

두경부 편평세포암종에서 상피성장인자수용체의 발현과 세포주기에 관한 연구

김경원 · 김명진

서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract

EXPRESSION OF THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR AND CELL CYCLE ANALYSIS IN THE HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMAS

Kyoung-Won Kim, D.D.S., M.S.D., Myung-Jin Kim, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Seoul National University

Growth factors and the receptors play an important role in the regulation of the growth and development of mammalian cells. In particular, epidermal growth factor is a polypeptide with potent mitogenic activity that stimulates proliferation of various normal and neoplastic cells through the interaction with its specific receptor(EGFR). EGFR has been described as a parameter of poor prognosis in many human neoplasms such as breast, bladder, and vulvar cancers.

The objectives of this study are the evaluation of the expression of EGFR and cell cycle analysis in the head and neck squamous cell carcinomas(SCC), and the evaluation of the correlation between clinico-pathologic features and expression of EGFR and S-phase fraction. 37 head and neck squamous cell carcinoma specimens were evaluated for expression of EGFR by Western blot analysis and S-phase fraction by cell cycle analysis using the flow cytometry.

The obtained results were as follows :

1. The expressions of EGFR were observed in 20 specimens(54%) among 37 head and neck SCC specimens. In case of oral SCC, 15 specimens(56%) out of 27 specimens were observed, and in case of nasopharyngeal SCC 5 specimens(50%) out of 10 specimens.
2. There was no correlation between clinical features(location, stage) of head and neck SCC and expression of EGFR ($p>0.05$).
3. There was a significant correlation between histo-pathological differentiation of head and neck SCC and expression of EGFR ($p<0.02$).
4. There was a significant correlation between expression of EGFR and S-phase fraction of cell cycle in the head and neck SCC ($p<0.05$).

The above results suggest that expression of EGFR and S-phase fraction of cell cycle are adjunctive prognostic marker in the head and neck squamous cell carcinomas.

Key words: Head and neck squamous cell carcinoma, Epidermal growth factor receptor, S-phase fraction

I. 서 론

두경부 암종은 방광암, 유방암, 대장암, 신장암, 피부의 악성흑색종 등과 같은 다른 부위 암종들과 비교해서 5년 생존율이 매우 낮다. 또한 두경부 암종은 음식물 섭취, 언어 등 인간 사회생활의 기본 기능에 장애를 초래할 수 있으며 예후가 불량하여 발 견 후 5년 이내에 약 반수 이상의 환자가 사망하며, 생존 환자들 에게도 심미적 또는 기능적으로 심각한 문제들을 야기시킨다¹⁾. 구강 및 두경부 암종의 발생에 대한 정확한 발암기전이나 원인

등이 명확하게 밝혀진 것은 없으나, 흡연과 음주, 인유두종 바이 러스(human papillomavirus) 등과 같은 바이러스 감염, 화학적 또 는 물리적 발암인자에 지속적인 노출 등이 암종을 발생시킬 수 있다²⁾. 발암과정에서 있어서 염색체 혹은 유전자의 변성은 정밀하 게 조절되고 있는 정상세포 생리의 자극과 억제 경로를 조절하 는 기능에 혼란을 초래하며, 결국 정상세포의 성장을 촉진하는 전구종양유전자(proto-oncogene)들이 종양유전자로 변이가 일어 나거나, 종양억제유전자들의 비활성화를 볼 수 있다^{2,3)}. 이러한 두경부 암종의 발생기전에 대한 많은 연구와 발전으로 5년 생존 율이 크게 향상될 것으로 기대되었으나, 실제로는 생존율이 지 난 20여년 동안에 괄목할 만한 큰 변화가 없었으며⁴⁾, 아직도 구 강 및 두경부 암종은 인체 내 다른 부위에 비하여 예후가 좋지 않 은 암종이다. 이러한 두경부 암종 중에서 편평세포암종은 가장 흔하게 발생하며, 편평세포암종에 대한 생물학적 지식은 치료법 선택 및 나쁜 예후 등과 같은 두경부 암종의 문제를 해결하는데

김 경 원

361-711, 충북 청주시 흥덕구 개신동 62

충북대학교 의과대학 치과학교실(구강악안면외과)

Kyoung-Won Kim

Dept. of OMF, College of Medicine, Chungbuk National Univ.

62, Gaeshin-Dong, Heungdeok-Gu, Cheongju, Chungbuk, 361-711, Korea

Tel : 82-431-269-6383 Fax : 82-431-269-6387

있어서 가장 중요하다.

종양유전자(oncogene)는 전구종양유전자가 변형된 것으로 세포의 특정 신호전달 과정을 지배하고 조절한다. 점 돌연변이, 재배열, 증폭 등과 같은 전구종양유전자의 변이는 흥분성 단백질의 증산이나 기능의 변화를 초래한다. 비록 종양유전자의 변이가 단독으로 정상 구강 각화세포를 암세포로 악성형질 전환시키는 것이 가능하지는 않아도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다⁹⁾.

포유류에서 세포의 성장과 분화는 성장인자들에 의해서 조절된다⁵⁾. 성장인자는 세포의 특정한 수용체와 상호작용 하는 단백질로서, 표현형의 조절, 세포의 운동성과 세포골격구조의 변화, 세포 증식 속도의 변화 등을 포함하는 다양한 생물학적 반응을 야기한다⁶⁾. 성장인자는 구강 각화세포의 증식을 촉진시키는 데 중요한 역할을 한다. 이러한 성장인자 생산의 증가는 구강암종의 발암기전에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다⁶⁾.

상피성장인자는 세포 표면의 수용체와 결합함으로써 다양한 형태의 세포들의 증식을 유도할 수 있는 강력한 분열유발성 능력을 갖고 있는 단백질이다^{5,7,8)}. 상피성장인자수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR)는 다양한 세포의 세포막에 존재하는 분자량 170 kDa의 막투과성 당단백질이다⁸⁾. 상피성장인자수용체의 DNA 염기배열순서 분석에 의하면 이 수용체는 *v-erbB* 종양유전자의 염기배열과 높은 상동성을 가진 것으로 알려져 있다^{9,10)}. 따라서 상피성장인자수용체 유전자의 정성적 혹은 정량적으로 비정상적인 표현은 아마도 발암기전의 특정 단계와 깊은 연관성을 가질 것으로 생각된다⁷⁾. 상피성장인자수용체는 상피의 증식이 빠르게 일어나는 여러 종류의 상피세포와 상피조직에서 관찰된다⁵⁾. 상피성장인자와 세포의 세포막에 존재하는 상피성장인자수용체와의 결합은 수용체의 세포 내 domain의 tyrosine kinase를 활성화시킨다. 이와 같이 활성화된 tyrosine kinase는 downstream 기질을 인산화시킴으로써 궁극적으로는 DNA의 복제와 세포 분열을 야기시킨다^{2,5)}.

상피성장인자수용체는 종양세포의 증식 즉, 발암기전에 중요한 역할을 하는 것으로 여겨져 인체 내의 여러 부위에서 발생하는 상피성 악성종양에서 연구되어 왔다. 유방암¹¹⁻¹⁴⁾, 방광암^{5,15)}, 신세포암¹⁶⁾, 신경교에서 유래된 뇌종양¹⁷⁾, 외음부암¹⁸⁾, 후두암¹⁹⁻²²⁾, 두경부 종양^{23,24)} 등의 치료결과에 대한 예후 예측이나 재발 가능

성 등에 대한 중요한 지표로서 연구된 바가 있다.

또한 발암현상을 이해하기 위해서는 세포동력학(cytokinetics)이 중요한데, 세포내 DNA 혹은 RNA 양의 변화, 세포주기 등을 분석하는데 유세포계측기(flowcytometry)가 사용되었으며 특히 합성기 분획(S-phase fraction)은 암종의 예후에 영향을 미칠 수 있는 부가적인 생물학적 요인으로 알려지고 있다^{24,25)}.

본 연구에서는 두경부 편평세포암종에서 상피성장인자수용체의 발현과 세포주기를 분석하여, 두경부 편평세포암종의 임상병리학적 지표들과 상피성장인자수용체의 발현, 세포주기 중 합성기 분획과의 상관관계를 연구하였다. 그 결과를 토대로 하여 상피성장인자수용체의 발현과 합성기 분획이 두경부 편평세포암종의 예후를 예측하는 지표로서의 활용 가능성을 평가하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

본 연구에 사용한 연구 재료는 1996년 1월부터 1998년 12월까지 서울대학교병원 구강악안면외과와 충북대학교병원 구강악안면외과 및 이비인후과에서 두경부 편평세포암종으로 병리학적 확진된 37례를 대상으로 하였으며, 대조군으로 정상 구강점막 조직 2례를 사용하였다. 발생 부위별로 분류할 때 구강내가 27례 이며, 비후두강내가 10례 이었다. 이를 세분하면 구강내의 27례중 하악치는 4례, 상악치는 3례, 하악 후삼각부 3례, 혀부 2례, 설부 10례, 구강저 2례, 상악동 2례 이며, 비후두강의 10례 중 편도부 3례, 후두강 7례 이었다 (Table 1). 37례의 연령분포는 Table 2와 같고, 남자 31례, 여자 6례 이었다.

2. 연구 방법

암종 조직은 생검 혹은 암종의 외과적 절제술시 종양을 대표할 만한 부위에서 약 0.5cm × 0.5cm의 크기로 절제하여, 즉시 액체 질소에 넣어 급속 냉동시킨 후 -70°C 냉동고에 넣어서 동결 보관 하였다.

Table 1. Sites of the head and neck squamous cell carcinomas

	Sites	No. of cases
Oral cavity (27)	Mandible, gingiva	5
	Maxilla, gingiva	3
	Retromolar pad	3
	Buccal mucosa	2
	Tongue	10
	Mouth floor	2
	Maxillary sinus	2
Nasopharynx (10)	Tonsillar area	3
	Larynx	7
Total		37

Table 2. Age and sex of the head and neck squamous cell carcinomas

Age	No. of cases		
	Male	Female	Total(%)
31 - 40	1	0	1(3)
41 - 50	5	1	6(16)
51 - 60	10	2	12(32)
61 - 70	11	3	14(38)
71 - 80	4	0	4(11)
Total	31	6	37
(%)	(84)	(16)	(100)

1) Western blot analysis

조직 혼합액으로부터 상피성장인자수용체 단백질을 검출하기 위하여 Western blot analysis를 시행하였다. 본 실험에서는 ECL(enhanced chemiluminescence) kit (Amersham Pharmacia Biotech UK Limited, UK)를 사용하였으며, 항체는 anti-EGFR 단일 클론항체(mouse myeloma, p3-NS1-Ag4-1, Novocastra, UK)를 사용하였다. 검체를 얇게 잘라서 RIPA lysis buffer 400 μ l와 넣고서 조직을 분해시켰다. 1.5ml eppendorf tube에 분해시킨 조직을 100 $^{\circ}$ C에서 2-3분간 가열한 후 13,000xg에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 새로운 튜브에 옮겼다. 위 작업은 4 $^{\circ}$ C 얼음에서 실시하였다. Eppendorf tube에 검체를 넣고서 70 $^{\circ}$ C에서 5분간 가열한 후 얼음 위에서 1분간 냉각 한 다음 원심분리하여 가라앉힌 후 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 다음 단백질을 젤로부터 nitrocellulose지로 이전시켰다. 모든 단백질이 nitrocellulose로 이전되었는지 젤을 silver staining하여 확인하였다. 단백질을 염색하기 위하여 nitrocellulose 필터를 Ponceau S 용액에 5분간 염색한 다음 2분간 물에 넣어 탈색시켰다. Nitrocellulose상의 비특이성 결합 자리를 blocking한 다음 electroblot된 단백질을 탐색하기 위해 먼저 blocking 완충용액으로 일차항체를 1 : 1000 이상으로 희석시킨 후, 실온에서 1시간 배양하였다. 비특이적 결합 부분을 배제하기 위하여 phosphate buffered saline Tween (PBS-T)내의 5% blocking 시약 속에 실온에서 5분간 배양한 후 washing buffer(PBS-T용액)로 15분간 한 번, 5분간 두 번 세척하였다. 일차항체를 100 : 1로 희석하여 넣고, 실온에서 90분간 배양한 후 PBS-T용액을 이용하여 10분 간격으로 6회 씻어낸 다음 이차항체를 1,000 : 1로 희석하여 실온에서 90분간 배양시켰다. PBS-T용액으로 다시 10분 간격으로 6회 세척한 후 ECL kit를 이용하여 상피성장인자수용체를 검출하였다.

2) 상피성장인자수용체 발현에 대한 분석

Western blot analysis를 이용하여 얻은 상피성장인자수용체의 발현 정도를 분석하기 위하여 영상분석기기인 BIO-PROFIL(model: version 97, Vilber Lourmat, France)를 이용하여 영상분석(image analysis)을 시행하였다. 사용한 software는 BIO-GENE V96이며, 상피성장인자수용체의 상대적 발현 정도를 편의상 4단계(-=negative, \pm =trace, +=moderate, ++=marked)로 분류하였다.

3) 세포주기 분석

암종 조직 약 25mg을 약 1mm³의 크기로 잘게 자른 후 Ca²⁺와 Mg²⁺이 들어있지 않은 phosphate-buffered saline(PBS)을 넣고 혼합한 다음 600xg에서 5분간 원심분리 하였다. 상층액을 버리고 5ml의 0.5% pepsin 용액을 넣은 후에 37 $^{\circ}$ C에서 간헐적으로 혼합하면서 45분간 배양하였다. Pipetting으로 세포를 분리한 후 30 μ m의 nylon mesh를 이용하여 여과하고 원심분리하였다. 상층액을 버리고 세포피에 1ml의 PBS를 넣어서 세포를 부유시키고, 70% 냉에탄올(EtOH) 9ml를 첨가하여 분석을 시행할 때까지 4 $^{\circ}$ C에서 고정시켰다. 분석 당일 4 $^{\circ}$ C에 보관된 세포 부유액을 600xg에서 5분간 원심분리하여 세포를 회수한 후 PBS로 희석하여 세포의 농도

가 1 \times 10⁵/ml 되게 조정하였다. 여기에 최종농도가 100 μ g/ml가 되도록 RNase와 최종농도가 40 μ g/ml가 되도록 propidium iodide를 첨가한 다음 실온의 어두운 곳에서 30분간 배양한 후 유세포계측기로 세포주기를 분석하였다. 본 연구에서 사용한 유세포계측기는 FACStar plus Flowcytometry (Becton and Dickinson, Mountain View, CA, U.S.A.)였으며, 본 기기에 사용되는 Argon ion laser는 수냉식이고, 출력(output power)은 200 mV이며, 파장(wavelength)은 488 nm이었다. 검출기(detector)는 FSC(Forward Scatter), SSC(Side Scatter), FL(Fluorescent)를 이용하였으며, 분석을 위한 software는 LYSYS II와 Cell FIT를 이용하였다.

4) 임상 병리학적 지표들과의 상관관계 비교

두경부 편평세포암종 환자의 나이 및 성별, 발생 부위를 정리하고, 임상 병리학적인 암종의 크기, 임파절 전이여부, 다른 장기로의 전이여부에 대해서는 TNM system(from American Joint Committee on Cancer: Manual for Staging of Cancer, 4th ed, Philadelphia, JB Lippincott, 1992)을 이용하여 정리하였으며, 이를 기초로 하여 임상적인 기(stage)를 I - IV기(stage grouping for all head and neck sites according to UICC and AJCC)로 분류하였다. 그리고 두경부 편평세포암종의 광학현미경 소견상 세포 분화도를 3단계(well=well differentiated, mod=moderately differentiated, poor=poorly differentiated)로 분류하였다.

이러한 지표들과 상피성장인자수용체의 발현 및 합성기 분획의 상관관계를 비교하였다.

5) 통계학적 분석

상피성장인자수용체의 발현 정도를 4단계(-, \pm , +, ++)로 구분한 것을, 두경부 편평세포암종의 임상적인 지표들과의 상관관계를 분석하기 위하여 Windows용 SAS System(Release 6.12)을 이용하여 통계처리 하였다. 총 증례 수가 37례로 각각의 임상적인 지표에 대한 증례 수가 5개 보다 적은 것이 많아, 비교적 각 지표에 대한 증례 수가 적은 경우에 사용되는 Mantel-Haenszel(MH) Chi-Square test를 사용하여 통계처리 하였다.

또한 상피성장인자수용체의 발현과 세포주기 중 합성기 분획 사이의 상관관계를 분석하기 위하여 Wilcoxon Rank Sum test를 시행하여 통계처리 하였다.

III. 연구 결과

정상 구강점막 조직 2례와 구강 및 비후두강에 발생한 편평세포암종 조직 37례에서 상피성장인자수용체의 발현 여부를 Western blot analysis로 분석하였다. 37례의 검체 조직중 20례(54%)에서 분자량 170 kDa의 상피성장인자수용체의 발현을 관찰할 수 있었으며, 검체 조직의 임상 병리학적인 지표와 상피성장인자수용체의 상대적 발현 정도를 4단계로(-, \pm , +, ++)분류한 결과를 Table 3에 정리하였다.

본 연구에 이용된 두경부 편평세포암종을 발생부위에 따라 크게 구강내와 비후두강내의 암종으로 분류할 때, 구강내 편평세포

Table 3. Expression of EGFR and S-phase fraction of the cell cycle in the head and neck squamous cell carcinomas

Case	Age/Sex	Site	TNM*	Stage**	Differentiation	Expression of EGFR [‡]	S-phase fraction (%)
1	60/M	Mn gingiva	T2N1M0	III	well	-	-
2	52/M	Mn gingiva	T3N2M0	IV	well	-	18.8
3	61/M	Mn gingiva	T3N1M1	IV	mod	+	-
4	69/M	Mn gingiva	T4N2M0	IV	poor	++	65.8
5	46/M	Mn gingiva	T4N0M0	IV	well	++	-
6	58/M	Mx gingiva	T4N0M0	IV	well	-	43.7
7	59/F	Mx gingiva	T4N2M0	IV	mod	++	-
8	75/M	Mx gingiva	T2N0M0	II	poor	+	-
9	59/M	Retro pad	T4N0M0	IV	well	±	25.1
10	68/M	Retro pad	T4N2M0	IV	well	-	19.2
11	63/F	Retro pad	T2N0M0	II	mod	-	18.5
12	58/M	Bucc mucosa	T2N2M0	IV	well	+	-
13	56/M	Bucc mucosa	T2N1M0	III	well	-	16.0
14	61/M	Tongue	T1N0M0	I	well	-	-
15	66/M	Tongue	T2N0M0	II	well	++	-
16	71/M	Tongue	T1N0M0	I	well	-	6.1
17	42/F	Tongue	T2N2M0	IV	well	-	29.3
18	50/M	Tongue	T2N0M0	II	well	-	66.0
19	66/F	Tongue	T2N2M0	IV	well	-	17.8
20	68/F	Tongue	T1N0M0	I	well	+	26.4
21	60/M	Tongue	T3N2M0	IV	well	+	-
22	51/M	Tongue	T2N2M0	IV	well	+	-
23	56/F	Tongue	T2N0M0	II	poor	++	68.5
24	65/M	Mouth floor	T3N2M0	IV	mod	±	-
25	44/M	Mouth floor	T4N2M0	IV	mod	+	-
26	64/M	Mx sinus	T4N0M0	IV	mod	±	32.0
27	38/M	Mx sinus	T4N0M0	IV	mod	-	19.8
28	67/M	Tonsilar area	T3N2M0	IV	well	-	8.8
29	69/M	Tonsilar area	T2N0M0	II	mod	+	-
30	54/M	Tonsilar area	T1N0M0	I	well	++	36.4
31	44/M	Larynx	T4N2M0	IV	mod	++	9.3
32	75/M	Larynx	T3N0M0	III	mod	-	15.6
33	60/M	Larynx	T2N0M0	II	well	-	16.6
34	65/M	Larynx	T3N2M0	IV	mod	±	39.9
35	76/M	Larynx	T4N0M0	IV	well	-	19.1
36	67/M	Larynx	T2N1M0	III	mod	-	30.1
37	47/M	Larynx	T4N2M0	IV	mod	++	-

* TNM : From American Joint Committee on Cancer: Manual for Staging of Cancer, 4th ed, Philadelphia, JB Lippincott, 1992.

** Stage : Stage grouping for all head and neck sites (except for salivary glands and thyroid gland) according to UICC and AJCC.

‡ Expression of EGFR : - =negative, ± =trace, + =moderate, ++ =marked

Abbreviation : Mn=mandible, Mx=maxilla, Retro=retromolar, Bucc=buccal,

well=well differentiated, mod=moderately differentiated, poor=poorly differentiated

포암종 27례 중 15례(56%)에서, 비후두강내 편평세포암종 10례 중 5례(50%)에서 상피성장인자수용체의 발현이 관찰되었다. 두경부 편평세포암종의 발생부위와 상피성장인자수용체 발현의 정도를 -, ±, +, ++ 4단계로 정리하여 Table 4에 제시하였다. 이를 MH Chi-Square test로 통계처리한 결과, 편평세포암종의 발

생부위와 상피성장인자수용체의 발현과는 유의성 있는 상관관계를 보이지 않았다 (p>0.05). 임상적인 암종 크기, 임파절 전이 여부, 다른 장기로의 원격 전이 여부 등 임상적인 소견을 종합하여 편평세포암종의 임상적인 기(stage)를 I - IV기로 분류하여 상피성장인자수용체 발현의 정도를 비교하였으나 (Table 5), MH

Table 4. Correlation between site of SCC and expression of EGFR

Sites	Expression of EGFR [#]				Total
	-	±	+	++	
Mn gingiva	2	0	1	2	5
Mx gingiva	1	0	1	1	3
Oral cavity	2	1	0	0	3
Bucc mucosa	1	0	1	0	2
Tongue	5	0	3	2	10
Mouth floor	0	1	1	0	2
Mx sinus	1	1	0	0	2
Subtotal	12	3	7	5	27
(%)	(44)	(11)	(26)	(19)	(100)
Naso-pharynx	1	0	1	1	3
Larynx	4	1	0	2	7
Subtotal	5	1	1	3	10
(%)	(50)	(10)	(10)	(30)	(100)
Total	17	4	8	8	37
(%)	(46)	(11)	(21.5)	(21.5)	(100)

[#] Expression of EGFR : - =negative, ± =trace, + =moderate, ++ =marked
 Abbreviation : SCC=squamous cell carcinoma,
 Mn= mandible, Mx=maxilla, Retro=retromolar, Bucc=buccal

Chi-Square test에서 유의성 있는 상관관계를 보이지 않았다 ($p>0.05$). 이와 같은 결과로 편평세포암종의 임상적인 진행단계와 상피성장인자수용체의 발현과는 유의성 있는 상관관계가 없는 것으로 관찰되었다. 또한 환자의 성별, 나이와도 유의성 있는 상관관계를 나타내지 않았다.

그러나 상피성장인자수용체의 발현과 편평세포암종의 광학현미경 소견상의 세포의 분화도와와의 상관관계를 Table 6에 제시하였는데, 이를 MH Chi-Square test로 통계처리 하였을 때 분화가 나뉠수록 유의성 있게 상피성장인자수용체 발현이 많은 것을 관찰할 수 있었다 ($p<0.02$).

두경부 편평세포암종의 세포주기 분석에서 검체 조직의 세포 중 몇 %가 DNA의 합성시기에 존재하는가를 평가하는 합성기 분획값을 측정하였다. 대조군으로는 정상 구강점막 조직 2례를 채취하여 분석한 결과 합성기 분획은 각각 6.2%와 8.2%이었다. 두경부 편평세포암종에서 합성기 분획은 6.1%에서 68.5%까지 다양하게 측정되었으나 대부분이 15% 이상이였다 (Table 3). 상피성장인자수용체의 발현과 합성기 분획 사이의 상관관계를 알아보면 (Table 7), 상피성장인자수용체의 발현이 양성으로 나타난 20증례 (Table 3에서 expression of EGFR이 ±, +, ++로 나타난 검체들) 중 합성기 분획이 측정된 증례는 8증례로 평균 37.93% (9.3% ~ 68.5%)이고 상피성장인자수용체의 발현이 음성으로 나타난 17증례 (Table 3에서 expression of EGFR이 -로 나타난 검체들) 중 합성기 분획은 15증례에서 평균 23.03% (6.1% ~ 66.0%)이었다. 이에 대하여 Wilcoxon Rank Sums test로 통계 처리한 결과, 상피성장인자수용체의 발현이 양성으로 나타난 증례들에서 합성기 분획이 유의성 있게 증가하는 양상을 관찰할 수 있었다 ($p<0.05$).

Table 5. Correlation between clinical stage and expression of EGFR

Stage	Expression of EGFR [#]				Total(%)
	-	±	+	++	
I	2	0	1	1	4 (11)
II	3	0	2	2	7 (19)
III	4	0	0	0	4 (11)
IV	8	4	5	5	22 (59)
Total	17	4	8	8	37
(%)	(46)	(11)	(21.5)	(21.5)	(100)

[#] Expression of EGFR : - =negative, ± =trace, + =moderate, ++ =marked

Table 6. Correlation between histologic differentiation and expression of EGFR

Histologic differentiation	Expression of EGFR [#]				Total(%)
	-	±	+	++	
well	13	1	4	3	21 (57)
mod	4	3	3	3	13 (35)
poor	0	0	1	2	3 (8)
Total	17	4	8	8	37
(%)	(46)	(11)	(21.5)	(21.5)	(100)

[#] Expression of EGFR : - =negative, ± =trace, + =moderate, ++ =marked
 Abbreviation : well=well differentiated, mod=moderately differentiated, poor=poorly differentiated

Table 7. Correlation between S-phase fraction of the cell cycle and expression of EGFR

Expression of EGFR	Cases /total cases	Average (range, %)
Expression [*]	8/20	37.93 (9.3~68.5)
Neglegible [#]	15/17	23.03 (6.1~66.0)

^{*} Positive expression of EGFR was observed(±, +, ++ in Table 3).

[#] Expression of EGFR was neglegible(- in Table 3).

IV. 총괄 및 고찰

암은 정상세포의 기본적인 생물학적 법칙들이 파괴되어 세포의 무한증식에 의해서 야기되는 질환이며, 적절한 치료가 이루어지지 않을 경우 중국에는 환자의 생명까지도 빼앗는 악성질환이다. 발암기전에 대한 이해는 암연구에 있어서 중요한 과제이며, 암을 치료할 수 있는 길이 열릴 것으로 기대할 수 있다. 그러나 불행하게도 아직도 암의 발생기전을 비롯한 그 본질에 대해서 해결되어야 할 문제들이 많이 남아있는 실정이다²⁹.

구강암의 발암기전에 대한 유전학적 이론을 정리하면, 첫째로 구강암의 발암기전은 복잡하고 여러 단계를 거치는 복합적인 과정으로서 세포분열, 분화, 노화 등과 같은 정상세포의 생리를 지

배하는 신호전달체계 내에서 일어나는 유전학적 사건들이 정량적 혹은 정성적으로 변화된 것이다²⁹. 성장인자와 같은 세포의 연결물질은 세포 표면의 수용체와 결합하여 흥분신호 또는 억제신호를 만들어내며, 이것이 세포 내와 핵 내의 전달자를 통해서 전달되며 이러한 신호들이 세포 기능을 직접적으로 변화시키거나 최종산물인 단백질의 효과를 변화시킬 수 있는 유전자의 전사를 자극할 수 있다^{6,26,27}. 구강암은 흥분과 억제 신호전달체계의 어느 단계에서나 일어날 수 있는 변화의 축적 결과라 할 수 있다. 둘째는 담배 등과 같은 화학적 발암물질에 의해서 유전자가 손상을 받게되면 이러한 손상은 변화를 일으키는데 대부분의 경우 이러한 변화가 잠복하게 되나, 경우에 따라서는 치명적이거나 유전적으로 될 수 있다^{28,29}. 이러한 유전될 수 있는 부분은 암종 발생에 중요한 역할을 한다. 셋째는 세포유전학적 변화인데 변이, 증폭, 재배열, 결손 등 유전자의 변화를 말한다³⁰. 흥분성 경로에 관여하는 우성 유전자 손상은 어떤 기능을 획득하게 하고, 성장억제 경로의 열성 유전자 손상은 특정 기능의 소실을 초래한다.

30여 가지가 넘는 많은 성장인자들이 알려졌는데^{6,31,32}, 포유류 세포들의 성장과 분화는 여러 가지 성장인자들에 의하여 조절된다. 물론 성장 촉진이라는 생물학적 현상은 성장인자에 의해서만 이루어지는 것은 아니다. 호르몬, 신경펩타이드, 영양분 등도 세포 증식을 유도한다. 그러나 성장인자는 전형적인 호르몬과는 미세한 작용 방법에서 몇 가지 차이가 있다^{6,20}. 성장인자는 특정 세포에서만 생산되는 것이 아니라 여러 종류의 세포에서 생산되며, 다양한 범위의 서로 중복되는 생물학적 기능을 가지고 있으며, 일반적으로 비교적 짧은 거리에서 작용한다. 대부분 포유류 세포들은 여러 가지 성장인자를 분비하며, 이들은 자가분비 (autocrine), 부분비 (paracrine) 혹은 근접분비 (juxtacrine)의 방법에 의해서 다양하게 작용한다^{26,31,33}. 성장인자는 켈타이드의 배열 순서의 동일성과 구조적 유사성에 따라 몇 가지의 족 (family)으로 나누어진다^{6,32,34,35}. 즉, 상피성장인자족 (epidermal growth factor family), 헤파린결합 성장인자족 (heparine-binding growth factor family), 혈소판유도 성장인자족 (platelet-derived growth factor family), 인슐린유사 성장인자족 (insulin-like growth factor family), 신경 성장인자족 (nerve growth factor family), 변환성장인자-베타족 (transforming growth factor- β family) 및 위의 어느 족에도 속하지 않는 성장인자들 (growth factors not classified into the above families)로 분류할 수 있다.

상피성장인자는 53개의 아미노산으로 이루어진 하나의 사슬로 구성된 폴리펩타이드로서 1962년 Cohen에 의하여 수컷 쥐의 악하선으로부터 최초로 분리되었다^{26,36,37}. 상피성장인자는 다양한 여러 조직에서 강력한 분열 유발성 효과를 나타냄에도 불구하고, 사람 상피성장인자의 병리생리학적 중요성에 대해서는 아직도 자세히 알려져 있지 않다^{35,38,39}. 사람 상피성장인자는 신장, 갑상선, 악하선 등 여러 다른 조직에서도 추출되어지며 또한 소변, 타액, 혈청 등 체액에서도 분리될 수 있다³⁷. 타액에서 상피성장인자 함량은 구강 내에 염증소견이 있는 환자나 혀, 구강, 하인두 혹은 후두부에 편평세포암종과 같은 두경부 암종 환자에서

현저하게 낮아진다³⁷. 이러한 소견은 병리생리학적으로 중요한 의미를 가질 수 있으며, 타액 내의 낮은 상피성장인자 함량은 구강 점막이 여러 가지 생리화학 물질에 의한 손상에 저항할 수 있는 방어기전의 능력을 저하시킬 수 있다고 주장한다. 그러나 구강 점막 방어기전에 대한 타액 내 상피성장인자의 역할에 대해서는 지속적인 연구가 필요하겠다.

상피성장인자수용체는 분자량이 170 kDa인 세포 표면의 막투과성 당단백질로서, 상피성장인자, 변환성장인자-알파 (transforming growth factor- α , TGF- α) 등과 결합한다^{27,33,38}. 정상 상피조직에서 상피성장인자수용체는 증식하는 기저세포들에서 주로 발현되어지며, 점막 표층으로 세포 분화도가 증가함에 따라 상피성장인자수용체의 발현은 현저히 감소된다^{5,20}. 편평세포암종에서 상피성장인자수용체의 과발현이 자주 관찰되는데^{18,26,39}, Ishitoya 등⁸은 두경부 편평세포암종 15례 중 8례 (53%)에서 상피성장인자수용체의 과발현이 관찰되었다고 보고하였는데, 본 연구에서도 37례의 두경부 편평세포암종 중 20례 (54%)에서 상피성장인자수용체의 발현을 관찰할 수 있었다. 나머지 17례에서는 상피성장인자수용체의 발현이 매우 적기 때문에 검출할 수 없었다고 생각된다. 그러므로 본 연구에서 상피성장인자수용체의 발현이 관찰된 20례는 과발현이라고 생각할 수 있다. Johnson 등¹⁸은 이러한 과발현은 각화세포들 중에서 분화가 되지 않은 세포들의 특징이라고 여겨지며, 상피성장인자수용체의 과발현은 악성형질전환에 대한 생표지자 (biomarker)가 될 수 있다고 주장한다. 암세포에서 정상 세포의 증식과 분화에 대한 조절 능력은 상실되며, 계속적인 성장과 최종 분화가 이루어지지 않는 작용 기전은 완전히 밝혀지지 않았으나, 이에 관한 가능한 설명은 상피성장인자수용체의 지속적인 발현에서 찾을 수도 있을 것이다^{5,40,41}.

Christensen 등에 의한 연구에서⁹ 상피성장인자수용체의 발현은 다양한 염색 강도를 가지고 여러 곳에서 나타난다고 하였으며, 분화가 나쁜 암종 중에서 상피성장인자수용체에 대하여 음성반응을 보인 것은 하나도 없으나, 중등도 분화되거나 잘 분화된 암종에서는 발현이 줄어든 경우가 있다고 하였다. 즉, 구강 편평세포암종에서 상피성장인자수용체의 발현은 세포 분화도와 반비례해서 나타난다고 주장하였으며, 본 연구에서도 상피성장인자수용체의 발현은 세포 분화도가 좋은 암종에 비하여 분화도가 나쁜 편평세포암종에서 통계적으로 유의성 있게 증가하는 양상을 관찰할 수 있었다. 그러나 일부 연구에서는 상이한 결과들을 보고하였는데, Kunikata 등²⁰은 편평세포암종의 조직학적 분화도와 상피성장인자수용체의 발현과는 직접적인 상관관계가 없다고 하였으며, 심지어 Ishitoya 등⁸은 상피성장인자수용체의 과발현이 나타난 편평세포암종은 모두 분화가 잘 된 암종이었다고 보고하여 본 연구와는 상반되는 결과를 보이고 있다. 이러한 서로 상반된 연구 결과는 실험을 수행하는데 있어서 암종 조직 상태와 처리 방법 등의 차이가 원인일 것으로 생각되며, 본 연구를 비롯한 이러한 연구들에서 연구대상 수가 적어 앞으로 더욱 많은 검체에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다.

두경부 편평세포암종에서 상피성장인자수용체의 정량분석이 시행되었는데, 악성세포에서 정상적인 각화세포보다 5배 내지

50배 많은 상피성장인자수용체가 존재하며, 상피성장인자수용체의 과발현은 편평세포암종의 특징이며, 그 작용기전은 유전자 증폭 혹은 mRNA의 과발현이라고 추정하였다³⁾. 그러나 Eisbruch 등⁴⁾은 두경부 암종에서 상피성장인자수용체의 과발현이 상피성장인자수용체 유전자 자체의 증폭이나 재배열의 결과는 아니라고 주장하였으나, 상피성장인자수용체 DNA의 작은 결손이나 삽입 혹은 점돌연변이의 가능성을 배제하지는 않았다. 이와 같이 아직도 상피성장인자수용체의 발현과 그 유전자에 관한 연구에는 결과가 서로 다른 경우가 있어 앞으로도 보다 많은 연구가 필요하다.

상피성장인자수용체는 인체 내 다양한 장기 및 부위의 상피성 암종에서 발현된다. 방광암에 대한 연구에서⁵⁾ 표적성 종양보다 침습성 종양에서 유의성 있게 상피성장인자수용체의 발현이 증가한다고 하였으며, 유방암에서도 상피성장인자수용체가 재발과 생존율을 예측하는데 가장 중요한 지표라고 보고된 바 있다^{12,13)}. Harris 등은 수술 후 6년까지 지속적인 관찰이 이루어진 유방암 환자 231명으로부터 조직을 채취하여 상피성장인자수용체와 에스트로겐수용체 (estrogen receptor, ER)를 분석하였다¹³⁾. 수술 가능한 유방암 환자에 대한 가장 강력한 예후 표지자로 인정되는 액와 림프절 전이가 없는 환자에서도 재발과 이로 인한 사망이 상당 부분 나타나고 있어, 이러한 림프절 전이가 없는 환자들에 대한 재발과 사망 가능성에 대한 예후 표지자가 필요하며, 이 연구에 따르면 상피성장인자수용체가 유방암에서 액와 림프절 전이 여부를 제외하고는 가장 강력한 예후 표지자라고 주장하였다. Gasparini 등¹⁰⁾도 상피성장인자수용체는 유방암 세포의 성장을 조절하는데 있어서 중요하며, 결국 상피성장인자수용체는 유방암의 재발률에 대한 중요하고 독립적인 지표이고, 암종 증식능력에 대한 중요한 측정기준이 되며 예후 표지자로 사용될 수 있다고 하였다. 이와 같이 방광암이나 유방암 등과 같은 인체 다른 부위 암종에서는 상피성장인자수용체가 예후 표지자로 보고된 바 있으나, 두경부 편평세포암종에서 상피성장인자수용체의 예후 표지자로서 유용성에 대하여는 아직까지 논란의 여지가 있다.

한편, Maurizi 등은 상피성장인자수용체의 발현을 103개 원발성 후두암종 조직표본과 42개 정상 후두 조직표본에서 평가하였다⁴⁹⁾. 정상 후두 점막에 비해서 암종의 표본에서 상피성장인자수용체의 발현이 유의성 있게 높게 나타났다. 그러나 상피성장인자수용체의 발현과 환자 나이, 암종 위치, 암종 크기, 경부 림프절 전이 여부, 혹은 수술 형태 등과는 특별한 상관관계가 없었다. 반면에 암종의 분화가 잘되거나 중등도 분화를 보이는 암종에 비하여 분화가 나쁜 암종에서 상피성장인자수용체 발현이 보다 높게 나타났다고 하여 본 연구의 결과와도 일치한다. Maurizi 등은 이러한 결과를 토대로 상피성장인자수용체가 원발성 후두암종의 유의성 있는 독립적 예후 표지자라고 주장하였다. 그러나, Lee 등²⁰⁾은 상피성장인자수용체의 발현이 후두암의 조직학적 분화도와 상관관계가 있다는 연구 결과에 대하여 반론을 제기하며 예후 표지자로서는 부적합하다고 하였다. 본 연구에서도 상피성장인자수용체의 발현이 두경부 편평세포암종의 예후 표지자로

서의 가능성은 인정할 수 있으나, 검체 수가 적어 앞으로 보다 많은 수의 검체를 대상으로 계속적이고 체계적인 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

유세포계측기는 세포와 그 조각들에 대한 빠른 분석과 분류에 사용될 수 있는 강력한 분석기기이다. 이론적으로 유세포계측기는 세포표면의 수용체, DNA, 세포내의 수용체, RNA 혹은 염색체 등 세포 구성요소들과 특징하게 그리고 화학양론적으로 (stoichiometrically) 반응을 일으키는 물리적 성질 혹은 형광성 추적자를 이용하여 어떠한 세포 구성요소도 측정할 수 있다^{44,45)}. 따라서 세포 개개의 물리적 성질을 동시에 측정할 수 있으며 세포의 상대적 크기, 세포 내부의 과립상과 복잡성, 상대적 형광도 등을 측정할 수 있어 세포주기, DNA 이수성 (aneuploidy) 분석에 주로 이용되어 왔다^{46,47)}. 이외에도 단일항체를 이용하여 종양세포의 아형별 분류를 통한 세포형 분류 등 광범위하게 의학, 면역학, 혈액학, 약학, 암생물학 등 연구에 사용되어 왔다⁴⁸⁾. 본 연구에서는 유세포계측기를 이용하여 두경부 편평세포암종의 세포주기를 분석하여 합성기 분획을 측정하였는데, DNA 합성은 오로지 S-phase에 존재하는 세포들에 의해서만 이루어지므로 합성기 분획은 어떤 종양의 공격성 혹은 성장잠재력을 반영하며, 이는 환자의 예후에 영향을 미치는 것으로 여겨지고 있다. 본 연구에서도 상피성장인자수용체의 발현이 양성으로 나타난 검체에서 세포주기 중 합성기 분획이 증가하는 양상이 통계적으로 유의성 있게 나타나 상피성장인자수용체의 발현이 두경부 편평세포암종의 예후 표지자로서의 가능성을 확인할 수 있었다. 앞으로 상피성장인자수용체의 발현에 대한 정량적인 연구와 상피성장인자수용체 유전자에 대한 보다 체계적이고 지속적인 연구가 이루어진다면 두경부 편평세포암종의 예후 표지자로서 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 연구는 두경부 편평세포암종에서 종양의 성장과 분화에 중요한 역할을 할 것으로 보이는 상피성장인자수용체의 발현과 유세포계측기를 이용한 세포주기 분석을 통한 합성기 분획에 관한 연구를 통하여, 두경부 편평세포암종의 임상 병리학적 지표들과의 상호 연관성을 밝히고, 나아가서 예후 표지자로서의 유용성을 검증하고자 두경부 편평세포암종으로 확진된 37례에 대한 연구를 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 37례의 두경부 편평세포암종 조직 중 20례 (54%)에서 상피성장인자수용체의 발현이 관찰되었는데, 구강내 편평세포암종 27례 중 15례 (56%), 비후두강내 편평세포암종 10례 중 5례 (50%)에서 상피성장인자수용체가 발현되었다.
2. 상피성장인자수용체의 발현은 암종의 발생부위, 크기, 림프절의 전이 여부, 다른 장기로의 원격전이 여부 등의 임상적인 지표들과 특별한 상관관계가 없었다 ($p > 0.05$).
3. 암종의 조직병리학적 분화도가 나쁠수록 상피성장인자수용체의 발현이 많이 되는 경향을 보였다 ($p < 0.02$).
4. 상피성장인자수용체가 발현된 검체에서 세포주기 중 합성기

분획이 유의성 있게 증가하는 양상을 보였다 ($p<0.05$).

이상의 결과들을 종합할 때, 두경부 편평세포암종에서 상피성장인자수용체의 발현과 세포주기 중 합성기 분획의 증가는 암종의 예후를 예측하는데 보조적인 지표로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

- Deleyiannis FWB, Weymuller Jr EA: Quality of life in patients with head and neck cancer. In Myers EN, Suen JY: Cancer of the head and neck. 3rd ed, Philadelphia, WB Saunders, 1996, 904-916.
- Brachman DG: Molecular biology of head and neck cancer. Seminar in Oncology 21:320-329, 1994.
- Merritt WD, Weissler MC, Turk BF, Gilmer TM: Oncogene amplification in squamous cell carcinoma of the head and neck. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 116:1394-1398, 1990.
- Quak J, van Dongen G: Current perspectives in the use of monoclonal antibodies for detection and treatment of head and neck tumors. Eur Arch Otorhinolaryngol 251:1-5, 1994.
- Christensen ME, Therkildsen MH, Hansen BL, et al.: Epidermal growth factor receptor expression on oral mucosa dysplastic epithelia and squamous cell carcinomas. Eur Arch Otorhinolaryngol 249:243-247, 1992.
- Pusztai L, Lewis CE, Lorenzen J, et al.: Review article, Growth factors : Regulation of normal and neoplastic growth. J Pathol 169:191-201, 1993.
- Yamamoto T, Kamata N, Kawano H, et al.: High incidence of amplification of the epidermal growth factor receptor gene in human squamous carcinoma cell lines. Cancer Res 46: 414-416, 1986.
- Ishitoya J, Toriyama M, Oguchi N, et al.: Gene amplification and overexpression of EGF receptor in squamous cell carcinomas of the head and neck. Br J Cancer 59:559-562, 1989.
- Downward J, Yarden Y, Mayes E, et al.: Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. Nature 307:521-527, 1984.
- Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, et al.: Similarity of protein encoded by the human c-erb-B-2 gene to epidermal growth factor receptor. Nature 319:230-234, 1986.
- Ro J, North SM, Gallick GE, et al.: Amplified and overexpressed epidermal growth factor receptor gene in uncultured primary human breast carcinoma. Cancer Res 48:161-164, 1988.
- Gasparini G, Bevilacqua P, Pozza F, et al.: Value of epidermal growth factor receptor status compared with growth fraction and other factors for prognosis in early breast cancer. Br J Cancer 66:970-976, 1992.
- Harris AL, Nicholson S, Sainsbury R, et al.: Epidermal growth factor receptor and other oncogenes as prognostic markers. J Natl Cancer Institute Monographs 11:181-187, 1992.
- Medina D, Kittrell FS, Oborn CJ, Schwartz M: Growth factor dependency and gene expression in preneoplastic mouse mammary epithelial cells. Cancer Res 53:668-674, 1993.
- Bue P, Wester K, Sjostrom A, et al.: Expression of epidermal growth factor receptor in urinary bladder cancer metastases. Int J Cancer 76(2):189-193, 1998.
- Mydlo JH, Michaeli J, Cardon-Cardo C, et al.: Expression of transforming growth factor α and epidermal growth factor receptor messenger RNA in neoplastic and nonneoplastic human kidney tissue. Cancer Res 49:3407-3411, 1989.
- Libermann TA, Nusbaum HR, Razon N, et al.: Amplification, enhanced expression and possible rearrangement of EGF receptor gene in primary human brain tumours of glial origin. Nature 313:144-147, 1985.
- Johnson GA, Mannel R, Khalifa M, et al.: Epidermal growth factor receptor in vulvar malignancies and its relationship to metastasis and patient survival. Gynecol Oncol 65:425-429, 1997.
- Pradier R, Gonzalez A, Matos E, et al.: Prognostic factors in laryngeal carcinoma : experience in 296 male patients. Cancer 71:2472-2476, 1993.
- Lee CS, Redshaw A, Boag G: TGF-alpha immunoreactivity in laryngeal carcinoma : lack of prognostic value and correlation to EGF-receptor expression. Aust NZ J Surg 66:464-468, 1996.
- Maurizi M, Almadori G, Cadoni G, et al.: Cathepsin D concentration in primary laryngeal cancer : correlation with clinico-pathological parameters, EGFR status and prognosis. Int J Cancer 69:105-109, 1996.
- Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Schuurung E, et al.: Markers for assessment of nodal metastasis in laryngeal carcinoma. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 123:412-419, 1997.
- Todd R, Donoff RB, Wong DTW: The molecular biology of oral carcinogenesis : toward a tumor progression model. J Oral Maxillofac Surg 55:613-623, 1997.
- Bonner JA, Maihle NJ, Folven BR, et al.: The interaction of epidermal growth factor and radiation in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines with vastly different radiosensitivities. Int J Radiation Oncology Biol Phys 29:243-247, 1994.
- Weinstein IB, Carothers AM, Santella RM, Perera FP: Molecular mechanisms of mutagenesis and multistage carcinogenesis. In Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA: The molecular basis of cancer. Philadelphia, WB Saunders, 1995, 59-85.
- Shirasuna K, Hayashido Y, Sugiyama M, et al.: Immunohistochemical localization of epidermal growth factor (EGF) and EGF receptor in human oral mucosa and its malignancy. Virchows Archiv A Pathol Anat 418:349-353, 1991.
- Kunikata M, Yamada K, Yamada T, et al.: Epidermal growth factor receptor in squamous cell carcinoma and other epidermal lesions of squamous origin - an immunohistochemical study -. Acta Histochem Cytochem 25:387-394, 1992.
- van Oijen MG, Rijksen G, ten Broek FW, Slootweg PJ: Increased expression of epidermal growth factor receptor in normal epithelium adjacent to head and neck carcinomas independent of tobacco and alcohol abuse. Oral Diseases 4:4-8, 1998.
- Sumitoma S, Hashimura K, Mori M: Growth pattern of experimental squamous cell carcinoma in rat submandibular glands - an immunohistochemical evaluation. Oral Oncol Eur J Cancer 32B:97-105, 1996.
- Riviere A, Becker J, Lønning T: Comparative investigation of c-erbB2/neu expression in head and neck tumors and mammary cancer. Cancer 67:2142-2149, 1991.
- James R, Bradshaw RA: Polypeptide growth factors. Ann Rev Biochem 53:259-292, 1984.
- Mendelsohn J, Gabrilove J: Growth factors in malignancy. In Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA: The molecular basis of cancer. Philadelphia, WB Saunders, 1995, 432-452.
- Modjtahedi H, Hickish T, Nicolson M, et al.: Phase I trial and tumour localisation of the anti-EGFR monoclonal antibody ICR62 in head and neck or lung cancer. Br J Cancer 73:228-235, 1996.
- Shima I, Sasaguri Y, Kusakawa J, et al.: Production of matrix metalloproteinase 9 (92-kDa gelatinase) by human esophageal squamous cell carcinoma in response to epidermal growth factor. Br J Cancer 67:721-727, 1993.
- Yarden Y, Ullrich A: Growth factor receptor tyrosine kinase. Ann Rev Biochem 57:443-478, 1988.
- Carpenter G, Zendeigui JG: Epidermal growth factor, its receptor, and related proteins. Experim Cell Res 164:1-10, 1986.
- Ino M, Ushiro K, Ino C, et al.: Kinetics of epidermal growth factor in saliva. Acta Otolaryngol(Stockh), Suppl 500:126-130, 1993.
- Gardner DP, Shimizu N: Loss of cytotoxic effect of epidermal growth factor(EGF) on EGF receptor overexpressing cells is associated with attenuation of EGF receptor tyrosine kinase activity. J Cellular Physiol 158:245-255, 1994.
- Ozanne B, Richards CS, Henderl F, et al.: Over-expression of the EGF receptor is a hallmark of squamous cell carcinomas. J Pathol 149:9-14, 1986.
- Konger RL, Chan TCK: Epidermal growth factor induces terminal

- differentiation in human epidermoid carcinoma cells. *J Cellular Physiol* 156:515-521, 1993.
41. Kitagawa Y, Ueda M, Ando N, et al.: Effect of endogenous and exogenous EGF on the growth of EGF receptor-hyperproducing human squamous cell carcinoma implanted in nude mice. *Br J Cancer* 72:865-868, 1995.
 42. Eisbruch A, Blick M, Lee JS, et al.: Analysis of the epidermal growth factor receptor gene in fresh human head and neck tumors. *Cancer Res* 47:3603-3605, 1987.
 43. Maurizi M, Scambia G, Panici PB, et al.: EGF receptor expression in primary laryngeal cancer : correlation with clinico-pathological features and prognostic significance. *Int J Cancer* 52:862-866, 1992.
 44. Cunningham RE: Flow Cytometry. *In* Rapley R, Walker JM: *Molecular Biometrics Handbook*. Humana Press Inc, Totowa, NJ 653-667.
 45. Gilewski T, Norton L: Cytokinetics of neoplasia. *In* Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA: *The molecular basis of cancer*. WB Saunders, 1995, 143-171.
 46. Tytor M, Franzen G, Olofsson J: DNA ploidy in oral cavity carcinomas, with special reference to prognosis. *Head Neck Surg* 11:257-263, 1989.
 47. Slootweg PJ, Giessen MCA, Rutgers DH, Wils IS: DNA heterogeneity in metastasizing squamous cell head and neck cancer. *J Cranio-Maxillo-Facial Surg* 21:348-350, 1993.

사진부도

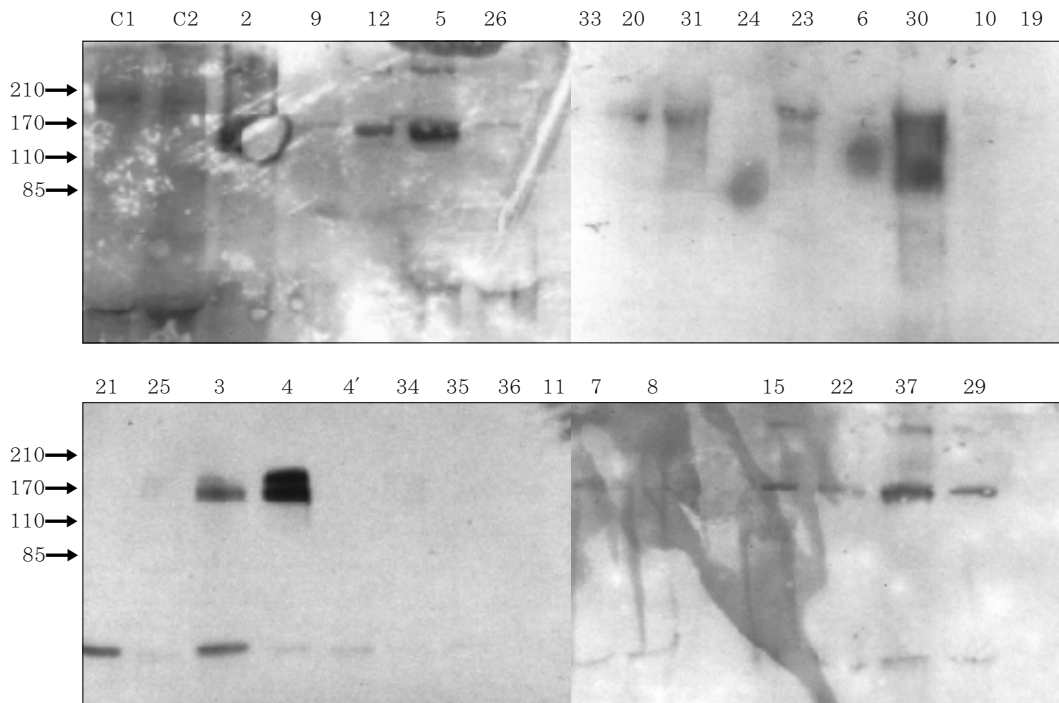


Fig. 1. Expression of epidermal growth factor receptor(EGFR) from normal oral mucosa(C1: control 1, C2: control 2) and head and neck squamous cell carcinomas (case 2, 9, 12, 5, 26, 33, 20, 31, 24, 23, 6, 30, 10, 19, 21, 25, 3, 4, 4', 34, 35, 36, 11, 7, 8, 15, 22, 37, 29). The dark bands at 170 kDa show expression of EGFR.

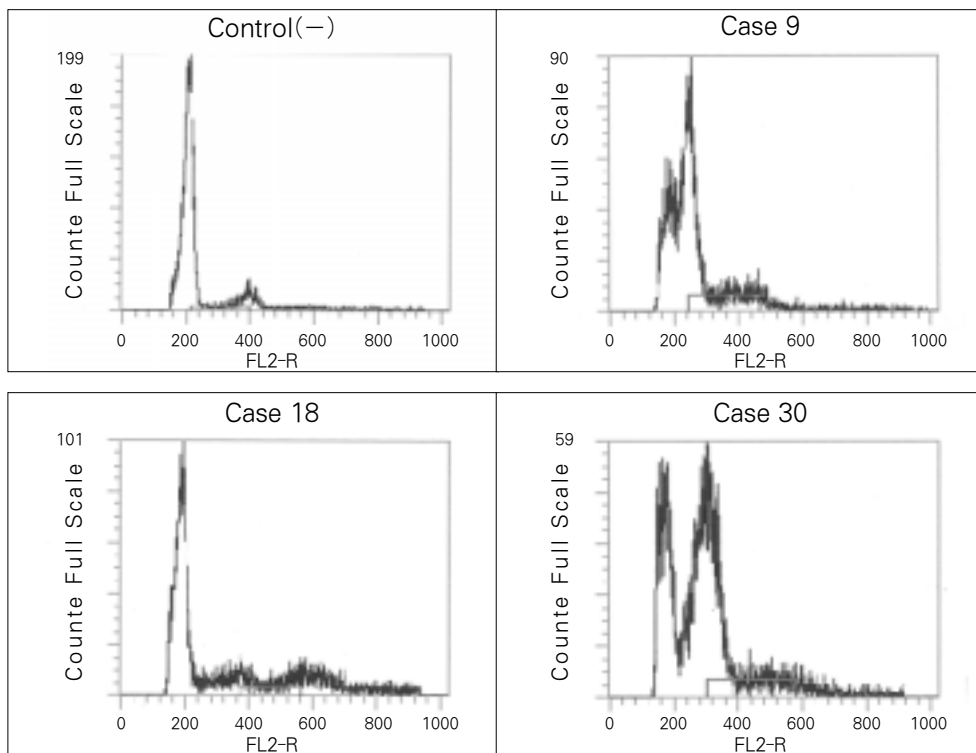


Fig. 2. Cell cycle analysis using the FACStar plus Flowcytometry(CellFIT version2.01.2). S-phase fraction(SPF) of control is 6.2%, SPF of case 9 is 25.1%, SPF of case 18 is 66.0%, and SPF of case 30 is 36.4%.