. TGF- $\beta$ 는 세포주기중 G1기의 말기를 억제시킴으로서 세포증식에 역조절 기능을 발휘한다. 이와같은 TGF- $\beta$ 에 의한 G1기에서 S기로의 이행억제는 암억제 유전자의 하나인 망막모세포종 유전자 또는 p53 유전자 산물의 인산화 반응에 의하여 S기에서의 c-myc 암유전자의 발현을 하향조절한다<sup>14-16)</sup>. 즉 암억제 유전자와 결부된 TGF- $\beta$ 의 기능과탄은 암발생의 한 요인으로 알려지고 있다. TGF- $\beta$ 는 폐암, 유방암, 간암, 흑색종, 섬유성육종, 골육종, 자궁내막암에서 암세포증식을 억제하는 것으로 알려져 있다<sup>17)</sup>. 그러나 한국인의 인체 폐암종에서 TGF- $\alpha$  및 TGF- $\beta$ 의 발현양상에 대한 보고는 드물다.

이에 저자들은 한국인의 원발성 폐암종에서 TGF- $\alpha$  및 TGF- $\beta$ 의 발현 빈도 및 폐암종의 조직학적 유형에 따른 발현 양상에 대한 연구를 실시하고 그의의를 고찰하여 보았다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

병리조직학적 진단이 각종 기관지 기원성 암종으로 확정된 36예의 폐절제표본과 기관지경 생검으로 얻은 11예를 포함한 47예(미분화 소세포암종 11예, 선암종 13예, 편평세포암종 15예, 대세포암종 8 예)가 이 연구의 대상이 되었다. 비암성 폐질환으로 절제된 10예의 조직편이 대조군으로 선정하였다. 모든 조직표본은 채취 후 즉시 10% 완충 포르말린용액으로 고정하여 파라핀 포매를 실시한 다음, hematoxylin과 eosin염색을 실시하고 병리조직학적 진단을 확립하였다.

## 2. TGF- $\alpha$ 및 TGF $\beta$ 의 단 Clone성 항체

TGF- $\alpha$ 는 BALB/C 생쥐에 면역시켜 분리한 비세포들을 P3 $\times$ 63 Ag 8.653 생쥐의 골수종세포와 융합시켜 추출한 단세포군 항체 Ig G<sub>2a</sub> Ab-2(Oncogene Science, Manhasset, NY)이고, TGF- $\beta$ 는 토끼에 면역시켜 추출한 중화항체(R & D, Minneapolis, MN)를 각각 일차 항체로 사용하였다.

## 3. 면역 조직화학적 염색

파라핀 포매조직 슬라이드를 60°C에서 6시간 건조하였다. 파라핀을 제거하기 위하여 xylene에 20분간 담그었다. 그다음 100% ethanol에 10분, 70% ethanol에 5분 작용시킨 다음, 흐르는 물에 30초간 씻었다. 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 5분 담근 다음 증류수에 5분동안 담겼다. 다시 1 $\times$  phosphate-buffered saline solution(PBS, pH 7.2)에 5분 담근 다음 non-immune goat serum/0.05M Tris HCl(pH 7.6)을 차단항체로 삼아 20분간 처리한 후, 1:200으로 희석한 TGF- $\alpha$  및 TGF- $\beta$  1차 항체들을 20분간 각각 반응시켰다. 1 $\times$ PBS로 10분 세척 후 연결항체를 도포 후 20분 뒤 1 $\times$ PBS 완충액으로 10분간 세척하였다.

표적 시그널은 시판 DAKO LSABR kit(Dako, Glostrup, Denmark)의 peroxidase-conjugated streptavidin으로 30분간 반응시킨 다음 완충액으로 세척 후

N,N-dimethyl-formamide에 3-amino-9-ethylcarbazole을 3% 함유시킨 기질용액으로(Biomedica, Foster City, CA) 20분간 발색반응을 일으키고 hematoxylin으로 대비염색을 실시하였다.

## 4. 발현의 평가

TGF- $\alpha$  및 TGF- $\beta$ 의 발현평가는 임의의 시야 3곳을 선택하여 5% 미만의 세포질이 발현된 경우 음성반응으로, 1/3이하로 발현될 때 약한 발현(+), 2/3의 발현을 중등도 발현(++), 그리고 2/3 이상의 발현을 강한 발현(+++)으로 각각 판정하였다.

## 결 과

TGF- $\alpha$ 의 발현은 대조군의 기관지 상피세포에서 10예 중 8예에서 음성이었으며, 2예에서 양성으로 나타났다(Fig. 1). 소세포암종 11예 중 4예(36.4%)와 선암종, 편평세포암종 및 대세포암종을 포함한 비소세포암종 36예 중 31예(86.1%)에서 양성으로 발현되어서 총 47예의 폐암종 중 35예(74.5%)에서 암세포의 세포질에서 발현되었다. 그 발현상태는 비균질적이었다. 폐암종의 암세포 유형에 따른 TGF- $\alpha$  발현양상은 소세포암종 11예 중 7예에서 음성반응을, 2예에서 약한 반응을, 1예에서 중등도 반응을, 그리고 1예에서 강한 발현을 보였다(Fig. 2). 선암종 13예 중 2예는 음성 발현을, 2예는

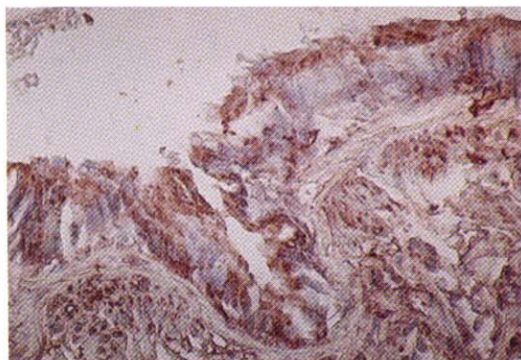


Fig. 1. Normal Lung. The bronchial epithelia of normal lung show positive reaction for TGF- $\alpha$  (Streptavidin peroxidase, Hematoxylin counterstain,  $\times$ 400).

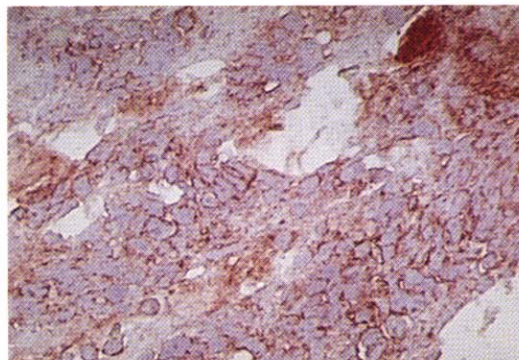


Fig. 2. Small cell carcinoma. The cytoplasm of tumor cells show strong immunoreactivity for TGF- $\alpha$  (Streptavidin peroxidase, Hematoxylin counterstain,  $\times$ 400).



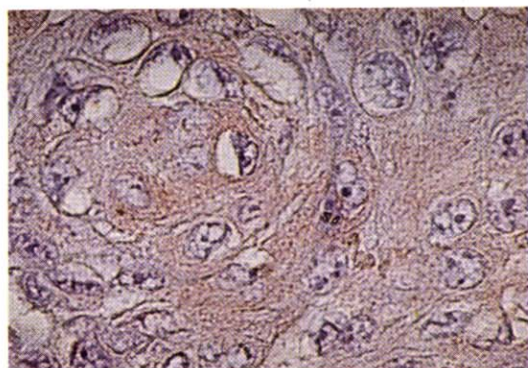


Fig. 3. Squamous cell carcinoma. The cytoplasm of tumor cells show positive reaction for TGF- $\alpha$  (Streptavidin peroxidase, Hematoxylin counterstain,  $\times 400$ ).

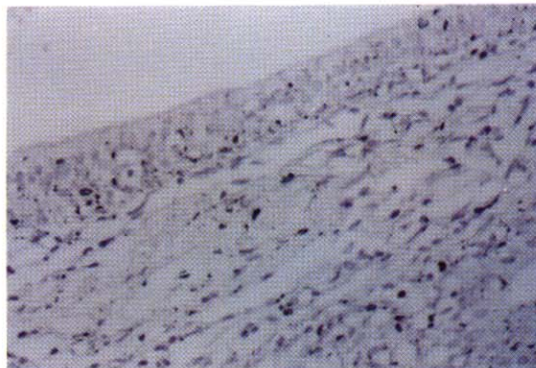


Fig. 4. Normal Lung. The bronchial epithelia of normal lung show positive reaction for TGF- $\beta$  (Streptavidin peroxidase, Hematoxylin counterstain,  $\times 400$ ).

Table 1. TGF- $\alpha$  Expression in 47 Cases with Lung Cancer

Histologic Type(Cases)	Intensity with TGF- $\alpha$ Expression			
	-	+	++	+++
Control(10)	8	1	1	0
Small cell carcinoma(11)	7	2	1	1
Adenocarcinoma(13)	2	2	3	6
Squamous cell carcinoma(15)	2	5	5	3
Large cell carcinoma(8)	1	3	3	1
Total 47	12	12	12	11

Intensity : -, no expression ; +, mild expression; ++, moderate expression; +++, marked expression

약한 발현을, 3예에서는 중등도의 발현을, 6예는 강한 발현을 나타냈다. 편평세포암종 15예 중 2예에서 음성 반응을, 5예에서 약한 발현을, 5예에서 중등도 반응을, 그리고 나머지 3예에서는 강한 발현이 있었다(Fig. 3). 대세포암종 8예 중 1예는 음성 반응을, 3예에서 약한 반응을, 3예는 중등도의 발현을, 1예에서는 강한 반응을 보였다(Table 1).

TGF- $\beta$ 의 발현양상은 정상조직의 기관지 상피세포에서 10예 중 8예에서 발현이 되었으며, 2예에서는 발현되지 아니 하였다(Fig. 4). 47예의 폐암종 중 8예(17.0%)에서 암세포의 세포질에서 발현되었으며, 비균질적인 양상을 보였다. 폐암종의 조직학적 유형에 따른

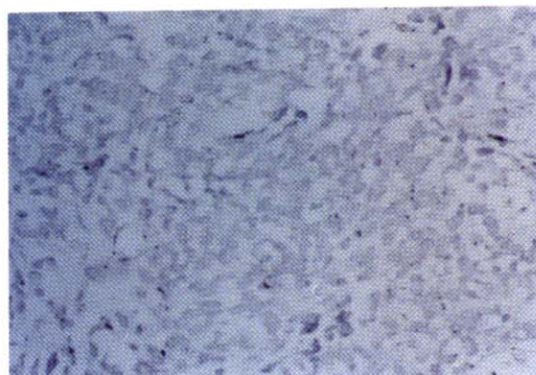


Fig. 5. Small cell carcinoma. The cytoplasm of tumor cells show weak positive reaction for TGF- $\beta$ (Streptavidin peroxidase, Hematoxylin counterstain,  $\times 400$ ).

TGF- $\beta$ 의 발현정도는 미분화 소세포암종 11예 중 9예에서 음성 반응을, 1예에서 약한 반응을, 1예에서 중등도의 반응을 보였다(Fig. 5). 선암종 13예 중 11예에서는 음성반응을, 1예에서는 약한 발현을, 1예는 중등도의 발현을 나타냈었고, 편평세포암종 15예 중 13예에서 음성반응을, 1예에서는 약하게 발현하였고, 1예에서는 중등도의 발현이 있었다. 대세포암종 8예 중 6예에서는 음성 반응을 1예는 약한 반응을, 1예는 중등도의 발현을 나타냈었다(Fig. 6, Table 2).

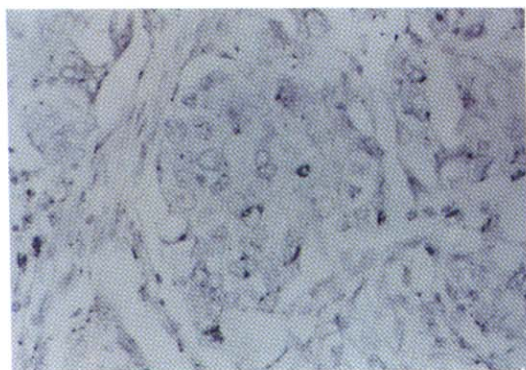


Fig. 6. Adenocarcinoma. The cytoplasm of tumor cells show weak positive reaction for TGF- $\beta$  (Streptavidin peroxidase, Hematoxylin counterstain,  $\times 400$ ).

Table 2. TGF- $\beta$  Expression in 47 Cases with Lung Cancer

Histologic Type(Cases)	Intensity with TGF- $\beta$ Expression			
	-	+	++	+++
Control(10)	2	2	3	3
Small cell carcinoma(11)	9	1	1	0
Adenocarcinoma(13)	11	1	1	0
Squamous cell carcinoma(15)	13	1	1	0
Large cell carcinoma(8)	6	1	1	0
Total 47	39	4	4	0

Intensity : -, no expression ; +, mild expression; ++, moderate expression; +++, marked expression

## 고 찰

TGF- $\alpha$ 는 육종에서 유래된 성장인자의 구성성분의 하나로 분리 및 확인되었으며<sup>18,19)</sup>, 처음에 EGF의 수용체와 상호작용을 하며, EGF의 아미노산 염기서열과 40%의 상동성을 갖는다<sup>20)</sup>. TGF- $\alpha$ 의 발현은 피부 각질 세포<sup>21)</sup>, 유방선관의 상피세포<sup>22)</sup>, 활성화된 대식세포들<sup>23,24)</sup>, 위장관 점막<sup>25)</sup> 및 신장<sup>26)</sup>의 정상 세포들과 조직들에서 증명되었으며, 이러한 사람의 정상조직 특히 상피세포들에 TGF- $\alpha$ 의 역할에 대한 논란이 재평가가 되고 있다. 본 연구에서 정상 대조군 10예에 대하여 TGF-

$\alpha$ 의 발현양상을 면역 조직화학적 방법으로 검색하였던 바, 정상 대조군 8예의 기관지 상피세포 및 폐포 상피세포의 세포질에서 음성으로 발현되었으며, 2예에서는 약하게 양성으로 발현되었다. 이와 같은 결과에 대한 다른 보고자들에 의하면 정상 폐장 조직에서 TGF- $\alpha$ 의 발현은 보고되지 않고 있으나, 전통적인 생물학적 방법에 의한 연구에서는 TGF- $\alpha$ 와 TGF- $\alpha$ 에 특이한 mRNA의 존재를 정상 폐조직에서 인정할 수 있어서 TGF- $\alpha$ 의 발현유무에 대한 논쟁은 계속되고 있다<sup>27,28)</sup>. TGF- $\alpha$ 는 종양의 혈관형성, 발암과정 및 종양의 성장에 중요한 역할을 하는 autocrine 성장요소의 하나이며<sup>29~32)</sup>, 여러 성장인자들과 같이 TGF- $\alpha$ 는 형질전환된 종양세포의 포착, 종양의 파종(dissemination), paraneoplastic의 발생에 관여한다고 알려져 있다<sup>33)</sup>. 본 연구에서 11예의 소세포 폐암종 중 4예(36.4%)의 암세포의 세포질에서 산발적으로 TGF- $\alpha$ 의 발현이 있었던 바, Bepler 등<sup>34)</sup>은 13가지 소세포암종의 세포계에서 TGF- $\alpha$ 의 면역반응성 단백을 확인할 수 있었다고 보고하였고, 반면 Söderdahl 등<sup>35)</sup>은 4가지 세포계에서 northern방법에 의한 TGF- $\alpha$ 메시지를 발견할 수 없었다고 하였다. 이와 같은 소세포 폐암종의 TGF- $\alpha$ 발현에 대한 연구자들 간의 다른 서로 다른 결과는 소세포 폐암종들에 의하여 발현되는 TGF- $\alpha$ 메시지는 불안정하므로 소세포암종내에 다른 주효인자(effector) 세포들에 의하여 분비된 TGF- $\alpha$ 를 추적하기 때문이라고 생각된다. 본 연구에서 편평세포암종, 선암종 및 대세포암종을 포함한 비소세포 폐암종 36예 중 31예(86.1%)에서 암세포의 세포질에서 산발적으로 TGF- $\alpha$ 가 발현되었다. Liu 등<sup>27)</sup>과 Tateishi 등<sup>36)</sup>은 편평세포암종, 선암종 및 대세포암종을 포함한 비소세포 암종의 80%에서 TGF- $\alpha$ 메시지를 발현하며, 정상 기관지 상피에 비하여 두배의 면역반응성 단백을 함유한다고 보고하여, 발현율에 있어서 본 연구의 발현율과 비교하여 낮게 보고하고 있다. 본 연구에서 13예의 선암 중 6예(46.2%)에서 TGF- $\alpha$ 의 강한 발현이 있었던 바, Tateishi 등<sup>36)</sup>의 66%보다는 낮았다. 이러한 종양 조직으로부터 추출한 TGF- $\alpha$ 의 면역반응성의 강약은 종양의 조직, 병기, 결합조직형 및 5년 생존율과는 무관하다고 보고하였다<sup>27,36)</sup>. 가족성 용종증 환자의 2/3에서 선종성의 용종이나 암종 환자의 TGF- $\alpha$



치는 정상점막을 갖는 환자에서보다 오히려 낮다는 사실은 TGF- $\alpha$ 발현이 다단계 발암과정의 기전과는 관련이 없음을 시사하는 소견이다. 정상 피부나 유두종으로부터 얻은 각질 세포에 TGF- $\alpha$ 유전자를 주입시 암형성이 발생되지 않았다는 사실은 종양진행에는 직접적으로 영향을 주지 않는다는 것을 뒷받침하고 있다<sup>37,38</sup>. 저자들은 정상 기관지 점막, 기관지 점막의 기저세포의 증식, 편평화생, 상피내암종 및 침윤성 암종에 이르는 일련의 발암 과정에 이르기까지 TGF- $\alpha$ 의 발현양과 발암 과정과의 관계를 장차 추구하여야 한다고 생각한다. 이와 같이 본 연구에서 대조군에 대한 소세포암종 및 비소세포암종을 포함한 인체 폐암종에 있어서 TGF- $\alpha$ 의 발현과다는 autocrine loop에 의한 수용체를 통하여 그 성장을 자극함으로써 폐암종의 발생 및 성장에 중요한 요인으로 판여한 것으로 생각된다.

TGF- $\beta$ 는 다수의 기능을 함유한 cytokine이며, 세포 복제의 자극 및 억제제로 동시에 세포의 간질의 많은 성분들을 합성하는 작용들을 하는 것으로 알려져 있다<sup>14,39,40</sup>. 본 연구에 있어서 TGF- $\beta$ 2를 일차항체로 사용하였던바, TGF- $\beta$ 2는 TGF- $\beta$ 1과 염기배열에 있어서 약 70%의 상동성을 가지며<sup>41</sup>, 세포에서 유리되는 대부분의 형질 변환 성장인자의 활성은 TGF- $\beta$ 1과 TGF- $\beta$ 2에 의한 것이라 생각된다. 또한 TGF- $\beta$ 3는 여러 인체조직들의 cDNA libraries 선별법에 의하여 확인되었으며<sup>42</sup>, TGF- $\beta$ 4와 TGF- $\beta$ 5는 각각 병아리와 개구리의 배아로부터 분리되었다<sup>43</sup>. 소, 돼지, 병아리, 원숭이들의 TGF- $\beta$ 1들은 거의 동일하며<sup>44</sup>, 유사하게 TGF- $\beta$ 2와 TGF- $\beta$ 3에서도 가까운 중간 상동성이 존재한다. 이러한 상동성이 있음에도 불구하고 효능과 역가에 있어서 명백히 다른 것으로 보고되고 있다<sup>43</sup>.

피부의 다단계적 발암 과정의 실험에 TGF- $\beta$ 가 존재하지않는 생쥐들의 각질 세포들은 더 빠르게 편평세포암종으로 진행하며<sup>45</sup>, 일련의 위암세포계에서 type II TGF- $\beta$  수용체 유전자에서 유전 변화가 TGF- $\beta$ 의 성장억제효과에 대한 내성과 관련이 있다<sup>46</sup>. 또한 TGF- $\beta$ 1의 결손을 가져온 동형접합체 쥐에서 모체로부터의 TGF- $\beta$ 의 이동이 상피조직에 있어서 초기암유발을 방지한다<sup>47</sup>. 이와 같이 TGF- $\beta$ 는 세포들이 TGF- $\beta$ 에 반응하는한 발암과정에 있어서 강력한 암억제인자로서 작

용하며, 세포들이 이러한 TGF- $\beta$ 에 대한 반응을 소실할 시 간접적으로 종양성장을 조장하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>48</sup>. 저자들은 이러한 관점에서 한국인의 원발성 폐암종에서 TGF- $\beta$ 의 발현빈도 및 조직학적 유형에 따른 발현 양상에 대한 연구를 실시하였던바, 정상 대조군 10예 중 8예(80%)의 기관지 상피에서 TGF- $\beta$ 의 발현이 있었던 반면 소세포암종과 비소세포암종을 포함한 47예의 인체 폐암종 중 8예(17.0%)의 세포질에서 TGF- $\beta$ 의 발현이 있었다. 즉 정상대조군 80%의 발현율에 비하여 현저한 발현감소가 있었다. 이와 같은 TGF- $\beta$ 의 발현감소는 세포성장의 역조절 기능의 억제로 인해 폐암종의 발생과 성장을 조장하는 것으로 생각된다.

상피세포들이 TGF- $\beta$ 의 조절력에 대한 감수성을 상실하는 기전이 발암과정에 미치는 영향에 있어 주요 관점으로 등장하고 있다. 상피세포의 발암과정에 있어서 상피 세포들은 밀에 존재하는 간엽성 간질조직을 침습하여 상대적으로 수동적 파아트너로 생각 하였으나, 최근 이 조직은 인접 상피세포들의 발암과정을 능동적으로 억제하며, 또한 이러한 억제작용의 손실이 발암과정에 기여한다는 설이 제기되고 있었다<sup>49</sup>. TGF- $\beta$ 는 악성 세포들에 대한 결합조직의 형성을 강화시켜 전이능력을 강화 시킨다고 보고되고 있다<sup>49</sup>.

순기능 성장인자들과 관련된 신호변환장치들에 의한 세포주기가 일단 작동되면, 관련된 한 세포기에서 다른 주기로의 이행 과정은 cyclin들에 의하여 조절된다. 이러한 cyclin들은 짝짓는 cyclin-dependent kinase (CDK)들과 복합체를 형성하여 조절단계에 중요한 역할을 한다. 역기능 성장인자들 중 하나인 TGF- $\beta$ 는 p53과 유사한 기전으로 cyclin과 CDK의 복합체를 억제함으로써 G1기에서 S기의 이행을 방지하여, 후기 G1기의 정지를 초래한다<sup>50,51</sup>. CDK4는 여러 종양세포에 있어서 TGF- $\beta$ 에 의해 중재되는 성장억제제를 목표로 하고, 이러한 CDK4의 발현과다는 TGF- $\beta$ 같은 성장억제인자들에 의한 세포들의 세포정지현상을 둔감케 한다<sup>52,53</sup>. TGF- $\beta$ 는 p15<sup>INK4B</sup>의 발현을 유발시켜 cyclin D와 CDK4 복합체의 활성을 억제시켜 pRb의 인산화 및 G1기에서 S기로의 이행에 필요한 c-myc을 포함한 많은 유전자들의 발현을 조절하는 E2F 전사인자들의 활성

을 방지한다<sup>50,54</sup>). 또한 암억제인자들 중 p15는 p27<sup>KIP1</sup>과 함께 G1기에 TGF- $\beta$ 에 반응하여 세포들을 정지케하며, p27은 TGF- $\beta$ 에 의하여 증쇄되는 Rb인산화 및 cyclin E-CDK2를 억제함으로써 G1기에서 S기의 이행을 정지시켜 성장정지에 관여한다<sup>50,55</sup>). 이와 같이 TGF- $\beta$ 는 암억제 유전자와 유사하게 암발생을 억제한다<sup>12</sup>).

결론적으로 폐암종 47예 및 대조군 10예에 TGF- $\alpha$  및 TGF- $\beta$ 의 발현상태를 연구하기 위하여 면역조직화학적 검색을 실시하였던바, TGF- $\alpha$ 은 정상 대조군 10예 중 2예(20%)의 기관지 상피에서, 인체 폐암종 47예 중 35예(74.5%)의 암세포질에서 각각 발현되었으나, TGF- $\beta$ 는 정상 대조군 10예 중 8예의 기관지 상피에서, 인체 폐암종 47예 중 8예(17.0%)의 암세포질에서 산발적으로 과다발현을 관찰하였던 바 인체폐암종에 있어서 TGF- $\alpha$ 의 발현과다는 autocrine loop에 의한 수용체를 통하여 그 성장을 자극함으로써 폐암종의 발생 및 성장에 중요한 요인으로 관여 한 것으로 생각된다. TGF- $\beta$ 의 발현감소는 세포성장의 역조절 기능의 억제로 인해 폐암종의 발생과 성장을 조장하는 것으로 생각된다.

## 요 약

**연구배경:** TGF- $\alpha$ 는 세포증식을 자극하는 기능을 갖는 순기능 조절인자들 중 하나이며, autocrine 또는 paracrine기전에 의하여 그성장을 조절하며, 발암과정 및 종양세포의 성장에 중요한 역할을 한다. 반면 TGF- $\beta$ 는 세포의 증식을 억제하는 역기능 성장인자로 작용하며, G1기에서 S기로의 이행을 억제하여 성장의 정지에 관여하는 것으로 보고되고 있다.

**방법:** 저자들은 10예의 정상대조군 및 소세포암종 및 비소세포암종을 포함한 인체 폐암종 총 47예에서 TGF- $\alpha$ 와 TGF- $\beta$ 의 발현상태를 알고자 이들의 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

**결과:** TGF- $\alpha$ 는 정상 대조군 10예 중 2예(20%)의 기관지 상피에서, 인체 폐암종 47예 중 35예(74.5%)의 암세포질에서 산발적으로 발현이 되었다. TGF- $\beta$ 는 정상 대조군 10예 중 8예의 기관지 상피에서, 인체 폐암종 47

예 중 8예(17.0%)의 암세포질에서 산발적인 발현을 보였다.

**결론:** 이와 같은 성적은 인체 폐암종에 있어서 TGF- $\alpha$ 의 발현과다는 autocrine loop에 의한 수용체를 통하여 그 성장을 자극함으로써 폐암종의 발생 및 성장에 중요한 인자로 관여 한 것으로 생각되며, TGF- $\beta$ 의 발현감소는 세포성장의 역조절 기능의 억제로 인해 폐암종의 발생과 성장을 조장하는 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

- 1) Alitalo K, Schwab M: Oncogene amplifications in tumor cells. *Adv Cancer Res* **47**:235, 1986
- 2) Bergh JC: Gene amplification in human lung cancer: The myc family genes and other proto-oncogenes and growth factor genes. *Am Rev Respir Dis* **142**:S20, 1990
- 3) Birrer MJ, Minna JD: Genetic changes in the pathogenesis of lung cancer. *Annu Rev Med* **40**:305, 1989
- 4) Bishop M: The molecular genetics of cancer. *Science* **235**:305, 1987
- 5) Nishimura S, Sekiya T: Human cancer and cellular oncogene. *Biochem J* **243**:313, 1987
- 6) Slebos RJ, Rodenhuis S: The molecular genetics of human lung cancer. *Eur Respir J* **2**:461, 1989
- 7) DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA: Cancer: Principles and practice of oncology. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1989
- 8) Puztai L, Lewis CE, Lorenzen J, McGee JO: Growth factors: Regulation of normal and neoplastic growth. *J Pathol* **169**:191, 1993
- 9) Druker BJ, Mamon HJ, Roberts TM: Oncogenes, growth factors, and signal transduction. *N Eng J Med* **321**:1383, 1989
- 10) Fridovich-Keil JL, Hansen LJ, Keyomarsi K, Pardee AB: Progression through the cell cycle: An overview. *Am Rev Respir Dis* **142**:S3, 1990
- 11) Sager R: Tumor suppressor genes: The puzzle

- and the promise. *Science* **246**:1406, 1989
- 12) Moses HL: Growth factors and their receptors. *Proceedings AACR* **36**:649, 1995
  - 13) Pardee AB: G1 event and regulation of cell proliferation. *Science* **246**:603, 1989
  - 14) Moses HL, Yang EY, Pietenpol JA: TGF-beta stimulation and inhibition of cell proliferation : new mechanistic insights. *Cell* **63**:245, 1990
  - 15) Pietenpol JA, Munger K, Howley PM, Stein RW, Moses HL: Factor-binding element in the human c-myc promoter involved in transcriptional regulation by transforming growth factor  $\beta$  1 and by the retinoblastoma gene product. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**:10227, 1991
  - 16) Yan Z, Hsu S, Winawer S, Friedman E: Transforming growth factor  $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1) inhibits retinoblastoma gene expression but not pBR phosphorylation in TGF- $\beta$ 1-growth stimulated colon carcinoma cells. *Oncogene* **7**:801, 1992
  - 17) Barnard JA, Lyons RM, Moses HL: The cell biology of transforming growth factor- $\beta$ . *Biochim Biophys Acta* **1032**:79, 1990
  - 18) Anzano MA, Roberts AB, Smith JM, Sporn MB, DeLarco JE: Sarcoma growth factor from conditioned medium of virally transformed cells is composed of both type  $\alpha$  and type  $\beta$  transforming growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA* **80**:6264, 1983
  - 19) Delarco JE, Todaro GJ: Growth factors from murine sarcoma virus-transformed cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **75**:4001, 1978
  - 20) Marquardt H, Hunkapiller MW, Hood LE, Todaro GJ: Rat transforming growth factor type 1: structure and relation to epidermal growth factor. *Science* **223**:1079, 1984
  - 21) Coffey RJ, Derynck R, Wilcox JN, Bringman TS, Goustin AS, Moses HL, Pittelkow MR: Production and auto-induction of transforming growth factor- $\alpha$  in human keratinocytes. *Nature* **328**:817, 1987
  - 22) Zajchowski D, Band V, Pauzie N, Tager A, Stampfer M, Sager R: Expression of growth factors and oncogenes in normal and tumor-derived human mammary epithelial cells. *Cancer Res* **48**:7041, 1988
  - 23) Madtes DK, Raines EW, Sakariassen KS, Assoian RK, Sporn MB, Bell GI, Ross RSO: Induction of transforming growth factor-alpha in activated human alveolar macrophages. *Cell* **53**:285, 1988
  - 24) Rappolee DA, Mark D, Banda MJ, Werb Z: Wound macrophages express TGF- $\alpha$  and other growth factors in vivo: analysis by mRNA phenotyping. *Science* **241**:708, 1988
  - 25) Bennett C, Paterson IM, Corbishley CM, Luqmani YA: Expression of growth factor and epidermal growth factor receptor encoded transcripts in human gastric tissues. *Cancer Res* **49**:2104, 1989
  - 26) Gomella LG, Sargent ER, Wade TP, Anglard P, Linehan WM, Kasid A: Expression of transforming growth factor  $\alpha$  in normal human adult kidney and enhanced expression of transforming growth factors  $\alpha$  and  $\beta$ 1 in renal cell carcinoma. *Cancer Res* **49**:6972, 1989
  - 27) Liu C, Woo A, Tsao MS: Expression of transforming growth factor-alpha in primary human colon and lung carcinomas. *Br J Cancer* **62**:425, 1990
  - 28) Nickell KA, Halper J, Moses HL: Transforming growth factors in solid human malignant neoplasms. *Cancer Res* **43**:1966, 1983
  - 29) Damstrup L, Spang-Thomsen M, Graves-Deal R, Dempsey PJ, Coffey RJ, Poulsen HS: Transforming growth factor  $\alpha$ (TGF- $\alpha$ ) is released by a small cell lung cancer(SCLC) cell line and may act as an autocrine growth factor. *IASLC II(I)*:1, 1994



- 30) Derynck R: Transforming growth factor alpha. *Cell* **54**:593, 1988
- 31) Schreiber AB, Winkler ME, Derynck R: Transforming growth factor- $\alpha$  is a more potent angiogenic mediator than epidermal growth factor. *Science* **232**:1250, 1986
- 32) Sporn MB, Todaro GJ: Autocrine secretion and malignant transformation of cells. *N Engl J Med* **303**:878, 1980
- 33) Madtes DK: Chapter 5, Transforming growth factor- $\alpha$  and epidermal growth factor. In Kelly J(Vol 61) *Cytokines of the lung*, pp139-181, New York, Marcel Dekker, Inc. 1993
- 34) Bepko G, Rotsch M, Jaques G, Haeder M, Heymanns J, Hartogh G, Kiefer P, Havemann K: Peptides and growth factors in small cell lung cancer: Production, binding sites, and growth effects. *J Cancer Res Clin Oncol* **114**:235, 1988
- 35) Söderdahl G, Betsholtz C, Johansson A, Nilsson K, Bergh J: Differential expression of platelet-derived growth factor and transforming growth factor genes in small- and non-small-cell human lung carcinoma lines. *Int J Cancer* **41**:636, 1988
- 36) Tateishi M, Ishida T, Mitsudomi T, Kaneko S, Sugimachi K: Immunohistochemical evidence of autocrine growth factors in adenocarcinoma of the human lung. *Cancer Res* **50**:7077, 1990
- 37) Finzi E, Kilkenny A, Strickland JE, Balaschak M, Bringman T, Derynck R, Aaronson S, Yuspa SH: TGF alpha stimulates growth of skin papilloma by autocrine and paracrine mechanisms but does not cause neoplastic progression. *Molec Carcinog* **1**:7, 1988
- 38) Rothbauer E, Mann K, Wiebecke B, Borlinghaus P, Lamerz R, Pratschke B, Kramling HJ, Pfeiffer A: Epidermal growth factor receptors and epidermal growth factor-like activity in colorectal mucosa, adenomas and carcinomas. *Klin Wochenschr* **67**:518, 1989
- 39) Massagué J: The transforming growth factor-beta family. *Annu Rev Cell Biol* **6**:597, 1990
- 40) Sporn MB, Roberts AB: TGF- $\beta$ : problems and prospects. *Cell Regul* **1**:875, 1990
- 41) Cheifetz S, Weatherbee JA, Tsang MS, Anderson JK, Mole JE, Lucas R, Massagué J: The transforming growth factor- $\beta$  system, a complex pattern of cross-reactive ligands and receptors. *Cell* **48**:409, 1987
- 42) Derynck R, Lindquist PB, Lee A, Wen D, Tamm J, Graycar JL, Rhee L, Mason AJ, Miller DA, Coffey RI, Moses HL, Chen EY : A new type of transforming growth factor-beta, TGF-beta 3. *EMBO J* **7**:3737, 1988
- 43) Kelly J: Chapter 4, Transforming growth factor- $\beta$ . In Kelly J(Vol. 61) *Cytokines of the lung*, pp101-137, New York, Marcel Dekker, Inc. 1993
- 44) Roberts AB, Sporn MB: The transforming growth factor- $\beta$ s. In Sporn MB and Roberts AB (vol. 95) *Peptide Growth Factors and Their Receptors. Handbook of Experimental Pharmacology*, pp.419-473, Heidelberg, Springer-Verlag, 1990
- 45) Glick AD, Lee MM, Darwiche N, Kulkarni AB, Karisson S, Yuspa SH: Targeted deletion of the TGF- $\beta$ 1 gene causes rapid progression to squamous cell carcinoma. *Gene & Devel* **8**:2429, 1994
- 46) Park K, Kim SJ, Bang YJ, Park JG, Kim NK, Roberts AB, Sporn MB: Genetic change in the transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ ) type II receptor gene in human gastric cancer cells: correlation with sensitivity to growth inhibition by TGF- $\beta$ . *Proc Natl Acad Sci USA* **91**:8772, 1994
- 47) Letterio JJ, Geiser AG, Kulkarni AB, Roche NS, Sporn MB, Roberts AB: Maternal rescue of transforming growth factor- $\beta$ 1 null mice. *Science* **264**:1936, 1994

- 48) Roberts AB, Wakefield LM, Letterio JJ, Geiser AG, Kim SJ, Danielpour D, Anzano MA, Lucia S, Sporn MB: TGF- $\beta$ ;Complex role in carcinogenesis. *Proceedings AACR* **36**:651, 1995
- 49) Sporn MB, Roberts AB: Transforming growth factor- $\beta$ : recent progress and new challenges. *J Cell Biol* **119**:1017, 1992
- 50) Hunter T, Pines J : Cyclins and cancer II: Cyclin D and CDK inhibitors come of ages. *Cell* **79**:573, 1994
- 51) Satterwhite DJ, Aakre ME, Gorska AE, Moses HL: Inhibition of cell growth by TGF $\beta$ 1 is associated with inhibition of B-myb and cyclin A in both Balb/MK and Mv1 Lu cells. *Cell Growth Differ* **5**:789, 1994
- 52) Khatib ZA, Matsushime H, Valentine M, Shapiro DN, Sherr CJ, Look AT: Coamplification of the CDK4 gene with MDM2 and GL1 in human sarcomas. *Cancer Res* **53**:5535, 1993
- 53) Tam SW, Theodoras AM, Shay JW, Draetta GF, Pagano M: Differential expression and regulation of Cyclin D1 protein in normal and tumor human cells: association with Cdk4 is required for Cyclin D1 function in G1 progression. *Oncogene* **9**:2663, 1994
- 54) Alexandrow MG, Kawabata M, Aakre M, Moses HL: Overexpression of the c-Myc oncoprotein blocks the growth inhibitory response, but is required for the mitogenic effects, of transforming growth factor  $\beta$ 1. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**:3239, 1995
- 55) Hannon GJ, Beach D: p15<sup>INK4B</sup> is a potential effector of TGF- $\beta$ -induced cell cycle arrest. *Nature* **371**:257, 1994