

위암에서 EphB2 단백질의 발현 양상

가톨릭대학교 의과대학 병리학교실 및 ¹외과학교실

송재휘 · 김창재 · 조용구 · 박조현¹ · 남석우 · 유남진 · 이정용 · 박원상

목적 : EphB2 수용체는 티로신 키나제 수용체 군에 속하면서 Wnt 신호 전달계의 대상 유전자로 세포의 성장 및 이동을 조절함으로써 종양의 발생과 진행을 억제한다. 연구자들은 한국인 위암에서 EphB2 단백질의 발현 변화가 위암의 발생 및 진행에 관여하는지와 위암의 병리 지표들과의 연관성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법 : 83예의 파라핀 포매된 위암조직에서 암세포들을 각각 3군데에서 편치하여 새로운 파라핀 블록으로 옮겨 위암의 고집적 tissue microarray를 제작하였다. Tissue microarray 절편에서 EphB2 단백질에 대한 항체로 면역조직화학염색을 실시한 후 그 발현 양상을 병리 지표들인 조직학적 분류, 침습 정도, 림프절 전이 및 복막 파종과의 연관성을 조사하였다.

결과 : EphB2 단백질은 정상 위 점막 상피세포의 세포막과 세포질에서 발현되고 있었고 조사된 83예의 위암 중 30예(36.1%)에서 발현이 소실되었다. 흥미롭게도 EphB2 단백질의 발현 소실은 위암의 림프절 전이와 통계적으로 연관성이 있었으나 조직학적 분류, 침습 정도 및 복막 파종과는 연관성이 없었다.

결론 : 이러한 조건들은 EphB2 수용체 단백질의 발현 소실이 위암의 발생 및 진행에 있어 중요한 과정 중의 하나임을 의미한다.

중심 단어 : Eph, 종양억제유전자, 티로신 키나제 수용체, 면역조직화학염색, 위암

서 론

위장관 점막 상피세포들은 지속적인 세포 분열, 분화, 이동 등이 정확하게 체계화된 방식으로 조절되는데, Wnt 신호 전달계와 관련된 단백질들은 이러한 위장관 상피세포의 조절 체계에 중요한 역할을 한다.(1,2) Wnt 신호 전달계에서 세포내 β -catenin의 안정화는 세포의 항상성 유지에 가장 중요하며 APC (adenomatous polyposis coli), axin, GSK-3 β

및 β -TRCP 등에 의해 엄격히 조절되고 있다.(3) β -catenin 유전자 자체 또는 β -catenin 단백질의 안정화와 관련된 상기 유전자들의 변이에 의한 β -catenin/Tcf 신호 전달계의 활성화는 위암을 비롯한 인체 여러 종양에서 보고되어 있으며,(4-6) β -catenin/Tcf 신호 전달계의 대상 유전자 발현 및 발암 연관성에 대한 연구들이 진행되고 있다.

한편, Eph 수용체(receptor)는 티로신 키나제 수용체군(receptor tyrosine kinase family)에 속하며 발생 단계와 성숙한 조직의 다양한 세포에서 발현하고 인접한 세포의 표면에 발현하는 ephrin 리간드(ligand)와 결합하여 세포간 상호작용, 세포의 성장 및 이동(migration)을 조절함으로써 인체의 발생과정에서 방향성과 항상성 유지에 중요한 역할을 한다.(7,8) 이러한 Eph 수용체들은 결합하는 리간드에 따라 ephrin-A에 결합하는 경우 EphA, ephrin-B와 결합하면 EphB로 명명한다.(9) 흥미롭게도 장 상피세포에서 EphB와 ephrin-B 유전자들의 발현은 β -catenin/Tcf 신호 전달계에 의해 조절되며 선외축(crypt axis)에 따라 세포들을 구획화(compartmentalization)함으로써 장 상피세포들의 위치 선정을 도와 주고 세포 증식을 조절하여 종양의 발생과 진행을 억제하는 것으로 알려지고 있다.(10) 최근 보고에 의하면, EphB 수용체의 단백질 발현이 대장의 선종에서 대장암으로 진행되는 과정에 소실되었으며 대장암에서는 암 조직의 악성 정도와 연관성이 있었고, EphB 단백질의 불활성화는 APC^{min/+} 마우스의 대장과 직장에서 발암 촉진과 함께 악성도가 높은 샘암종을 형성하였다.(11) 또한, EphB2 수용체에 대한 면역조직화학염색 연구에서는 EphB2 단백질이 모든 정상 대장 점막의 선외세포에서 발현되었으나, 원발성 대장암의 44.6%에서 발현이 소실되면서 대장암의 병기, 분화, 예후 등과 연관성이 있어 EphB2 단백질은 대장암의 침습 및 전이 등의 암 진행과정에서 발현이 소실되는 것으로 알려졌다.(12) 이와 함께, 대장암 조직을 이용한 유전자 변이 및 후생적 변화 조사에서는 EphB2 유전자의 돌연변이와 promoter 부위의 과메틸화(hypermethylation)가 발견되어 EphB2는 대장암의 발생 및 진행에 관련된 종양억제유전자 중의 하나로 여겨진다.(13) 이러한 연구 결과들을 바탕으로 연구자들은 EphB2 단백질의 발현은 Wnt 신호 전달계가 활성화되어 있는 모든 암종의 발생 및 진행과 연관성이 있을 것으로 생각하였다.

본 연구에서는 EphB2 단백질이 대장암에서뿐만 아니라 위

책임저자 : 박원상, 서울특별시 서초구 반포동 505번지
가톨릭대학교 의과대학 병리학교실, 137-701
Tel: 02-590-1192, Fax: 02-537-6586
E-mail: wonsang@catholic.ac.kr

접수일 : 2006년 3월 2일, 게재승인일 : 2006년 3월 31일
본 연구는 한국과학재단 기초의과학연구센터사업지원으로 수행되었음.

암의 발생 및 진행에서 종양억제유전자로 작용하는지를 알아보고자 한국인 위암 83예를 포함하는 tissue microarray를 제작한 다음 면역조직화학염색법으로 EphB2 단백 발현 양상을 조사하고 병리지표들과의 상관관계를 비교하였다.

방 법

1) 대상

1998년부터 2000년까지 위 샘암종(adenocarcinoma)으로 진단받고 위절제술을 시행한 환자의 파라핀 포매 위 샘암종 조직 중에서 보관상태가 양호한 83예를 연구대상으로 하였다. 환자의 연령은 22세에서 80세 사이였으며 평균 56.3세였고 남녀 비는 1.8 : 1이었다. 암세포의 위벽 침습 정도에 따른 조기위암은 전체 83예 중 26예, 진행성 위암은 57예였으며, Lauren 씨 분류로는 미만형(diffuse)이 36예, 장형(intestinal)이 47예였다.(14)

2) Tissue microarray의 제작

파라핀 블록으로 조직 절편을 제작한 다음 hematoxylin & eosin 염색으로 정상 위 점막과 암 부위를 선정하였다. 정상 위점막은 30예의 위암 블록을 대상으로 단순 위염, 위축(atrophy), 장형화생(intestinal metaplasia) 및 증식성 변화가 포함되도록 하였고 진행성 암인 경우는 위벽의 층에 따라 3군데를, 조기위암은 점막과 점막하층에서 3군데를 선정하여 사용하였다. Tissue arrayer (Beecher instruments, Silver Spring, MD, USA)를 이용하여 선정된 영역에 해당하는 파라핀 포매 조직을 0.6 mm 크기로 펀치하여 조직을 새로운 블록으로 옮겼다. 조직의 배열은 암조직을 가운데 두고 테두리에 정상 위점막이 배치하도록 하였다.

3) 면역조직화학염색

EphB2 단백질의 발현을 확인하기 위해 항 EphB2 항체(Stratagene, La Jolla, CA, USA)를 1 : 100으로 희석하여 사용하였다. 발현정도를 높이기 위해 항원회복법과 tyramide signal amplification kit (NEN Life Science, Boston, MA, USA)를 사용하였는데, 이 kit에는 정상 혈청, streptavidin-peroxidase 그리고 biotinylated tyramide가 포함되어 있다. Tissue microarray 파라핀 면역조직화학염색은 다음의 두 가지 기준으로 EphB2 항체의 특이성을 확립하였다. 첫째, 동일 희석배수로 정상 조직 혈청을 사용하여 면역조직화학염색을 하였을 때 모든 세포가 음성이었다. 둘째, EphB2 단백질 발현의 양성 대조군으로 대장 점막을 사용하였다.

Tissue microarray 블록을 5µm 두께로 박절하여 poly-L-lysine-coated slide 위에 부착시키고 60°C에서 2시간 건조시켰다. 항원 회복(antigen retrieval)을 위해 citrate buffer (0.01 mol/L, pH 5.6)에 탈파라핀된 조직절편이 부착된 슬라이드를 담그고 pressure cooker를 이용하여 microwave (750 W)에

5분간 3회 가열하고 20분간 pressure cooker 안에 유지시켰다. Phosphate-buffered saline (PBS)에 수세한 후 1% 과산화수소에서 내인성 peroxidase 활성을 억제시켰다. TNT buffer (0.1 mol/L Tris-HCl, pH 7.4, 0.15 mol/L NaCl and 0.05% Tween 20)로 10분간 2번 수세한 후 TNB buffer (0.1 mol/L Tris-HCl, pH 7.4, 0.15 mol/L NaCl and 0.5% blocking reagent)를 처치하였다. PBS로 수세한 후 1 : 100으로 희석된 EphB2 항체를 가하고 4°C에서 밤새 반응시켰다. 이후 biotin과 결합된 이차 항체를 가하고 37°C에서 50분간 반응시킨 후 streptavidin-peroxidase 복합체를 가하고 실온에서 30분간 방치시킨 다음, biotinylated tyramide를 실온에서 7분간 처리하였다. 각 반응 단계마다 TNT buffer에 5분씩 3번 수세한 후 다음 단계를 실시하였다. 반응산물은 diaminobenzidine (Sigma, St Louis, MO, USA)으로 발색시키고 hematoxylin으로 대조 염색한 다음 흐르는 물에 세척하고 발삼으로 봉합하였다. 염색 결과는 3명의 병리의사가 독립적으로 판단하였는데 정상의 위점막에서는 모든 상피세포가 양성 반응을 보여 위암의 경우 각 예마다 3군데의 조직 중 2군데 이상에서, 그리고 Battle 등(11)의 면역조직화학염색 결과 판독 기준에 따라 각각 25% 이상의 암세포에서 발현된 경우를 양성으로 판정하였다.

결 과

면역조직화학염색상 EphB2 단백질은 위 점막 상피세포에서 발현되었으며 주로 세포막과 세포질에서 양성되었고, 일부 점막상피세포와 점막의 아래쪽(lower portion)에 있는 세포들의 핵에서 양성 반응을 보였다(Fig. 1). 위 점막 고유판의 림프구를 비롯한 염증세포에서는 국소적으로 EphB2 단백질에 대한 약한 양성반응을 관찰할 수 있었다. 위암 조직 주위에서 흔히 관찰되는 정상 위 점막의 증식성 샘(gland), 장형화생, 그리고 위축성 변화에 따른 EphB2 단백질의 발현 차이는 발견할 수 없었다. 위암 조직 내 암세포에서 EphB2 단백질 발현이 양성인 예는 모두 83예 중 53예(63.9%)로 30예(36.1%)에서는 EphB2 단백질 발현이 현저히 감소하였거나 소실되어 있었다(Table 1). 흥미롭게도, EphB2 단백질 발현이 양성으로 관찰된 위암에서는 대부분의 암세포에서 양성을 보였으며 그 발현 정도는 정상 위 점막에서의 발현과 큰 차이가 없거나 강한 양성 반응을 보였다. Lauren씨의 조직학적 분류에 따른 미만형 위암 36예 중 20예(55.6%)에서, 그리고 장형 47예 중 33예(70.2%)에서 EphB2의 발현을 관찰할 수 있었는데 통계적으로 미만형과 장형의 조직학적 분류는 위암의 EphB2 단백질 발현 소실과 연관성이 없었다(Chi-Square test, P=0.1683). EphB2의 발현과 위암의 진행과 관련된 병리적 인자들 간의 비교에서는 림프절 전이와 상관없이 점막 하층까지 암세포의 침윤이 있는 조기 위암은 61.5% (26예 중 16예)에서, 진행성 위암에서는 64.9% (57예 중 37예)에서

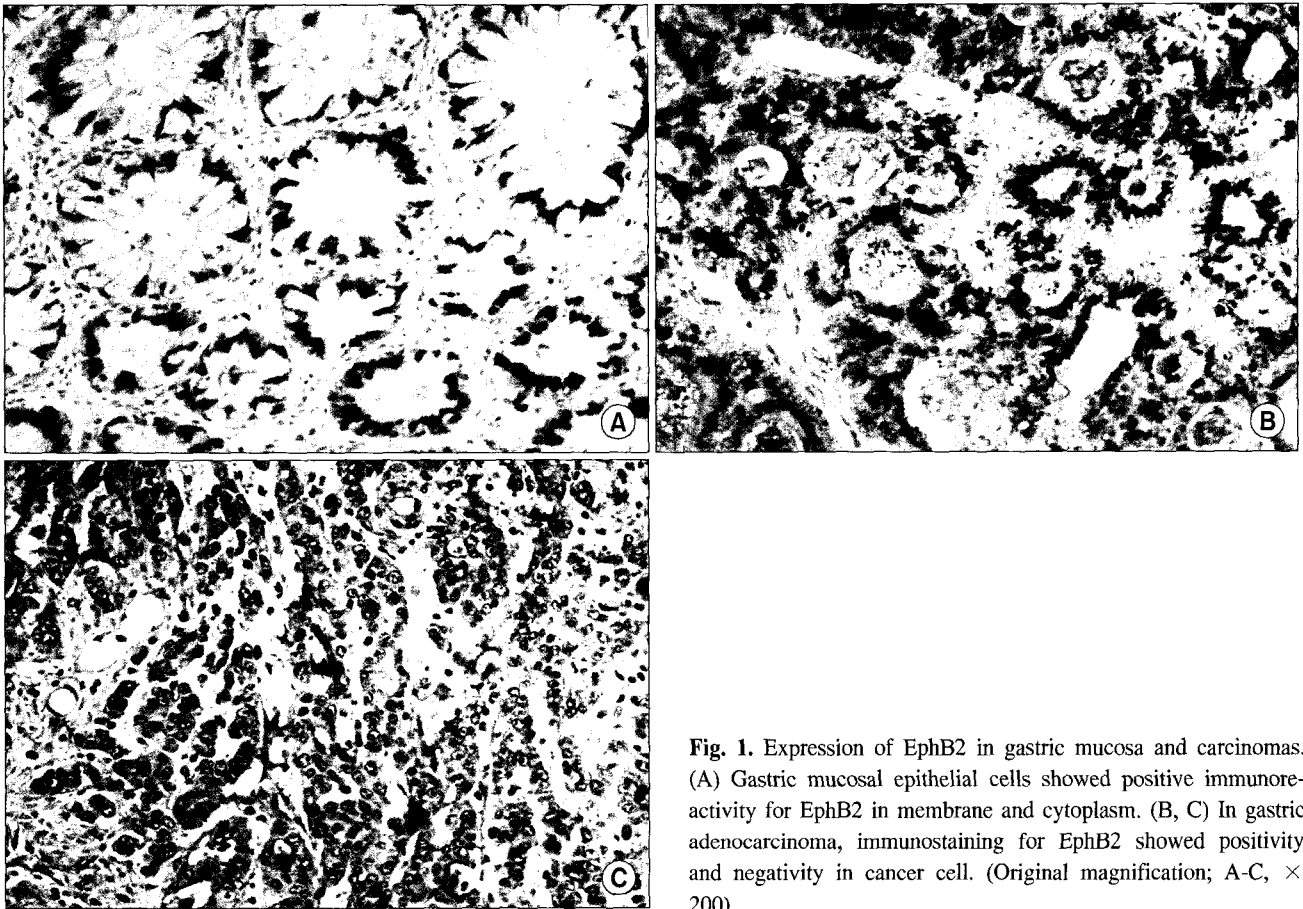


Fig. 1. Expression of EphB2 in gastric mucosa and carcinomas. (A) Gastric mucosal epithelial cells showed positive immunoreactivity for EphB2 in membrane and cytoplasm. (B, C) In gastric adenocarcinoma, immunostaining for EphB2 showed positivity and negativity in cancer cell. (Original magnification; A-C, × 200).

Table 1. Correlation between EphB2 expression and pathologic parameters

Pathologic parameters	EphB2		P-value*
	+	-	
Depth of invasion			0.7667
EGC	16	10	
AGC	37	20	
Histologic type			0.1683
Intestinal	33	14	
Diffuse	20	16	
L/N [†] metastasis			0.0344
+	23	20	
-	30	10	
Peritoneal dissemination			0.8993
+	10	6	
-	43	24	
Total	53	30	

*Chi-Square test; [†]lymph node.

EphB2 단백질 발현을 관찰할 수 있었다(Chi-Square test, P=0.7667). 한편 위 주위 림프절로의 전이가 있었던 43예 중 23예(53.5%), 전이가 발견되지 않았던 40예 중 30예(75.0%)에서 EphB2 단백질 발현이 관찰되어 통계적으로 전이가 있는 위 샘암종에서 EphB2 단백질 발현 소실의 빈도가 높았다(Chi-Square test, P=0.0344). 그러나 복막 파종(peritoneal dissemination)과 EphB2 단백질 발현 소실과는 통계적으로 의미있는 연관성을 발견할 수 없었다(Table 1).

고 찰

Eph 수용체는 티로신 키나제 수용체의 가장 큰 군으로 종에 따라 13개에서 15개의 수용체로 구성되어 있다. 초기에 이 수용체는 orphan 수용체로 알려졌으나 지금은 EphB 수용체와 리간드의 상호작용이 개체의 분절 양상(segmental patterning), 신경섬유 축색돌기(axon)의 유도, 시냅스(synapse)의 형성 및 신생혈관 형성에도 중요한 역할을 한다는 것이 밝혀졌다. 또한 Eph 수용체와 리간드인 ephrin은 양방향 신호를 전달한다는 점에서 한 방향으로 신호를 전달하는 다른 수용체와 리간드들과는 다른 특징을 보이고 있다.(7,8) 한편, Eph 수용체 중 EphB2는 세포 내 세포막에서 주로 발

현하고 있으나 인체 여러 종양 조직에서 실시한 면역조직화학염색 결과를 보면 세포막과 함께 세포질에서도 발현되고 있다. 특히, 상피세포 암종인 유방암과 난소암에서는 세포막보다는 세포질에서 주로 발현되고 있으며, (15,16) 대장암 세포에서는 주로 세포막에서 발현되고 있으나 세포질에서도 양성 반응이 관찰되고 있다. (17) 위암을 대상으로 EphB2 단백질의 발현을 조사한 본 연구에서도 세포막과 함께 세포질에서 양성 반응을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 세포 내 EphB2 단백질의 국재(localization)는 사용한 항체 및 단백질의 활성화에 따라 면역조직화학염색의 결과가 다를 가능성을 배제할 수 없으므로 앞으로 각 조직에서 세포막, 세포질 등의 단백질 분획을 이용한 분석이나 EphB2 단백질의 활성화와 관련된 기능적 연구가 필요할 것이라 생각한다.

EphB2 수용체 단백질은 대장암을 비롯한 여러 종류의 인체 암에서 과발현되어 있으며, EphB2의 발현 증가는 세포의 이동, 침윤, 전이 및 신생혈관 형성을 유도하여 암 발생을 촉진한다. (8,18,19) 이는 대장암 발생의 초기에 APC 또는 β -catenin 유전자의 변이로 인해 활성화되는 Wnt 신호 전달계의 대상 유전자 중 하나가 EphB2임을 뒷받침하는 사실로, (10,20,21) 흥미롭게도 대장암 세포주에서 β -catenin/Tcf4 단백질의 불활성화는 EphB2 발현을 감소시켰다. (22) 또한, APC 유전자를 knock-out시킨 마우스의 소장에서는 EphB2의 발현이 증가하였으며, (23) EphB2를 발현하는 세포는 소장의 선와(crypt)에 위치한 미분화세포와 마찬가지로 핵 내 β -catenin의 축적을 관찰할 수 있어 Wnt 신호 전달계가 활성화되어 있음이 알려졌다. (22) 이러한 결과들은 EphB2가 인체 암의 발생에서 Wnt 신호 전달계와 관련하여 종양 유전자로 작용함을 의미한다.

그러나 전립선 암 조직에서 EphB2의 불활성화 돌연변이가 발견되었고 전립선 세포주에 야생형의 EphB2 유전자를 이입(transfection)한 결과, 세포 성장 및 콜로니 형성을 억제하였다. (24) EphB2 단백질 발현 연구 결과를 보면, 대장 샘암종의 모든 예에서 50% 이상의 암 세포에서 발현을 관찰할 수 없었고 이 중 25%의 샘암종에서는 모든 암 세포에서 EphB2 발현이 음성이었으며, APC^{Min/+} 마우스에서 변이형의 EphB2는 대장과 직장에 종양 형성을 촉진하였다. (11) 또한, 대장의 샘종 21%와 대장암 41%에서 EphB2 유전자의 엑손 17번 내에 존재하는 A(9) 반복 서열에서 격자이동(frameshift) 돌연변이가 관찰되었고 53%의 대장암에서 과메틸화가 관찰되어 EphB2 유전자는 다른 종양억제유전자와 같이 돌연변이와 과메틸화에 의해 불활성화되는 것으로 보고되어 있다. (13) 이러한 소견들은 EphB2 유전자가 종양억제 유전자임을 시사하는 소견으로 상기의 결과들과 상반된 결과라 할 수 있다. 기존의 연구들이 소규모 인체 암 조직을 이용한 면역조직화학염색 결과임에 비하여 최근의 연구 결과들은 대단위면서 암 진행 단계별 조직에서 면역조직화학염색을 실시한 결과이고 세포주와 마우스를 이용

한 기능적 연구의 결과들이므로 EphB2는 Wnt 신호 전달계에 의해 조절되며 인체 암 발생에 있어 종양억제유전자 역할을 한다고 판단된다.

본 연구에서는 EphB2 유전자가 위암의 발생 및 진행에서 종양억제유전자로 작용하는지를 알아보려고 위암 83예를 대상으로 면역조직화학염색을 실시하여 발현 양상을 병리 지표들과 비교 분석하였다. 그 결과 위암 83예 중 30예(36.1%)에서 EphB2 단백질의 발현이 소실되어 있었으며 위주위 림프절로 전이가 있는 위암에서 EphB2 발현의 소실이 흔하게 관찰되어 EphB2 유전자가 암의 진행과 암세포의 분화에 관련된 종양억제유전자라는 기존의 연구 결과들과 일치한다고 할 수 있다. (11,12) 결론적으로, 이러한 결과는 EphB2 수용체 단백질은 대장암뿐만 아니라 위암의 발생 및 진행에도 관여한다는 것을 의미한다. 한편, 본 연구에서 위암의 조직학적 분류, 고유근층 이상으로의 침습 여부와 복강 내 파종은 EphB2 단백질의 발현 소실과 통계적으로 연관성이 없었는데, 이는 아마도 조기 위암이나 복강 내 파종 양성인 예들이 적었기 때문임을 배제할 수 없으므로 앞으로 좀 더 많은 예를 대상으로 EphB2 단백질 발현을 조사하는 것이 필요할 것이다.

최근, Clevers와 Battle(10)은 장 상피세포에서 Wnt 신호 전달계와 관련된 유전자가 불활성화되면 EphB 수용체는 주변 상피세포의 ephrin 리간드와 상호작용하여 비정상 상피세포를 구획화하여 증식과 확장(expansion)을 억제한다고 보고하였다. 그러나 EphB 수용체의 발현이 소실되면 비정상 상피세포가 주변 정상조직으로 확장성 증식을 한다는 새로운 개념의 종양억제유전자 기능을 제시하였다. 이러한 개념은 암 발생 초기에 종양의 발생과 관련된 다른 유전자들의 기능 변화가 있는 세포에서 EphB2 유전자의 기능 소실이 동반되어 암이 발생하고 진행한다는 것을 의미한다. 앞으로 EphB2 유전자의 종양억제 기전을 파악하고 위암을 비롯한 인체 암조직에서 EphB2 유전자의 불활성화 및 발현 소실 기전에 대한 분자생물학적인 연구가 필요하다고 생각한다.

결 론

한국인 위샘암종 83예를 대상으로 tissue microarray를 제작한 다음 장 상피세포의 성장과 이동을 조절함으로써 발암을 억제하는 EphB2 단백질이 위암의 발생에 관련되는지를 알아보려고 EphB2 단백질 발현을 면역조직화학염색법으로 조사하였다. 위암 36.1%에서 EphB2 단백질의 발현 소실을 관찰할 수 있었고, EphB2 단백질 발현의 소실은 위암의 림프절 전이와 통계적으로 연관성이 있었다. 그러나 위암세포의 조직학적 분류, 침윤 정도 및 복막 파종은 EphB2 단백질 발현과 통계적으로 무관하였다. 앞으로 대규모 암조직을 이용한 연구가 필요하나 상기의 결과들은 EphB2 유전자가 대장

뿐만 아니라 위에서도 종양억제유전자로 역할을 하여 위 점막 상피세포의 성장과 이동을 조절함으로써 위암의 발생 및 진행을 억제한다는 것을 의미한다.

REFERENCES

1. Bienz M, Clevers H. Linking colorectal cancer to Wnt signaling. *Cell* 2000;103:311-320.
2. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996;87:159-170.
3. Polakis P. Wnt signalling and cancer. *Genes Dev* 2000;14:1837-1851.
4. Fodde R, Smits R, Clevers H. APC: signal transduction and genetic instability in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2001;1:55-67.
5. Clements WM, Wang J, Sarnaik A, Kim OJ, MacDonald J, Fenoglio-Preiser C, Groden J, Lowy AM. Beta-catenin mutation is a frequent cause of Wnt pathway activation in gastric cancer. *Cancer Res* 2002;15:3503-3506.
6. Ebert MP, Fei G, Kahmann S, Muller O, Yu J, Sung JJ, Malfertheiner P. Increased beta-catenin mRNA levels and mutational alterations of the APC and beta-catenin gene are present in intestinal-type gastric cancer. *Carcinogenesis* 2002;23:87-91.
7. Zisch AH, Pasquale EB. The Eph family: a multitude of receptors that mediate cell recognition signals. *Cell Tissue Res* 1997;290:217-226.
8. Dodelet VC, Pasquale EB. Eph receptors and ephrin ligands: embryogenesis to tumorigenesis. *Oncogene* 2000;19:5614-5619.
9. Eph Nomenclature Committee. Unified nomenclature for the Eph family receptors and their ligands, the ephrins. *Cell* 1997;90:403-404.
10. Clevers H, Battle E. EphB/EphrinB receptors and Wnt signaling in colorectal cancer. *Cancer Res* 2006;66:2-5.
11. Battle E, Bacani J, Begthel H, Jonkheer S, Gregorieff A, van de Born M, Malats N, Sancho E, Boon E, Pawson T, et al. EphB receptor activity suppresses colorectal cancer progression. *Nature* 2005;435: 1126-1130.
12. Guo DL, Zhang J, Yuen ST, Tsui WY, Chan AS, Ho C, Ji J, Leung SY, Chen X. Reduced expression of EphB2 that parallels invasion and metastasis in colorectal tumors. *Carcinogenesis* 2006;27:454-464.
13. Alazzouzi H, Davalos V, Kokko A, Domingo E, Woerner SM, Wilson AJ, Konrad L, Laiho P, Espin E, Armengol M, et al. Mechanisms of inactivation of the receptor tyrosine kinase EPHB2 in colorectal tumors. *Cancer Res* 2005;15:10170-10173.
14. Shin HR, Jung KM, Won YJ, Park JG. 2002 Annual report of the Korea Central Cancer Registry: based on registered data from 139 hospitals. *Cancer Research Treatment* 2004;36:103-114.
15. Wu Q, Suo Z, Risberg B, Karlsson MG, Villman K, Nesland JM. Expression of EphB2 and EphB4 in breast carcinoma. *Pathol Oncol Res* 2004;10:26-33.
16. Wu Q, Suo Z, Kristensen GB, Baekelandt M, Nesland JM. The prognostic impact of EphB2/B4 expression on patients with advanced ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2006; [Epub ahead of print].
17. Jubb AM, Zhong F, Bheddah S, Grabsch HI, Frantz GD, Mueller W, Kavi V, Quirke P, Polakis P, Koeppen H. EphB2 is a prognostic factor in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:5181-5187.
18. Wu Q, Suo Z, Risberg B, Karlsson MG, Villman K, Nesland JM. Expression of EphB2 and EphB4 in breast carcinoma. *Pathol Oncol Res* 2004;10:26-33.
19. Nakada M, Niska JA, Miyamori H, McDonough WS, Wu J, Sato H, Berens ME. The phosphorylation of EphB2 receptor regulates migration and invasion of human glioma cells. *Cancer Res* 2004;64:3179-3185.
20. Powell SM, Zilz N, Beazer-Barclay Y, Bryan TM, Hamilton SR, Thibodeau SN, Vogelstein B, Kinzler KW. APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis. *Nature* 1992;359:235-237.
21. Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, Barker N, Clevers H, Vogelstein B, Kinzler KW. Activation of betacatenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in betacatenin or APC. *Science* 1997;275:1787-1790.
22. van de Wetering M, Sancho E, Verweij C, de Lau W, Oving I, Hurlstone A, van der Horn K, Batlle E, Coudreuse D, Haramis AP, et al. The betacatenin/TCF-4 complex imposes a crypt progenitor phenotype on colorectal cancer cells. *Cell* 2002;111:241-250.
23. Sansom OJ, Reed KR, Hayes AJ, Ireland H, Brinkmann H, Newton IP, Battle E, Simon-Assmann P, Clevers H, Nathke IS, et al. Loss of Apc in vivo immediately perturbs Wnt signaling, differentiation, and migration. *Genes Dev* 2004;18:1385-1390.
24. Huusko P, Ponciano-Jackson D, Wolf M, Kiefer JA, Azorsa DO, Tuzmen S, Weaver D, Robbins C, Moses T, Allinen M, et al. Nonsense-mediated decay microarray analysis identifies mutations of EphB2 in human prostate cancer. *Nat Genet* 2004;36:979-983.

= Abstract =

Expression Pattern of EphB2 in Gastric Cancer

Jae Hwi Song, M.D., Chang Jae Kim, M.D., Young Gu Cho, M.D., Cho Hyun Park, M.D.¹, Suk Woo Nam, Ph.D., Nam Jin Yoo, M.D., Jung Young Lee, M.D. and Won Sang Park, M.D.

Departments of Pathology and ¹Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Purpose: The EphB2 receptor, a member of the receptor tyrosine kinase family, is a target gene of the Wnt signaling pathway and may achieve a tumor suppressor function through regulation of cell growth and migration. Our aim was to determine whether an altered expression of EphB2 might be associated with gastric cancer development and, if so, to determine to which pathologic parameter it is linked.

Materials and Methods: For the construction of the gastric cancer tissue microarray, 83 paraffin-embedded tissues containing gastric cancer areas were cored 3 times and transferred to the recipient master block. The expression patterns of EphB2 were examined on tissue microarray slides by using immunohistochemistry and were compared using pathologic parameters, including histological type, depth of invasion, lymph node metastasis, and peritoneal dissemination.

Results: The EphB2 protein was expressed in the normal gastric mucosal epithelium, especially in the bottom of the mucosa. We found loss of EphB2 expression in 30 (36.1%) of the 83 gastric cancer tissues. Statistically, loss of EphB2 expression was more common in gastric cancer with lymph-node metastasis. There was no significant correlation between EphB2 expression and depth of invasion, histologic type, or peritoneal dissemination.

Conclusion: Our findings suggest that loss of EphB2 expression may represent a critical step in gastric carcinogenesis. (J Korean Gastric Cancer Assoc 2006;6:25-30)

Key Words: Eph, Tumor suppressor gene, Tyrosine kinase receptor, Immunohistochemistry, Gastric cancer