

한국인 위암에서 Survivin과 HIAP-1 유전자 발현

계명대학교 의과대학 외과학교실, ¹미생물학교실

박찬진 · 류승완 · 김인호 · 백원기¹ · 서성일¹ · 서민호¹ · 손수상

Expression of Survivin and HIAP-1 in Korean Gastric Cancers

Chan Jin Park, M.D., Seung Wan Ryu, M.D., In Hoo Kim, M.D., Won-Ki Baek, M.D.¹, Seong-Il Suh, M.D.¹, Min-Ho Suh, M.D.¹ and Soo Sang Sohn, M.D.

Departments of Surgery and ¹Microbiology, Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea

Purpose: Dysregulation of apoptosis may attribute to development of cancer by abnormally prolonging cell viability with accumulation of transforming mutations. Survivin and HIAP (Human Inhibitors of Apoptosis)-1 were recently described as apoptosis inhibitors. Their pathogenic roles in gastric cancer are largely unknown. In the present study, we examined the expression of survivin and HIAP-1 in gastric cancer tissues and cell lines in order to elucidate the roles of survivin and HIAP-1 in the process of gastric carcinogenesis.

Materials and Methods: Eight gastric cancer cell lines and five gastric cancer tissues were studied. The expression of survivin and HIAP-1 were evaluated by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), immunohistochemistry, and Western blot.

Results: Western blot and RT-PCR analysis revealed survivin and HIAP-1 expression in all gastric cancer cell lines. Increased expression of survivin and HIAP-1 were found in all cases of gastric cancer tissues compared to normal tissues by Western blot analysis. In immunohistochemical analysis tumor cells were stained with anti-survivin and anti-HIAP-1 antibodies. Cell cycle dependence of survivin expression was preserved in gastric cancer cell lines.

Conclusion: The results indicate that increased expression of survivin and HIAP-1 genes may play an important role in gastric cancer.

(J Korean Gastric Cancer Assoc 2003;3:19-25)

Key Words: Gastric cancer, Survivin, HIAP-1

중심 단어: 위암, Survivin, HIAP-1

서 론

암의 발생은 여러 가지 기전에 의한다고 생각되고 있으며 이들은 크게 2가지로 설명될 수 있다. 그중 하나는 암유전자를 비롯한 여러 가지 성장인자들의 비조절적 발현에 의한 과도한 세포분열이며, 또 다른 하나는 과잉한 세포 또는 이상이 있는 세포를 제거하는 아포프토시스(apoptosis) 조절기전의 이상이다. 아포프토시스 조절기전의 이상은 세포 생존기간의 비정상적인 연장을 가능하게 함으로써 유전자 돌연변이의 축적, 성장인자 비의존성 세포성장 유도, 면역세포 세포독성에 대한 내성 증가, 세포주기 체크포인트 완화 등을 통하여 세포의 암화를 유도할 수 있다.(1,2) 이러한 비정상적 아포프토시스 완화는 아포프토시스 유도기전의 저하나 아포프토시스 억제 기전의 비정상적 활성화에 의하여 생길 수 있다. 아포프토시스의 비정상적 억제를 통하여 암화를 유도하는 유전자로는 Bcl-2 유전자가 잘 알려져 있다.(2,3)

최근에 Bcl 유전자군 이외의 아포프토시스 억제 유전자군이 발견되었는데 이것이 Inhibitor of apoptosis (IAP) 유전자군이다. IAP 유전자군은 무척추동물과 척추동물 모두에서 나타나며, 처음 발견된 것은 Baculovirus IAP들(Cp-IAP, Op-IAP)로서 Caspase를 억제하는 기능을 가진 것으로 밝혀지면서 IAP라는 이름이 지어졌다. 그 뒤로 초파리, 쥐 그리고 사람에게서 IAP 유전자군에 속하는 유전자들이 발견되었다. 현재까지 인간에서 발견된 IAP유전자는 human inhibitor of apoptosis-1 (HIAP-1), human inhibitor of apoptosis-2 (HIAP-2), human X-chromosome-linked IAP (XIAP), neuronal apoptosis inhibitory peptide (NAIP), survivin 등이다.(4-7) IAP 유전자 산물들의 아포프토시스 억제 기능은 직접적으로 Caspase 3, 7, 9의 활성을 억제하거나(8-11) nuclear transcription factor-κB (NF-κB) 활성화를 통하여 이루어진

책임저자 : 손수상, 대구시 중구 동산동 194
계명대학교 의과대학 외과학교실, 700-712
Tel: 053-250-7313, Fax: 053-250-7322
E-mail: sohnss@dsmc.or.kr

접수일 : 2002년 11월 21일, 게재승인일 : 2003년 3월 5일

다고 알려져 있다.(12,13) IAP 중에서 HIAP-1은 TNF- α receptor associated factor 2 (TRAF2)와 상호반응하여 NF- κ B로 연결되는 신호전달계에 관여하여 아포토시스 억제 신호전달의 형성에 관여한다고 알려져 있다.(13)

IAP 단백질들의 일반적 특징은 아미노말단의 BIR (Baculovirus IAP Repeat)이라 명명된 약 70개의 아미노산으로 구성된 motif와 카복시말단의 ring finger 구조를 가진다는 것이다.(4-7) 최근에 발견된 survivin 단백질은 성인 조직에서는 발현이 검출되지 않고 태아 조직에서 발현이 검출되고 폐암, 대장암, 유방암, 췌장암, 전립선암 그리고 림프종 등의 암 조직에서 발현이 나타난다는 특징을 가지고 있다.(14-18) 이러한 특징들로 말미암아 IAP 유전자군이 세포의 암화과정에 관여한다고 추정되고 있으나 위암과의 관계에 대하여는 아직 많이 알려져 있지 않다.

이 실험에서는 위암 발생에 있어서 IAP 유전자군에 속하는 survivin과 HIAP-1 유전자의 관련기전을 알아보고자 한국인 위암조직과 위암세포주를 대상으로 survivin과 HIAP-1 유전자들의 발현정도를 조사하고 더불어 survivin 유전자의 세포주기성 발현조절에 대하여 연구하였다.

방 법

1) 조직 및 세포주

계명대학교 의과대학 일반외과학교실에서 위암 수술 중 위암 및 정상 위의 조직을 분리하여 액체질소에 즉시 냉동 보관한 것을 사용하였다. 면역조직화학법(Immunohistochemistry)을 위해서는 파라핀 포매조직을 사용하였다. 세포주는 서울대학교 세포주 은행에서 분양받은 SNU-1, 5, 216, 484, 601, 620, 638, 668 한국인 위암 세포주를 사용하였다. 이들 세포주는 10% fetal calf serum이 함유된 RPMI1640배지를 사용하여 36°C 5% CO₂에서 배양하며 사용하였다.

Table 1. Primer sequences used for RT-PCR

Name	PCR primer sequence	Product size (bp)
HIAP-1		
Sense	5' CCGGA AGAAT AGAAT GGCAC 3'	219
Antisense	5' ACAGC TTCAG CTTCT TGCAG 3'	
Survivin		
Sense	5' CTCAA GGACC ACCGC ATCTC 3'	392
Antisense	5' CCTCA ATCCA TGGCA GCCAG 3'	
GAPDH		
Sense	5' CGTCT TCACC ACCAT GGAGA 3'	300
Antisense	5' CGGCC ATCAC GCCAC AGTTT 3'	

2) Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

배양된 세포에서 RNA의 분리는 RNazol B (Biotecx Laboratories Inc., USA)를 사용하였다. 분리된 RNA 4 μ g을 oligo dT (16 mer)를 사용하여 MuLV reverse transcriptase (Perkin-Elmer Co., USA)로 역전사를 시행하였다. PCR은 10X reaction buffer (15 mM MgCl₂, 100 mM Tris-HCl pH 8.3, 500 mM KCl) 5 μ l와 10 mM dATP, dTTP, dCTP, dGTP 각 1 μ l씩, 그리고 30 μ M sense 및 antisense primer (Table 1)를 각각 1 μ l를 넣은 혼합액에 1 μ l의 반응시퀀스 cDNA reaction mixture와 2.5 unit의 Taq polymerase (Perkin Elmer Co., USA)를 넣은 후 증류수로 50 μ l로 용량을 맞추고 DNA thermal cycler (Perkin Elmer Co., USA)를 사용하여 PCR을 시행하였다. GAPDH 유전자 증폭을 위해서는 17 cycle, 그 외의 다른 유전자들의 증폭을 위해서는 26 cycle을 시행하였다.

3) Western blot

배양된 세포에 lysis buffer (10 mM Tris-Cl (pH 7.4), 5 mM EDTA (pH 8.0), 130 mM NaCl, 1% TritonX-100), 0.2 M phenyl-methyl-sulfonyl fluoride, proteinase inhibitor cocktail을 넣고 얼음에서 30분간 둔 후 원심하고 상층액을 취한 후 단백질을 정량하고 sodium dodecyl sulfate-poly acrylamide gel electrophoresis로 전기영동하고 nitrocellulose filter (Millipore Co., USA)로 전기이동(electrotransfer)시켰다. 전기이동된 filter를 Blotto용액(5% 탈지 분유가 함유된 TBS-T buffer)에서 4시간 동안 진탕(shaking)하고 일차항체 용액(실온)에서 2시간 반응시키고 TBS-T buffer로 씻은 다음 이차항체용액(실온)에서 1시간 반응하였다. 이를 TBS-T buffer로 세척한 후 ECL (Amersham LIFE SCIENCE Inc., USA) 방법으로 autoradiography를 시행하였다. 일차항체는 anti-HIAP-1 rabbit polyclonal antibody (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA), anti-survivin rabbit polyclonal antibody (Alpha Diagnostics International Inc., USA)를 사용하였다.

4) 면역조직화학법

Survivin 및 HIAP-1의 발현을 위암조직에서 보기 위한 면역조직화학법을 위해 일차항체로 anti-HIAP-1 rabbit polyclonal antibody (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA), anti-survivin rabbit polyclonal antibody (Alpha Diagnostics International Inc., USA)를 사용하였다. 조직절편을 탈파라핀과 탈수를 시행한 후 계열 에탄올을 거쳐 흡수하고 메탄올과 30% H₂O₂를 9:1로 혼합한 용액에 30분간 실온에서 방치한 후 0.01 M citrate buffer (pH 6.0)용액에 담근 뒤 microwave로 5분씩 2회 가열하였다. 그 후 1% 정상 마혈청(normal horse serum, Vector Laboratories Inc., USA)으로 37°C에서 30분간 둔 후 3 μ l의 일차 항체를 조직 절편위에 놓고

coverslip을 덮은 다음 37°C에서 2 시간 두었다. 세척 후 이차 항체(biotinylated anti-rabbit immunoglobulin, Vector Laboratories Inc., USA)와 avidin-biotin peroxidase complex (Vector Laboratories Inc., USA)을 1 : 200으로 조직절편 위에 적당량 놓은 후 각각 37°C에서 30분간 두었다. 세척은 phosphate-buffered saline (PBS)을 사용하였다. Diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)-H₂O₂ 용액으로 발색하고 Meyer's hematoxylin으로 대조 염색을 실시하였다.

5) Propidium iodide 염색을 이용한 유세포(flow cytometry) 분석

배양된 세포를 PBS로 세척하고 2×10⁶ 세포당 1 ml의 ethanol을 첨가하고 4°C에 15시간 두어 세포를 고정하였다. 1,000 rpm으로 원심한 후 상층액을 제거하고 1 ml의 PI solution (propidium iodide 50µg/ml, RNase A 0.1 mg/ml, NP40 0.1%, Trisodium citrate 0.1%)으로 재부유시킨 다음 4°C에 1시간 둔 후 FACScaliver (Becton Dickinson Co., USA)로 분석하였다.

결 과

1) 한국인 위암 세포주에서 survivin 및 HIAP-1의 발현

한국인 위암 세포주를 대상으로 각 유전자들의 mRNA 발

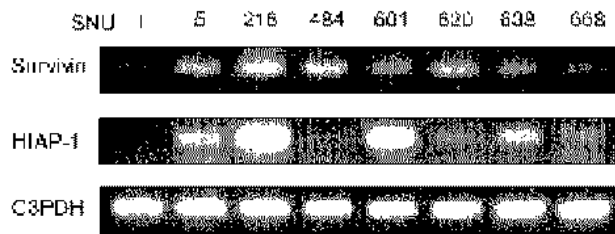


Fig. 1. mRNA expression of IAP genes in gastric cancer cell lines.

현변화를 RT-PCR법으로 조사하였다(Fig. 1). Survivin 유전자의 mRNA 발현은 모든 세포주에서 나타났으며 특히 SNU-5, 216, 484, 620 세포주에서 발현이 많은 것으로 나타났다. HIAP-1유전자 mRNA 발현은 SNU-216, 601 세포주에서 많이 발현되는 것이 관찰되었다.

단백질 수준에서의 survivin과 HIAP-1 유전자 발현을 Western blot으로 조사하였다(Fig. 2). Survivin 단백질은 대부분의 세포주에서 발현이 검출되었고 세포 간의 발현 양은 차이가 많았다. SNU-216 세포주에서는 단백질 발현과 mRNA 발현이 모두 높았으나 mRNA 발현이 낮았던 SNU-668 세포주의 단백질 발현이 높게 나타나 단백질 발현량과 mRNA 발현량과는 서로 정비례하지는 않았다. HIAP-1 단

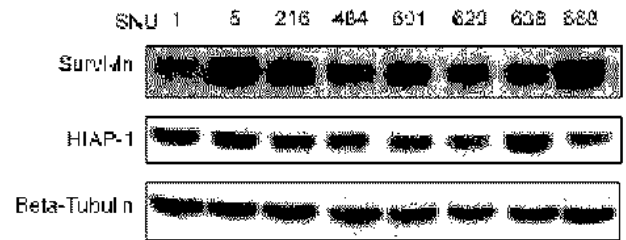


Fig. 2. Western blot analysis of survivin and HIAP-1 expression in gastric cancer cell lines.

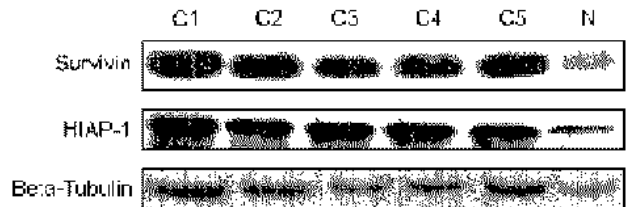


Fig. 3. Western blot analysis of survivin and HIAP-1 expression in gastric cancer tissues. C1-C5, gastric cancers; N, normal gastric tissue.

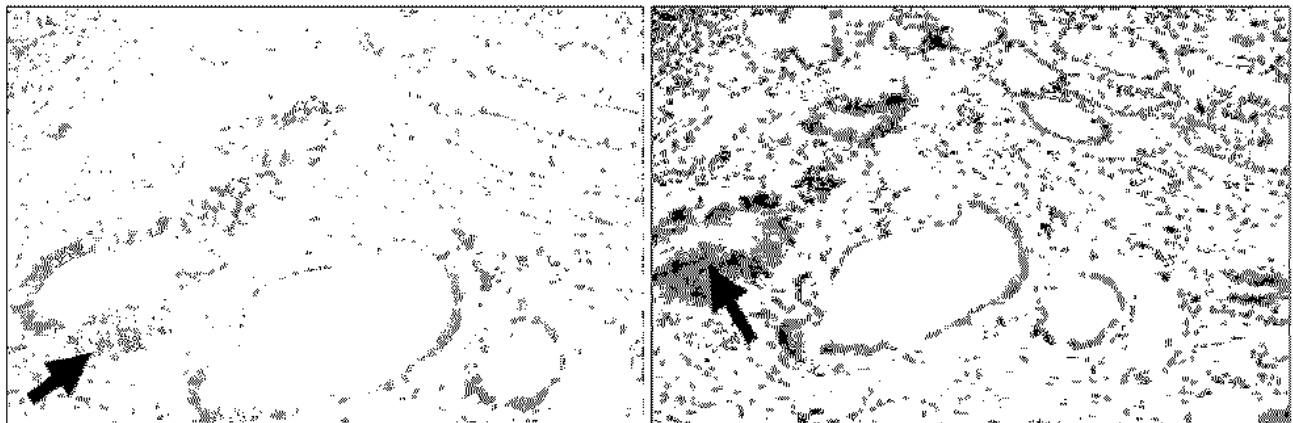


Fig. 4. Immunohistochemical staining of survivin and HIAP-1 in gastric cancer tissue.

백질의 발현은 모든 세포주에서 검출되었으며 특히 SNU-1, 5, 638 세포주에서 발현이 많았다. HIAP-1 유전자 역시 mRNA 발현량과 단백질 발현량은 정비례하지는 않았으며 SNU-1 세포주에서는 mRNA 발현량은 가장 낮았으나 단백질 발현량은 아주 높은 것으로 나타났다.

2) 한국인 위암조직에서 survivin 및 HIAP-1 단백질 발현

위암 조직에서 survivin 및 HIAP-1 유전자의 단백질 발현을 Western blot과 면역조직화학법으로 조사하였다. 5예의 암조직을 대상으로 survivin과 HIAP-1 Western blot을 시행한 결과 5예 모두에서 정상조직에 비하여 survivin 및 HIAP-1 단백질의 과발현이 관찰되었다(Fig. 3). 면역조직화학법으로 조사한 결과에서도 survivin과 HIAP-1 단백질의 발현이 정상 조직에 비하여 위암조직에서 강하게 검출됨을 보였다(Fig. 4).

3) Survivin 유전자의 발현조절

세포주기의 G2/M기에서 발현이 증가되는 survivin 유전자의 세포주기 의존성 발현조절 기전이 위암세포주에서 유지되고 있는지를 알아보기 위하여 nocodazole 처리 및 혈청 자극에 따른 세포주기 변화와 survivin 발현량 변화를 조사하였다. SNU-1, SNU-5, SNU-668 세포주를 대상으로 세포배양액에 nocodazole 0.2 μ g/ml을 30시간 처리하여 세포주기 G2/M기 정지를 유도하고 survivin 단백질의 발현량을 조사하였다(Fig. 5). SNU-1 세포주는 44.7%, SNU-5 세포주는 39.6%, SNU-668 세포주는 50.7%의 세포가 G2/M기에 세포주기가 정지하였으며 survivin 단백질의 발현은 nocodazole 처리 시에 비처리군에 비하여 발현이 증가함을 보여 survivin 발현의 G2/M기 주기성 발현이 위암세포주에서도 유지되고 있

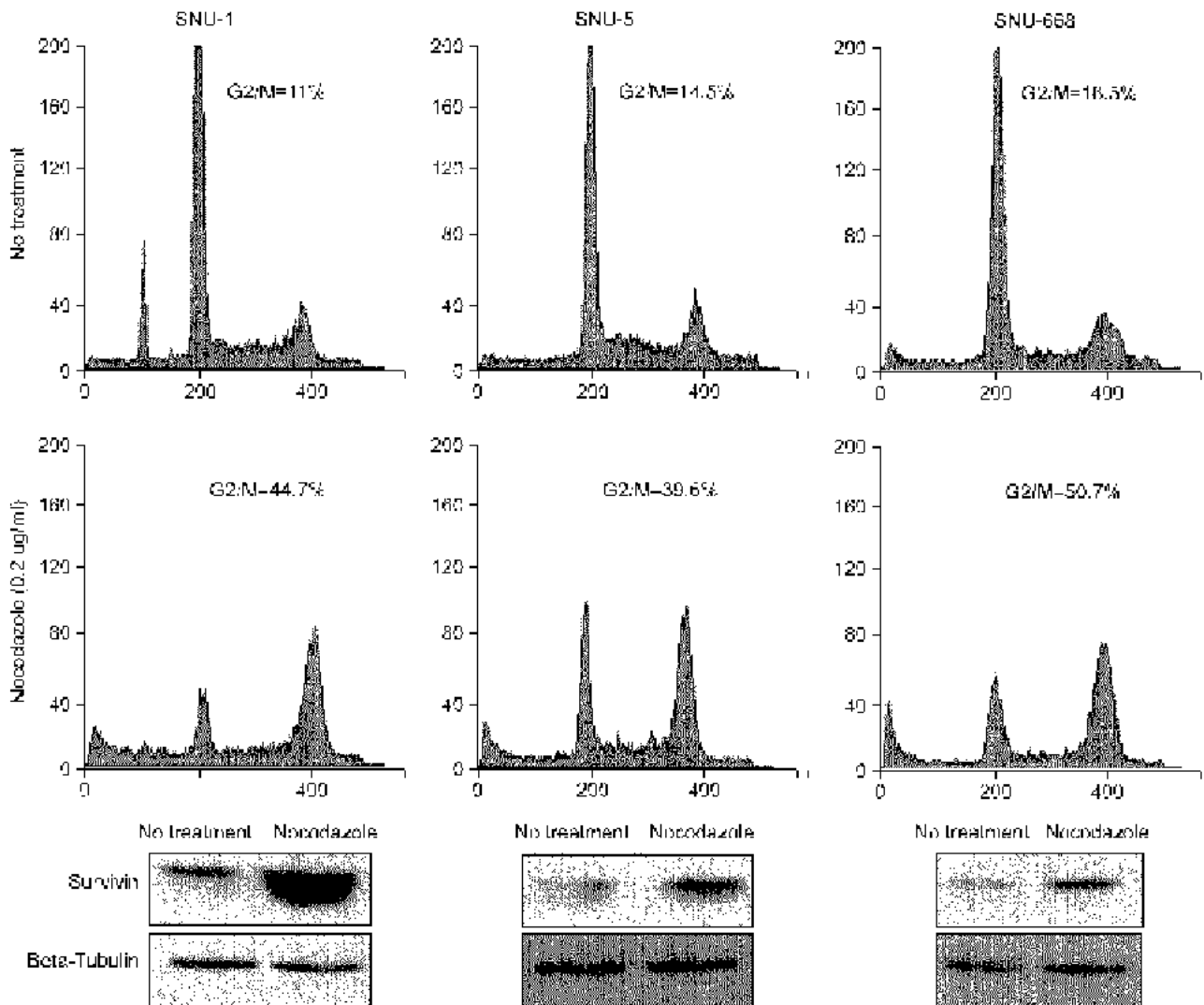


Fig. 5. Cell cycle dependent expression of survivin in gastric cancer cell lines.

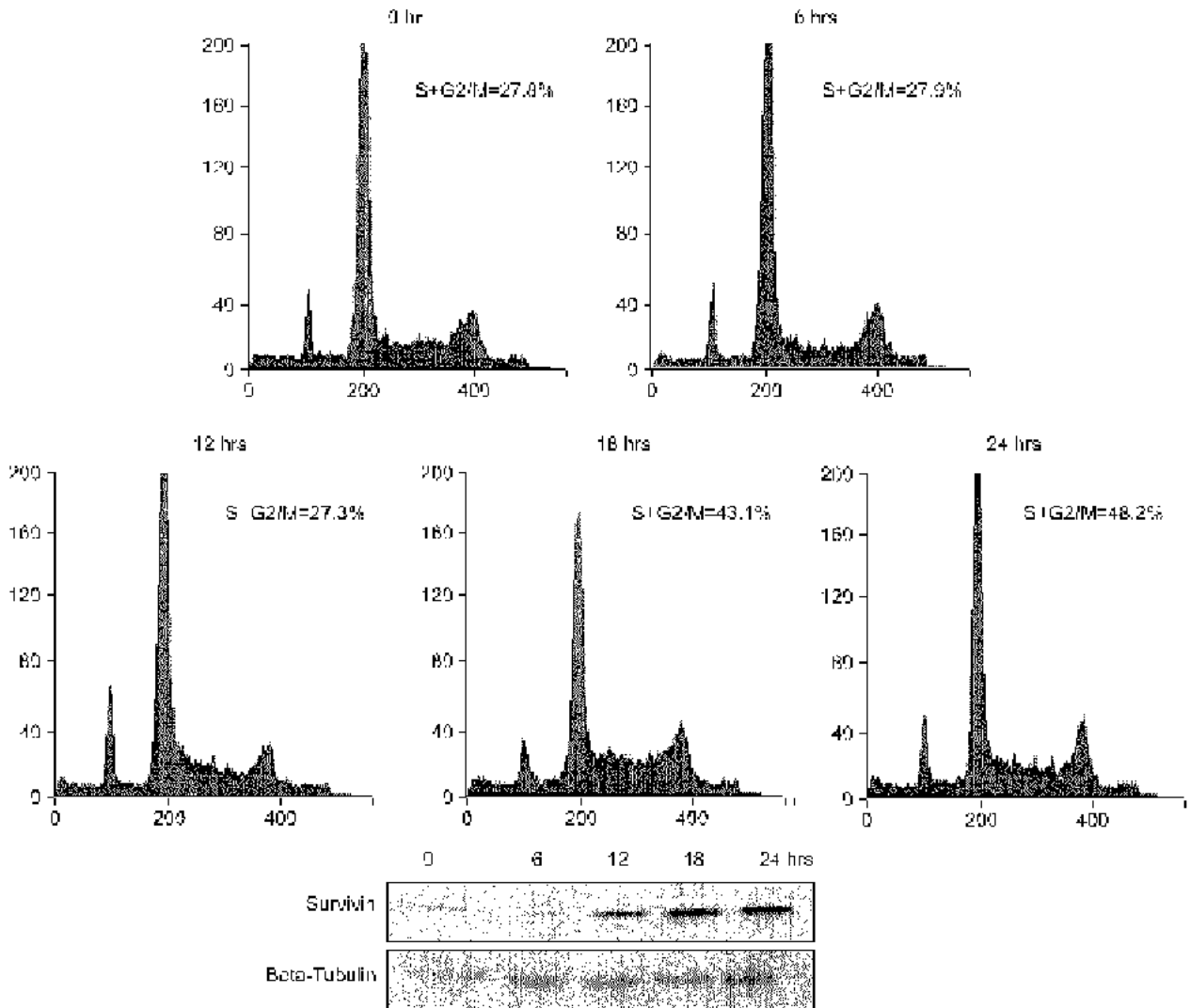


Fig. 6. Expression of survivin after serum stimulation in SNU-1 gastric cancer cell line.

음을 보였다.

SNU-1 세포주를 혈청 없는 배지에서 30시간 배양하고 다시 혈청을 가하여 시간별로 세포주기의 변화와 survivin 단백질의 양적 변화를 조사하였다(Fig. 6). S기와 G2/M기의 세포분획률은 혈청 제거 30시간 후 약 31%이었으며, serum을 함유하는 배지로 교체한 후 6시간에는 27.9%, 12시간에는 27.3%, 18시간에는 43.1%, 24시간에는 48.2%를 나타내었으며, survivin 단백질은 시간이 경과함에 따라 12시간 후부터 발현이 증가하여 24시간까지 증가되어 S기 및 G2/M기의 세포분획 증가에 따라 survivin 단백질 발현량이 증가됨을 보였다.

고 찰

세포에 암유전자 및 성장인자들의 비조절적 발현이 진행

되면 과다한 세포분열이 초래될 수 있으며, 아포프토시스 조절기전에 이상이 초래되면 비정상세포들이 축적될 수 있다. 아포프토시스 조절기전의 이상은 세포 생존기간(life span)의 비정상적인 연장을 가능하게 함으로써 유전자 돌연변이의 축적, 성장인자 비의존성 세포성장 유도, 면역세포 세포독성에 대한 내성 증가, 세포주기 체크포인트 완화를 통하여 세포의 암화를 유도할 수 있다.(1,2) IAP 유전자군의 발현은 여러 가지 경로를 통하여 세포의 아포프토시스를 억제한다고 알려져 있다.(8-13) 이 실험에서는 survivin 및 HIAP-1 유전자의 발현 양상을 RT-PCR, Western blot, 면역조직화학법 등을 사용하여 한국인 위암세포주 및 위암조직에서 규명하고 그 발현 조절에 대하여 조사함으로써 위암과의 상관관계를 알아보았다.

Survivin 유전자의 발현은 이 실험에서 사용한 8 종류의 위암세포주 모두에서 검출되었고 실험한 5개의 위암조직

모두에서 정상조직에 비하여 발현이 증가되어 있어, survivin 단백질이 Caspase 3, 7의 활성을 억제하여 Fas, 항암제 등에 의해 유도된 아포토시스를 억제하고(11) 세포주기 G2/M기에서 발현이 증가하여 mitotic spindle과 상호작용함으로써 세포주기의 G2/M checkpoint에서 세포의 아포토시스를 억제하는 기능을 가진다는 보고(19)와 위암을 비롯한 폐암, 대장암, 유방암, 췌장암, 전립선암, 그리고 림프종 등 대부분의 암 조직에서 발현이 나타난다는 보고들(14-18, 20-22)과 함께 추론해 볼 때 survivin 유전자의 발현 증가가 위암과 연관이 있을 것이라 생각된다. Lu 등(20)은 면역조직화학법으로 조사한 결과 약 35%의 위암조직에서 survivin 발현이 있다고 보고하였고, Tsuburaya 등(21)은 RT-PCR 방법으로 survivin mRNA가 64%의 위암조직에서 발현된다고 보고하였으며, Yu 등(22)은 RT-PCR에서 68%, Western blot에서 58.3%의 위암조직이 survivin의 발현을 나타낸다고 보고한 바 있다. 이 실험에서는 Western blot 결과 실험한 5예 모두에서 발현이 정상보다 증가되어 있어 훨씬 높은 빈도를 보였다. 그러나 이 실험에 사용한 조직의 수가 적으므로 앞으로 더 많은 조직을 대상으로 하는 실험이 있어야 할 것으로 생각된다. 한편 Yu 등(22)이 *H. pylori* 감염과 survivin 발현이 연관성이 있음을 보고한 바 있어 이 실험에서 나타난 survivin의 높은 발현율과 *H. pylori* 감염과의 관계에 대해서도 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

Survivin 유전자의 promotor region에는 unmethylated CpG island가 존재하며 또한 3개의 cell cycle dependent element가 존재하고 survivin 단백질의 발현은 세포주기의 조절을 받아 S기에서 발현 증가가 시작되어 G2/M기에 발현이 가장 많다고 알려져 있다.(23) 이러한 survivin의 세포주기성 발현이 survivin 과발현이 있는 것으로 나타난 위암세포주에서도 그대로 유지되고 있는지 아니면 주기성 발현 특성의 변화가 있는지를 알아보기 위하여 세포를 G2/M기에 정지시킨다고 알려진 nocodazole을 사용하여 survivin의 발현량 변화를 조사한 결과 G2/M기의 세포분획 증가에 따라 survivin 단백질의 발현이 증가하여 survivin 과발현 위암세포주에서도 survivin 발현의 세포주기성은 유지되고 있는 것으로 생각되었다. 또한 SNU-1 세포주를 혈청이 없는 배지에서 30시간 배양하고 다시 혈청을 가하여 시간별로 세포주기의 변화와 survivin 단백질의 양적 변화를 조사한 결과에서도 혈청 첨가 후 나타난 S기 및 G2/M기의 세포분획 증가에 따라 survivin 단백질 발현량이 증가됨을 보여 survivin 발현이 세포주기성 발현을 유지하고 있는 것을 다시 확인할 수 있었다. 그러나 정상조직보다 암조직에서 survivin의 발현이 증가되어 있어 암세포에서 정상세포보다 S기 및 G2/M기에서 세포주기성 발현의 반응강도가 강하지 아니면 세포주기성 반응은 유지하면서 G1기 등 전체 세포주기에서 기저 발현양 자체가 증가되어 있는지에 대해서는 추후 더 연구되어야 할 것으로 생각된다.

이 실험에서 HIAP-1 단백질의 발현은 실험한 모든 세포주에서 검출되었으며 Western blot과 면역조직화학법으로 조사한 결과 위암 조직에서 정상조직에 비하여 HIAP-1 단백질이 과발현이 되고 있는 것으로 나타났다. HIAP-1 단백질은 Caspase 3, 7, 9의 활성을 억제하고(8-10) 또한 NF- κ B를 활성화함으로써 생존신호(survival signal)를 강화하여 아포토시스 억제를 유도한다고 알려져 있다.(12,13) 이러한 HIAP-1의 특징으로 볼 때, 위암세포주에서 발현되고 또한 위암조직에서 높은 발현을 보이는 HIAP-1이 위암과 관련이 있을 것으로 생각된다. 한편 Maeda 등(24)이 야생형의 *H. pylori*가 위암세포주의 HIAP-1 및 HIAP-2 발현을 증가시킨다고 보고한 바 있어 이 실험에서 나타난 높은 빈도의 HIAP-1 발현에 대하여 앞으로 *H. pylori* 감염과의 관계에 대해서도 연구가 더 필요할 것으로 생각된다. Hofmann 등(25)은 비소세포성폐암종(non-small cell lung cancer) 중 샘암종(adenocarcinoma)에서 HIAP-1의 발현이 많이 있으며 특히 낮은 TMN stage의 샘암종에서 발현이 많이 나타나 low-stage의 샘암종에서 HIAP-1이 중요한 역할을 할 것이라 보고한 바 있다.

위암의 발생과정에는 다른 암세포들과 마찬가지로 여러 가지 유전적 변화가 있어야 한다. 이 실험에서는 아포토시스를 억제하는 IAP 유전자들에 속하는 survivin과 HIAP-1의 발현 변화를 위암을 대상으로 조사한 결과 이들 유전자들의 발현변화가 나타나 survivin과 HIAP-1 유전자가 위암과 관련이 있으리라는 결과를 얻었으며 앞으로 위암과 IAP 유전자와의 관계에 대하여 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

이 실험에서는 아포토시스를 억제하는 기능을 가지고 있다고 알려진 IAP 유전자군에 속하는 survivin과 HIAP-1 유전자의 위암발생 관련기전을 조사하고자 위암조직과 8종류의 위암세포주를 대상으로 이들 유전자들의 발현을 조사하였다. Survivin 유전자의 발현은 8종류의 위암세포주에서 모두 검출되었고 위암조직에서도 실험한 5예 모두에서 정상조직에 비하여 발현이 증가되어 있어 survivin 유전자의 발현 증가가 위암과 관련이 될 것이라 생각되었다. Survivin 발현의 세포주기성 발현이 유전자 과발현이 있는 위암세포주에서도 그대로 유지되고 있는지를 알아보기 위하여 nocodazole 처리 및 혈청자극 후 survivin 발현량 변화를 조사한 결과 G2/M기 세포분획의 증가에 따라 survivin 단백질 발현이 증가하여 survivin 과발현이 있는 위암세포주에서도 survivin 발현의 세포주기성은 유지되고 있는 것으로 생각되었다. HIAP-1 단백질의 발현은 실험한 모든 세포주에서 검출되었으며 위암 조직에서 정상조직에 비하여 과발현이 되고 있는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 보아 아포

프로시스를 억제하는 IAP 유전자들인 survivin과 HIAP-1의 발현변화가 위암과 관련이 있으리라 생각되며 앞으로 위암과 IAP 유전자와의 관계에 대하여 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995;267:1452-1456.
2. Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 1994;124:1-6.
3. Nakayama K, Nakayama K, Negishi I, Kuida K, Sawa H, Loh DY. Targeted disruption of Bcl-2 alpha beta in mice: occurrence of gray hair, polycystic kidney disease, and lymphocytopenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:3700-3704.
4. Clem RJ, Duckett CS. The iap genes: unique arbiters of cell death. *Trends Cell Biol* 1997;7:337-339.
5. Liston P, Young SS, Mackenzie AE, Korneluk RG. Life and death decisions: the role of the IAPs in modulating programmed cell death. *Apoptosis* 1997;2:423-441.
6. Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins-suppressors of apoptosis. *Genes Dev* 1999;13:239-252.
7. Li YY, Li XM. The IAP family: endogenous caspase inhibitors with multiple biological activities. *Cell Res* 2000;10:169-177.
8. Deveraux QL, Takahashi R, Slavesen GS, Reed JC. X-linked IAP is a direct inhibitor of cell-death proteases. *Nature* 1997;388:300-304.
9. Roy N, Deveraux QL, Takahashi R, Slavesen GS, Reed JC. The c-IAP-1 and c-IAP-2 proteins are direct inhibitors of specific caspases. *EMBO J* 1997;16:6914-6915.
10. Deveraux QL, Roy N, Stennicke HR, Van Arsdale T, Zhou Q, Srinivasula SM, Alnemri ES, Salvesen GS, Reed JC. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. *EMBO J* 1998;17:2215-2223.
11. Tamm I, Wang Y, Sausville E, Scudiero DA, Vigna N, Oltersdorf T, Reed JC. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res* 1998;58:5315-5320.
12. Chu ZL, McKinsey TA, Liu L, Gentry JJ, Malim MH, Ballard DW. Suppression of tumor necrosis factor-induced cell death by inhibitor of apoptosis c-IAP2 is under NF-kappaB control. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:10057-10062.

13. Wang CY, Mayo MW, Korneluk RG, Goeddel DV, Baldwin AS Jr. NF-kappaB antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science* 1998;281:1680-1683.
14. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nature Med* 1997;3:917-921.
15. Adida C, Berrebi D, Peuchmaur M, Reyes-Mugica M, Altieri DC. Anti-apoptosis gene, survivin, and prognosis of neuroblastoma. *Lancet* 1998;351:882-883.
16. Ambrosini G, Adida C, Sirugo G, Altieri DC. Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by survivin gene targeting. *J Biol Chem* 1998;273:11177-11182.
17. Kawasaki H, Altieri DC, Lu CD, Toyoda M, Tenjo T, Tamigawa N. Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5071-5074.
18. LaCasse EC, Baird S, Korneluk RG, MacKenzie AE. The inhibitors of apoptosis (IAPs) and their emerging role in cancer. *Oncogene* 1998;17:3247-3259.
19. Li F, Ambrosini G, Chu EY, Plescia J, Tognin S, Marchisio PC, Altieri DC. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature* 1998;396:580-584.
20. Lu CD, Altieri DC, Tamigawa N. Expression of a novel anti-apoptosis gene, survivin, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinomas. *Cancer Res* 1998;58:1808-1812.
21. Tsuburaya A, Noguchi Y, Yoshikawa T, Saito A, Doi C, Okamoto T, Fukuzawa K. An anti-apoptosis gene, survivin and telomerase expression in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2002;49:1150-1152.
22. Yu J, Leung WK, Ebert MP, Ng EK, Go MY, Wang HB, Chung SC, Malfertheiner P, Sung JJ. Increased expression of survivin in gastric cancer patients and in first degree relatives. *Br J Cancer* 2002;87:91-97.
23. Li F, Altieri DC. Transcriptional analysis of human survivin gene expression. *Biochem J* 1999;344:305-311.
24. Maeda S, Yoshida H, Mitsuno Y, Hirata Y, Ogura K, Shiratori Y, Omata M. Analysis of apoptotic and antiapoptotic signalling pathways induced by *Helicobacter pylori*. *Gut* 2002;50:771-778.
25. Hofmann HS, Simm A, Hammer A, Silber RE, Bartling B. Expression of inhibitors of apoptosis (IAP) proteins in non-small cell human lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:554-560.