

## 골육종에서 Maspin 발현의 임상적 의의

서울대학교 의과대학 정형외과학교실, 경북대학교 의과대학 정형외과학교실\*

최재림 · 한일규 · 이미라 · 조환성\* · 오주한 · 김한수

**목적:** 골육종에서 maspin의 발현 정도를 살펴보고 골육종 임상 경과와의 연관성을 고찰해 본다.

**대상 및 방법:** 39 예의 골육종 조직에서 maspin 의 발현 정도를 RT-PCR 기법을 이용해 관찰하였으며, 골조직의 항암 화학요법에 대한 반응, 절제 후 국소 재발, 원격전이 등과 같은 임상적 지표와의 연관성을 통계적으로 분석하였다

**결과:** 저자가 정한 maspin 고 발현군에서는 저 발현군에 비해 항암 화학요법의 반응도가 높고 원격 전이와 국소 재발도 유의성 있게 적은 것으로 나타났다. 원격 전이도 maspin 고 발현군과 항암 화학요법 반응도가 높은 군에서 유의하게 낮게 동반되었다. 그리고 5년 metastasis-free survival이 maspin 저 발현군(25.4 ± 13.0 %) 보다 고 발현군(69.0 ± 10.5 %)에서 유의성 있게 높았다(p=0.006).

**결론:** 골육종에서 maspin 유전자의 발현은 종양세포의 항암 화학요법 반응도 및 원격 전이, 5년 metastasis-free survival에 유의한 연관성을 보이고 있어 골육종의 예후를 예견할 수 있는 중요한 지표가 될 수 있을 것으로 생각된다.

**색인 단어:** 골육종, Maspin, RT-PCR, 예후

### 서 론

골육종은 가장 흔한 원발성 악성 골 종양으로, 다양한 치료방법의 발달로 골육종의 생존율은 최근 20년간 향상되었지만 5년 생존율이 60% 내지 70% 정도로 답보 상태를 이루고 있고, 특히 전이가 발생된 환자의 예후는 좋지 않다. 골육종 환자의 생존율을 높이고 좋은 예후를 기대하는 여러 학자들은 환자의

예후와 관련 있는 생물학적 표지자들을 연구하는 노력을 계속하여 왔다.

종양이 국소적으로 성장하고 주변 조직을 침입(invasion)하여 원격 전이(metastasis)하는 현상은 종양 세포가 증식하고 세포 외 간질(extracellular matrix)을 분해하여 혈류를 타고 전이된 곳에서 다시 성장하는 과정으로 이루어진다<sup>10)</sup>. Serine protease는 matrix metalloproteinase와 더불어 세포

※통신저자: 김 한 수

서울특별시 중로구 대학로 101번지  
서울대학교 의과대학 정형외과학교실

Tel: 02) 2072-2362, Fax: 02) 764-2718, E-mail: hankim@snu.ac.kr

\*본 논문은 분당서울대학교 병원연구비(과제번호:02-2007-025)의 지원에 의해 이루어졌음.

외 간질 성분을 분해하여 종양의 침입 및 전이에 관여하는 물질로 알려져 있다<sup>5,14)</sup>.

최근 유방암이나 위암, 폐암 등에서 많이 논의되고 있는 생물학적 표지자 중 하나가 maspin이다. maspin은 최근 발견된 serine protease의 억제 물질로 mammary serine protease inhibitor의 약자이며, 명칭에서 나오듯 유방 상피세포에서 발견되었다<sup>21)</sup>. 이 maspin이 종양세포의 침투력과 이동성을 억제하여 전이를 억제한다는 보고가 있으면서 maspin에 대한 연구는 가속화되었다<sup>10)</sup>. maspin의 종양 억제능력은 in vitro 실험으로도 입증되고, 동물실험에서는 종양 혈관생성을 억제한다고 보고되었다<sup>17)</sup>. 이후 maspin은 전립선, 흉선, 고환, 장, 혀, 폐, 피부, 위, 갑상선 등의 암 조직에서 확인되었으며 maspin 발현이 각 조직에 발생한 종양의 병태 생리에 어떤 영향을 주는지 많은 학자들이 관심을 갖고 이에 따른 보고도 이어지고 있다<sup>10)</sup>.

하지만 골육종 등 골 연부 종양과 관련한 연구는 아직 찾을 수 없어, 저자들은 골육종 조직에서 maspin 발현을 살펴보고 이를 정량적으로 평가하며 임상 경과와의 연관성도 살펴보는 것이 의미가 있을 것으로 판단하였다.

Maspin에 대한 연구가 대표적인 악성 골 종양인 골육종의 임상 경과에 중요한 생화학적 지표를 찾고 골육종의 생성 억제 및 전이 억제에 기여를 하는 기초 자료가 되도록 하는 것이 저자들의 연구 의도이다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

2001년 3월부터 2006년 2월 사이에 본원에서 원발성 골육종으로 진단, 치료 받았던 환자 중에서 수술 전 항암 화학요법이나 수술 시행 이전에 생검을 통하여 종양 조직을 얻어 보관할 수 있었던 39예를 대상으로 하였다. 수술 당시의 평균 연령은 25.1세(6.9~76.3세, 중앙값 15.5세)였으며 남자가 28명, 여자가 11명이었다.

모든 환자들에 대해 생검 이전에 사지와 흉부 방사선 사진, 골 주사 검사 및 병변 부위의 자기공명영상, 그리고 조직 생검을 통하여 병기 설정을 시행하였다. Enneking의 분류에 의한 병기는 II가 31예

였고, III는 8예였는데 모두 폐 전이가 동반되어 있었다. 골육종의 조직학적 분류로는 골모세포성이 30예이었고 나머지는 연골모세포성이 5예, 섬유모세포성이 2예, 혼합성이 2예였다. 골육종의 발생 부위는 대퇴골 원위부가 22예, 경골 근위부가 5예, 대퇴골 근위부가 2예, 상완골 원위 및 근위가 각각 1예, 골반골이 4예, 대퇴골 간부가 2예, 기타 비골 근위부, 경골 원위부가 각각 1예였다.

2예를 제외한 37예에서 수술 전 항암화학요법을 시행하였으며 전 예에서 수술 후 항암 화학요법을 시행하였다. 수술 전 화학 요법에 사용된 약제는 고농도 메토스렉세이트, 아드리아마이신과 시스플라틴이었다. 수술 전 선행 항암치료를 시행한 환자는 절제술 후 조직 검사시 생존해있는 암세포의 양을 측정하였고 암 조직 중 괴사된 세포의 비율(괴사 분율)을 확인하였다. 수술 전 항암화학요법을 시행했던 37예 중 괴사 분율이 90% 이상인 경우가 16예, 90% 미만인 경우가 21 예였다.

골육종의 수술시 절제연은 광범위 절제연(wide margin)을 기본으로 하고, 수술시 골 종양은 노출되지 않은 채로 제거하는 것을 원칙으로 하였다. 수술 후 판정된 절제연의 결과는 변연부 절제연(marginal margin)이 2예, 광범위 절제술 37예였다.

39명의 골육종 환자에 대한 평균 추시 기간은 46.7개월(8~76개월)이었다. 원격 전이는 19명(48.7%)의 환자에서 발견되었으며 이 중 7예는 수술 전부터 전이가 있었던 경우이다. 전이 부위로는 폐가 18예, 척추 2예, 골반골 1예, 기타 3예로 이 중 6명은 다발부 전이이다. 폐의 전이암에 대해서는 모두 절제술을 시행하였다.

### 2. 연구 방법

#### 1) 골육종 종양세포의 분리와 배양

생검으로부터 얻어진 골육종 조직을 잘게 썰어 DMEM에서 37도에서 0.2% proteinase (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)로 1시간 처리한 후 0.2% collagenase (Sigma-Aldrich)로 3시간 처리하였다. Supernatant를 70  $\mu$ m sieve로 걸러 5분간 1500 rpm으로 centrifuge하였다. 분리된 세포들을 DMEM에 suspension시킨 뒤 10% fetal bovine serum이 첨가된 DMEM에 100 mm 배양

접시 당 2×10<sup>6</sup> 개의 세포를 seeding하였다. 3~5 일간 배양한 후 배양 접시에서 분리한 후 계대 배양하였다. 두 번째 혹은 세 번째 passage의 골육종 세포를 실험에 이용하였다.

2) real-time RT-PCR 을 이용한 정량적 분석

전체 세포 RNA는 RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA)을 이용하여 분리되어 bio-photometer로 정량화되었다. Maspin mRNA의 발현을 RT-PCR 분석하기 위해 역전사 과정은 High Capacity cDNA Archive Kit (Biosystems Inc., Foster City, CA, USA)을 이용하였다. RNA 2 µg 을 random primer를 이용해 역전사 반응을 유도하고 25도에서 10분간 incubation한 후 다시 37도에서 120분간 시행하였다. cDNA 100 ng에 TaqMan Universal PCR MasterMix 12.5 µl, gene-specific maspin primer/probe mix 1.25 µl (Applied Biosystems, Lincoln, CA, USA), PCR grade water 6.25 µl를 더해 PCR 반응을 유도하였다. 이때 95도로 10분간 유지 후, 95도 40 cycle로 15초 그리고 60도 1분간 반응을 유지하였다.

Maspin mRNA의 발현은 ABI 7000 real-time sequence detection system (Applied Biosystems)으로 측정하였다. 종양조직의 대조군으로 osteoblast (cc-2538, Lonza, USA)를 이용하였으며 osteoblast도 같은 방법으로 maspin mRNA 발현도를 측정하였다. osteoblast의 산물을

기준으로 종양세포의 산물을 상대적으로 비교해 종양세포/osteoblast mRNA 발현비를 산출하였는데 comparative CT (threshold cycle) 방법을 이용하였다.

3) 통계 분석

통계 분석은 SPSS-statistical software (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 한글판 version 12)를 사용하였다. Maspin 발현과 여러 임상적 변수와의 비교 및 유의성 판정에는  $\chi^2$  검정법을 사용하였으며, 유의성이 있는 변수들에 대해서 다변수 로지스틱 회귀분석으로 유의성을 다시 평가하였다. 생존 자료에 대해 여러 임상변수와 비교하고 유의성이 있는 변수들을 다시 Cox proportional hazards model을 사용하여 회귀 분석하였다. 환자의 생존을 분석에는 Kaplan-Meier 방법을 사용하였고 군 간 생존을 비교에는 log rank test를 사용하였다. p value가 0.05보다 작을 때 통계학적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

RT-PCR법으로 분석한 maspin의 발현 정도는 종양세포/osteoblast mRNA 발현비로 분석하였을 때 표시하여, osteoblast에 비해 종양 세포에서의 발현이 같거나 작은 경우(발현비≤1)가 6예(15%)였고 발현이 많은 경우(발현비>1)가 33예(85%)였다.

**Table 1.** Correlation between maspin expression and clinicopathologic factors

Factors	Cases	Maspin (+)	p value
Age	<20 yrs old	23	0.342
	≥20 yrs old	16	
Sex	Male	28	0.723
	Female	11	
Histologic classification	Osteoblastic	30	0.706
	Others	9	
Response to Chemotherapy	<90 %	21	0.045
	≥90%	16	
Local recurrence	Absent	34	0.015
	Present	5	
Distant metastasis	Absent	20	0.010
	Present	19	

이 연구에서는 분석의 편의를 위하여 발현비가 10 이상인 경우를 고 발현(high expression)군에, 그 미만인 군은 저 발현(low expression)군에 포함시켰다.

Maspin의 발현 정도와 여러 임상적 변수와의 상관 관계를 조사하였을 때, 연령, 성별, 조직학적 분류 등은 maspin의 양성 발현에 유의한 연관성이 없었다(Table 1). 국소 재발은 5명에 있었는데, 모두 maspin 저 발현군에 속하였으며, 양성 발현과 국소 재발에는 유의한 상관 관계가 있었다( $p=0.015$ ). 원격 전이가 있었던 경우 19명 중 6명만이 maspin고 발현군에 속해, maspin의 저 발현과 원격 전이와 유의한 상관 관계가 있었다.

원격 전이 발생의 위험 인자에 대한 단변수 분석의 결과 연령, 성별, 조직학적 분류, 국소 재발 등은 원격전이와의 유의한 관계가 없었고, 항암 화학 요법에 대한 반응( $p=0.003$ ), maspin의 양성 발현( $p=0.010$ )이 유의성이 있었다(Table 2). 다변수 분석 결과 maspin 고 발현인 경우와 항암 화학 요법에 의한 괴사가 90% 이상인 경우는 각각 그렇지 않은 군에 비해 원격 전이의 위험도가 유의하게 낮았다(Table 3).

여러 임상 인자들에 따른 원격 전이의 발생율을 Kaplan-Meier curve로 추정한 결과 maspin 양성 발현군이거나 항암 약물치료에 90% 이상 괴사된 경우, 국소 재발이 없었던 경우 생존율이 유의하게 높았다(Table 4).

## 고 찰

Serine 계 단백질효소 억제자 총괄군(protease inhibitor superfamily)을 serpin이라 하는데 이 serpin의 일종인 maspin (mammary serine protease inhibitors)이 발견된 것은 1994년 정상 유선 조직과 유방암세포에서 분리된 것이 처음이었다<sup>6)</sup>. 이 maspin은 다양한 면모를 가진 단백질로서 억제기능 영역과 비 억제 기능영역을 공유하고 있으며 억제기능 영역이 표적 단백질효소에 작용하여 그 활성도를 억제시키는 기능을 한다. 이는 억제 영역 구조 내에 반응성 중심환이 있기 때문인데, plasminogen activator inhibitor 1, 2와  $\alpha$ -1 antitrypsin, 비억제성 serpin ovalamin과 유사 배열을 갖는다<sup>1)</sup>. 반응성 중심환은 maspin이 세포 유착과 이동, apoptosis 등을 조절하고, 특히 유선 발생

**Table 2.** Univariate analysis of risk factors for a distant metastasis

Factors	Cases	Metastasis	p value
Age	<20 yrs old	23	0.523
	≥20 yrs old	16	
Sex	Male	28	0.731
	Female	11	
Histologic classification	Osteoblastic	30	0.706
	Others	9	
Response to Chemotherapy	<90 %	21	0.003
	≥90%	16	
Local recurrence	Absent	34	0.661
	Present	5	
Maspin expression	High	18	0.010
	Low	21	

**Table 3.** Independent factors for distant metastasis after multivariate logistic regression analysis

Prognostic Values	Relative risk	95% CI	p value
Response to Chemotherapy (≥90%)	0.127	0.023~0.703	0.018
Maspin expression (High)	0.142	0.027~0.749	0.021

**Table 4.** Five year metastasis-free survival estimated by Kaplan-Meier analysis according to various clinicopathologic factors

Factors		Metastasis-free survival(%)	p value
Age	<20yrs old	54.8±10.6	0.481
	≥20yrs old	40.6±15.2	
Sex	Male	71.6±26.3	0.255
	Female	39.3±10.9	
Histologic classification	Osteoblastic	51.5±9.4	0.577
	Others	42.3±20.6	
Response to Chemotherapy	<90%	24.0±10.8	0.028
	≥90%	81.3±9.8	
Local recurrence	Absent	56.6±9.7	0.023
	Present	0.0±0.0	
Maspin expression	High	69.0±10.5	0.006
	Low	25.4±13.0	

에 관여하도록 하는데 중요한 역할을 한다.

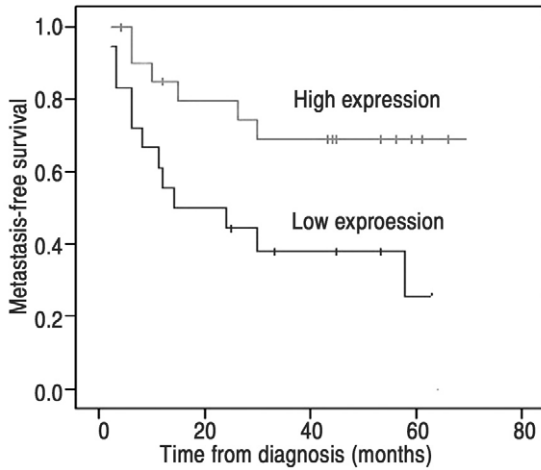
그런데, 일부 실험 연구에 의하면 maspin이 유방암 세포에서의 세포 이동성, 침습성, 전이성의 억제 효과가 있어 종양 억제 능력과 관계가 있다고 한다<sup>17</sup>. maspin 발현이 일어나는 유두 근상피세포들은 유관암종이 더 침습적인 악성종양으로 진행되는 것을 막는 장벽(barrier) 역할을 한다고 한다. 또 다른 연구에 의하면 maspin 발현이 클수록 침습성 유방암의 종양 진행에 down-regulation 역할을 한다고도 한다<sup>19</sup>. 대조적으로, 일부 연구는 maspin 발현의 향진이 유방, 췌장, 난소암의 등 종양의 진행과 불량한 예후와도 연관이 있다고 한다<sup>18,20</sup>. 폐에서는 선암종(adenocarcinoma)보다 편평세포암에서 많이 발현되는데, 발현이 클수록 5년 생존율이 높다는 보고가 있다<sup>9</sup>. maspin 발현과 p53, p63이나 종양 내 혈관생성 등과의 연계성<sup>11,22</sup>, 그리고 각 조직에 발생된 종양에 주는 병태 생리적 영향 등 많은 학자들이 여러 분야에서 관심을 갖게 되었다.

maspin은 전립선, 흉선, 고환, 장, 혀, 폐, 피부, 위, 갑상선 등의 암 조직에서 확인<sup>4</sup>되었으며 최근 연구로 인해 그 발견 부위가 점점 늘어나는 추세다. maspin은 대체로 세포질 내에 존재하지만 조직에 따라 약간씩 위치가 다르고 그 기능도 약간씩 차이가 있다<sup>9</sup>. maspin gene의 promoter가 methylation, 또는 demethylation 여부에 따라 maspin gene expression이 조절이 되고, 이 methylation 상태가 조직에 따라 특이성이 있다. 하지만 조직 특

이성 methylation이 어떻게 결정되는 지 확실하지 않다<sup>10</sup>.

DNA 염기배열의 변화가 없어도 합성 후 변형이나 chromatin 응축의 변화 등으로 결과적으로는 DNA의 기능상태에 변화를 가져오게 하는 것을 상유전적 조절 또는 변화(epigenetic control or change)라고 하는데, maspin 발현은 이 상유전적 조절에 의해 정해진다고 한다<sup>13,15</sup>. maspin promoter가 methylation 되면 유방과 갑상선 암에서는 발현이 줄어든다고 하고, demethylation되면 췌장, 폐, 위 등의 암 조직에서는 발현이 늘어난다고 하는 보고가 있다<sup>2</sup>. 전립선 암 등이 골 전이시 maspin 발현이 골용해성(osteolysis)이나, 암의 진행에 영향을 준다는 보고도 있다<sup>3</sup>.

maspin 발현에 대한 여러 연구가 진행되는 것은 maspin의 발현이 종양세포의 진행과 종양세포의 apoptosis에 연관이 있으며, 궁극적으로 이에 대한 규명이 종양의 치료에 기여할 것이라 보기 때문이다<sup>12</sup>. 이미, 혈중 maspin의 RT-PCR 분석을 유방암 환자의 조기진단에 이용하려는 연구도 있고<sup>5,14</sup>, 태반과 모체 혈액의 maspin 유전자에서 DNA methylation 여부를 분석하여 태아 산전 진단과 모체 전자간증 진단에 이용하려는 연구도 있다<sup>6</sup>. 또한 항암 치료 연구로서, 시술자가 원하는 종양 위치로 적절한 vector를 이용해 maspin을 운반하여 종양 억제 및 항 전이성 효과를 연구하는 동물실험도 진행 중이다<sup>10</sup>.



**Fig. 1.** Metastasis-free survival curves of patients with osteosarcoma subdivided according to maspin expression.

하지만 이런 노력에도 불구하고 골육종 등 원발성 골 연부 종양과 관련한 연구는 보고된 바 없다. 이에 저자들은 골육종 조직에서 maspin 발현을 살펴보고 이를 정량적으로 평가하며 임상 경과와의 연관성도 살펴보는 것이 매우 의미가 있을 것으로 판단하였다.

maspin의 발현을 측정하는 방법으로 면역조직화학적 분석법(immunohistochemical analysis)이 있다. 유방암의 경우, 유방조직에서 인체 SMA (human smooth muscle actin) 염색을 하면 유관세포주위의 근상피 세포열과 종양세포들이 모두 염색이 되고, 다시 maspin 염색을 하면 정상 근상피세포는 강한 양성을 보인다. 유방암 조직에서는 근상피세포가, SMA 염색에 양성인 근상피세포의 일부만 maspin 염색이 양성이고 나머지는 maspin 염색에 음성으로 나타난다<sup>6)</sup>. 이 방법은 maspin 발현 여부를 세포 염색만으로 양성과 음성을 나누는 데는 편리하나 정량적이지 않고 민감도가 떨어지는 단점이 있다.

저자들은 RT-PCR 기법을 이용해 maspin mRNA를 정량적으로 측정하였는데, RT-PCR은 가장 민감한 정량적 측정법이며 또한 매우 적은 양의 종양 조직만으로도 측정이 가능하다는 장점이 있다<sup>7)</sup>.

본 연구에서는 osteoblast 에서의 RT-PCR 결과치(기준 결과치)와 골육종 환자 생검 조직으로부터 얻은 조직 세포의 RT-PCR 결과치를 상대적으로 비

교하여, 10배 이상 높은 발현을 보이는 군을 maspin 고 발현군으로 하였다. osteoblast를 정상군으로, 골육종 세포를 대조군으로 본 것이다. 골육종 세포에서 측정된 mRNA 값이 결과의 편차가 커서(0.203-1867.20) 판독의 기준을 정하기가 쉽지 않았다. 발현군의 기준 설정이 어려운 것은 정량적 분석을 위해 PCR 기법을 사용하였으나 그 수치의 의미를 결정하는 기준이 특별이 없었기 때문인데, 이는 면역조직화학적 분석 기법을 병행하였으면 보다 구분이 용이하였을 것으로 사료된다.

본 연구의 결과를 살펴보면, 저자가 정한 maspin 고 발현군에서는 저 발현군에 비해 항암 화학요법의 반응도가 높고 원격 전이와 국소 재발도 유의성있게 적은 것으로 나타났다. 원격 전이도 maspin 고 발현군과 항암 화학요법 반응도가 높은 군에서 유의하게 낮게 동반되었다. 그리고 metastasis-free survival이 maspin 저 발현군(25.4±13.0%)보다 고 발현군(69.0±10.5%)에서 높았다(Fig. 1). 향후 장기간에 걸쳐 연구 대상군이 확대되면 대조군 간에 좀더 세분화된 결과가 나올 것으로 보인다.

## 결 론

골육종 조직에서 maspin의 발현 정도를 검사하고 골육종의 임상 결과를 비교한 결과, 골육종 세포에서 maspin의 발현이 크면 항암 화학요법의 반응도가 높고 원격 전이가 적을 가능성이 높은 것으로 생각된다. 골육종의 maspin 발현 정도는 항암 화학요법의 선택 및 환자의 예후 판단에 다른 예후 인자들과 함께 중요 인자로 고려될 수 있을 것으로 생각된다.

## REFERENCES

- 1) Bailey CM, Khalkhali-Ellis Z, Seftor EA and Hendrix MJ: Biological functions of maspin. *J Cell Physiol*, 209: 617-624, 2006.
- 2) Boltze C, Schneider-Stock R, Quednow C, et al.: Silencing of the maspin gene by promoter hypermethylation in thyroid cancer. *Int J Mol Med*, 12: 479-484, 2003.
- 3) Cher ML, Biliran HR, Jr., Bhagat S, et al.: Maspin expression inhibits osteolysis, tumor growth, and angiogenesis in a model of prostate cancer bone metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*,

- 100: 7847-7852, 2003.
- 4) **Cho JH, Kim HS, Park CS, et al.:** Maspin expression in early oral tongue cancer and its relation to expression of mutant-type p53 and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Oral Oncol*, 43: 272-277, 2007.
  - 5) **Corradini P, Voena C, Astolfi M, et al.:** Maspin and mamaglobin genes are specific markers for RT-PCR detection of minimal residual disease in patients with breast cancer. *Ann Oncol*, 12: 1693-1698, 2001.
  - 6) **Dennis Lo YM:** Fetal DNA in maternal plasma: progress through epigenetics. *Ann N Y Acad Sci*, 1075: 74-80, 2006.
  - 7) **Goeminne JC and Guillaume T:** Detection of circulating tumor by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *J Clin Oncol*, 18: 3196-3197, 2000.
  - 8) **Hojo T, Akiyama Y, Nagasaki K, et al.:** Association of maspin expression with the malignancy grade and tumor vascularization in breast cancer tissues. *Cancer Lett*, 171: 103-110, 2001.
  - 9) **Katakura H, Takenaka K, Nakagawa M, et al.:** Maspin gene expression is a significant prognostic factor in resected non-small cell lung cancer (NSCLC). *Maspin in NSCLC. Lung Cancer*, 51: 323-328, 2006.
  - 10) **Khalkhali-Ellis Z:** Maspin: the new frontier. *Clin Cancer Res*, 12: 7279-7283, 2006.
  - 11) **Kim S, Han J, Kim J and Park C:** Maspin expression is transactivated by p63 and is critical for the modulation of lung cancer progression. *Cancer Res*, 64: 6900-6905, 2004.
  - 12) **Lockett J, Yin S, Li X, Meng Y and Sheng S:** Tumor suppressive maspin and epithelial homeostasis. *J Cell Biochem*, 97: 651-660, 2006.
  - 13) **Maass N, Nagasaki K, Ziebart M, Mundhenke C and Jonat W:** Expression and regulation of tumor suppressor gene maspin in breast cancer. *Clin Breast Cancer*, 3: 281-287, 2002.
  - 14) **Mercatali L, Valenti V, Calistri D, et al.:** RT-PCR determination of maspin and mamaglobin B in peripheral blood of healthy donors and breast cancer patients. *Ann Oncol*, 17: 424-428, 2006.
  - 15) **Rose SL, Fitzgerald MP, White NO, et al.:** Epigenetic regulation of maspin expression in human ovarian carcinoma cells. *Gynecol Oncol*, 102: 319-324, 2006.
  - 16) **Sager R, Sheng S, Pemberton P and Hendrix MJ:** Maspin: a tumor suppressing serpin. *Curr Top Microbiol Immunol*, 213 ( Pt 1): 51-64, 1996.
  - 17) **Schaefer JS and Zhang M:** Role of maspin in tumor metastasis and angiogenesis. *Curr Mol Med*, 3: 653-658, 2003.
  - 18) **Secord AA, Lee PS, Darcy KM, et al.:** Maspin expression in epithelial ovarian cancer and associations with poor prognosis: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*, 101: 390-397, 2006.
  - 19) **Streuli CH:** Maspin is a tumour suppressor that inhibits breast cancer tumour metastasis in vivo. *Breast Cancer Res*, 4: 137-140, 2002.
  - 20) **Umekita Y, Ohi Y, Sagara Y and Yoshida H:** Expression of maspin predicts poor prognosis in breast-cancer patients. *Int J Cancer*, 100: 452-455, 2002.
  - 21) **Zou Z, Anisowicz A, Hendrix MJ, et al.:** Maspin, a serpin with tumor-suppressing activity in human mammary epithelial cells. *Science*, 263: 526-529, 1994.
  - 22) **Zou Z, Gao C, Nagaich AK, et al.:** p53 regulates the expression of the tumor suppressor gene maspin. *J Biol Chem*, 275: 6051-6054, 2000.

**Abstract**

## **Clinical Significance of Maspin Expression in Osteosarcoma**

**Jay Rim Choi, M.D., Ilkyu Han, M.D., Mi-Ra Lee,  
Hwan Seong Cho, M.D.\*, Joo Han Oh, M.D., Han-Soo Kim, M.D.**

*Department of Orthopaedic Surgery, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea  
Department of Orthopaedic Surgery, Kyungpook National University College of Medicine\*, Daegu, Korea*

---

**Purpose:** This study was performed to investigate the maspin gene expression from osteosarcoma and to determine whether its expression correlates with clinical course of the cancer.

**Materials and Methods:** Between 2001 and 2006, 39 patients who were diagnosed and treated surgically for osteosarcoma were included in the present study. We estimated the maspin gene expression from osteosarcoma tissue samples using RT-PCR. And we examined the correlations between the maspin expression and clinical data (post-chemotherapeutic response, local relapse or metastases).

**Results:** Maspin was over expressed in 21 cases of 39 osteosarcoma tissues. There were significant correlations between maspin expression and the response to neoadjuvant chemotherapy, distant metastases & metastasis-free survival. In multivariate analysis, maspin low-expression was significant risk factor for distant metastases. Also, there was significant difference in metastasis-free survivals between maspin hi- expression group ( $69.0 \pm 10.5$  %) and low-expression group ( $25.4 \pm 13.0$ %).

**Conclusion:** The degree of maspin expression in osteosarcoma was significant risk factor for distant metastases and predictive factor for metastasis-free of overall survivals. Maspin may be a useful biologic marker in evaluating the prognosis in patients with osteosarcoma and could be used as a therapeutic target clinically.

**Key Words:** Osteosarcoma, Maspin, RT-PCR, Prognosis

---

**Address reprint requests to**

Han-Soo Kim, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery, Seoul National University College of Medicine,  
101 Daehangno, Jongno-gu, 110-744, Seoul, Korea

TEL: 82-2-2072-2362, FAX: 82-2-764-2718, E-mail: hankim@snu.ac.kr