

## Relationship between Telomerase Activity and Expression of Caspase-3 in Colorectal Cancer

Kyung Eun Lee<sup>1</sup>, Na Young Kim<sup>1</sup>, Young Seoub Hong<sup>1,2</sup>, Ki Jae Park<sup>3</sup>,  
Hong Jo Choi<sup>3</sup>, Young Hoon Roh<sup>3</sup> and Mee Sook Roh<sup>1,4†</sup>

<sup>1</sup>Medical Research Center for Cancer Molecular Therapy, Departments of  
<sup>2</sup>Preventive Medicine, <sup>3</sup>Surgery and <sup>4</sup>Pathology, Dong-A University College of Medicine

This study was performed to define roles of telomerase and apoptosis and their relationships with clinicopathologic characteristics in colorectal cancers. We performed TRAP (Telomeric Repeat Amplification Protocol)-ELISA assay for telomerase activity and immunohistochemistry of active caspase-3 expression for apoptosis in 35 colorectal cancers. Increased telomerase activity was detected in 71.4% (25/35) and average apoptotic index was 14.6 per 1000 tumor cells. Telomerase activity and caspase 3 expression had no significant association with clinicopathological characteristics, however, increased telomerase activity was more frequently found in progressed colorectal cancers. Although there is no definitive relation, low apoptotic index group was more frequent in cases with increased telomerase activity. These data indicate that telomerase might be involved in progression of colorectal cancers. We suggest that there is a need for further study to define the relationship between telomerase and apoptosis in colorectal cancers.

**Key Words:** Telomerase activity, Caspase 3, Colorectal cancer

### 서 론

세포 노화 (cell senescence)와 세포자멸사 (apoptosis)는 세포 증식능, 생존 능력, 그리고 세포 사멸을 조절하는 두 가지 기본적인 생물학적 기전이다 (Shawn et al., 1999). 악성 종양의 발생은 다양한 종양유전자의 활성화 또는 종양억제유전자의 불활성화에 의해 유발될 뿐 아니라, 정상 세포가 이러한 세포 노화와 세포자멸사 기전을 벗어나 지속적인 증식을 함으로써 추가적인 유전자 변이를 획득하도록 하는 것도 종양 발생의 기전으로 알려져 있다.

염색체의 말단에 존재하여 세포의 노화와 사멸에 관여하는 단순 반복 염기인 종말체 (telomere)의 길이를 유지하는 telomerase는 정상 세포에서는 활성화되어 있지 않지만, 대부분의 악성 종양에서는 활성화도가 증가되어 있다 (Vaziri et al., 1994; Kim et al., 1994; Ailion et al., 1996). 정상 세포의 경우 종말체의 길이 단축이 세포분열 시 유사분열 시계로 작용하여 세포분열을 저해하는 검문 경로 (G2-M check point)

를 활성화시켜 세포자멸사를 야기시키지만, 반대로 telomerase가 활성화 되어 종말체 길이가 유지되는 경우에는 세포 노화와 세포사멸을 막아 종양의 발생 및 성장에 관여하는 것으로 알려져, telomerase의 활성화도가 세포의 악성화와 관련이 있음이 밝혀지고 있다 (Rhyu, 1995).

세포자멸사는 세포 성장과 세포 부착에 관여하는 다양한 신호와 DNA 보전성을 감시하는 세포 기전에 의해 조절된다 (Streuli and Gilmore, 1999; Glimore et al., 2000; Hengartner, 2000). 생존 신호가 없거나 DNA 손상이 감지되면 caspase가 활성화되어 세포의 파괴를 초래하게 된다. Caspase는 효소원 (zymogen)으로 세포질에 존재하며, 이는 세포 외부로부터 세포자멸사 신호가 세포 내부로 전달되어 몇몇 caspase의 N-말단에 존재하는 앞 부위의 단백질-단백질 결합을 통하여 활성화 된다. Caspase 3은 이러한 caspase family 중 하나로 다양한 세포와 조직에 분포하고 있으며 단지 세포자멸사의 신호에 의해서 활성화된다 (Hadjiloucas et al., 2001).

최근 telomerase가 발현되거나 telomere 길이가 긴 세포의 경우 telomerase가 없는 세포보다 더 오래 생존을 유지하게 되는데, 이는 세포자멸사와 관련된 효소인 endonuclease와 caspase의 불활성화와 관련이 있다고 보고되고 있다 (Holt et al., 1999). 따라서 본 연구에서는 대장암 환자의 조직에서 종양효소연쇄반응에 근거한 Telomeric Repeat Amplification Protocol (TRAP) assay를 통한 telomerase의 활성화도와 active

\*논문 접수: 2005년 9월 28일  
수정재접수: 2005년 10월 21일

†교신저자: 노미숙, (우) 602-715 부산광역시 서구 동대신동 3가 1, 동아대학교 의과대학 병리학교실  
Tel: 051-240-2833, Fax: 051-243-7396  
e-mail: msroh@dau.ac.kr

caspase-3 항체를 이용한 면역조직화학 염색법으로 세포자멸사 지수 (apoptotic index)를 측정하여, 대장암에서 세포 노화와 세포자멸사의 종양 발생에서의 역할과 이들의 상관관계 및 임상병리학적 지표와의 연관성을 알아보려고 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구 대상

2005년 2월부터 2005년 5월까지 동아대학교 의료원에서 조직검사로 대장암으로 진단 받고 수술 전 항암제나 방사선 치료 없이 근치적 대장 절제술을 시행 받은 35명의 환자에서 얻은 병변 조직을 대상으로 하였다. 육안 검색으로 종양 표본을 채취하여 즉시 -70°C 냉동고에 보관하였다.

병리 조직학적 검사에 의해 종양 조직의 분화 정도에 따라 고분화 (well differentiated), 중등도 분화 (moderately differentiated), 저분화 (poorly differentiated)로 분류하였다. 또한 종양의 침습 정도와 림프절 전이 유무에 따른 Dukes 분류법을 기준으로 하여 종양이 장 점막 내에 국한되어 있으며 림프절 전이가 없으면 A기, 종양이 장벽 내에 국한되어 있으며 림프절 전이가 없으면 B1기, 종양이 장벽을 뚫고 주위 조직을 침습하였으나 림프절 전이가 없으면 B2기, 종양이 장벽 내에 국한되어 있으나 림프절 전이가 있으면 C1기, 종양이 장벽을 뚫고 주위 조직을 침습하고 림프절 전이가 있으면 C2기, 그리고 원격 전이가 있는 경우에는 D기로 나누었다.

### 2. 연구 방법

#### 1) TRAP법에 의한 telomerase 활성도 측정

-70°C에 보관하였던 대장암 조직 80~100 mg 정도에 200 µl의 lysis buffer (10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EGTA, 5 mM β-Mercaptoethanol, 0.5% CHAPS, 10% glycerol)를 첨가하여 조직분쇄기로 잘게 부숴다. 분쇄시킨 조직을 E-tube에 옮겨담고 얼음에 30분간 방치한 후 단백질을 용해한 다음, 14,000 rpm에서 20분간 고속원심 분리하여 얻은 상층액을 새 E-tube에 옮겨 놓았다. 각각의 추출액 단백질 농도는 Bradford method를 기초로 한 Bio-Rad protein assay로 정량하여 동량의 단백질을 TRAP 반응에 이용되도록 하였다. Telomerase 활성도는 Telo TAGGG Telomerase PCR ELISA kit (Roche, Mannheim, Germany)를 이용하였다. 정량한 단백질이 20 µg이 되게 PCR용 tube에 넣고 25 µl reaction mixture를 첨가한 후, 총 용적이 50 µl가 되도록 멸균 증류수를 채워넣었다. 자동온도조절 변환장치 (MyCycler, Bio-Rad Laboratories, CA, USA)에 각각의 혼합액을 25°C에 30분간, 94°C에 5분간 보온한 후, 94°C에 30초간, 50°C에 30초간, 72°C에서 90초간을 한 주기로 중합효소연쇄반응을 30회 반복 실시하고 마지막에 72°C에서 10분간 연장 반응시켰다. 반응이 끝난 PCR

산물 5 µl에 20 µl의 denaturation reagent를 넣고 실온에서 10분간 반응한 후, 225 µl hybridization buffer를 넣고 충분히 섞은 다음, 그 중 100 µl를 MTP module에 옮겨 37°C 배양기에서 2시간 반응하였다. 2시간 후 module의 용액을 제거하고 250 µl 세척액으로 30초씩 3번 씻어주었다. 여기에 100 µl anti-DIG-POD working solution을 넣고 실온에서 진동시키면서 30분간 반응시킨 후, 250 µl 세척액으로 30초씩 5번 씻어주었다. 피펫으로 세척액을 완전히 제거하고 100 µl TMB (3,3',5,5'-tetramethyl benzidine) 기질 용액을 넣고 실온에서 진동시키면서 20분간 반응시키고, 100 µl 반응 종결액을 마지막으로 첨가하여 파장 450 nm와 690 nm에서 흡광도를 재고 아래와 같은 공식으로 흡광도 단위를 계산하였다.

$$\text{Absorbance (units)} = A_{450 \text{ nm}} - A_{690 \text{ nm}}$$

각 실험 조직의 Absorbance (units)가 0.2 이상일 경우에 telomerase 활성도 양성으로 판정하였다.

#### 2) Active caspase 3의 면역조직화학 염색법 및 세포자멸사 지수의 형태학적 평가

4 µm 두께로 절편된 조직을 탈파라핀 과정을 거친 후 항원성 회복을 위하여 pH 6.0 citrate 용액으로 전자 레인지에서 10분간 끓이는 전처리를 하였다. 조직 내의 내인성 과산화효소를 비활성화시키기 위하여 실온에서 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에서 10분간 반응시킨 후, Cap-Plus™ Blocking solution (Zymed, California, USA)에서 10분간 더 반응시켰다. 수세 과정없이 active caspase 3 antibody 1:1000 (R&D System, Minneapolis, USA)에서 30분 반응 시킨 후, Cap-Plus™ Biotinylated second antibody (Zymed, California, USA)에서 30분간, Cap-Plus™ Streptavidin-HRP (Zymed, California, USA)에서 30분간 반응시켰다. DAB (3,3' diaminobenzidine)로 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조 염색을 실시하였다.

세포질에 갈색으로 염색되는 것을 양성으로 판정하였으며, 세포자멸사 지수는 면역조직화학 염색이 잘되고 괴사가 동반되지 않은 부위를 선택하여 종양 세포 1,000개에 대한 active caspase 3 양성 세포의 개수로 측정하였다.

#### 3) 통계학적 분석

SPSS (Version 12.0) 통계 프로그램을 이용하여 대장암의 조직학적 분화도, 진행 정도에 따른 telomerase 활성도는 독립-K 표본 비모수 검정을, 세포자멸사 지수는 T-test 및 One way Anova를 이용하였다. Telomerase 활성도와 세포자멸사 지수의 상관성은 카이제곱으로 비교하였으며, P값이 0.05 이하인 것을 통계학적으로 유의한 것으로 간주하였다.

## 결 과

### 1. 임상 및 병리 조직학적 특성

대장암 환자는 남자 16례, 여자 19례였고, 평균 나이는 59.6세 (41~78세)였다.

조직학적 분류에 따라 샘암종이 32례, 점액암종이 3례였고, 샘암종은 고분화형이 29례, 중등도 분화형이 3례였고 저분화형은 없었다. Dukes 분류법에 따른 병기는 B1기 6례, B2기 20례, C1기 2례 그리고 C2기 7례였다.

### 2. Telomerase 활성도

Telomerase 활성도는 대장암 전체 35례 중 25례 (71.4%)에서 양성을 나타내었다. 조직학적 분화도에 따른 telomerase 활성도 양성률의 차이는 고분화형이 72.4% (21/29), 중등도 분화형이 100% (3/3), 점액암종이 33.3% (1/3)를 나타내었다 ( $P=0.197$ ). Dukes 분류법에 따른 telomerase 활성도 양성률은 B1기에서 60.0% (3/5), B2기 75.0% (15/20), C1기 66.6% (2/3) 그리고 C2기에서 71.4% (5/7)를 나타내었다 ( $P=0.530$ ). 림프절 전이에 따른 telomerase 활성도 양성률은 전이가 없는 경우 (Dukes B1과 B2기) 68.0% (17/25), 있는 경우 (Dukes C1과 C2기) 80.0% (8/10)였고 ( $P=0.484$ ), 종양 침윤 깊이에 따른 분류에서 종양이 장벽 내에 국한된 경우 (Dukes B1과 C1기)

가 62.5% (5/8), 종양이 장벽을 뚫고 주위 조직을 침습한 경우 (Dukes B2와 C2기) 74.1% (20/27)였다 ( $P=0.530$ ). 림프혈관 침범 유무에 따라 침범이 없는 경우 66.7% (20/30), 있는 경우 100% (5/5)의 telomerase 활성도 양성률을 나타내었다 ( $P=0.132$ ) (Table 1). 대장암은 고분화형보다 조직학적 분화도가 나쁜 중등도 분화형에서, 종양의 침윤 깊이가 깊을수록, 그리고 림프절 전이와 림프혈관 침범이 있는 경우 telomerase 활성도 양성률이 높아지는 경향이 관찰되었으나 통계학적 유의성은 없었다.

### 3. Active caspase 3의 면역조직화학 염색에 의한 세포자멸사 지수

대장암 35례의 평균 세포자멸사 지수는 14.6이었다. 조직학적 분화도에 따른 apoptotic body 평균 개수는 고분화형 15.4개, 중등도 분화형에서 10.5개, 점액암종에서 10.8개를 나타내었다. Dukes 분류법에 따른 경우 B1기에서는 7.1개, B2기 17.6개, C1기 14.0개 그리고 C2기에서는 12.0개로 나타났다 ( $P=0.108$ ). 림프절 전이에 따른 apoptotic body 평균 개수는 전이가 없는 경우 (Dukes B1과 B2기) 15.1개, 있는 경우 (Dukes C1과 C2기) 12.4개 ( $P=0.434$ )였고, 종양 침윤 깊이에 따른 분류에서 종양이 장벽 내에 국한된 경우 (Dukes B1과 C1기) 8.3개, 종양이 장벽을 뚫고 주위 조직을 침습한 경우 (Dukes B2와 C2기) 16.3개를 나타내었다 ( $P=0.061$ ). 림

**Table 1.** Relationship between telomerase activity and caspase-3 expression and the clinicopathological feature of the colorectal cancer

Clinicopathological characteristics	No. of cases	Telomerase activity positive (%)	<i>P</i> -value	Caspase-3 apoptotic body (average number per 1000 tumor cells)	<i>P</i> -value
Histological type			0.197		0.585
Well	29	21 (72.4)		15.4	
Moderate	3	3 (100)		10.5	
Mucinous	3	1 (33.3)		10.8	
Dukes stage			0.530		0.108
B1	5	3 (60.0)		7.1	
B2	20	15 (75.0)		17.6	
C1	3	2 (66.6)		14.0	
C2	7	5 (71.4)		12.0	
Lymph node metastasis			0.484		0.434
Negative	25	17 (68.0)		15.1	
Positive	10	8 (80.0)		12.4	
Invasion depth			0.530		0.061
Confined within the wall	8	5 (62.5)		8.3	
Penetrating through the wall	27	20 (74.1)		16.3	
Lymphovascular invasion			0.132		0.819
Negative	30	20 (66.7)		14.7	
Positive	5	5 (100)		13.6	

**Table 2.** Relationship between telomerase activity and apoptotic body in the colorectal cancer

	Telomerase activity		P-value
	Positive (%) n=25	Negative (%) n=10	
Caspase-3			0.184
High <sup>a)</sup> (n=13)	11 (44.0)	2 (20.0)	
Low <sup>b)</sup> (n=22)	14 (56.0)	8 (80.0)	

a) High: more than average number of apoptotic body.  
b) Low: less than average number of apoptotic body

프혈관 침범 유무에 따라 없는 경우 14.7개, 있는 경우 13.6개의 apoptotic body 평균 개수를 나타내었다 ( $P=0.819$ ) (Table 2). 대장암에서의 active caspase 3의 면역조직화학적 발현을 이용한 세포자멸사 지수는 종양의 침윤 깊이가 깊을수록 평균 개수가 높은 반면, 조직 분화도가 좋고 림프관 전이와 림프혈관 침윤 등이 없는 경우에도 평균 개수가 높아 임상병리학적 예후 관련 인자와의 일관성 있는 상관관계를 찾을 수가 없었다.

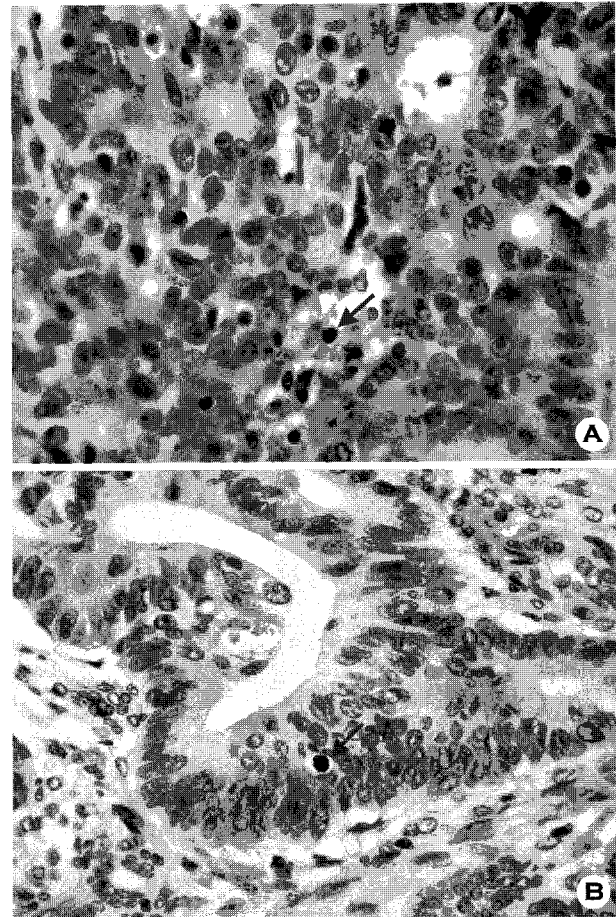
#### 4. Telomerase 활성도와 세포자멸사 지수와의 상관관계

Telomerase 활성도와 세포자멸사 지수와의 상관관계를 알아보고자, 전체 대장암 35례의 세포자멸사 지수의 평균값 14.6개 보다 높은 군을 세포자멸사 고등급군으로 (Fig. 1A), 낮은 군을 세포자멸사 저등급군 (Fig. 1B)으로 재 분류하였다. 재 분류 결과 고등급군이 13례, 저등급군이 22례였다. Telomerase 활성도 양성 25례 중 세포자멸사 고등급군은 11례 (44.0%), 저등급군은 14례 (56.0%), 반면에 telomerase 활성도 음성인 10례 중 세포자멸사 고등급군은 2례 (20.0%), 저등급군은 8례 (80.0%)였다. Telomerase 활성도 양성률과 세포자멸사 지수간의 상관관계는 통계적 유의성은 없었다 ( $P=0.184$ ) (Table 2).

## 고 찰

대장암의 병인은 아직 확실히 밝혀져 있지 않지만, 종양 발생 과정에 있어서 여러 가지 유전자들의 변화가 작용하여 종양유전자가 활성화되고 종양억제유전자의 불활성화에 의해 발생하는 것으로 알려져 있으며, 종양 세포가 노화나 세포사로부터 벗어나 지속적인 증식을 하도록 하는 것도 암의 발생과 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

종말체는 핵산과 단백질의 복합체로 10~20 kb의 TTAGGG의 반복배열로 이루어져 있고, 성숙 세포의 염색체 말단에 위치하여 염색체의 안정성에 관여하고 변성을 막아주는 역할을 한다. 세포분열 때마다 종말체의 길이가 점점 짧아지게 되어 세포분열이 정지되면서 세포 노화와 세포자멸사를 일



**Fig. 1.** Sections of colon cancer stained by immunohistochemistry with a primary antibody against the active form of caspase 3 show apoptotic cells (arrow) identified by brown staining. **A:** high apoptotic index group, **B:** low apoptotic index group.

으키게 된다 (Allsopp et al., 1995). Telomerase는 RNA와 단백질로 구성되어 있으며, 종말체를 복제할 능력이 있는 역전사(reverse transcription)효소이다. Telomerase는 생식 세포나 간세포와 같이 증식이 활발한 세포에서는 활성이 유지되고 그 외 대부분의 인간 체세포에서는 존재하지 않지만 (Rhyu, 1995), 실제로 다양한 암에서 telomerase 활성화가 증명되어 있어 신경 모세포종의 94% (Hiyama et al., 1995), 대장암의 93% (Chadeneau et al., 1995), 유방암의 93% (Hiyama et al., 1996), 간암의 85% (Tahara et al., 1995), 자궁 경부암의 83% (Kyo et al., 1996), 폐암의 80% (Hiyama et al., 1995)에서 telomerase 활성도 양성률이 보고되고 있다. 본 연구의 대장암에서는 이보다 다소 낮은 71.4%의 telomerase 활성도 양성률을 나타내었다.

일부 연구에서 telomerase 활성과 예후 사이의 연관관계가 보고되고 있어, 신경아세포종 (Hiyama et al., 1995), 유방암 (Hiyama et al., 1996) 그리고 위암 (Hiyama et al., 1995) 등에서

telomerase의 활성이 높은 경우 예후가 불량하였지만, 신세포암에서는 상관관계를 찾을 수 없었다 (Mehle et al., 1996). 한편 Ohki 등 (1998)은 조기 대장암과 진행성 대장암에서 활성도의 차이가 보임에 따라 암이 진행할수록 telomerase 활성도 양성률이 증가한다고 보고하였다. 본 연구에서는 Yoshida 등 (1997)의 연구와 마찬가지로 대장암의 Dukes 병기와 분화도에 따른 telomerase 활성도의 차이에 통계학적 유의성은 없었으나, 고분화형보다 조직학적 분화도가 나쁜 중등도 분화형에서, 종양의 침윤 깊이가 깊을수록, 그리고 림프절 전이와 림프혈관 침범이 있는 경우 telomerase 활성도 양성률이 높은 경향을 나타내었다. 따라서, 종양이 진행될수록 telomerase 활성도 양성률이 증가되는 경향이 있는 것으로 사료되어, 좀 더 많은 연구 대상과 이들의 추적 관찰이 이루어진다면 종양의 진행과 예후 관련 인자로서의 유용성과 치료의 표적 인자로서의 가치를 찾을 수 있을 것으로 생각되었다.

한편, 세포자멸사 신호는 bcl-2를 통하여 미토콘드리아에 전달되어 cytochrome c를 방출하며 Apaf-1-caspase-9 활성화를 유도하고 이 caspase-9은 caspase-3를 활성화하여 세포자멸사를 유발한다. 즉 caspase-3는 세포사멸의 초기 단계에 작용하며, caspase-8과 caspase-9의 초기 신호를 증폭시키므로 세포사멸에 가장 직접적으로 관련되어 있다. 여러 종양에서 악성 종양의 등급이나 단계가 진행될수록 caspase-3의 발현이 증가 또는 감소한다고 보고되고 있어 통일된 지견은 없는 실정이다. 본 연구에서는 대장암에서 active caspase 3의 면역조직화학적 발현을 이용한 세포자멸사 지수가 종양의 침윤 깊이가 깊을수록 평균 개수가 높은 반면, 조직 분화도가 좋고 림프절 전이와 림프혈관 침윤 등이 없는 경우에도 평균 개수가 높아 임상병리학적 예후 관련 인자와의 일관성 있는 상관관계를 찾을 수가 없었다. Hadjiloucas 등 (2001)은 유방암에서 본 연구와 동일한 방법으로 caspase 3를 이용한 세포자멸사 지수를 관찰한 결과 양성보다 악성군에서, 림프절 전이가 있을수록, 종양이 고등급일수록 세포자멸사 지수가 높다고 보고하여 본 연구와 상반된 결과를 보였다. 이는 종양이 진행될수록 세포자멸사가 증가하는 것은 일정한 세포수를 유지하거나, 부적절한 분화나 증식을 보인 세포를 제거하기 위한 능동적인 기전으로 설명되며, 이와 반대로 증식과 함께 세포자멸사가 감소하는 것은 증식과 세포자멸사의 불균형으로 인해 증식능이 우세하게 발현되는 것으로 설명될 수 있다. 또한 연구 대상 장기에 따라 세포자멸사와 종양간의 연관성에 차이가 있을 것으로 생각되며, 본 연구에서는 특히 임상병리학적 예후 관련 인자 사이에 서로 상반성 있는 결과를 보여 본 연구 대상이 각 인자 간에 고른 분포 비율을 보이지 못한 것도 한 원인으로 생각된다.

최근 telomerase가 발현되거나 종말체 길이가 긴 세포인 경우 telomerase가 없는 세포보다 더 오래 생존을 유지하게

되는데 이는 세포자멸사와 관련된 효소인 endonuclease와 caspase의 불활성화와 관련이 있는 것으로 보고되어, 본 연구에서 telomerase 활성도 양성률과 세포자멸사 지수간의 상관관계를 살펴본 바 통계학적 유의성은 관찰할 수 없었다. 하지만 telomerase 활성도가 양성인 경우 세포자멸사 지수가 낮은 군이 높은 군보다 좀 더 많아 세포자멸사가 적게 일어나 세포증식에 도움을 줄 것으로 생각되는 반면, telomerase 활성도가 음성인 경우 세포자멸사 지수가 낮은 것은 세포증식 자체가 많지 않아 세포자멸사도 적게 일어날 것으로 생각되었다. Holt 등 (1999)은 telomerase 활성도가 없는 섬유모세포주가 혈청결핍에 의해 유도되는 세포자멸사에 좀 더 민감하며 따라서 telomerase 활성이 유지되는 것이 세포자멸사에 저항을 갖도록 한다고 보고하여 본 연구 결과와 일부 일치되는 소견을 보였다. 또 다른 보고에 의하면 종말체 근처에 caspase 유전자가 위치해 있어 종말체의 길이가 긴 경우 이러한 유전자들이 전사 단계에서 잠재되어 불활성화되어 있다가, telomerase가 불활성화되거나 종말체의 길이가 짧아지면 caspase 3가 활성화된다고 하여 종말체의 안정화와 세포자멸사 간의 상관성이 있다고 보고하였다 (Wright et al., 1992).

이상의 연구로 대장암에서 telomerase 활성도와 caspase 3를 이용한 세포자멸사 지수 측정의 암의 진행과 예후 관련 인자로서의 유용성을 찾지는 못했으나, telomerase 활성도 양성률은 대장암의 조직학적 분화도가 나쁘고, 종양의 침윤 깊이가 깊을수록, 그리고 림프절 전이와 림프혈관 침범이 있는 등 불량한 예후 관련 인자의 경우 높아지는 경향이 관찰된 반면, active caspase 3의 면역조직화학적 발현을 이용한 세포자멸사 지수는 일관적이지는 않았지만 조직 분화도가 좋고, 림프절 전이와 림프혈관 침윤 등이 없는 경우 평균 개수가 높은 경향이 있어 다소 상반되는 경향을 나타내었다. 또한 telomerase 활성도 양성률과 세포자멸사 지수간의 상관관계를 관찰한 결과 통계적 유의성은 없었지만, telomerase 활성도가 양성인 경우 세포자멸사가 적게 일어나 세포증식에 도움을 줄 것으로 사료되었다. 향후 분화도 및 병기에 따른 연구 대상의 예가 고른 비율을 나타내며 장기간의 예후 추적 관찰이 가능한 좀 더 많은 예를 연구 대상으로 지속적인 연구가 이루어진다면 세포 노화와 세포자멸사의 종양 발생 및 진행에서의 역할을 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

#### 감사의 글

본 연구는 한국과학재단 암분자치료연구센터의 지원으로 수행되었음.

## REFERENCES

- Allsopp RC, Chang E, Kashefi-Aazam M, Rogaev EI, Piatyszek MA, Shay JW, Harley CB. Telomere shortening is associated with cell division in vitro and vivo. *Exp Cell Res*. 1995. 220: 194-200.
- Avilion AA, Piatyszek MA, Gupta J, Shay JW, Bacchetti S, Greider CW. Human telomerase RNA and telomerase activity in immortal cell lines and tissue. *Cancer Res*. 1996. 56: 645-650.
- Chadeneau C, Hay K, Hirte HW, Gallinger S, Bacchetti S. Telomerase activity associated with acquisition of malignancy in human colorectal cancer. *Cancer Res*. 1995. 55: 2533-2536.
- Counter CM. The roles of telomeres and telomerase in cell life span. *Mutat Res*. 1996. 366: 45
- Gilmore AP, Metcalfe AM, Romer LH, Streuli CH. Integrin-mediated survival signals regulate the apoptotic function of Bax through its conformation and subcellular localization. *J Cell Biol*. 2000. 149: 431-445.
- Hadjiloucas I, Gilmore AP, Bundred NJ, Streuli CH. Assessment of apoptosis in human breast tissue using an antibody against the active form of caspase 3: relation to tumor histopathological characteristics. *Br J Cancer*. 2001. 85: 1522-1526.
- Henderson S, Allsopp R, Spector D, Wang SS, Harley C. In situ analysis of changes in telomere size during replicative aging and cell transformation. *Cell Biol*. 1996. 134: 1-12.
- Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000. 407: 770-776.
- Hiyama E, Hiyama K, Yokoyama T, Matsuura Y, Piatyszek MA, Shay JW. Correlating telomerase activity levels with human neuroblastoma outcomes. *Nat Med*. 1995. 1: 249-255.
- Hiyama E, Gollahon L, Kataoka T, Kurori K, Yokoyama T, Gazdar AF, Hiyama K, Piatyszek MA, Shay JW. Telomerase activity in human breast tumors. *J Natl Cancer Inst*. 1996. 88: 116-122.
- Hiyama K, Hiyama E, Ishioka S, Yomakido M, Inai K, Gazdar AF, Piatyszek MA, Shay JW. Telomerase activity in small-cell and non small cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst*. 1995. 87: 895-902.
- Holt SE, Glinsky VV, Ivanova AB, Glinsky GV. Resistance to apoptosis in human cells conferred by telomerase function and telomere stability. *Mol Carcinog*. 1999. 25: 241-248.
- Hoshi T, Sasano H, Kato K. Immunohistochemistry of caspase-3/ CPP32 in human stomach and its correlation with cell proliferation and apoptosis. *Anticancer Res*. 1998. 18: 4347-4354.
- Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL, Coviello GM, Wright WE, Weinrich SL, Shay JW. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*. 1994. 266: 2011-2015.
- Kyo S, Kanaya T, Ishikawa H, Ueno H, Inoue M. Telomerase activity in gynecological tumors. *Clin Cancer Res*. 1996. 2: 2023-2028.
- Mehle C, Piatyszek MA, Liungberg B, Shay JW, Rose G. Telomerase activity in human renal cell carcinoma. *Oncogene* 1996. 13: 161-166.
- Morin GB. The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats. *Cell* 1989. 59: 521-529.
- Ohki S, Satoh H, Watanabe F, Andoh Y, Nomizu T, Yoshida T, Tsuchiya A, Abe R, Yamaki Y. Telomerase activity in colorectal cancer - a semi-quantitative procedure. *Gan to Kagaku Ryoho*. 1998. 25: 469-474.
- Ren JG, Xia HL, Just T, Day YR. Hydroxyl radical-induced apoptosis in human tumor cells is associated with telomere shortening but not telomerase inhibition and caspase activation. *FEBS Lett*. 2001. 48: 123-132.
- Rhyu M. Telomeres, telomerase, and immortality. *J Natl Cancer Inst*. 1995. 87: 884-894.
- Shawn E, Holt, Vladislav V, Glinsky, Anna B, Ivanova, Gennadi V, Glinsky. Resistance to apoptosis in human cells conferred by telomerase function and telomere stability. *Mol Carcinogenesis*. 1999. 25: 241-248.
- Streuli CH, Gilmore AP. Adhesion-mediated signaling in the regulation of mammary epithelial cell survival. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1999. 4: 183-191.
- Tahara H, Nakanishi T, Kitamoto M, Nakashio R, Shay JW, Tahara E, Kajiyama G, Ide T. Telomerase activity in human liver tissue: comparison between chronic liver disease and hepatocellular carcinomas. *Cancer Res*. 1995. 55: 2734-2736.
- Vaziri H, Dragowska W, Allospp RC, Thomas TE, Harley CB, Landsdorp PM. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994. 91: 9857-9860.
- Wright WE, Shay JW. Telomere positional effects and the regulation of cellular senescence. *Trends Genet*. 1992. 8: 193-197.
- Yoshida K, Sugino T, Goodison S, Warren BF, Nolan D, Wadsworth S, Mortensen NJ, Toge T, Tahara E, Tarin D. Detection of telomerase activity in exfoliated cancer cells in colonic luminal washings and its related clinical implications. *Br J Cancer*. 1997. 75: 548.