

폐암에서 Epidermal growth factor와 Tumor Necrosis Factor- α 의 발현

장 덕 기** · 이 충 석* · 박 성 달* · 김 송 명*

=Abstract=

Expression of the Epidermal Growth Factor and Tumor Necrosis Factor- α in Lung Cancer

Deok Kee Jang, M.D.**, Chung Seok Lee, M.D.*, Sung Dal Park, M.D.*, Song Myung Kim, M.D.*

Background: Release of Epidermal Growth Factor(EGF) affects the growth of the lung cancer in various ways and tumor necrosis factor- α (TNF- α), which is known as acute immune reactants and now used in lung cancer treatment, suppress carcinogenesis of the lung. In this study, expression rates of EGF and TNF- α in the lung cancer tissue and the serum of lung cancer patients were measured. **Material and Method:** In twenty cases of lung cancer and four cases of benign tumor or granuloma, all patient's peripheral blood was sampled pre, and postoperatively, and tumor tissues and tumor free lung tissues were obtained from resected surgical specimens in all patients. Then, all blood samples and tissues were frozen and kept safely in the liquid nitrogen tank. Human EGF kit(Amersham pharmacia biotech, England) and TNF- α IRMA kit (Biosouce, Belgium) were used in quantitation of EGF and TNF- α respectively. **Result:** 1. Both EGF and TNF- α were expressed in all tissues and control tissue, benign tumor or granuloma tissue, cancer tissue and pre- and postoperatively sampled serum. 2. The amount of EGF and TNF- α were significantly higher in cancer tissue than in control and benign tumor tissues. 3. The expression of TNF- α was more potent in adenocarcinoma tissue. 4. The expressed amounts of serum EGF and TNF- α were 5.7 times and 1.3 times higher than in tissue respectively. 5. The expression rates of TNF- α in cancer tissue was different according to histologic types of cancer but not different for EGF. 6. As TNM stages go up the amount of EGF in cancer tissue increased but TNF- α decreased. 7. The amount of EGF in serum was increased at immediate postoperative period but TNF- α was decreased. **Conclusion:** The presence of difference in the expressed amount of EGF and TNF- α between cancer tissue and control tissue was proven, also the difference was found between tissue and serum representing the concentration of EGF and TNF- α , which were higher in serum than in tissues. EGF and TNF- α are released in all of normal tissue, benign tumor tissue and lung cancer tissue and

*고신대학교 의과대학 고신의료원 흉부외과학교실

Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Kosin University College of Medicine, Pusan

**장덕기 내과의원

Dr Jang's Internal Medical Center

† 대한 흉부외과학회 제31차 추계 학술 대회에서 구연된 내용

논문접수일 : 2000년 6월 29일 심사통과일 : 2000년 11월 18일

책임저자 : 김송명(602-702) 부산광역시 서구 압남동 34번지, 고신의료원 흉부외과. (Tel) 051-240-6466, (Fax) 051-248-9407

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

their expression rates were variable according to cell function. Further research is needed to for the expression of EGF and TNF- α in various kinds of cells.

(Korean Thorac Cardiovasc Surg 2001;34:138-47)

Key words : 1. Lung neoplasm
2. Growth factor
3. Tumor necrosis factor
4. Neoplasm maker

서 론

암세포는 여러종류의 peptide hormone들을 생산한다¹⁾. 이러한 hormone들은 자가 분비라는 방식으로 생산되어 세포벽에 있는 수용체(receptor)를 자극하여 세포의 자가 분비성(auto-crine) 혹은 부분비성(paracrine)으로 정상적인 성장과 암발생의 원인성 세포분열등에 작용한다²⁾.

Autocrine-stimulated mitogenesis가 폐암의 진행이나 발생에 뚜렷이 기여하고 있다는 사실에 근거하여 autocrine loops을 중단시키려는 임상 노력이 gene 치료법에 응용이 되고 있으며 또한 그 효과에 대해서도 주목을 받고 있는 실정이다.

Putmann 등³⁾이 Epidermal Growth Factor Receptor(EGFR)은 Epidermal Growth Factor(EGF)에 의해 자극을 받는 세포표면의 수용체이며, 이는 4종의 비소세포암에서 중요한 역할을 한다고 밝혀짐에 따라서, 김대연 등⁴⁾과 이창민 등⁵⁾의 연구에 의해서 EGFR이 기능적 수용체이나 수용체를 자극하는 EGF가 더 중요한 물질임을 확인한 바 있다.

폐암에서 EGFR의 증가에 대한 보고들이 있으며, 폐암조직 내에서 실제로 cellular proteins의 tyrosine phosphorylation을 통하여 signaling pathway가 이루어 진다고 밝혀져 있다⁶⁾.

Tyrosine phosphorylation의 임상적 의미는 일차적으로 세포 단위에서 세포막의 수용체에 세포성 홀몬등에 의해 활성화될 때 tyrosine kinase 효소에 의해 일어나는 대사라는 것과 둘째로는 정상 세포에서도 일어나지만 암조직에서는 더욱 활성도가 증가되어 있다는 사실이나 마지막으로 세포내 signaling 경로를 통하여 폐암의 발생과 immortalization에 역할을 한다는 것을 포함한다. EGF가 폐암의 발생과 성장과정등에 직, 간접적인 영향을 주는 것으로 인정되고 있으며, 급성 면역 반응의 세포활성 물질중에서 tumor necrosis factor- α (TNF- α)가 폐암 세포독성을 보임이 알려져 있으면서 EGF와 TNF- α 는 구조적으로 유사성을 가지고 있고 세포막의 동일한 수용체를 전단(shear)하여 tyrosine phosphorylation에 활성화되는 특성이 있음이 공통된 성격이다²⁾.

EGF는 암발생에 주로 작용하는 것으로 알려져 있으나 한편으로는 세포고사에 관여하는데 DNA fragmentation과는 무

Table 1. Patient characteristics

Number of case	24
Gender	Male 15 Female 9
Age*	mean \pm S.D.
NSCLC	58 \pm 10.5
SCC	55.8 \pm 9.50
AC	69.8 \pm 7.63
SCLC	50.0 \pm 1.41
Benign or granuloma	55.5 \pm 11.36

*, P>0.05; NSCLC, Nonsmall cell lung cancer; SCC, Squamous cell carcinoma; AC, adeno carcinoma; SCLC, small cell lung cancer.

Table 2. The histologic diagnosis and number of cases (%)

Nonsmall cell carcinoma	18(75)
Squamous Cell carcinoma	14(58.3)
Adenocarcinoma	4(16.7)
Small cell carcinoma	2(8.3)
Benign tumor or granuloma	4(16.7)
Total	24 (100)

관하고 genistein-sensitive cell-linked envelope competence에 의해 이루어진다고 알려져 있다⁷⁾. 암세포에 따라 TNF에 대한 반응이 다양하다고 한다. 어떤 것은 picomole 농도에 수시간만 노출되어도 사멸하는데 비해 인체 종양세포들은 흔히 TNF에 내성을 보이며 actinomycosis D와 같은 대사억제제의 유무에 따라 세포가 괴사가 되거나 programmed cell death로 가기도 하므로 그 기전은 현재까지 정확히 밝혀져 있지 않다⁸⁾.

임상에서 조직형이나 병기이외에 다른 요소가 있음을 시사한다. 이에 저자는 폐암조직과 혈청에서 EGF와 TNF- α 를 면역방사 특정 분석법을 이용하여 정량분석하여 발현정도를

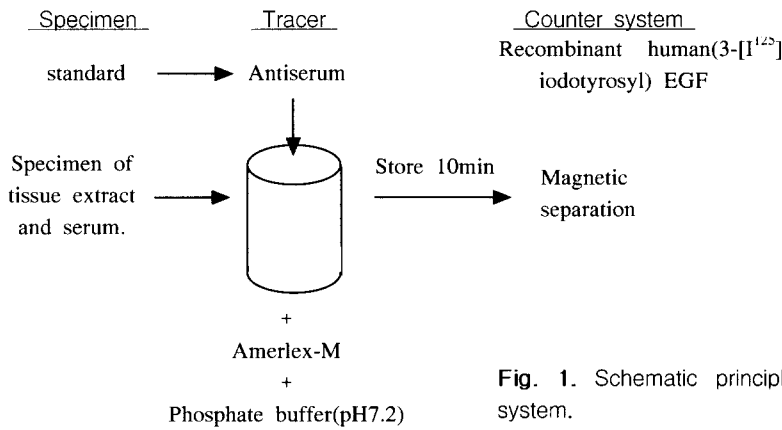


Fig. 1. Schematic principle for EGF-IRMA immuno radio metric assay system.

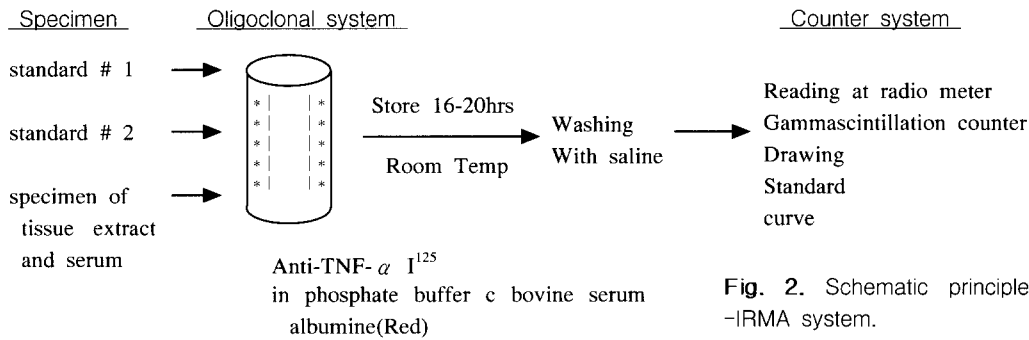


Fig. 2. Schematic principle for MEDGENIX-TNF- α -IRMA system.

비교 평가하고 관련성을 분석하여 근치수술 전후의 인자로서의 유용성 여부를 평가하고자 한다.

대상 및 방법

1. 대상

1998년 6월부터 1999년 6월 까지 고신대학교 의과대학 부속병원에서 폐암이나 종양(고립성 폐결절 포함)으로 임상진단된 환자로서 근치적 폐절제 수술을 받고 병리 조직학적 검사를 실시한 환자 24례를 대상으로 하였다. 폐암의 조직학적 분류는 WHO 분류에 따랐으며 병기는 1996년 AJCC staging을 적용하였다.

2. 방법

폐암환자로 수술을 받은 환자를 대상으로 수술전과 수술 직후 혈액을 채취하고, 수술 후 적출한 표본에서는 암이 없는 건강하다고 판단되는 대조 조직과 종양조직에서 피부생검시 사용하는 5 mm 구경의 생검기(biopsy punch)로서 조직 절편을 5 mm³ 크기로 일정량의 조직을 절취하여 액화질소 내에 실험시까지 급속 냉동 보관하였다. 수술 후 혈액을 재 채취하여 혈청을 분리하여 냉동고에 검사시까지 보관하였다. 이때 대조조직은 양성종양 혹은 육아종 환자의 정상조직에

서 얻은 대조조직과 폐암환자의 종양이 없는 건강한 부위로 보이는 폐조직의 대조조직의 2종류로 채취하였다.

냉동 보관의 조직 절편을 homogenizer용 pH 7.2의 phosphate buffer에 넣고 조직 마쇄기(Ultra-Turax T25, Janke & Kunkel IKA[®], Labortechnik)을 이용하여 13,000rpm으로 원심 분리 시킨 다음 상층액을 일정량 채취하였다. EGF의 정량은 Human Epidermal Growth Factor kit(Amersham Pharmacia Biotech, England)를 사용하였으며, TNF- α 정량은 TNF- α IRMA kit(Biosource, Belgium)을 사용하였다(Fig. 1,2).

3. 통계처리

연구에 처리된 수치는 평균±표준편차 또는 평균±표준오차로 표시하였고 Mann-Whitney U 양측 검정을 적용하였고 통계학적 분석을 위하여 통계(SPSS version 9.0)을 이용하여 p값은 0.05미만의 경우를 유의성이 있는 것으로 처리하였다.

결 과

1. 환자의 특성

전체 환자수는 24례이었으며 남자가 15례와 여자가 9례이었다. 비소세포폐암 전체 환자의 평균 나이는 58±10.5세 이었고 편평상피성암 환자의 평균나이는 55.8±7.63세 이었고

Table 3. The differences of hematologic findings in all cancer patient. mean(\pm S.D.).

Histologic diagnosis	No. of cases	Hematologic Data			
		WBC	Hct	γ -GTP	LDH
Nonsmall cell carcinoma	18	8,254(3,371)	36.5(3.36)	32.6(18.6)	321.1(65.94)
Squamous cell carcinoma	14(g)	8,360(3,336)	37.1(3.45)	37.1(17.1)	322.5(76.13)
adenocarcinoma	4(h)	8,260(4,510)	34.2(1.80)	14.8(7.63)	316.5(46.18)
Small cell carcinoma	2	7,500(2,969)	36.8(4.74)	36.5(31.82)	320.5(27.5)
Benign tumor or granuloma	4	11,053(4,543)	38.6(2.62)	11.8(3.30)	319(71.4)

WBC, White Blood Cell; Hct, Hematocrit; LDH, Lactic Dehydrogenase; γ -GTP, Gamma-Glutamyl transpeptidase.

Table 4. The concentration of tumor markers of cyfra 21-1, CEA, NSE and SCC. mean(\pm S.D).

Histologic diagnosis	No. of cases	Tumor markers,			
		Cyfra 21-1	CEA	NSE	SCC-Ag
Normal range		0-3.3	0-5.0	0-13.2	0-2.0
Nonsmall cell carcinoma	18	7.16(10.74)*	8.97(9.37)*	9.13(2.56)	1.79(1.31)**
Squamous cell carcinoma	14(I)	8.36(12.64)*	8.48(10.51)	9.42(2.96)*	2.09(1.44)**
Adenocarcinoma	4(I)	4.9(3.26)	8.37(6.39)	8.37(1.38)	0.87(0.52)
Small cell carcinoma	2	3.24(3.59)	13.64(8.15)	8.59(df)	1.54(fd)
Benign tumor or granuloma	4	1.21(1.18)	3.1(1.54)	6.68(1.59)	0.68(0.26)
	24				

CEA, Carcinoembryonic antigen; NSE, Neuron specific enolase; SCC-Ag, Squamous cell carcinoma antigen; *, P<0.05;

** , P< 0.005: Vs benign tumor or granuloma.

선암환자는 69.8 \pm 7.63세로 약 14세 정도 높았으며 소세포암은 50 \pm 1.41세로 비소세포암보다도 10세 이상 낮았다. 반면 양성 종양이나 육아종의 평균나이는 55.5 \pm 11.36세 로서 평균나이 사이에는 통계적으로 차이가 없었다(Table 1).

2. 조직학적 진단

비소세포암이 18례(75%)를 차지하고 있었고 그 중 편평세포암종이 14례(58.3%)이었으며 선암이 4례(16.7%)이었다. 소세포암이 2례(8.3%)이고 양성종양과 육아종이 4례(16.7%)이었다(Table 2).

3. 혈액학적 소견(Table 3)

비소세포암, 소세포암과 양성종양이나 육아종으로 크게 구분하여 혈액학적 검사인 백혈구수, 혈색소, gamma-glutamyl-transpeptidase(γ -GTP)와 lactic dehydrogenase(LDH)를 비교하여 염증성 반응 유무와 혈색소의 적량 유무정도, 또한 γ -GTP로서 간기능 유무를 대신 점검과 비교하였으며 LDH의

정량으로 심근을 위시한 근육의 질환 유무를 점검키 위해 실시하였다.

양성종양이나 육아종에서 폐암에 비하여 뚜렷이 백혈구의 증가가 있었다. 비소세포암이 소세포암보다 약간 높은 백혈구 수치를 보이거나 양자 모두 정상 범위이내 이었다. 혈색소치는 전반적으로 정상에 비해 감소되어 있었고 특히 선암에서 다른 편평세포성 암이나 소세포암 그리고 양성종양이나 육아종에 비해 약간 낮았다. γ -GTP와 LDH 양자는 모두 정상 범위이내에 있었다.

4. 암표지자의 농도(Table 4).

환자의 수술전 혈청에서 암표지자를 정량검사 하였다. 검사한 암표지자는 cyfra 21-1, 암태아 항원(carcinoembryonic antigen, CEA), 신경원 특이 항원(neuronal specific enolase, NSE)와 편평 세포암종 항원(squamous cell carcinoma antigen, SCC-Ag)들이다.

Cyfra 21-1은 비소세포암이 7.16 \pm 10.72ng/ml로 유의하게

Table 5. The concentration of epidermal growth factor in tissue and serum. mean(\pm S.D.).

Histologic diagnosis	No. of Cases	Epidermal growth factor,			
		Control	Cancer tissue	serum	
				Pre-op	Post-op
Nonsmall cell carcinoma	18	0.11(0.05)	0.14(0.10)	0.70(0.26)	0.76(0.29)
squamous cell carcinoma	14(I)	0.11(0.06)	0.14(0.11)	0.73(0.27)	0.84(0.25)
Adenocarcinoma	4(II)	0.09(0.02)	0.14(0.05)	0.56(0.21)	0.48(0.31)
	2(10)	0.11(0.05)	0.03(0.02)	0.51(0.53)	0.55(0.06)
Cancer total	20	0.11(0.05)	0.13(0.10)*	0.68(0.28)*	0.74(0.28)*
Benign tumor or granuloma	4	0.11(0.06)	0.13(0.09)	0.68(0.26)	0.59(0.03)
Total	24	0.11(0.05)	0.13(0.09)	0.68(0.26)	0.74(0.28)

*, P= 0.000 serum values vs cancer tissue.

증가(p<0.05)되어 있으나 소세포암과 양성종양 및 육아종에서는 정상범위에 있었다. 암태아성 항원은 폐암 모두에서 증가되어 있었으며, 특히 비소세포암종에서 대조 양성종양 및 육아종에 비해 통계적으로 유의하게 증가(p<0.05)되어 있었다.

신경원 특이 항원은 모두 정상범위내에 있었다. 그러나 비소세포암과 편평세포암종은 신경원 특이 항원치가 각각 9.13 \pm 2.56 ng/ml와 9.42 \pm 2.96 ng/ml로 양성종양과 육아종의 6.68 \pm 1.59 ng/ml에 비해 유의하게 높은 수치를 보였다(p<0.05).

SCC-Ag은 편평세포암종(2.09 \pm 1.44ng/ml)에서만 정상범위보다도 증가되어 있었다. 양성종양과 육아종에 비해서 비소세포암종과 편평세포암종에서 통계적으로 유의하게(p<0.005) 높은 값을 나타내었다.

5. Epidermal growth factor의 농도(Table 5)

대조조직에서 EGF의 정량분석한 결과는 비소세포암이 0.11 \pm 0.05 ng/ml로서 이중 편평세포암종이 0.11 \pm 0.06 ng/ml, 선암이 0.09 \pm 0.02 ng/ml이었고, 비소세포암이 0.11 \pm 0.05 ng/ml이었다. 암조직이 없는 폐조직에서도 EGF가 발현되었으며 정상이라고 추정되는 양성종양 및 육아종의 환자에서 병소가 없는 폐조직에서도 EGF가 발현되었다.

폐암환자 전체의 대조조직 EGF 농도는 0.11 \pm 0.05 ng/ml이며 양성종양 및 육아종의 대조조직 EGF 농도는 0.11 \pm 0.06 ng/ml로서 폐암환자의 대조조직과 양성종양 및 육아종의 대조조직간에는 차이가 없었으며 24례 환자 전체의 대조조직 EGF는 0.11 \pm 0.05ng/ml로 정량분석 되었다.

폐암 조직의 EGF 정량은 비소세포암이 0.14 \pm 0.1 ng/ml, 이중 편평세포암종이 0.14 \pm 0.11 ng/ml이고 선암이 0.14 \pm 0.05

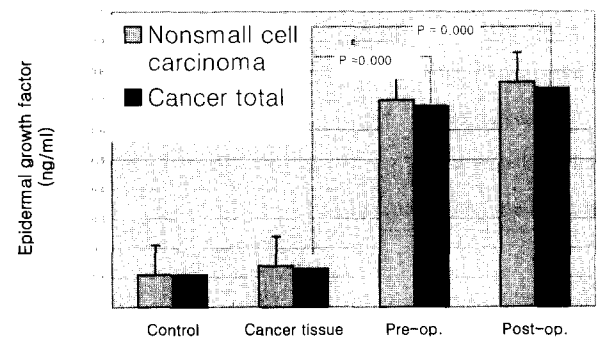


Fig. 3. The concentration of epidermal growth factor in nonsmall cell carcinoma and cancer total.

ng/ml이었다. 소세포암종은 0.03 \pm 0.02 ng/ml로 비소세포암종에 비해 매우 낮았다. 양성종양 및 육아종은 0.13 \pm 0.09 ng/ml로 양성종양과 유사하였다. 전체 폐암의 EGF 총량치는 0.13 \pm 0.10 ng/ml 이었다. 폐암조직은 대조조직에 비하여 높은 EGF 농도를 나타내었으나 통계적 유의성은 발견할 수 없었다.

수술전 후 혈청내의 EGF의 정량은 비소세포암종에서는 0.70 \pm 0.26 ng/ml에서 0.76 \pm 0.29 ng/ml이었고 이중 편평세포암종이 0.73 \pm 0.27 ng/ml에서 0.84 \pm 0.25 ng/ml로, 선암에서는 0.56 \pm 0.21 ng/ml에서 0.48 \pm 0.31 ng/ml이었다.

소세포암종은 수술전 0.51 \pm 0.53 ng/ml에서 0.55 \pm 0.06ng/ml이었다. 전체 폐암환자의 수술전 후 EGF의 정량치는 0.68 \pm 0.28 ng/ml에서 0.74 \pm 0.28 ng/ml이었다. 양성종양 및 육아종 절제전 후 혈청내 EGF의 정량은 각각 0.68 \pm 0.26 ng/ml, 0.59 \pm 0.03 ng/ml이었다. 조직학적 폐암종류에 따라서도 EGF 농

Table 6. The concentration of tumor necrosis factor - α in tissue and serum. mean(\pm S.D.).

Histologic diagnosis	No. of cases	Tumor necrosis Factor- α ,			
		Control	Tumor tissue	Serum	
				Pre-op.	Post-op
Non small cell carcinoma	18	29.82(16.50)	37.44(50.61)	70.40(87.22)	37.56(50.98)
Squamous cell carcinoma	14	31.1(16.84)	25.14(10.95)	63.35(91.05)	22.92(16.58)
Adenocarcinoma	4	25.3(13.59)	80.12(104.08)	95.09(78.31)	88.82(95.03)
Small cell carcinoma	2	28.3(2.56)	49.31(10.41)	22.52(6.07)	21.57(5.69)
Cancer total	20	26.74(11.62)	39.34(47.74)	44.77(42.87)*	35.96(48.49)*
Benign tumor or granuloma	4	20.3(9.08)	26.42(20.63)	28.68(8.06)	27.68(6.91)
Total	24	28.10(15.01)	39.77(46.48)	56.46(77.52)	34.58(44.25)

*, P = 0.044: pre-op, serum vs post-op serum.

Table 7. The Concentration of epidermal growth factor by cancer staging. mean(\pm S.E.).

AJCC staging	No. of cases	Epidermal growth factor,			
		Control	Cancer tissue	Serum	
				Pre-op.	Post-op
I a	5	0.08 (0.002)*	0.09(0.034)*	0.52(0.142)#	0.73(0.088)#
I b	6	0.1(0.013)	0.15(0.042)	0.78(0.129)	0.81(0.116)
II	1	0.202(df)	0.203(d)	0.861(dsd)	1.13(df)
IIIa	6	0.09(0.017)	0.143(0.052)	0.751(0.095)	0.58(0.142)
IV	2	0.33(0.233)	0.3(0.09)	0.54(0.11)	0.47(df)
Benign or granuloma	4	0.11(0.025)	0.13(0.05)	0.68(0.14)	0.74(0.14)
Total	20	0.11(0.013)	0.12(0.013)	0.67(0.034)	0.74(0.06)

*, P = 0.043: cancer tissue vs control; #, P = 0.043 : pre-op serum vs post-op serum

도의 미세한 차이를 보였다.

조직내 EGF의 정량치는 혈청내의 것에 비해 약 20% 전후의 값을 보이고 있으며 수술전후의 정량치는 수치간에는 차이가 없었다(Fig. 3). 폐암 전체 환자의 폐암조직의 EGF 정량치(0.13 \pm 0.1ng/ml)에 비해서 수술전후 혈청내의 EGF 정량치들이 통계상 유의하게 높은 값을 나타내었다.

6. Tumor necrosis factor- α 의 농도(Table 6)

대조조직내 TNF- α 의 농도는 비소세포암종에서는 29.82 \pm 16.50 pg/ml이었고 이중 편평세포암종이 31.1 \pm 16.84 pg/ml이며 선암이 25.3 \pm 13.59 pg/ml이었다.

소세포암종은 28.3 \pm 2.56 pg/ml이었고 전체 폐암환자의 TNF- α 의 정량치는 26.74 \pm 11.62 pg/ml이었고 양성종양 및 육

아종에서는 20.3 \pm 9.08 pg/ml이었다. 양성종양의 대조조직내 TNF- α 농도가 양성종양보다 높았다. 그 상한치가 30 pg/ml 미만이었다. 그러나 통계적 유의성은 없었다.

비소세포암종의 조직내 TNF- α 정량치(37.44 \pm 50.61 pg/ml)는 증가되어 있고 이중 편평세포암종(25.14 \pm 10.95 pg/ml)과 선암(80.12 \pm 104.08 pg/ml)과 소세포암종(49.31 \pm 10.41 pg/ml) 모두 양성종양과 육아종에 비하여 증가되어 있었으며 전체 폐암 환자의 암조직내의 TNF- α 는 39.34 \pm 47.74 pg/ml이었다. 양성종양 및 육아종의 TNF- α 는 26.42 \pm 20.63 pg/ml로서 특히 선암과 소세포암종의 TNF- α 농도가 증가되어 있었다(Fig. 4). 수술전후 혈청내 TNF- α 의 정량치는 비소세포암에서 70.4 \pm 87.22 pg/ml에서 35.56 \pm 50.98 pg/ml로 변하였고 이중 편평세포암종은 63.35 \pm 91.05 pg/ml에서 슬후 22.92 \pm 16.98 pg/ml

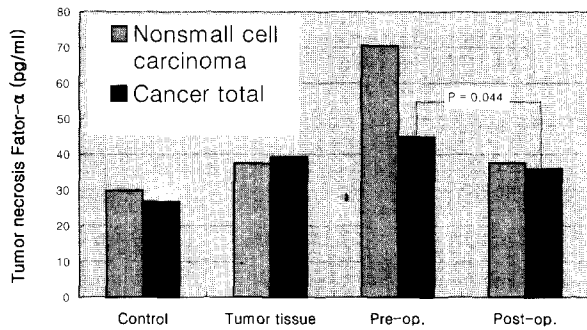


Fig. 4. The concentration of tumor necrosis factor- α in nonsmall cell carcinoma and cancer total.

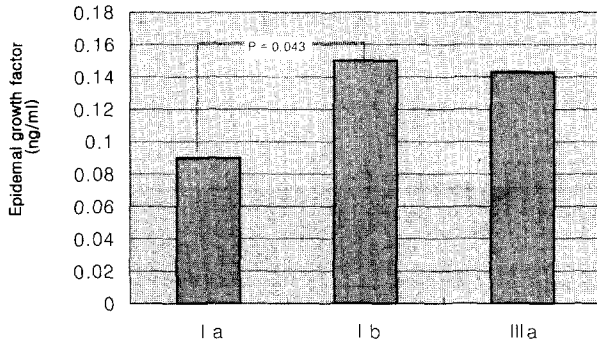


Fig. 5. The EGF concentration in TNM stage Ia, Ib and IIIa of cancer tissue.

이었고 선암은 술전 95.09 ± 78.31 pg/ml에서 술후 88.82 ± 95.03 pg/ml으로 되었다. 소세포암은 술전 22.52 pg/ml에서 21.57 ± 5.69 pg/ml로 비소세포암보다도 술전후 모두 적었다. 암환자 전체의 수술전 TNF- α 는 44.77 ± 42.87 pg/ml에서 35.96 pg/ml로 약간 감소하였으며 이 변화는 통계적으로 유의한 차이($p=0.044$)가 있었다. 양성종양 및 육아종에서는 수술전 28.68 ± 8.06 pg/ml이었다가 수술후 27.68 ± 6.91 pg/ml로 증감이 아주 미미하였다. 수술전 비소세포암종의 TNF- α 는 전체암에 비해 현저히 높았으나 수술후에는 양자간의 차이가 매우 적었다. 이는 비소세포암종이 수술전후 감소하였음을 뜻하고 있다(Fig. 4).

7. 폐암의 병기에 따른 Epidermal growth factor의 농도

대조조직에는 Ia기가 0.08 ± 0.002 ng/ml, Ib는 0.1 ± 0.013 ng/ml이며, II기는 0.202 ng/ml, IIIa기는 0.09 ± 0.017 ng/ml이며 IV기는 0.33 ± 0.233 ng/ml이며 최하 0.08 ng/ml에서 최고 0.33 ng/ml이며, 평균 0.11 ± 0.013 ng/ml의 분포이었다.

암조직에서는 Ia기 0.09 ± 0.034 ng/ml, Ib기는 0.15 ± 0.042 ng/ml, II기가 0.203 ng/ml이며, IIIa기와 IV기는 각각 0.14 ± 0.052 ng/ml와 0.3 ± 0.09 ng/ml로 나왔으며 전체 평균을 $0.13 \pm$

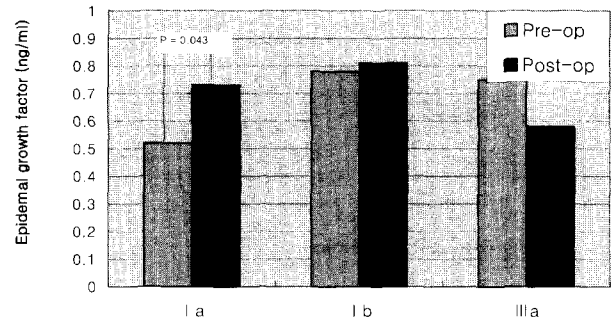


Fig. 6. The serum EGF concentration of pre-and post-operative period in stage Ia, Ib and IIIa.

0.05 ng/ml이었다. 폐암의 stage가 진행함에 따라 EGF의 농도가 증가되어 가는 경향을 보였다. 암의 병기에 따른 수술전후 혈청내 EGF의 정량치는 Ia기가 0.52 ± 0.142 ng/ml에서 0.73 ± 0.088 ng/ml로 Ib기가 0.78 ± 0.129 ng/ml에서 0.81 ± 0.116 ng/ml, II기는 수술전 0.861 ng/ml에서 수술후 1.13 ng/ml로 약간 증가되었으며 IIIa기는 0.75 ± 0.095 ng/ml에서 수술후 0.58 ± 0.142 ng/ml로 또한 IV기는 0.54 ± 0.11 ng/ml에서 0.47 ng/ml로 변하였다. Stage Ia, Ib에서는 수술후 EGF 농도가 증가되었으나 IIIa기에는 오히려 감소되는 양상을 보였다. 혈청내의 EGF농도가 병기에 따른 변화 추세를 병기가 증가함에 따라 증가된다는 것으로 판단된다. 통계학적으로 Ia기의 대조조직과 암조직 사이에서, 또 Ia기의 수술전과 수술후 간에는 유의한 차이가 있었다($p=0.043$).

8. 폐암의 병기에 따른 Tumor necrosis factor- α 의 농도 (Table 8).

폐암의 TNM 병기에 따라 TNF- α 의 농도를 측정된 결과 대조조직에는 Ia가 24.5 ± 2.86 pg/ml, Ib는 22.2 ± 4.28 pg/ml와 IIIa기는 39.4 ± 1.87 pg/ml로서 전체 평균은 26.7 ± 2.59 pg/ml을 보이고 있다.

폐암조직에서는 초기 폐암에서 TNF- α 가 가장 높았고 이후 약간씩 감소해 가는 변화를 보이고 있었다(Fig. 6).

혈청내의 수술전후 TNF- α 의 농도 변화는 불규칙한 양상을 보였다. Ia와 IIIa기는 수술후 감소한 반면 Ib기는 수술후 오히려 증가하였다(Fig. 7).

9. 폐암의 epidermal growth factor 혹은 tumor necrosis factor- α 와 tumor markers 사이의 상관관계

Epidermal growth factor와 tumor necrosis factor- α 사이의 상관관계를 조사해 본 결과 유의한 상관관계는 없는 것으로 나타났다. 또한 tumor markers인 cyfra 21-1, CEA, NSE와 SCC-Ag 사이에도 통계학적인 상관관계가 없었다.

Table 8. The Concentration of tumor necrosis factor- α according to cancer staging mean(\pm S.E.).

AJCC staging	No. of cases	Tumor necrosis factor- α ,			
		Control	Cancer tissue	Serum	
				Pre-op.	Post-op
I a	5	24.5(2.86)	70.4(41.46)	33.64(8.64)	22.9(3.65)
I b	6	22.2(4.28)	62.25(34.93)	37.49(4.99)	61.9(35.16)
II	1	9.04(fd)	12.43(fsed)	23.78(fd)	16.91(ds)
IIIa	6	39.4(1.87)*	28.0(5.01)	43.5(19.86)	25.5(5.74)
IV	2	122.2(105.39)	167.7(133.54)	83.9(37.77)	40.06(sd)
Benign or granuloma	4	20.3(4.54)*	26.4(10.32)	28.7(4.03)	27.7(3.46)
Total	20	26.7(2.59)	39.3(10.67)	44.8(9.59)	35.9(10.84)

*, P = 0.019 : IIIa vs benign or granuloma control.

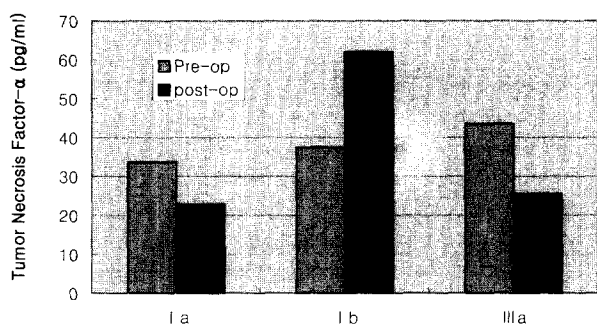


Fig. 7. The serum TNF- α concentration of pre-and post-operative period in stage Ia, Ib and IIIa

고찰

폐암은 악성도가 강한 암종으로 생존율이나 예후가 불량하여 절제하더라도 5년 생존율이 30% 이하이며 편평세포암종은 14%에 불과한 결과를 보이고 있다⁹⁾. 그러므로 발병기 전이나 병태생리에 대해서 밝혀야 할 많은 부분이 현재까지의 문제점이다. 또한 자가 분비성 홀몬과 수용체 사이의 상호 연관성, 암조직이 정상 폐조직으로 침투나 이행과정에 대한 것들과 자가 분비하는 홀몬들의 조직과 혈액내의 농도 표현에 대해 앞으로 밝혀져야 할 부분이다. 폐암에 대한 연구에는 근원이 되는 세포를 구분하기 위한 접근법이 있으며 이 중에는 carcinogen, 분화를 일으키는 물질, 기관세포에 대한 증식을 위시하여 성장인자에 대한 반응을 조사하는 방법들이 있다.

성장과 관련이 있는 인자에는 현재까지 대표적으로 알려진 것은 6종류로 epidermal growth factor(EGF), transforming growth factor- α (TGF- α), amphiregulin(AR), betacellulin(BTC),

heparin-binding-EGF(HB-EGF)와 heregulin(HRG)들이다.

이중에서 첫 번째로 거론되는 EGF는 암세포의 증식과 관련되어 있고 이는 암의 성장 인자계와 관련된 물질임을 확인하는 연구결과들이 있으며^{4,5,8)}, 반면 TGF- α 는 폐암에 이환된 환자의 생존 기간을 짧게 하는 것과 세포분해⁶⁾와 관련된 물질임이 다각도로 확인되고 있다.

EGF와 TNF- α 는 세포막의 신호전달을 위한 수용체가 동일하다는 공통점이 있으며 이러한 현상은 2가지의 물질이 신호전달의 방식에서도 동일한 경로인 tyrosine kinase에 의한 phosphorylated peptide를 이차 messenger로 하여금 작용하게 하여 결국 growth cycle에 작용한다는 것이다^{1,2,10)}. EGF와 TNF- α 의 검출은 1988 Hudgins 등¹¹⁾에 의해 인체 암을 이식한 nude mouse의 소변에서 존재를 발견한 것이 시초가 되었고 당시의 연구에는 HPLC 방법으로 검정되었다. 이외에도 ELISA법¹²⁾이나 monoclonal antibody를 이용하는 방법으로 발전하였다. 저자는 monoclonal antibody를 이용한 IRMA 법으로 정량 검사하였다.

TNF- α 는 이미 잘 알려진 바와 같이 1975년 Caswell등이 BCG로 전처치한 쥐에 내독소를 주어 혈청에서 처음 발견한 것이다. 그 이래로 생체내외에서 cytolysis를 보인다는 사실이 보편적으로 잘 알려져 있다. 또한 일명 cachexin이라고 하기도 하며 성분은 157개의 aminoacid의 unglycosylated polypeptide cytokine이다. 현재까지 밝혀진 중요한 생물학적 역할은 첫째 항종양 즉 종양성장 활동을 억제시키는 작용이며 둘째는 면역과 관련된 염증성 활동의 전단계에서 작용을 하며 셋째로는 대사와 관련된 기능으로 lipoprotein lipase에 대한 억제작용과 adipocyte gene을 억제하는 역할이다. 임상에서 암이외의 혈청내의 비정상적인 TNF- α 의 상승요인으로는 폐혈증, 이식거부반응, 기생충 감염, vivocytokine(IL-2) 치료와

심부전에도 관계되어 있다.

Partanen 등¹³⁾은 asbestosis와 관련된 폐암과 폐질환의 혈청 내의 TNF- α 를 검사하여 그 결과들을 radioimmunoassay 법으로 fmol/100 μ l 단위로 발표한 바 있었다. 그러나 현재까지 폐암의 조직과 혈청간의 EGF와 TNF- α 를 동시에 검사한 보고가 발견되지 않고 있음이 본 연구를 시도한 동기이다.

Putnam 등³⁾은 시험관내에서 비소세포암 세포계열을 조사한 결과 EGF-R을 모두 표현된다고 하였으나, 반면에 EGF는 표현에 실패하였다. 오히려 TGF- α , β 등이 EGF-R에 결합 가능하다고 하였다. 그러나 소세포암종은 EGF가 아닌 다른 종류의 물질에 의해 조절된다고 Veale 등¹⁴⁾이 주장한다.

저자는 비소세포암은 물론이고 소세포암에서도 심지어는 양성종양이나 육아종까지 EGF와 TNF- α 들이 표현이 되고 있음을 증명하였다. 30례의 폐암환자의 혈청에서 EGF를 검사한 결과 EGF와 EGF-R간에는 역관계가 있음과 정상조직에서는 역관계가 아니라고 Bolufer 등¹⁵⁾이 보고한 바 있다. 이러한 현상은 악성변환 조직내 EGF의 활성도와 관련이 있음을 시사하는 것이다. 즉 김대연 등⁴⁾의 보고와 같이 악성폐암의 조직내에서도 EGF-R 농도의 차이가 있는 것과, 위암조직에 단일 클론항체를 이용한 avidin-biotin peroxidase complex(ABC법)으로 면역 조직화학 염색을 시행해보면 EGF는 세포질에 과립성의 적갈색으로 염색되며 그 발현율은 36%정도라고 발표한 이승도 등¹⁶⁾의 연구 결과에 따라 모두 동일한 현상에 대한 결과들이라고 판단된다.

EGF-R 정량치가 증가하는 기전은 EGF-R 유전자 증폭, 항진된 전사치가 연장된 수용체 반감기들이다^{4,10)}. 또한 김대연 등⁴⁾은 폐암조직의 주종양 부위와 종양주변부의 EGF-R치의 차이에 대한 설명으로 주변부가 세포분열이 증가되어 있는 것과 관련이 있을 것으로 추정된다. 암세포에 대한 TNF- α 의 세포독성을 임상에서 직접 응용하기에는 항암 치료용량(400-500 μ g/kg/day)과 독성용량(5 μ g/kg/day)간에 차이가 너무 많다는 사실이 문제점이라고 지적된다¹⁷⁾.

저자는 연구에서 EGF와 TNF- α 의 표현은 증명이 되나 생물학적인 역할까지 추론하기에는 부족한 점이 많다는 사실을 지적하고자 한다. 향후 더 많은 증례로 추시할 필요가 있다고 생각된다. Bolufer 등¹⁵⁾은 저자들과 유사하게 조직내에서 EGF를 정량검사를 하였다.

그 결과는 유방의 양성종양, cyst와 유방악성암 모두에서 표현이 강하게 되고 있음을 밝혔으며 이는 유방암의 악성변환에 역할을 하는 것으로 판단하였으며 혈액보다도 소변에서 더 높은 양의 EGF가 정량되었음을 발표하였다. 폐암에서도 EGF 양이 감소함과 관계가 있는 것으로 설명하고 있다. 저자의 성적과는 단위가 서로 상이하여 비교하기가 곤란하였다.

결론

폐암환자 20례와 양성종양 및 육아종 환자 4례에 대해서 AJCC에 의한 조직학적 분류와 TNM 분류에 따라 구분하여 폐암조직과 암세포가 없는 대조조직과 수술전후 혈청내의 EGF와 TNF- α 를 IRMA 방법으로 각각 정량분석하여 표현유무를 연구한 결과 결론적으로 저자는 암조직과 대조조직간에 EGF와 TNF- α 의 표현량의 차이가 있음을 증명하였으며 또한 조직과 혈청사이에도 표현량에 차이가 있으며 조직보다도 오히려 혈청내의 농도가 높다는 사실을 증명하였다.

EGF와 TNF- α 는 정상조직이나 양성조직과 폐암조직 모두에서 분비작용되는 cytokines으로 세포기능에 따라 다양하게 표현이 되며 지속적인 연구로서 밝혀야만 할 과제라고 판단된다.

참고 문헌

1. Fernandes AM, Hamburger AW, Gerwin BI. Production of epidermal growth factor related ligands in tumorigenic and benign human lung epithelial cells. *Cancer Letters* 1999;142:55-63.
2. Donato NJ, Gallick GE, Steck PA, Rosenblum MG. Tumor necrosis factor modulated epidermal growth factor receptor phosphorylation and kinase activity in human tumor. *Cells* 1989;264:20474-81.
3. Putmann EA, Yen N, Gallick GE. Autocrine growth factor stimulation by transforming growth factor- α in human non-small cell cancer. *J Surg Oncol* 1992;72:707-13.
4. 김대연, 김송명. 폐암 환자의 암조직내 cyfra 21-1과 epidermal growth factor receptor의 측정치에 대한 연구. *대흉외지* 1997;30:854-61.
5. 이창민, 조성래. 폐의 편평세포 암종 조직내 SCC 항원 및 EGF-R치에 대한 연구. *대흉외지*. 1998;31:362-68.
6. Imaizumi M, Nishimura M, Takeuchi S, Murase M, Hamaguchi M. Role of tyrosine specific phosphorylation of cellular proteins, especially EGF receptor and p125 FAK in human lung cancer cells. *Lung Cancer* 1997;17:69-84.
7. Murayama S, Horiuchi S. Antisense oligonucleotides to P53 tumor suppressor suppress the induction of apoptosis by epidermal growth factor in NCI-H 596 human lung cancer cells. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 1997;7:109-14.
8. Larrick JW, Wright SC. Cytotoxic mechanism of tumor necrosis factor- α . *FASEB J* 1990;4:3215.
9. Martini N, Yellin A, Ginsberg R, et al. Management of non-small cell lung cancer with direct mediastinal involvement. *Ann Thorac Surg* 1994;58:1447-51.
10. Lee MT, Liebow C, Kamer AR, Schally AV. Effects of epidermal growth factor and analogues of luteinizing hormone-releasing hormone and somatostatin on phosphorylation and dephosphorylation of tyrosine residues

of specific protein substrates in various tumors. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:1656-60.

11. Hudgins WR, Orth DN, Stromberg K. Variant forms of rat epidermal growth factor present in urine of nude rats bearing human tumors. Cancer Res 1988;48:1428-34.
12. Partanen R, Hemminki K, Brandt-Rauf P, Jin CG, Koakinen H. Serum levels of growth factor receptors, EGFR and Neu in asbestosis patients: a follow-up study. Intern J Oncol 1994;4:1025-8.
13. Partanen R, Koskinen H, Hemmink K. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) in patients who have asbestosis and develop cancer. Occup Environ Med 1995;52:316-9.
14. Veale D, Kerr N, John GG, Adrian LH. Characterization of epidermal growth factor receptor in primary human non-small cell cancer. Cancer Res 1989;49:1313-7.
15. Bolufer P, Liuch A, Molina R, et al. Epidermal growth factor in human breast cancer. It's relationship to epidermal growth factor receptor, estradiol receptor and tumor TNM. Clin Chim Acta 1993;213:51-61.
16. 이승도, 백승언, 이충환, 허방, 허만하. 병기 III 위암에서 예후인자로서 c-erb B2, c-fos, p53, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 및 epidermal growth factor의 의의. 대한암학회지 1995;27:527-34.
17. 이혁표, 유철규, 이춘택, 김영환, 한성구, 심영수. 종양괴사인자 세포특성에서 항산화제의 효과. 결핵 및 호흡기 질환 1999;46:636-44.

=국문초록=

배경 : 폐암발생에 EGF의 자가 분비는 암의 성장과정에 직, 간접적인 영향을 주고 있으며, TNF- α 는 면역 반응의 급성체로서 폐암의 발생을 억제하고 이미 발생한 폐암중의 치료에도 이용되고 있는 실정이다. 폐암 조직과 혈장에서 epidermal growth factor(EGF)와 tumor necrosis factor- α (TNF- α)를 면역 방사선 분석법을 이용하여 정량분석 하여 발현 정도를 분석해 보고자 하였다. **대상 및 방법:** 폐암환자 20례와 양성종양 및 육아종 환자 4례에 대해서 AJCCS에 의한 조직학적 분류와 TNM 분류에 따라 구분하여 절제수술을 받은 환자를 대상으로 수술전 혈액을 채취하고 수술직후 적출한 표본을 암이 없는 건강하다고 판단되는 대조조직과 폐암조직에서 일정량의 조직을 절취하여 액화질소 내에 실험시까지 급속 냉동보관 하였다. 수술후 혈액을 채취하여 혈장을 분리하여 냉동고에 검사시까지 보관하였다. EGF의 정량은 Human Epidermal Growth Factor kit(Amersham Phamacia Biotech, England)를 사용하였으며, TNF- α 정량은 TNF- α IRMA kit(Biosouce, Belgium)을 사용하여 IRMA 방법으로 각각 정량분석하여 표현유무를 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. **결과:** 1. 대조조직, 양성종양 및 육아종과 폐암 수술전후의 조직과 혈청 모두에서 EGF와 TNF- α 가 발현되었다. 2. EGF와 TNF- α 의 농도는 대조조직과 양성종양(0.11 ± 0.06 ng/ml, 20.3 ± 9.08 pg/ml)에 비하여 폐암조직(0.13 ± 0.05 ng/ml, 34.34 ± 47.74 pg/ml)에서 유의하게 높은 농도가 발현되고 있었다. 3. 폐암중 선암조직에서 특히 TNF- α (80.92 ± 104.08 ng/ml)의 발현이 강하게 나타났다. 4. 혈청내의 EGF와 TNF- α 의 발현되는 양이 조직내의 양보다도 높았다. EGF는 5.7배정도 TNF는 1.3배정도 강하게 표현되었다. 5. 폐암의 조직학적 종류에 따라서 EGF는 거의 차이가 없었으나 TNF- α 정량치에는 차이가 있었다. 6. TNM stage가 진행함에 따라 EGF는 농도가 증가하였고 TNF- α 는 오히려 감소하는 반대되는 교차현상이 있었다. 7. 수술직후 EGF는 증가하였으나 TNF- α 는 오히려 감소하였다. **결론:** 결론적으로 저자는 암조직과 대조조직간에 EGF와 TNF- α 의 표현량의 차이가 있음을 관찰하였으며 또한 조직과 혈청사이에도 표현량에 차이가 있으며 조직보다도 오히려 혈청내의 농도가 높다는 사실을 관찰하였다. EGF와 TNF- α 는 정상조직이나 양성조직과 폐암조직 모두에서 분비작용되는 cytokines으로 세포기능에 따라 다양하게 표현이 되며 지속적인 연구로서 밝혀야만 할 과제라고 판단된다.

중심 단어: 1. 폐암
2. EGF
3. TNF- α