

누드마우스의 흉강에 폐암세포주의 주입에 의한 종양형성과 HER2/neu와 TGF- β_1 의 발현

박 익 송* · 김 송 명* · 김 종 인*

Tumorigenesis after Injection of Lung Cancer Cell Line (SW-900 G IV) into the Pleural Cavity of Nude Mice

Eok-Sung Park, M.D.*, Song-Myung Kim, Ph.D.*, Jong-In Kim, M.D.*

Background: Base on types of tumor, the types of expressed tumor is diverse and the difference in its expression rate is even more various. Due to such reasons an animal model is absolutely needed for a clinical research of lung cancer. The author attempted oncogenesis by cultivating a cell line of non-small cell carcinoma and then injecting it inside thoracic cavities of nude mice. The author conducted quantitative analyses of HER2/neu tumor gene - an epidermal growth factor receptor (EGFR) related to lung cancer, and TGF- β_1 , which acts as a resistance to cell growth inhibition and malignant degeneration. In order to investigate achievability of the oncogenesis, histological changes and the expression of cancer gene in case of orthotopic lung cancer is necessary. **Material and Method:** Among 20 immunity-free male BALB/c, five nude mice were selected as the control group and rest as the experimental group. Their weights ranged from 20 to 25 gm (Orient, Japan). After injection of lung cancer line (SW900 G IV) into the pleural cavity of nude mice, They were raised at aseptic room for 8 weeks. HER2/neu was quantitatively analyzed by separating serum from gathered blood via chemiluminiscent immunoassay (CLIA), and immunosandwich method was applied to quantitatively analyze TGF- β_1 . SPSS statistical program (SPSS Version 10.0, USA) was implemented for statistical analysis. Student T test was done, and cases in which p-value is less than 0.05 were considered significant. **Result:** Even after lung cancer was formed in the normal control group or after intentionally injected lung cancer cell line, no amplification of HER2/neu gene showed reaction. However, the exact quantity of TGF- β_1 was 28,490 \pm 8,549 pg/mL, and the quantity in the group injected with lung cancer cell was 42,362 \pm 14,449 pg/mL, meaning 1.48 times highly significant ($p < 0.483$). It proved that HER2/neu gene TGF- β_1 had no meaningful interconnection. **Conclusion:** TGF- β_1 gene expressed approximately 1.48 times amplification in comparison to the control group. The amplification of TGF- β_1 meant somatic recuperation inhibition mechanism due to carcinogenesis in nude mice was definitely working. It may be implemented as a quantitative analysis that allows early detection of lung cancer in human body.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2010;43:588-595)

Key words: 1. Carcinoma, non-small cell, lung
2. Mice, transgenic
3. Neoplasm marker

*고신대학교 의과대학 복음병원 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Gospel Hospital, College of Medicine, Kosin University

논문접수일 : 2010년 8월 30일, 논문수정일 : 2010년 10월 19일, 심사통과일 : 2010년 11월 11일

책임저자 : 김송명 (602-702) 부산시 서구 암남동 34번지, 고신대학교 복음병원 흉부외과

(Tel) 051-990-6466, (Fax) 051-990-3066, E-mail: smkim@kosinmed.or.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

폐암은 현재까지 한국을 비롯한 구미에서 암 관련 사망의 가장 높은 원인이며 최근 발병률이 지속적으로 증가하는 치명적인 질병이다[1,2].

전체 폐암의 80% 정도를 점유하고 있는 것은 비소세포암종이며 가장 효과적인 치료방법은 외과적인 수술에 의한 절제술이다[3]. 그러나 첫 진단 시 이미 약 2/3의 환자가 수술 불가능한 상태이다[4]. 폐암의 치료는 IIIA 병기까지는 외과적 폐절제술을 시행하고 높은 병기의 환자에게는 수술 후, 보조 항암 화학 요법을 시행하고, 수술이 불가능한 환자에게는 항암 요법 및 방사선 치료를 시행한다. 치료 후 완치율은 매우 저조한 치명적인 암이다. 제 I 병기 비소세포암종에서도 조기 발견되어 수술한 경우 보고에 따라서는 5년 생존율이 58~75% 정도 밖에 되지 않는다[5]. 이렇게 생존율이 낮은 이유는 제 I 병기 조기 비소세포폐암에서도 27% 정도에 달하는 높은 재발률[6]과 전이[7] 때문이다.

폐암의 진단이나 발암, 암 억제 분자생물학적인 분야에서도 과거에 비하여 괄목할만한 발전을 가져 왔으나, 이러한 연구에도 사망률의 감소는 뚜렷하지 않다. 수술 이외 치료법으로 방사능 치료법은 수술법과 같은 국소 치료법으로서 많은 발전을 가져 왔으나 진행된 암종의 경우에는 치료에 제한적일 수밖에 없다. 항암 화학적 치료의 경우에서도 다양한 약제의 개발과 부작용의 감소를 얻었지만 결과에 있어서는 치료 성공률은 큰 변화가 없다[8]. 또한, 폐암 조기 발견을 위한 컴퓨터 단층촬영을 이용한 대규모 조기 진단 방법을 이용한 대단위 연구에서도 폐암 진단률은 높였으나 치료 후 사망률을 낮추지 못하였고 비용대비 효과가 없는 것으로 결론이 났다. 그러므로 American Cancer Society에서는 조기 발견을 위한 무증상 고위험군에서 개인적인 검진을 권하고 있고, 분자 암표지자(Biomarker)를 이용한 새로운 진단 및 치료방법을 모색하고 있다[9].

폐암이 아직 발생하지 않은 흡연자의 기관지상피에서 발암 전 변화가 발견되기도 하지만 이러한 병변의 빈도는 잘 알려져 있지 않았고 발견하기도 매우 어렵다. 발암 전 병변이 유전적 변화를 가지고 있는지에 대한 연구 또한 그렇게 많지는 않다. 유전적 변화를 가지고 있는 발암 전 병변이 침윤성 암으로 진행되는지에 대한 연구도 뚜렷한 결과를 얻지 못하고 있다[10,11]. 종양의 종류에 따라 발현되는 종양 항원의 종류도 다양하며 그 발현율의 차이는

더욱 다양하다[8].

폐암의 발생, 진단 및 치료법 연구를 위해서는 분자 생물학적 연구 뿐 아니라 인체를 대신할 만한 동물 모델이 필요하다.

1989년 Seed and soil 이론을 서술한 Paget[12]이 ectopic cancer model을 처음으로 발표한 이래 적절한 이종 동물 모델에 대한 연구가 진행 되어 왔다[13-15]. 저자는 편평 세포암종의 세포주를 배양하여 누드 마우스의 흉강 내에 주입하여 정위적 폐종양형성의 성공 유무를 알아보았으며, 조직학적 변화와 함께 폐암과 관련 있는 EGFR (epidermal growth factor receptor)의 수용기 중 하나인 HER2/neu 종양 유전자[16]와 세포 성장 억제 작용과 악성화 과정에서의 저항성으로 작용하는 TGF- β_1 의 발현 정도를 면역 조직 화학법을 이용하여[17] 조사하였다.

대상 및 방법

1) 실험 동물, 실험군 및 관리

실험에 사용한 동물은 20마리의 수컷 누드 마우스(Male BALB/c nude mice)로 5마리를 대조군으로, 15마리는 실험군으로 하였다. 실험 누드 마우스의 체중은 20~25 gm (Orient, Japan)의 범위에 있었다. 실험 전 약 2주간의 표준 먹이와 물을 자유롭게 공급하였으며 25°C의 무균 clean room에서 전문인에 의해 사육하게 하였다.

2) 실험 동물 IRB

본 실험은 고신대학교 복음병원 동물 IRB의 승인을 얻은 후 시행하였다.

3) 세포주의 세포배양과 흉강 내 주입

본 실험에 사용한 폐암 세포주(SW-900 G IV)는 유래가 53세 Caucasia 남자의 폐이고 조직은 carcinoma, squamous cell, grade IV인 것을 사용하였다. SW-900 G는 폐암 중에서 악성도가 매우 높은 편평 세포암종으로 한국 세포주 은행(Korean cell line bank, KCLB)에서 동결된 상태의 세포 암종과 배양액에서 성장시킨 세포 부유액 2종류를 구입하여 사용하였다. 동결 세포주를 고체 질소통에서 꺼낸 후 37°C의 수조에 넣어 40~60초간 가운으로 녹였다. 폐암 세포주의 배양은 세포 부유액을 원심분리기(Hitachi 05PR-22 Japan) 1,000 RPM에 3분간 원심 분리하여 배양용 용기에 넣어 37°C 5% CO₂가 공급되는 배양기(CO₂ Incubator, Jauan, France)에서 배양하였다. 이때 사용한 배양액은

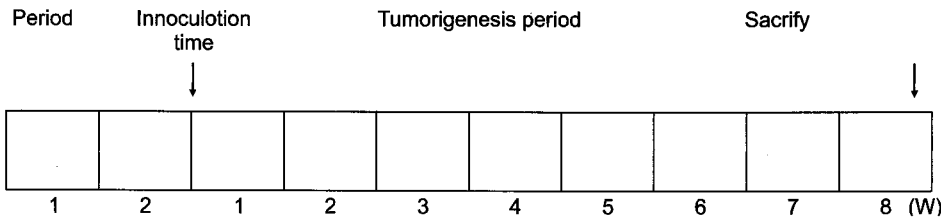


Fig. 1. Schematic program of experiment. 2 weeks were stabilization period and 8 weeks were cancer growing period.

RPMI 1,640 배양액(Roswell Park Memorial Institute, Leibovits L-15 medium)이었다.

흉강내의 주입은 배양된 암세포 혈장이 없는 배액으로 씻은 다음 5분간 4,000×g에서 원심 침전시켜서 Trypan blue로 염색하여 암세포의 생존 여부를 사전에 확인하였다.

흉강 주입용 세포주는 90% 이상으로 생존한 단세포 부유액으로 만들어 그 액을 주입하였으며, 주입 전까지 세포의 생존을 위해서 용기전체를 얼음 위에 보관하였다. 이때 암세포의 숫자는 $2 \times 10^6 / 0.4 \text{ mL}$ 이 되게 하였다.

실험용 쥐를 ether로 진신 마취하여 측와위로 위치하고 1 mL tuberculin syringe에 30 gauge의 피하용 바늘을 달아 견갑골 하연 부위에서 액와선상에 늑골 상연을 찢어서 흉강 주입용 세포주 70 μL 를 재빨리 주입하였고 주입 시 air regurgitation은 없었다. 바늘은 약 6 mm 정도만 삽입되도록 하였고 주입 후 회복될 때까지 약 30분 정도 관찰하였다.

대조군 다섯 마리에는 실험군과 같은 양과 방법으로 생리적 식염수를 주입하였다.

폐암 세포주를 주입한 후 8주간의 무균실내에서 대조군과 실험군을 나누어 성장을 관찰하면서 사육하였다(Fig. 1).

4) 부검과 적출조직의 병리학적 검사방법

폐암 세포주 주입 8주 후 누드 마우스를 ether로 마취한 후 개흉하여 심장에서부터 혈액을 채취 하였고 헤파린이 함유된 용기에 넣어 혈액내의 분자생물학적 검사를 위하여 원심 분리 후 혈청을 냉동 보관하여 일괄적으로 정량 검사를 실시하였다. 적출 조직들은 포르말린 용액 속에 넣어서 고정하였으며 일반적인 병리적인 방법으로 파라핀에 포매하여 절편을 만들고 현미경 검사를 위하여 H-E (Hematoxylin-Eosin) 염색을 시행하여 폐암 형성 유무를 확인하였다.

5) 혈청 내 HER2/neu의 발현량 측정

채혈하여 보관된 혈액의 혈청을 분리하여 3배 희석하였

으며 ADVIA Centaur automated immunoassay analyzer (Bayer Health Care LLC, Diagnostic Division, Tarrytown, NY, USA)로 CLIA (chemiluminiscent immunoassay) 법으로 정량적으로 측정 하였다. 이때 사용한 시약은 H2n (Siemens, NY, USA)이었다.

6) 혈청 내 형질성장인자(TGF- β_1) 발현량 측정

TGF- β_1 에 특이적인 단일 항체가 입혀져 있는 microplate에 기존 표준물질과 검체를 well에 넣으면 존재하는 TGF- β_1 이 고정된다. TGF- β_1 이 고정된 후 세척한 뒤 결합되지 않는 물질을 제거하고 TGF- β_1 에 특이적인 enzyme-linked polyclonal 항체를 넣으면 이 반응에서 TGF- β_1 은 두 항체 사이에 고정된다. 이어 세척하여 enzyme 시약에 결합하지 않은 물질을 제거하고 substrate 용액을 넣으면 앞 단계에서 고정된 TGF- β_1 의 양에 비례하여 발색된다. 발색의 정도를 정지시키고 그 발색 정도를 측정하였다. 그 검사의 원리는 immunosandwich법을 이용하여 정량 분석하였다.

7) 통계처리

수치는 평균±표준편차로 표시하였고 통계학적 분석을 위하여 SPSS통계(SPSS Version 11.0, USA)프로그램을 이용하였으며 Student T test를 하였으며 p값이 0.05 미만인 경우를 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1) 실험쥐의 체중 변화

처음 구입하여 무균실에서 2주간의 안정을 취한 후에 체중을 실시하였으며 체중은 $20 \pm 0.65 \text{ gm}$ 이었고 8주간의 암세포 주입후의 체중은 일률적으로 $5.1 \pm 1.02 \text{ gm}$ 이 증가하여 $25 \pm 1.67 \text{ gm}$ 이었다(Table 1).

2) 폐암세포의 발생확인

흉강 내에 폐암 세포주(SW900GIV)를 주입한 후 8주간

Table 1. Body weight of nude mice

Group	No. of cases		Body weight (gm)	
	2 weeks	10 weeks	2 weeks	10 weeks
Control group	5		20±0.65	
Experimental group	15		25±1.67	

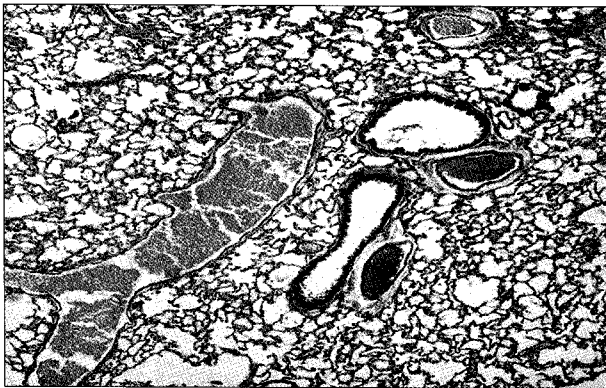


Fig. 2. Microscopic features of the control group mouse lung. H/E stain of the paraffin-embedded sections (×100, H&E stain).

의 사육 후 ether 전신 마취 후 흉강을 열어 폐암으로 추정되는 암종을 formalin용액 내 고정하고 파라핀 포매하여 Hematoxylin-Eisin stain (H&E stain)을 실시하였다. 정상적인 대조군의 alveolus와 폐조직을 확인할 수 있었으며(Fig. 2) 연구군에서 성장하고 있는 폐암 조직을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

3) 혈청내의 HER2/neu 유전자의 정량치

정상 대조군에서나 연구군 마우스 혈청에서 인위적으로 주입한 폐암 세포주에 의한 정위적 폐암이 만들어진 이후에도 HER2/neu 유전자의 증폭은 전혀 반응을 나타내지 못하였다. 폐암 발생이 인위적이어서 증폭이 안 나타났을 수도 있지만 폐암의 병기가 진행되지 못하여 증폭이 안 될 수도 있으며 폐암 조직 내에서 암세포 파괴가 거의 없는 상태로서 증폭이 감지되지 않을 수도 있겠다(Table 2).

4) 혈청내의 TGF-β₁의 정량치

대조군의 TGF-β₁의 정량치는 28,490±8,549 pg/mL이었고 폐암 세포 주입군은 42,362±14,449 pg/mL로 유의하게 높았다(p<0.483). 실험군의 TGF-β₁는 대조군에 비해 1.48배나 높게 나타났다(Table 2).

Table 2. Quantitative values of HER2/neu and TGF-β₁ in the plasma of nude mice

	Control group	Experimental group
HER2/neu (ng/mL)	1.00±0.002	1.00±0.003
TGF-β ₁ (pg/mL)	28,490±8,549	42,362±14,449

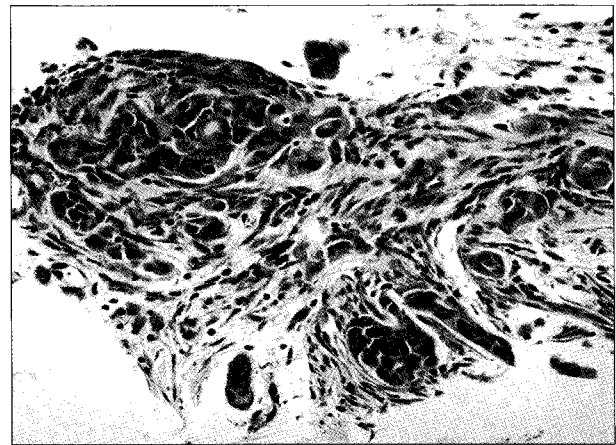


Fig. 3. Microscopic features of the experimental group mouse lung. H/E stain of the paraffin-embedded sections. The tumor mass and cancer cells was seen in mice lung tissue (×200, H&E stain).

5) HER2/neu 유전자 TGF-β₁과의 상관관계

HER2/neu 유전자와 TGF-β₁과의 상관관계를 Pearson 상관 분석한 결과 상관계수 0.053, 유의확률 0.933으로 유의한 상관관계가 없는 것으로 나타났다.

고 찰

임상과 기초분야에서부터 치료 영역까지 중요치 않은 곳은 없지만, 어느 정도 이상의 진행된 악성 종양은 완치가 거의 불가능하므로, 암의 조기 진단을 통한 조기 치료가 암 치료의 최우선이라 할 수 있다[16]. 따라서, 암의 조기 진단 방법의 개발이 절실하다.

암 조기 진단을 위한 분자생물학적 진단 방법에 대한 연구는[9,10,16] 다양하게 이루어지고 있으며, 폐암에서는 암 발생 전기 상태의 기관 상피조직의 분자 생물학적 변화 및 유전자 변화에 대한 연구도 활발히 이루어지고 있으나 암의 발생 기전에 직접적이고 확실한 요소는 밝혀져 있지 않다.

여러 가지 항암 요법제의 치료 효과 판별[10,15], 암 발생 원인의 규명을 위한 연구를 포함한 암 관련 연구에서는 각종 암에 특이적이고 효과적인 동물 모델이 필요하다 [13,18,19]. 폐암의 동물 모델은 1987년 McLemore 등[19]에 의해서 폐암 세포주를 동소에 주입하는 방법을 처음 고안하여 발표한 이후 여러 가지 방법들이 연구되어 왔으나 아직도 종양형성에 대한 기법과 적절한 동물모형에 대한 연구가 부족한 실정에 있다.

폐암에서는 수많은 유전적 변화가 관찰되고, 이러한 유전자 변이 및 발현 차이들이 폐암 발생과 관련 있다는 보고들이 많다. 그러나 각각의 유전자 변화가 폐암의 발생에 얼마나 기여하는지에 대해서는 자세히 알려지지 않았으나 현재 여러 유전자의 유전적 변화(genetic alterations)들의 상호 작용을 통한 다단계의 생물학적 단계(multistep process)들을 통해 암이 발생한다고 생각되고 있으며[3], 앞으로 폐암 발생에 관한 유전자 변이에 대한 연구는 지속되어야 할 것이다[10,11].

폐암 형성에 주된 역할을 하는 유전자에는 원형암 유전자(proto-oncogene)와 종양억제 유전자(tumor suppressor gene)가 있다. 원형암 유전자는 세포의 성장과 분화를 조절하는 세포 신호 전달 기전의 중요한 역할을 하는 단백질을 내제(encoding)하는 유전자로 k-ras, myc gene 등이 알려져 있다. 이 유전자의 이상 발현은 세포의 이상 증식에 관여하여 암 발생에 기여하게 되며, 선암(lung adenocarcinoma)에서는 악성 예후와 연관성이 있다고 알려져 있다. 암 억제 유전자는 세포 증식을 조절하는 기능을 하고 있는데 이 유전자의 소실, 변이 등이 일어나 기능을 잃게 되면 세포 증식을 조절 할 수 없어 폐암이 발생된다고 알려져 있으며, Rb, p53, p16, 3p21 등이 폐암에서 알려져 있다 [20].

저자는 편평 세포암의 악성 폐암 세포 주를 배양하여 누드 마우스의 흉강 내에 주입하는 방법으로 정위적 폐암 동물 모델을 만들었고, 종양형성의 성공 유무를 조직학적 확인을 하였으며 인위적이지만 폐암과 관련 있는 분자 생물학적인 변화를 감지하기 위하여 원형암 유전자인 HER2/neu[16]와 암 억제유전자인 TGF- β_1 [21]의 혈청 내 발현 변화를 알아 보았다.

김수현 등[22]은 이식 성공률을 높이기 위해 세포수를 증가시키는 방법으로 이식 절편의 크기를 크게 하여 좋은 성적을 얻은 바 있었다. 저자의 경우에도 폐암 세포수를 다른 연구자들보다 더 많은 세포수를 주입 하여 이식 성공률을 확실히 올리기 위해 이 방법을 채택 하였다. 김창

수 등[23]은 종양 백신의 효과적인 면역 반응을 유발시키기 위해서는 3가지 조건을 지적하였다. 암 발현, 사이토카인의 발현, MHC와 B7의 발현 증가가 필요하며 그 중에서 가장 중요한 요소는 CTL (cytolytic T lymphocytes)을 자극할 수 있는 종양 항원의 발현성이라고 지적하고 있다. 즉, 단순한 암 세포의 주입만으로 암종의 발생은 이루어지지 않으며, 주입한 암 세포 주에서 종양 항원을 풍부하게 보유하고 있는 stem cell이 얼마나 많이 있느냐가 암 발생의 관건이고 이것이 폐암의 전이와도 밀접한 연관이 있다고 생각된다[24].

HER2/neu는 난소암 뿐 만 아니라 다른 종류의 종양에서도 발현되는 것으로 밝혀져 있으며 병기 및 치료 영역에서도 연구가 진행 되고 있는 중이나 앞으로 명확하게 더 많은 의문들이 연구되어 밝혀져야 할 부분이 있다. 인체의 epidermal growth factor receptor (EGFR) family는 4개의 막 결합 단백질로 구성되며 이들은 tyrosine kinase에 의하여 활성을 가지게 된다. 이들 4가지의 단백질들은 각각 EGFR, HER2, HER3와 HER4로 명명된다. 이들 4개의 수용기들은 정상 상피조직, 결합조직 및 신경조직에 출현되며, 몇몇 종양 환자에서 과 생산 된다. HER2/neu 종양유전자는 4개의 EGFR 수용기들 중의 하나로 17번 염색체의 장완 21 지역에 위치하고 있으며 185 KDa의 Transmembrane Phosphoglycoprotein을 만든다.

HER2/neu는 다양한 종양에서 증폭되는 것이 관찰 되었는데, Menard 등[25]의 보고서에 의하면 189명의 원발성 유방암 환자의 30%에서 이 유전자의 증폭되는 것을 처음 보고 하였으며, 일반적으로 HER2/neu는 유방암 환자의 경과 추적 및 치료에 지대한 관심의 대상이 되어 왔다. 다른 여러 연구자들에 의해 유방암 환자에서 HER2/neu 유전자의 증폭이 보고되었고 이러한 경우 예후가 좋지 않았다고 발표하고 있다. 그러나, HER2/neu 유전자의 증폭이 있는 경우 HER2/neu 단백질의 증가가 반드시 HER2/neu 유전자의 증폭을 동반 하지는 않았다.

임상적으로 이미 많은 연구에서 폐암 조직절편에서의 HER2/neu 유전자의 확인 검사가 다양한 방법에 의해 이루어져 왔으며, 현재 HER2/neu는 유전자 단계가 아닌 단백질 단계에서의 측정 및 임상적 해석을 위해 많은 연구가 진행 되고 있다. 이 연구에서는 HER2/neu 유전자의 증폭과 과생산에 의해 만들어진 단백질 산물인 HER2/neu 단백질이 조직에서 혈액으로 유입되고 이 유입된 HER2/neu 유전자 단백질의 양을 측정해 보았다.

하지만 HER2/neu 유전자의 증폭은 전혀 반응을 나타내

지 못하였다. 그 이유로는 일반적으로 인체에서 발생하는 폐암의 경우와 동물 모델에서의 발현 차이 때문이라고 볼 수도 있다. 즉, 인체 폐암에서는 이미 상당히 커진 종양으로 유전적 병변이 나타날 수 있는 환경이 필요 충분한데 비하여 인위적 폐암 세포주 주입에 의한 것은 암 세포의 자멸사나 괴사 같은 환경이 나타나지 않을 수도 있다. 인위적인 폐암은 악성도가 높다고 하나 이미 상당 기간의 고대 배양으로 인한 독성이 감소된 상태 일수도 있으며, 면역력이 없는 athymic nude mouse 일지라도 이종인 사람의 암세포에 대한 모종의 생리적 현상이 나타날 수도 있는 것 같다. 또한, 혈청 내에서의 유전자 발현 변화를 알아보았으므로 종양내의 변화가 혈청에 영향을 미치지 못했을 가능성도 배제할 수 없다. 또한 Cloven 등[24]에 의하면 1,420명의 난소암 환자 조직에서 면역 조직 화학법으로 측정된 결과, HER2의 양성율은 16%였고, 경계성 난소암에서 HER2의 증폭 내지는 과 생산 되는 정도는 10~66%였다. 이를 근거로 저자가 실험에 사용한 폐암 세포주가 원래 음성에 속하는 경우이라면 HER2/neu가 검출이 안 되는 것은 자연적인 것으로 볼 수가 있는 것이다.

세포의 형질전환을 촉진하는 Transforming Growth Factor- β (TGF- β)는 정상세포와 조직에서 분비하는 분자량 25,000의 Homodimer로 뼈, 혈소판, 심장, 간, 신장 등에 많이 들어 있는 증식 인자로 알려져 있다[24]. TGF- β 는 세 가지 아형들이 알려져 있으며, 체외(vitro)에서는 대부분의 세포에서 거의 동일한 반응을 보인다고 알려져 있다. TGF- β_1 은 대표적인 다기능성장인자로 잘 알려져 있으며 특히 세포의 증식 및 분화의 조절이나 세포외 기질의 합성에 중요한 역할을 한다[24]. 또한, 정상 세포와 초기 암 세포에서는 세포 분열을 조절하는 종양 억제 기전을 가진다. TGF- β_1 의 발현이 실험군에서 대조군에 비해 약 1.48배나 증가 하였다는 사실은 종양 세포의 주입이 실험동물의 신체 내에서 암세포의 증식을 억제 작용하는 TGF- β_1 이 생산 되었다는 것을 의미한다.

결 론

본 연구에서는 폐암 세포주(SW900 G IV)를 누드 마우스의 흉강 내에 주입하여 정위성 폐암의 동물 모델을 만들 수 있었다.

암 발생 유전자인 HER2/neu는 실험 기간 8주 동안 전혀 증폭이 나타나지 않았다.

TGF- β_1 유전자는 대조군에 비하여 1.48배 정도의 증폭

이 발현되었다. 이러한 현상은 HER2/neu 유전자는 폐암이 더욱 진행된 상태라야 발현이 시작되는 것으로 추정된다.

TGF- β_1 의 증폭은 누드 마우스에서 발암에 의해 생체 치유 억제기전이 작동하여 발현 증가한 것으로 추정된다. 따라서, 인체의 조기 폐암의 발견에 역할을 가능케 하는 정량 검사법으로 이용할 가능성이 있을 것이다. 폐암 조기 진단을 위한 Biomarker로써 TGF- β_1 생체 인자로 사용하기 위해서는 향후 폐암에서의 TGF- β_1 을 암발현 기전에 대한 분자 생물학적 실험 및 대단위의 환자를 대상으로 한 전향적 임상 시험이 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Jemal A, Murray T, Ward E. Cancer statistics. CA Cancer J Clin 2005;55:10-30.
2. 통계청. 2006년 사망원인 통계결과.
3. Tsubori M, Ohira T, Saji H. The present status of postoperative adjuvant chemotherapy for completely resected non-small cell lung cancer. Ann Thorac Cardiovasc Surg 2007;13:73-7.
4. Gail MH, Eagan RT, Feld R. Prognostic factors in patients with resected stage I non-small lung cancer_a report from the lung cancer study group. Cancer 1984;54:1802-13.
5. Martini N. Surgical treatment of non-small cell lung cancer by stage. Semin Surg Oncol 1990;6:248-54.
6. Thomas P, Rubinstein L. Cancer recurrence after resection: T1 N0 non-small cell lung cancer. Lung Cancer Study Group. Ann Thorac Surg 1990;49:242-7.
7. Pastrino U, McCormack PM, Ginsberg RJ. A new staging proposal for pulmonary metastasis: the results of analysis of 5,206 cases of resected pulmonary metastasis. Chest Surg Clin N Am 1998;8:197-202.
8. Jang TW, Jung MH. Clinical features of the lung cancer patients who were seen in Kosin University Gospel Hospital from 1994-1998. J Lung Cancer 2008;7:81-5.
9. Dorreen MS. Role of biological markers and probes in lung carcinomas. Clin Res Physiol 1986;22:137-46.
10. Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomized clinical trials. BMJ 1995;311:899-90.
11. Pignon JP, Tribodet H, Scagliottic GV. A pooled analysis by the LACE Collaborative Group. J Clin Oncol 2008;20:3552-9.
12. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast 1889. Cancer Metastasis Rev 1989;8:98-101.
13. Cui ZY, Ahn JS, Lee JY. Mouse orthotopic lung cancer model induced by PC14PE6. Cancer Res Treat 2006;38:234-9.
14. Lee MH, Back SU, Kim JJ, Hur KB. Subrenal capsule

- assay (SRCA) for chemosensitivity of anti-cancer drugs with human gastric cancer cell line. *J Korean Surg* 1989;39:313-23.
15. Rosell R, Abad-E Steve A, Mareno I. A randomized trial of two vindesine plus cisplatin-containing regimens with the addition of mitomycin or ifosfamide in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer* 1990;65:1692-700.
 16. Yoo JY, Shim BY, Kang SJ. The prognostic and predictive value of EGFR and HER-2 in advanced non-small lung cancer patients who are treated with cisplatin and paclitaxel. *J Lung Cancer* 2009;8:13-20.
 17. Kim TY, Kim SM. The study of EGFR and HER-2 and epidermal growth factor receptor levels in cancer tissue of bronchogenic carcinoma patients. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;30:834-61.
 18. Wang X, Fu X, Hoffman RM. A patient-like metastasis model of human lung adenocarcinoma constructed via thoracotomy in nude mice. *Anticancer Res* 1992;12:1399-401.
 19. McLemore TL, Liu MC, Blacker PC. Novel intrapulmonary model for orthotopic propagation of human lung cancers in athymic nude mice. *Cancer Res* 1987;47:5132-40.
 20. Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 1993;9:138-41.
 21. Kwak JH, Woo JS, Shin K. Expression and regulation of latent TGF- β binding protein-1 transcripts and their splice variants in human glomerular endothelial cells. *J Korean Med Sci* 2005;20:628-35.
 22. Kim SH, Kim JI, Lee HY. Human lung cancer cell xenograft implanted under the capsule of kidney, spleen and liver. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;36:711-20.
 23. Kim CS, Cho SR, Lee HY. Analysis of 5-aza-2'-deoxycytidine-induced gene expression in lung cancer cell lines. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;37:967-77.
 24. Cloven NG, Kyshtoobayeva A, Burger RA. In vitro chemoresistance and biomarker profiles are unique for histologic subtypes of epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2004;92:160-6.
 25. Menard S, Tagliabue E, Campiglio M. Role of Her2 gene overexpression in breast carcinoma. *J Cell Physiol* 2000;182:150-62.

=국문 초록=

배경: 종양의 종류에 따라 발현되는 종양 항원의 종류도 다양하며 그 발현률의 차이는 더욱 다양하다. 이와 같은 이유로 폐암의 치료연구를 위해서는 인체를 대신할 만한 동물 모형이 절대 필요하다. 저자는 편평상피세포암의 세포주를 배양하여 Nude mice의 흉강 내에 주입하는 방법으로 종양형성을 시도하여 종양형성의 성공 유무와 조직학적 변화와 함께 폐암과 관련 있는 EGFR (epidermal growth factor receptor)의 수용기 중 하나인 HER2/neu 종양 유전자와 세포 성장 억제 작용과 악성화 과정에서의 저항성으로 작용하는 TGF- β_1 을 각각 정량 하도록 하여 인공적인 동소 폐암의 경우 암유전자의 발현에 관하여 조사해보고자 하였다. **대상 및 방법:** 면역성이 없는 20마리의 수컷생쥐(Male BALB/c nude mice)로 5마리를 대조군으로 하였으며, 나머지 15마리는 실험군으로 하고 체중은 20~25 gm (Orient, Japan)의 범위에 있었다. HER2/neu는 채혈하여 보관된 혈액의 혈청을 분리하여 CLIA (chemiluminiscent immunoassay) 법으로 정량적으로 측정 하였으며 TGF- β_1 은 immunosandwich법을 이용하여 정량 분석하였다. 통계학적 분석을 위하여 SPSS통계(SPSS Version10.0, USA)프로그램을 이용 하였으며 Student T test를 하였으며 p값이 0.05 미만인 경우를 유의성이 있는 것으로 간주하였다. **결과:** 정상 대조군에서나 인위적으로 주입한 폐암 세포주에 의한 폐암이 만들어 진 이후에도 HER2/neu 유전자의 증폭은 전혀 반응을 나타내지 못하였다. 하지만 TGF- β_1 대조군의 정량치는 $28,490 \pm 8,549$ pg/mL이었고 폐암 세포 주입군은 $42,362 \pm 14,449$ pg/mL로 유의하게 1.48배 높게 나왔다($p < 0.483$). HER2/neu 유전자와 TGF- β_1 은 유의한 상관관계가 없는 것으로 나타났다. **결론:** TGF- β_1 유전자는 대조군에 비하여 1.48배 정도의 증폭이 발현 되었다. TGF- β_1 의 증폭은 Nude mice에서 발암에 의한 생체 치유 억제 기전이 확실히 작동하고 있다는 것을 의미 하며, 인체의 조기 폐암의 발견에 역할을 가능케 하는 정량 검사법으로 이용할 수도 있을 것이다.

- 중심 단어 :** 1. 비소세포암
2. 누드마우스
3. 종양인자