

암의 침윤과 전이의 분자생물학적 기전

전남대학교 의과대학 병리학교실 / 최 찬

1. 암의 전이

1) 정의

악성종양이 그 원발부위에서 시작하여 여러 경로를 통해 다른 원격부위에 이식된 경우를 말하며, 원발부위의 종양을 원발성 또는 일차성 종양, 전이된 종양을 속발성, 이차성 또는 전이성 종양이라고 부른다. 양성 종양은 전이를 하는 일이 없으므로 전이한 종양은 모두 악성 종양이다.

악성종양의 전이는 파종성 전이, 림프성 전이 및 혈행성 전이 중 어느 하나의 경로를 통해서 일어난다. 일반적으로 림프성 전이는 암종에서, 혈행성 전이는 육종에서 흔한 경로로 알려져 있지만 악성 종양이 숙주내에 광범위하게 퍼진 예에서는 림프성 전이와 혈행성 전이가 동시에 인정되는 경우가 많이 있다.

2) 종류

(1) 파종성 전이

복강이나 흉막강과 같은 체강내 장기의 악성종양은 종양세포가 장기의 표면에 침윤한 후 체강으로 빠져 나오고 씨앗이 옮겨가듯이 멀리 떨어진 부위의 복막 및 흉막 그리고 다른 장기의 표면에 퍼져 그곳에서 증식할 수 있기 때문에 파종성 전이라고 한다. 체강내 파종이 광범위하게 일어나면 복수나 흉수가 저류되어 복막염이나 흉막염이 된다. 복강내 파종성 전이는 위장관이나 간 또는 난소에 발생한 암종에서 가장 빈번하다. 우리나라에서 가장 흔한 위암종의 경우 복막에서 파종성 전이가 비교적 흔히 관찰된다.

(2) 림프성 전이

림프성 전이는 림프관의 자연 관류경로를 따라서 일어나기 때문에 우선 국소 림프절부터 침범한다. 국소 림프절로의 전이는 악성종양이 발생한 원래의 위치에 따라 다르다. 위암종의 경우 위 주위의 제 1군 림프절인 분문부, 소만, 대만 림프절에 전이하기 쉽고 계속되면 제 2군 림프절인 유문상, 하, 총간 동맥간, 복강 대동맥 주위 림프절 등으로 전이한다.

(3) 혈행성 전이

림프성 전이가 원발소에서 가장 근접한 제 1군 림프절, 이어 제 2군 림프절에 차례로 발생하는데 반하여, 혈행성 전이에서는 악성 종양세포가 원

발소에서 멀리 떨어진 부위와 조직으로 운반되므로 수술적으로 적출할 수 없는 경우가 많다.

2. 전이 기전

암세포는 여러 단계를 거쳐서 다른 장기로 전이한다 (그림 1).

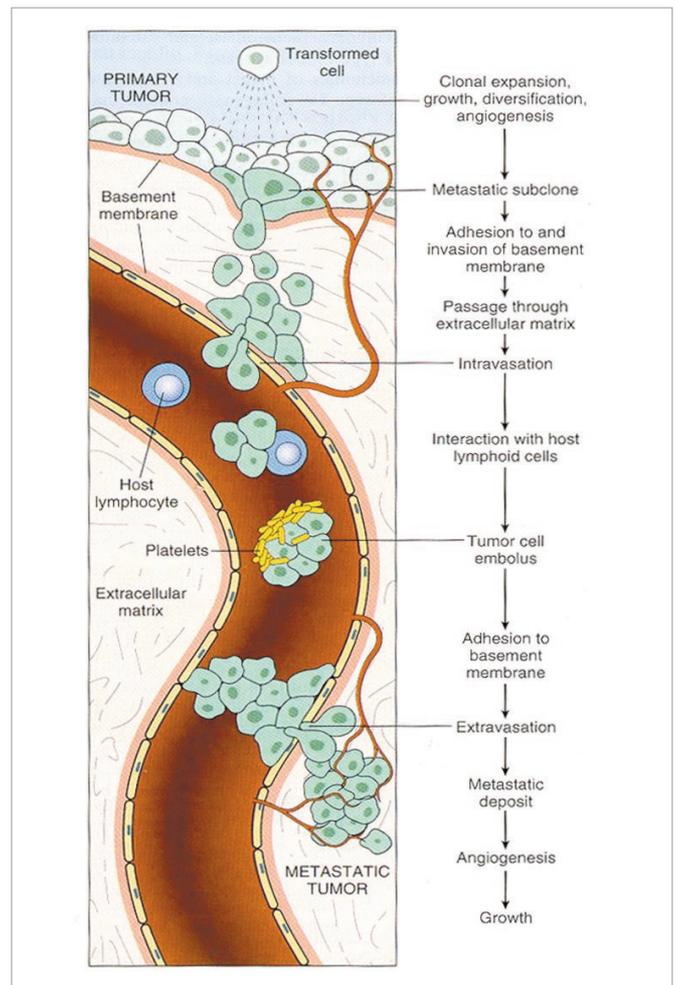


Figure 1. The metastatic cascade. Schematic illustration of the sequential steps involved in the hematogenous spread of a tumor. (Cotran et al, 1999)

1) 신생혈관 형성

종양세포가 증식하여 2-3 mm 이상의 크기로 성장하기 위해서는 신생혈관형성 (angiogenesis)이 필요하다. 신생혈관 형성은 종양세포나 종양내로 침투한 염증세포에서 분비되는 혈관형성인자의 분비나 혈관형성억제인자의 소실에 의해 유도된다. 혈관형성인자로는 혈관내피성장인자 (VEGF), 섬유모세포성장인자 (bFGF), 혈소관유래성장인자 (PDGF), 표피성장인자 (EGF) 등이 있다. 혈관형성인자의 작용으로 혈관의 기저막과 세포의 기질이 분해되고 내피세포가 혈관형성 자극원을 향해 이동, 증식, 성숙하여 새로운 모세혈관이 만들어진다.

혈관형성인자와 혈관형성억제인자의 분비조절기전은 아직 분명하지 않으나 종양유전자와 종양억제유전자가 관여한다. 혈관내피성장인자는 혈관내피세포를 증식시키거나 미세혈관의 투과성을 증가시킴으로써 신생혈관을 형성한다. 종양억제유전자인 p53 유전자는 혈관내피성장인자의 촉진자를 하향조절하여 전사를 억제하고, 신생혈관형성을 방해하는 thrombospondin-1을 상향조절하여 신생혈관형성을 억제한다. 반면 돌연변이형 p53 유전자는 p53유전자의 혈관내피성장인자의 억제기능을 상실한다.

종양의 성장과정중 신생혈관은 종양세포가 혈관안으로 들어가는 통로가 되는데, 특히 신생혈관은 기존의 혈관과 달리 기저막이 불완전하여 종양세포가 혈관내로 들어가는 것이 용이하다. 따라서 종양의 신생혈관 형성은 종양의 성장과 전이과정에 필수 불가결한 요소이다.

2) 세포의 기질의 침윤

종괴세포는 전이 과정의 몇 단계에서 세포외기질을 통과해야 한다. 첫째 장벽은 세포외기질중에서 고도로 특수화된 판 (sheet)인 기저막을 통과해야 하는 것이다. 다음으로 종양세포는 간질 결합조직을 통과해야 하며 마지막으로 혈관 기저막을 통과함으로써 순환계 내로 들어갈 수 있다. 종양세포가 혈관을 다라 이동한 후에 다른 장기에 정착하려면 위의 단계를 역순으로 반복한다. 그러므로 전이 세포의 가장 중요한 속성은 세포외기질을 분해하면서 통과하는 능력이다.

세포외기질은 기저막과 간질 결합조직의 두가지로 되어있다. 기저막은 간질 결합조직으로부터 상피나 내피세포를 분리하는 농축된 판과 같은 구조이며 제4형 교원질, 라미닌, 그리고 프로테오글리칸 등의 물질로 구성되어 있다. 제4형 교원질은 십자형의 그물구조를 이루면서, 기저막 단백질의 60%를 차지하는 반면에 라미닌이 나머지의 대부분을 차지하고 있다. 라미닌은 제4형 교원질과 프로테오글리칸에 고도로 친화성이 있고 또한 상피세포에 존재하는 라미닌 수용체를 통해 상피세포막에 강하게 결합되어 있다. 프로테오글리칸의 주 기능은 결합조직의 정상 모양과 부피를 유지하는 것이며, 파이브로넥틴은 간질 조직의 부착분자이다. 라미닌과 파이브로넥틴이 교원질, 섬유소, 프로테오글리칸, 그리고 히알루론산 (hyaluronic acid)등과 결합할 수 있는 다양한 영역으로 구성된 부착분자로서, 생화학적으로는 다르지만 몇가지 공통된 특성을 가지고 있다.

Liotta 등에 (1997) 따르면 침윤은 다음 세 단계로 설명된다. 라미닌, 파이브로넥틴과 같은 기질 성분에 종양세포의 부착, 단백질 분해 효소의 분비에 의해 기질성분의 부분적 변성 및 파괴, 세포외기질의 변성대 (degraded zone)로의 종양세포의 이동, 이러한 세 단계의 계속적인 반복으로 종양세포가 점점 침윤한다.

3) 세포외기질에 종양세포의 부착

종양세포가 수용체를 매개로 라미닌에 부착하는 것이 침윤과 전이를 위

해 필수적이다. 다음 두가지 기전이 관련되는데 종양세포는 세포 표면의 라미닌 수용체를 통해 기저막 라미닌과 결합한다. 여러 종양세포는 많은 양의 라미닌을 분비하여 라미닌 수용체를 점령한다. 이러한 기전에 의해 라미닌은 세포표면의 라미닌 수용체와 기저막의 제4형 교원질 사이에 다리를 형성하여 결합시켜 준다. 이렇게 종양세포가 기저막에 단단히 결합되어야, 다음의 단계인 기질의 분해가 성공적으로 일어난다.

4) 세포외기질의 분해

기저막이나 간질의 세포외기질 성분에 부착된 종양세포는 이주하기 위한 통로를 만들어야 한다. 기질의 침윤은 단지 수동적인 성장력만으로는 충분치 않고, 기질 성분을 효소 작용으로 분해하여야 한다.

기저막의 그물구조는 제4형 교원질에 의해 이루어져 있는데 이는 제4형 교원질 분해효소라 불리는 금속단백질분해효소에 의해 분해된다. 쥐의 악성흑색종의 세포아군을 비교하면, 전이 가능성과 세포에 의해 합성되는 제4형 교원질분해효소의 양 사이에는 비례관계가 있다. 섬유아세포를 시험관에서 발암 유전자를 이용하여 변형시켰을 때, 높은 전이 성향을 가진 변형세포는 많은 양의 제4형 교원질 분해효소를 분비한 반면에, 변형은 되었으나 전이성 없는 세포는 제4형 교원질 분해효소의 분비가 낮은 수준이었다. 제4형 교원질을 함유한 기질을 분해하고 통과할 수 있는 종양세포는 전이에 성공하였으나, 이 기질을 통과하지 못한 세포는 전이에 실패하였다 (Liotta 등, 1997).

제4형 교원질 분해효소 이외에 다른 종류의 단백질 분해효소 (elastase, cathepsins, plasmin)도 기저막의 분해에 관계된다. 플라스민 (plasmin)은 프로테오글리칸의 단백질 중심이나 라미닌과 같은 기질 분자를 분해할 수 있다. 더구나 종양세포에 의해 비활성의 형태로 분비된 제4형 교원질 분해효소를 활성화시킨다. 플라스민은 플라스미노겐 activator (PA)에 의해 비활성 전구물질인 플라스미노겐으로부터 활성화된다. PA의 상승은 악성 세포에서 자주 발견되는데, PA는 플라스민과 제4형 교원질 분해효소의 활성화를 조절할 수 있는 능력이 있기 때문에 종양세포의 침윤에서 중요한 역할을 한다고 생각된다. 카텡신 D도 기질 단백질의 분해에 관여하는데, 유방암 환자중 카텡신 D가 혈중에 높은 환자는 종양의 침윤이 더 높다. 간질 교원질 (제1형과 3형)은 간질 교원질 분해효소에 의해 분해되는데, 많은 종양세포는 간질 교원질 분해효소를 분비하며, 종양세포의 침윤과 간질 교원질 분해효소 수준 사이에도 상호 관련이 있다. 암세포는 단백질 분해 효소를 분비하는 외에도, 숙주의 섬유모세포나 다른 간질 세포들이 교원질 분해효소를 분비하도록 자극한다. 기질 파괴의 가장 분명한 목적은 종양세포의 침윤을 위한 통로를 만든다는 것이지만, 부수적으로 교원질이나 프로테오글리칸이 분해되어 생긴 분해 산물은 세포의 성장을 촉진시키며, 혈관을 만들게 한다.

5) 종양세포의 이동

악성 세포는 정상 세포보다 훨씬 결합력이 약하다. 침윤성 종양을 현미경으로 관찰하면 종양이 자라나는 끝부분에 종괴로부터 분리된 작은 세포들을 쉽게 발견할 수 있다. 이러한 소견은 침윤하는 종양세포가 운동성이 있다는 것을 의미한다. 세포의 운동성은 종양세포로부터 분비되는 autocrine motility factor에 의해 증가된다. Autocrine motility factor는 55kd 크기의 단백질로서 종양세포에서 분비되며, 종양세포의 수용체에 결합하여 운동성을 증가시킨다. 종양세포의 이동은 기질의 분해 산물이 가지는 화학 주성에 의해 영향을 받는데, 이 분해 산물이 종양세포가 변성된 기질 쪽으로 이동하도록 끌어 당긴다.

6) 종양세포의 혈관 파종과 귀소 (homing)

혈관 안으로 들어온 종양세포는 면역기전에 의해 파괴되기가 쉽다. 특히 자연살해 세포 (NK cell)가 종양의 혈행성 전이를 억제하는데 중요하다. 혈관 안으로 들어온 종양세포는 군락 (clumps) 형태로 모이는 경향이 있다. 종양세포는 혈소판 등 혈액세포와 결합하거나 종양세포끼리 모여 덩어리를 만들기도 한다. 종양이 혈소판과 결합하여 세포 덩어리를 형성하면 종양세포의 생존과 이식능이 증가된다. 혈소판과 뭉쳐진 종양세포는 림프계 세포에 의한 공격으로부터 보호될 것이다. 실험적 종양 모형에서 혈소판 감소증은 종양세포가 순환계로 들어감으로써 생기는 폐전이의 수를 감소시키는데, 이는 성공적인 전이를 위해서 종양세포가 혈소판과 결합하는 것이 유리하다는 사실을 증명하는 소견이다. 혈관안의 암세포 덩어리가 혈관 밖으로 이동하려면 먼저 내피세포에 부착되어야 한다. 이 과정에 인테그린, 라미닌 수용체 등이 작용하는데, 이들 중 CD44이 종양세포의 전이과정에서 중요한 역할을 한다.

순환중인 종양세포가 모세혈관을 통과하여 이차적인 성장을 하는 장소는 종양의 해부학적 위치와 관련이 있다. 대장의 정맥은 문맥을 통해 간으로 모이므로 대장암이 간으로 전이하는 경우가 많다. 그러나 전이의 분포를 자연적인 혈액의 순환경로만으로는 설명할 수는 없다. 예를 들면, 전립선암은 흔히 골 (bone)로 전이하며, 기관지암은 부신과 뇌로 전이하는 경향이 있고, 신경모세포종은 간과 골수로 전이하지만, 이들 사이에 직접적인 혈액의 순환은 없다. 종양의 종류에 따라 특정 장기에 전이가 잘되는 현상 (tropism)은 다음과 같은 몇가지 인자에 의해 설명된다. 특정 장기의 혈관 내피세포에 종양세포와 부착을 할 수 있는 수용체가 발현된다. 특정 장기에서 화학주성 물질을 분비하여 종양세포를 끌어들이는 것이다. 어떤 장기는 종양이 잘 살아남지 못하는 환경을 갖추고 있다. 악성 종양은 골격근과 비장에는 잘 전이되지 않는다. 이러한 조직에는 단백질 분해 효소 억제제가 있거나, 종양세포와 내피세포사이에서 수용체 상호작용의 결핍과 관계가 있을 것으로 추측된다. 이상의 모든 사항을 고려하더라도 환자의 악성종양이 어느 장기에 전이할 것인가는 어떤 형태의 암에서든 예측할 수 없다.

3. 전이관련 유전자들

암전이관련 유전자 들은 전이능이 높은 암세포주와 이들의 아형으로 전이능이 낮은 암세포주의 cDNA를 비교하여 (subtractive hybridization of cDNA libraries) 발견하였다. 전이유전자는 전이능이 높은 암세포에서 강하게 발현되며, 전이억제유전자는 그 반대이다. 대표적인 전이억제유전자로 NM23, KAI-1, KISS1 등이 있다.

NM23는 설치류의 악성흑색종 세포주에서 발견되었다. 전이능이 낮은 세포주에서는 강하게 발현되고, 전이능이 높은 세포주에서는 약하게 발현된다 (Steeg 등, 1988). 사람의 유방암에서도 비슷한 결과를 보였으나, 다른 종류의 암에서는 이런 경향이 없었다 (Bevilacqua 등, 1989). NM23은 NME1, NME2, NME3, 와 NME4 의 네 아형이 있다. NM23는 nucleoside diphosphate kinase 이다 (Gilles 등, 1991)

KAI-1은 염색체 11p11-2에 위치하며, 사람 전립선암의 전이를 억제한다 (Dong 등, 1995). 이는 생쥐의 leukocyte surface antigen R2와 비슷하며, 활성화된 T 세포에서 강하게 발현된다.

KISS1은 사람 염색체 11 번에 위치하고 있으며, 악성 흑색종에서 발견된 전이억제 유전자이다 (Lee 등, 1996). KISS1 의 truncated form 은 'metastin' 이며, 이들은 in vivo와 in vitro에서 세포의 침윤과 전이를 억제한다 (Ohtaki 등, 2001).

4. cDNA array를 이용한 전이 유전자의 분석

Clark 등 (2000) 전이능이 높은 악성 흑색종을 DNA array로 분석하여 전이능이 높은 암종에서 세포외기질 및 actin의 조절에 관련된 여러 유전자들이 강하게 발현되는 것을 관찰하였다. 이들 중 RhoC의 발현이 증가하면 암세포의 전이능이 증가하며, 발현이 억제되면 전이능이 감소함을 발견하였다. Bittner 등 (2000)은 악성흑색종의 유전자를 분석하여 전이능이 높은 악성흑색종에서 발현되는 유전자와 전이능이 높지 않은 악성흑색종에서 발현되는 유전자가 서로 다름을 발견하였다.

MacDonald 등 (2001)은 수모세포종 (medulloblastoma)에서 발현되는 유전자를 분석하여 종양의 전이능에 따라 발현되는 유전자가 다름을 발견하였다. 그중 platelet-derived growth factor receptor 와 Ras/mitogen-activated protein kinase (MARK) 신호전달계의 하부에 위치하는 유전자들이 전이능이 높은 암종에서 강하게 발현됨을 확인하였다.

Hippo 등 (2001)은 사람의 위선암에서, Dong 등 (2001)은 생쥐의 피부 편평세포암에서 원발성 암종과 전이암종의 유전자 프로필이 서로 다름을 보였다. De Lange 등 (2001), Hegde 등 (2001)은 사람의 대장암의 세포주에서, 그리고 Yanagawa 등 (2001)은 사람의 대장암 조직에서 암 전이에 관한 유전자 프로필을 보고하였다.

정상, 원발성 암종, 전이암종의 유전자를 비교하면 다음과 같은 분포를 보일 것이다 (그림 2). I군과 II군의 유전자는 종양억제와 관련된 유전자이며, III군은 암전이억제와 관련된 유전자이다. III군과 IV군은 종양유전자이며, V군과 VI군은 암 전이와 관련된 유전자일 것이다.

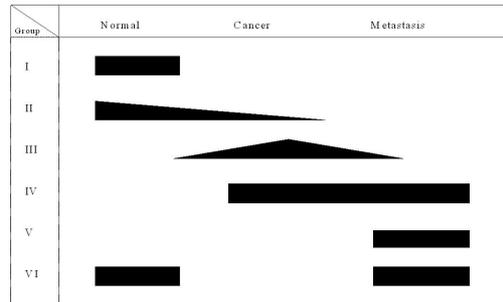


Figure 2. Group of genes expressed in different stages of tumor.

5. 위암의 침윤과 전이능에 따라 다르게 발현되는 유전자군

한국인 위선암중 근층에 침윤하지만 림프절이나 원격장기에 전이하지 않은 (T2aN0M0) 4 증례와, 장막을 통과하지만 주위장기에는 침윤하지 않으며 림프절에 전이하나 원격전이를 하지 않는 (T3N1-3M0) 4 증례에서 4,132개의 유전자를 포함하는 cDNA microarray membrane 을 이용하여 두 군의 암종에서 다르게 발현되는 유전자군을 발견하였다 (그림 3). T3N1-3M0에서 강하게 발현되는 유전자는 64개였으며 (Table 1A), T2aN0M0에서 강하게 발현되는 유전자 61개였다 (Table 1B). 이들 중 guanine-monophosphate synthetase, aryl hydrocarbon receptor-interacting protein, holocytochrome C synthase, low density lipoprotein-related protein 1 유전자를 14증례의 T2aN0M0 암종과 11 증례의 T3N1-3M0 암종에서 quantitative real-time RT PCR로 분석하여 cDNA microarray의 결과와 일치함을 확인하였다 (그림 4). 위선암 150 예를 포함한 tissue microarray에서 GSTM1, decay accelerating factor for complement (DAF), calpastatin의 항체에 대한 면역조직화학검사를 하였으며, 그 결과도 cDNA microarray의 결과와 일치하였다 (그림 5).

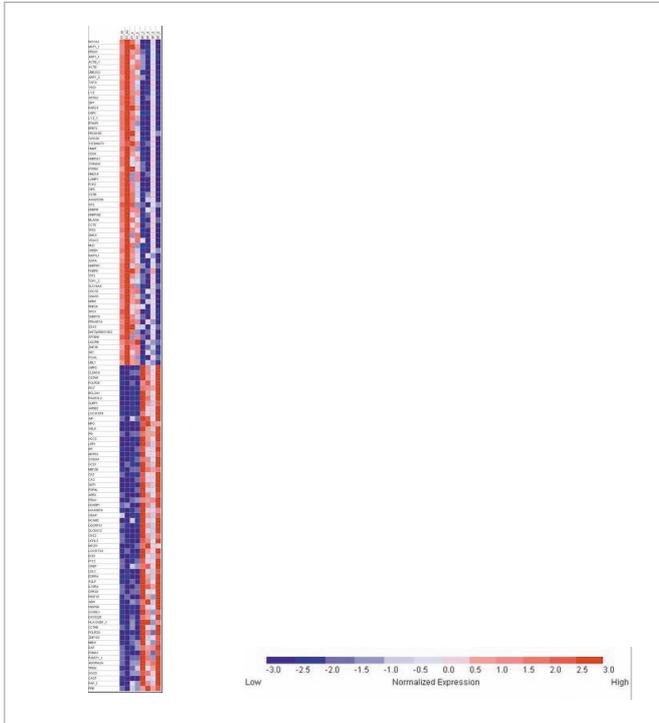


Figure 3. Clustergram based on SAM-selected genes significantly different between metastatic primary adenocarcinoma (MT) and non-metastatic primary adenocarcinoma (NT) of stomach, *Horizontal axis*, samples included in the study; *vertical axis*, the 125 the most significantly differentially expressed genes. For each gene and a specific sample there is a thin colored band, which visually describes the expression of that gene in the sample. *Green bands* represent under expressed genes; *red bands*, overexpressed genes.

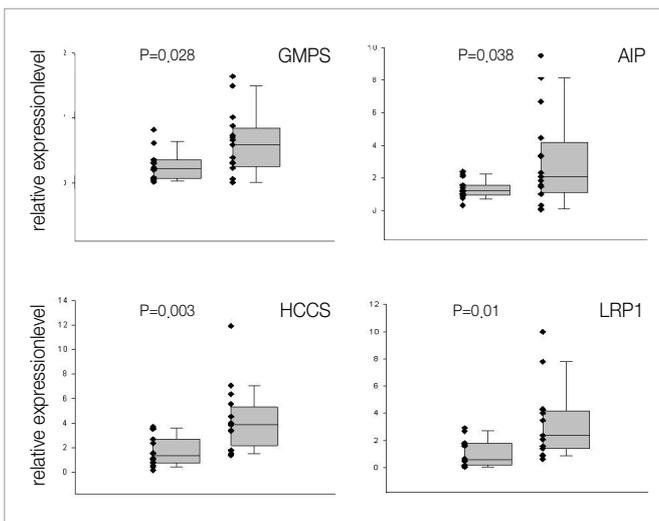


Figure 4. Real-time RT-PCR verification of SAM-selected clones. The expression of *GMPS* (guanine-monophosphate synthetase), *AIP* (aryl hydrocarbon receptor-interacting protein), *HCCS* (holocytochrome C synthase), and *LRP1* (low density lipoprotein-related protein 1) genes were verified with real-time RT-PCR in metastatic primary adenocarcinoma (LN+) and non-metastatic primary adenocarcinoma (LN-) of stomach. The LightCycler system was used to generate and display real-time PCR products from 11 metastatic and 14 non-metastatic primary adenocarcinoma of stomach amplified from (A) *GMPS*, (B) *AIP*, (C) *HCCS*, and (d) *LRP1*, identified by cDNA microarray as overexpressed in metastatic versus non-metastatic primary adenocarcinoma. Each result was expressed as the expression ratio between the sample and the reference cDNA used for making a standard curve.

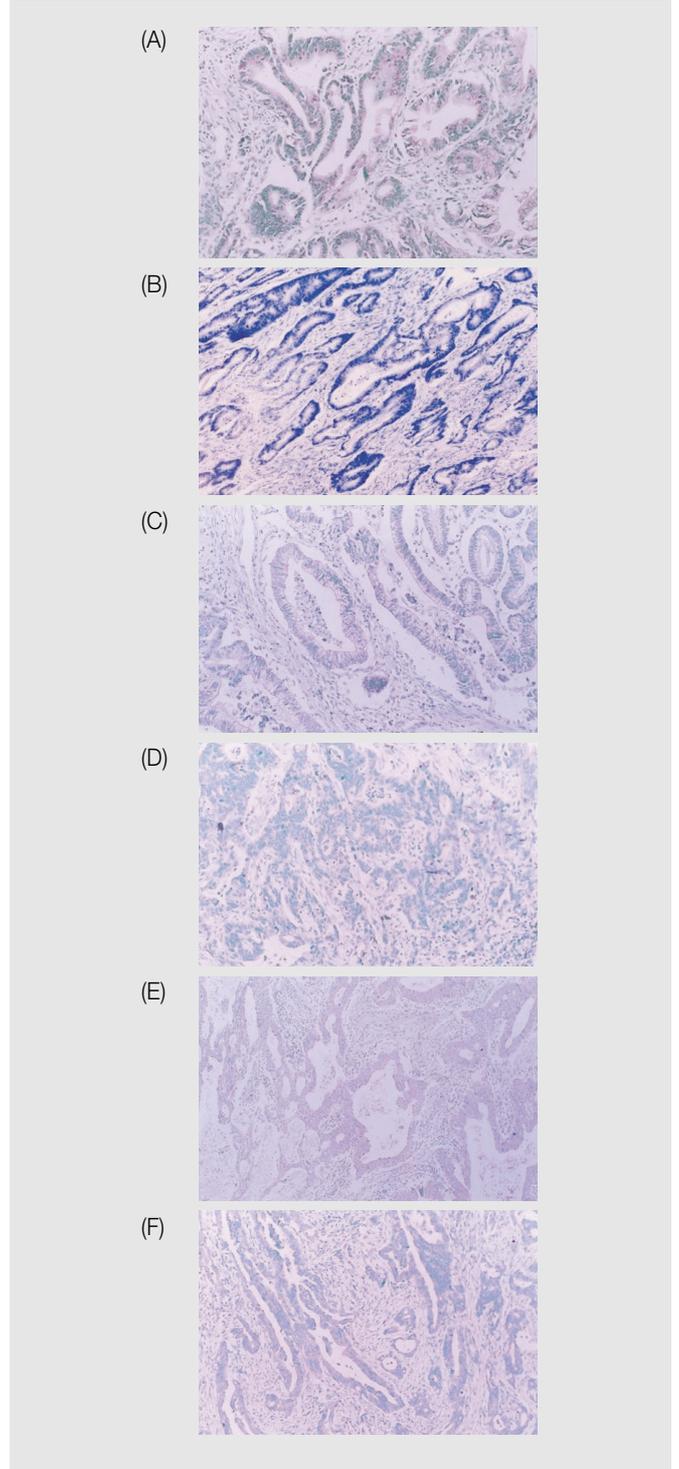


Figure 5.

- A. The glands of well differentiated adenocarcinoma are positively stained with anti GSTM1 (glutathione S-transferase M1) antibody. (X 150)
- B. The glands of moderately differentiated adenocarcinoma are not stained with anti GSTM1 (glutathione S-transferase M1) antibody. (X 150)
- C. The glands of well differentiated adenocarcinoma are positively stained with anti DAF (decay accelerating factor for complement) antibody. (X 150)
- D. The glands of moderately differentiated adenocarcinoma are not stained with anti DAF (decay accelerating factor for complement) antibody. (X 150)
- E. The glands of moderately differentiated adenocarcinoma are positively stained with calpastatin antibody. (X 150)
- F. The glands of moderately differentiated adenocarcinoma are positively stained with calpastatin antibody. (X 150)

Table 1A, The 64 up-regulated clones with the highest metastatic primary carcinoma/non-metastatic primary carcinoma mean ratios (> 1.5 fold) are listed

Function/Title	Gene	IMAGE_ID	GenBank_gi	UniGene_ID	-fold	p-value
Adhesion/migration/motility						
neural cell adhesion molecule 2	NCAM2	1343468	2719189	Hs,177691	2,16	*
Cell cycle-regulation						
microspherule protein 1	MCRS1	824728	2218581	Hs,25313	2,28	*
serine/threonine protein phosphatase catalytic subunit	LOC51723	826459	2261626	Hs,356739	1,67	*
Cell death/Apoptosis						
BCL2-related protein A1	BCL2A1	814478	2184170	Hs,227817	2,32	*
CGI-39 protein	LOC51079	321389	1328950	Hs,279574	1,77	*
adenosine A2a receptor	ADORA2A	279970	1201443	Hs,1613	1,58	*
Cell proliferation						
phosphoserine phosphatase-like	PSPHL	299679	1237606	Hs,369508	2,18	*
CDC28 protein kinase 2	CKS2	725454	2051021	Hs,83758	2,06	*
multiple endocrine neoplasia I	MEN1	685371	1874435	Hs,423348	2,00	*
low density lipoprotein-related protein 1	LRP1	810551	2189450	Hs,89137	1,89	*
PDGF associated protein	PAP	824426	2219473	Hs,423	1,78	*
mature T-cell proliferation 1	MTCP1	470175	1496741	Hs,3548	1,68	*
DNA repair						
RAD51 (S. cerevisiae)-like 3	RAD51L3	259579	1148285	Hs,125244	1,79	*
APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme)	APEX	740907	2206907	Hs,73722	1,71	*
polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide G	POLR2G	740672	2206062	Hs,14839	1,70	*
alkylation repair; alkB homolog	ABH	1031747	2458037	Hs,54418	1,63	*
DNA-binding/transcription factor						
LPS-induced TNF-alpha factor	PIG7	745347	2538053	Hs,76507	1,90	*
estrogen-related receptor alpha	ESRRA	489553	1645062	Hs,110849	1,87	*
N-methylpurine-DNA glycosylase	MPG	269606	1141117	Hs,79396	1,77	*
aryl hydrocarbon receptor-interacting protein	AIP	814731	2177702	Hs,75305	1,76	*
MADS box transcription enhancer factor 2, polypeptide B	MEF2B	704760	1925452	Hs,78881	1,73	*
zinc finger protein 143	ZNF143	783836	2156334	Hs,374355	1,71	*
Golgi or ER associated						
glucosidase I	GCS1	724893	1939511	Hs,83919	1,99	*
low density lipoprotein receptor defect C complementing	LDLC	825296	2240615	Hs,82399	1,91	*
vesicle docking protein p115	P115	825451	2240502	Hs,325948	1,81	*
Integral membrane						
endothelin converting enzyme 1	ECE1	704290	1920894	Hs,287115	2,32	*
solute carrier family 16, member 4	SLC6A12	282501	1191022	Hs,82535	2,02	*
claudin 10	CLDN10	810761	2180459	Hs,26126	1,99	*
major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	HLA-DQB1_1	809598	2183379	Hs,73931	1,77	*
decay accelerating factor for complement	DAF	128126	761484	Hs,1369	1,60	*
Intracellular signaling and GTPase						
sarcoglycan, delta	SGCD	666829	1858141	Hs,151899	1,58	*
G protein-coupled receptor 30	GPR30	1367900	2879584	Hs,113207	2,09	*
amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family B, member 2	APBB2	1470333	2958389	Hs,324125	1,99	*
DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box binding protein 1	DDXBP1	32565	821438	Hs,75251	1,89	*
Ric (Drosophila)-like, expressed in many tissues	RIT	469686	1493936	Hs,96038	1,79	*
growth factor receptor-bound protein 7	GRB7	236059	993850	Hs,86859	1,66	*
interleukin 10 receptor, alpha	IL10RA	757440	2142140	Hs,327	1,63	*
Others						
vertebrate LIN7 homolog 1, Tax interaction protein 33	VELL1		2805033	Hs,178215	2,17	*
surfeit 1	SURF1	433474	2703707	Hs,3196	2,04	*
guanine-monophosphate synthetase	GMPS	248531	1203654		2,03	*
carboxypeptidase Z	CPZ	770462	2111540	Hs,78068	1,99	*
syntrophin, alpha	SNT1	435330	2702889	Hs,31121	1,97	*
glutathione S-transferase M1	GSTM1	713922	1938595	Hs,301961	1,96	*
ubiquinol-cytochrome c reductase, Rieske iron-sulfur polypeptide 1	UQCRCF1	782800	2161854	Hs,3712	1,94	*
polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide E	POLR2E	469369	1493232	Hs,24301	1,93	*
GCN5-like 1	GCN5L1	230218	1102490	Hs,94672	1,86	*
holocytochrome c synthase	HCCS	712577	1924227	Hs,211571	1,83	*
proteasome subunit, alpha type, 1	PSMA1	134544	783720	Hs,82159	1,81	*
chaperonin containing TCP1, subunit 6B	CCT6B	1376827	2883037	Hs,73072	1,76	*
protease inhibitor 9	PI9	769948	2111102	Hs,104879	1,74	*
S100 calcium-binding protein A1	S100A1	810612	2189615	Hs,433503	1,73	*
carbonic anhydrase II	CA2	838856	2211332	Hs,155097	1,71	*
ITBA1 gene	ITBA1	810040	2178048	Hs,23119	1,70	*
ubiquitin carboxyl-terminal esterase L3	UCHL3	257445	1141538	Hs,77917	1,68	*
calpastatin	CAST	730002	2076998	Hs,359682	1,66	*
ataxin 2 related protein	A2LP	470179	1496220	Hs,43509	1,65	*
triadin	TRDN	758366	2059017	Hs,23926	1,59	*
peptidylprolyl isomerase E (cyclophilin E)	PPIE	302310	1241544	Hs,379815	1,56	*
Unknown						
glucosidase, beta; acid, pseudogene	GBAP	878406	2631846		2,01	*
EST	EST	167032	954542		1,76	*
KIAA0019 gene product	KIAA0019	711826	1923737	Hs,278526	1,71	*
EST	EST	263836	1124434		1,71	*
EST	EST	35483	793472		1,62	*
DNA segment on chromosome X 522 expressed sequence	DXS522E	810264	2188808	Hs,387463	1,61	*

*, p-value < 0,05

Table 1B. The 61 down-regulated clones with the lowest metastatic primary carcinoma/non-metastatic primary carcinoma mean ratios (> 1,5 fold) are listed.

Function/Title	Gene	IMAGE_ID	GenBank_gi	UniGene_ID	-fold
Adhesion/migration/motility					
actin, beta	ACTB	34357	821261	Hs,288061	1,67
PTPL1-associated RhoGAP 1	PARG1	884783	2552214	Hs,70983	1,65
spectrin, beta, non-erythrocytic 1	SPTBN1	362483	1481846	Hs,107164	1,65
integrin, alpha L	ITGAL	154015	810822	Hs,174103	1,60
Cell death/Apoptosis					
voltage-dependent anion channel 1	VDAC1	486221	1521917	Hs,149155	1,57
tumor protein p53	TP53	24415	796812	Hs,1846	1,54
ubiquitin-like 1 (sentrin)	UBL1	843094	2216057	Hs,81424	1,46
Cell proliferation					
macrophage stimulating 1	MST1	71432	649793	Hs,349110	1,72
peroxiredoxin 1	PRDX1	878259	2835137	Hs,180909	1,68
DNA-binding/transcription factor					
TATA box binding protein (TBP)-associated factor	TAF2I	306444	1265020	Hs,83126	1,62
high-mobility group protein 14	HMG14	138139	815791	Hs,251064	1,57
synovial sarcoma, X breakpoint 3	SSX3	1031748	2458027	Hs,178749	1,51
Golgi or ER associated					
adaptor-related protein complex 3, sigma 2 subunit	AP3S2	135085	788874	Hs,154782	1,57
Integral membrane					
erythrocyte membrane protein band 7,2	EPB72	138936	834696	Hs,160483	1,62
membrane fatty acid (lipid) desaturase	MLD	324891	1337922	Hs,185973	1,60
interferon (alpha, beta and omega) receptor 1	IFNAR1	287687	1203040	Hs,1513	1,58
CD24 antigen	CD24	204335	1012748	Hs,375108	1,57
coated vesicle membrane protein	RNP24	770675	2204493	Hs,75914	1,54
melan-A	MLANA	272327	1152598	Hs,154069	1,53
solute carrier family 16, member 4	SLC16A4	141562	847640	Hs,351306	1,50
exportin 1	XPO1	74566	660892	Hs,79090	1,48
Intracellular signaling and GTPase					
ADP-ribosylation factor 1	ARF1	323474	1329653	Hs,74571	1,74
protein tyrosine phosphatase, receptor type, N	PTPRN	33941	824274	Hs,89655	1,57
guanine nucleotide binding protein, alpha stimulating activity polypeptide 1	GNAS1	23019	821503	Hs,374523	1,55
tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, eta polypeptide	YWHAH	292996	1225268	Hs,349530	1,55
FK506-binding protein 8	FKBP8	308588	1267902	Hs,173464	1,53
protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type I, alpha	PRKAR1A	854760	2553118	Hs,183037	1,52
cAMP responsive element binding protein 1	CREB1	148444	877140	Hs,79194	1,50
cell division cycle 10	CDC10	858292	2557207	Hs,184326	1,48
Metabolism					
aspartoacylase (aminoacylase 2, Canavan disease)	ASPA	295137	1228365	Hs,32042	1,49
phosphoenolpyruvate carboxykinase 2 (mitochondrial)	PCK2	625923	1775003	Hs,75812	1,52
glucose-6-phosphatase, catalytic	G6PC	122636	748624	Hs,145279	1,57
Nuclear					
topoisomerase (DNA) I	TOP1	43129	830855	Hs,317	1,70
nucleophosmin (nucleolar phosphoprotein B23, numatrin)	NPM1	884301	2631257	Hs,355719	1,50
nucleosome assembly protein 1-like 1	NAP1L1	595604	1745507	Hs,302649	1,49
SET translocation (myeloid leukemia-associated)	SET	950607	2456976	Hs,145279	1,47
RNA processing/modification					
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1	HNRPH1	358457	1426022	Hs,245710	1,61
small nuclear ribonucleoprotein 70kD polypeptide	SNRP70	124261	752082	Hs,174051	1,57
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R	HNRPR	842861	2216566	Hs,15265	1,55
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	HNRPAB	345833	1382513	Hs,81361	1,51
Others					
neuro-oncological ventral antigen 2	NOVA2	321734	1317347	Hs,33021	1,84
survival of motor neuron protein interacting protein 1	SIP1	268876	1140374	Hs,102456	1,74
ubiquitin-conjugating enzyme E2G 2	UBE2G2	771295	2156309	Hs,192853	1,67
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	HNRPA1	26099	794742	Hs,376844	1,64
lysozyme (renal amyloidosis)	LYZ	293925	1211772	Hs,234734	1,61
lysosomal-associated membrane protein 1	LAMP1	49710	899883	Hs,150101	1,60
v-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral oncogene homolog 1	YES1	273435	1158024	Hs,194148	1,60
histamine N-methyltransferase	HNMT	265645	1151851	Hs,81182	1,58
transcription termination factor, RNA polymerase I	TTF1	385003	2719061	Hs,54780	1,53
cystatin B (stefin B)	CSTB	51814	891614	Hs,695	1,53
glycoprotein 2 (zymogen granule membrane)	GP2	1412344	2931381	Hs,53985	1,51
Opa-interacting protein 5	OIP5	202958	994540	Hs,116206	1,51
chaperonin containing TCP1, subunit 5	CCT5	884425	2552303	Hs,1600	1,51
ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein	UQCRCB	855843	2618275	Hs,131255	1,47
zinc finger protein 36	ZNF36	562115	1810162	Hs,356344	1,47
Unknown					
putative gene product	smcx	46284	873933	Hs,181304	1,58
putative gene product	SMCX	148225	878508	Hs,283429	1,58
GW128 protein	GW128	208161	1016873	Hs,182238	1,57
PRO0195 protein	PRO0195	297061	1231046	Hs,155090	1,56
EST	EST	773290	2106110	Hs,155090	1,55
hypothetical protein	DKFZp586O1922	293859	1267430	Hs,155090	1,48

6. 결론

암의 침윤과 전이는 다양한 유전자가 관여하는 복합적인 과정이다. 침윤과 전이는 1) 신생혈관 형성, 2) 세포외 기질의 침윤, 3) 세포외기질에 종양세포의 부착, 4) 세포외기질의 분해, 5) 종양세포의 이동, 6) 종양세포의 혈관 파종과 귀소의 과정을 거친다. 그러므로 암의 침윤과 전이에 관련된 유전자의 기능을 이해하면 침윤과 전이를 예측할 수 있는 진단법이나 새로운 치료제를 개발할 수 있을 것이다.

7. 참고문헌

- 1) 대한병리학회. 병리학, 제 5판, 제 5장 종양, 고문사, 2003, pp143-pp175
- 2) Bevilacqua G, Sobel ME, Liotta LA, Steeg PS. Association of low nm23 RNA levels in human primary infiltrating ductal breast carcinomas with lymph node involvement and other histopathological indicators of high metastatic potential. *Cancer Res.* **49**:5185-5190, 1989
- 3) Bittner M, Meltzer P, Chen Y, Jiang Y, SefTOR E, Hendrix M, Radmacher M, Simon R, Yakhini Z, Ben-Dor A, Sampa N, Dougherty E, Wang E, Marincola F, Gooden C, Lueders J, Glatfelter A, Pollock P, Carpten J, Gillanders E, Leja D, Dietrich K, Beaudry C, Berens M, Alberts D, Sondak V. Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling. *Nature* **406**:536-540, 2000
- 4) Clark EA, Golub TR, Lander ES, Hynes RO. Genomic analysis of metastasis reveals an essential role for RhoC. *Nature* **406**:532-535, 2000
- 5) Cotran RS, Kumar V, Collins T. Chapter 8. Neoplasia. in Pathologic basis of disease. 6th ed. Saunders Co, 1999, pp260-pp327
- 6) De Lange R, Burtscher H, Jarsch M, Weidle UH. Identification of metastasis-associated genes by transcriptional profiling of metastatic versus non-metastatic colon cancer cell lines. *Anticancer Res.* **21**:2329-2339, 2001.
- 7) Dong JT, Lamb PW, Rinker-Schaeffer CW, Vukanovic J, Ichikawa T, Isaacs JT, Barrett JC. KAI1, a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2. *Science* **268**:884-886, 1995
- 8) Dong G, Loukinova E, Chen Z, Gangi L, Chanturita TI, Liu ET, Van Waes C. Molecular profiling of transformed and metastatic murine squamous carcinoma cells by differential display and cDNA microarray reveals altered expression of multiple genes related to growth, apoptosis, angiogenesis, and the NF-kappaB signal pathway. *Cancer Res.* **61**:4797-4808, 2001
- 9) Gilles AM, Presecan E, Vonica A, Lascu I. Nucleoside diphosphate kinase from human erythrocytes. Structural characterization of the two polypeptide chains responsible for heterogeneity of the hexameric enzyme. *J Biol Chem.* **266**:8784-8789, 1991
- 10) Hegde P, Qi R, Gaspard R, Abernathy K, Dharap S, Earle-Hughes J, Gay C, Nwokekeh NU, Chen T, Saeed AI, Sharov V, Lee NH, Yeatman TJ, Quackenbush J. Identification of tumor markers in models of human colorectal cancer using a 19,200-element complementary DNA microarray. *Cancer Res.* **61**:7792-7797, 2001

- 11) Hippo Y, Yashiro M, Ishii M, Taniguchi H, Tsutsumi S, Hirakawa K, Kodama T, Aburatani H. Differential gene expression profiles of scirrhous gastric cancer cells with high metastatic potential to peritoneum or lymph nodes. *Cancer Res.* **61**:889-895, 2001
- 12) Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, Welch DR. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst.* **88**:1731-1737, 1996
- 13) Liotta LA, Kohn EC. Invasion and metastasis. In Holland JF, et al (eds): Cancer Medicine, 4th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1997, pp165
- 14) MacDonald TJ, Brown KM, LaFleur B, Peterson K, Lawlor C, Chen Y, Packer RJ, Cogen P, Stephan DA. Expression profiling of medulloblastoma: PDGFRA and the RAS/MAPK pathway as therapeutic targets for metastatic disease. *Nat Genet.* **29**:143-152, 2001
- 15) Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y, Ishibashi Y, Watanabe T, Asada M, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Usuki S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* **411**:613-617, 2001
- 16) Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, Thorgeirsson UP, Talmadge JE, Liotta LA, Sobel ME. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. *J Natl Cancer Inst.* **80**:200-204, 1998
- 17) Yanagawa R, Furukawa Y, Tsunoda T, Kitahara O, Kameyama M, Murata K, Ishikawa O, Nakamura Y. Genome-wide screening of genes showing altered expression in liver metastases of human colorectal cancers by cDNA microarray. *Neoplasia* 395-401, 2001



최 찬 (崔燦)

소속 : 전남대학교 의과대학 병리학교실
 전공 : 분자 병리학

1976.3-1982.2 전남대학교 의과대학 의학과 (학사)
 1982.3-1986.2 전남대학교 병원 (인턴; 전공의, 해부병리과)
 1983.3-1985.2 전남대학교 대학원 (석사)
 1985.3-1988.8 전북대학교 대학원 (박사)
 1986.3-1987.4 전남대학교 의과대학 (조교)
 1987.3-1992.2 원광대학교 의과대학 (조교수)
 1992.3-1995.8 미국국립보건원, 환경건강연구소 (연구원)
 1995.9-1995.12 광주 남광병원 (병리과장)
 1996.1-현재 전남대학교 의과대학 (부교수)

T-vector와 expression vector가 하나로...

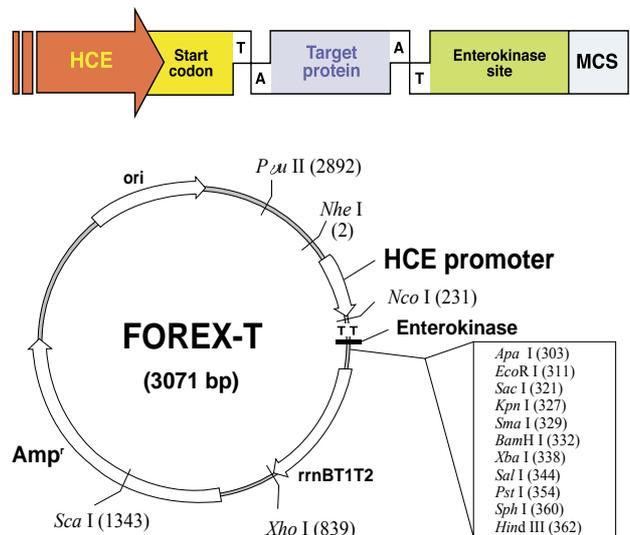
FOREX-T vector

[Full ORF Expression T-vector]

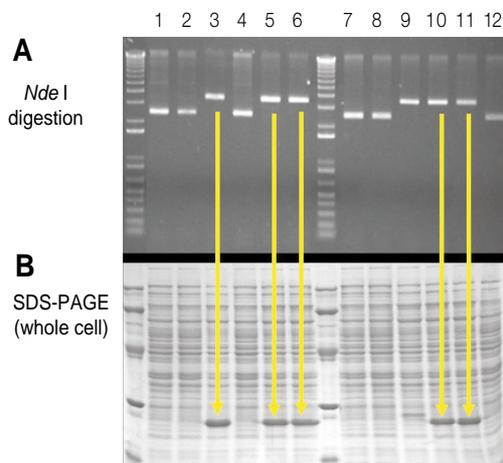
TaKaRa Taq™, TaKaRa Ex Taq™, TaKaRa LA Taq™, TaKaRa Z-Taq™ 사용가능

▲ FOREX-T vector는..

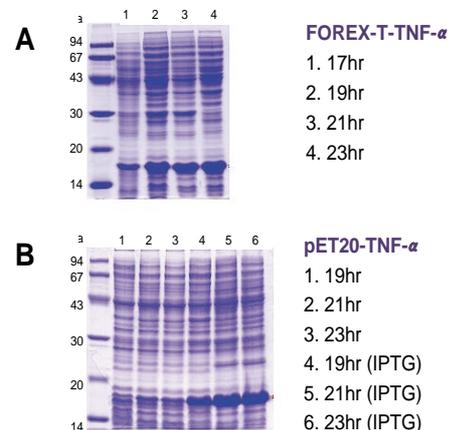
- PCR 산물을 단 한번의 T-vector cloning 으로 발현 용 plasmid 구축
- 높은 T-vector cloning 효율
- 항시적 고발현 promoter 사용
 - 유도물질 없이 대장균에서 고발현
- 5' -primer가 ATG로 시작되었을 경우 정방향 cloning시 *Nde* I 제한효소 site 생성
- Enterokinase cleavage site 함유
- Genome 정보 이용 초고속 ORF 유전자 발현에 최적



▲ FOREX-T vector의 Cloning 효율과 발현 비교



FOREX-T vector를 이용한 T-vector cloning 효율과 발현



FOREX-T vector 발현 시스템과 pET 발현 시스템의 TNF-α 발현 비교