

간세포암에서 Matrix Metalloproteinase 발현의 임상적 의의

영남대학교 의과대학 외과학교실

이동식 · 김홍진 · 권우형 · 이상일 · 윤성수 · 김상운

The Clinical Significance of Expression of Matrix Metalloproteinase in Hepatocellular Carcinoma

Dong Shik Lee, M.D., Hong Jin Kim, M.D., Woo Hyung Kwun, M.D., Sang Il Lee, M.D., Sung Su Yun, M.D. and Sang Woon Kim, M.D.

Purpose: A hepatocellular carcinoma is an epithelial cancer, originating from hepatocytes, and frequently shows early invasion into blood vessels, with intrahepatic metastasis. Matrix metalloproteinases (MMPs) are endogenous peptidases capable of degrading various components of basement membranes. The ability of malignant epithelial cells to degrade extracellular matrices and basement membranes are important steps in the metastatic invasion process, and it is necessary for cancer cells to acquire this cleavage ability in order to become invasive.

Methods: To evaluate the clinical significance of the expressions of MMPs in hepatocellular carcinomas, twenty-five patients with hepatocellular carcinomas (HCC group), and twelve patients with normal livers (control group), were enrolled in this study between July 2001 and July 2002.

Results: The expression of MMP-9 was significantly elevated in the HCC group (80.3±9.4) compared with that of the control group (54.7±5.6) ($P < 0.05$). The expressions of MMP-9 in the large (greater than 5 cm) and small (lesser than 5 cm) sized tumor groups were 90.2±6.0 and 77.1±1.8, respectively. In positive and negative vascular invasion groups the levels of MMP-9 expression were 91.6±3.2 and 75.9±6.9 and in the positive and negative capsular infiltration groups they were 89.3±6.3 and 78.0±8.7, respectively. The levels MMP-9 expression in the HCC patients with large tumors (>5 cm), vascular invasion and capsular infiltration were significantly higher than in those without these clinical manifestations ($P < 0.05$). There was no significant correlation between MMP-9 expression and liver cirrhosis or histological type.

Conclusion: The present study shows a close relationship between the expression of MMP-9 and capsular infiltration, vessel invasion and tumor stage in HCC. MMP-9 may be used as a prognostic marker and for the development of strategies for the treatment modality in HCC. (J Korean Surg Soc 2003;65:329-334)

Key Words: Matrix metalloproteinases, Hepatocellular carcinoma, Intrahepatic metastasis

중심 단어: 기저막 단백질분해효소, 간세포암, 간내전이

Department of Surgery, Yeungnam University College of Medicine, Daegu, Korea

서론

간세포암은 우리나라에서 지난 10년 간 꾸준히 증가하고 있으며 남성의 경우, 암 사망률은 폐암에 이어 2위를 기록하고 있다. 진행성 간세포암의 경우 그 예후가 매우 불량하여 적절한 치료를 받지 않을 경우 대개 6개월 이내에 사망하는 것으로 알려져 있다. 그러나 최근에는 만성 B형 간염, 간경변증 환자 등의 고위험군에서 정기적인 간-담도 초음파 검사, 복부단층촬영 및 혈청 태아단백질(alpha-fetoprotein)를 측정함으로써 조기에 발견하는 경우가 늘고 수술적 절제를 포함한 다중 치료법으로 예후가 향상되고 있으나 아직도 술 후 재발은 매우 높게 보고되고 있다. 이에 재발 빈도를 낮추기 위해 수술 전후에 불량한 각종 예후 인자를 확인하고자 하는 연구가 진행되고 있다.

간세포암 수술 후 예후에 관여하는 인자 중 종양의 크기, 조직학적 형태, 혈관 침범 유무, 간내 전이 유무 등이 중요한 것으로 알려져 있다.(1) 최근에는 종양세포의 분자생물학적 연구가 발달함에 따라 암의 침윤과 전이과정의 연구가 행해지고 있는데 신생혈관 생성의 첫 단계인 기저막 용해단계가 침윤과 전이의 중요한 과정으로 제시되고 있으며 기저막 단백질분해효소(matrix metalloproteinase; MMP)가 매우 중요한 역할을 함이 확인되고 있다.(2-4) 그러나 현재까지의 연구 결과, MMP가 종양세포에서 직접 분비되는

책임저자 : 김홍진, 대구광역시 남구 대명동 317-1번지
☎ 705-717, 영남대학교 의과대학 외과학교실
Tel: 053-620-3585 Fax: 053-624-1213
E-mail: hjkim@med.yu.ac.kr

접수일 : 2003년 5월 15일, 게재승인일 : 2003년 7월 14일

지 아니면 주위 섬유아세포나 내피세포에서 분비되는지는 확실하지 않다. 또한 많은 암조직에서 type IV collagenase가 관찰되지만 어떠한 기전으로 72 kD, 92 kD 비활성형에서 62 kD, 82 kD 활성형으로 전환되는지는 알려져 있지 않다.(5) 아울러 단백분해효소의 분비는 암의 악성도와 관련이 있다고 가정하여 이를 암의 예후를 측정하는 새로운 생물학적 인자로 사용하려는 시도도 현재 진행 중에 있다.

이에 본 연구에서는 향후 간세포암 환자들의 예후를 예측하고 치료방침을 결정하는데 도움을 받고자 type IV collagenase 중 대표적인 MMP-9 (92 kD)과 MMP-2 (72 kD)의 발현빈도를 정상간조직과 간암조직에서 비교하였고 또 암의 침윤 및 전이정도와의 관계와 다른 임상적 인자들과의 상관성을 분석하여 암의 단계적 진행과정에서의 MMP 발현변화에 대하여 조사하였다.

방 법

1) 대상

2001년 7월부터 2002년 7월까지 영남대학교 의과대학 외과학교실에서 간세포암으로 확진하고 수술을 시행한 환자 25명을 대상으로 하였다. 이에 대한 대조군으로 간세포암이 아닌 다른 질환(외상성 간 괴열 혹은 열상; 9명, 간내담관 결석; 3명)으로 개복술을 시행하여 절제한 간조직을 가진 12명의 환자를 대상으로 하였다.

2) 조직 검체

수술 시 획득한 간세포암조직에서 zymography를 위하여 채취된 조직을 잘게 자른 후 단백분해완충용액(protein lysis buffer solution)에 담가 조직과 완충용액의 혼합을 위하여 원심분리를 시행하였다. 분해된 조직액을 분리하여 각각의 표본에 대한 단백질 정량과정으로 균일한 양의 단백질을 추출하여 실험에 이용하였다.

3) Zymography

MMP의 역할 및 발현변화 유무를 확인하고자 정상 및 암조직의 세포질에 대한 zymography를 시행하였다. 각각의 표본을 일정한 type IV collagen의 기질이 포함된 gel (Novex®, Invitrogen, Carlsbad, USA)을 사용하여 20 mA에서 전기 영동을 시행하였다. 이때 gelatinase marker로 RPMI-7951 세포주 배양에서 추출한 conditioned media를 92 kD과 72 kD의 표지자로 사용하였다. Gel을 renaturing buffer로 20°C에서 30분간 반응시킨 다음 5분간 developing buffer로 세척한 후 다시 37°C의 신선한 developing buffer에서 15시간 반응시키고 Coomassie brilliant blue 염색을 시행하였다. Gel을 고정시킨 후 densitometer로 각각의 lytic band의 밀도를 측정하였다. 각 실험간의 오차를 줄이기 위하여 문 등(6)이 사용한 방법과 동일하게 검체의 band 밀도와 marker band (RPMI-

7951 cell line) 밀도의 백분율로서 MMP의 발현량을 계산하였다.

4) 임상양상의 통계학적 분석

간세포암조직과 정상간조직에서의 MMP의 발현율을 비교하였으며, 간세포암조직에서의 MMP의 발현율을 종양의 크기, 간경변증의 유무, 혈관의 침범 유무, 섬유성 피막의 침습유무, 조직학적 분화도, 조직학적 병기에 따라 분석하였다.

실험결과는 평균±표준편차로 표시하였고, Student t-test와 ANOVA검사를 시행하여 P-value가 0.05 미만인 경우에 통계적 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

간세포암군은 총 25명이었으며 남자 18명, 여자 7명이었고 평균연령은 52.7±8.2세였다. 수술은 lobectomy 4예, sectionectomy 2예, segmentectomy 17예, wedge resection이 2예였다. 정상간조직을 가진 대조군은 총 12명이었으며 남자 8명, 여자 4명이었고 평균연령은 57.2±5.3세였다. 수술은 lobectomy 1예, segmentectomy 3예, wedge resection 3예, 일차봉합술 5예였다(Table 1).

1) 실험군과 대조군의 MMPs의 발현율

간세포암군과 대조군간의 MMP-9 (92 kD) 발현량을 분석해 보면 간세포암군에서는 80.3±9.4, 대조군에서는 54.7±5.6으로 간세포암군에서 통계적으로 유의성이 있게 높았다(P<0.05). MMP-2 (72 kD)의 경우 간세포암에서 42.0±3.7, 대조군에서는 37.8±8.9로 통계적 유의성이 없었다(Table 2).

Table 1. Characteristics of the patients with hepatocellular carcinoma and control group

	HCC	Control
Number	25	12
Sex(male : female)	18 : 7	8 : 4
Age(years)* (range)	52.7 (37~68)	57.2 (33~62)
Operation		
Lobectomy	4	1
Sectionectomy	2	
Segmentectomy	17	3
Wedge resection	2	3
Primary closure		5

HCC = hepatocellular carcinoma. *Age = mean age.

Table 2. Expression of MMP between hepatocellular carcinoma and control group

	HCC	Control
MMP-9	80.3±9.3*	54.7±5.6
MMP-2	42.0±3.7	37.8±8.9

Values are mean±SD; HCC = Hepatocellular carcinoma; MMP = Matrix metalloproteinase. *P<0.05 compared with control values; Student t-test.

Table 3. Correlation between clinicopathologic factors and expression of MMP-9

Factor	No. of patients	MMP-9	P-value
Tumor size			
5 cm >	19	77.1±1.8	0.01*
5 cm ≤	6	90.2±6.0	
Liver cirrhosis			
Negative	8	76.9±8.6	0.22*
Positive	17	81.9±9.5	
Vessel invasion			
Negative	18	75.9±6.9	<0.01*
Positive	7	91.6±3.2	
Capsule infiltration			
Negative	20	78.0±8.7	0.01*
positive	5	89.3±6.3	
Histologic type			
Well differentiated	9	76.4±8.6	0.12*
Moderately differentiated	16	82.5±9.3	
Tumor stage			
I	3	74.6±6.1	<0.0 [†]
II	15	76.6±8.0	
III	7	90.6±4.1	

Values are mean±SD. *Student t-test; [†] ANOVA test.

2) 간세포암의 크기와 MMP-9의 발현율

간세포암의 크기와 MMP-9과의 발현율을 비교 분석하기 위해 암종의 크기를 5 cm 미만군, 5 cm 이상인 군으로 분류하였다. 5 cm 미만인 군은 19명으로 MMP-9의 발현율은 77.1±1.8이었고 5 cm 이상인 군은 6명이었고 MMP-9의 발현율은 90.2±6.0으로 암종의 크기가 큰 군에서 유의하게 높았다(P<0.05).

3) 간경변증과 MMP-9의 발현율

간경변증의 조직학적 소견이 있는 환자가 총 17명으로 MMP-9의 발현율은 81.9±9.5이었고 간경변증소견이 없는

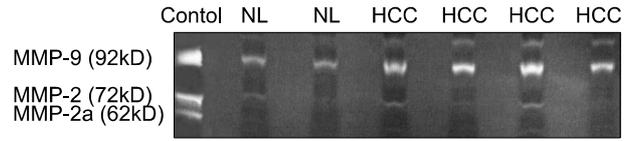


Fig. 1. Gelatin zymography on normal liver tissue and HCCs. RPMI (lane 1) shows a bright band of MMP-9. Normal liver tissues (lanes 2 and 3) show faint reaction bands for MMP-9. Tumor samples of HCC (lanes 4-7) contain increased amounts of MMP-9. NL: Normal liver, HCC: Hepatocellular carcinoma.

환자는 총 8명으로 MMP-9의 발현율은 76.9±8.6이었는데 두 군간의 통계적 유의성은 없었다(P>0.05).

4) 혈관침범과 MMP-9의 발현율

조직학적 검사상 혈관의 침범이 있었던 군과 없었던 군간의 MMP-9의 발현율을 비교한 결과 침범이 있는 경우가 총 7예였고 MMP-9의 발현율은 91.6±3.2였으며 혈관침범이 없는 군은 총 18예로 MMP-9의 발현율은 75.9±6.9였다. 혈관침범이 있는 군에서 혈관침범이 없는 군에 비해 MMP-9의 발현율은 통계적으로 유의 있게 높았다(P<0.05).

5) 섬유성 피막의 침윤과 MMP-9의 발현율

섬유성 피막의 침윤이 있는 경우가 5예였고 MMP-9의 발현율은 89.3±6.3이었으며 섬유성 피막의 침윤이 없는 경우가 20예였고 MMP-9의 발현율은 78.0±8.7로 섬유성 피막의 침윤이 있는 경우가 없는 경우보다 MMP-9의 발현율이 통계적으로 유의 있게 높았다(P<0.05).

6) 조직의 분화도와 MMP-9의 발현율

조직의 분화도에 따른 분석결과 조직검사상 고 분화 간세포암을 가진 예는 9예로 MMP-9 발현율은 76.4±8.6이었고 중등도 분화 간세포암을 가진 예는 16예로 MMP-9의 발현율은 82.5±9.3이었으며 저 분화도를 가진 간세포암은 없었다. 고분화 간세포암과 중등도 분화 간세포암간의 MMP-9의 발현율은 통계적으로 유의성이 없었다(P>0.05).

7) 병기와 MMP-9의 발현율

간세포암의 병기를 1기, 2기, 3기, 4기로 나누고 이에 따른 MMP-9의 발현율을 비교 분석한 결과 1기에 해당하는 환자는 3명이었고 발현율은 74.6±6.1, 2기는 15명이었고 발현율은 76.6±8.0, 3기는 7명이었고 발현율은 90.6±4.1이었다. 4기에 포함되는 대상은 없었다. 통계적 결과 병기가 올라갈수록 MMP-9의 발현율의 증가는 유의 있게 높았다(P<0.05).

고찰

우리 나라에서 원발성 간암은 연간 성인 남자 10만명당 21.7~30.5명의 발생률을 보이는 매우 흔한 악성 종양이며(7) 보존적 치료만을 받은 간세포암 환자의 중앙생존기간이 4개월, 그리고 6개월 누적생존율이 37.5%로서 그 예후는 매우 불량하다.(8) 간세포암의 예후가 이렇게 불량한 이유는 질환의 초기에는 간세포암을 시사하는 특이 증상이나 징후 없이 서서히 진행하므로 간세포암이 임상적으로 진단될 당시에는 이미 적절한 치료를 할 수 없을 정도로 진행되어 있는 것과 간세포암의 약 80%는 기존의 간경변증에서 병발되기 때문에 간경변증의 합병증으로 인한 사망이 많고 또한 간내 전이와 다중심성 발생에 의한 재발이 많은 점 때문이다. 그러므로 수술적 절제가 가능한 간세포암을 조기에 진단하기 위해서 간세포암 발생의 위험도가 높은 환자군을 대상으로 감시검사가 필요하다. 그래서 초음파 검사, 혈청 태아단백치 등이 권장되어 조기 간암의 발견율이 높아졌지만 아직도 수술적 절제의 비율은 다른 암에 비해 낮은 편이다. 또한 절제 가능한 간세포암환자에 있어서 예후가 불량한 주된 이유는 수술 후 재발이다. 따라서 간암의 장기적 예후를 향상시키기 위해서는 재발에 대한 효과적인 예방과 재발된 경우 효과적인 치료 방법의 개발이 반드시 필요하다. Nagasue 등(9)은 간세포암으로 근치적 간절제술을 시행 후 사망원인을 분석한 결과 60%가 간내 재발로 인한 것으로 발표하였고 재발에 관련된 위험인자의 규명을 위한 여러 연구가 시행되었다. 이러한 연구들에서 거론되었던 위험인자들은 각각의 연구에 따라 약간씩 차이가 있으나 종양의 크기, 종양의 수, 혈관의 침습성 등이 주로 거론되었고 그밖에 혈청 알파 태아단백치, DNA ploidy, 종양 섬유성 피막의 침윤성, 종양의 섬유성 피막형성 여부 등도 언급되고 있다.(10,11) 이와 같이 간내전이의 영향을 미치는 불량한 예후 인자의 예측은 수술 후 환자의 경과 관찰의 자료로 사용할 수 있으며 예후가 나쁜 경우에는 보다 적극적인 치료를 시행하는 기준이 될 수 있다. 또한 환자의 예후에 있어 간내 재발에 중요한 조직학적 특성은 문맥 침범과 종양 섬유성피막의 침윤 등으로 알려져 있는데 이들 과정의 분자학적 기전을 밝힘으로써 간세포암의 치료의 새로운 치료방법의 정립에 중요한 역할을 하리라 생각되어진다.

암의 침윤, 진행 및 전이는 몇 가지 단계적 과정이 연속적으로 발생하면서 일어나는 현상이다. 종양이 증식함에 따라 새로운 혈관이 생성되지 못하면 암 세포의 증식과 사멸이 균형을 이루게 되어 종양의 크기가 수 mm³에 불과한 상태(pre-vascular phase)가 유지된다. 대부분의 종양은 어느 증식 시점에서 일부 암 세포가 신생혈관을 생성할 수 있는 능력을 획득하게 되며, 이 시기부터 종양은 급속도로 성장

하게 된다. 신생혈관이 생성되는 과정은 매우 복잡하나 몇 가지의 단계로 구분할 수 있다. 신생혈관생성을 위한 자극이 기존의 혈관에 전달되면 혈관이 팽대하고 아울러 막투과도가 증가하게 된다. 팽대된 혈관을 통해 fibrin이 혈관 밖으로 빠져나와 혈관주위 세포의 기질에 침착한 후 주위 미세 환경을 변화시켜서 혈관이 잘 생성될 수 있는 환경으로 조장할 뿐 아니라 세포증식에도 용이한 환경을 유지시킨다. 이후 기존 혈관의 기저막을 용해시키기 위해 단백분해효소가 활성화되며, 단백분해효소에 의해 파괴된 기저막 사이로 내피세포가 혈관을 빠져나와 주위 세포의 기질에서 증식하고 이동하게 된다. 마지막으로, 일렬로 배열한 내피세포들이 맥관을 이룸으로써 새로운 혈관을 생성하게 된다. 신생혈관생성의 기전은 아직까지 정확히 규명되지 않았으나 다수의 연구결과 암 세포에서 생산되는 혈관생성인자와 암세포 주위의 정상세포 사이의 상호작용에 의해 발생되는 것으로 확인되었다. 즉, 암 세포는 내피세포 성장인자인 vascular endothelial growth factor (VEGF)/vascular permeability factor (VPF)와 basic fibroblast growth factor (bFGF)를 분비하여 내피세포의 증식을 유도할 뿐 아니라 혈관의 막투과성을 강력하게 증가시켜 내피세포의 증식과 이동을 유도하고, 내피세포는 여러 가지 종양성장인자(bFGF; basic fibroblast growth factor, PDGF; platelet derived growth factor, IGF-1; Insulin-like growth factors-1, IL-6; interleukin-6, G-CSF; colony-stimulating factor, HB-EGF; heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor)를 생성함으로써 종양의 증식을 유도하여 암 세포의 전이가 발생되는 것으로 알려졌다. 최근 들어 이와 같은 일련의 과정 중 암세포에서 분비되는 내피세포 성장인자의 역할뿐만 아니라 기존의 혈관 기저막을 용해시켜 내피세포의 이동을 유발시키는 단백분해효소의 역할이 주목받기 시작하였다.(12-16)

전이능이 있는 암세포는 기저막에 부착시 용해구역을 형성한 뒤 기저막을 분해시킴이 알려졌고 이와 같은 기저막 파괴에는 여러 종류의 단백분해효소들이 관여하며, 그 중에서도 matrix metalloproteinase (MMP)가 결합조직의 단백을 파괴하여 암의 전이를 유발할 뿐만 아니라, 정상조직의 증식 발달, 조직재생 및 상처 치유에도 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다.(17-19)

MMP는 세포외 기질을 용해하는 효소로서 암의 전이와 관련하여 처음에는 주로 기저막 용해 등 혈관외유출(extravasation)에 관여하는 것으로 생각되었으나, 최근에는 일차성 및 전이성 종양의 증식 및 혈관생성에 직접 관여하여 전이에 미치는 영향이 광범위하다는 개념이 세워지고 있다.(20) MMP 군은 세포외 기질의 다양한 구성요소의 단백분해에 중요한 역할을 하며 MMP-2와 MMP-9는 기저막의 주요 구성 요소인 type IV collagen의 변성을 일으킨다. 이들 효소의 생산은 결합조직 뿐만 아니라 암조직에서도 생성이 되는 것으로 밝혀져 있다.(21,22)

Hicks 등(23)은 type IV collagenase와 전이능(metastatic potential)과의 관계를 여러 동물실험에서 증명하였다. 현재까지 20여종의 MMP가 밝혀졌는데 유방암, 위암 등에서 많이 발현되고 암의 침윤과 불량한 예후에 관련성이 있다고 보고되는 것이 MMP-9 (92 kD)와 MMP-2 (72 kD)이고 간세포암에 있어서는 MMP-9과 MMP-2가 MMP-1과 MMP-3보다 전이와 연관이 있는 것으로 발표되었지만(24) 아직 암의 전이와 침윤에 가장 중요한 역할을 하는 MMP에 대해서는 규명되지 않았고 또한 가장 효과적인 치료 대상이 되는 MMP에 대해서도 규명되어 있지 않다.

간세포암은 80%가 섬유화 조직으로 섬유성 피막화되어 있고 대부분 간세포암이 세포외 기질이 풍부한 기저 질환과 동반되어 있으므로 중앙 섬유화피막의 침윤과 세포외 기질의 파괴는 간세포암의 침습에 중요한 과정이다. 간내 전이의 중요한 경로인 문맥침범은 기저막의 파괴를 필요로 한다.(1,10) 이러한 배경으로 MMP 유전자와 간세포암의 침습능에 대한 연구가 시도되었고 MMP는 비종양성조직과 조기 간세포암과 비교하여 진행성 간세포암에서 더 많이 발현되고 강도 또한 더 강하다는 보고가 있었다.(25) 하지만 Terada 등(26)은 간세포암에서는 MMP의 발현이 없었고 간내담관암에서만 MMP의 발현이 있었다고 보고하였다. 그러나 본 연구의 결과 간세포암의 조직에서 정상적인 간세포조직에서 보다 더 많은 MMP-9의 발현율을 확인할 수 있었다. 또한 간세포암조직에서 MMP-2의 발현이 더 많다는 보고(24)들과는 달리 본 연구에서는 정상적인 간세포조직과 간세포암조직에서 MMP-2의 발현율은 통계적 유의성이 없었다. MMP의 단백질해능을 조절하는 여러 인자 중 자연적 억제제인 TIMP (tissue inhibitors of metalloproteinase)의 발현 유무와 MMP 발현율에 따른 침습능에 관한 연구 등도 시행되고 있으나 본 연구에서는 TIMP에 대한 조사는 시행하지 못하였고 향후 보다 많은 조직의 확보를 통한 연구가 필요하리라 생각된다.

Arii 등(20)과 Davies 등(27)은 MMP-mRNA와 병리조직학적 소견과의 상관관계는 중앙이 섬유성 피막을 형성하고 있는 군에서 없는 군에 비해 더 강한 발현을 보이며, 또한 MMP-2보다 MMP-9가 더 강한 발현을 보여 MMP-9가 간세포암의 침습능에 더 관여하고 있다고 보고하였다. 본 연구의 결과 역시 섬유성 피막의 침윤이 있는 군에서 없는 군에 비해 MMP-9의 발현율이 유의하게 높았으며 이는 MMP-9가 섬유성 피막의 침습능과 전이에 중요한 역할을 한다는 것을 뒷받침한다.

간세포암의 크기와 혈관침범에 따른 MMP-9의 발현은 본 연구 결과, 중앙의 크기가 5 cm 이상인 군에서 그리고 혈관 침범이 있는 군에서 유의 있는 증가를 보였다. 간세포암의 병기와 MMP-9 발현 사이의 비교에서도 통계적 유의성을 확인할 수 있었는데 이는 중앙이 크고 혈관침범이 있는 경우 병기가 올라감으로 인해 혈관침범이 있는 경우 병기 또

한 올라가므로 통계적으로 의미 있는 결과를 도출했다고 생각되며 MMP-9의 발현율이 높은 군에서 예후가 더 나쁜 것으로 예견된다.

조직학적 분화도와 MMP-9의 발현율과의 비교에서 유의한 차이를 확인할 수 없었는데 이는 MMP-9가 기저막 침습의 기전에는 관여하지만 조직의 분화에는 관여하지 않음을 시사한다.

본 연구에서는 간세포암의 높은 침습능에 따른 섬유성 피막의 침윤과 혈관의 침습에 MMP-9의 발현율이 높은 것을 확인할 수 있었고 또한 MMP-9의 발현율이 높은 군에서 병기도 높게 나타나 향후 간세포암의 예후 척도 및 수술 후 치료 방침을 결정하는데 이용할 수 있을 것으로 생각한다.

결론

간세포암은 여러 진단적 방법과 치료의 발전에도 불구하고 나쁜 예후를 보이는 암 중의 하나이다. 근치적 수술적 절제 후에도 조기에 간내 전이가 잘 일어나 치료성적이 불량한 암이다. 환자의 예후에 있어 중요한 조직학적 특성은 문맥침범과 중앙 섬유성 피막의 침범 등으로 알려져 있고 이들 과정의 분자학적 기전의 이해는 간세포암의 치료의 새로운 치료방법의 정립에 중요한 역할을 하리라 생각된다. 본 연구에서는 정상 간조직과 간암조직을 대상으로 하여 type IV collagenase 중 대표적인 MMP-9, MMP-2의 발현 빈도를 암의 침윤 및 전이 정도와 비교하고 다른 임상적 인자들과의 상관성을 조사함으로써 암의 단계적 진행과정에서 MMP의 발현변화 유무가 간세포암의 예후에 미치는 영향을 확인하고 향후 간세포암 환자들의 예후를 예측하고 치료방침을 개선하는데 도움을 받고자 하였다. 연구 결과 간세포암 조직에서 정상 간세포조직에 비해 MMP-9의 발현율이 높았고 침습능에 관여하는 섬유성 피막의 침윤과 혈관의 침범이 있는 간세포조직에서 또한 더 높은 발현율을 보였다. 또한 암종의 크기가 클수록, 병기가 높을수록 MMP-9의 발현율이 높았으나 간경변증이 있는 군과 없는 군 사이에는 통계적 유의성이 없었고 조직의 분화도에 대해서도 통계적 유의성은 없었다.

본 연구에서 간세포암의 높은 침습능에 따른 섬유성 피막의 침범과 혈관의 침습에 MMP-9의 발현율이 높은 것을 확인할 수 있었고 또한 MMP-9의 발현율이 높은 군에서 병기도 높게 나타나 향후 간세포암의 예후 척도로 사용할 수 있고 수술 후 치료방침을 결정하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 생각한다.

REFERENCES

- 1) Arii S, Tanaka J, Yamazoe Y, Minematsu S, Morino T, Fujita K, et al. Predictive factors for intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after partial hepatectomy. *Cancer* 1992;

- 69:913-9.
- 2) Folkman J, Shing T. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992;267:10931-4.
 - 3) Brown PD, Bloxidge RE, Anderson E, Howell A. Expression of activated gelatinase in human invasive breast carcinoma. *Clin Exp Metastasis* 1993;11:183-9.
 - 4) Tryggvason K, Hoyhtya M, Pyke C. Type IV collagenase in invasive tumors. *Breast Cancer Res Treat* 1993;24:209-18.
 - 5) Okada Y, Tsuchiya H, Shimizu H, Tomita K, Nakanishi I, Sato H, et al. Induction and stimulation of 92-kDa gelatinase/type IV collagenase production in osteosarcoma and fibrosarcoma cell lines by tumor necrosis factor alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;171:610-7.
 - 6) Moon Y, Yang H, Jeung H, Ra S, Kim T, Yoo N, et al. Application of Gabexate Mesylate IC against MMP-9 using ex vivo model in gastric cancer: Prognostic factor and selection criteria for anti-MMP treatment. *Cancer Research and Treatment* 2000;32(1):7-18.
 - 7) Ahn Y, Kim J, Park B, Yoo K, Lee H, Tagao S. Incidence estimation of primary liver cancer among Koreans. *Cancer Research and Treatment* 1989;21:241-8.
 - 8) Kim J, Lee J, Lee H. Natural history of hepatocellular carcinoma and survival rate in relation to various treatment modalities-Analysis for past 20 years experience. *The Korean Journal of Internal Medicine* 1993;45:141-53.
 - 9) Nagasue N, Uchida M, Makino Y, Takemoto Y, Yamanoi A, Hayashi T, et al. Incidence and factors associated with intrahepatic recurrence following resection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1993;105:488-94.
 - 10) Arii S, Tobe T. Result of surgical treatment: Follow up study by liver cancer study group of Japan. Springer-Verlag, Tokyo, 1992, p243-55
 - 11) Qin LX, Tang ZY. The prognostic molecular marker in hepatocellular carcinoma *World J Gastroenterol* 2002;8:385-92.
 - 12) Liotta LA. Tumor invasion and metastases-role of the extracellular matrix: Rhoads Memorial Award lecture. *Cancer Res* 1986;46:1-7.
 - 13) Nakajima M, Welch DR, Belloni PN, Nicolson GL. Degradation of basement membrane type IV collagen and lung subendothelial matrix by rat mammary adenocarcinoma cell clones of differing metastatic potentials. *Cancer Res* 1987;47:4869-76.
 - 14) Tryggvason K, Hoyhtya M, Salo T. Proteolytic degradation of extracellular matrix in tumor invasion. *Biochim Biophys Acta* 1987;907:191-217.
 - 15) Collier IE, Wilhelm SM, Eisen AZ, Marmer BL, Grant GA, Seltzer JL, et al. H-ras oncogene-transformed human bronchial epithelial cells (TBE-1) secrete a single metalloprotease capable of degrading basement membrane collagen. *J Biol Chem* 1988;263:6579-87.
 - 16) Nicolson GL. Metastatic tumor cell interactions with endothelium, basement membrane and tissue. *Curr Opin Cell Biol* 1989;1:1009-19.
 - 17) Sato H, Takino T, Okada Y, Cao J, Shinagawa A, Yamamoto E, et al. A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumour cells. *Nature* 1994;370:61-5.
 - 18) Kleiner DE, Stetler-Stevenson WG. Quantitative zymography: detection of picogram quantities of gelatinase. *Anal Biochem* 1994;218:325-9.
 - 19) Kleiner DE, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases and metastasis. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999;43:42-51.
 - 20) Arii S, Mise M, Harada T, Furutani M, Ishigami S, Niwano M, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase 9 gene in hepatocellular carcinoma with invasive potential. *Hepatology* 1996;24:316-22.
 - 21) Sato H, Kida Y, Mai M, Endo Y, Sasaki T, Tanaka J, et al. Expression of genes encoding type IV collagen-degrading metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in various human tumor cells. *Oncogene* 1992;7:77-83.
 - 22) Rao JS, Steck PA, Mohanam S, Stetler-Stevenson WG, Liotta LA, Sawaya R. Elevated levels of M(r) 92,000 type IV collagenase in human brain tumors. *Cancer Res* 1993;53:2208-11.
 - 23) Hicks NJ, Ward RV, Reynolds JJ. A fibrosarcoma model derived from mouse embryo cells: growth properties and secretion of collagenase and metalloproteinase inhibitor(TIMP) by tumour cell lines. *Int J Cancer* 1984;33:835-44.
 - 24) Tsuchiya Y, Endo Y, Sato H, Okada Y, Mai M, Sasaki T, et al. Expression of type-IV collagenases in human tumor cell lines that can form liver colonies in chick embryos. *Int J Cancer* 1994;56:46-51.
 - 25) Okazaki I, Wada N, Nakano M, Saito A, Takasaki K, Doi M, et al. Difference in gene expression for matrix metalloproteinase-1 between early and advanced hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 1997;25:580-4.
 - 26) Terada T, Okada Y, Nakanuma Y. Expression of immunoreactive matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in human normal liver and primary liver tumors. *Hepatology* 1996;23:1341-4.
 - 27) Davies B, Brown PD, East N, Crimmin MJ, Balkwill FR. A synthetic matrix metalloproteinase inhibitor decreases tumor burden and prolongs survival of mice bearing human ovarian carcinoma xenografts. *Cancer Res* 1993;53:2087-91.