

두경부 편평세포암종에서 p53, p21, EGFR 및 c-erbB-2 발현의 임상적 의의

조선대학교 의과대학 이비인후과학교실
이준한 · 조성일 · 도남용 · 박성용 · 김건형

= Abstract =

Clinical Significance of the Expression of p53, p21, EGFR and c-erbB-2 in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck

Jun Han Lee, M.D., Sung Il Cho, M.D., Nam Yong Do, M.D.,
Sung Yong Park, M.D., Gun Hyung Kim, M.D.

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, College of Medicine,
Chosun University, Gwangju, Korea

Background and Objectives : Because of squamous cell carcinoma of the head and neck undergoes a generally poor hospital course, the prognostic significance of the squamous cell carcinomas in head and neck have been evaluated to identify those features associated with aggressive biologic behavior according to the immunologic and histopathologic characteristics.

Materials and Method : To assess the significance of EGFR, c-erbB-2, p21 and p53 protein in head and neck tumors and their correlation with prognostic factors, samples from 74 patients with squamous cell carcinomas of larynx, pharynx, and oral cavity were studied immunohistochemically.

Results : EGFR, c-erbB-2, p21, and p53 protein were expressed 94.6%, 24.3%, 85.1%, and 55.4% in 74 cases of head and neck squamous cell carcinoma, respectively. The positive expression of EGFR was associated significantly with clinical stage and the negative expressions of p21 was associated significantly with histopathologic differentiation. There were no significant relationships between the reactivity of EGFR, c-erbB-2, p21, and p53 protein.

Conclusion : The expression of EGFR, c-erbB-2, p21 and p53 protein could be related to oncogenesis, and the expression of p21 and EGFR protein can be used as a prognosticator in head and neck squamous cell carcinoma under certain limitations, but c-erbB-2 and p53 protein expression alone is not enough for evaluating prognosis of the carcinoma.

KEY WORDS : EGFR · c-erbB-2 · p21 protein · p53 protein.

서 론

암이 발생하는 기전은 세포의 성장과 분화, 증식 및 억제

에 관여하는 여러 성장인자와 수용체들 상호간의 불균형으로 인해 세포의 형질변환이 일어나, 종양세포가 비가역적으로 증식하여 발생한다고 알려져 있으며, 또 다른 기전으로는 종양세포를 억제시키는 유전자가 비 활성화되거나 또는 암 유전자가 활성화되어 발생한다고 알려져 있다.¹⁾ 두경부 암종은 대부분 편평세포암으로서 주로 종양의 크기, 침범부위 및 전이여부 등의 임상적 인자들에 의해 예후가 좌우된다고 알려져 왔으나, 최근에는 이러한 인자들 외에 좀 더 객관적인

교신저자 : 조성일, 501-717 광주광역시 동구 서석동 588
조선대학교 의과대학 이비인후과학교실
전화 : (062) 220-3200 · 전송 : (062) 225-2702
E-mail : med9124@hanmail.net

종양세포의 생물학적 표지자가 요구되고 있다. 현재 연구되고 있는 세포성장 억제인자들에 대한 여러 연구 방법중 면역조직화학적 연구가 비교적 믿을만한 검사법의 하나로 많이 이용되고 있지만, 각각 개별적으로 연구되어진 종양 억제유전자들의 발현양상이 갖는 상호연관성이나 그 의미에 대한 연구는 아직 논란이 많은 상태이다.

이에 저자는 두경부 악성종양에서 종양의 발생과 성장 및 전이, 악성도 등과 관련이 있다고 알려진 EGFR과 c-erbB-2, p53 및 p21의 면역조직화학적 발현양상을 임상 및 병리학 적 특성과 비교 검토하고, 이들 유전자간의 상호작용 및 관련성을 분석하여 두경부 악성종양의 발병학을 구체화하고, 악성도와 관련한 예후 인자로서의 가능성을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

2000년부터 2004년까지 조선대학교 부속병원 이비인후과에서 두경부 악성종양으로 수술을 받았던 환자의 조직 표본중 보관상태가 양호한 두경부의 편평세포암종 조직 74예를 대상으로 하였다. 발생부위별 분류는 후두암 33예, 인두암 14예, 구강암 27예였다. 종양병기, 경부림프절 전이를 이용한 임상적 병기는 미국암협회 분류(AJC TNM classification, 1997)에 따라 분류하였다(Table 1).

환자의 임상기록과 병리기록으로부터 나이, 성별, 원발부위의 구분과 임상병기, 원발종양병기, 림프절 전이 유무, 병리조직학적 분화도 등을 후향적으로 분석하였다.

2. 연구방법

1) 면역조직화학검사

대상 예의 조직표본 재료는 병리과 조직 슬라이드 화일을 대상으로 두경부 편평세포암종에서 적출된 조직의 H-E 염색표본을 재검토하여 조직학적 아형과 등급을 정한 다음, 종양의 분화도 등을 확인하고, 종양조직이 50% 이상 포함되고 파라핀 포매조직의 보관상태가 양호하여 연구목적에 부합되는 대표적인 부위를 선택하여 면역조직화학적 검사를 위한 슬라이드를 제작하였다.

일반 광학현미경 검경 후 10% 완충 중성 포르말린에 고정하여 제작한 파라핀 포매 조직을 4 μ m 두께로 박절하여 X-tra™슬라이드(Surgipath, Richmond, U.S.A.)에 부착하여 xylene에 탈 파라핀한 뒤 무수 알코올과, 90%, 75% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 처리하여 흡수시킨후 DAKO사의 LSAB kit와 AEC kit를 이용하여 Avidin Biotin Complex (ABC) 방법에 의해 염색을 시행하였다. 항원성 회복을 위

하여 citrate 완충액(10mM, pH 6.0)에 슬라이드를 담가 전자오븐에 15분간 끓인 후 실온에 방치시켜 20분간 식힌 후 50mM Tris 완충용액(TBS, pH 7.5)으로 수세하였다. 조직절편내의 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위하여 0.3% hydrogen peroxide-methanol에 10분간 처리 후 증류수로 세척하고 차단항체를 실온에서 10분간 반응시킨 뒤 EGFR은 1 : 20으로, c-erbB-2는 1 : 100, p21은 1 : 200, p53은 1 : 50으로 희석한 일차항체를 1시간씩 반응시켰다. Tris 완충액으로 세척하고 비오틴이 함유된 이차항체를 실온에서 10분간 반응시킨 후 tris 완충액으로 수세하고, horseradish peroxidase가 결합된 streptavidin 용액을 10분간 반응시켰다. Tris 완충액으로 세척 후 AEC로 발색하였다. Mayer's hematoxylin으로 대조염색을 시행하고, universal mount로 봉입하였다.

Table 1. Clinical, epidemiologic, and histologic characteristics of 74 patients with head and neck squamous cell carcinoma

Characteristics	No. (%)
No. of patients	74 (100)
Age (yrs.)	
Mean	61.93
Range	27-85
Gender	
Male	62 (83.8)
Female	12 (16.2)
Tumor site	
Larynx	33 (44.6)
Pharynx	14 (18.9)
Oral cavity	27 (36.5)
Clinical stage	
Early (I, II)	34 (45.9)
I	10
II	24
Advanced (III, IV)	40 (54.1)
III	20
IV	20
Lymph node metastasis	
Yes	25 (33.8)
No	49 (66.2)
Histologic grade	
Well differentiated	31 (41.9)
Moderately differentiated	37 (50.0)
Poorly differentiated	6 (8.1)
Tumor stage	
Early (1, 2)	47 (63.5)
1	11
2	36
Advanced (3, 4)	27 (36.5)
3	11
4	16

2) 평가

염색의 평가는 주관성을 배제하기 위해 2명의 병리 전문의가 서로 협의하여 통일된 염색평가값(consensus score)을 정하였고, 현미경적 관찰은 종양의 중심부에서 시행하였다.

EGFR에 대한 염색 결과의 판정을 위해 Lager 등의 방법을 이용하여, 세포질이나 세포막을 따라 뚜렷한 갈색으로 염색되어지는것을 양성으로 하고, c-erbB-2의 경우는 종양 세포의 세포막에 염색되는 정도에 따라 판정하였으며, p21에 대한 염색결과의 판정은 핵에 분명하게 염색되는 경우를 양성염색으로, p53에 대한 염색의 판정은 세포 핵안에 갈색 과립이 있는 세포를 기준으로 하여 판정하였다.

3) 통계적 처리

EGFR, c-erbB-2, p21 및 p53의 양성발현율과 원발 종양의 부위, 경부림프절 전이유무, 병리조직학적 분화도, 임상병기 등 예후 관련 요소들과 발현율과의 상관성에 대한 통계학적 분석은 SPSS(statistical package for the social sciences), Windows, version 7.5(SPSS, Korea)로 Spear-man 상관관계분석법과 χ^2 검정법을 이용하였다. 그리고, 이들의 통계학적 유의 수준은 $p < 0.05$ 로 하였다.

결 과

임상병기에 따른 분류는 조기 암(병기 I, II) 34예(45.9%), 진행암(병기 III, IV) 40예(54.1%)였고, 이들 중 25예(33.8%)는 림프절 전이군, 49예(66.2%)는 림프절 비전이군이였다. 조직학적 분화도에 따른 종양등급은 고분화암 31예(41.9%), 중등도 분화암 37예(50.0%), 저분화암 6예(8.1%)였다(Table 1). EGFR은 4예(5.4%)가 음성 발현, 70예

(94.6%)가 양성발현을 보였고(Fig. 1), c-erbB-2는 56예(75.7%)에서 음성, 18예(24.3%)에서 과발현을 보였으며(Fig. 2) p21은 11예(14.9%)에서 음성발현, 63예(85.1%)는 양성발현을(Fig. 3), p53은 33예(44.6%)가 음성발현, 41예(55.4%)는 양성발현을 보였다(Fig. 4)(Table 2). 종양의 위치에 따른 발현정도는 EGFR은 인두암에서 100%로 가장 높았고, c-erbB-2는 후두암에서 30.3%로 가장 높았으며, p21과 p53은 구강암에서 각각 92.6%, 63.0%로 가장 높게 나타났다. 한편 각 인자들의 면역조직화학적 발현정도를 음성과 양성발현으로만 단순화시켜 상관관계를 분석하여도 유의한 상관관계는 없었다. 임상병기와 EGFR, c-erbB-2, p21 및 p53의 발현정도를 살펴보면 EGFR은 임상병기 I, II의 조기암군에서 88.2%의 양성발현을 보였고,



Fig. 2. Immunohistochemical staining for c-erbB-2 in invasive squamous cell carcinoma. Strong positive membranous staining is noted in tumor cells(LSAB method, counterstained by hematoxylin, $\times 100$).

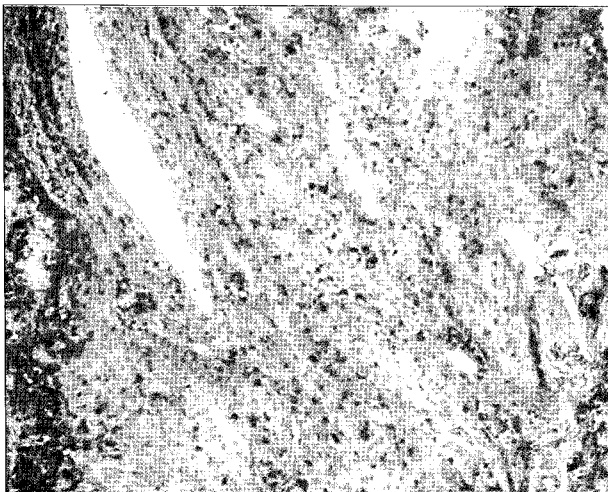


Fig. 1. Immunohistochemical staining for EGFR in invasive squamous cell carcinoma. Strong positive intracytoplasmic staining is noted in tumor cells(ABC method, counterstained by hematoxylin, $\times 100$).

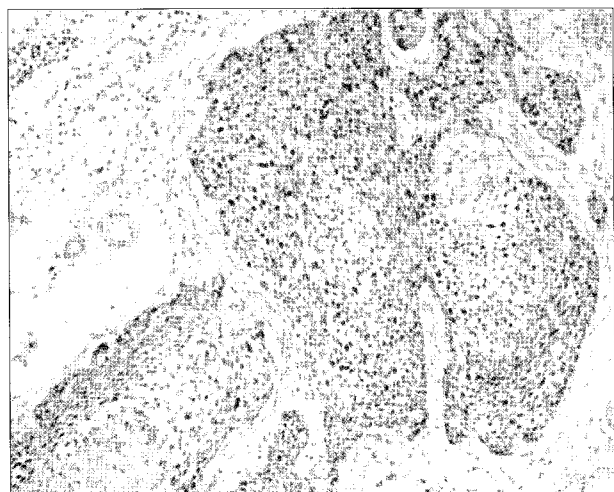


Fig. 3. Immunohistochemical staining for p21 in invasive squamous cell carcinoma. Strong positive nuclear staining is noted in tumor cells(LSAB method, counterstained by hematoxylin, $\times 100$).

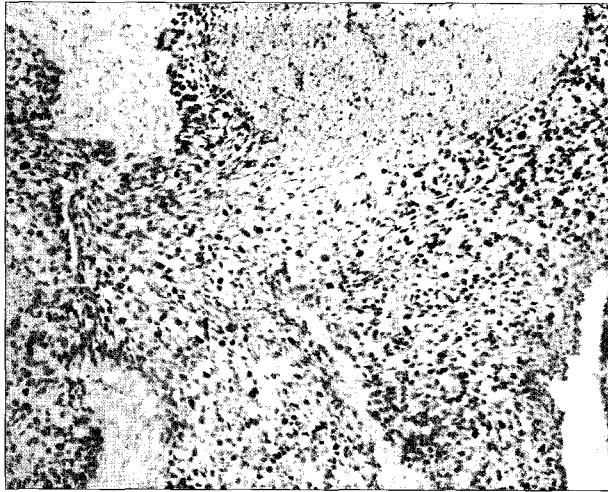


Fig. 4. Immunohistochemical staining for p53 in invasive squamous cell carcinoma. Strong positive nuclear staining is noted in tumor cells (LSAB method, counterstained by hematoxylin, $\times 100$).

Table 2. The immunohistochemical results for EGFR, c-erbB-2, p21 and p53 in head and neck squamous cell carcinoma

	No. of cases (%)				
	Negative	Positive			Total
		1+	2+	3+	
EGFR (n=74)	4 (5.4)	18 (25.7)	36 (48.6)	16 (21.6)	70 (94.6)
c-erbB-2 (n=74)	30 (40.5)	26 (35.2)	17 (23.0)	1 (1.3)	18 (24.3)
p21 (n=74)	11 (14.9)	11 (14.9)	30 (40.5)	22 (29.7)	63 (85.1)
p53 (n=74)	33 (44.6)	10 (13.5)	13 (17.6)	18 (24.3)	41 (55.4)

III, IV의 진행암군에서 100%의 양성발현을 보여서, 임상병기가 진행할수록 양성발현이 증가하는 소견을 보였으며 이는 통계학적으로 유의한 상관관계가 있었다($p=0.04$). c-erbB-2와 p53은 병기가 진행할수록 양성발현이 증가하고, p21은 병기가 진행할수록 양성발현이 감소하는 소견을 보였으나 통계학적으로 유의한 상관관계는 없었다(Table 3). 림프절 전이유무와 EGFR, c-erbB-2, p21 및 p53의 발현 정도를 살펴보면 EGFR, c-erbB-2 및 p53은 림프절 전이군에서 양성발현이 강하게 나타나고, p21은 림프절 비전이군에서 양성발현이 강하게 나타났으나 통계학적으로 유의한 상관관계는 없었다. 종양의 병리조직학적 등급과 EGFR, c-erbB-2, p21 및 p53의 발현 정도를 살펴보면 p21의 경우 저분화암에서 66.7%, 중등도분화암에서 13.5%, 고분화암에서 3.2%의 음성발현이 나타나 분화도가 낮을 수록 음성발현이 강하게 나타나고, 이와 다르게 고분화암에서 93.5%, 중등도분화암에서 86.5%, 저분화암에서 33.3%의 양성발현이 나타나 분화도가 높을 수록 양성발현이 증가하는 소견을 보였으며 이는 통계학적으로 유의한 상관관계가 있었

Table 3. The statistical analysis of immunohistochemical EGFR, c-erbB-2, p21, and p53 expression according to the clinical stage (%)

		Clinical stage		Total
		Early (I, II) (n=34)	Advanced (III, IV) (n=40)	
EGFR*	Negative	4 (11.8)	0	4
	Positive	30 (88.2)	40 (100)	70
c-erbB-2	Negative	27 (79.4)	29 (72.5)	56
	Positive	7 (20.6)	11 (27.5)	18
p21	Negative	3 (8.8)	8 (20.0)	11
	Positive	31 (91.2)	32 (80.0)	63
p53	Negative	16 (47.1)	17 (42.5)	33
	Positive	18 (52.9)	23 (57.5)	41

* : Statistically significant, p value < 0.05

Table 4. The statistical analysis of immunohistochemical EGFR, c-erbB-2, p21, and p53 expression according to the histologic differentiation (%)

		Histologic differentiation			Total
		WD (n=31)	MD (n=37)	PD (n=6)	
EGFR	Negative	1 (3.2)	3 (8.1)	0	4
	Positive	30 (96.8)	34 (91.9)	6 (100)	70
c-erbB-2	Negative	26 (83.9)	26 (70.3)	4 (66.7)	56
	Positive	5 (16.1)	11 (29.7)	2 (33.3)	18
p21*	Negative	2 (6.5)	5 (13.5)	4 (66.7)	11
	Positive	29 (93.5)	32 (86.5)	2 (33.3)	63
p53	Negative	15 (48.4)	16 (43.2)	2 (33.3)	33
	Positive	16 (51.6)	21 (56.8)	4 (66.7)	41

* : Statistically significant, p value < 0.05, WD : well differentiated, MD : moderately differentiated, PD : poorly differentiated

다($p=0.002$). EGFR과 c-erbB-2는 중등도분화 이상의 암에서 양성발현이 증가하는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 상관관계는 없었다(Table 4). 원발종양병기와 EGFR, c-erbB-2, p21 및 p53의 발현 정도를 살펴보면 EGFR, c-erbB-2, 및 p53은 조기병기인 T1, 2보다 진행된 병기인 T3, 4에서 양성발현율이 높게 나타나 병기가 진행할수록 양성발현율이 증가하였고, 이와 반대로 p21은 병기가 진행할수록 양성발현율이 감소하는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 상관관계는 없었다. EGFR과 c-erbB-2사이에는 EGFR의 양성발현율이 증가할수록 c-erbB-2의 양성발현율이 증가하였고, EGFR과 p21 및 EGFR과 p53사이에는 서로 상반되는 관계를 보였으나 통계학적으로 유의하지는 않았다.

고찰

두경부 편평세포암종은 다른 암종에 비하여 보다 빈번한 재발로 인하여 치료에 곤란을 겪는 경우가 많다. 일반적으로 종양의 특성은 악성도에 의해 결정되지만 동일한 종양이라 할지라도 진단과 치료 및 예후 등이 다르므로, 각각의 종양세

포에서 성장인자와 그 수용체들, 변형된 암유전자, 그리고 종양 단백을 검색하여 서로 다른 종양에서의 악성도 및 예후와의 관계를 규명하여 임상적 예후판단 및 치료선택에 있어서 좀 더 다양하게 접근하려는 노력이 행하여지고 있다. 특히 두경부암의 발생 및 경과에 대한 특성을 결정 지을 수 있는 인자들을 찾기 위한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 최근에는 암의 발생에 대한 분자유전학적 연구가 다양하게 진행되고 있다. 그 가운데 면역조직화학적 염색법을 이용한 종양 단백질의 검색은 악성병변, 전암병변 및 양성병변을 동일 조건하에서 관찰하여 암소주위의 정상적인 조직상의 변화와 비교 검색할 수 있고 특히, 동일한 환자의 전암 병변이 악성으로 전환하였을 경우, 동일 세포 주위에서 암 유전자 산물의 관찰이 가능하기 때문에 암의 발생에 관여하는 기전을 예측할 수 있는 인자로서 주목 받고 있다.

종양 억제유전자들 중 야생형 p53(wild type p53)은 단백질로서 세포핵 내에 존재하고 세포주기의 조절에 관여하는데 스트레스 상황이나 DNA에 손상이 생기면 세포를 세포성장주기의 G1기에서 정지시키고 다른 암 억제유전자들을 활성화시킴으로써 세포의 증식과 변형을 억제하는 역할을 한다²⁾. 야생형 p53의 경우 반감기가 짧아서 일반적인 방법으로 정량적 혹은 정성적인 측정이 힘들지만 돌연변이가 생기게 되면 암 억제 기능을 하지 못하는 변이형 p53으로 변화하여 세포에 축적되며, 비정상적으로 긴 반감기를 갖게되어 면역조직화학적 검사로 검출이 가능하게 된다²⁾. 암조직에서 면역조직 화학 염색으로 발견되는 p53은 모두 변이형 이라고 할수 있다³⁾. 표제성 암에서는 p53의 돌연변이 빈도가 낮으나 침윤성 암에서는 높은 빈도로 관찰되고, 분화도가 양호한 암보다도 분화도가 낮은 암에서 현저하게 돌연변이율이 높다고 알려져 있고⁴⁾, 두경부를 비롯해 피부, 폐, 유방, 난소, 식도 및 대장 등에서 발생하는 악성종양중에서 가장 흔히 돌연변이되며, 유방암의 경우 10~40%, 폐암과 위암의 경우 64% 등으로 대부분의 암종에서 약 50% 정도 발현된다고 알려져 있는데 두경부암에서의 양성발현률은 약 40~60%로 보고되고 있다⁵⁾. 본 연구결과도 두경부 편평상피세포암종 74예중 41예(55.4%)가 양성발현을 보여 이와 유사한 결과를 보였다. p53 발현률의 임상적 의미에 대한 연구에서 임상적 병기나 조직학적 분화도와 상관관계가 있어 위, 장관 및 식도암, 폐암의 예후예측인자로써 가치가 있다는 주장이 있으며^{5,6)}, 구강 및 구인두암에서는 원발부위의 병기가 증가함에 따라 p53 양성발현률이 증가한다는 보고도 있다²⁾. 본 연구에서도 원발부위의 병기가 증가할수록 양성발현율이 증가하여 이와 유사한 결과를 보였으나 통계학적으로 유의하지는 않았다. Field 등²⁾은 말기 두경부 편평세포암 환자에서 p53에 양성 발현된 군이 그렇지 않은 군보다 예후가 나빴으며 이는 p53이 특히 말기 암 환자의 생물학적 성상

에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다고하였다. 또한 Kim 등⁶⁾은 p53이 제한적이지만 예후예측인자로써의 의미가 있음을 주장하였다. 또한 림프절 비전이군에서보다 림프절 전이군에서 양성발현이 강하게 나타났고, 임상병기가 진행할수록, 그리고 조직학적 등급이 높아질수록 양성발현율이 증가하여 이와 유사한 소견을 보였으나 예후인자로 사용할 수 있는 통계학적 연관성은 찾아볼 수 없었다.

p21은 세포성장 및 자멸사(apoptosis)에 중요한 역할을 하는 세포성장 조절요소의 하나로서, 정상 표피세포에서도 관찰된다고 하며^{2,7)}, cyclin dependent kinase 복합체에 억제자(inhibitor)로 작용하여 세포활성을 방해하며, 결과적으로 세포주기중 S기로의 진행을 막아(G1 arrest) 종양발생을 억제하고, 자연적인 세포자멸사와 손상된 유전자의 복구에도 관여한다²⁾. p21의 임상적 의미에 대하여 Dergham 등⁷⁾은 p21 양성군이 음성인 군에서보다 5년 생존율이 더욱 높았으며, 혀암과 진행된 위암환자에서 p21 양성군이 수술 후 화학치료 및 방사선치료를 있어서 더욱 예후가 좋았음을 보고하고 이로써 p21이 혀암 및 진행된 위암 환자의 슬루 관리에서 유용한 표지자 역할을 할 수 있다고 하였다. 본 연구결과 p21은 전체 두경부 편평상피세포암종 74예중 63예(85.1%)에서 양성발현을 보였으며, 이들은 저분화암에서 66.7%, 중등도분화암에서 13.5%, 고분화암에서 3.2%의 양성발현이 나타나 분화도가 낮을 수록 음성발현이 강하게 나타나고, 이와 다르게 고분화암에서 93.5%, 중등도분화암에서 86.5%, 저분화암에서 33.3%의 양성발현이 나타나 분화도가 높을수록 양성발현이 증가하는 소견을 보였고 이는 통계학적으로도 유의한 상관관계가 있었다. 한편 림프절 비전이군에서 양성발현율이 증가하였으며, 임상병기와 원발종양병기가 증가할수록 양성발현율은 감소하였으나 이는 통계학적으로 유의한 상관관계를 보이지는 않았으며, p21과 p53의 상호 상관관계에서도 유의한 상관관계를 찾을 수는 없었다.

표피성장인자수용체(EGFR)은 TGF- α 나 EGF와 결합하여 세포의 성장과 증식을 유도하는 수용체로서, 두경부의 다양한 악성종양에서 과발현이 보고되어 온것으로^{8,9)}, EGFR의 과발현은 세포의 증식 능력이 증가한 것을 의미하고, 나쁜 예후를 나타내는 종양 표지자로 연구되고 있다. EGFR의 과발현은 사람에게 있어 편평상피세포암의 특징이며 일부 장기의 암에서는 EGFR에 양성으로 반응하는 경우 분화도가 나쁘다고 한다. EGFR의 과발현은 종양의 침습, 림프절 전이 및 병리학적 병기와 관련이 있다는 보고가 있으나¹²⁾, 보고자에 따라 약간씩 상이하다. EGFR의 과발현은 유방암, 비소세포(non-small cell) 폐암, 방광암, 비신경성 뇌종양 등에서 관찰되었으며 특히 두경부 영역에서는 비인강암에서 가장 높게 발현되고 다음으로 후두암, 하인두암, 구강인두암, 구강암 순으로 발현된다는 보고가 있으며, 발생부위와 관계가 없다는

보고도 있다¹³⁾. 본 연구에서는 인두암에서 100% 양성발현되었으며 후두암에서 97.0%, 구강암에서 88.9%의 양성발현율을 보였으나 발생부위와의 통계학적 유의성은 찾을 수 없었다. EGFR은 두경부 편평상피세포암중 74예중 70예(94.6%)에서 양성발현되었고, 임상병기 I, II의 조기암군에서 88.2%의 양성발현을 보였으며, III, IV의 진행암군에서 100%의 양성발현을 보여 임상병기가 진행할수록 양성발현이 증가하는 소견을 보여 통계학적으로 유의한 상관관계가 있었다. 또한 림프절 전이군에서 양성발현이 강하게 나타나고, 증등도분화 이상의 암에서 양성발현이 증가하는 경향과, 원발종양병기가 진행할수록 양성발현율이 높게 나타나는 경향이 나타났으나 통계학적으로 유의한 상관관계는 없었다.

c-erbB-2는 쥐에서 신경아세포종의 발생과 연관된 종양 유전자로 발견되었으며, transmembrane tyrosine kinase를 활성화 시키는 암유전자의 하나로 이의 산물은 EGFR과 50%의 구조적 동질성을 가지는 유사한 당단백질로 구성된 transmembrane receptor로 일종의 성장인자수용체로 여겨지고 있다¹⁵⁾¹⁶⁾. c-erbB-2의 증폭은 정상적인 세포증식능의 소실을 가져와 인체에서 여러 종양을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 편평세포상피암에서 자주 관찰되지만 최근 들어 유방암, 난소암, 위암 등의 여러 샘암종에서도 과발현을 보인다고 보고되었고¹⁷⁾, 과발현시 전이의 가능성이 높고 불량한 예후를 보이는 것으로 보고되었으며¹⁸⁾, 면역조직화학적 검색에서도 잘 발현된다고 알려져 있다¹⁹⁾. Choi 등²⁰⁾의 연구에 의하면 타액선 종양에서 c-erbB-2의 발현은 악성종양인 경우 양성종양보다 높은 양성율을 보였다고 하였고, 병리조직학적으로 고등급인 경우 과발현율이 높았으나 그 외 연령, 성별, 종양의 크기, 림프절 전이와는 유의한 상관관계가 없다고 하였다. 본 연구결과 c-erbB-2는 두경부 편평상피세포암중 74예중 18예(24.3%)에서 양성발현되었고, 림프절 전이군에서 양성발현이 강하게 나타나고, 분화도가 나쁠수록, 그리고 원발종양병기와 임상 병기가 진행할수록 양성발현이 증가하는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 상관관계는 없었다.

한편 EGFR, c-erbB-2, p21, 및 p53 사이의 발현에 있어 상호 상관관계는, EGFR의 양성발현율이 증가할수록 c-erbB-2의 양성발현율이 증가하는 상관관계를 보이고, EGFR과 p21, 그리고 EGFR과 p53 사이에는 서로 상반되는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 연관성은 찾아볼 수 없었다. 또한 EGFR, c-erbB-2, p21, p53이 동시에 발현된 경우는 9예가 있었고 모두 음성을 보인에는 없었으나 여러 예후 관련인자들과 통계학적으로 유의한 연관은 없었다.

저자는 EGFR, c-erbB-2, p21 및 p53 등의 종양 관련 특이 단백질의 발현을 알아 보기 위해 면역조직화학 염색을 시행하였는데 해당 유전자의 산물인 단백질에 대한 특이 항체

를 사용함으로써 종양세포에서 관련 유전자의 변화를 간접적으로 파악할 수 있었다. 하지만 단백질의 비특이적 반응이나 해당 항체의 반응성, 염색, 고정 방법 등에 따라 발현율의 차이가 생길 수 있다는 점을 고려하여야 하겠다.

결론

두경부 편평세포암중 74예의 파라핀 포매조직을 대상으로 p21, p53, EGFR 및 c-erbB-2의 면역조직화학적 염색을 시행하여 그 발현율과 종양의 위치, 임상병기, 림프절 전이 유무, 조직학적 등급 및 원발종양병기와의 상관관계를 살펴보고 통계학적 분석을 통하여 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

EGFR, c-erbB-2, p21 및 p53은 두경부 편평세포암종의 증식, 침습 및 전이에 관여함을 알수 있었고, 이중에서 EGFR과 p21의 발현은 두경부 편평세포암종의 악성도나 종양병기, 조직학적분화도와와의 관련성을 결정하는데 제한적으로나마 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 따라서, EGFR과 p21은 단독적인 예후 예측인자로 사용이 가능하나, c-erbB-2 및 p53은 단독적인 예후 예측인자로서 사용은 미흡할 것으로 사료된다. 본 연구의 결과를 토대로 두경부 편평상피세포암에서 EGFR, c-erbB-2, p21 및 p53에 대한 분석을 더욱 심층화하여 두경부암의 발암 기전과 생물학적 특성을 밝힐 수 있을 것으로 생각된다. 하지만 EGFR, c-erbB-2, p21 및 p53의 발현이 두경부 편평세포암종의 악성도나 구체적인 예후와의 관련성을 결정하는데 보조적인 방법으로 사용되기 위해서는 두경부의 편평세포암종이라 할지라도 원발부위에 따라 종양의 특성이 다른점을 고려하여 동일부위에 발생된, 보다 많은 증례를 이용한 객관적인 검토가 필요하리라 여겨진다.

중심 단어 : 상피성장인자 수용체 · c-erbB-2 · p21 단백질 · p53 단백질.

References

- 1) Tahara E: *Growth factors and oncogenes in human gastric carcinoma. J Cancer Res.* 1990;116:121-128
- 2) Field JK, Malliri A, Butt SA: *P53 overexpression in the stage squamous cell carcinoma of the head and neck: Correlation with a very poor clinical outcome. Int J Oncol.* 1993;3:431-435
- 3) Bartek J, Bartkova J, Vojtes B, et al: *Patterns of expression of the p53 tumor suppressor in human breast tissues and tumors in situ and in vitro. Int J Cancer.* 1990;40:839-844
- 4) Fujimoto K, Yamada Y, Okajima E: *Frequent association of p53 gene mutation in invasive bladder cancer. Cancer Res.* 1992; 52: 1393-1398

- 5) Jung KY, Choi JO: *Clinical significance of the expression of oncosuppressor gene proteins and epidermal growth factor receptor in squamous cell carcinoma of the larynx. Korean J Otolaryngol. 1993;36:990-1004*
- 6) Kim SH, Chung DH, Yeom BW: *Expression of p53 and nm23-HI protein in laryngeal squamous cell carcinoma. Korea J Otolaryngol. 1996;39:265-272*
- 7) Dergham ST, Dugan MC, Joshi US, et al: *The clinical significance of p21 (WAF1/CIP-1) and p53 expression in pancreatic adenocarcinoma. Cancer. 1997;80:372-381*
- 8) Reynolds FH, Todaro GJ, Fryling C, et al: *Human transforming growth factor induce tyrosine phosphorylation of EGF receptors. Nature. 1981;292:259-262*
- 9) Hendler FJ, Ozanne BW: *Human squamous cell lung cancers express increased epidermal growth factor receptors. J Clin Invest. 1984;74:647-651*
- 10) Santini J, Formento JL, Francoul M, et al: *Characterization, quantification, and potential clinical value of the epidermal growth factor receptor in head and neck squamous cell carcinomas. Head & Neck. 1991;13:132-139*
- 11) Yasui W, Sumiyoshi H, Hata J, et al: *Expression of epidermal growth factor receptors in human gastric and colonic carcinomas. Cancer Res. 1988;48:137-141*
- 12) O-Charoenrat P, Rhys-Evans P, Archer DJ: *C-erbB receptors in squamous cell carcinomas of the head and neck: Clinical significance and correlation with matrix metalloproteinases and vascular endothelial growth factors. Oral Oncol. 2002;38:73-80*
- 13) Costa S, Stamm H, Almendral A: *Predictive value of EGFR in breast cancer. Lancet. 1988;26:1258-1264*
- 14) Ishtoya J, Toriyama M, Oguchi N: *Gene amplification and over-expression of EGF receptor in squamous cell carcinomas of the head and neck. Br J Cancer. 1989;59:559-563*
- 15) Shih C, Padhy LC, Murray M: *Weinberg RA transforming genes of carcinomas and neuroblastomas introduced into mouse fibroblasts. Nature. 1981;290:261-264*
- 16) Schechter AL, Hung MC, Vaidyanathan L, et al: *The neu gene: An erbB-homologous gene distinct from and unlinked to the gene encoding the EGF receptor. Science. 1985;229:976-978*
- 17) Samanta A, LeVeae CM, Dougall WC, Qian X, Greene MI: *Ligand and p185c-neu density govern receptor interactions and tyrosine kinase activation: Receptor dimerization interaction of p185c-neu receptors neu activation factor. Pro Natal Acad Sci U.S.A. 1994;91:1711-1715*
- 18) Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL: *Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the Her-2/neu oncogene. Science. 1987;235:177-182*
- 19) Barbareschi M, Leonardi E, Mauri FA, Serio G, Dalla Palma P: *P53 and c-erbB-2 protein expression in breast carcinomas: An immunohistochemical study including correlations with receptor status, proliferation markers, and clinical stage in human breast cancer. Am J Clin Pathol. 1992;98:408-418*
- 20) Choi G, Oh SC, Jung GW, Choi JO: *Amplification and overexpression of Her-2/neu in salivary gland tumor. Korean J Otolaryngol. 1996;39:81-89*