폐암 환자의 혈청과 조직 표본상에서 Alpha 1-Proteinase Inhibitor의 조사 연구#

°고신대학교 의학부 흉부외과학 교실, °°고신대학교 의학부 병리학 교실, °°°고신대학교 의학부 약리학 교실
김송명°, 조성래°, 이재성°, 박성달°, 허강배°, 하현철°, 김수현°, 허만하°°, 강구일°°°

< 서론 > Alpha 1-Proteinase Inhibitor(이하 Alpha 1-PI)는 간에서 생성되는 다형체의 당 단백체로서 혈청내에 다량 존재하며, Proteinase Inhibitor계를 형성하여 염증의 진행에서 급성반응체로서 주로 작용하나 아직도 단백분해효소 억제능력 이외에도 밝혀지지 않은 미지의 부분이 있다. 이에 저자들은 암세포와 정상조직의 파괴로 인하여 혈액내의 Alpha 1-PI가 조직이나 삼출액으로의 이행을 일으키고 이것은 폐암 조직 표본상에서 농도의 차이를 보일 것으로 예견되어 폐암 절제술 후 폐암조직에서의 조직 표본상의 Alpha 1-PI 분포를 면역 조직 화학 염색법(immunohistochemical staining method)으로 조사하여 암세포가 정상조직으로의 이행 기전을 관찰해 보고자 한다.

< 연구 대상 및 방법 > 1) 연구 대상 : 사전 조사와 주 연구로 구분하였다. 주연구는 1992년 9월 부터 1993년 7월까지 폐암으로 확진된 환자 13례를 조직 확진후 연구대상으로하여 사전 조사의 폐암 절제군과 정상 대조군을 비교검토 하였다.
2) 연구 방법 : 정상 대조군은 건강한 신장 공여자로 결정한 후 수술전, 수술직후, 수술후 제 1,3,5,9,14일에 각각 정맥혈을 채혈하여 Alpha 1-PI를 검사하였다. 수술 적출된 암종이 포함된 표본은 내측 1/2은 영구 조직 검사를 위해 병리과에 보냈으며 외측 1/2은 면역 조직 화학 검사를 위해 formalin 고정액 속에 보관하였다. 주연구의 13례중 6례는 조직의 단백량 elastase와 cathepsin G의 정량 분석을 검사키 위해 절편을 만들어 냉동 보관하여 종양 조직과 종양의 경계 부위와 종양 아닌 부위에서 각각 단백 성분 총량과 elastase 및 cathepsin G치를 정량 검사하였다.
3) Alpha 1-Proteinase Inhibitor 측정 방법 : Alpha 1-PI 검사는 방사 면역 확산법으로 시행하였으며, 사용 기기는 일본 MBL사의 1125 Alpha 1-PI 검사용 MBL Plate와 2125 표준 혈청을 이용하였다.
4) 면역 조직 화학적 염색 : 단일클론항체(Alpha 1-antitrypsin DAKO)를 이용하여 Avidin-biotin peroxidase complex(ABC)법으로 면역조직 화학염색을 시행하였다.
5) 조직내 단백질 정량법 : 적출 냉동된 상태의 6개의 표본 조직에서 각기 3부분 즉 종양조직, 종양 경계조직, 종양 아닌 부위를 각각 0.3gm씩 절단하여 채취한 후 분쇄하여 원심분리시키고 원심 분리된 상층액을 채취하여 Lowry procedure 로서 정량 검사하였다.
6) Elastase 및 Cathepsin G효소 활성도 측정 : Titertek Multiskan Spectrophotometer(MCC/340, Flow laboratories 사)를 이용하여 유리된 nitroanilide의 량을 405nm에서 흡광도를 읽어서 효소 활성도를 측정하였다.
7) 통계처리법 : 검사에서 얻어진 성적들은 통계학적으로 SAS Program을 이용하여 paired T와 ANOVA 검정을 실시하였다.

< 결론 > 1. 폐암 환자의 예비 연구군이나 주 연구군에서 술전 술후 Alpha 1-PI치는 정상 대조군에 비해 유의하게 증가되어 있었으며, 수술직후는 수술전에 비하여 약간 감소하였다가 다시 수술후 제 1일과 3일, 5일을 경과하면서 증가하여 peak에 도달하고 다시 platease를 형성하였다가 수술 제 7일과 14일에는 감소하는 추세를 보였다.
2. 주 연구군의 폐암 환자의 AJCCS에 의한 TNM 분류법으로 구분한 폐암 제 I기, III기와 정상 대조군 사이에는 예비 연구군이나 주 연구군 전체의 Alpha 1-PI치의 변화와 동일한 변화를 보여주고 있다.
3. 폐암 환자의 암조직 표본에서 면역 화학 염색 검사 결과는 주 연구군 13례중 6례에서 만이 46.2%가 양성으로 나타났다.
4. 폐암 조직내의 단백량은 폐암 경계 부위가 가장 높았으며 Elastase 활성도는 폐암 경계 부위가 가장 높게 나왔으며 폐암 조직에서 거리가 있는 폐암 조직은 폐장 조직에 비해 유의하게 (P < 0.005) 높게 나왔다. Cathepsin G치는 폐암 조직에서 가장 높게 나왔고 폐암 경계부나 폐장 조직으로 이행하면서 점차 감소되어 가는 추세를 보였다.

Table 2. Serum levels of Alpha-1 Proteinase Inhibitor in Preliminary and Main Research of Lung Cancer Patients

Group	Number of cases	Alpha-1 Proteinase Inhibitor (mean ± SE, mg/dl)
Preliminary Research		
Brochogenic Cancer	15	329.2 ± 14.21*
Squamous cell Ca.	9	311.9 ± 9.72
Small cell Ca.	1	350
Adenocarcinoma	4	323.5 ± 49.50
Adenosquamous cell Ca.	1	290
Main Research *		
Bronchogenic Cancer	13	406.2 ± 118.62*
Squamous cell Ca.	8	400.0 ± 118.3
Small cell Ca.	2	440.0 ± 40
Adenocarcinoma	1	600
Large cell Ca.	1	350
Adenosquamous cell Ca.	1	250
Normal Contrrol		
Nephrectomy Donor	10	236.2 ± 19.55*

* : p<0.005 Main and Preliminary Research vs. Normal control group

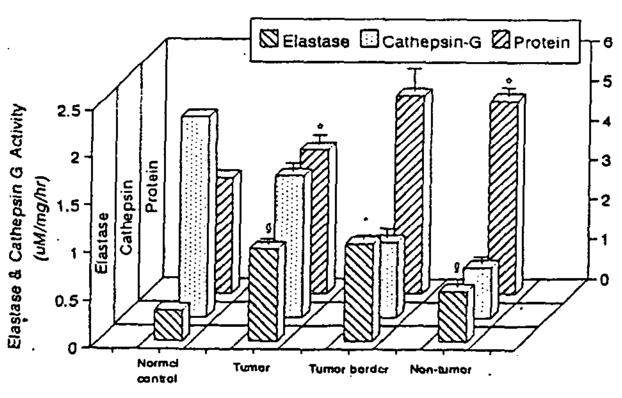

Fig. 8. Quantitave analysis of Protein, Elastase and Cathepsin G activity in tumor containing tissue (mean± SE). *;p<0.1, tumor vs. non-tumor tissue in Protein amount. §;p<0.005 tumor vs. non-tumor tissue in Elastase activity.