

신세포암종의 최신 지견

고대의대 병리학교실 원남희

신장에서 발생하는 암종은 85%~90%가 요세관 세포 기원의 신세포암종이며, 이외에 어린이에서 잘 생기는 윌름즈 종양과 요로상피에서 생기는 요로상피암이 있다. 이중 신세포암종은 전체 장기 암종 3%를 차지하고, 점차 증가되는 추세에 있으며 주로 남성에서 호발하여, 남녀의 발생비가 3:1이며, 60세~70세의 비교적 나이든 사람에서 발생한다는 일반적 특성을 갖는다. 미국에서는 매년 3만 명이 신세포 암으로 진단받고 이중 1/3~1/2은 사망한다. 흥미롭게도 신세포암종은 몇가지 중요한 특징이 있다. 즉 증상이 전혀 없이 발견된 경우라도 약 25%에서는 이미 폐, 골, 뇌 등으로 전이가 있으며, 또 수년 동안 서서히 자라다가 갑자기 폭발적으로 커지면서 전이하거나, 전이가 되었다더라도 이 부위를 제거하면 원발성 부위도 소멸된다거나 또는 아무런 치유 없이 자연 소멸되기도 하는 특성을 갖고 있다.

전통 병리학에서는 암종의 분류는 헤마톡시린과 에오진에 염색된 암세포의 형태학적 특징을 분석하여 분류하고, 이 분류법을 토대로 환자의 예후나 치료에 대한 반응 등을 연구 추적하여 왔고, 지금도 그 방법은 여전히 유효하다.

그러나 최근 형태의 변화는 유전자가 지배한다는 것이 확실시 되면서 신세포암의 분류에도 많은 변화가 있었다. 즉 Kovacs 등, Stokel 등에 의해 암세포 염색체의 특징적 변화에 따라서 독자적인 형태를 취할 뿐만 아니라, 종양의 예후와 같은 생물학적 특성이 다르다는 것을 밝혀낸 것이다. 즉 3번 염색체 (3p14-3p26)의 일부가 소실되거나 (98%), 비균형적 염색체 전위가 있는 것은 투명 세포유형 (clear cell type)이며, 3번 염색체와는 아무 상관없이 7번, 12번, 16번, 17번, 20번 삼 염색체 (trisomy)와, Y염색체의 소실과 X:1전위(t(X,1))가 나타나는 호기성 유두형 (chromophil papillary type), 그리고 다수의 염색체 소실과 저이배체 (hypo-diploidy)를 보이는 혐색소 유형 (chromophobe type)으로 나눈다. 투명 세포유형에서 나타나는 3p25.3은 VHL유전자가 있는 곳으로 Von Hippel-Lindau 질환에서 다발성 신세포암이 발생하는 것으로 미루어, 가족형이나 산발형 모두에서 이 유전자가 작용함을 알 수 있다. 또한 7번 염색체에는 proto-oncogene인 MET유전자가 포함된 곳으로 MET유전자의 tyrosine kinase의 돌연변이가 원인이다. 이렇게 유전자적 특징에 따른 형태학적 특징이 뚜렷이 구별될 뿐만 아니라, 발생 빈도, 전이 등의 생물학적 특성이 다르다는 것이 밝혀졌으며, 또한 각기 발현되는 단백질에도 차이가 있어, 요세관 세포 중 서로 부위의 세포에서 기원한다는 사실도 알게 되었다.

한편 1995년부터는 유전공학과 기계 및 전자공학의 접목으로 유전자 분

석에 획기적인 방법이 제시되었는데, complementary DNA microarray를 이용한 high-throughput technique의 발달로 대량의 유전자 검출이 가능하게 된 것이다. 이후 8년 뒤인 2003년 Higgins 등은 각 유형의 신세포암종 조직에서 cDNA microarray를 이용한 결과 각 유형별로 서로 다른 유전자 cluster가 표현됨을 증명하였다. 뿐만 아니라 이 연구에서 혐색소형 신세포암종 (chromophobe type)과 양성 종양인 호산성세포종 (oncocytoma)이 유사한 유전자 cluster를 나타낸다는 재미있는 사실을 발견함에 따라, 그동안 이 두 종양이 동일 세포 기원이며, 유사한 생물학적 특성을 나타낸다는 연구들을 유전자 수준에서 뒷받침하게 되었다. 이렇듯 수 만개의 유전자를 로봇에 의해 깔아놓은 cDNA microarray를 이용하면 인체의 각종 질환에서 환자의 조직 또는 세포를 이용해서 대량의 유전자를 쉽고 빠르게 검출할 수 있게 되면 질병의 발생 및 진행을 유전자적 수준에서 이해하고 분류할 수 있을 것이며 치료제의 개발 역시 빠른 속도로 이루어 질 것이다.

그 실례로 최근에 KIT tyrosine kinase가 과표현 되는 종양인 위관관 기질 종양의 치료제로 tyrosine kinase inhibitor인 imatinib mesylate (glivec®, Novartis)가 뚜렷한 효과를 보인다고 한다. 그런데 최근 cDNA microarray 연구에서 신세포암종 중 혐색소 유형에서 KIT 유전자의 과발현이 발견되었다. 이는 향후 단백질 수준에서의 검증을 거친 후 imatinib를 치료제로 활용할 수도 있는 가능성을 보여준 것이다. 이러한 시도들은 유전자적 특징에 따른 치료나 조기 진단과 관련해서 급진전을 이룰 것으로 생각된다. 앞에서 언급했듯이 신세포암종의 특이한 생물학적 특징들은 결국 유전자 발현 양상의 차이와 관련이 있을 것이다. Boer 등은 31500개의 cDNA array를 이용해서 동일한 환자에서 신장암 조직과 정상조직에서 구별되어 나타나는 유전자 1,738개를 찾았으며, 이를 분석한 결과 세포의 접착, 신호전달, nucleotide대사에 관여하는 유전자는 과표현되고, small molecule transport, 이온 항상성, 산소와 라디칼대사에 관여하는 유전자는 down-regulation 된다는 것을 찾았다. 그러나 종양 세포에는 중간엽기원의 혈관세포나 기질세포 등이 함께 증식하므로 이와 관련된 유전자의 과표현과, 침윤된 염종세포 및 면역세포와 관련된 유전자, 항원을 표현하는데 관련된 유전자를 구별하는 것이 중요하며, 이미 발표된 VHL, vascular endothelial growth factor (VEGF), epidermal growth factor (EGFR) transforming growth factor-alpha (TGF-A), c-myc proto-oncogene, vimentin 등이 candidate gene으로 밝혀졌지만 아직 신세포암종 특이 유전자의 발굴에는 미치지 못했다. 신세포암종의 또 하나의 문제

는 어떤 화학치료요법이나 방사선 치료에 반응하지 않는다는 점이다. 다만 약 10%~20% 정도에서 IL-2 나 IF-alpha를 투여하는 면역치료에 반응하는 편이다. 신세포암종은 흑색종에서처럼 저절로 종양이 없어지기도 한다. 이는 종양 관련 항원이 있을 것으로 시사하는 소견으로, 따라서 이에 반응하는 면역세포가 있을 것으로 추정할 수 있다. 따라서 cDNA microarray를 이용해서 환자 개개인이 갖고 있는 종양 관련 특이 항원 (또는 그와 관련된 epitope)을 찾아내는 연구가 진행 중이며, 이렇게 찾아낸 종양특이항원과 환자의 혈액세포에서 이에 특이하게 반응하는 cytotoxic T세포를 찾아 이를 치료에 이용하기위한 연구가 진행되고 있다. 이러한 연구들은 학문적으로는 신세포암의 발생과 진행에 관여하는 유전자들을 밝혀내어 기전을 이해하기 위함이며, 궁극적으로는 조직학적으로는 확인할 수 없는 암 발생의 초기단계에서 일어나는 유전자변화를 통해 조기진단을 가능케 하고, 또한 암세포의 생물학적 특징을 유전자 수준에서 진단하고 진행 상태를 예측하고, 각자에 맞는 유전자 치료법을 개발하는 데 목적이 있다.

대망의 2003년 4월 인간 유전자가 완벽하게 해독되는 쾌거를 이루고, post-genome시대를 맞았다. 유전자를 해독하면 모든 것을 밝힐 줄 알았던 꿈은 깨어지고, 한 개의 세포가 10만개 이상의 단백질을 갖고 있으며, 이는 한 개의 유전자에서 유전암호 해독 후 일어나는 modification에 의해 10~15개의 서로 다른 단백질을 만든다는 사실이 밝혀졌다. 따라서 유전체 변화를 밝히는 것만으로 질환을 이해하기가 불충분하게 되었고, 단백질 변화를 연구하는 것이 중요하게 되었다.

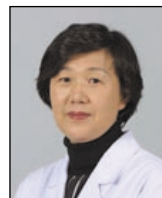
급속도로 발전하고 있는 단백질체학 (proteomics)은 2-전기영동법과 liquid chromatography/mass chromatography를 이용하여 다량의 단백질의 양상을 육안으로 확인할 수 있거나, 정량적 분석을 할 수 있게 되었다. 신세포암종에서도 단백질 연구가 시도 되었으나, 아직 미미하다. 이는 신장을 구성하고 있는 다양한 구조 (사구체, 요세관, 간질, 혈관 등)가 갖고 있는 단백질의 다양성이 정상조직과 암조직간의 차이를 비교 분석하는데 한계가 있었기 때문이며, 이와 더불어 단백질 연구에는 고가의 장비와 인력, 경비가 필요하기 때문에 연구자가 쉽게 approach할 수 없기 때문이다. 또한 유전체 연구와 마찬가지로 다량의 단백질을 검출하는 high throughput 기법이므로, 검출된 다량의 결과를 정보화하고 분석하고 해석하는 생물정보학 (bioinformatics)의 발달이 필수적으로 따라야 하기 때문이다.

근래에 단백질의 기능은 단백질인산화와 관련이 있으므로 발굴된 단백질체가 기능을 할 것이냐에 대한 연구를 함께 하기위하여 Pattern 등에 의해 형광물질을 부착한 multiplexed proteomics를 개발하고 있다. 이렇듯이 빠르게 발전하고 있는 의생물학은 멀지 않은 장래에 유전자 수준 또는 단백질 분자의 변화에 따른 질병분류를 시도할 것이며, 이와 동시에 진단하고 치료하는 데에도 개인의 유전자정보에 근거하여 맞춤 치료가 이루어 질 것을 믿어 의심치 않는다.

References

1. Godley PA, Escobar MA: Renal cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 1998;**10**:261-265
2. McLaughlin JK, Lipworth L. Epidermiologic aspects of renal cell cancer. *Semin Oncol* 2000;**27**:115-123
3. Kovacs G, Akhtar M, Beckwith BJ *et al*. The Heidelberg classification of renal cell tumors. *J Pathol* 1997;**183**:131-133

4. Stokel S, Eble JN, Adlakha K *et al*. Classification of renal cell carcinoma: workgroup no.1; Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997;**80**:987-989
5. Schena, M., Shalon, D., Davis, RW., Brown, PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995;**270**:467-470
6. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD *et al*. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *NEJM* 2002;**347**:472-480
7. Molecular subclassification of kidney tumors and the discovery of new diagnostic markers. Takahashi M, Yang XJ, Sugimura J *et al* *Oncogene* 2003;**22**:6810-6818
8. Higgins JPT, Shinghal R, Gill H, *et al*. Gene expression patterns in renal cell carcinoma assessed by complementary microarray. *Am J pathol* 2003;**162**:925-932
9. Yamazaki K, Sakamoto M, Ohta T, Kanai Y, Ohki M, Hirohashi S. Overexpression of KIT in chromophobe renal cell carcinoma. *Oncogene*. 2003;**22**(6):847-852.
10. Vasselli JR, Shih JH, Lyengar SR *et al* Predicting survival in patients with metastatic kidney cancer by gene-expression profiling in the primary tumor. *PNAS* 2003;**100**:6958-6963
11. Patton WF, Schulenberg B, Steinberg TH. Two-dimensional gel electrophoresis; better than a poke in the ICAT. *Curr Opin Biotechnol*. 2002;**4**:321-328.
12. Boer JM, Huber WK, Sultmann H. *et al* Identification and classification of differentially expressed genes in renal cell carcinoma by expression profiling on a global human 31,500-element cDNA array. *Genome Res*. 2001;**11**:1861-1870
13. Fountoulakis, M., Berndt, P. Langen H, Suter, L. The rat liver mitochondrial proteins. *Electrophoresis* 2002;**23**: 311-328
14. Fountoulakis, M., Berndt, P. Juranville JF, Langen, H, Suter, L. Two-dimensional database of mouse liver proteins. *An update Electrophoresis* 2001;**22**:1747-1763



원 남 희 (nhw@korea.ac.kr)
 소속 : 고려대학교 의과대학 병리학교실

- 1980. 3 - 1984. 3 경희대학교 의과대학 병리학교실 (전임강사 및 조교수)
- 1984. 4 - 1992. 8 고려대학교 의과대학 임상병리학교실 (조교수 및 부교수)
- 1991. 1 - 1991.12 Harbor-UCLA, 신장병리 (Research fellow)
- 1992. 3 - 1999. 2 고려의대 구로병원 병리과 (과장 및 병리학교실 교수)
- 1996.10 - 1998. 9 대한병리학회지 (편집장)
- 1999. 3 - 현재 고려의대 병리학교실 (교수)
- 1998. 3 - 현재 고려대학 부속 신장연구소 (연구부장)

Cosmid Library 제작 서비스

원하는 유전자가 손안에 있습니다.

미생물, 동물·식물 등의 세포, 조직의 게놈 DNA로 고효율의 Cosmid Library를 제작하여 드립니다.

■특징

oriV high copy origin of replication.

적당한 길이로 insert 조절.

사용목적에 따라 single copy와 high copy로의 전환이 용이.

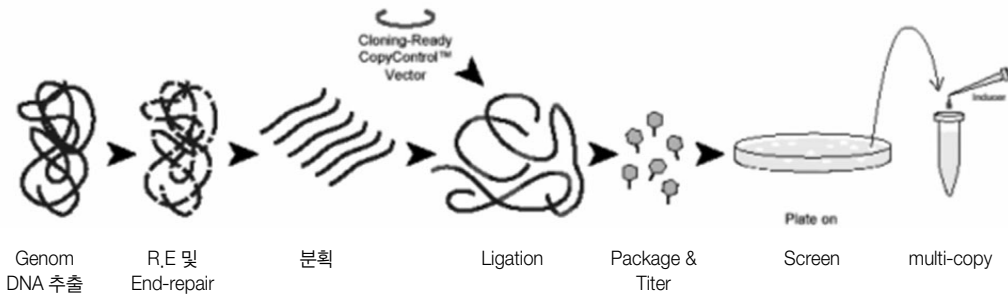


Clone at Single Copy
for insert stability
and cloning of toxic
expressed DNA

Induce to High Copy
for higher yields
and purity of DNA

Library 제작의 기술적 확립으로 높은 titer 형성과 최고의 품질을 보증한다.

■제작 방법



■시료 준비

세포의 경우는 10^8 개 이상, 조직의 경우는 2g 이상, genome DNA의 경우는 200 μ g 이상 필요합니다.

세포나 조직은 액체 질소로 동결한 상태 (dry ice)로 배송바라며, genome DNA는 TE Buffer에 용해하여 4°C로 운송바랍니다.

■사용 Vector

pCC1 Vector, 그 외의 벡터의 경우는 별도 문의 바랍니다.

■가격

별도 문의

TaKaRa's DNA chip

■ IntelliGene® Series

IntelliGene® Human Cancer CHIP Version 4.0

IntelliGene Human Cytokine CHIP Version 1.0

IntelliGene® Human Select DNA Fragment Set Version 2.0

IntelliGene® Human Hematopoietic Stem Cell CHIP Ver. 1.0

IntelliGene® II Human CHIP 1

IntelliGene® II Mouse CHIP

IntelliGene® Cyano CHIP Ver. 2.0

IntelliGene® II Arabidopsis CHIP 1

IntelliGene® II Arabidopsis CHIP 2

IntelliGene® *E.coli* CHIP Ver. 2.0

IntelliGene® Rat Toxicology CHIP Ver. 1.0

IntelliGene® TestArray Ver. 4.0

■ IntelliGene® Dual chip Series

IntelliGene® Human Cancer CHIP Dual (Ver.4.0)

IntelliGene® Human Cytokine CHIP Dual (Ver.3.1)

■ Functional DNA chip Series

Functional DNA chip Human Brain Ver.1.0

Functional DNA chip Rat Toxicology Ver.1.0

