

# 비소세포폐암에 있어서의 Telomerase 활성화도

김진국\* · 김관민\* · 심영목\* · 박계현\* · 전태국\* · 박표원\* · 채현\* ·  
김명순\*\* · 서연수\*\* · 이숙현\*\* · 백정환\*\* · 한정호\*\*

=Abstract=

## Telomerase Activity in Non-small Cell Lung Cancer

Jhingook Kim, M.D.\* , Kwhanmien Kim, M.D.\* , Young Mog Shim, M.D.\* , Kay-Hyun Park, M.D.\* ,  
Tae-Gook Jun, M.D.\* , Pyo Won Park, M.D.\* , Hurn Chae, M.D.\* , Myung Soon Kim, M.D.\*\* ,  
Yeon-Soo Seo, M.D.\*\* , Sook Hyun Lee, M.D.\*\* , Chung Whan Paik, M.D.\*\* , Jounggho Han, M.D.\*\*

Although many reseraches have been persued to detect the molecular tumor marker to define the cancer, ideal tumor marker which speak for the characteristics of malignancy and has high sensitivity and specificity is not known. One of the characteristics of the malignant cells is indefinite proliferative potential, in other word, immortality. The expression of telomerase and stabilization of telomeres are concomitant with the attainment of immortality in tumor cells; thus the measurement of telomerase activity in clinically obtained tumor samples may provide important information which would be useful as a diagnostic marker to detect immortal cancer cells. Telomerase activity was analyzed in 12 non-small cell lung cancer cell lines and 41 primary non-small cell lung cancers with the use of a PCR-based assay. All the cell lines and the majority of tumors displayed telomerase activity, but telomerase was not detectable in most of the corresponding pathologically-normal tissues. Telomere length was not correlated with telomerase activity. The present study indicate that measurement of telomerase activity may be useful as a molecular tumor marker in non-small cell lung cancer.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1997;30:701-8)

**Kew word:** 1. Carcinoma, non-small cell, lung  
2. Neoplasm marker

## 서 론

1980년대 이래 종양의 발생등에 대하여 분자 생물학적 방법을 이용한 연구의 결과, ras 유전자, p53종양억제유전자

등 여러가지 암발생유전자(Oncogene) 또는 종양억제유전자(Tumor suppressor gene) 등이 밝혀지고 또한 새로운 치료법이 모색되고 있기는 하지만<sup>1-3)</sup>, 아직 악성종양을 특징지워 줄 수 있는, 즉 그 형태학적이며 병리학적인 성질을 대변하

\* 삼성의료원 삼성서울병원 흉부외과

\* Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Samsung Medical Center

\*\* 삼성생명과학연구소 임상의학센터

\*\* Clinical Research Center, Samsung Biomedical Research Institute

# 본 연구에 소요된 경비는 삼성전자 부설 삼성생명과학연구소 연구비(C-96-009)의 보조로 이루어졌음

논문접수일 : 97년 1월 17일 심사통과일 : 97년 4월 9일

책임저자 : 김진국, (135-230) 서울시 강남구 일원동 50번지, 삼성의료원 흉부외과. Tel. (02) 3410-3483, Fax. (02) 3410-0089

Table 1. List of non-small cell lung cancer cell lines used for the experiment

number	Name of cell line	Histology	Culture condition
1	NCI-H125	Adenosquamous cell carcinoma	PRMI 1640 media, with 10% fetal bovine serum
2	NCI-H1299	large cell carcinoma	same as above
3	NCI-H157	squamous cell carcinoma	same as above
4	NCI-H23	adenocarcinoma	same as above
5	NCI-H322	adenocarcinoma	same as above
6	NCI-H358	bronchiolal-veolar carcinoma	same as above
7	NCI-H460	large cell carcinoma	same as above
8	NCI-H520	squamous-cell carcinoma	same as above
9	NCI-H522	adenocarcinoma	same as above
10	NCI-H596	adenosquamous carcinoma	same as above
11	NCI-H661	large cell carcinoma	same as above
12	NCI-H2126	adenocarcinoma	HITES media, with 10% fetal bovine serum

는 종양지표(Tumor marker)는 발견되지 않고 있다. 종양의 조직학적 진단에 이용되는 종양 지표는, 정상은 물론 양성 질환과 비교할 때 높은 특이성을 보일 수 있어야 하며 세침 천자(Fine needle aspiration) 등을 이용하여 채취한 극히 소량의 조직을 이용하여서도 높은 민감도를 보이며 진단될 수 있어야 함은 물론이며 종양의 발생이나 진행의 병태학적 특성을 반영할 수 있고 또한 이상적으로는 모든 종류의 악성 종양에서 두루 이용될 수 있는 것이어야 한다. P53 종양 억제유전자의 이상이 여러 종양에서 발견되나 그 빈도는 높은 질환에서 50~60% 정도이며 종괴내의 일부 세포에서나 발견되는 등의 이유로 기대하는 종양 지표로 사용되기에는 무리가 있다<sup>3-5</sup>.

종양 세포가 가진 특성중 대표적인 것은 세포의 노화 과정에 의하여 분화의 제한을 보이지 않는, 즉 불멸성(Immortality)이라고 할 수 있다. 따라서 세포의 노화 과정에 관여하는 인자들을 살펴봄으로써, 또한 불멸화된 종양 세포를 관찰함으로써 종양세포의 특성을 가름짓고자 하는 노력은 이미 오래전부터 있어 왔다<sup>6-7</sup>. Telomere는 유핵 세포의 유전자 끝에 위치하며 독특한 반복 염기를 가진 구조로써 염색체의 안정성을 높이고 DNA의 재결합을 방지할 뿐 아니라 염색체의 복제에도 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>8-9</sup>. 즉 Telomere의 반복 구조를 만드는 Telomerase 효소가 정상적으로 태아의 배아 세포에서 활성화되어 세포가 증식하게 되고 이러한 과정은 성장기까지 계속되게 된다. 그러나 일단 성장이 끝나면, 대부분의 체세포내의 Telomerase 활성도는 감소하여 세포가 분열할 때마다 Telomere의 길이가 짧아지게 된다. Telomere의 길이가 어느 길이 이하로 짧아지게 되면, 이것이 신호가 되어 세포의 분열이 더 이상 일어나지 않게 되어 세포는 결국 노화되어 죽게 된다. 반면, 유전자들의 복잡한 돌연변이에 의해서든지 혹은 다른 경로에 의해서든지,

세포의 형질이 변환되고 이 변형된 세포가 배아 세포의 경우와 마찬가지로 Telomerase효소의 활성화를 다시 갖게 된다면 Telomere의 길이는 한계점(Critical point)이상으로 다시 늘어나게 되고 따라서 그 세포는 불멸화된 성질을 갖게 될 것이다<sup>8-11</sup>. 따라서 Telomerase 효소의 활성화라는 관찰될 수 있는 성질은, 불멸화된 성질을 가진 세포, 즉 종양 세포의 특성이며 또한 이를 판단하는 종양 지표로서 이용될 수 있다.

본 연구에서는 비소세포폐암 세포주와 정상 세포주에서는 물론, 수술로 적출된 폐암 및 정상 신선 조직을 이용하여 Telomerase 활성도를 측정 및 비교 분석함으로써, 세포 불멸화의 지표인 Telomerase 활성도가 실제 병리학적인 폐암의 진단과 얼마나 밀접한 연관성을 가지며 종양 지표로서 이용될 수 있는지를 규명하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 세포주

Telomerase활성도가 음성이며 정상 대조군인 정상 Human skin fibroblast와 Telomerase활성도가 뚜렷하며 양성 대조군인 자궁 경부암 세포주 HeLa 세포주를 10% fetal bovine serum(FBS)을 함유한 Dulbecco's modified Eagles medium에서 배양시켰다. 사용한 폐암 세포주의 종류와 배양 조건은 Table 1과 같다.

### 2. 조직 samples

폐암 조직 samples을 1996년 1월부터 1996년 8월 사이에 삼성의료원에서 폐절제술을 시행받은 41명의 환자에서 채취하였다(종양 조직군). 대상 환자군의 임상 및 병리학적 소견은 Table 2와 같다. 이중 18례는 연구 계획전 이미 채취하

Table 2. Patient characteristics(n=41)

Age(years)	66 ± 7.8(43~79)
Sex(M:F)	34 : 7
Location of tumor(R:L)	25 : 16
Pathological stage	
stage I	11
stage II	21
stage III	9
Histological type	
Squamous cell carcinoma	19
Adenocarcinoma	20
Bronchoaleveolar carcinoma	2

여 영하 70℃에 보관하고 있었던 조직 samples이었다. 연구 계획후 채취한 23례에서는 폐암 조직은 물론, 육안적으로 종양이 함유되지 않았던 다른 폐엽에서도 조직을 채취하였다(정상 조직군). 술전 항암제 치료나 방사선 치료를 시행받은 환자는 대상군에서 제외하였다. 조직은 폐절제 직후 곧바로 병리과로 보내져 병리과 전문의에 의해 심한 괴사의 소견을 보이지 않는 부위에서 채취되었으며 액화 질소탱크에 넣어 급냉동후 실험 시기까지 영하 70℃에서 보관되었다.

### 3. 단백질 추출

수확한 종양 세포주를 원심 분리(1,600 rpm for 5 minutes, 4℃)후 Phosphate buffered Saline으로 세척하고 다시 원심 분리하였다. 침전물을 50~200 microliter의 Lysis buffer[10 mM tris-HCl(pH 7.5), 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EGTA, 0.1 mM phenyl-methylsulfonyl fluoride, 5 mM β-mercaptoethanol, 0.5% CHAPS, 10% glycerol]로 녹인 후 0℃에서 30분간 15,000 rpm으로 원심분리하여 상층액을 수집하였다. 소량을 채취하여 Bradford 단백질 측정 키트를 이용하여 단백질 함유량을 재고 나머지는 액화질소 탱크에 보관하였다.

조직 samples은 직경 약 3~4 mm 정도를 이용하였는데 조직을 해동후 혈액이나 지방 조직 등을 제거하기 위해 Phosphate buffered Saline으로 3회 세척후 오염되지 않은 수술 Blade를 이용하여 잘게 자르고 잘게 자른 조직을 Kontes tube에 넣어 파쇄(Homogenization)하였다. 파쇄후의 처리는 종양 세포주 침전물의 처리와 동일하게 시행되었다.

### 4. Telomerase 활성도의 측정(TRAP assay)

6μg의 단백질 추출물을 이용하여 이미 보고된 바 있는 TRAP(Telomeric repeat amplification protocol) assay<sup>12)</sup>를 시행하였다. 간략히 기술하면 0.5 ml Eppendorf tube의 하층에 0.1

μg의 CX(5´-CCCTTACCCTTACCCTTACCCTTA-3´) 시발체(primer)를 위치하고 밀납격리층(wax barrier)에 의해 초기에 반응이 일어나지 않도록 한 후 밀랍층 상부에 6 μg의 CHAPS extract, TS(5´-AATCCGTCGAGCAGAGTT-3´) 시발체, 20 mM tris-HCl(pH 8.3), 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 63 mM KCl, 0.005% Tween-20, 1 mM EGTA, 50 μM dNTP, 1 μgT4g32 protein, bovine serum albumin(0.1 mg/ml), 2 units of Taq DNA polymerase를 넣어 50 microliter의 TRAP 반응액을 만들었다. 방사능 표지를 위해 0.2~0.4 microliter의 [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P] dCTP(10 microcuri/microliter, 3000 Ci/mmol) 을 반응액에 같이 넣어 주었다. 23℃에서 20분간 TS 시발체에 의한 Telomerase-mediated extension이 있게한 후 Eppendorf tube를 90℃로 90 초간 가열하여 telomerase 효소가 불활성화되도록 하는 한편 밀납 격리층이 녹아 상층과 하층액이 서로 섞이게 하였다. Tube를 PCR machine에 위치하게 하고 94℃에서 40초, 50℃에서 40초, 72℃에서 45초의 PCR reaction을 35회 실시하였다.

PCR 반응이 끝난 후 일부를 채취하여 0.5 × tris -borate EDTA buffer를 이용하여 10% polyacrylamide non-denaturing gel에서 전기 영동하였다. 전기 영동후 gel을 말리고 Phosphor 차폐막(screen)에 위치하여 Image Quant software를 이용한 PhosphorImage로 보는 한편, X-ray 필름에 현상하여 관찰하였다.

### 5. Telomere 길이의 측정

(Telomere repeat fragment analysis)

세포로부터 DNA를 추출후 telomere DNA는 절단치 않는 제한 효소인 Hinf I을 이용하여 DNA를 분해하였다. 분해된 DNA를 0.7% agarose gel을 이용하여 전기 영동후 나일론 막에 전이하고 [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P] ATP로 방사능표지한 telomeric probe [(TTAGGG)<sub>4</sub>]와 하이브리드시켰다. 나일론 막을 6X SSC-0.1% SDS로 세척후 자가 방사처리하여 X-선 필름으로 관찰하였다<sup>13)</sup>.

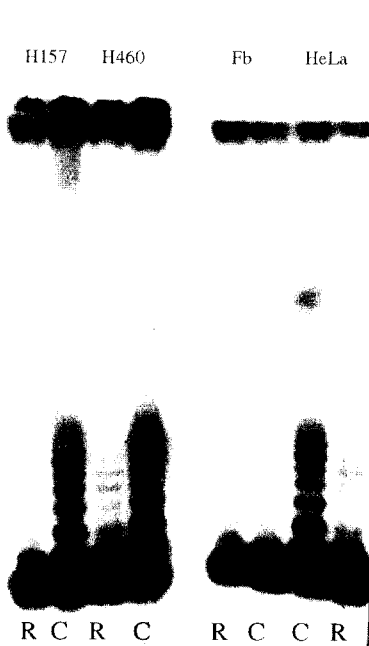
### 6. 통계 처리

통계 분석은 PS-SAS를 이용하여 유의도 5%를 기준으로 통계적인 유의성을 검증하였으며, 종양 조직군과 정상 조직군간의 Telomerase활성도의 비교에는 Students t-test를 이용하였다.

## 결 과

### 1. 세포주의 Telomerase 활성도

측정한 12가지 종류의 폐암 세포주에서 모두, 정상 대조

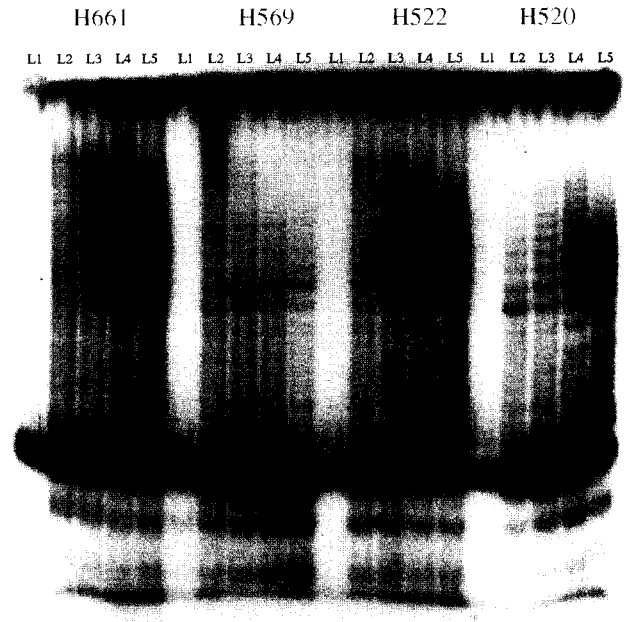


**Fig. 1.** Telomerase activity in non-small cell lung cancer cell lines. Numbers at the top of the figure indicate NCI-H number. HL(HeLa cell line) and Fb(normal human skin fibroblast) as positive and negative control, respectively. R at the bottom of the figure indicate RNase[10 microliter plus 0.5 microgram of RNase(deoxyribonuclease-free; Boehringer Mann-heim)]-pretreated cell extract. C indicate cell extract without RNase treatment.

군인 human skin fibroblast에서와는 달리, Telomerase 활성도의 뚜렷한 증가를 발견할 수 있었다(Fig. 1). 활성도의 증가 정도는 각 세포주마다 달랐는데 이를 보다 구체적으로 확인키 위하여 추출된 단백을 10배, 100배 및 1000배로 희석하여 다시 측정하였다. 측정 결과 100배 희석 sample, 즉 0.06  $\mu\text{g/ml}$ 의 단백을 함유한 sample에서 보편적으로 가장 뚜렷한 결과를 볼 수 있었는데(Fig. 2), 실험 방법이 PCR을 기초로 한 것이므로 별다른 의미를 단정짓기는 어렵다고 보았다.

## 2. 조직 samples의 Telomerase 활성도

종양 조직군인 41례의 samples중 37례에서 Telomerase 활성도의 증가를 관찰할 수 있었다(Table 3 및 Fig. 3). 증가 정도는 각 samples마다 약간의 차이가 있었으며 불확실한 경우에는 10배 및 100배로 희석하여 다시 측정함으로써 확인하였다. 반면 23례의 정상 조직군에서는 5례만이 증가를 보였으며 이중에서도 1례에서만 뚜렷한 증가를 보일 뿐 나머지 4례에서는 band내의 증폭 사다리(Amplified ladder)가 3~5개 정도일 뿐인 미약한 것이었다(Table 3). 종양 조직과 정



**Fig. 2.** Telomerase activity in non-small cell lung cancer cell lines. Extracts from cell lines were diluted and used for telomerase assay. In each sample, lane 1; cell extract with RNase[10 microliter plus 0.5 microgram of RNase(deoxyribonuclease-free; Boehringer Mannheim)] treatment, lane 2; 0.006, lane 3; 0.06, lane 4; 0.6, lane 5; 6 $\mu\text{g}$  protein/assay. Numbers at the top of the figure indicate NCI-H number.

**Table 3.** Telomerase activity in non-small cell lung cancer

	+	-	Total
Cell lines	12	0	12
Tumor tissue	37	4	41
Normal tissue	5*	18	23

\* one; strong positive and four; weak positive

상 조직이 모두 있었던 23례에 있어서 정상 조직에서 Telomerase 활성도의 증가를 보인 경우 대응(Matched) 종양 조직에서도 활성도의 증가를 보였다. 한편 Telomerase 활성도의 측정 소견은 환자의 나이나 성별, 종양의 암기(Staging) 및 조직학적 분류와는 관계가 없었다.

## 3. 조직samples의 Telomere의 길이

Telomerase 활성도와 Telomere 길이와의 관계를 보기 위하여 종양및 정상 조직 samples 일부를 무작위로 추출, 이를 대상으로 Terminal restriction fragment analysis를 시행한 결과(Fig. 4), Telomere의 길이는 양 군간에 의미있는 차이를 보이지 않으며 또한 Telomerase 활성도와와의 관계도 유추할 수 없었다.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

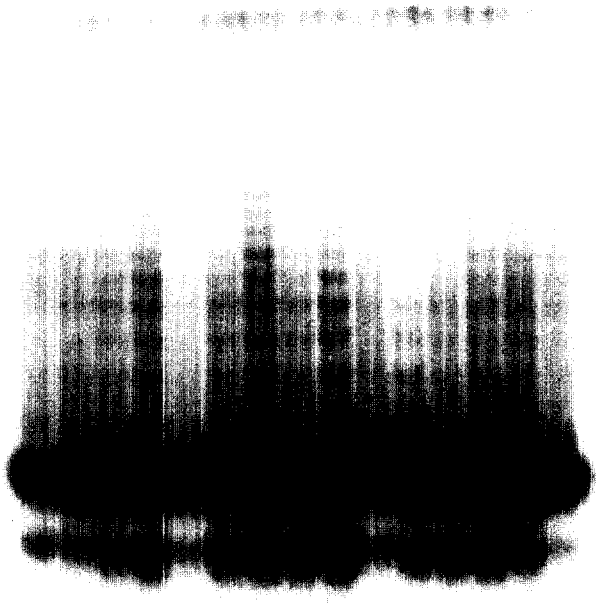


Fig. 3. Telomerase activity in non-small cell lung cancer specimen(0.6 µg protein/assay). Numbers at the top of the figure indicate patient code.

고찰

악성 종양은 비교적 오랜 기간에 걸쳐, 정상적인 세포성장 에 관여하는 여러 유전자에의 변이(Transforamtion)에 의해 발생한다고 생각된다<sup>14-16</sup>. 비록 종양마다 그 발생에 관여하는 유전자나 변이의 양상이 다르기는 하지만 종양 발생학적으로 여러 과정을 거치며 축적된 변이는, 아직 알려지지 않은 어떤 경로를 통해, 세포에게 불멸화(Immortality)의 성질을 갖게끔 한다고 보고 있다. 따라서 변이와 불멸성이야말로 종양 세포를 특징짓는 것이라 할 수 있으며 이를 종양의 진단에 이용한다면, 기존의 형태학적 변화를 바탕으로 하는 근대병리학의 한계를 극복할 수 있으리라고 기대할 수 있다. 사실 많은 연구가 불멸성을 유도하는 특정 유전자를 찾고자 기울여 졌고 의심되는 일부 유전자를 정상세포에 주입하여 불멸성을 볼 수 있었던 보고도 많았다<sup>17-19</sup>. 그러나 실제 종양을 이용한 연구에서는 보편성을 갖지 못하여 종양 세포의 특성을 대변할 수 있는 종양 지표는 아직 없다고 해도 과언이 아니다. 그런데, 1980년대 초 Blackburn 등이 복제 유전자의 End-replication problem에 대한 연구, 발표이후에 지대한 관심하에 연구되고 있는 Telomere-Telomerase system 은 추구해오던 종양 지표의 가능성이 높기 기대되며 연구되고 있다<sup>8, 9, 20</sup>. 즉 유전자 DNA의 자기 복제 과정에 있어 분

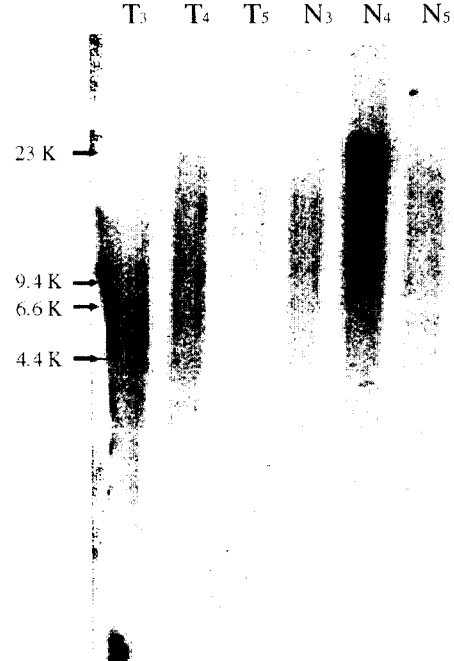


Fig. 4. Terminal restriction fragments(TRFs) from patient samples. Numbers at the top of the figure indicate patient code.(T: tumor tissue, N: corresponding normal tissue)

리된 parent strand에 맞게 여러 개의 시발체로부터 여러 요절(fragment)이 생성이 되고 이후 시발체는 제거되고 요절 사이의 Gap이 메워져 Daughter strand가 완성되는데, 5'끝의 시발체가 제거된 Gap은 양단이 없으므로 메워지지 않는다. 비록 메워지지 않더라도 Telomere는 수천 개 이상의 반복 구조로 구성되어 있으므로 이와 같은 상황에서도 세포 기능에는 영향을 받지 않는다. 즉 Telomere는, 그 길이가 어느 한계점(Critical point)이하로 짧아지게 되면 이것이 신호가 되어 세포의 분열이 더 이상 일어나지 않게 되고 세포는 결국 노화되어 죽게 되는 세포 시계(Cell clock)로써 그 역할을 충분히 할 수 있도록, 독특한 구조를 가졌다고 볼 수 있다. 그런데 이 Telomere는 Telomerase라는 효소에 의해 재생되며, 복제중 제거되던 5'끝의 DNA가 효소에 의해 생성, 보충 되면 Telomere의 길이가 한계점 이상을 항상 유지하게 되고, 따라서 세포는 불멸성을 갖게 된다는 설명이다. 이와 같은 이론적인 배경하에 Telomere의 길이를 이용하여 종양 세포를 규명하고자 하는 노력이 여러 종양을 대상으로 진행되었다<sup>11, 21, 22</sup>. 그러나 Telomere의 길이를 이용함은, 본 연구에서 Telomere repeat fragment analysis를 통해 보인 바와 같이, 여러가지 한계가 있다. 즉, 종양 세포로의 변환 시기가 언제인가에 따라 길이의 차이가 있고 또한 정상 세포에서도 아주 두드러진 차이를 보기 힘든 경우가 많음은 물론이며

측정 시간도 상대적으로 너무 오래 걸렸다. 따라서 종양 세포에서 세포의 노화나 세포사를 피할 수 있게끔 Telomere의 길이가 유지된다는 것을 추정할 수 있을 뿐 실제 임상에서의 적용에는 무리가 있었다.

1994년 Kim 등의 연구<sup>12)</sup>는, 보다 효과적으로 Telomere-Telomerase system의 상태를 측정하여 이를 임상에서 사용 가능하게 해주었다. 즉 DNA, RNA, protein의 구조가 규명되지 않아 직접 측정이 어려웠던 Telomerase의 활성도를 PCR을 응용한 방법으로 보다 쉽고 빠르게 측정할 수 있게 되었다. 본 연구에서도 이를 이용하여 Telomerase 활성도를 측정하였다.

본 연구에서는 적출 폐암 종괴에서 90% 이상 대부분의 조직에서 Telomerase 활성도가 증가되어 있음을 보았는데 매우 의미있는 결과라고 생각된다. 이는 저자등이 폐암에 있어 p53, ras 유전자 등에서 연구한 50~60%의 양성 반응 정도(in preparation)를 훨씬 능가하는 높은 민감도를 보이는 것이다<sup>5)</sup>. 이 활성도의 증가는 환자의 성별, 연령, 종양의 크기나 암기(cancer stage), 조직학적 분류와는 관계가 없었다. 한편 정상 조직에서 시행한 Telomerase 활성도 측정상 20% 정도에서만 활성도의 증가를 볼 수 있었고 이들중 대부분은 약한 정도의 활성 반응을 보여, 80%를 능가하는 높은 특이성을 지닌 검사임을 알 수 있었다. 본 연구만으로 Telomerase 활성도가 종양 자체의 병태학적 특성이나 예후를 예측할 수 있는 지표로서 사용될 수 있는가를 판별하기에는 추적 기간이 충분치 않았다. 이에 대하여는 충분한 기간이 경과한 후 다시 판별할 필요가 있다고 사료된다. 그러나, Telomerase의 활성도의 증가는, 세포의 불멸성, 즉 종양의 대표적인 특성을 얼마나 잘 반영하는 지에 대한 연구가 아직 불충분하다고 하더라도, 이상과 같은 높은 민감도와 특이성, 그리고 적용 가능한 종양 종류의 다양성만으로도, 기존의 어느 종양 지표보다도 실제 임상에 적용하기에 적절한 것이라 할 수 있다.

물론, Telomerase의 활성도 측정을 임상에 적용함에 문제가 전혀 없는 것은 아니라고 본다. 상대적으로 우수하기는 하나 본 연구의 결과를 토대로 볼 때, Telomerase 활성도를 이용한 폐암의 진단은 10% 정도의 의음성율(false negative rate)와 20%를 상회하는 의양성율(false positive rate)이 예상된다. 특히 높은 의음성율은 여러 연구에서 보고되고 있는데 그 이유는 기관지 점막 조직이 가지는 약한 Telomerase 활성도가 원인이거나 조직내에 포함된 혈액 세포, 특히 백혈구 세포가 가지는 약한 Telomerase 활성도가 원인이라고 추정된다<sup>23)</sup>. 이에 대하여는 Telomerase 활성도 측정에 있어 그 활성도를 계량화(quantitation)하여 의양성율을 줄일 수 있도록 하는 한편 보다 특이적으로 세포를 분류후 활성도를

측정할 수 있도록 하는 방안을 모색중이다. 이상과 같은 방법의 개발은 의양성율의 감소뿐 아니라 의음성율의 감소라는 부대 효과도 낳을 것이라고 기대된다.

## 결 론

12개의 다양한 비소세포폐암 세포주와 수술로 적출된 41명의 비소세포폐암 환자의 종양 조직에 대해 PCR(polymerase chain reaction)을 기초로 한 TRAP assay를 이용하여 telomerase 활성도를 측정하였다. 대조군으로는 동시에 적출된, 종양으로부터 가장 먼 위치의 정상 폐조직을 이용하였다. 12개 전 종양 세포주는 물론 대부분의 종양 조직(94%)에서, 성별, 연령, 세포 병리학적 subtype, 암기(stage) 등과 관련이 없이, telomerase의 활성도가 측정되었으며 정상이라고 간주된 조직에서는 5명으로부터 채취한 조직에서만 미약하게 telomerase 활성도가 관찰되었다. 예후에 연관지어 telomerase 활동도의 의미는, telomerase 활동도가 보이지 않는 종양이 극히 적었고 또한 추적 관찰 기간이 짧아 판정할 수 없었다. 이상의 결과는 비소세포폐암에 있어 telomerase 활성도의 변화가 암발생에 아주 중요한 과정일 수 있다는 추정을 가능하게 하며 telomerase 활성도의 측정이 종양의 진단에 유용하게 이용될 수 있음을 확인시켜 주는 것이라고 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. Rabbitts P, Douglas J, Daly M, et al. *Frequency and extent of allelic loss in the short arm of chromosome 3 in non-small cell lung cancer.* Genes Chromosom Cancer 1989;1:95-105
2. Rodenhuis S, Slebos RJC, Boot AJM, et al. *Incidence and possible clinical significance of K-ras oncogene activation in adenocarcinoma of the human lung.* Cancer Res 1988; 48:5738-41
3. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, et al. *p53 mutations in human cancers.* Science 1991; 253:49-53
4. Chiba I, Takahashi T, Nau MM, et al. *Mutations in the p53 gene are frequent in primary, resected non-small cell lung cancer.* Oncogene 1990;5:1603-10
5. Kim J, Kim K, Shim Y, Lee S, Han J. *Heterogeneity of the mutation of p53 gene in resected non-small cell lung cancer.*(in preparation)
6. Mueller HJ. *The remaking of chromosomes. The collecting net.* Woods Hole 1938;13:181-198(from Rhyu MS. *Telomeres, Telomerase, and immortality.* J Natl Cancer Inst 1995;87:884-894 reference(2))
7. McClintock B. *The stability of broken ends of chromosomes at Zea mays.* Genetics 41:234-282, 1941(from Rhyu MS. *Telomeres, Telomerase, and immortality.* J

Natl Cancer Inst 1995;87:884-894 reference(3))

8. Rhyu MS. *Telomeres, Telomerase, and immortality*. J Natl Cancer Inst 1995; 87: 884-94
9. Greider CW, Blackburn EH. *Telomeres, Telomerase and Cancer*. Scientific American 1996;Feb:80-5
10. Harley CB. *Telomere loss. mitotic clock or genetic time bomb?* Mutat Res 1991;256:271-82
11. Shay JW, Werbin H, Wright WE. *Telomere shortening may contribute to aging and cancer: a perspective*. Mol Cell Diff 1994; 2:1-21
12. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. *Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer*. Science 1994; 266:2011-5
13. Hiyama E, Yokoyama T, Tatsumoto N, et al. *Telomerase activity in gastric cancer*. Cancer Res 1995;55:3258-62
14. Senger DR, Wirth DF, Hynes RO. *Transformed mammalian cells secrete specific proteins and phosphoproteins*. Cell 1979; 16:885-93
15. Sack GH Jr. *Human cell transformation by simian virus 40 - a review*. In Vitro 1981; 17:1-19
16. Huschtscha LI, Holliday R. *Limited and unlimited growth of SV-40 transformed cell from human diploid MRC-5 fibroblasts*. J Cell Sci 1983;63:77-99
17. Bunn CL, Tarrant GM. *Limited lifespan in somatic cell hybrids and cybrids*. Exp Cell Res 1980;127:385-96
18. Muggleton-Harria AL, DeSimone DW. *Replicative potentials of various fusion products between WI-38 and SV-40 transformed WI-38 cells and their components*. Somatic Cell Genet 1980; 6:689-98
19. Rubelj I, Pereira-Smith OM. *SV-40 transformed human cells in crisis exhibit changes that occur in normal cellular senescence*. Exp Cell Res 1994;211:82-9
20. Lingner J, Cooper JP, Cech TR. *Telomerase and DNA end replication: No longer a lagging strand problem?* Science 1995;269:1533-4
21. Hiyama E, Hiyama K, Yokoyama T, Ichikawa T, Matsuura Y. *Length of telomeric repeats in neuroblastoma: correlation with prognosis and other biological characteristics*. Jpn J Cancer Res 1992;83:159-64
22. Hiyama K, Ishioka S, Shirotani Y, et al. *Alterations in telomeric repeat length in lung cancer are associated with loss of heterozygosity in p53 and Rb*. Oncogene 1995;10:937-44
23. Counter CM, Gupta J, Harley CB, Leber B, Baccetti S. *Telomerase activity in normal leukocytes and in hamptologic malignancies*. Blood 1995; 85:2315-20

**=국문초록=**

그동안 폐암의 발생에 관여하는 여러가지 유전자의 이상이 보고되어 왔으나 모든 종류의 폐암에서 보이는 비억제적 성장(uncontrolled growth)을 대변할 수 있는 유전자적 종양 표지자(molecular tumor marker)는 보고된 바 없었다. 최근 유전자(chromosome)의 말단부에 위치한 특이한 구조인 telomere가 세포의 노화나 증식정도(proliferative activity)에 따라 그 구조, 특히 TTAGGG 반복 구조가 변한다는 것이 알려진 바 있다. 따라서 telomere의 반복 구조를 만드는 효소인 telomerase의 활성화도는 대상 세포의 증식 상황이나 증식 가능성을 나타내는 표지자로서의 기능이 있다고 추정된다. 따라서 이는 종양의 진단은 물론 대상 환자의 향후 예후를 판단하는 데도 좋은 지표로 이용될 수 있다. 12개의 다양한 비소세포폐암 세포주와 수술로 적출된 41명의 비소세포폐암 환자의 종양 조직에 대해 PCR(polymerase chain reaction)을 기초로 한 TRAP assay를 이용하여 telomerase 활성화도를 측정하였다. 대조군으로는 동시에 적출된, 종양으로부터 가장 먼 위치의 정상 폐조직을 이용하였다. 12개 전 종양 세포주는 물론 대부분의 종양 조직(94%)에서, 성별, 연령, 세포 병리학적 subtype, 암기(stage) 등과 관련이 없이, telomerase의 활성화도가 측정되었으며 정상이라고 간주된 조직에서는 5명으로부터 채취한 조직에서만 미약하게 telomerase활성도가 관찰되었다. 예후에 연관지어 telomerase활성도의 의미는, telomerase활성도가 보이지 않는 종양이 극히 적었고 또한 추적 관찰 기간이 짧아 판정할 수 없었다. Telomere의 길이의 변화는의미를 판정키 어려웠다. 이상의 결과는 비소세포폐암에 있어 telomerase활성도의 변화가 암발생에 아주 중요한 과정일 수 있다는 추정을 가능하게 하며 telomerase활성도의 측정이 종양의 진단에 유용하게 이용될 수 있음을 확인시켜 주는 것이라 사료된다.

**중심단어:** 1. 비소세포폐암  
2. 종양 지표