

## Cathepsin D의 발현이 비소세포 폐암의 예후에 미치는 영향

광주 보훈병원 내과, 해부병리과\*, 테네시 의과대학\*\*, 전남대학교 의과대학 병리학교실\*\*\*, 내과학교실\*\*\*\*

염형렬, 명재일, 임종철, 김한균, 이남훈, 이대호,  
고향미\*, 문종영\*\*, 강헌석, 류형선, 김 완, 박창수\*\*\*, 박경옥\*\*\*\*

= Abstract =

### Influence of Cathepsin D Expression on Prognosis in Non-Small Cell Lung Cancer

Hyung Roul Youm, M.D., Jae Il Myeong, M.D., Jong Chul Lim, M.D.,  
Han Kyun Kim, M.D., Nam Hun Lee, M.D., Dae Ho Lee M.D., Hyang Mee Ko, M.D.,  
Jong Yeoung Moon, M.D., Heon Seok Kang, M.D., Heong Seon Rheu, M.D.,  
Wan Kim, M.D., Chang Soo Park, M.D.\*\*\* and Kyung Ok Park, M.D.\*\*\*\*

*Department of Internal Medicine and Pathology\*,  
Kwang-ju Veterans Hospital, Kwang-ju, Korea  
University of Tennessee Medical Center\*\*, Knoxville, USA  
Department of Pathology\*\*\* and Internal Medicine\*\*\*\*  
Chunnam University Medical School, Kwang-ju, Korea*

**Backgrounds :** Cathepsin D, an aspartic lysosomal proteinase, is believed to be involved in local invasion and metastasis of tumor cells by its proteolytic activity and has been described to be associated with tumor progression and prognosis in some human malignancies including breast cancer. But, its prognostic value for human lung cancer remains to be determined. The purpose of this study is to determine clinicopathological and prognostic significance of cathepsin D expression in non-small cell lung cancer.

**Method :** Using a polyclonal antibody, immunohistochemical analysis of cathepsin D was performed on paraf-

---

Address for correspondence :

Jae Il Myeong, M.D.

Department of Internal Medicine, Kwang-ju Veteran Hospital

213-6 Juwall-dong, Nam-gu, Kwang-ju, 503-310 Korea

Phone : 062-650-6110 Fax : 062-650-6232 E-mail : J.I.Myeong@dreamwiz.com

fin embedded sections of tumors obtained surgically from 54 patients with non-small cell lung cancer (37 squamous cell carcinoma, 14 adenocarcinoma, 2 large cell carcinoma, and 1 undifferentiated carcinoma).

**Results :** Eighteen patients (33.3%) showed positive immunoreactivities of cathepsin D in tumor cells. No significant correlation of cathepsin D expression in tumor cells was found in p-stage (surgical-pathologic stage), tumor size, tumor factor, nodal involvement, and differentiation. Of 54 patients, 29 (53.7%) patients showed moderate to massive cathepsin D-positive stromal cells within the tumor tissues, while the rest (46.3%) showed few cathepsin D-positive stromal cells within the tumor tissues. Cathepsin D expression in stromal cells was significantly associated with p-stage in non-small cell lung cancer ( $p=0.031$ ). No significant correlation of the degree of cathepsin D-positive stromal cells was found in tumor size, T-factor, nodal involvement, differentiation. Cathepsin D expression status in tumor cells and stromal cells was not significantly associated with prognosis expressed by survival rate. The results of multivariate analyses of variables possibly associated with prognosis showed that nodal involvement was the only independent prognostic factor in all patients.

**Conclusion :** Cathepsin D expression in stromal cells was significantly associated with p-stage in non-small cell lung cancer. However, it was not related to other clinicopathologic features and prognosis, and Cathepsin D expression in tumor was not related to p-stage and prognosis. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2000, 49 : 60-71)

**Key words :** Cathepsin D, NSCLC, Prognosis.

## 서 론

폐암은 유럽과 미국에서 이미 암에 의한 사망률 1위를 보이는 암종으로서 우리나라에서도 급속히 증가되어 남성에서는 위암 다음으로 많은 암 사망 원인이 되었다. 새로운 항암화학 요법, 수술기술의 진보 등 많은 발전에도 불구하고 전반적인 5년 생존율이 최근 까지도 15% 정도에 불과한 실정인데<sup>2</sup>, 대부분 이미 진행된 병기에서 진단되고 수술적 치료방법 외에 방사선 치료나 항암화학 요법에 효과가 좋지 않거나 지속적이지 못하고 재발이 많기 때문인 것으로 보인다. 비소세포 폐암은 외과적 절제술만이 완치를 기대할 수 있는 가장 효과적인 치료법이지만 이러한 수술적 치료가 적용되는 경우는 전체환자의 30%도 되지 못하고<sup>3</sup>, 아울러 조기에 발견하여 광범위한 외과적 절제술로 치료한 경우에도 약 55-72% 정도만이 5년간 생존할 수 있다<sup>4</sup>. 이와는 대조적으로 우연히 초기 병기에 진단된 폐암환자의 5년 생존율이 80-90% 보인 최근의

보고도 있다<sup>5-6</sup>. 폐암에 있어서 병기결정 체계는 예후를 예측하는 지표로 도움을 주고있으며 최근 예후를 근거로한 새로운 병기결정 체계도 발표되었다<sup>7</sup>. 그런데 표준적인 TNM 병기결정을 이용하여도 같은 병기의 환자 사이에 예후를 정확히 예측하기 어렵고 적절한 치료방침을 결정하기 어려우며, 따라서 보다 정확한 생존가능성의 예측과 각각의 환자에게 보다 효율적인 치료를 제공하는 것을 도울 수 있는 새로운 예측인자가 필요한 실정이다.

종양이 다른 곳으로 전이하는 기전은 매우 복잡한 생화학적, 세포생리학적 과정을 거치게 된다. Liotta 등<sup>8</sup>은 종양 침윤의 단계를 3 단계로 보았는데 1) 종양세포가 인접한 기저막에 부착하는 단계, 2) 종양세포와 관련된 단백 분해효소에 의한 세포외 기질의 용해 및 분해 단계, 3) 변화된 기질로의 종양세포의 이동 단계이다. 침윤하는 종양세포가 단백분해효소를 분비시켜 기저막을 분해하는 것이 종양 침윤에서 중요한 것은 일단 기저막을 통과한 종양세포는 인접 혈관의

기저막을 다시 분해하여 혈류를 타게되고, 전이소에서 정지한 종양세포는 다시 혈관 기저막을 뚫고 전이소의 기질로 들어가 새로운 조직구조를 형성하기 때문이다<sup>9</sup>. 따라서 기저막 또는 세포의 기질 등의 단백질을 분해하는 것은 종양의 침윤과 전이를 결정하는 중요한 요소이며, 이러한 단백질분해효소는 cathepsin, serine protease, metalloproteinase 등으로 분류할 수 있다<sup>10</sup>.

Cathepsin D는 리소솜에 위치하는 단백질분해효소이고 자가분비성 유사분열물질로서 그 역할은 산성인 상태에서 세포의 기질 및 proteoglycan을 용해시키며, 또한 세포배양을 통한 in vitro 실험에서 성장인자를 활성화시키고 세포 분열을 촉진하는 것으로도 알려져 있다<sup>11</sup>. 따라서 Cathepsin D는 종양의 침윤, 전이, 증식에 관여할 것으로 생각되며, 이러한 작용을 통해 예후에도 중요한 역할을 할 것으로 추정된다. Cathepsin D와 여러 종양의 예후와 관련된 많은 연구가 있으며, 여기에는 유방암<sup>12-14</sup>, 자궁내막암<sup>15</sup>, 폐암<sup>16-18</sup>, 난소암<sup>19</sup>, 전립선암<sup>20</sup>, 간암<sup>21</sup>, 두경부암<sup>22</sup> 등이 있다. 이 중 가장 많은 연구가 보고된 유방암에서도 예후와 직접적인 관련이 있다는 보고<sup>12-13</sup>와 관련이 없다는 상반된 보고<sup>14</sup>가 있어 논란이 많은 실정이다. 폐암에서 Cathepsin D의 발현과 관련된 소수의 보고가 있으나 이 또한 상반된 결과를 보고하고 있다<sup>16-18</sup>. 이에 저자들은 면역조직화학적 방법으로 측정된 Cathepsin D의 종양세포 및 간질세포에서의 발현이 비소세포 폐암의 예후에 미치는 영향을 규명하고자 본 연구를 시행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

1993년 1월부터 1998년 12월까지 전남대학교 병원에서 비소세포 폐암으로 진단되어 치료 목적으로 수술적 처치를 시행한 총 54명의 환자를 대상으로 하였다.

### 2. 면역조직화학 염색

절제된 폐암조직을 10% 중성 완충 포르말린에 고정 한 후 제작한 파라핀 포매괴를 3  $\mu$ m 두께로 박절하여 Probe-On Plus slide(Fisher Scientific Co)에 부착시켜 충분히 건조한 후 염색에 이용하였다. 파라핀 절편은 탈파라핀과 합수과정을 거친 후, 내인성 peroxidase를 억제할 목적으로 endoblocker에 5분간 반응시키고 pepsin을 떨어뜨려 3분간 방치하였다. 비특이 단백을 제거하기 위하여 단백질 차단제(protein blocker)에 2분간 작용시킨 후 일차항체인 Cathepsin D(polyclonal antibody, 1 : 100)에 30분 동안 부치시켰다. 일차항체의 부치가 끝난 후 1 $\times$  automation buffer로 수세한 다음 biotin이 부착된 이차항체(universal secondary antibody, Biomed)를 7분간 부치시키고, 다시 1 $\times$  automation buffer로 수세한 후 HRP (Biomed)로 7분간 부치시켰다. AEC(3-aminoethyl 9-carbasol)로 7분간 작용하여 발색시키고 헤마톡실린으로 3분간 대조 염색을 시행한 후 다시 물로 씻고 수성 봉입제인 crystal mount(Biomed)로 봉입하여 양성 반응을 관찰하였다. 염색의 전과정은 모세관 작용(capillary gap action)의 원리를 이용한 Microprobe Immuno/DNA Stainer(Fisher Scientific Co.)를 이용하였고, 전과정의 부치 온도는 45 $^{\circ}$ C로 하였으며, 면역조직화학적염색을 시행할 때마다 슬라이드 지지대에 양성대조군 및 음성대조군을 포함한 조직절편이 부착된 20장의 슬라이드를 끼워서 동시에 시행하였으며, 음성대조군은 일차 항체 희석액을 이용하여 관찰하였다.

Cathepsin D에 대한 염색의 판정은 종양세포 영역의 5% 이상에서 세포질 내에 적갈색 파립으로 염색되는 경우를 양성으로 판독하였고, 5% 미만에서 염색된 경우는 음성으로 판독하였다. 종양세포들의 조직사이에서 유섬유모세포(fibroblastic-like cell)나 대식세포와 같은 간질세포에서의 Cathepsin D의 발현을 반정량적으로 분류하여 소량(few) 발현과 중등도에서 다량(moderate to massive) 발현의 2군으로 분

류하였다.

### 3. 통계학적 분석

통계학적 분석을 위해 chi-square test를 사용하였다. 본 연구에서의 자료는 SPSS 통계 분석 프로그램을 이용하여 분석하였고 생존 분석은 Kaplan-Meier method를 이용하였으며, 생존 curve는 log rank test로 비교하였다. 생존과 관련된 인자들은 Cox's proportional hazards regression model로 분석되었다. 생존기간은 중앙치로 산출하였다. 모든 결과의 분석에서 p값이 0.05 미만인 경우만 유의한 차이가 있는 것으로 분석하였다.

## 결 과

### 1. 임상적 특징 (Table 1)

연구 대상의 임상적 특징은 전체 54명의 환자 중 남자가 41명 여자가 13명이었고 나이는 30세부터 70세 사이이며 평균연령은 55.9세였다. 평균 추적 관찰 기간은 12.3개월이었다 (2개월-70개월). 폐절제로 얻은 조직의 조직학적 특징은 WHO 표준기준에 맞추었고, 또한 조직병리학적 병기 판정은 American Joint Committee(AJC)의 새로운 TNM 병기 판정 기준<sup>7</sup>에 맞추었다. 조직학적으로는 편평상피암이 37예, 선암 14예, 대세포암 2예, 미분화암 1예였다.

Table 1. Characteristics of the patients (n=54).

Male/Female	41/13
Mean age	55.9 (30-70)
Cell type	
Squamous cell carcinoma	37
Adenocarcinoma	14
Large cell carcinoma	7
Undifferentiated carcinoma	1

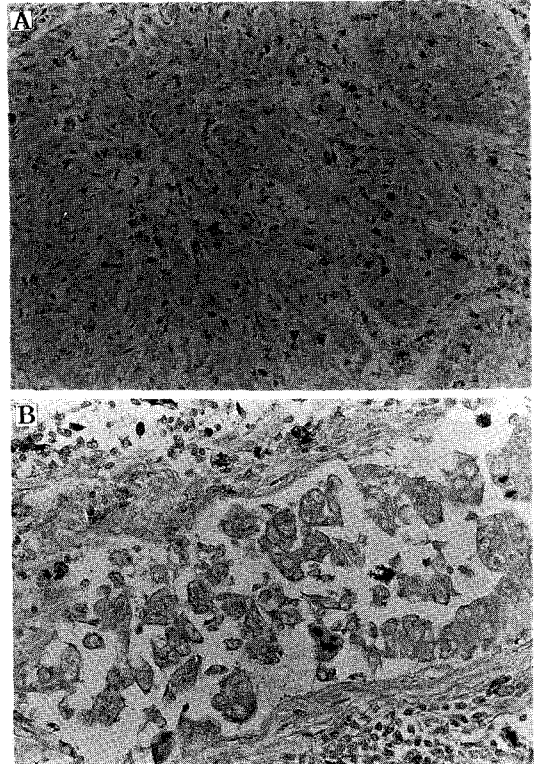


Fig. 1. Cathepsin D immunostaining. The expression of cathepsin D, which is observed in the cytoplasm of cancer cells, also showed moderate infiltrating staining of the stromal cells in the (delete) squamous cell carcinoma(A) and adenocarcinoma(B).

### 2. 종양세포에서의 Cathepsin D의 발현

Cathepsin D의 발현은 총 54례중 18례에서 관찰되어 33.3%의 발현율을 보였다(Fig. 1 A, B). 종양세포에서의 Cathepsin D의 발현은 조직학적 분화도, 암의 크기, 영역 림프절 침범, 병리조직적 병기(surgical-pathologic stage, p-stage)와는 상관관계에 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2).

### 3. 간질세포에서의 Cathepsin D의 발현

간질세포에서의 Cathepsin D는 전체 54례 중 29례

**Table 2.** Comparison of clinicopathologic features according to the expression of cathepsin D in tumor cells.

	Negative(-)	Positive(+)	P
	n=36 (66.7%)	n=18 (33.3%)	
Sex (M/F)	28/8	13/5	NS
Age	56.3	55.1	<b>0.684</b>
P-stage			<b>0.454</b>
I A, B	5	2	
II A, B	5	5	
III A, B	26	11	
Tumor size			<b>0.118</b>
<31	12	3	
31 ≤ <61	13	11	
61 ≥	13	2	
T-factor			<b>0.431</b>
T2	18	12	
T3	12	5	
T4	6	1	
Nodal involvement			<b>0.773</b>
Negative	8	3	
Positive	28	15	
Differentiation			<b>0.238</b>
Well	11	11	
Moderate	20	3	
Poor	3	6	

(53.7%)에서 중등도에서 다량이 발현됨이 관찰되었다(Fig. 2 A, B). 간질세포에서의 Cathepsin D의 발현 양상은 병리조직적 병기와의 상관관계가 있었다( $p=0.031$ ). 각각의 조직학적 분화도, 암의 크기, 영역 림프절 침범과는 유의한 차이를 보이지는 않았다(Table 3).

**4. 종양세포와 간질세포에서의 Cathepsin D 발현의 예후적인 중요성**

환자의 추적관찰기간은 최소 2개월에서 최장 70개월 이었고, 종양세포에서의 Cathepsin D의 발현군에서의 중앙생존기간(mean survival time)은  $44.89 \pm 5.92$ 개월, 음성 발현군의 중앙생존기간은  $41.52 \pm 5.83$

개월로 생존기간에 있어서 통계적으로 유의한 차이를 보여주지 못하였다( $p=0.2662$ )(Fig. 3). 또한 간질 세포에서의 Cathepsin D 발현에 있어서도 소량 발현 군의 중앙생존기간은  $49.88 \pm 6.71$ 개월, 중등도에서 다량 발현군의 중앙생존기간은  $37.32 \pm 5.38$ 개월로서 통계적으로 유의한 차이를 보여주지 못하였다( $p=0.3001$ )(Fig. 4).

**5. 종양세포와 간질세포에서의 Cathepsin D 발현사이의 관련성**

종양세포에서의 Cathepsin D의 발현과 간질세포에서의 Cathepsin D 발현 사이에는 유의한 상관관계가 있었다( $P=0.012$ )(Table 4).

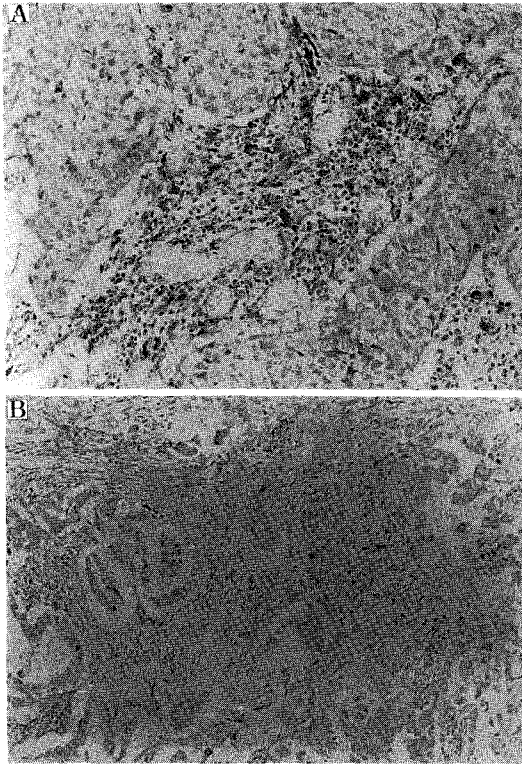


Fig. 2. Cathepsin D immunostaining. Massively infiltrating stromal cells are strongly positive for cathepsin D expression, while few of cancer cells expressed cathepsin D in the squamous cell carcinoma (A) and adenocarcinoma (B).

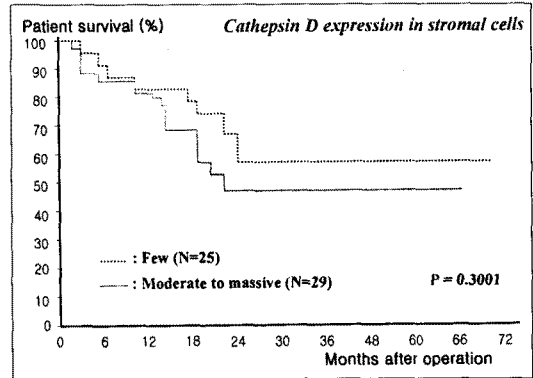


Fig. 4. Comparison of Kaplan-Meier postoperative survival curves according to the grade of cathepsin D staining in stromal cells.

## 6. 예후인자의 평가

예후와 관련된 변수를 사용하여 단변량 분석을 한 결과 영역 림프절 침범이 예후와 유의한 관련성을 보여 주었고( $P=0.0061$ ), 병리조직적 병기는 유의한 경향을 나타내었으며( $P=0.0575$ ), 예후와 관련된 변수를 사용한 다변량 분석결과도 영역림프절 침범이 유일한 독립적 예후인자로 나타났으나( $P=0.0055$ ), Cathepsin D는 의미가 없었다(Table 5).

## 고 찰

폐암은 서구에서 암사망율의 수위를 차지하는 질병으로서 우리 나라에서도 급격히 증가하고 있는 추세이며, 암의 진단, 치료방법의 꾸준한 진전에도 불구하고 진단 당시 이미 진행된 병기가 많은 등, 여러 가지 이유로 예후는 여전히 불량하여 5년 생존율은 15%를 넘지 못하고 있는 실정이다<sup>2</sup>. 폐암에 있어서 병기 결정 체계는 예후를 예측하는 지표로 도움을 주고 있으며 최근 예후를 근거로한 새로운 병기결정 체계도 발표되었다<sup>7</sup>. 그러나 같은 병기라도 상당한 예후의 차이가 있으며 환자사이의 치료나 예후에 있어서의 다양성에 대해서는 아직 설명하기 어려운 부분이 많다. 암

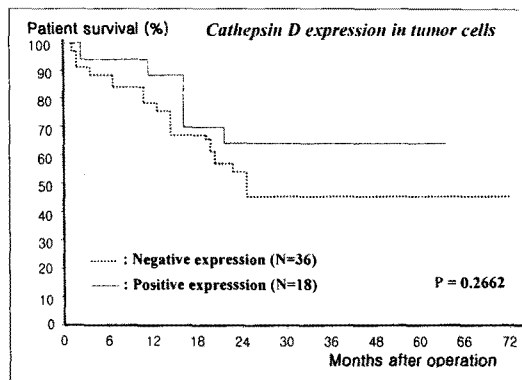


Fig. 3. Comparison of Kaplan-Meier postoperative survival curves according to the expression of cathepsin D in tumor cells.

**Table 3.** Comparison of clinicopathologic features according to the grade of cathepsin D in stromal cells.

	Few	Moderate to massive	P
	n=25 (46.3%)	n=29 (53.7%)	
Sex (M/F)	18/7	23/6	NS
Age	57.9	54.1	<b>0.158</b>
P-stage			<b>0.031</b>
I A, B	6	1	
II A, B	2	8	
III A, B	17	20	
Tumor size			<b>0.180</b>
<31	7	7	
31 ≤ <61	6	20	
61 ≥	7	7	
T-factor			<b>0.254</b>
T2	17	13	
T3	6	11	
T4	2	5	
Nodal involvement			<b>0.196</b>
Negative	7	4	
Positive	18	25	
Differentiation			<b>0.832</b>
Well	9	14	
Moderate	11	11	
Poor	3	6	

**Table 4.** Relationship between cathepsin D in tumor cells and cathepsin D in stromal cells.

Cathepsin D-positive stromal cells	Thepsin D in tumor cells	
	Positive (n=36)	Negative (n=18)
Few	21	4
Moderate to massive	15	14

(Chi-square = 6.294, P = 0.012)

세포의 생물학적 성상에 관한 여러 표지자들을 사용하여 암세포의 특성을 파악하고 이를 치료에 응용하고자 하는 노력이 가속되고 있으며, 정확한 생존가능성의 예측과 각각의 환자에게 보다 효율적인 치료를 제공하는 것을 도울 수 있는 새로운 예측인자의 필요성이 제기되었다. 기저막 또는 세포의 기질 등의 단백질을 분해하는 것은 종양이 침윤하고 전이하는 능력을 결정하

는 중요한 요소이므로 단백질분해효소중의 하나인 Cathepsin D의 예후인자로서의 역할이 대두되게 되었다.

Cathepsin D는 정상적으로 인체 및 동물조직의 모든 세포에서 낮은 농도로 존재하고 있으며 52 kDa, 48 kDa, 34 kDa의 세 가지 형태의 단백질로 나타나며, 이중 52 kDa는 비활성인 pro-cathepsin D로

Table 5. Cox's regression analyses for postoperative survival of patients with lung cancer.

Variable	Univariate analysis	
	X <sup>2</sup>	P
P-stage	7.5016	0.0575
T factor	3.6391	0.1621
Nodal involvement	12.4158	0.0061
Age	0.0870	0.7681
Cathepsin D in tumor cell	1.1923	0.2739
Cathepsin D in stromal cell	1.0360	0.3087
Multivariety analysis		
Nodal involvement	12.6421	0.0055
P-stage	2.8439	0.4965

mannose-6-phosphate수용체와 결합하여 Golgi체로 운반된 후 endosome에 싸여 lysosome에 도달하면 중간형태인 48 kDa를 거쳐 최종 활성화 형태인 34 kDa으로 변하는 것으로 알려져 있다<sup>23</sup>. Cathepsin D는 기저막과 세포외기질(extracellular matrix), 결합조직 등을 분해시킴으로써 종양 침윤에 관여하게 되는데 정확한 기전은 알려져 있지 않으나 리소솜내에 위치하면서 직접적으로 외부 단백을 분해시키거나 procollagenase를 collagenase로 활성화시키는 등의 다른 단백분해효소의 활성화에도 관여하는 것으로 추측되며<sup>20</sup>, in vitro 실험에서는 세포 분열을 촉진시켜<sup>11</sup>, 종양의 성장 및 종양의 침윤, 전이에 기여할 것이라고 생각된다. 또한 Cathepsin D는 폐암등 여러 암종에서 간질로의 종양세포의 침입에 의하여 악성의 정도를 향상시키는 것으로 알려진 cystein proteinase인 Cathepsin B를 활성화시키는 것으로 보고되고 있다<sup>24-28</sup>. 종양의 진행 인자로서의 Cathepsin D의 역할은 유방암에서 가장 많이 연구가 되었으나, 예후와 직접적인 관련이 있다는 보고<sup>12,13</sup>와 관련이 없다는 보고<sup>14</sup>, 다른 많은 보고와는 달리 발현이 오히려 좋은 예후를 보인다는 연구<sup>29</sup>도 있어 논란이 많은 실정이다. 그렇지만 일반적으로 조직에서의 세포질 추출물(cytosolic extract)에서 cathepsin D가 높으면 예후가 나쁘며<sup>12,13</sup>, 면역조직화학적 염색을 통한 연구

에서는 일치된 견해를 보여주지 못하였다<sup>14, 24, 30, 31</sup>.

폐암에서의 Cathepsin D의 발현과 관련된 소수의 보고<sup>16-18</sup>가 있으나 일치된 결과를 보여주지 못하였다. Fontanini 등<sup>17</sup>은 면역조직화화학적 방법을 통한 비소세포 폐암의 연구에서 종양세포에서의 Cathepsin D 발현이 더 좋은 분화도, 초기 병기, 더 좋은 예후와 관련이 있다고 보고하였다. Ledakis 등<sup>18</sup>은 폐암 조직 안에서 Cathepsin D의 농도는 Cathepsin B, L과는 달리 진단적 혹은 예후적인 가치를 보여주지 못하였다. 최근에 Higashiyama 등<sup>16</sup>이 152예의 폐선암 환자를 대상으로 한 연구에서는 종양세포에서의 표현되는 형식(expression type)에 따라 특히 초기 병기에서 예후와 관련된 경향이 있었으며, 종양조직 사이의 간질세포에서 중등도 에서 다량의 Cathepsin D의 발현이 되면 분화도가 낮고, 예후가 좋지 않았다. 또한 최근에 유방암에서 종양조직 사이의 간질세포에서의 발현양상이 종양조직에서의 발현보다 더 중요한 예후인자임을 보고하였고<sup>32</sup>, 종양조직 사이에 침윤된 Cathepsin D-양성 간질세포 수가 많을수록 예후가 더 나쁘다고 보고되었으며<sup>33</sup>, 이와 비슷한 연구결과가 위암과 방광암에서도 보고되었다<sup>34, 35</sup>. 본 연구 결과는 종양세포에서의 Cathepsin D의 발현율이 33.3%을 보여 주었으며 종양세포에서의 발현율에 따라 분화도 및 TNM 병기, 예후에 차이가 없었다. 간질세포에서



는 53.7%에서 중등도에서 다량의 발현을 보여주었고, 발현 양상과 병리조직적 병기와는 유의한 상관관계가 있어 간질세포에서의 발현양상이 종양의 진행과 관련이 있을 수 있음을 제시하고 있다. 그렇지만 간질세포에서의 발현양상이 영역 림프절 침범과의 유의한 관련성은 없었으며, 생존기간을 가리키는 중요한 예후 인자로서의 작용도 없었다. 본 연구에서 Higashiyama 등<sup>16</sup>의 보고와는 달리 간질세포에서의 Cathepsin D의 발현 양상이 예후 인자로서의 중요성을 갖지 못한 이유 중의 하나는 Higashiyama 등의 대상은 초기병기가 많은데 비해 본 연구의 대상환자들은 진행된 병기(III기)가 많기 때문으로 생각되며, 이는 본 연구의 제한점으로 생각된다. 또한, 이는 초기 병기에는 예후인자로 작용할 수 있으나 진행된 병기에서는 의미가 없어질 가능성을 제시한다고 생각된다. 여러 연구들 사이에서 이러한 상반된 연구결과가 나타난 다른 이유들로는, 연구 방법의 차이로서 cytosol assay 방법은 Cathepsin D의 농도를 측정하기 때문에 탐식세포와 간질세포내의 Cathepsin D가 함께 측정되는데 비해 면역조직화학적 방법은 각각에서 측정할 수 있으나 조직의 보관 상태 및 사용한 항체의 종류, 희석배율, 염색방법 및 판독기준 등의 차이들이 결과에 영향을 미치기 때문일 것으로 생각된다. 그밖에 대상군의 수술 전후 치료 및 추적기간의 차이가 있어서, 이런 요소들 때문에 Cathepsin D의 생존율에 대한 영향을 명확하게 비교하기가 어렵다고 본다. 따라서 향후 Cathepsin D가 예후에 미치는 영향 및 예후 추정인자로서의 가치를 정확히 평가하기 위해서는 좀 더 많은 증례를 대상으로 통일되고 표준화된 판독 기준을 가지고 오랜 기간의 추적관찰을 통한 연구를 해보아야할 것으로 생각된다. 또한 기저막 구성물질이나 다른 Cathepsin(특히, Cathepsin B)과의 상관관계 등의 연구도 아울러 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로, 본 연구의 결과는 종양세포와 간질세포에서의 Cathepsin D의 발현양상은 예후인자로서의 의미가 없었으나 간질세포에서의 발현양상이 병리조직적 병기와 유의한 관련성을 나타내어서 종양의 진

행에 관여할 가능성이 있을 것으로 생각된다.

## 요 약

### 배경 및 목적 :

Cathepsin D는 리소솜에 위치하는 단백분해효소로서 종양의 침윤, 전이, 증식에 관여할 것으로 생각되며, 이러한 작용을 통해 예후에도 중요한 역할을 할 것으로 추정된다. 폐암에서의 Cathepsin D의 예후인자로서의 역할은 아직 확립되지 않고 논란이 많은 실정이다. 이 연구의 목적은 비소세포폐암에서 Cathepsin D 발현의 예후적인 중요성을 알고자 하였다.

### 방 법 :

비소세포 폐암환자 중 치료 목적으로 수술적 처치를 시행한 총 54명의 환자를 대상으로 하여 적출한 폐조직의 면역조직화학적 염색으로 Cathepsin D의 발현을 관찰하고 생존기간 및 TNM 병기와의 관계를 보았다.

### 결 과 :

종양세포에서의 Cathepsin D의 발현은 총 54례 중 18례에서 관찰되어 33.3%의 발현율을 보였으나, 발현군과 비발현군 사이에 조직학적 분화도, 암의 크기, 영역 림프절 침범, 병리조직적 병기(surgical-pathologic stage, p-stage)는 통계적인 유의한 차이를 보이지 않았다. 간질세포에서는 29례(53.7%)에서 중등도에서 다량(moderate to massive)의 Cathepsin D가 발현되는 것이 관찰되었고, 발현양상과 병리조직적 병기 사이에 통계적으로 유의한 관련성이 있었으나 ( $p=0.031$ ), 각각의 조직학적 분화도, 암의 크기, 영역 림프절 침범과는 관계가 없었다. 종양세포와 간질세포에서의 Cathepsin D의 발현은 생존율로 표현한 예후와의 유의한 관련성이 없었다. 예후와 관련된 변수를 사용한 다변량 분석결과 영역림프절 침범이 유일한 독립적 예후인자가 되었으며 Cathepsin D는 예후인자로서의 의미는 없었다.

### 결 론 :

비소세포폐암의 간질세포내 Cathepsin D 발현양상은

병리조직적 병기와 유의한 관련성을 나타내어 종양 진행과의 관련 가능성을 제시하였으나, 다른 임상병리인자들 및 예후와의 관련성은 없었다. 종양세포내에서의 Cathepsin D 발현은 병리조직적 병기를 포함한 임상병리 인자들 및 예후와 관계가 없었다.

중심어 : Cathepsin D, 비소세포폐암, 예후 인자

## 참 고 문 헌

1. 이세일, 박홍길, 안돈희, 박찬용, 고재욱, 서창인, 허윤석, 서경애. 한국인 암등록 조사자료 분석보고서, 서울, 대한민국 보건복지부. 1996. P. 18
2. Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistics CA 1992;42:19
3. Shields TW. Surgical therapy for carcinoma of the lung. Clin Chest Med 1982;3:369-87
4. D'Amino TA, Massey M, Herndon JE, Moore MB, Harpole DH. A biologic risk model for stage I lung cancer : immunohistochemical analysis of 408 patients with the use of ten molecular markers. J Thorac Cardiovasc Surg 1999;117:736-43
5. Mitsudomi T, Lam S, Shirakusa T, Gazdar AF. Detection and sequencing of p53 gene mutations in bronchial biopsy samples in patients with lung cancer. Chest 1993;104:362-5
6. Strauss GM, Skarin AT. Use of tumor markers in lung cancer. Hematol Oncol Clin North Am 1994;8:507-32
7. Mountain CF. Revisions in the international system for staging lung cancer. Chest 1997;111:1710-17
8. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG. Cancer metastasis and angiogenesis : an imbalance of positive and negative regulation. Cell 1991;64:327-36
9. Lokeshwar BL, Selzer MG, Block NL, Gunja-Smith Z. Secretion of matrix metalloproteinases and their inhibitors(tissue inhibitor of metalloproteinase) by human prostate in explant cultures : reduced tissue inhibitor of metalloproteinases secretion by malignant tissue. Cancer Res 1993;53:4493-8
10. Boag AH, Young ID. Immunohistochemical analysis of Type IV collagenase expression in prostatic hyperplasia and adenocarcinoma. Mod Pathol 1993;6:65-8
11. Rochefort H, Capony F, Garcia M. Estrogen induced lysosomal proteases secreted by breast cancer cells : a role in carcinogenesis? J Cell Biochem 1987;35:17-29
12. Spyrtos F, Maudelonde T, Brouillet JP, Brunet M, Defrenne A, Andrieu C, Hacene K, Desplasces A, Rouesse J, Rochefort H. Cathepsin D : An independent prognostic factor for metastasis of breast cancer. Lancet 1989;11:1115-8
13. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Chirgwin JM, McGuire WL. Cathepsin D and progress in breast cancer. New Engl J Med 1990;322:297-302
14. Domagala W, Striker G, Szadowska A, Dukowicz A, Weber K, Osborn M. Cathepsin D in invasive ductal NOS breast carcinoma as defined by immunohistochemistry. No correlation with survival at 5 years. Am J Pathol 1992;141:1003-12
15. Maudelonde T, Martinez P, Brouillet JP, Laffargue F, Pages F, Rochefort H. Cathepsin D in human endometrium : induction by progesterone and potential value as a tumor marker. J Clin Endocrinol Metab 1990;70:115-21
16. Higashiyama M, Doi O, Kodama K, Yokouchi H, Kasugai T, Ishiguro S. Influence of cathepsin D in lung adenocarcinoma on prognosis : Possible

- importance of its expression in tumor cells and stromal cells, and its intracellular polarization in tumor cells. *J Surg Oncol* 1997;65:10-19
17. Fontanini G, Bigini d, Vignati S, Ribechini A, Angeletti CA, Pingitore R. Immunostaining of cathepsin D in non-small cell lung cancer : Correlatons with morphological and biological parameters. *Int J Oncol* 1994;4:169-73
  18. Ledakis P, Tester WT, Rosenberg N, Fischmann DR, Daskal I, Lah TT. Cathepsin D, B, and L in malignant human lung tissue. *Clin Cancer Res* 1996;2:561-8
  19. Athanassiadou P, Sakellariou V, Michalas S, Petrakakou E, Athanassiades P, Aravantinos D. Immunocytochemical localization of cathepsin D and CA 125 in ovarian cancer. *Int J Gynecol Obstet* 1997;56:31-7
  20. Makar R, Mason A, Kettelson JM, Bowden GT, Cress AE, Nagel RB. Immunohistochemical analysis of cathepsin D in prostate carcinoma. *Mod Pathol* 1994;7:747-51
  21. Leto G, Gebbia N, Rausa L, Tumminello FM. Cathepsin D in the malignant progression of neoplastic diseases. *Cancer Res* 1992;12:235-40
  22. Strojjan P, Budihna M, Smid L, Vrhovec I, Skrk J. Cathepsin D in tissue and serum of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer lett* 1998;130:49-56
  23. Cardiff RD. Cathepsin D and breast cancer : useful ? *Hum Pathol* 1994;25:847-8
  24. Pagano M, Capony F, Rochefort H. In vitro activation of procathepsin B by cathepsin D both secreted by cancer cell. *CR Acad Sci Paris* 1989; 309:7-12
  25. Van der Stappen JWJ, Williams AC, Maciewicz RA, Paraskeva C. Activation of cathepsin B, secreted by colorectal cancer cell line requires low PH and is mediated by cathepsin D. *Int J Cancer* 1996;67:547-54
  26. Sloane BF, Moin K, Krepela E, Rozhin J. Cathepsin B and its endogenous inhibitors : The role in tumor malignancy. *Cancer Metast Rev* 1990;9:333-52
  27. Inoue T, Ishida T, Sugio K, Sugimachi K. Cathepsin B expression and laminin degradation as factors influencing prognosis of surgically treated patients with lung adenocarcinoma. *Cancer Res* 1994;54:6133-36
  28. Jessup JM. Cathepsin B and other proteinases in human colorectal carcinoma. *Am J Pathol* 1994; 145:253-62
  29. Henary JA, McCarthy AL, Angus B, Westly BR, May FEB, Cairns J, Nicolson S, Horns CHW. Prognostic significance of the estrogen regulated protein, cathepsin D, in breast cancer. An immunohistochemical stain. *Cancer* 1990;65:265-71
  30. Isola J, Weitz S, Visakorpy T, Hoil K, Shea R, Khabbaz N, et al. Cathepsin D expression detected by immunohistochemistry has independent prognostic value in axillary node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 1993;11:36-43
  31. Armas OA, Gerald WS, Lesser ML, Arroyo CD, Norton L, Rosen PP. Immunohistochemical detection of cathepsin D in T2N0M0 breast carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1994;18:158-66
  32. Tetu B, Brisson J, Cote C, Brisson S, PotvinD, Roberge N. Prognostic significance of cathepsin-D expression in node-positive breast carcinoma : An immunohistochemical study. *Int J Cancer* 1993;55:429-35
  33. Joensuu H, Toikkanen S, Isola J. Stromal cell cathepsin D expression and long-term survival in breast cancer. *Br J Cancer* 1995;71:155-59

34. Lipponen PK. Expression of cathepsin D in transitional cell bladder tumors. *J Pathol* 1996;178: 59-64
35. Matsuo K, Kobayashi I, Tsukuba T, Kiyoshima T, Ishibashi Y, Miyoshi A, et al. Immunohistochemical localization of cathepsin D and E in human gastric cancer : A possible correlation with local invasive and metastatic activities of carcinoma cells. *Hum Pathol* 1996;27:184-90