

게 일어남으로써 야기된다.³ DeLarco와 Todaro⁴는 1978년 retrovirus에 의해 전환된 (transformed) 섬유모세포 배양시 세포외 배지에서 형질전환을 발현 시킬 수 있는 polypeptide가 있음을 발견하고 이를 형질전환 성장인자 (transforming growth factor; TGF)라고 하였다.⁵⁻⁸

Anzano등⁹은 그 인자를 두개의 polypeptide, 즉 7 KDa의 단일 사슬로 표피 성장인자 수용체에 반응하는 TGF- α 와 독특한 수용체에 반응하는 25KDa의 TGF- β 로 분류하였다. TGF- β 는 다양한 기능의 polypeptide로 12.5KDa의 단량체 (monomer)가 이황화물 결합 (disulfide bond)에 의해서 연결된 구조로 되어 있다.¹⁰ TGF- β 과에는 TGF- β 1, β 2, β 3, β 4, β 5군의 유전자가 있는데 이들 서로간에 64~82%의 유전자를 공유하며 포유류와 조류에서는 97% 이상이 동일한 유전자를 갖고 있음을 보고하고 있다.¹¹ 이중 TGF- β 1을 돼지 혈소판에서 분리한 후⁵ 사람 태반과⁶ 소의 신장⁸에서 과량 추출하였으며 사람의 간, 신장, 뇌, 그리고 근육 등 여러 정상 세포와 여러 암세포에서도 발견되었다.⁷ 이 polypeptide가 처음에는 섬유모세포의 형질 전환을 시키는 것으로 밝혀졌지만 최근의 연구에는 TGF- β 는 많은 정상 세포와 암세포에서 증식과 분화에 관여하는 것으로 알려졌다.^{12,13} 더구나 TGF- β 1은 정상 상피 세포와, 대장암,¹⁵ 유방암^{16,17} 등과 같은 암세포에서 세포의 성장을 억제하는 것으로 연구되었다.

또한 TGF- β 1은 섬유모세포, 혈관 내피 세포, 림프구 등에 작용하여 세포외 기질 (extracellular matrix)의 축적과 혈관 신생을 유도하고 숙주의 면역 기능을 떨어뜨리는 등의 작용이 암의 진행에도 영향을 줄 수 있을 것으로 예상된다. 세포 배양 실험을 통한 망막 세포종,¹⁸ A 549 폐암 세포계¹⁹에서 TGF- β 가 암을 유발한다는 보고가 있고 일부에서는 암을 유발하기보다 암의 증식과 침윤을 유발하게 하므로 암의 악성도와 예후를 예견하는 지표로 보고되기도 하였다.²⁰

TGF- β 1은 독특한 수용체와 결합하여 그 기능을 나타내는 것으로 알려져 있고 TGF- β 수용체는 53KDa과 70-100KDa의 당단백질 (수용체 I, II)과 수용체 III (막 proteoglycan)으로 알려져 있다.²¹ 이중 수용체 I과 II는 대부분의 정상 세포에서 표현되고 수용체 III에 비해서 TGF- β 에 대해서 더 높은 친화력을 가지고 수용체 I과 II의 복합물이 TGF- β 기능의 신호 전달에 필수적이며 특히 TGF- β 가 증식 억제 기능을 나타내는 데는 수용체 I이 관련되어 있다고 보고 되었다.²²⁻²⁴

그 동안 TGF- β 에 대한 연구는 대부분 조직배양 세포를 대상으로 시행되었고 인체 암조직에 대한 연구는 많지 않지만 암세포에서 TGF- β 와 그에 대한 mRNA가 증가된 것으로 나타났다.²⁵⁻²⁷ 따라서 증식 억제 물질인 TGF- β 가 암세포에서 증가된 것은 TGF- β 가 어떤 방법으로든 그 기능을 소실했다고 생각해 볼 수 있고 기능을 나타내는데는 여러 단계가 필요하지만 그중 수용

체의 감소를 추정해 볼 수 있다.

따라서 저자들은 인체 폐암 조직에서 TGF- β 1의 면역조직화학 염색 및 mRNA측정을 시행하여 종양 세포 내에서 증식 억제 기능을 나타내는 것으로 알려진 TGF- β 1의 생성과 표현을 관찰 하여 정상 부위와 비교하였고 TGF- β 의 증식 억제 기능에 필수적인 TGF- β 수용체 I의 면역 조직화학 염색도 시행하여 TGF- β 1과의 관계를 알아보려고 하였다. 이를 다시, 림프절 전이, 종양 크기, 종양의 현미경적 분화 정도와 비교, 분석하여 TGF- β 1 및 TGF- β 수용체 I이 종양 발생과 예후에 미치는 영향을 알아보려고 한다.

재료 및 방법

1. 재 료

1991년 3월부터 1996년 12월까지 고려대 의과 부속 대학 안암 및 구로 병원에서 시행한 폐종양 환자의 폐 절제술 표본의 Hematoxylin-Eosin 염색 표본을 재검색하여 출혈이나 괴사, 염증 등 이차적인 변화가 심하지 않고 보존 상태가 좋은 43예를 선택하였다. 이들 43예의 조직 표본 재료중 파라핀 포매 조직의 보관 상태가 양호한 예를 선택하여 현미경 검색시 종양과 정상 조직이 같이 포함된 슬라이드를 관찰 재료로 선택하였다.

2. 방 법

1) 병리 기록 재검토: 환자의 병리 기록을 재검토하여 종양의 크기, 림프절 전이 여부, 원격 전이 여부를 확인하였다. 종양의 크기는 WHO에서 정한 폐암 병기의 기준이 되는 3 cm를 사용하여 그 이하와 3 cm 보다 큰 종양으로 구분하였다.

2) 면역조직화학 염색:

(1) 일차 항체; Santa Cruz Biotechnology 에서 공급된 TGF- β 1 (v) (cat # sc-398)을 사용하였다. TGF- β 1은 사람에서 추출한 TGF- β 1의 전구체중 카르복시 종단 (carboxy terminus) 328-353 아미노산을 토끼에서 면역시켜 얻은 polyclonal rabbit antibody 이고 본 실험에 사용된 TGF- β 수용체 I은 TGF- β 수용체 I의 2가지 종류 즉 ALK-5 와 TSR-1중 사람의 ALK-5의 전구체중 158-179 아미노산에 대한 polyclonal rabbit antibody이다.

(2) 일차 항체의 적정 역가 평가를 위한 예비 실험; TGF- β 1과 TGF- β 수용체 I에 양성인 자궁 경부 2예와 본 실험의 2예를 선택하여 일차 항체를 증류수로 연속 희석하여 1:50, 1:100, 1:200 을 사용하고 각각에 대하여 단백 분해 효소, 극초 단파, 가압 멸균기 등을 이용하여 배경이 가장 깨끗하고 염색이 확실하게 되는 것을 선택한 결과 1:100으로 희석하고 가압멸균기를 사용하는 것으로 결정하였다.

(3) 면역조직화학 염색; 조직 절편을 항온기에서 56~58°C로 30분간 가온시킨 후 실온에서 탈파라핀과 탈

수를 시켰다. 내인성 과산화 효소 활성을 억제시키기 위하여 methanol에 0.3% 과산화수소를 사용하여 30분간 처리한 후 5분동안 phosphate 완충액 (pH 7.4)에 2~3회 세척하고 가압멸균기 121°C에서 10분간 처리하고 다시 phosphate 완충액 (pH 7.4)에서 5분씩 3회 세척하였다. 정상 양혈청 (Zymed Kit)으로 처리하여 실온에서 20분간 반응시켰다.

일차 항체 TGF- β 1과 TGF- β 수용체 I을 1:100 으로 희석하여 하룻밤 4°C에서 반응시켰으며 음성 대조군으로는 일차 항체 대신 양 혈청을 처치하였다.

Goat anti-rabbit, Biotin 결합 이차 항체를 20분, Avidin-Biotin 복합체를 15분씩 각각 반응시켰다. 과산화수소 (peroxidase)의 기질로서 AEC chromogen solution (3-amino-9 ethyl-carbazole in N, N- dimethyl formamide)에 20분간 발색 반응 거쳐 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색 후 GVA mount (Zymed)로 봉입하여 광학 현미경 하에서 관찰하였다.

(4) 면역조직화학 염색 결과의 판정; 염색된 슬라이드는 다른 종양에서 oncogene 등의 염색을 판정할 때 사용하는 방법을 변형시켜서 판독하였다.²⁸ 먼저 염색의 강도를 3 단계로 나누어서 0점; 음성, 1점; 100배 시야에서 확실하게 양성으로 인지할 수 있는 경우, 2점; 40 배 시야에서 확실하게 양성으로 인지할 수 있는 경우로 점수화하였다. 양성 염색 부위는 4 단계로 나누어서 0점; 음성, 1점; 3분의 1 이하로 염색된 경우, 2점; 3분의 1 이상 3분의 2 이하로 염색된 경우, 3점; 3분의 2 이상 염색된 경우로 점수화 하였다.

염색 강도 점수와 염색 부위 점수를 더하여 염색 점수 (0점~5점)로 하였다.

이들 염색 점수를 암세포, 정상 부위로 나누어 관찰하고 정상 부위를 다시 폐 상피 세포(pneumocyte) 와 기관지 상피 세포로 나누어 관찰하여 각각의 염색 점수를 주었다.

3) TGF- β 1에 대한 역전사 중합효소연쇄반응법:

(1) mRNA 추출; 조직 1 mg당 phosphate buffered saline에 5배 비율로 섞은 후 액체 질소에 동결시킨 신선한 조직을 polytron 조직 균질기로 얼음 위에서 균질화시킨 후 5분간 1500 g에서 원심 분리하여 조직의 덩어리를 제거하였다. 이후에 5000 g에서 다시 원심분리

하여 상층만을 얻었다. Polyallomey 튜브에 cesium chloride로 cushion을 만들고 그 위에 상층액을 얹어 놓고 4,000 rpm으로 12시간 원심분리시켰다. 상층액을 버리고 1시간 가량 튜브를 실온에서 건조시킨 다음 200 ml의 TES 완충액을 가하여 용해시켰다. 400 μ l의 phenolchloroform 1:1 용액을 각각의 튜브에 넣고 2분간 실온에서 원침하고 상층액을 취하여 새 튜브에 옮기고 40 μ l의 3M sodium acetate와 1 ml의 100% 에탄올을 첨가하여 -20°C에서 12시간이상 방치하였다. 4°C에서 10분간 원침하여 RNA결정을 얻은 후 70% 에탄올로 세척하고 진공 건조시켰다. 건조된 RNA 압착 결정은 DEPC처리된 탈이온수소를 넣어 녹인 후 분광 광도계로 광학 밀도 (Optical density)를 재어서 농도를 측정하고 180°C에 보관하여 사용하였다.

(2) cDNA 합성; 분리한 RNA 2 μ l에 5mM dNTP 8 μ l, 5x Buffer, Reverse transcriptase 2 Unit 1 ml을 가해 잘 섞은 후 42°C에서 45분간 반응시켜 cDNA를 합성하고 90°C에서 5분간 반응시켜 합성을 중지 시켰다.

(3) 중합효소연쇄반응; 합성한 cDNA 2 ml에 2mM dNTP 1 ml, primer 10 pmol, 10x Buffer 10 μ l, Taq polymerase (Promega, USQ) 2.5 Unit 및 증류수를 가하여 혼합하였다. 중합효소연쇄반응 조건은 95°C에서 5분간 denaturation시킨 후 94°C에서 1분간 denaturation, 57°C에서 25초간 annealing, 72°C에서 1분간 반응을 35회 반복하였다. 증폭된 DNA중 1 ml를 취해 2% Agarose gel상에서 전기영동한 후 densitometer를 사용하여 비교 정량 하였다. 정량 분석의 기준은 β -actin에 대한 중합효소반응을 동시에 실시하여 이를 기준으로 비교 분석하였다. 사용한 TGF- β 1과 β -actin의 primer에 대한 염기 배열 순서 및 중합효소연쇄반응 산물의 크기는 Table 1과 같다.

3. 통계 처리 방법

본 연구에 포함된 각 지수는 평균±표준편차로 표시하였으며 통계학적 처리는 SAS(Statistical Analysis System)의 personal computer용 Version 6.03을 이용하였다.

TGF- β 1 mRNA의 상대적 비교 정량 결과 -, +, ++, +++는 0, 1, 2, 3으로 숫자로 표시하여 통계 처리하였다.

Table 1. The sequence of TGF- β 1 and β -actin

Primer	Sequence	Products of PCR*
TGF- β 1	Forward : 5'-AAATGGATACACCGAACCCAA-3' Reverse : 5'-GCTGCATTTGCAAGACTTTAC-3'	317 bp
β -actin	Forward : 5'-GACGGGGTCCACCCACACTGTGCC-3' Reverse : 5'-CTAGAACCATTGGGGTGGACGATG-3'	661 bp

*PCR: polymerase chain reaction

SAS/STAT의 분산 분석 (Kruskal-Wallis test), Spearman correlation 분석, Fisher's exact test를 이용하여 p값이 0.05 이하일 경우만 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 병리학적 소견

대상 43예의 병리 기록을 재검토하고 슬라이드를 재검토하여 본 결과 병리 조직학적으로 종양 43예중 25예는 편평 상피 세포암종이고, 13예는 선암종, 2예는 선편평상피암종이었고 미분화암종, 소세포암종, 신경내분비 세포암종이 각각 1예씩이었다. 이들을 다시 세포의 분화상태에 따라 분류하여 보았을 때 고분화 (well-differentiated) 암종이 6예, 중등도 분화 (moderately differentiated) 암종이 28예, 저분화 (poorly differentiated)

Table 2. Immunohistochemical staining for TGF-β 1 and TGF-β RI in various cells of the normal lungs

	TGF-β 1	TGF-β RI
Bronchial epithelium	++	++
Bronchial gland	++	++
Bronchial smooth muscle	+	+
Alveolar epithelium	-	++
Alveolar macrophage	++	++
Vascular endothelium	+	+
Vascular smooth muscle	+	+
Vascular elastic layer	+	+

Table 3. Staining score of TGF-β 1, TGF-β RI and level of TGF-β 1 mRNA in squamous cell carcinoma and normal components of the lung

Case	Diff	Meta	Size (cm)	TGF-β 1				TGF-β RI					TGF-β 1 mRNA	
				Tumor	BE	AE	NP	Tumor	BE	AE	NP	Fib	T	NP
1	Well		4	4	0	0	2	4	5	5	5	5	++	-
2	Well	+	4.5	3	3	0	3	4	4	4	4	5	+	
3	Mod	-	8	5	3	0	3	3	3	4	4	4	+	
4	Mod	-	7	4	4	0	3	4	3	4	4	4	-	
5	Mod	-	3	4	3	0	2	4	3	3	3	3	+++	
6	Mod	-	5	4	2	0	2	5	5	5	5	5	-	
7	Mod	-	4	4	5	3	3	3	5	4	4	4	+++	++
8	Mod	-	4	3	2	0	2	4	4	4	4	5	++	++
9	Mod	-	2	3	0	0	2	4	5	5	5	5	+	+
10	Mod	-	3	4	4	0	3	3	4	4	4	4	+++	-
11	Mod	-	3	4	5	0	2	4	5	5	5	5	++	-
12	Mod	-	15	4	4	2	3	3	2	4	4	4	+	+
13	Mod	+	6	4	3	0	2	4	5	4	4	4	+	
14	Mod	+	7.5	4	4	2	3	4	5	5	5	5	+++	
15	Mod	+	4.5	4	4	0	2	5	5	5	5	5	-	
16	Mod	+	5	5	0	0	2	4	4	4	4	4	+	
17	Mod	+	11	4	2	0	0	4	5	4	4	3	-	
18	Mod	+	1.5	5	3	0	2	4	4	4	4	3	++	
19	Mod	+	6	3	2	0	2	3	4	4	3	2	+++	
20	Mod	+	4.5	3	4	0	2	4	5	4	3	2	++	
21	Mod	+	6	3	2	0	2	3	4	4	3	2	+++	
22	Mod	+	4	4	3	0	3	3	4	5	5	5	-	-
23	Mod	-	3	4	4	0	3	3	4	4	4	4	-	-
24	Mod	+	5	4	4	2	3	4	3	5	4	4	++	-
25	Poor	+	6	3	2	0	2	3	4	4	4	5	-	

Diff: differentiation, Meta: metastasis, BE: bronchial epithelium, AE: alveolar epithelium, NP: normal parenchyme, Fib: fibroblast, Mod: moderately differentiated, T: tumor

암종이 9예였다. 림프절 전이가 있는 예가 편평 상피 세포암 25예중 14예 (56%) 였고 고분화 암종이 4예 (31%), 중등도 분화암종이 5예 (38%), 저분화암종이 4예 (31%), 중등도 분화암종이 5예 (38%), 저분화암종이 4예 (31%)였다 (Table 2, 3, 4).

2. TGF-β1과 TGF-β 수용체I의 전반적인 염색양상 (Table 2)

TGF-β1은 폐의 정상 조직에서 기관지 상피 세포에

중등도로 염색되었고 점막하 선 상피 에서도 부분적으로 양성 반응을 보였다. 폐포 상피에는 대부분 염색되지 않았으며 대식 세포에는 강하게 염색되어서 같은 슬라이드에서 양성 대조 세포로 사용할 수 있었고 섬유성 기질과 섬유모세포에는 거의 염색되지 않았다. 고배율 관찰시 양성인 세포들은 대부분 세포질에 과립상으로 염색되었고 핵내에는 염색되지 않았으며 술잔 세포 (goblet cell)와 선 상피 세포의 공포내에 강하게 염색되었다. 종괴에서는 양성인 경우 거의 모든 세포가 미만성

Table 4. Staining score of TGF-β1, TGF-βRI and level of TGF-β1 mRNA in adenocarcinoma and normal components of the lung

Case	Diff	Meta	Size	TGF-β1				TGF-βRI					TGF-β1 mRNA	
				Tumor	BE	AE	NP	Tumor	BE	AE	NP	Fib	T	NP
1	Well	-	2	5	4	0	2	3	4	5	5	5	+++	
2	Well	-	3	5	3	2	2	3	4	4	4	4	-	
3	Well	-	5	4	4	2	2	3	4	5	4	5	++	
4	Well	+	3.5	3	3	0	2	4	4	5	4	5	++	++
5	Mod	-	2	4	3	2	3	4	4	4	4	4	-	
6	Mod	-	4	3	2	3	3	3	5	5	5	5	+	
7	Mod	+	7	5	4	0	2	4	5	5	5	5	+	
8	Mod	+	2.5	3	4	0	3	4	3	5	4	5	++	
9	Mod	+	3.5	5	3	0	2	4	4	5	4	5	-	
10	Poor	-	3	4	3	0	2	3	3	4	4	4	-	-
11	Poor	-	5	3	2	1	2	4	4	4	4	4	+++	
12	Poor	+	3	4	3	1	2	4	4	5	5	4	+++	
13	Poor	+	5	3	4	2	2	4	4	4	4	4	-	

Diff: differentiation, Meta: metastasis, BE: bronchial epithelium, AE: alveolar epithelium, NP: normal parenchyme
Fib: fibroblast, Mod: moderately differentiated, T: tumor

Table 5. Staining score of TGF-β1, TGF-βRI and level of TGF-β1 mRNA in various types of tumor and normal components of the lung

Type	Tumor			TGF-β1				TGF-βRI					TGF-β1 mRNA	
	Diff	Meta	Size (cm)	Tumor	BE	AE	NP	Tumor	BE	AE	NP	Fib	T	NP
Adenosq.	Poor	-	5	5	5	3	3	5	5	5	5	5	+	
Adenosq.	Mod	+	4.5	2	2	0	2	4	4	4	4	2	-	-
Undiff.	Mod	+	5.5	2	0	0	0	3	3	5	4	4	++	
Small.	Poor	+	11	4	2	0	0	4	5	4	4	3	+	
Neuroen.	Poor	-	4	4	3	2	2	4	4	4	4	4	-	+++

Meta: metastasis, BE: bronchial epithelium, AE: alveolar epithelium, NP: normal parenchyme, Diff: differentiation, Adenosq: adenosquamous cell crcinoma, Undiff, Ade: undifferentiated carcinoma with adenocarcinomatous component, Neuro: neuroendocrine carcinoma, Small: small cell carcinoma, Mod: moderately differentiated, T: tumor, NI: not included

으로 균등하게 염색되었다.

혈관의 내피 세포에는 거의 염색되지 않았으며 평활근층이 약하게 염색된 예도 있었고 혈관의 탄력층 (elastic layer)에 염색된 예도 있었다. 대부분의 종양 세포에는 세포질에 과립상으로 염색되었고 (Fig. 1), 신경내분비세포학에서는 세포질이 점상으로 염색되었으며 일부 선암에서 편강쪽 근침부 (apical border)를 따라 염색이 된 예도 있었다 (Fig. 2).

TGF- β 수용체 I은 폐의 정상 조직에서 기관지 세포에 대부분 염색되었고 TGF- β I과 마찬가지로 술산 세포에 특히 강하게 염색되었고 선 상피에서도 부분적으로 염색되었다. 폐포 상피는 대식 세포와 함께 대부분 강하게 염색되었고 섬유성 기질에는 염색되지 않았지만 TGF- β I과는 달리 섬유모세포에 염색되었다. 종양 세포들은 대부분 세포질에 과립상으로 염색되었으나 주

된 폐포 상피 세포보다는 약한 정도로 염색되었고 (Fig. 3, 4), 허내에 양성인 경우도 있었으며 TGF- β I과 마찬가지로 대부분의 종양 세포가 미립상으로 균등하게 염색되었다. 혈관의 내피 세포와 평활근층에도 양성이었다.

3. 폐암과 정상 폐조직에서 TGF- β I과 TGF- β 수용체 I의 염색 정도의 비교

폐암과 같이 포함된 정상 폐 조직을 전체적으로 관찰하였고 이들 정상 폐조직 중 기관지 상피 세포와 폐포 상피에서의 염색 정도를 다시 관찰하였으며 결과는 Table 3, 4, 5와 같다. TGF- β I에서는 폐암의 평균 염색 점수가 3.84로 정상 조직의 평균 2.19보다 높았고 기관지 상피 세포 평균 염색 점수인 3.02와, 폐포 상피 세포 평균 염색 점수인 0.63보다 높았으며 이것은 동세학적

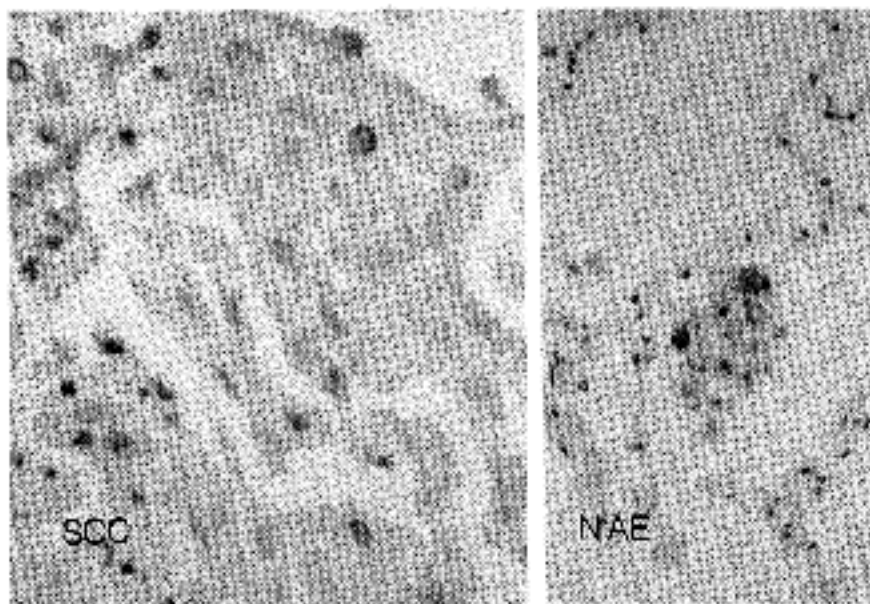


Fig. 1. Squamous cell carcinoma and macrophages are positively stained for TGF- β I, but alveolar epithelial cells are negative.

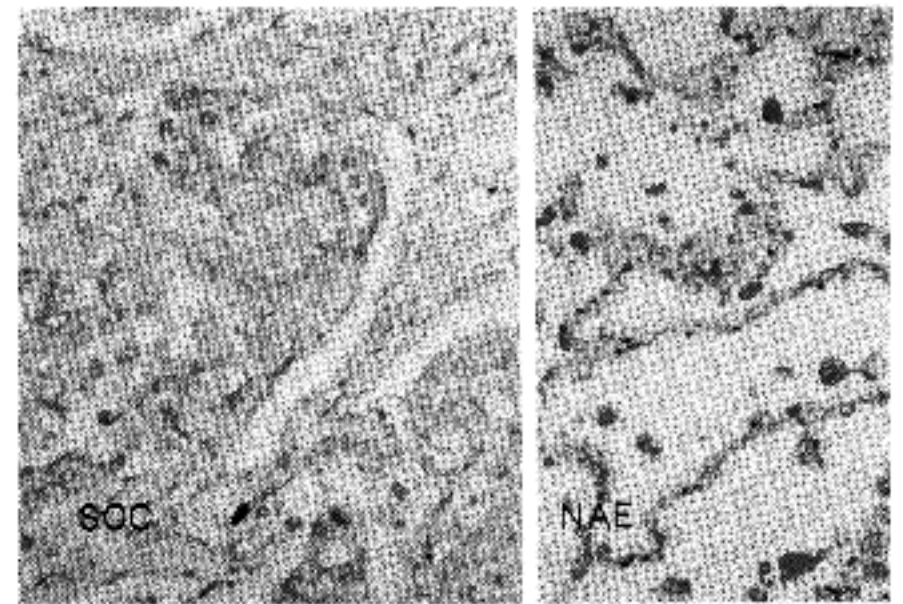


Fig. 3. Squamous cell carcinoma is stained positively for TGF- β RI with decreased staining intensity compared to normal alveolar epithelium.

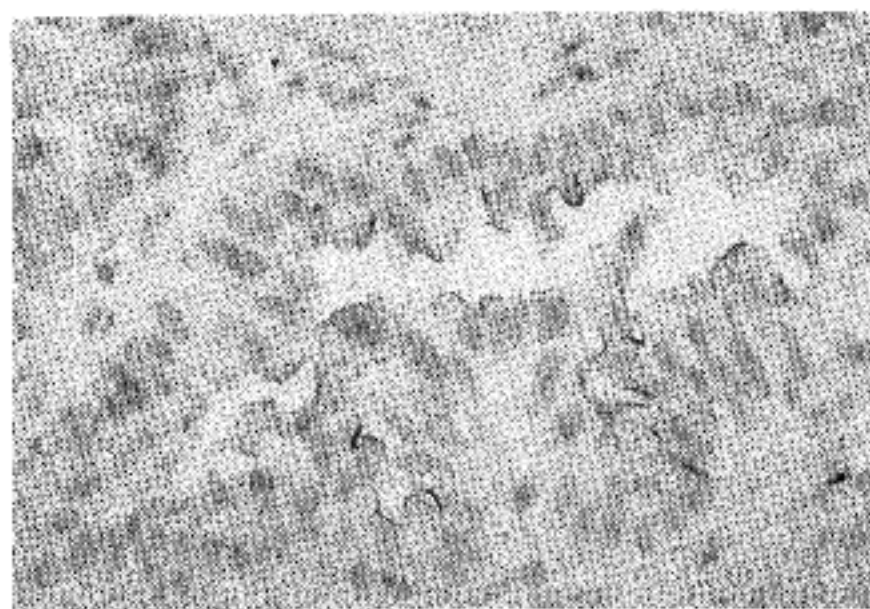


Fig. 2. Some adenocarcinoma shows positivity for TGF- β I in the apical portion along the luminal borders.

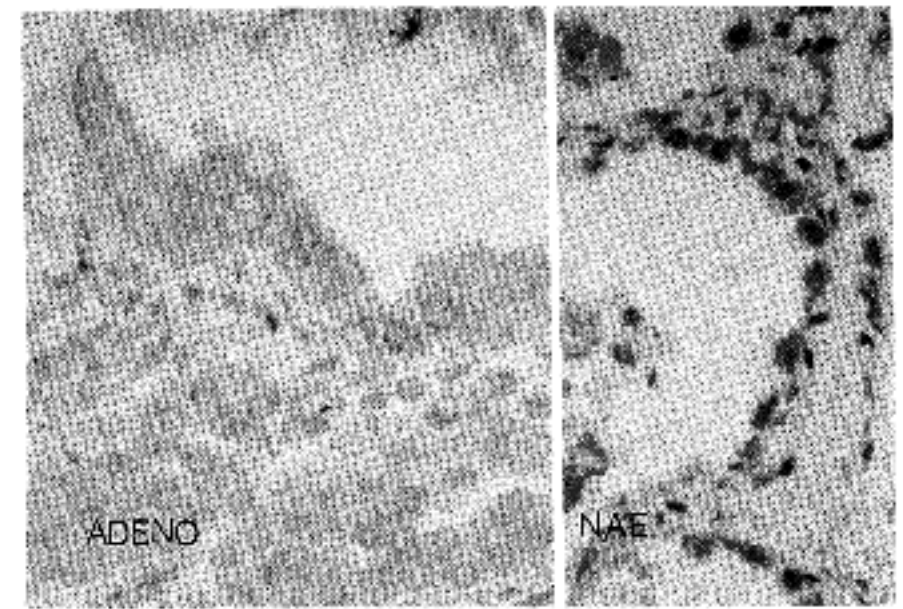


Fig. 4. Adenocarcinoma is also stained positively for TGF- β RI with decreased staining intensity compared to normal alveolar epithelium.

으로 $p < 0.05$ 로 의미가 있었다 (Table 6, 7). TGF-β 수용체I 은 종괴 에서 평균 염색 점수가 3.77로 주변 정상 폐조직의 평균 염색 점수 4.23 보다 낮았으며 기관지 상피의 평균 염색 점수 4.14와 폐포 상피의 평균 염색 점수 4.44 보다 낮았고 (Table 6), 이것은 통계학적으로 $p < 0.05$ 로 의미가 있었다 (Table 7).

4. TGF-β 1과 TGF-β 수용체 I 의 관계

TGF-β 1과 TGF-β 수용체I의 염색 정도는 통계학적 분석에서 Spearman 상관 계수가 0.17352로 낮았고 p-value가 0.27로 이들은 서로 연관성이 없었다.

5. TGF-β 1, TGF-β 수용체 I 과 종양 크기, 림프 절 전이 및 조직학적 분화의 관계

TGF-β 1은 종양 크기가 작고, 림프절 전이가 없고, 분화가 좋을 수록 염색 점수가 높은 경향이 있으나 이것은 통계학적으로 의의가 없었다. TGF-β 수용체I은 종괴크기가 작고 림프절 전이가 없고 조직학적 분화가 좋을수록 염색 점수가 낮은 경향이 있으나 별 차이가 없었고 이것은 통계학적으로 의의가 없었다 (Table 8).

6. TGF-β 1 mRNA 발현율 (Table 9)

TGF-β 1 mRNA 발현은 정상 조직에서는 14예중 6예 (42.9%)에서 발현을 보인 반면에 종양 조직에서는 40예 중 27예 (67.5%)에서 발현을 보여 정상 조직보다 다소

높은 TGF-β 1발현율을 보였다. 병리조직학적으로 편평 상피세포암은 25예중 18예 (72%)에서 발현을 보여 높은 TGF-β 발현율을 보였고, 선암종은 13예중 8예 (61.5%)에서 발현을 보였다 (Fig. 13). 한편 선편평상피 세포암은 2예중 1예에서 발현되었다. 또한 발현의 정도에 따른 -, +, ++, +++를 0, 1, 2, 3으로 통계 처리하였을 때 정상 조직은 평균 0.79이고 종양 조직에서는 평균이 1.35로 증가 발현됨을 알 수 있었다 (Table 6, 7). TGF-β 1 mRNA와 종양의 크기, 림프절 전이 여부, 분화, 암의 유형에 따른 통계학적 의의는 없었다 (Table 8).

Table 6. Staining score of TGF-β 1, TGF-β RI and level of TGF-β 1 mRNA in tumor and normal components of the lung

	TGF-β 1	TGF-β RI	TGF-β 1 mRNA
Tumor	3.84 ± 0.81	3.77 ± 0.57	1.35 ± 1.17
Normal parenchyme	2.19 ± 0.76	4.23 ± 0.57	0.79 ± 1.05
Bronchial epithelium	3.02 ± 1.35	4.14 ± 0.77	
Alveolar epithelium	0.63 ± 1.02	4.44 ± 0.55	

Data; Mean ± SD

Table 7. Spearman correlation coefficients of TGF-β 1, TGF-β RI and level of TGF-β 1 mRNA in tumor and normal components of the lung

	Normal parenchyme (p value)	Bronchial epithelium (p value)	Alveolar epithelium (p value)
TGF-β 1 in tumor	0.76642 (0.0001)		
TGF-β RI in tumor	-0.38125 (0.0003)	0.32372 (0.0024)	0.86373 (0.0001)
TGF-β 1 mRNA in tumor	0.21602 (0.1065)	-0.28379 (0.0081)	-0.52117 (0.0001)

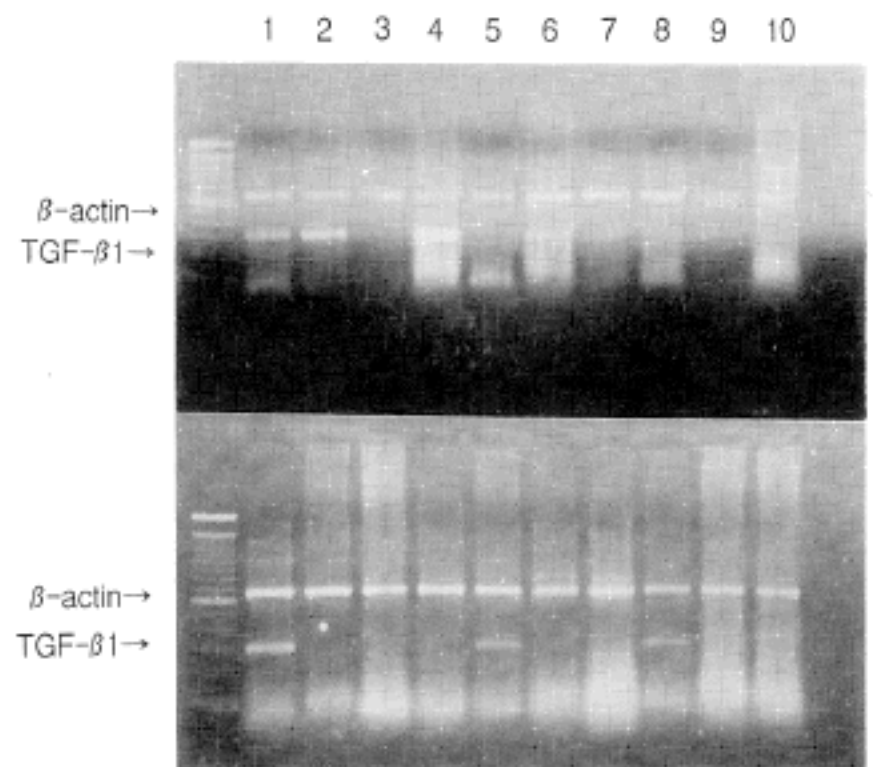


Fig. 5. The mRNA transcripts for TGF-β 1 in lung squamous cell carcinoma (upper) and adenocarcinoma (lower) with control normal lung using RT-PCR are shown.

Upper: lanes 2,4,6,8,10 : squamous cell carcinoma, lanes 1,3,5,7,9 : normal lung

Lower: lane 1: normal lung, lanes 2-10: adenocarcinoma
TGF-β 1 mRNA transcripts are more expressed in both squamous cell carcinoma and adenocarcinoma than normal lung, especially squamous cell carcinoma.

Table 8. Relations between TGF-β 1, TGF -β RI reactivity and level of TGF-β 1 mRNA and variable clinicopathological indicators

Variable	TGF-β 1	p *	TGF-β RI	p *	TGF-β 1 mRNA	p *
Tumor size(Cm)		0.2489		0.4203		0.4804
≤3	4.09 ± 0.7		3.63 ± 0.5		1.55 ± 1.37	
>3	3.75 ± 0.84		3.81 ± 0.58		1.25 ± 1.08	
L/N metastasis		0.4496		0.1744		0.5545
-	3.95 ± 0.69		3.65 ± 0.67		1.48 ± 1.12	
+	3.73 ± 0.93		3.86 ± 0.47		1.18 ± 1.10	
Tumor grade		0.3057		0.4357		0.3548
well	4.0 ± 0.89		3.67 ± 0.52		1.11 ± 1.27	
moderate	3.89 ± 0.79		3.79 ± 0.57		1.32 ± 1.16	
poor	3.56 ± 0.88		3.78 ± 0.67		1.67 ± 1.03	
Tumor type		0.5239		0.6124		0.5012
SCC	3.88 ± 0.67		3.76 ± 0.60		1.44 ± 1.16	
Adeno	3.69 ± 0.95		3.62 ± 0.51		1.23 ± 1.17	

*p-value

Table 9. The expression of TGF-β 1 mRNA in various type of tumors and normal lung

Level of TGF-β 1 mRNA	NP (14)	Tumor (40)		
		SCC(25)	Adeno(13)	Adenosq(2)
(-)	8	7	5	1
(+)	2	6	2	1
(++)	3	6	3	
(+++)	1	6	3	

NP: normal parenchyme, SCC: squamous cell carcinoma
Adeno: adenocarcinoma, Adenosq: adenosquamous cell carcinoma

고 찰

TGF-β는 여러 세포 종류에서 강력한 성장 억제 작용을 가지는 것으로 보고되었고 서로 다른 세포에서 서로 다른 생물학적 효과를 나타낸다.²⁹ 세포의 분화, 이주, 세포의 기질의 생산과 기질과의 접착력, 면역 기능의 조절 등에도 관여한다. 포유류에는 TGF-β의 5군중 1, 2, 3군이 포함되는데 이들은 in vivo와 in vitro에서 서로 유사한 생물학적 활성을 가지지만, 세포 종류에 따라서 그 활성의 역가에 차이를 보이기도 한다.¹⁹

TGF-β는 큰 단위의 상과 (TGF-β superfamily)에 속하는데 여기에는 activins, inhibins, bone morphogenetic proteins, Müllerian inhibiting substance와 glial-cell-line derived neurotrophic factors 등이 포함된다. 이 TGF-β 상과에 속하는 것중 대다수가 여러 세포 종류에서 성장을 억제하는 것으로 알려졌다.³⁰ 본 연구에서는 종괴 주변의 정상 폐에서 TGF-β 1이 기관지 상피 세포, 선상피세포에서 특히 술잔 세포에 강하게 염색되었으며 그외 대식 세포, 기관지와 혈관의 평활근층 및 탄력층에 염색되었고, 폐포 상피 세포나 섬유모세포에는 염색되지 않았다.

Antoine등³¹은 정상 사람 폐에서 TGF-β의 분포를 연구하였다. 이들에 의하면 기관지 상피 세포가 주요 분포 장소이고 따라서 TGF-β가 기관지 점막의 면역학적 기능에 중요한 역할을 하는 것으로 보았다. 그외 기관지 평활근층과 혈관 평활근층, 폐포내 대식 세포에도 염색되었으며 폐포세포나 섬유모세포 등에는 염색되지 않아서 본 연구와 일치하는 결과를 보였다.

TGF-β는 세포 표면에서 여러 종류의 수용체와 결합 단백질과 상호작용을 통해서 그 기능을 나타낸다.^{30,32} 이 수용체에는 I형 (53KDa), II형 (70~100 KDa), beta-glycan 혹은 III형 (200KDa 이상)과 endoglin (180 KDa)이 포함된다. TGF-β수용체 I과 II는 여러 세포 종류에 넓게 분포되어 있고 신호 전달에 필수적이다.³³⁻³⁵ 연결 물질 (ligand)에 결합한 후 TGF-β수용체 I과 II는 이가

동의의 수용체 복합물 (heteromeric receptor complex)을 형성하고 세포내 신호를 전달한다. TGF- β 수용체 I 형은 연결 물질 결합을 위해서 수용체 II 형이 필요하고 신호화 (signaling)을 위해서 I 형이 필요하다. 이 신호 전달 분자가 heteromeric serine/ threonine-kinase 수용체 복합물과 어떻게 상호 작용하는지는 아직 알려져 있지 않지만 이중 수용체 I의 존재는 세포의 기질 침착에는 없어도 되지만 세포 증식 억제 기능에는 필수적이라는 보고가 있다. TGF- β 수용체 III과 endoglin은 구조적으로 서로 비슷한 세포 표면 단백질이다.³² TGF- β 수용체 III은 여러 다른 세포에서 표현되는 반면 endoglin은 내피 세포와 조혈 세포에서 관찰된다. 이들은 TGF- β 신호 전달에 직접적으로 관여하지는 않지만 TGF- β 수용체 III형은 신호화 (signaling) 수용체에 필요한 것으로 알려졌다. 본 연구에서는 TGF- β 군 중에서 강력한 세포 증식 억제 능력을 가진 TGF- β 1과 TGF- β 1이 억제 기능을 나타내기 위해서 필수적이라고 보고되어 있는 수용체 I을 사용하였다.²²⁻²⁴ 본 연구 결과로는 TGF- β 1의 증가와 종괴의 분화도, 암의 유형과는 통계학적 상관 관계가 없는 것으로 나타났고 이들의 관계에 대해서는 다양한 보고들이 있다.

TGF- β 1은 정상 세포에서 강력한 증식 억제 물질이지만 악성화된 세포에서는 그 성장 억제 작용이 나타나지 않는다는 보고가 있다.³⁶ Jasani등³⁷도 갑상선 종양의 여러 단계별 면역 조직 화학 염색에서 양성 종양과 갑상선 상피 세포에는 TGF- β 가 존재하지 않았지만 악성 종양에서는 TGF- β 가 확인되었다고 보고하였으며, 종양세포내에서 염색되는 TGF- β 는 활성화되어 있다고 하였다. 폐암 세포를 대상으로한 Sonia등³⁸의 연구에 의하면 TGF- β 1, β 2, β 3를 모든 유형의 폐암종에서 발견하였고 TGF- β 1이 β 2와 β 3에 비해서 더 많이 증가했으며 non small cell lung cancer (NSCLC)에서 small cell lung cancer (SCLC)보다 더 증가되었다. TGF- β 수용체 I, II 모두 NSCLC와 SCLC에서 발견되었는데 수용체 I이 수용체 II에 비해서 양쪽 유형의 암에서 더 많이 증가하여서 Sonia등은 폐암 세포가 TGF- β 에 반응하고 TGF- β 가 이들 세포의 증식을 조절하는 역할을 할 것이라고 제시하였다. 또한 Twardzii등³⁹에 의하면 수컷 athymic BALB/c mice에서 사람 폐선암 A 549 세포의 분화와 성장을 연구하여 TGF- β 가 암세포의 증식을 억제하는 것으로 밝혀졌고, TGF- β 에 의해서 억제된 종양은 술잔 세포가 많고 유사분열이 적다는 점으로 조직학적으로 분화를 잘한 것으로 나타났으나 본 연구에서는 조직학적 분화와는 관계가 없었다.

Knabbe등⁴⁰도 호르몬 영향을 받는 유방암 세포를 배양하여 종양 세포에서 활성화된 TGF- β 가 생산됨을 보고하였고 종양 세포의 세포질에 염색되는 경우, TGF- β 의 합성 증가와 분비가 감소된 경우의 두 가지로 생각할 수 있지만 Schilling등⁴¹은 세포질 내에서 염색되는 TGF- β 양상과 mRNA의 발현이 일치하므로 세포질 내

에서 염색되는 TGF- β 는 합성되는 위치를 가리킨다고 하였으며 TGF- β 의 합성과 분비가 증가됨을 의미한다고 하였다. 따라서 본 연구에서 면역조직화학적으로 폐의 암세포에서 TGF- β 1이 주변 정상 세포에 비해서 의의 있게 증가되었고 TGF- β 1 mRNA도 종양세포내에서 정상에 비해 증가된 결과를 보였으므로 암세포 내에서 TGF- β 1의 생산이 증가되었다고 추정할 수 있다.

암세포에서 TGF- β 1의 생산이 증가되어 분비함으로 영향을 받을 수 있는 조직은 암세포 뿐만 아니라 주변의 암의 기원이 된 변형되지 않은 정상 세포와 간질 조직이 속한다. 따라서 암세포 자체는 TGF- β 1의 영향을 받지 않고 주변 세포의 증식을 억제시키므로 암세포들이 증식되기 좋은 환경을 만들고 또한 Arteag와 Caffey⁴²가 보고한 바와 같이 주위 조직에 영향을 주어 면역 억제, 맥관증식, 결합조직 형성, 세포 주위의 단백질 분해를 촉진시켜 암세포가 주위 조직으로 침윤하기 쉽게 만든다고 생각할 수 있다. 또한 이 TGF- β 1이 암세포에서는 세포 증식 억제 기능을 나타내지 못한 것으로 생각할 수 있는데 그 기전은 다음과 같이 생각해 볼 수 있다.

첫째, TGF- β 를 생산하는 세포가 잠복형(latent form)에서 활성화가 되지 않는 경우이다. 잠복형 TGF- β 1은 최근에 LAP(latency associated peptide)로 불리는 TGF- β 1 전구체의 이합체 잔유물 (dimeric remnant)과 연결된 하나의 이합 TGF- β 1을 포함하는 복합물로서 분비된다. 그러므로 잠복형 TGF- β 의 활성화는 LAP로부터 성숙된 TGF- β 1으로 해리 (dissociation)되는 것을 의미하며 이 과정은 단백질분해 (proteolysis)와 탄수화물의 제거가 필요하다.⁴³ 암세포가 TGF- β 에 반응하지 않는 것은 이 잠복 복합물에서 활성형 TGF- β 가 되는 능력에 이상이 있는 경우 일 수 있다. 둘째, TGF- β 수용체의 감소를 생각해 볼 수 있다. 수용체 I, II, III형중 I형은 세포의 성장과 유착에 관계하는 것으로 밝혀졌다.²² Kimch등¹⁸은 정상 태아 망막 세포가 외인성 TGF- β 에 의해 세포 성장이 억제되었으나 망막 모세포종에서는 외인성 TGF- β 와 관계없이 계속 증식이 있어 TGF- β 의 수용체를 조사한 결과 망막 모세포종에서 TGF- β 의 수용체가 없었다고 한다. 이외의 보고에서⁴⁴ 암세포 배양에서 외인성 TGF- β 에 대하여 반응하지 않은 점을 지적하면서 수용체의 상실을 제기하기도 하였다. Ito등⁴⁵은 위암에서 TGF- β 수용체 I의 감소를 보고하고 이는 암의 침윤 정도와 관계가 있어서 깊이 침윤한 암일수록 정상에 비해서 낮은 TGF- β 1수용체 I의 발현을 보인다고 보고했다. 그러나 편평 상피암종과 간암 세포를 대상으로한 TGF- β 수용체의 변화가 TGF- β 에 대한 반응에 상관관계를 보이지 않는다는 보고⁴⁶도 있고, 인체 다형성 교모세포종을 대상으로한 Yamada등⁴⁷의 in vivo 실험에서는 TGF- β 1과 수용체 I형, II형 모두 악성일수록 증가되었기 때문에 TGF- β 가 세포 증식 억제 기능을 나타내는데는 TGF- β 수용체 I, II 이외에도

다른 TGF- β 신호 전달 체계가 있을 것으로 생각했다. 셋째로 종양 세포가 TGF- β 에 반응하지 않는 것은 TGF- β 가 생산하는 신호의 변환 (transduction)과 통합 (integration)의 이상에 의한 것일 수 있다. 넷째, 분비되는 TGF- β type의 이상이 원인일 수 있다. 종이나 조직에 따라서 특이한 TGF- β 가 분비되고 형질 전환된 세포에서 TGF- β 에 반응이 달리 나타나는 것은 그들의 조절과 표현의 차이에 의할 수 있다.²⁹

본 연구에서 TGF- β 수용체 I이 정상 조직에 비해서 감소되었으므로 증가된 TGF- β 1이 증식 억제 기능을 나타내지 못한 것의 원인 중 하나로 TGF- β 수용체 I의 감소를 추정할 수 있다.

TGF- β 가 종양의 진행에 어떤 영향을 주는 지도 암의 예후와 관계가 있기 때문에 최근 관심을 보이기 시작했다. 이등⁴⁸에 의하면 TGF- β 가 유방암의 진행성 변연부에서 중심부보다 높은 TGF- β 발현을 보였기 때문에 TGF- β 가 암의 침윤 능력과 관계가 있다는 것을 시사하였고, 임상적 병기가 높고 액와 림프절 전이가 있는 군에서 더 높은 TGF- β 발현을 보여서 유방암에서 나쁜 예후인자로 작용한다고 추정하였다. Gorsch등⁴⁹의 보고에서도 TGF- β 가 높을수록 짧은 무증상기 (free interval)를 나타냈지만 Mizukami등⁵⁰의 논문에서는 좋은 예후와 관계가 있어서 상반되는 결과를 보였다. 최등⁵¹의 연구에서는 정상보다 위암 세포에서 TGF- β 가 증가되었고 침윤의 깊이가 깊을수록 더 높은 발현율을 보였으나 Arteage와 Caffey등⁴²의 보고와는 반대로 전이가 없는 위암 환자에서 더 높은 발현율을 보였다. 그러나 폐의 선암에서 조직학적 분화도가 좋은 경우 통계학적으로 유의 있게 더 높은 TGF- β 의 발현을 보였으며 TGF- β 가 높은 경우 더 높은 5년 생존율을 보여서 좋은 예후와 관계가 있다는 보고⁵²도 있어서 다양한 보고들이 서로 상반되는 결과를 보였다. 본 연구에서는 TGF- β 1, TGF- β 수용체 I 모두 종괴의 크기, 림프절 전이 여부, 조직학적 분화도와 관계가 없었고 이를 임상적으로 이용하기에는 좀 더 많은 예의 연구가 필요 하리라고 생각된다.

결 론

본 연구는 44예의 폐종양 조직을 대상으로 항 TGF- β 1과 TGF- β 수용체 I 다세포군 항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 시행하였고 이중 40예에서 역전사 중합효소연쇄반응법으로 TGF- β 1 mRNA를 측정하였다. 이를 정상 폐조직과 비교하고 종양 크기, 림프절 전이, 조직학적 분화도와 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) TGF- β 1은 암세포에서 대부분 양성으로 염색되며 양성으로 염색되는 정도가 주변 정상 폐조직과 비교하였을 때 통계학적으로 유의 있게 높았다 ($p < 0.05$).

2) TGF- β 1에 대한 mRNA는 종양에서 정상 폐조직보

다 평균적으로 높았지만 통계학적으로 유의가 없었다 ($p > 0.05$).

3) TGF- β 수용체 I은 암세포에서 대부분 양성으로 염색되며 염색 점수가 주변 폐조직과 비교하였을 때 통계학적으로 유의 있게 낮은 수치를 나타냈다 ($p < 0.05$).

4) 암세포에서 TGF- β 1과 TGF- β 수용체 I 염색 점수에는 상관관계가 없었다.

5) TGF- β 1과 TGF- β 수용체 I 모두 종괴 크기, 림프절 전이, 조직학적 분화도와 상관계는 없었다.

이상과 같은 결과로 세포 증식 억제 인자인 TGF- β 1이 폐의 암세포에서 정상 폐조직보다 증가되는 것은 암세포가 TGF- β 1을 생산하지만 결국 TGF- β 1이 기능을 나타내지 못하는 것으로 추정할 수 있다. 암세포가 TGF- β 1의 증식 억제 작용을 피할 수 있는 것은 여러 기전을 생각해 볼 수 있지만 본 연구에서 TGF- β 수용체 I이 정상 조직에서 보다 암세포에서 낮아졌으므로 TGF- β 수용체 I의 감소가 그 기전의 하나라고 추정한다. 또한 이들이 종양 크기, 림프절 전이, 세포의 분화도와는 상관계가 없으므로 예후인자로 이용하기에는 좀 더 많은 예의 연구가 필요 하리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Westra WH, Offerhaus JG, Goodman SN, et al. Overexpression of p53 tumor suppressor gene product in lung adenocarcinoma is associated with cigarette smoking. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 213-20.
2. Weiberg RA. Molecular biology of carcinogenesis: a multistep process. In Broder S, eds. *Molecular foundation of oncology*. Baltimore: Williams, 1991; 27-39.
3. Sporn MB, Roberts AB. Autocrine growth factors and cancer. *Nature* 1985; 313: 745-7.
4. De Larco JE, Todaro GJ. Growth factors from murine sarcoma virus-transformed cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 4001-5.
5. Assoian RK, Komoriya A, Meyers CA, Miller PJ, Sporn MB. TGF- β in human platelets. *J Biol Chem* 1983; 258: 7155-60.
6. Frolik CA, Dart LL, Neyers CA, Smith DM, Sporn MB. Purification and initial characterization of a type beta TGF from human placenta. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 3676-80.
7. Roberts AB, Anzano MA, Lamb LC, Smith JM, Sporn MB. New class of TGFs potentiated by EGF isolation from non-neoplastic tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 5339-43.
8. Roberts AB, Anzano MA, Neyers CA, et al. Purification and properties of a type beta TGF from bovine kidney. *Biochemistry* 1983; 22: 5692-8.
9. 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 TGFs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 6364-8.
10. Tucker RF, Branum EL, Shipley GD, Tyan RJ, Moses HL. Specific binding to cultured cells of 125 I-labeled transforming growth factor beta from human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 6157-61.
 11. Massague J. The transforming growth factor-beta family. *Annu Rev Cell Biol* 1990; 6: 597.
 12. Lamprecht SA, Schwartz B, Glicksman A. Transforming growth factor- β in intestinal epithelial differentiation and neoplasia. *Anticancer Res* 1989; 9: 1877-82.
 13. Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM, Crombrughe B. Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta. *J Cell Biol* 1987; 105: 1039-45.
 14. Barnard JA, Bearchamp RD, Coffey RJ, Moses HL. Regulation of intestinal epithelial cell growth by transforming growth factor type β . *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 1578-82.
 15. Hoosein NM, Brattain D, McKnight MK, Levine AE, Brattain MC. Characterization of the inhibitory effects of transforming growth factor- β on a human colon carcinoma cell line. *Cancer Res* 1987; 47: 2950-4.
 16. Arteaga CL, Tandon AK, Von Hoff DD, Osborne CK. Transforming growth factor β : potential autocrine growth inhibitor of estrogen receptor-negative human breast cancer cells. *Cancer Res* 1988; 48: 3898-904.
 17. Arteaga CL, McCutchen CM, Moses HL, Lyons RM. Growth stimulation of human breast cancer cells with anti-transforming growth factor β antibodies: evidence for negative autocrine growth regulation by transforming growth factor β . *Cell Growth Differ* 1990; 1: 367-74.
 18. Kimch A, Wang XF, Weinberg RA, Cheifetz S, Massague J. Absence of TGF- β receptors and growth inhibiting responses in retinoblastoma cells. *Science* 1988; 240: 196-9.
 19. Roberts AB, Sporn MB. TGF- β . *Adv Cancer Res* 1988; 51: 107-45.
 20. Ode K, Hori S, Itoh H, et al. Immunohistochemical study of TGF- β , fibronectin, and fibronectin receptor in invasive mammary carcinomas. *Acta Pathol Jpn* 1992; 42: 645-50.
 21. Cheifetz S, Bassols A, Stanley K, Otha M, Greenberger J, Massague J. Heterodimeric transforming growth factor β . *J Biol Chem* 1988; 263: 10783-9.
 22. Frederick T, Boyd Joan Massague. Transforming growth factor- β inhibition of epithelial cell proliferation linked to the expression of a 53 KDa membrane receptor. *J Biol Chem* 1989; 264: 2272-8.
 23. Saitoh M, Functional analysis of transforming growth factor-beta type I receptor. *J Kokubyo Gakkai Zasshi* 1996; 63: 42-52
 24. Wang J, Han W, Zborowska E, et al. Reduced expression of transforming growth factor beta type I receptor contributes to the malignancy of human colon carcinoma cells. *J Biol Chem* 1996; 271: 17366-71
 25. Gomella LG, Sar ER, Wade TP, Anglard P, Linehan MW, Kasid A. Expression of transforming growth factor in a normal adult kidney and enhanced expression of transforming growth factor and in a renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1989; 49: 6972-4.
 26. Borrett P, Travers M, Luqmani Y, Coombes RC. Transforming growth factors in human breast cancer: clinical correlates. *Br J Cancer* 1990; 61: 612-7.
 27. Ito N, Kawata S, Tamura S, et al. Elevated levels of transforming growth factor- β messenger RNA and its polypeptide in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1991; 51: 4080-3.
 28. Hirayama D, Fujimori T, Satonaka K, Nakamura T. Immunohistochemical study of epidermal growth factor and transforming growth factor- β in the penetrating type of early gastric cancer. *Hum Pathol* 1992; 23: 681-5.
 29. Roberts AB, Sporn MB. The transforming growth factor- β s. In: Sporn MB and Roberts AB eds. *Peptide growth factors and their receptors, part I. Handbook of experimental pharmacology*. Berlin : Springer, 1990; 95: 419-72.
 30. Kingsley DM. The TGF- β superfamily; new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev* 1994; 8: 133-46.
 31. Antoine M, Frachon I, Rain B, et al. Transforming growth factor β in normal human lungs: preferential location in bronchial epithelial cells. *Thorax* 1994; 49: 789-92.
 32. Miyazono K, Ten Duke P, Ichijp H, Heldin C-H. Receptors for transforming growth factor- β . *Adv Immunol* 1994; 55: 181-220.
 33. Lin HY, Wang XF, Ng-Eaton E, Weinberg RA, Lodish HF. Expression cloning of the TGF- β type-II receptor, a functional transmembrane serine/threonine kinase. *Cell* 1992; 68: 775-85.
 34. Franzen P, Ten Kijke P, Ichijo H, et al. Cloning of a TGF- β type I receptor that forms a heteromeric complex with the TGF- β type-II receptor. *Cell* 1993; 75: 681-92.
 35. Wrana JL, Attisano L, Wieser R, Ventura F, Massague J. Mechanism of activation of the TGF- β receptor. *Nature (Lond.on)* 1994; 370: 341-7.
 36. Ewen ME, Sluss HK, Whitehouse LL, Livingston DM. TGF- β inhibition of Cdk4 synthesis is linked to cell-cycle arrest. *Cell* 1993; 74: 1009-20.
 37. Jasani B, Wyllie FS, Wright PA, Lemoine NR, Williams

- ED, Waynford DT. Immunocytochemically detectable TGF- β associated with malignancy in thyroid epithelial neoplasia. *Growth Factors* 1990; 2: 149-55.
38. Sonia BJ, Askale M, Philip C, Terry WH. Expression of transforming growth factor β ligand & receptor messenger RNAs in lung cancer cell line. *Cell Growth Diff* 1995; 6: 465-76.
39. Twardzii DR, Rancgalis JE, McPherson JM, et al. Inhibition and promotion of differentiated-like phenotype of a human lung carcinoma in athymic mice by natural and recombinant forms of transforming growth factor- β . *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 1182-85.
40. Knabbe C, Lippman ME, Wakefield LM, et al. Evidence that TGF- β is a hormonally regulated negative growth factor in human breast cancer cells. *Cell* 1987; 48: 417-28.
41. Schilling EV, Thompson NL, Flanders KC, Sporn MB, Lambert PF, Baker CC. TGF- β expression in fibropapillomas induced by Bovine Papillomavirus type I in normal Bovine skin and in BPV-I transformed cells. *Growth factors* 1990; 2: 111-21.
42. Arteaga CL, Caffey RJ. Transforming growth factor- β isoform in mammary neoplasm. *Hum Pathol* 1992; 23: 1-3.
43. Wakefield LM, Smith DM, Masui T, Harris CC, Sporn MB. Distribution and modulation of the cellular receptor for transforming growth factor-beta. *J Cell Biol* 1987; 105: 965-75.
44. Reiss M, Sartorelli AC. Regulation of growth and differentiation of human keratinocytes by type beta TGF and EGF. *Cancer Res* 1987; 47: 6705-9.
45. Ito M, Yasui W, Nakayama H, Yokozaki H, Ito H, Tahara E. Reduced levels of transforming growth factor-beta type I receptor in human gastric carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1992; 89: 86-92.
46. Sue SR, Chari RS, Kong FM, et al. Transforming growth factor beta receptors and mannose 6 phosphate/ insulin like growth factor II receptor expression in human hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 1995; 222: 171-8.
47. Yamada N, Kato M, Yamashita H, et al. Enhanced expression of transforming growth factor- β and its type-I and type-II receptors in human glioblastoma. *Int J Cancer* 1995; 386-92.
48. 이태진, 조남복, 박언섭, 유재형, 박성준. 유방의 침윤성 관암종에서 TGF- β 의 발현 및 백관형성에 관한 면역조직화학적 분석. *대한병리학회지* 1996; 30: 557-69.
49. Gorsch SM, Memoli VA, Stukel TA, et al. Immunohistochemical staining for transforming growth factor (β) associates with disease progression in human breast cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 6949-52.
50. Mizukami Y, Nonomura A, Yamada T, et al. Immunohistochemical demonstration of growth factors, TGF- α , TGF- β , IGF-1 and neu oncogene product in benign and malignant human breast tissues. *Anticancer Res* 1990; 1115-26.
51. 최영희, 채승완, 이민철 등. 위 선암 조직에서 transforming growth factor- β 발현에 관한 면역 조직화학적 분석. *대한병리학회지* 1994; 28: 272-82.
52. Inoue T, Ishida T, Takenoyama M, Sugio K, Sugimachi K. The relationship between the immunodetection of transforming growth factor- β in lung adenocarcinoma and longer survival rates. *Surg Oncol* 1995; 4: 51-7.

폐암종에서 TGF-β 1과 TGF-β 수용체 I의 발현

한림대학교 의과대학 병리학교실, ¹고려대학교 의과대학 병리학교실
²성균관대학교 의과대학 병리학교실

안혜경 · 최영희 · 심정원 · 박영의 · 김한겸¹ · 최종상¹ · 한정호²

The Expression of TGF-β 1 and TGF-β Receptor I in Human Lung Cancer

Hye Kyung Ahn, Young Hee Choi, Jung Weon Shim, Young Euy Park,
Han Kyeom Kim¹, Jong Sang Choi¹, and Joung Ho Han²

Department of Pathology, College of Medicine, Hallym University, Seoul 150-071, Korea

¹Department of Pathology, College of Medicine, Korea University

²Department of Pathology, College of Medicine, SungKyunKwan University

A majority of human lung cancer cell lines have developed resistance to growth inhibition via the activation of transforming growth factor-β (TGF-β). Previous studies have reported that growth inhibition of TGF-β is linked to the expression of transforming growth factor-β receptor type I (TGF-β RI). Immunohistochemical studies of TGF-β 1 and TGF-β RI have been carried out in 43 cases of lung neoplasm; including 25 cases of squamous cell carcinoma, 13 cases of adenocarcinoma, 2 cases of adenosquamous cell carcinoma, and 1 case each of undifferentiated carcinoma, small cell carcinoma and neuroendocrine carcinoma. Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) for TGF-β 1 mRNA was also performed in 40 cases of tumors and 14 control cases of normal parenchyme. Immunohistochemically, TGF-β 1 and TGF-β RI expression were noted in the cytoplasm of all type of tumor cells. The staining intensity and areas were examined and scored from 0 to 5. As a whole, TGF-β 1 staining scores in the neoplastic lesions were higher than that of the adjacent normal parenchyme, bronchial epithelium or alveolar epithelium. However, TGF-β RI staining scores were generally lower than that of the adjacent normal components. The TGF-β 1 mRNA showed a higher percentage of expression in tumors than in normal control. Tumor size, lymph node metastasis, histological differentiation and histological type of tumors did not correlated with the staining score of TGF-β 1 and TGF-β RI. These results indicate that although various types of human lung carcinoma cells produce TGF-β 1, they show a reduction in TGF-β RI, resulting in an escape from growth inhibition by TGF-β 1. (Korean J Pathol 1998; 32: 9~20)

Key Words: TGF-β 1, TGF-β RI, Lung, Carcinoma

서 론

원발성 폐암은 최근에 다양한 치료 방법의 개발에도 불구하고 아직도 암으로 인한 주요 사망원인으로 알려

져 있다. 폐암의 발생기전은 현재까지 정확히 밝혀져 있지 않지만 흡연 및 여러 환경적인 발암물질 등이 분자생물학적 변화를 일으켜 폐암발생에 관여한다고 알려져 있다.^{1,2} 세포의 증식은 세포의 분열을 촉진시키는 성장촉진인자 (positive growth factor)와 세포의 분열을 억제하는 성장억제인자 (negative growth factor)의 균형에 의해서도 조절된다. 암의 증식은 이러한 성장촉진인자와 성장억제인자의 균형이 비가역적으로 파손되어 정상세포에 반하여 세포 증식이 조절되지 않고 과도하

접 수: 1997년 6월 12일, 게재승인: 1997년 9월 30일

주 소: 서울 영등포구 대림 1동 948-1, 우편번호 150-071

한림의대 강남성심병원 병리학교실, 안혜경

ISSN : 0379-1149