

난소 암 종에서 c-IAP2 유전자의 발현 분석

계명대학교 의과대학 산부인과학 교실, 미생물학 교실*, 병리학 교실†,
삼양 제넥스 연구소 유전자 치료그룹‡
조치흠·차순도·백원기*·권건영†·배인수‡

=ABSTRACT=

Expression Analysis of c-IAP2 in Ovarian Carcinomas

Chi Heum Cho, M.D., Soon Do Cha, M.D., Won-Ki Baek, M.D.*,
Kun Young Kwon, M.D.†, In Soo Bae, PhD‡
Department of Obstetrics and Gynecology, Microbiology*, Pathology†,
Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea,
Gene Therapy Group, Research Institution of Samyang genex Co. Taqun, Korea‡

Objective : Apoptosis or programmed cell death is a normally physiological cell suicide program that is highly conserved among all animals. We previously evaluated overexpression of c-IAP1(Inhibitor of Apoptosis Protein) in ovarian carcinomas compared with normal ovaries. In this study, we demonstrate evidence for the involvement of c-IAP2 in ovarian carcinomas.

Methods : Fresh 9 normal ovaries, 5 benign ovarian cysts and 13 ovarian carcinomas were obtained from routine gynecologic surgeries carried out for benign and malignant ovarian tumors. They were examined for the presence of c-IAP2 by RT-PCR(Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction), Western blot analysis and immunohistochemical stains.

Results : Nine of 14 normal and benign ovarian tumors were negative and 11 of 13 ovarian carcinomas were positive for c-IAP2 by RT-PCR. Positive RT-PCR for c-IAP2 was seen in 11/13 of ovarian carcinomas, a significantly higher percentage than in normal and benign ovarian tumors(5/14). All of these tumors showed strong positive for c-IAP2 by western blot and immunohistochemical staining. Whereas negative RT-PCR for c-IAP2 was seen in 9/14 of normal and benign ovarian tumors, a significantly higher percentage than ovarian carcinomas(2/13). Of these 9 negative samples, 6 had positive Western blot and immunohistochemical stains. There was weak concordance of the result. But expression of c-IAP2 in normal ovarian tissue was localized exclusively in the corpus luteum. Therefore, c-IAP2 may play important role in determining the fate of the follicular destiny. There was no expression in normal ovarian stroma cells for c-IAP2.

Conclusions : These findings suggest that c-IAP2 is expressed in ovarian carcinomas and emerging role in cancer. The c-IAP2 expression has been investigated in the normal ovary, where apoptosis is thought to play an important role in ovulation.

Key Words : c-IAP2, Ovarian carcinoma

서 론

난소암은 여성 생식기 암 중에서 생존율이 가장 낮은 암종의 하나이다. 빈도는 우리 나라의 경우에는

자궁경부암 다음으로 많으며¹, 미국에서는 1997년에 27,000명의 새로운 환자가 발견 되었으며, 14,000명이 이 질병으로 사망하여 여성 암 사망의 4번째이고, 부인암 중에서 가장 높은 사망률을 차지하였다.² 이러

접수일 : 2000. 11. 6.

주관책임자 : 조치흠

* 본 연구는 1999년도 동산의료원 특수과제 연구비로 이루어졌음.

한 이유는 난소 암은 조기 발견을 위한 진단법이 개발되어 있지 않고, 또한 초기에는 증상이 없으므로 대부분의 환자들은 병이 진행된 3-4기에 발견하기에 낮은 생존율을 보이고 있다. 예로써 초기에 생존율은 83.5%에 반해 3-4기가 되면 생존율이 14-30%로 급격히 감소하게 된다.³ 난소 암의 원인 규명을 위한 많은 노력에도 불구하고 지금까지는 확실한 원인 규명을 하지 못한 상태이고, 또한 치료나 수술기법의 발달에도 불구하고 생존율을 높이는 데는 실패하였다. 모든 종류의 암화 과정에 있어서 많은 인자들이 복잡하게 관여되고 있으며 이것은 촉진 또는 억제 인자의 많은 변화가 동반된다고 하겠다.

현재까지 사람의 유전자는 분자생물학의 발달과 human genome project 등의 노력으로 천여종의 유전자가 밝혀져 있지만 유전자 각각의 기능적, 생물학적 역할에 대해서는 아직 정확히 밝혀져 있지 않다. 본 연구자는 이전에 발표한 cDNA microarray를 이용한 유전자 분석에서 난소 암 중에서 c-IAP1의 유의한 증가를 관찰하여, RNA와 단백질 수준에서 검증을 하였었다.⁴ 이와 유사하게 c-IAP2는 apoptosis inhibitor로 intracellular death signal의 전파를 방해하는 유전자로 c-IAP1과 같이 TRAF2(TNFR-associated factor)와 복합체를 형성하여 TNF(Tumor Necrosis Factor)에 의한 NF- κ B를 활성화시켜 세포사멸을 방해하는 기전으로 작용한다.⁵ 그러므로 난소 암 중에서도 이러한 세포 사멸 기전의 방해에 의해서 발생되는지를 알아보고자 이 연구를 계획하였다.

연구 대상 및 방법

1) 연구 대상

난소암 조직은 난소암 환자의 수술시 신선한 조직을 얻어 RNA를 분리한 후 실험 때까지 -70°C에 보관하여 두고, 정상 난소 조직은 양성 부인과 질환으로 전자궁 적출 및 난소제거술시 난소 조직을 얻어, 같은 방법으로 보관 후 동시에 실험하여 비교하였다.

난소 암 조직 13예, 정상 난소 조직 9예, 양성 난소 낭종 5예를 대상으로 RNA와 단백질 및 조직학적 분석을 시행하였다.

2) 연구 방법

a) RT-PCR

배양된 세포를 PBS로 세척하고 5×10^6 cell당 RNazol B 1ml을 넣고 mix하고 chloroform을 첨가한 후 원심 과정을 거치고 상층액으로 ethanol을 사용하여 RNA를 precipitation한다. 분리된 RNA를 DEPC-water로 녹

인 후 DNAase I을 처리하여 DNA를 제거하고 spectrophotometer로 정량한다.

cDNA합성은 분리된 RNA 2 μ g을 oligo dT(16mer)를 사용하여 40 μ l 용량으로 역전사(reverse transcription)를 시행한다. 반응혼합액의 조성은 RNA 2 μ g, 5mM MgCl₂, 50mM KCl, 10mM Tris-HCl(pH 8.3), 1mM dATP, 1mM dTTP, 1mM dCTP, 1mM dGTP, 1 U/ μ l RNase inhibitor (Perkin-Elmer), 2.5 U/ μ l MuLV reverse transcriptase(Perkin-Elmer), 2.5 μ M oligo d(T)₁₆로, 반응 조건은 42°C 1시간, 99°C 5분, 5°C 5분으로 한다. 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 (5'-CCGGAAGAATAGAATGGCAG-3') 및 antisense primer (5'-ACAGCTTCAGCTTCTTGACAG-3')를 각각 1 μ l를 넣은 mixture에 1 μ l의 반응시킨 cDNA reaction mixture와 2.5 unit의 Taq polymerase(Perkin Elmer)를 넣은 후 증류수로 50 μ l로 용량을 맞추고 30 μ l의 mineral oil을 증충한 후 DNA thermal cycler(Perkin Elmer)를 사용하여 PCR을 시행한다. 증폭된 PCR 산물 10 μ l를 1% agarose gel에 전기 영동한 후 관찰한다.

b) Western blot 분석

조직에서 c-IAP2의 단백 발현을 조사하기 위해 조직에 Lysis Buffer(10mM Tris-Cl(pH 7.4), 5 mM EDTA (pH 8.0), 130mM NaCl, 1% TritonX-100), 0.2 M phenyl-methyl sulfonyl fluoride 및 proteinase 억제 혼합액을 넣고 얼음에서 30분간 반응시킨 후 원심 분리하여 상층액을 취하였으며, 단백질 정량키트(Biorad 제품)를 이용하여 단백질을 정량하였다. 얻어진 단백질 분획을 SDS-PAGE 전기 영동하고 nitrocellulose paper(Millipore 제품, Immobilon)로 전기 이동을 시행하였다. 전기 이동된 membrane을 Blotto용액(5% 전지분유가 함유된 TBS-T buffer)에 넣어 냉장실에서 하룻밤 흔들었다. Blotto 용액을 제거하고 1차 항체용액에 2시간 두고 TBS-T buffer로 씻은 다음, 실온에서 이차항체용액에 1시간 두었다. 이를 다시 TBS-T buffer로 세척한 후, ECL(Amersham 제품)로 발광시키고 autoradiography를 실시하여 판독 하였다. 1차 항체는 미국 Santa Cruse사의 anti c-IAP2항체를 사용하였다.

c) 면역 조직 화학적 분석

조직에서 c-IAP2 단백질의 증명을 위해 4 μ m 두께의 파라핀 절편을 유리슬라이드에 부착시키고 60°C에서 1시간동안 방치한 후 xylene과 계열알코올로 탈 파라핀 및 함수를 하였다. 내인성 peroxidase의 차단을 위해 메탄올과 30% 과산화수소수가 9:1의 비율로 섞인

용액에서 15분간 처리하고 PBS(phosphate buffered saline, pH7.2)로 수세하였다. 그 후 포르말린 고정으로 조직 내에 감추어진 항원을 노출시키기 위해 1% zinc sulfate 용액에 담구어 microwave 오븐을 이용하여 15분간 가열하였다. 실온에서 20분가량 식힌 후 30분간 normal horse serum(Vectastain Elite Kit)을 가한 후 항체인 c-IAP2 폴리클로날항체(Santa Cruz Biotechnology, Inc. USA)를 1:10으로 희석하여 2시간동안 37°C에서 반응시켰다. PBS로 수세하고 peroxidase-conjugated streptavidin(Dako, USA) 1:500을 37°C에서 15분간 반응시킨 후 PBS로 수세하고 DAB(3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride)로 10-20분간 실온에서 발색하고 Mayer's hematoxylin으로 대비 염색을 한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 염색된 조직의 판독은 광학현미경하에서 c-IAP2 단백질의 면역조직화학적 반응은 종양세포의 세포질에 갈색으로 진하게 염색된 경우에 한해서 양성반응으로 하고, 먼저 100배 시야의 저 배율에서 염색된 부분을 선택한 후 400배 시야에서 염색된 세포가 전체세포의 10% 이상인 경우 양성으로 판정하였다.

결 과

난소 암 환자의 평균 연령은 48.9세(10-73), 정상 및 양성 난소 낭종 환자의 평균 연령은 36.2세(10-52)이었다. 양성 난소 낭종 5예중 자궁 내막종 1예, 기형종 1예, 그리고 단순 낭종이 3예 이었고, 난소 암 중 13예 중 장액성 난소 종양이 6예, 점액성 난소 종양이 2예, 자궁 내막양 난소 종양이 1예, 악성 기형종이 1예, 전이성 종양이 2예, 악성 물리리안 종양이 1예이었다.(Table 1, 2)

Table 1. RT-PCR, western blot analysis, and immunohistochemical staining of c-IAP2 in the normal ovaries and benign ovarian tumors

Patient	Age (year)	Histology	Occurrence of c-IAP2		
			RNA	Western blot	Immunohistochemical stain
1	41	normal	-	-	-
2	52	normal	-	-	-
3	28	normal	-	+	+
4	32	normal	-	+	+
5	35	normal	-	+	+
6	10	normal	-	+	+
7	42	normal	+	+	+
8	52	normal	+	+	+
9	38	normal	+	+	+
10	34	endometrioma	+	+	+
11	48	cyst	+	-	+
12	35	dermoid	-	+	-
13	34	cyst	-	+	-
14	27	cyst	-	+	-

Table 2. RT-PCR, western blot analysis, and immunohistochemical staining of c-IAP2 in the malignant ovarian tumors

Patient	Age (year)	Histology	Occurrence of c-IAP2		
			RNA	Western blot	Immunohistochemical stain
1	10	immature teratoma	+	+	+
2	63	serous cystadenocarcinoma	-	+	+
3	62	serous cystadenocarcinoma	+	+	+
4	73	endometrioid carcinoma	+	+	+
5	29	metastatic carcinoma	+	-	+
6	57	serous cystadenocarcinoma	+	+	+
7	25	serous cystadenocarcinoma	+	+	+
8	55	mucinous cystadenocarcinoma	+	+	+
9	59	malignant mixed müllerian tumor	+	+	+
10	52	serous cystadenocarcinoma	+	+	+
11	40	metastatic carcinoma	+	+	+
12	54	serous cystadenocarcinoma	+	+	+
13	57	mucinous cystadenocarcinoma	-	+	+

RT-PCR 분석을 통한 c-IAP2의 발현은 정상 난소 조직 9예 중에서 6예에서 발현이 없었고, 양성 난소 5예 중 3예에서 발현이 없었으며 반대로 난소 암 중 13예 중에서 11예에서 강한 발현을 나타내었다. 단백질 수준에서의 검정을 위해 Western blot 분석을 시행하여 RT-PCR에서 양성을 보인 경우에는 모두가 양성을 보였으나, 음성을 보인 경우에도 양성을 보인 경우는 정상 난소 조직에서 6예 중 4예, 양성 난소 종양 3예 중 2예에서 나타났고, 난소 암 중에서는 전 예에서 양성을 보였다.(Fig. 1) 이러한 불 일치율을 검정하기 위해 면역 조직 화학적 염색을 시행하여 조직에서의 위치와 발현을 분석하였고, 결과로 양성 난소 조직에서 양성을 보인 경우는 배란이 일어나거나, 배란 후에 생긴 황체에 국한되어 양성으로 염색되었으나, 정상 난소 조직에서는 음성으로 나타났다.(Fig. 2) 양성 난소 종양에서 양성을 보인 경우는 자궁 내막종과 단순 낭종의 1예에서 발현이 나타났다. 그러나 난소 암 중에서는 면역 조직 화학적 염색에서 전 예에서 양성을 보였다. 흥미로운 것은 2예의 같은 환자에서 시행한 정상 난소 조직과 난소 암과의 비교에서 정상에서는 c-IAP2의 발현이 없었고, 난소 암에서는 강한 발현을 나타내었다.

-난소 암 중에서 c-IAP2 유전자의 발현 분석-

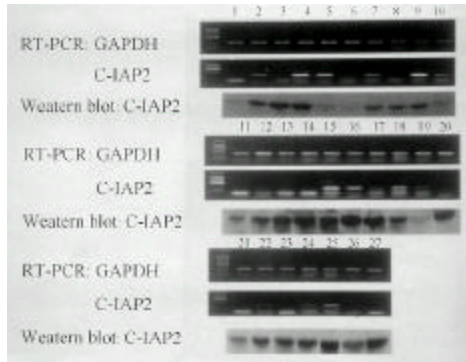


Fig. 1. RT-PCR and western blot analysis of c-IAP2 and GAPDH mRNA expression in ovarian carcinomas and benign ovarian tissues. Lane 1,6,11-19,21,23,27: benign ovarian tissues, lane 2-5,7-10,20,22,24-26: ovarian carcinomas

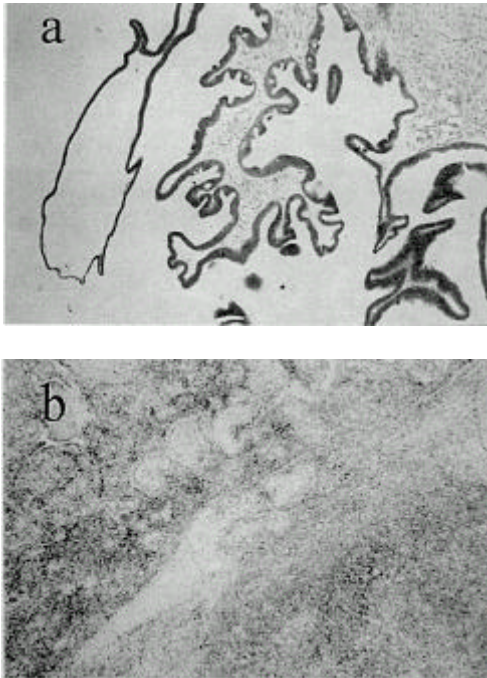


Fig. 2. a. Ovarian cystadenocarcinoma. Many tumor cells show strong positive cytoplasm for c-IAP2 protein(X100).
b. Normal ovary. The stromal cells show negative for c-IAP2 protein(X100).

고 찰

세포사멸 기전은 동물 발달과정에서 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 또한 세포사멸 기전의 이상

으로 많은 다른 질병이 발생한다. 예로써 세포사가 비정상적으로 과다할 때 면역결핍성 질환, 퇴행성 신경질환, 그리고 허혈성 심질환등이 발생하고 반면에 세포사가 되지 않을 때 암이나 자가면역성 질환이 발생한다.⁶ 그러므로 이러한 세포 사멸 기전의 이상은 암이나 면역 질환 등을 야기 시키고, 이 세포 사멸기전에 관여하는 단백질은 질환의 치료와 발생에 대한 연구에 큰 도움을 줄 수 있다 하겠다. 저자들은 이전 연구에서 c-IAP1이 난소 암과 연관이 있다는 것을 cDNA microarray를 통해 관찰하였고, RT-PCR 및 면역화학적 염색을 통해 확인을 하였다.⁴ 이와 관련하여 c-IAP1과 같이 c-IAP2는 복합체를 형성하여 세포 사멸의 신호 전달에 관여하여 세포 사멸을 방해하는 기전으로 작동한다고 알려져 있다. 그러나 난소 암과의 관계에 대해서는 연구가 드물고, 또한 난소 암에는 적절한 조기 발견 인자가 없기에 가능성을 보기 위해 이 실험을 계획하였다.

난소 암과 정상 난소조직이나 양성 난소 낭종에서 RNA수준에서의 검증에서 난소 암에서는 13예 중에서 11예에서 발현이 있어 84.6%에서 양성 발현을 보였으며, 양성 조직에서는 14예 중에서 9예에서 음성 발현으로 64.3%를 보였다. 흥미로운 것은 2명의 동일 환자에서 발생한 난소 암 조직과 정상 난소 조직의 비교에서 난소 암에서는 강한 발현이 있었으나, 정상에서는 발현을 나타내지 않았다.(Fig. 1 : lane 1 and 2, lane 21 and 22) 이것으로 보아 악성 난소 암과 c-IAP2는 밀접한 관계가 있다는 것을 알 수 있었고, 그러나 정상 조직에서도 발현이 있는 불일치율을 검정하기 위해 단백질 및 조직에서의 발현을 비교 분석 하였다.

단백질의 발현 분석을 위한 western blot에서는 RT-PCR에서 양성을 보인 경우 모두에서 강한 양성을 보였으나, 음성을 보인 양성 종양에서도 발현을 보였다(6,9). 이것은 다른 실험에서도 보인 것 같이, mRNA와 단백질의 불일치율은 IAP 유전자가 후전사사자(posttranscriptional) 조절의 차이에 의해서이고, 이것은 단백질로의 변환율의 차이나 유전 정보의 번역 기전의 차이 때문이라 말하고 있다.⁷ 저자들의 경우도 이와 비슷한 불 일치율을 보여 조직에서의 변화를 확인하기 위해 면역 조직화학 염색을 통해 분석하였다.

조직에서는 모든 악성 난소 종양에서 양성 반응을 보였으며, 정상 난소에서는 배란과 관계있는 난포나 황체에 양성 반응을 보이나 정상 난소 기질 조직에서는 음성을 보였다.(Fig. 2) IAP의 발현이 난소에서 연구되어 졌는데, 이것은 세포사가 배란에 중요한 역할을 한다고 생각하기 때문이다. 초기 난포의 granulosa 세포에서는 광범위한 세포사로 인해 c-IAP2나 XIAP

단백이 감소 되어 있고, gonadotropin 투여로 c-IAP2나 XIAP 단백질이 증가하고, granulosa 세포에서는 세포사가 감소되며, 배란기로 접어들게 된다. 그러므로 이 IAP들은 granulosa 세포와 난포의 운명에 중요한 역할을 한다고 생각하고 있다.⁸ 그러므로 저자들의 결과와 같이 정상 난소 조직에서 c-IAP2의 발현이 설명될 수 있다 하겠다. 이러한 관점에서 볼 때 폐경전 여성에서는 배란이 활발히 일어나므로 난소 조직에서 c-IAP2의 발현은 정상적이라 할 수 있겠다. 저자들의 경우에도 난소의 정상적인 난포 조직에서는 발현이 있으나 기질 조직에서는 발현이 없었다.

세포 사멸의 저하와 암과의 관계는 여러 가지 요인이 관계되어 있고, 이 중에 세포의 생명이 연장되고 이것이 유전자 변이를 초래하게되며, 세포 주기회로에서 check point의 지시를 따르지 않게 되며, 면역 기능에 의한 세포 독성에 저항성을 가지게되며, 약물 치료나 방사선 치료에 저항성을 지니게 되는 것이 중요한 요인이다.⁶ 인간에는 현재까지 6종류의 IAP 단백질(XIAP/hILP, cIAP1/HIAP2, cIAP2/HIAP1, NIAP, Survivin, and BRUCE) 밝혀져 있으며, 이들이 세포사멸을 방해하는 것으로 알려져 있다.^{9,10,11,12} IAP 단백질이 어떻게 세포 사멸을 방해하는지는 정확한 기전이 밝혀져 있지는 않지만, 여러 연구에서 BIR(Baculovirus IAP Repeat)과 RING domain이 관여한다고 하고¹³, 이중에 특히 BIR들이 단독으로 세포 사멸을 억제하는 것으로 보고하고 있다.¹⁴ cIAP1과 cIAP2는 BIR과 RING domain 사이에 caspase recruit domain을 가지고 있어, BIR domain 만으로도 충분하게 세포사를 억제할 수 있다고 한다.¹⁵ 그러므로 IAP들은 caspase를 직접 차단하고, caspase란 cysteine protease의 종류 중의 하나이며 세포사를 유지시키는 중요한 역할을 한다. 즉, X-IAP, cIAP1, cIAP2는 caspase 3,7,9와 결합하여 억제하는 역할을 한다.¹⁶ 지금까지 IAP중에 암과의 관계가 가장 많이 밀접한 것으로 밝혀진 것은 survivine으로 암에서는 강한 발현을 보이나 정상 조직에서는 발현을 보이지 않았다.¹⁷ 특히, neuroblastoma, 장암, 그리고 위암에서의 강한 발현은 불량한 예후를 나타내는 것으로 보고하고 있다.¹⁸ 지금까지 밝혀진 IAP와 암과의 관계를 정리해 보면 특정한 암에서 발현되는 survivine은 정상 세포에서는 발현이 되지 않으며, 세포사를 억제하는 기전은 NF- κ B 전사 인자를 통해 일어나는 것으로 알고 있다.¹⁹ c-IAP2는 survivine과는 다르게 TNF 신호 매개와 관련하여 세포사를 억제하고, 즉 NF- κ B 전사 인자를 활성화 시켜 TNF로 매개하는 세포사를 방해하는 것으로 알려져 있다.²⁰ 이것으로 보아 IAP들은 caspase 억제와 TNF와 Fas 수용체에 대한 조절 반응으로 암에 대한 역할을 하는 것

로 생각 되어진다. Tamm 등⁷은 암 세포주를 이용하여 c-IAP2의 발현을 조사하여, 난소 암에서는 발현이 없는 것으로 보고하였으나 저자들의 경우에는 발현을 관찰하여 세포주와는 다른 특성이 존재하는 것으로 생각되어진다. 그러나 지금까지 c-IAP2와 암과의 관계에 대한 연구는 미미하였고, 저자들은 조직에서 c-IAP2의 발현을 증명하였고, 이것이 암화 과정의 일부 중요한 기능을 하는 것을 알게 되었다.

이상의 결과로 보아 c-IAP2는 c-IAP1과 더불어 암화 과정에 중요한 인자로 작용하며, 특히 난소 암에서는 조기 발견 인자가 없기에 이것을 이용하여 난소 암의 조기 발견인자나 예후에 관한 유용한 지표로 사용하는데 도움이 될 것으로 사료된다.

- 참고문헌 -

1. 조치흠, 차순도, 이태성, 서영록. 최근 20년간 여성 생식기 암 발생양상의 변화. 대한 산부회지 1998;41:2113-8.
2. Parker SL, Tong T, Bolden S, et al. Cancer statistics, 1997. CA Cancer J Clin 1997; 47: 5-27.
3. Averette HE, Janicek MF, Menck HR. The national cancer data base report on ovarian cancer. Cancer 1996; 76: 1096-103.
4. 조치흠, 이태성, 차순도, 백원기, 서성일, 서민호, 박관규, 정년철, 배인수, 광정식. cDNA Microarray 기술로 동정된 난소 암 종의 c-IAP1 유전자 과 발현. 대한산부회지 1999; 42: 1556-63.
5. Wang CY, Mayo MW, Komeluk RG, Goeddel DV, Baldwin AS Jr. NF- κ B Antiapoptosis: Induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. Science 1998; 281: 1680-83.
6. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science 1995;267:1456-62.
7. Tamm I, Kornblau SM, Segall H, Krajewski S, Welsh K, Kitada S, et al. Expression and prognostic significance of IAP-family genes in human cancers and myeloid leukemias. Clin Cancer Res 2000; 6: 1796-803.
8. Li J, Kim JM, Liston P, Li M, Miyazaki T, Mackenzie AE, et al. Expression of inhibitor of apoptosis proteins(IAPs) in rat granulosa cells during ovarian follicular development and atresia. Endocrinology 1998; 139: 1321-28.
9. Rothe M, Pan MG, Henzel WJ, Ayres TM, Goeddel DV. The TNFR2-TRAF signaling complex contains two novel proteins related to baculoviral inhibitor of apoptosis proteins. Cell 1995; 83: 1243-52.
10. Liston P, Roy N, Tamai K, Lefebvre C, Baird S, ChertonHorvat G, et al. Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAIP and a related family of IAP genes. Nature 1996; 379: 349-53.
11. Hauser HP, Bardroff M, Pyrowolakis G, Jentsch S. A giant ubiquitin-conjugating enzyme related to IAP apoptosis inhibitors. J Cell Biol 1998; 141: 1415-22.
12. Tamm I, Wang Y, Sausville E, Sausville DA, Vigna N, Oltersdorf T et al. IAP-family protein Survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas(CD 95), Bax, caspase and anticancer drugs. Cancer Res 1998; 58: 5315-20.
13. Clem RJ, Miller LK. Control of programmed cell death by the baculovirus genes p35 and iap. Mol Cell Biol 1994; 14: 5212-22.
14. Hay BA, Wasserman DA, Rubin GM. Drosophila homologs of baculovirus inhibitor of apoptosis proteins function to block cell death. Cell 1995; 83: 1253-62.
15. Roy N, Devereaux QL, Takahashi R, Salvesen GS, Reed JC. The cIAP-1 and cIAP-2 proteins are direct inhibitors of specific caspases. EMB J 1997; 16: 6914-25.
16. Devereaux QL, Roy N, Stennicke HR, Van Arsdale T, Zhou Q, Srinivasula M. et al. IAPs lock apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. EMBO J 1998; 17:

-난소 암 중에서 c-IAP2 유전자의 발현 분석-

- 2215-23.
17. 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.
 18. Lu CD, Altieri DC, Tanigawa N. Expression of a novel anti-apoptosis gene, survivin, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinomas. Cancer Res 1998; 58: 1808-12.
 19. LaCasse EC, Baird S, Komeluk RG, Mackenzie AE. The inhibitors of apoptosis(IAPs) and their role in cancer. Oncogene 1998; 17: 3247-59.
 20. Chu ZL, McKinsey TA, Lie L, Gentry JJ, Malim MH, Ballard DW. Suppression of tumor necrosis factor induced cell death by inhibitor of apoptosis c-IAP2 is under NF- κ B control. Proc Natl Acad Sci 1997; 94: 10057-62.

=국문초록=

목적 : 세포사멸 기전은 동물 발달과정에서 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 저자들은 이전 연구에서 c-IAP1이 난소 암과 연관이 있다는 것을 cDNA microarray를 통해 관찰하였고, RT-PCR 및 면역화학적 염색을 통해 확인을 하였다. 이와 관련하여 c-IAP1과 같이 c-IAP2는 복합체를 형성하여 세포 사멸의 신호 전달에 관여하여 세포 사멸을 방해하는 기전으로 작동한다고 알려져 있다. 그러나 난소 암과의 관계에 대해 규명하기 위해 이 실험을 계획하였다.

연구방법 : 1998년 1월부터 1999년 12월까지 계명대학교 동산의료원 산부인과학 교실에서 수술한 환자 가운데서, 난소 암 환자 13예, 양성 난소 낭종 5예, 난소 병변 외에 요인으로 자궁적출술이나 근중제거술시에 일측 난소를 제거한 9예를 대상으로 하였다. 연구 방법은 RT-PCR, western blot과 면역 조직 화학적 염색을 시행하여 비교 분석하였다.

결과 : RT-PCR 분석을 통한 c-IAP2의 발현은 정상 난소 조직 9예 중에서 6예에서 발현이 없었고, 양성 난소 5예 중 3예에서 발현이 없었으며 반대로 난소 암 중 13예 중에서 11예에서 강한 발현을 나타내었다. 단백질 수준에서의 검정을 위해 Western blot 분석을 시행하여 RT-PCR에서 양성을 보인 경우에는 모두가 양성을 보였으나, 음성을 보인 경우에도 양성을 보인 경우는 양성 난소 조직에서 6예 중 4예, 양성 난소 종양 3예 중 2예에서 나타났고, 난소 암 중에서는 전 예에서 양성을 보였다. 이러한 불 일치율을 검정하기 위해 면역 조직 화학적 염색을 시행하여 조직에서의 위치와 발현을 분석하였고, 결과로 양성 난소 조직에서 양성을 보인 경우는 배란이 일어나거나, 배란 후에 생긴 황체에 국한되어 양성으로 염색되었으나, 정상 난소 조직에서는 음성으로 나타났다. 양성 난소 종양에서 양성을 보인 경우는 자궁 내막종과 단순 낭종의 1예에서 난포에 국한되어 발현이 나타났다. 그러나 난소 암 중에서는 면역 조직 화학적 염색에서 전 예에서 양성을 보였다.

결론 : 이상의 연구 결과로 보아 c-IAP2는 난소 암 종의 암화 과정에서 일부 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

중심단어 : 난소 암 종, c-IAP2