

Cell Biology and Cytogenetics

계명대학교 의과대학 병리학교실
이 상 숙

두경부 편평상피암(HNSCC)은 일반적으로 구강, 인두, 후두의 점막에 생기는 암으로 두경부암중 90%를 차지한다. 가장 중요한 위험 요소는 담배와 술이다. 상기도, 폐와 식도의 점막은 동시에 동일한 암유발 물질에 노출된다(field cancerization). 그래서 HNSCC환자에서 암이 동시에 혹은 순차적으로 여러 기관에서 발생할 위험이 높다. 이것이 두경부암에서 폐나 식도에 제2 원발암(secondary primary tumor, SPT)의 빈도가 높은 이유이다. 두경부암 발생에 바이러스가 대두하고 있는데 특히 최근에 RB 종양억제단백을 결여한 편도와 Waldeyer's ring에 생긴 진행된 HNSCC 환자에서 HPV 16 DNA가 보고되었다. 그밖에 비인강암과 EBV와 관련에 대한 증거가 많이 있다.

HNSCC는 생물학적 성상 및 임상 양상이 매우 다양하여 치료반응을 예측할 수 없다. HNSCC환자중 10~20%에서 국소적 종양의 공격성, 조기 재발과 SPT를 일으킨다. 진전된 HNSCC의 예후는 여전히 불량하여 30~35%의 5년 생존율을 보인다. 두경부암의 진단과 치료의 발전에도 불구하고 지난 10년간 HNSCC의 5년생존율의 개선은 거의 없었다. 단지 HNSCC의 발생과 진전(progression)에 관여하는 유전적 변화를 알아내는데 연구가 집중되었다.

HNSCC의 임상적인 전암(premalignant) 병소는 dysplasia와 carcinoma in situ를 포함한다. Hyperplasia와 atypia는 암 전구병소로서 확실하지 않다. 침윤성 HNSCC는 점막의 dysplasia의 악성도가 증가하면서 단계적으로 진행하여 생긴다(multi-step carcinogenesis). 그러나 어떤 임상적으로 분명한 전구 병소가 없이 침윤성 HNSCC는 생기는 경우도 있다. 암 전기 병소에서 발견되는 특정 유전자 변경의 빈도를 측정하고 이 자료를 침윤성 HNSCC와 비교함으로써 HNSCC 발생의 유전적 순서를 알게 될 것이다. 염색

체 9p의 LOH는 dysplasia에서 아주 높은 빈도로 생기거나 침윤성 암에서는 큰 빈도로 생기지 않아서 초기 변화로 간주된다. p53 변이와 같은 변화는 임상적으로 진전함에 따라 그 빈도가 증가 되어서 중간 또는 후기 변화로 알려져 있다. 한 개의 종양에서 생기는 이러한 변경의 순서는 매우 다양해서 HNSCC에서 보이는 아주 다양한 임상 양상을 설명할 수 있다. 이러한 전암병소의 유전적 변경이 생기는 시기를 알면 HNSCC 발생의 원인에 대한 이해를 향상시킬 뿐만 아니라 위험에 노출한 환자를 알아낼 기회를 제공하고 원발암 및 SPT의 형성을 방지할 수 있을 것이다. 상기도 점막의 모든 전암병소가 암으로 발전하는 것은 아니다. Leukoplakia 환자중 단지 5% 만이 암으로 발전하고 후두에서 dysplasia의 약 1/3이 암으로 발전하나 dysplasia가 없는 경우 9%에서 암이 발생하였다. 구강점막의 dysplasia를 가진 환자의 약 14%에서 20년에 걸쳐 침윤성 암으로 발전하였으나 chromosome ISH를 실시하면 구강 전암병소의 50% 이상에서 유전적 변경을 보였다.

일반적으로 HNSCC의 발생은 상부기도점막의 유전형(genotype)과 표현형(phenotype) 변경이 축적되어 생긴다. HNSCC 발생의 초기변화로서 EGFR과 그 ligand 인 TGF- α 의 up-regulation이 인지되었다. TGF- α 단백질은 mild dysplasia에서 증가되고 그후 dysplasia가 심해짐에 따라 EGFR 양이 증가되었다. 이와 같이 EGFR 양은 dysplasia 조직의 neoplastic potential을 예견할 수 있는 한 요소가 된다. 그밖에 HNSCC 중 특히 구강암에서 c-erbB-2가 흔히 과발현을 보인다. 이런 환자는 림프절 및 원격 전이에도 관계되어 생존율이 저하를 보여 불량한 예후인자로 보고되었다.

최근 사람의 E-cadherin gene은 HNSCC에서 성대

암을 포함한 많은 사람의 암에서 침윤과 전이 억제 유전자로 제시되고 있다. nm23 gene은 nucleoside diphosphate(NDP) kinase에 encode하는 전이억제 유전자로 제안되어 여러 종양에서 전이능과 반대의 상관관계를 보인다. 최근 연구에서 nm23는 후두암환자의 악반수에서 발현이 감소되고 이런 환자에서 생존율의 감소를 동반하였다. 후두암에서 nm23 단백질 발현이 감소되면 분화가 나쁘고 원격전이나 재발이 수반되어 예후인자로 사용할 수 있다.

Cytogenetic analysis에 의하여 현재 HNSCC에서도 염색체 이상의 자료가 축적되었다. 일반적으로 복잡한 핵형(complex karyotypes)과 11q13 band의 재배열이 보이면 불량한 예후를 보인다고 알려 졌다. 두경부암에서 염색체 3p의 소실과 그 외의 일정한(nonrandom) 염색체의 결손 및, 재배열(rearrangement)들이 확인되고 있다. 대부분의 HNSCC에서 INT-2/EGF-3, HST-1/EGF-4와 BCL-1 유전자의 동시 증폭을 보인다. HNSCC의 유전적 변경은 아주 복잡하여 50% 이상에서 9p, 3p, 11q, 13q, 17p의 LOH를 보이고 35% 이상에서 4q, 6p, 8과 19q의 LOH를 보인다. 이러한 소전은 genomic instability의 점차적 축적을 반영하는 복잡한 유전자의 결손을 나타낸다고 생각된다.

HNSCC에서 훌륭한 후보 종양 표지자로 p53과 염색체 11q13에 위치한 cyclin D1을 들 수 있다. 모든 HNSCC의 45%에서 p53 변이를 일으켜 이 경우 p53 변이를 표지자로서 사용할 수 있다. p53 mutation을 가진 종양을 대상으로 radio-labeled oligomeric probe(18-20 base)를 사용해서 stringent condition하에서 mutated sequence를 특별히 anneal 시킴으로서 p53 변이 여부를 알 수 있다. 이런 molecular probing은 후두암을 적출한 후 수술연의 일반적인 현미경 검색에서 암 세포를 발견 못한 경우에도 p53변이를 가진 아주 드문 수의 세포들을 검색할 수 있어 광학현미경보다 백 배 더 높은 예민도를 가짐이 밝혀 졌다. 그 밖에 구강의 rinsing이나 수술하기 전에 swabbing에 의해서 얻어진 탈락된 세포들에서도 변이를 가진 세포를 발견할 수 있었다. 이러한 방법으로 성공적인 치료 후에 종양재발의 감시에 유용하게 사용할 수 있다. 항암 요법이나 방사선 치료에 의하여 complete response를 보인 후에 얻은 생검조직에서 암세포 유무를 확인하기 위해서 molecular probing으로 검색할 수 있

다. HNSCC의 genetic alteration의 예후적 implication에 대한 보고가 많이 발표되었다.

HNSCC 환자의 30~65%에서 cyclin D1이 deregulate됨에 따라 cyclin D1이 과발현 또는 ectopic 발현되어 세포증식 조절의 불능을 초래하여 결과적으로 종양세포의 증식을 일으킨다. 즉 cyclin D1은 G1 phase를 통해 cell cycle로 이행이 제대로 조절이 안 되어 악성 변형 및 암세포의 증식을 일으키게 한다고 간주된다. 최근에는 cyclin D1의 발현의 deregulation이 HNSCC의 세포증식 보다는 apoptosis에 관여함이 제시되었다. HNSCC 환자에서 cyclin D1의 과발현이 하인두(hypopharynx)에 주로 관계되고(52%), 높은 율의 전이와 사망률이 동반되어 생존율의 감소와 관련됨이 알려 졌다. 11q13유전자의 증폭은 HNSCC의 가장 흔한 유전자 변화중 하나임은 공인된 사실이나 예후 표지자로서의 신빙성은 논란이 많다.

염색체 10q의 LOH가 다양한 사람의 암종에서 보고되었다. HNSCC 환자의 20%에서 10q loss가 사전에 보고되었으나 이 자리의 종양 억제 유전자의 정체는 규명되지 않았다. 최근 10q23에서 PTEN/MMAC1 유전자가 종양억제 유전자 후보로 밝혀져 뇌, 유방, 전립선 암에서의 돌연변이가 보고되었으며 HNSCC 환자의 41%에서도 LOH를 보였다. 최근에는 HNSCC에서 염색체 14q의 어느 한 부위라도 LOH가 있으면 불량한 예후와 관계됨이 알려졌다. 20 개의 polymorphic microsatellite markers의 분석으로 HNSCC의 40%에서 적어도 1 locus에 14q의 LOH를 보였다. 아마 14q의 변화는 HNSCC 후기의 병 진전에 관여할 것이라고 추정된다.

최근 HNSCC의 전이(metastasis) 유무에 따라 염색체의 변화 유형을 검색한 결과 전이한 종양에서 염색체 10q25-q26과 11p13-p14의 결손(deletion)이 매우 의미있게 발견되었다. 두경부암 환자에서 염색체 18q의 소실도 자주 발견되는 것으로 보아 다른 종양억제 유전자도 관련 있을 것이라고 추측된다.

최근 cytogenetics, allelotyping과 CGH(comparative genomic hybridization)의 발달로 HNSCC의 유전적 변화에 새로운 시야를 제공하여 종양 진전 모델을 만들기에 이르렀다. 이 모델에 따르면 CGH에 의하여 고도로 분화된 HNSCC에서 염색체 3p와 9p의 결손과 3q의 overrepresentation의 분명한 유전학적 변

경 양상을 보이거나 분화가 나쁜 종양은 위의 상기한 변화 외에도 염색체 4q, 8p, 11q, 13q, 18q,와 21q의 결손과 1pter, 11q13, 19와 22q의 overrepresentation의 부가적 변화가 있음을 보고하였다.

Telomerase는 염색체 말단에 있는 단순한 반복성 sequence로 구성된 telomere 길이를 유지하는 ribonucleoprotein이다. Telomerase 활성화는 malignant transformation에 흔히 생긴다. 최근 비인두암에서 telomerase가 흔히 활성화되어 stage 1 NPC에서 80%의 양성율을 보여 종양진전의 초기변화임을 시사하였다. NPC 생검에서 종양세포를 검색하는 진단표지자로서의 가능성이 제시되었다.

References

- 1) Renan MJ : *How many mutations are required for tumorigenesis? Implications from human cancer data.* *Mol Carcinogenesis* 1993 ; 7 : 139-146
- 2) Callender T, El-Naggar AK, Lee MS et al : *PRAD-1 (CCND1)/ Cyclin D1 oncogene amplification in primary head and neck squamous cell carcinoma.* *Cancer* 1994 ; 74 : 152-158
- 3) Boyle JO, Hakim J, Koch W et al : *The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer.* *Cancer Res* 1993 ; 53 : 4477-4480
- 4) Nawroz H, van der Riet P, Hruban R, Koch W, Sidransky D : *Allelotype of head and neck squamous cell carcinoma.* *Cancer Res* 1994 ; 54 : 1152-1155
- 5) van der Riet P, Nawroz M, Hruban RH et al : *Frequent and early loss of chromosome 9p21-22 in head and neck cancer progression.* *Cancer Res* 1994 ; 54 : 1156-1158
- 6) Brennan JA, Mao L, Hruban RH et al : *Molecular assessment of histopathologic staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck.* *New Engl J Med* 1995 ; 332 : 429-435
- 7) Boyle Jo, Mao L, Brennan JA et al : *Gene mutations in saliva as molecular markers for head and neck squamous cell carcinomas.* *Am J Surg* 1994 ; 168 : 429-432
- 8) Muller D, Millon R, Velten M et al : *Amplification of 11q13 DNA markers in head and neck squamous cell carcinomas : Correlation with clinical outcome.* *Eur J Cancer* 1997 ; 13 : 2203-2210
- 9) Fortin A, Guerry M, Guerry R et al : *Chromosome 11q13 gene amplifications in oral and oropharyngeal carcinomas : No correlation with subclinical lymph node invasion and disease recurrence.* *Clin Cancer Res* 1997 ; 3 : 1609-1610
- 10) Lee DJ, Koch WM, Yoo G et al : *Impact of chromosome 14q loss on survival in primary head and neck squamous cell carcinoma.* *Clin Cancer Res* 1997 ; 3 : 501-505
- 11) Bockmuhl U, Petersen S, Schmidt S et al : *Patterns of chromosomal alterations in metastasizing and nonmetastasizing primary head and neck carcinomas.* *Cancer Res* 1997 ; 57 : 5213-5216
- 12) Cheng RYS, Yuen PW, Nicholls JM et al : *Telomerase activation in nasopharyngeal carcinomas.* *Br J Cancer* 1998 ; 77 : 456-460
- 13) Gunduz M, Ayhan A, Gullu I et al : *nm23 protein expression in larynx cancer and the relationship with metastasis.* *Br J Cancer* 1997 ; 33 : 2338-2341
- 14) Kotelnikov VM, Coon IV JS, Mundle S et al : *Cyclin D1 expression in squamous cell carcinomas of the head and neck and in oral mucosa in relation to proliferation and apoptosis.* *Clin Cancer Res* 1997 ; 3 : 95-101
- 15) And I T, Kahn T, Pfuhl A et al : *Etiological involvement of oncogenic human papillomavirus in tonsillar squamous cell carcinomas lacking retinoblastoma cell cycle control.* *Cancer Res* 1998 ; 58 : 5-13