

인체 위암조직에서 Bombesin Family의 Ligand 및 수용체의 발현에 관한 연구

서울대학교 의과대학 외과학교실

김 윤 호 · 양 한 광 · 오 승 근

Expression of Bombesin Family Ligands and Receptors in Human Gastric Cancer Tissues and Cell Lines

Yoon Ho Kim, M.D., Han-Kwang Yang, M.D. and Seung Keun Oh, M.D.

Purpose: Bombesin-like peptides are known to be important in the autocrine growth of a number of small cell lung cancer cell lines. The aim of this study was to investigate the extent of bombesin family ligands/receptors expression in human gastric cancer tissues and cell lines, and to evaluate the relationship between the expression of bombesin family ligands/receptor and clinicopathologic parameters.

Methods: We measured the expression of gastrin releasing peptide (GRP), neuromedin B (NMB), and their receptors, in human gastric cancer tissues and cell lines. Ligand and receptor mRNA studies were carried out on; 20 tumor and matched normal samples, and 9 gastric cell lines. The expression of mRNA of GRP/NMB, and their receptors, was examined by the reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

Results: Expression of GRP, NMB and GRPR, NMBR mRNA was found in 55%, 100%, 40%, and 100% of gastric cancer tissue, respectively. GRP/GRPR co-expression was observed in 30% of gastric cancer tissues and expression of gastric cancer was higher than that of normal mucosa. GRP and GRPR were highly expressed in the differentiated type of gastric cancer. In gastric cancer cell lines, these peptides and receptors were expressed equally.

Conclusion: The result demonstrate that GRP, NMB, GRPR, and NMBR were expressed in gastric cancer tissues and cell lines. This result suggests that these may have a role as growth factors in gastric cancer growth, and these peptides

may act in an autocrine fashion as a morphogen in gastric cancer. (J Korean Surg Soc 2002;62:198-204)

Key Words: Gastric cancer, Bombesin family ligands, Receptors, RT-PCR

중심 단어: 위암, Bombesin family 리간드, 수용체, 역전사-중합효소연쇄반응

Department of Surgery, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

서 론

인체 내의 정상세포의 성장과 분화 과정은 여러 내분비 인자나 세포성 인자에 의해 조절되며 paracrine 및 autocrine 으로 작용하는 펩티드 성장인자와 성장인자 수용체(growth factor receptor)는 이러한 과정에 있어서 중요한 역할을 한다. 그러나 정상세포뿐만 아니라 암세포의 성장과 분화 과정 역시 암유전자나 원암유전자(proto-oncogene)에 의해 조절되는 펩티드 성장 인자와 성장인자 수용체(growth factor receptor)에 의해 영향을 받는다는 사실이 알려졌으며 최근 이 분야에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 기존의 보고에 의하면 bombesin류 펩티드가 Swiss 3T3 섬유세포와 소세포 폐암세포주에서 mitogen으로 작용한다고 알려졌고, in vivo와 in vitro 실험을 통하여 몇 종류의 위장관 점막세포와 암세포에서 mitogen으로서의 기능을 한다고 밝혀졌다. 현재까지의 다른 종양이나 일부 위암에 관련된 연구결과를 종합해 볼 때 bombesin 수용체는 위암의 종양진행과정에 밀접한 관련이 있을 것으로 생각된다. 이에 본 연구에서는 위암조직과 정상조직 및 위암세포주에서 추출한 RNA를 이용한 역전사-중합효소연쇄반응을 통하여 gastrin releasing peptide (GRP)와 neuromedin B (NMB)의 발현 및 그 수용체들의 발현 여부를 알아보고 종양의 분화도, 림프절의 전이 여부, 종양의 병기 등의 여러 임상병리학적 인자들과의 분석을 통하여 이들의 발현이 지니는 의미를 밝히고자 한다.

책임저자 : 오승근, 서울시 종로구 연건동 28
☎ 110-744, 서울대학교 의과대학 외과학교실
Tel: 02-760-2325, Fax: 02-766-3975
E-mail: osk@snu.ac.kr

접수일 : 2002년 2월 8일, 게재승인일 : 2002년 2월 21일
본 논문의 요지는 대한외과학회 2001년 춘계학술대회에 초록이 발표되었음.

방 법

1) 대상환자

1999년 2월부터 2000년 4월까지 서울대학병원에서 위암으로 수술을 받은 환자의 위절제 후 위암조직과 정상 위조직(암 병소로부터 최소 5 cm 이상 떨어져 있고 육안상 정상으로 확인된 부위)을 분리하여 RNA의 손상을 최소화하기 위해 액체 질소(-120°C)에 보관한 후 이 중에서 20예의 조직을 선택하였고, 한국 세포주 은행(Korean Cell Line Bank)에서 분양받은 9종의 세포주(SNU-1, SNU-5, SNU-16, SNU-216, SNU-484, SNU-620, SNU-638, SNU-668, SNU-719)를 실험대상에 포함하였다. 기존 보고에서 이들 펩티드의 수용체 발현이 양성으로 밝혀진 대장암 세포주(Lovo)를 배양하여 양성 대조군으로 사용하였다.

2) 동결조직에서 RNA의 추출

-120°C 액체 질소 탱크에 보관 중인 동결 조직들을 조직 0.1 g당 1 ml의 TRIzol 시약(Gibco-BRL Co., Grand Island, NY)을 넣고 homogenizer로 분쇄하여 chloroform 200µl를 넣고 섞어준 후 4°C에서 12,000 g로 15분 동안 원심분리를 하였다. 원심분리 후 분리된 상층액을 취하여 새로운 튜브에 넣고 isopropanol을 동량 넣어 상온에서 10분간 방치하여 4°C에서 12,000 g로 10분 동안 원심분리 후 pellet을 남기고 상층액은 제거하였다. Pellet이 남아있는 튜브에 75% DEPC treated ethanol 1 ml을 넣고 7,500 g으로 5분간 원심분리를 시행 후 상층액은 제거하고 실온에서 남아있는 ethanol이 제거될 때까지 약 10분간 건조시켰다. Diethylpyrocarbonate water (DEPC water)를 50µl 넣어 RNA를 녹인 후 분광 흡광계로 정량을 실시한 후 -70°C deep freezer에 보관하였다.

3) RNA의 역전사(reverse transcription)

3µl의 RNA, 1µl primer와 DEPC-water 6µl을 넣고 65°C에서 5분간 반응시켰다. 여기에 5X cDNA synthesis buffer 4µl, 10 mM dNTP mixture (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 2µl, 0.1 M dithiothreitol (DTT) 1µl, RNase inhibitor 40 units, MMLV (Molony Murine Leukemia Virus) reverse transcriptase 200 units를 tube에 넣고 총 부피가 10µl가 되도록 DEPC water를 첨가하여 vortex시킨 후 42°C에서 30분, 85°C에서 5분간 반응시킨 다음 37°C에서 RNase inhibitor (TaKaRa shuzo Co., Kyoto, Japan) 40 units를 넣어 반응시킨 후 4°C 냉장고에 보관하였다.

4) 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction)

중합효소 연쇄반응 시 GRP와 NMB의 PCR을 위한 primer는 Chave 등(1)이 사용한 염기서열을 이용하였고, GRP와 NMB 수용체를 위한 primer는 Corjay 등(2)이 human lung

cancer cells에서 분리, 동정한 GRPR mRNA와 NMBR mRNA complete codon (clone M73482)을 참고로 OMEGA program을 이용하여 primer를 새로이 고안하여 사용하였다(Table 1). Eppendorf tube에 역전사된 cDNA를 각각 2µl씩 넣고 10X PCR buffer 2µl, 2.5 mM dNTP mixture (2.5 mM each dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 2µl, 25 mM MgCl₂ 1.8µl, 4% DMSO, Taq polimerase (TaKaRa shuzo Co., Kyoto, Japan) 2 units, 증폭시키려는 유전자에 특이적인 primer (sense, antisense) 50 µM씩 넣은 후 총 부피가 20µl가 되도록 distilled water를 첨가한 뒤 잘 섞었다. 중합효소연쇄반응은 연쇄반응기(Perkin Elmer, Norwich, CT)를 사용하여 94°C에서 2분간 가열(initial denaturation) 후 94°C에서 30초(denaturation), 54°C (GRP), 66°C (NMB), 58°C (GRPR), 47°C (NMBR)에서 30초 (annealing), 72°C에서 30초씩 35회 반복하였다. 1.5%의 아가로스 젤을 만들어 증폭된 DNA 반응 산물을 6 x loading dye와 섞어 100 bp DNA ladder와 함께 80 V로 40분간 전기영동을 시행하였다. 전기영동이 끝나면 젤을 꺼내어 UV light상에서 사진을 촬영하였다.

5) 통계학적 분석

GRP와 GRP 수용체에 대한 역전사-중합효소연쇄반응의 결과인 위암조직에서의 발현유무와 분화도, 병기, 종양위치, 크기, Lauren 분류 등의 여러 임상병리학적 특성과의 관련성을 Fisher's exact 방식을 사용하여 비교하였다. 통계 프로그램은 PC용 SPSS for Windows, Release 9.0를 이용하였다.

결 과

1) 대상 환자들의 임상병리학적 특성

연구의 대상이 된 20명의 환자들의 임상병리학적 특성을

Table 1. Sequences of PCR primers

mRNA	Size (bp)	primers 5' ~ 3'
GRP	310	ATAGAAGCAAAGGAGAACAG GAAAATACAGAATAGTCAAA
GRPR	552	TACGTCATCCCCTGTCTCG GTCTAGCCATAAAGCAAACC
NMB	219	GGGGGCGCTCGGATGTTCCGG TCAGGGAGGTGTGGGGAGCTG
NMBR	599	AAACTGATCCCTGTCTATCCT TGCCAAAAGTGAAGACC
GAPDH	323	GACTCATGACCACAGTC CTGGTGCTCAGTGTAGC

GRP = gastrin releasing peptide; GRPR = gastrin releasing peptide receptor; NMB = neuromedin B; NMBR = neuromedin B receptor; GAPDH = glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase.

조사해보면 남자가 12예, 여자가 8예 였고 연령분포는 27세에서 77세로 평균연령은 57.7세였다. 종양의 위치는 위전정부 9예, 체부 5예, 기저부 1예, 그리고 5예에서 전정부와 체부에 걸쳐서 발생하였고 종양의 평균크기는 7.2 cm였다. 조직학적 분류상 분화암이 2예, 중등도 분화암이 5예, 미분화암이 9예였고, 4예에서 인환세포암이 관찰되었다. 림프절 전이는 3예를 제외한 모든 예에서 있었으며, 각 병기별 분포는 I이 2예, II가 7예, III가 9예, IV가 2예 있었다. 또한 조기위암 2예를 제외한 나머지는 모두 진행성 위암이었고, 수술은 위아전절제술이 13예에서, 전절제술이 5예에서 있었고, Whipple씨 수술과 고식적 위아전절제술이 각각 1예씩 시행되었다(Table 2).

2) 정상 위점막과 위암조직에서 GRP와 GRP 수용체에 대한 역전사-중합효소연쇄반응의 결과

GRP의 primer로 역전사-중합효소연쇄반응을 시행한 결과 310 bp 크기의 GRP는 11예의 위암조직에서 발현되었고 정상 점막조직에서는 9예에서 발현 양성으로 관찰되었다. 한편 7예는 정상점막과 암조직에서 모두 발현하였으며, 대장암세포주 Lovo에서도 양성으로 나타났다. GRP 수용체의

경우 552bp의 반응산물이 8예의 위암조직에서 관찰되었고 정상점막의 경우 2예에서 발현양성이며 이 중 1예에서 정상과 위암조직 모두에서 발현되었다. GRP 수용체의 경우도 대장암세포주 Lovo에서도 양성으로 나타났다(Fig. 1). 또한 위암조직의 경우 6예에서 GRP와 GRP 수용체 모두에서 양성으로 나타났다(Table 3). 9종의 세포주중에서 5종(SNU-5, SNU-216, SNU-620, SNU-638, SNU-719)에서 GRP 수용체 양성반응을 보였다.

3) 정상 위점막과 위암조직에서 NMB와 NMB 수용체에 대한 역전사-중합효소연쇄반응의 결과

NMB의 경우는 모든 정상 점막과 암조직에서 219 bp 크기의 band가 관찰되었고 Lovo 세포주에서도 발현되는 양상을 보였다. NMB 수용체의 경우 역시 599 bp 크기의 반응산물을 정상점막과 위암조직 모두에서 관찰할 수 있었으며(Fig. 2), 대부분의 대상에서 NMB와 NMB 수용체는 정상조직에 비하여 위암조직에서 반응산물이 강하게 나타났다.

4) GRP 및 GRP 수용체의 발현과 임상병리학적 특성의 연관성

GRP와 위암의 분화도를 분석하였을 때 분화암의 경우 7

Table 2. Clinicopathologic characteristics of 20 patients

Characteristics	No. of patients	
Age	< 60	11
	> 60	9
Tumor size	< 7 cm	11
	> 7 cm	9
Location	Antrum	9
	Body	5
	Fundus	1
	Others	5
Differentiation	Well	2
	Moderate	5
	Poorly	9
	Signet ring cell ca.	4
Lauren	Intestinal	4
	Diffuse	12
	Mixed	2
Stage	I	2
	II	7
	III	9
	IV	2
Operation	RSG	13
	TG	5
	Whipple's op.	1
	Palliative RSG	1

RSG = radical subtotal gastrectomy; TG = total gastrectomy.

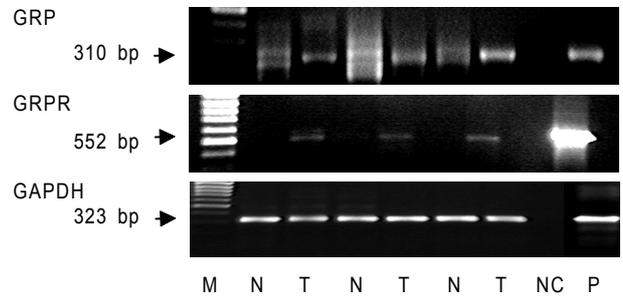


Fig. 1. GRP and GRPR expression in normal gastric mucosa and gastric cancer tissues. M = DNA ladder; N = normal mucosa; T = tumor tissue; NC = negative control; P = positive control.

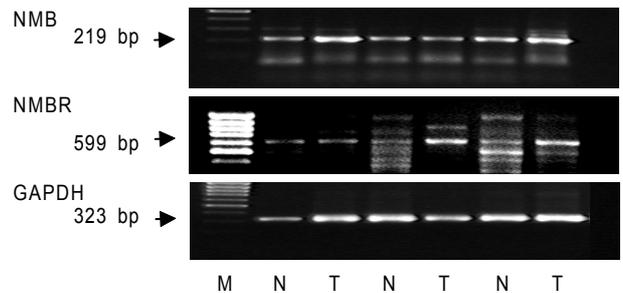


Fig. 2. NMB and NMBR expression in normal gastric mucosa and gastric cancer tissues.

Table 3. Summary of clinical, pathological and experimental data for the analysis of bombesin and receptor mRNA expression

Cases	Diff.	Stage	GRP		GRPR		NMB		NMBR	
			N	T	N	T	N	T	N	T
1	Poor	II	-	-	-	-	+	+	+	+
2	Poor	III	-	-	-	-	+	+	+	+
3	Poor	III	-	-	-	-	+	+	+	+
4	Poor	III	-	-	-	-	+	+	+	+
5	Signet	III	-	-	-	-	+	+	+	+
6	Signet	IV	+	-	-	-	+	+	+	+
7	Well	II	-	+	-	-	+	+	+	+
8	Well	I	+	+	-	-	+	+	+	+
9	Signet	II	+	+	-	-	+	+	+	+
10	Poor	III	+	+	-	-	+	+	+	+
11	Signet	III	+	+	-	-	+	+	+	+
12	Poor	I	+	-	+	-	+	+	+	+
13	Poor	III	-	-	-	+	+	+	+	+
14	Poor	IV	-	-	-	+	+	+	+	+
15	Mod.	II	-	+	-	+	+	+	+	+
16	Mod.	III	-	+	-	+	+	+	+	+
17	Mod.	III	-	+	-	+	+	+	+	+
18	Mod.	II	+	+	-	+	+	+	+	+
19	Mod.	II	+	+	-	+	+	+	+	+
20	Poor	II	+	+	+	+	+	+	+	+

Diff. = differentiation; Mod = moderate; N = normal; T = tumor.

Table 4. Relation of tumor differentiation and GRP, GRPR expression in gastric cancer tissues

Histology (cases)		Diff. (7)	Undiff. (13)	p-value*
GRP	Positive	7 (100%)	4 (31%)	0.005
	Negative	0 (0%)	9 (69%)	
GRPR	Positive	5 (71%)	3 (23%)	0.062
	Negative	2 (29%)	10 (77%)	

*Fisher's exact test.

에에서 모두 발현하였고 미분화암의 경우 69%인 9예에서 발현하지 않아서 통계적으로 유의한 차이를 보였다. GRP 수용체의 경우 역시 분화암의 5예에서 발현 양성이고 미분화암의 77%인 10예에서 발현이 없어서 분화도가 높을수록 발현양성의 빈도가 높았다(Table 4). GRP와 암의 진행도와 연관지어 분석하여 보면 조기위암으로 나타난 2예 중 1예에서 GRP mRNA를 발현하고 있으며, stage II 위암의 경우는 7예 중 6예에서 GRP mRNA가 발현하고, stage III 위암에서는 9예 중 3예에서 발현되었고, stage IV 위암에서는 발현되지 않았다. GRP 수용체의 경우는 조기위암에서 발현되지 않았고 stage II 위암은 7예 중 4예에서, stage III 위암은

9예 중 3예에서, 그리고 stage IV 위암에서는 2예 중 1예에서 발현되었다. 그러나 GRP와 GRP 수용체의 발현 여부는 병기와 통계적인 관련성은 없었으며 종양의 크기, 위치, 침습도, Lauren씨 분류 및 림프절의 침범여부 등과도 연관성은 없었다.

고 찰

성장인자는 세포내부로 신호전달을 함으로써 표적세포의 증식을 자극하는 기능을 하며, 성장인자의 영향을 받는 표적세포는 이에 특이적인 수용체를 소유하여 신호전달을 받아들여지게 된다. 이러한 성장인자들 중 자가분비 성장인자는 분비하는 세포 그 자체의 성장에 영향을 주게 되어 비정상적인 형태의 세포증식을 유발하게 된다.

Bombesin류 펩티드는 테트라테카펩티드로서 양서류의 일종인 *Bombina bombina*의 피부에서 처음 추출되었다.(3) Bombesin류 펩티드는 bombesin, ranatensin, phyllo-litorin의 3종류로 분류되며 인간에서는 bombesin에 속하는 gastrin releasing peptide (GRP)와 ranatensin에 속하는 neuromedin B (NMB)의 형태로 존재한다. Bombesin류 펩티드는 gastrin, gastric inhibitory peptide, enteroglucagon, cholecystokinin, pro-

lactin, growth hormone, insulin 등의 위, 췌장, 뇌하수체 호르몬의 분비를 자극하고, 평활근세포 수축을 통하여 위장관, 담낭, 자궁, 방광 등의 운동을 조절하며, 장상피세포의 성장에 관여한다.

최근 연구결과에 따르면 이들 펩티드는 autocrine 또는 paracrine 작용을 통하여 정상세포나 종양세포의 성장을 조절하는 성장인자로 작용한다고 보고되고 있다. Rosengurt 등(4)이 섬유세포의 일종인 Swiss 3T3 세포주를 통한 in vitro 실험에서 bombesin 주입 후 세포의 성장이 증가되었다는 보고 이후 여러 종양에서 성장인자로서의 역할에 관한 연구가 활발하게 진행되었다. Erisman 등(5)은 방사선면역 측정법과 면역조직화학염색법을 통하여 소세포 폐암세포에서 bombesin의 존재를 확인하였고 Moody 등(6)은 이 펩티드가 폐암세포에서 분비되고 이와 결합하는 고친화력을 지닌 수용체가 존재한다는 사실을 증명하였다. Carney 등(7)은 폐암 세포주 자극실험을 통하여 bombesin과 GRP를 투여하였을 경우 세포집락형성이 150배까지 증가한다는 사실과 함께 이들 펩티드가 세포성장을 조절하는 기능이 있다고 하였으며, Alexander 등(8)은 쥐에게 폐암을 이식한 후 bombesin을 투여하였을 경우 6주 후 77%에서 종양이 성장하고 DNA의 양이 증가하며 이와 함께 적출된 췌장의 무게와 단백질이 증가되어 나타난 사실을 통하여 bombesin이 종양에 대하여 자가분비 성장인자로 작용하거나 혹은 간접적으로 다른 성장인자에 영향을 미치는 기능이 있을 것으로 보고하였다. 또한 Cuttitta 등(9)과 Dienhart 등(10)은 bombesin의 C-terminal 부위에 결합하는 단일클론성 항체를 이용한 실험에서 항체를 투여하였을 경우 bombesin과 세포수용체와의 결합을 방해함으로써 bombesin의 작용감소에 따라 소세포폐암의 성장이 억제된다는 연구를 통하여 bombesin 자체가 종양의 성장을 유발하는 인자로서 작용함을 증명하였다.

한편 대장암에서도 종양성장인자로서의 bombesin류 펩티드에 관한 연구가 많이 진행되었는데 Narayan 등(11)은 쥐의 대장암 세포주인 MC-26를 사용하여 방사선배위결합 측정법을 통하여 쥐의 대장암에서 bombesin류 펩티드의 수용체가 존재함을 최초로 보고하고 종양의 성장효과가 투여한 bombesin에 비례하여 나타난다고 하였다. 대장암에서 이들의 발현이 가지는 의미는 보고에 따라 다소 차이가 있어서 Carrol 등(12)은 대장암 조직을 대상으로 단백면역화학 염색법을 실시한 결과 84%에서 GRP나 GRP 수용체 중 적어도 하나가 존재하며 62%에서는 양자 모두 염색되어 나타나고 정상조직은 발현되지 않는다고 하였다. 그러나 이들의 발현이 질병의 예후와는 관련이 없으며 조직분화도가 좋은 조기암에서 높게 나타난다고 보고하였다. 이외는 대조적으로 Saurin 등(13)이 보고한 바에 따르면, 역전사-중합 효소반응을 통한 GRP 수용체의 mRNA는 중등도 이상의 분화암과 림프관의 침범이 있는 대장암에서 발현도가 높아서

GRP 수용체의 mRNA 발현이 예후인자로서 역할을 할 수 있다고 하였다. 또한 대장암 세포주인 Isrecol 1을 이용한 실험에서 대장암의 20~40%에서 발현되는 GRP와 GRP 수용체가 종양세포의 성장뿐만 아니라 주위조직의 침습과 전이 과정에 중요한 역할을 한다고 주장하였다.(14)

위암의 경우는 아직까지 bombesin류 펩티드에 관련된 보고는 많이 되어있지 않다. Ferris 등(15)은 정상 식도, 위, 소장, 대장 조직 등을 대상으로 역전사-중합효소반응을 실시한 결과 위의 전정부에서만 GRP 수용체가 발현되는 점으로 미루어 암조직에서의 수용체의 발현은 비정상적인 형태의 발현이라고 하였다. Greeley 등(16)은 GRP는 위의 기저부와 전정부의 점막하층과 근육층에 존재하고 특히 기저부의 점막에 고농도로 있으며, autocrine 및 paracrine 형태로 일부 위암의 성장인자로 작용을 한다고 보고하였다. 위암에서 bombesin류 펩티드가 어느 정도의 발현을 보이는지에 관한 연구는 드물다. Preston 등(17)의 연구가 거의 유일한 보고로서 방사선배위결합측정법을 통하여 조사대상의 50% 이상의 위암에서 발현을 한다고 하였는데 흥미로운 점은 위암의 전단계인 Ménétrier씨 병에서도 발현된 점이다. 이 연구에서는 주로 조기위암과 위암의 전단계인 Ménétrier씨 병에서 양성을 보인 것으로 보아 위점막의 악성변화 과정에 bombesin이 주로 작용할 것으로 예상하였다.

본 연구에서는 GRP 수용체의 발현은 40%에서 나타나서 앞서의 연구결과와 다소 차이가 있으나 연구 방법상의 차이로 인하여 발현율의 객관적인 비교는 할 수 없을 것으로 판단된다. 그러나 정상 위점막조직에 비해 암조직에서 발현이 높게 나타난 점과 6예에서 GRP 발현과 GRP 수용체의 발현이 동시에 있으며, 위암세포주의 55%에서 수용체가 발현된다는 점으로 미루어 볼 때 이 수용체가 종양증식에 영향을 주는 인자로 작용함을 예상할 수 있다. 또한 분화도가 좋은 암에서 발현이 높게 나타나는 점으로 미루어 이들이 암의 발생과정에서 세포의 분화과정에서 morphogen으로 작용을 할 것으로 예측된다. 그러나 mRNA의 발현이 반드시 수용체의 존재여부와 일치한다고 할 수는 없기 때문에 향후 방사선배위결합측정법 등을 통하여 단백질의 실제 발현 여부와 이들 수용체의 기능을 확인하는 연구가 필요할 것이다.

Bombesin 수용체가 어떤 과정을 통하여 암 전단계의 점막이나 암조직에 mitogen으로 작용하는지에 관하여는 확실하게 규명되지 않았으나 bombesin이 Swiss 3T3 세포를 증식시킨다는 앞서의 보고와 위암에 bombesin이 고농도로 존재하고 그 수용체가 과발현되어 있다는 점으로 미루어 볼 때 직접적인 영향을 미칠 것으로 생각된다. 한편 Lee 등(18)의 연구에서 bombesin이 췌장세포주 MiaPaCa2에서 수용체 단백질을 인산화시켜 EGF 수용체를 증가시킨다는 사실로 볼 때 위점막이나 암조직이 bombesin의 간접적인 영향을 통하여 EGF나 TGF α 와 같은 펩티드 성장인자의 작용에 보다

민감하게 반응할 가능성이 있다. 또한 최근들어 bombesin류 펩티드에 대한 길항체를 통하여 종양의 성장을 억제할 수 있다는 사실도 보고되고 있는데, Kiaris 등(19)은 쥐에게 교묘세포종을 이식시킨 후 bombesin의 길항체로 작용하는 RC-3095와 RC-3940-II를 투여하였을 경우 종양의 크기가 감소했으며, 이러한 현상은 길항체에 의해 c-fos 유전자의 하향조절이 발생하여 기인한 것으로 보고하였으며, Koppan 등(20)과 Pinski 등(21)은 역시 유사한 실험을 통하여 각각 폐암과 위암을 이식시킨 쥐에서 bombesin 길항체(RC-3095)와 somatostatin 유사체(RC-160)를 주입 시 종양감소 효과가 있음을 입증하고 이 때 EGF 수용체의 발현이 감소된 것으로 미루어 이들의 길항체가 EGF 수용체를 억제시키는 작용을 보유하고 있다고 주장하였다. 이러한 보고들을 검토해 볼 때 향후 bombesin 및 그 수용체의 세포신호전달과정 등 작용기전에 대한 연구가 이루어지고 효능이 우수한 길항체에 대한 연구가 진전되면 bombesin의 길항체를 사용하여 위암의 치료에 적용할 가능성이 있을 것으로 판단된다.

결 론

서울대학교병원에서 위절제수술로 얻은 20예의 위암조직과 정상 위점막조직 및 9종의 위암세포주에 대하여 GRP, NMB 및 GRP 수용체, NMB 수용체 mRNA에 대한 역전사-중합효소연쇄반응을 시행한 결과 위암조직에서 GRP의 발현율은 55%이고, GRP 수용체의 발현은 40%에서 나타났으며, NMB와 NMB 수용체의 발현은 모든 종양과 정상 위점막에서 관찰되었다. GRP와 GRP 수용체의 발현은 여러 임상병리학적 특성 중 위암의 분화도와 연관성이 있었으며 분화 정도가 좋은 암에서 발현이 높게 나타났다. 연구대상의 일부에서 GRP와 GRP 수용체가 동시에 발현되고 위암조직에서 정상조직에 비해 수용체의 발현이 높다는 결과를 통하여 위암에서 이들 펩티드는 위암의 진행에 영향을 주는 인자로 작용할 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) Chave HS, Gough AC, Palmer K, Preston SR, Primrose JN. Bombesin family receptor and ligand gene expression in human colorectal cancer and normal mucosa. *Br J Cancer* 2000; 82:124-30.
- 2) Corjay MH, Dobrzanski DJ, Way JM, Viallet A, Shapira H, Worland P, et al. Two distinct bombesin receptor subtypes are expressed and functional in human lung carcinoma cells. *J Biol Chem* 1991;266:18771-9.
- 3) Anastasi A, Erspamer V, Bucci M. Isolation and structure of Bombesin and Alytensin, two analogous acyive peptides from the skins of European amphibians *Bombina* and *Alytes*. *Experientia* 1971;27:166-7.

- 4) Rozengurt E, Sinner-Smith J. Bombesin stimulation of DNA synthesis and cell division in cultures of Swiss 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983;80:2936-40.
- 5) Erisman MD, Linno RI, Hernandez O, DiAngustine RP, Lazarus LH. Human lung small cell carcinoma contains bombesin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982;79:2379-83.
- 6) Moody TW, Russell EK, O'Donohue TL, Linden CD, Gazdar AF. Bombesin-like peptides in small cell cancer: biochemical characterization and secretion from a cell line. *Life Sci* 1983; 32:487-92.
- 7) Carney DN, Cuttitta F, Moody TW, Minna JD. Selective stimulation of small cell lung cancer clonal growth by bombesin and gastrin-releasing peptide. *Cancer Res* 1987;47:821-5.
- 8) Alexander RW, Upp Jr JR, Poston GJ, Gupta V, Townsend Jr CM, Tompson JC. Effects of bombesin on growth of human small cell lung carcinoma *in vitro*. *Cancer Res* 1988;48:1439-41.
- 9) Cuttitta F, Carney DN, Mulshine J, Moody TW, Fedorko J, Fischer A, Minna JD. Bombesin-like peptides can function as autocrine growth factors in human small-cell lung cancer. *Nature (Lond.)* 1985;318:823-6.
- 10) Dienhart D, Grauer L, Miller Y, Kane M, Bunn P. A monoclonal antibody, BBC353, binds gastrin releasing peptide (GRP) and inhibits growth of small cell lung cancer *in vitro* and *in vivo*. *Clin Res* 1989;35:1087-91.
- 11) Narayan S, Guo YS, Townsend Jr CM, Singh P. Specific binding and growth effects of bombesin-related peptides on mouse colon cancer cells *in vitro*. *Cancer Research* 1990;50:6772-8.
- 12) Carroll RE, Matkowskyj KA, Chakrabarti S, McDonald TJ, Benya RV. Aberrant expression of gastrin-releasing peptide and its receptor by well-differentiated colon cancers in humans. *Am J Physiol* 1999;276:G655.
- 13) Saurin JC, Rouault JP, Abello J, Berger F, Remy L, Chayvialle JA. High gastrin releasing peptide receptor mRNA level is elated to tumour dedifferentiation and lymphatic vessel invasion in human colon cancer. *Eur J Cancer* 1999;35:125-32.
- 14) Saurin JC, Nemos-Gaillard E, Sordat B, Cuber JC, Coy DH, Abello J, Chayvialle JA. Bombesin stimulates adhesion, spreading, lamellipodia formation, and proliferation in the human colon carcinoma Isreco1 cell line. *Cancer Research* 1999;59: 962-7.
- 15) Ferris HA, Carroll RE, Lorimer DL, Benya RV. Location and characterization of the human GRP receptor expressed by gastrointestinal epithelial cells. *Peptides* 1997;18:663-72.
- 16) Greeley GH, Spannagel A, Hill FL, Thompson JC. Comparison of the actions of bombesin, gastrin-releasing peptide-27, neuromedin B, and gastrin-releasing peptide-10 in causing release of gastrin and gastric inhibitory peptide in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1986;183:136-9.
- 17) Preston SR, Woodhouse LF, Jones-Blackett, Wyatt JI, Primrose JN. High affinity binding sites for gastrin releasing peptide on human gastric cancer and Ménétrier mucosa. *Cancer*

- Res 1993;53:5090-2.
- 18) Lee MT, Leibow G, Krebs LJ, Schally AV. Bombesin and gastrin releasing peptide (GRP) induce phosphorylation and up-regulation of epidermal growth factor receptor. Proc Am Assoc Cancer Res 1993;34:244.
- 19) Kiaris H, Schally AV, Sun B, Armatis P, Groot K. Inhibition of growth of human malignant glioblastoma in nude mice by antagonists of bombesin/gastrin-releasing peptide. Oncogene 1999;18:7168-73.
- 20) Koppan M, Halmos G, Arencibia JM, Lamharzi N, Schally AV. Bombesin/gastrin-releasing peptide antagonists RC-3095 and RC-3940-II inhibit tumor growth and decrease the levels and mRNA expression of epidermal growth factor receptors in H-69 small cell lung carcinoma. Cancer 1998;83:1335-43.
- 21) Pinski J, Halmos G, Yano T, Szepeshazi K, Qin Y, Ertl T, Schally AV. Inhibition of growth of MKN45 human gastric-carcinoma xenografts in nude mice by treatment with bombesin/gastrin-releasing-peptide antagonist (RC-3095) and somatostatin analogue RC-160. Int J Cancer 1994;57:574-80.
-