

타액선 종양에서 종양증식 관련인자 발현에 관한 면역조직화학적 연구

김한석 · 김성민 · 박영욱

강릉대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY ON EXPRESSION PATTERNS OF TUMOR GROWTH RELATED FACTORS IN SALIVARY GLAND TUMORS

Han-Seok Kim, Soung-Min Kim, Young-Wook Park

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry,
Kangnung National University, Gangneung, Korea*

Objective : Lots of papers have revealed that tumor growth related factors such as EGF, EGFR, c-erbB-2 play an important role in tumorigenesis and proliferation. These factors are found in most tumors of ectodermal origin. But, documentations of tumor growth related factors on salivary gland tumors were rare. Therefore, we determined expressions of tumor growth related factors: PCNA, p53, EGF, EGFR, c-erbB2(HER-2), Maspin, DMBT-1, N-Ras in representative salivary gland tumors.

Materials and methods : A few types of salivary tumors were examined by immunohistochemical assays. Each antibody was applied to specimens of tumors. Specimens were composed of 5 pleomorphic adenomas (PA), 3 mucoepidermoid carcinomas (MEC), 2 adenoid cystic carcinomas (ACC) and 2 squamous cell carcinomas (SCC) from 12 patients. One specimen was selected randomly as negative control. For evaluation of staining intensity, each stained sample was divided into 5 grade: no staining, obscure, weak staining, moderate staining, strong staining.

Results : Strong expressions of PCNA were found in all tumors except of PA. EGF was expressed strongly in SCC, ACC sequently. But in both PA and MEC, EGF expression was weak. EGFR and c-erbB-2 expression showed similar patterns in all salivary gland tumor tissues. P53 showed weak expression generally in all salivary gland tumors. DMBT-1 was expressed in SCC rather than in ACC or in MEC. N-Ras showed weak expressions in all salivary gland tumors except of squamous cell carcinoma.

Conclusion : Taken together, tumor growth related factors were expressed in salivary tumors as well as mucosal squamous cell carcinoma. Especially EGFR and c-erbB-2 could be candidates as diagnostic markers for estimating clinical grade of salivary gland tumors. But further studies with reliable methods will be needed to confirm the results of this study.

Key words: Salivary gland tumors, Tumor growth related factors, Immunohistochemical assays

※ 본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임 (과제고유번호 : A060174).

I. 서 론

타액선 악성종양의 발생빈도는 미국 암협회에 따르면 인구 100,000명당 2.5-3명이며, 두경부 종양의 약 5% 이상을 차지한다¹⁾. 이중 약 20%가 악성종양으로 타액선 종양은 이하선, 악하선, 설하선의 주타액선 혹은 구개부, 혀, 입술, 구강점막에 광범위하게 분포되어 있는 약 600-1,000개의 소타액선으로 부터 발생될 수 있다. 타액선 악성종양의 부위별 발생빈도는 이하선 종양에서 17-34%, 악하선 종양 30-55%, 설하선 종양 80-90% 그리고 소타액선 종양에서 40-85%로 보고되고 있다²⁾.

타액선 종양의 특성상 주변 인접 신경조직으로의 침투성을 보이는 등 재발율이 높아 치료에 실패하는 경우가 많다. 따라서 종양의 발생기전에 관한 지식이 필요하다. 신호전달계에 관하여 많은 연구가 이루어진 상피성 비타액선 두경부 종양³⁻⁴⁾과는 달리 타액선 종양에 대한 연구는 상대적으로 미미하다. 이런 관점에서 타액선 종양의 신호전달계에 관한 연구가 필요하다.

상피성장인자 수용체 (epidermal growth factor receptor: EGRF)는 erbB군 타이로신 키나제 수용체의 하나로 (erbB1/HER1)⁵⁾ 이 수용체의 활성화는 태아발달 및 증배엽과 외배엽기원성 장기들, 즉 뇌, 심장, 폐 등의 생성에 필수적이다⁶⁻⁸⁾. 그러나 성인에서는 생리적 역할이 거의 소멸하게 된다⁹⁾. 이 수용체의 성인에서의 발현은 두경부암, 자궁암, 식도암, 방광암등에 있어 강력한 예후인자로서 평가되고 있다¹⁰⁾. 이 수용체는 세포막에 위치하며 상피성장인자 (epidermal growth factor: EGF)나 전환성장인자 (transforming growth factor: TGF)- α 와 같은 특정 리간드가 세포의 도메인에 결합됨으로써 활성화되면 세포내 키나제 경로의 활성화를 통해 세포핵 내에서 전사요소들을 활성화시킨다. 이러한 기전으로 암세포의 증식, 혈관형성이나 암세포의 부착과 침윤성, 그리고 단백분해효소의 생성과 같은 과정을 조절하는 것으로 알려져 있다¹¹⁻¹³⁾.

상피성장인자 (epidermal growth factor: EGF)는 유사분열 촉진인자로서 여러 조직에서 세포의 증식과 분화과정 및 대사과정에 주요한 역할을 하며 주로 타액선과 신장에서 생성된다. 그러나 타액선에서 이 인자의 분비 기전은 아직 알려진 바 없다¹⁴⁾. 다양한 암세포들의 연구에서 세포이동성과 침투성을 증가시킨다고 보고되었다¹⁵⁾.

P53은 DNA가 손상 받을시 아포프토시스를 일으키거나 세포주기를 억제하는 기능을 가진 단백질이다. 기능 부재시에는 암세포로의 변환을 일으킬 수 있다¹⁶⁾. 작용기전으로는 궁극적으로 interleukin converting enzyme-like protease 혹은 세포벽을 소화할 수 있는 caspases를 활성화해 아포프토시스를 일으킨다¹⁷⁾.

암세포의 증식능력 측정은 암세포 활동의 예측 가능한 인

자로서 사용되어왔다. 증식성 핵항원 (proliferating cell nuclear antigen: PCNA)은 링모양의 삼량체이며 DNA 중합효소에 있어 보조요소로서 DNA의 복제에 있어 중요한 단백질이다. 또한 키나제 복합체와 더불어 세포주기를 조절하는 역할을 한다. 부가적으로 손상된 DNA 수복시 연관요소로서 작용한다¹⁸⁾. 이 단백질은 양성 및 악성 병소에서 세포 복제시 발견된다. 더 파괴적인 종양에서 이러한 인자가 과발현되는 것이 관찰되었다¹⁹⁾.

Maspin (mammary serpin)은 세린 단백분해효소 억제제군 (serine protease inhibitor family)의 하나로써 정상 유방상피세포에서 발견되나 유방암과 전이세포들에서는 낮게 조절되거나 발현되지 않는다²⁰⁾. 유방암과 고환암에 있어 종양세포의 운동성, 침습과 전이 수준에서 작용함으로써 암 억제 활성을 가지고 있다고 알려져 있다²¹⁾.

DMBT-1 (deleted in malignant brain tumor 1)은 scavenger receptor cysteine-rich superfamily의 하나로써 뇌, 폐, 식도, 위, 결장직장암에 있어 종양억제인자로 꼽히고 있다. 근거로는 이러한 종양들에서 동형접합체상실 (homozygous deletion)과 mRNA의 결핍이 자주 관찰되기 때문에 보고되고 있다²²⁻²⁵⁾.

정상세포 및 변형된 세포 성장의 조절에 중심적 역할을 하는 Ras 단백질은 핵산 결합단백질로서 21 kDa이며 정상세포 세포막에서 불활성 GDP결합 상태와 활성 GTP 상태 사이를 순환한다. 성장인자 리간드가 결합되면 GEFs (guanine nucleotide exchange factors)로 하여금 Ras를 활성 상태로 가게 한다. 불활성 상태로의 변화는 GTPase-activating-protein (GAPs)의 부착에 의해 이루어 진다²⁶⁾. Ras 단백질은 세포막에서의 다양한 정보를 받아들여 다양한 경로를 통하여 세포성장을 일으키게 하는, 정보를 번역 (translating)하는 조절문(control gate)의 역할을 한다²⁷⁾. Ras 단백질은 인간 종양에서 약 30%의 변이가 관찰되는데 이 변이 단백질은 GAPs의 작용에 저항함으로써 구조적인 활성상태를 나타내게 된다. 이번 연구에 포함된 N-ras 단백질은 Ras family (N-, K-, H-Ras)중 하나로써 조혈세포의 변환에 주요한 작용을 하는 것으로 알려져 있다²⁸⁾.

위의 연구 결과들은 EGFR 및 그 리간드, 그리고 종양발생에 관련된 다양한 인자들이 종양의 증식과 전이에 중요한 역할을 하고 있음을 보여준다. 이들 인자들의 연구는 대부분 두경부 편평상피세포암 및 비타액선 세포주에 관한 연구들로써 아직 타액선종양에 대한 연구는 미미한 실정이다.

이에 본 연구진은 대표적인 타액선 종양인 선양낭성암종, 점액표피암종, 다형성선종에서 종양증식 관련인자인 EGFR, EGF, c-erbB-2(HER-2), PCNA, P53, Maspin, DMBT-1, N-ras 의 발현 정도를 평가하고, 이를 구강점막 편평상피세포암종에서의 발현정도와 비교, 분석하고자 본 연구를 계획하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 증례수집 및 절편제작

강릉대학교 치과병원 구강악안면외과에 내원한 대타액선과 소타액선에 원발성 종양을 가진 10명의 환자 즉 다형성 선종 5명, 점액표피암종 3명, 선양낭성암종 2명과 2명의 구강점막 편평상피세포암종 환자에서 종물의 절제 수술시 채취된 조직으로부터 표본을 제작하였다(Table 1). 본 연구의 대상이 된 환자의 평균 연령은 21-79세 (평균 55세)였으며 남자 7명, 여자 5명이었다. 대상이 된 모든 환자는 수술 전에 항암약물 치료를 시행 받은 적이 없었다. 면역조직화학 염색을 위한 표본은 12증례의 원발병소에서 광범위하게 절제된 조직의 일부를 떼어 통상적인 방법에 의해 포르말린으로 고정하고 파라핀으로 포매하여 제작하였다.

2. 면역조직화학염색

조직절편을 15분간 2차례 xylene에 담구어 탈파라핀화시켰다. 계열 알코올 용액(100%, 95%, 70% 에탄올 순서로 각각 10분간)에 순차적으로 담구어 재수화시킨 후 10분간 phosphate buffered solution(PBS)에 담구어 조직절편이 건조되지 않도록 하였다. 내인성 과산화효소(endogenous peroxidase)의 활성을 억제하기 위하여 0.3% H₂O₂ 메탄올 용액을 35분간 적용하였다. 조직절편을 PBS로 5-10분간 재수세 후 동결된 1차 항체를 blocking serum으로 녹여 상온에서 각 조직슬라이드에 적용시키고 2시간 동안 결합시켰다. 일차항체로는 PCNA antibody (rabbit, polyclonal, Santa Cruz Bio. Co., USA), p53 antibody

(goat, polyclonal, Santa Cruz Bio. Co., USA), EGFR antibody (rabbit, polyclonal, Santa Cruz Bio. Co., USA), c-erbB-2 (HER-2) antibody (rabbit, polyclonal, DakoCytomation, Co., Denmark), EGF antibody (mouse, monoclonal, GeneTex, Co.), Maspin antibody (goat, polyclonal, Santa Cruz Bio. Co., USA), DMBT-1 (goat, polyclonal, Santa Cruz Bio. Co., USA), N-Ras (mouse, monoclonal, Santa Cruz Bio. Co., USA) 을 사용하였다. 음성대조 표본에는 일차항체 대신 PBS를 적용하였다. 그 후 PBS에 5-10분간 수세하고 2차 항체인 biotinylate link (goat anti-rabbit & goat anti-mouse immunoglobulins, DakoCytomation, Co., USA)를 상온에서 30분간 반응시켰다. 조직절편을 PBS에 담구어 약 5-10분간 수세 후 streptavidine-HPR (horseradish peroxidase, DakoCytomation, Co., USA)을 상온에서 약 20-30분간 결합시키고 다시 PBS로 15분간 3차례 수세하였다. 발색반응을 관찰하기 위하여 DAB (3,3-diaminobenzidine, Research Genetics, Huntsville, AL, USA)를 적용하였다. 발색반응의 정도를 확인해가며 적정시간 시행하였다. 증류수로 3차례 수세하고 마지막에는 약 5분간 수세하였다. 그 후 계열 알코올에 적용 (70%, 95%, 100% 에탄올 순서로 각각 10-20분간)시키고 xylene에 담구 후 슬라이드를 mounting하였다.

3. 판독 및 자료분석

각각의 암종조직에서 해당 단백질의 전체적인 발현정도는 병리학자의 도움을 받아 각 절편에서 세부적인 조직학적 부위에서의 항체발현 강도를 다음의 5등급으로 분류하였다:

Table 1. Tumor Specimens Used in This Study

No.	Age	Sex	Area	Diagnosis
1	21	F	Left hard palate	Pleomorphic adenoma
2	55	M	Left parotid gland	Pleomorphic adenoma
3	45	F	Left hard palate	Pleomorphic adenoma
4	71	M	Left hard palate	Pleomorphic adenoma
5	44	F	Right soft palate	Pleomorphic adenoma
6	36	M	Median soft palate	Adenoid cystic carcinoma
7	60	M	Left sublingual gland	Adenoid cystic carcinoma
8	61	F	Left hard & soft palate	Mucoepidermoid carcinoma
9	79	F	Left hard palate	Mucoepidermoid carcinoma
10	39	M	Right hard palate	Mucoepidermoid carcinoma
11	71	M	Right mouth floor	Squamous cell carcinoma
12	75	M	Left buccal mucosa	Squamous cell carcinoma

no staining, obscure, weak staining, moderate staining, strong staining. 발현강도의 양상에 비례하여 다음과 같이 점수를 부여하였다: no staining: 0점, obscure: 1 점, weak staining: 2점, moderate staining: 3점, strong staining: 4점. 이후 발현된 조직절편의 개수를 곱하여 총점화한 것을 그래프화 하였다. 또한 각 타액선 종양의 구성세포 단위에서도 해당단백의 발현정도를 평가하여 분석하였다. 표본수가 부족하여 통계분석은 제시하지 않았다.

Ⅲ. 연구 결과

종합적인 판독, 분석결과 종양증식 표지자인 PCNA는 모든 암종조직에서 전반적으로 강한 발현을 보였다. 즉 다형성선종에서는 상대적으로 약하게 발현 (moderate-strong 등급)되었으나 나머지 세 암종조직에서는 모두 강한 발현 (strong 등급)을 보였다. 세포성장 리간드인 EGF는 악성

도가 높은 편평상피세포암종에서 상대적으로 강한 발현 (moderate-strong 등급)을 나타냈으며, 그 다음으로 선양낭성암종에서 강하게 발현(moderate 등급)되었다. 하지만 다형성선종과 점액표피암종은 비슷한 양상으로 낮은 발현 (obscure or weak 등급)을 보였다. 세포성장 신호전달 수용체인 EGFR, c-erbB-2는 선양낭성암종에서 가장 강하게 발현되었고, 두번째로 편평상피세포암종에서 다음으로 점액표피암종과 다형성선종에서 유사한 정도로 약하게 발현 양상을 보였다. N-Ras의 발현양상은 편평상피세포암종에서 상대적으로 높았으나 (weak 등급) 나머지 종양 모두에서는 발현도가 약했으며 (no stain or obscure) 종양간 발현강도의 차이도 인지되지 않았다 (Fig. 1-5).

종양억제유전자인 p53은 검색된 모든 암종에서 전반적으로 약하게 발현되었다. 비교적 선양낭성암종에서 나머지 종양보다 상대적으로 높은 발현이 관찰되었으나 강도자체의 등급은 약한(weak) 등급을 넘지 않았다. 나머지 세 종양간에 발현강도의 차이는 없었으며 모두 판별이 어려운

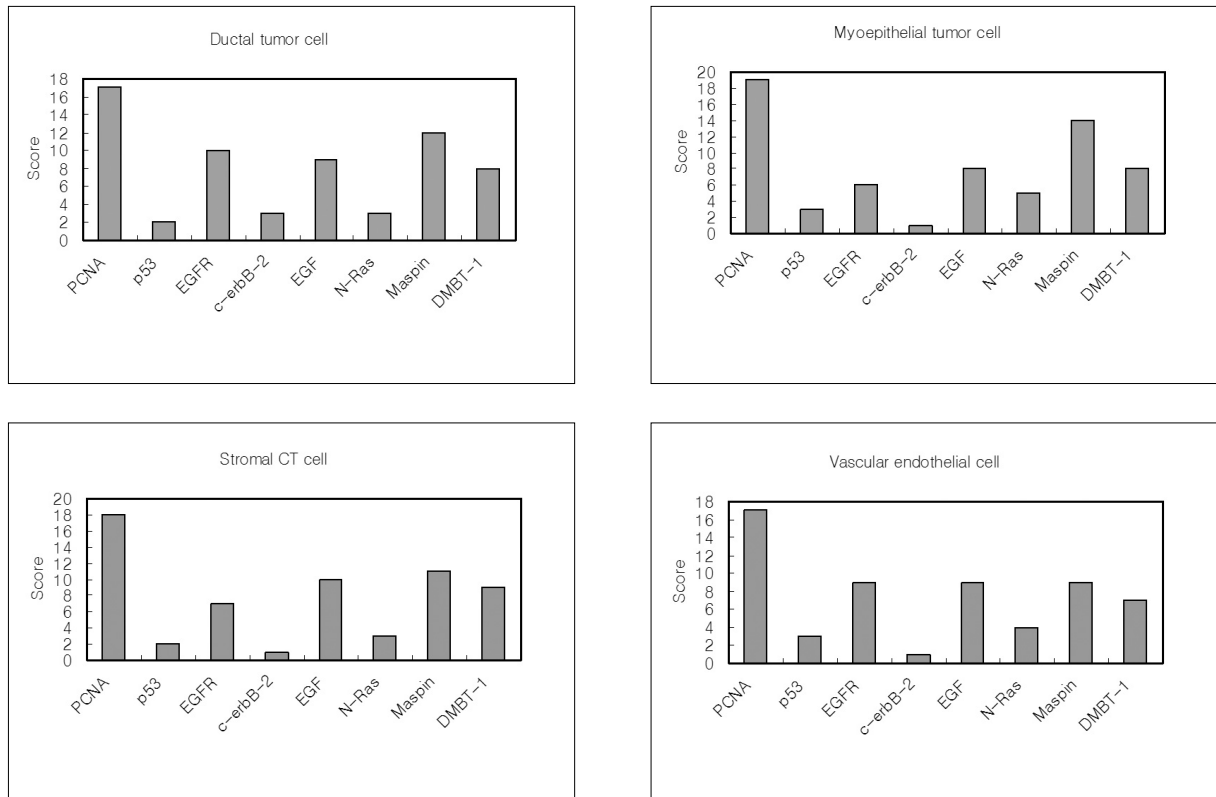


Fig. 1. Total staining calculation according to the cell type on pleomorphic adenoma.

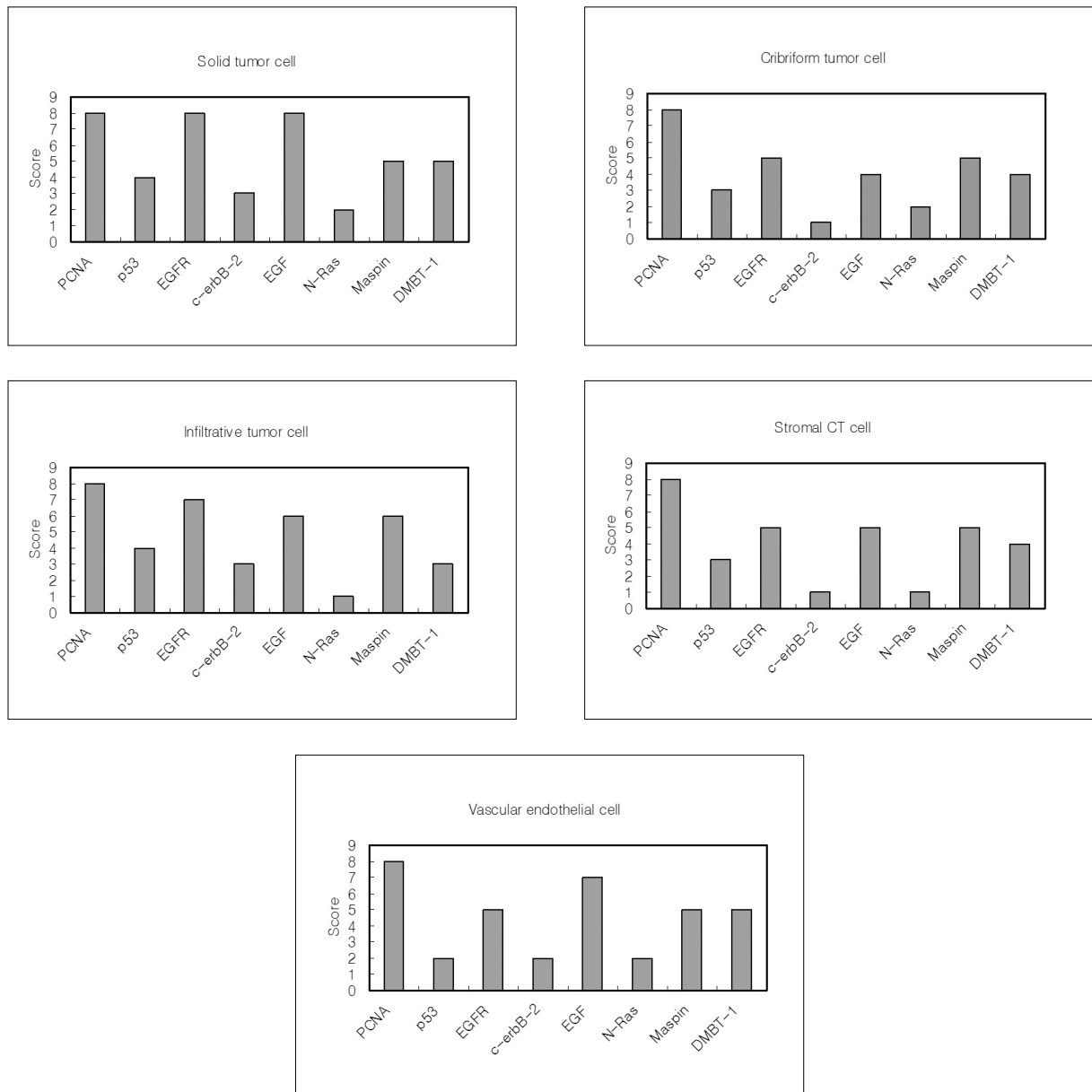


Fig. 2. Total staining calculation according to the cell type on adenoid cystic carcinoma.

(obscure) 등급을 넘지 않았다. 점액표피암종에서의 발현은 표피성 종양세포 (epidermoid tumor cell)에서 상대적으로 강하였으며 (Fig. 3), 다형성선종에서의 p53의 발현은 도관세포 (ductal cell), 근상피세포 (myoepithelial cell)등 모두 비슷한 발현양상을 나타냈다 (Fig. 1). 또한 편평상피세포암종에서는 고도분화형 (well-differentiated

type)과 중등도분화형 (moderately differentiated type)에서 나머지 유형보다 상대적으로 강했으나 큰 차이는 보이지 않았다 (Fig. 4). 또 다른 종양억제유전자인 Maspin은 검색된 악성종양과 양성종양 모두에서 비슷한 발현(weak or moderate 등급)을 나타냈다. 특히 점액표피암종의 표피양 종양세포 (epidermoid tumor cell)에서 가장 높은 수

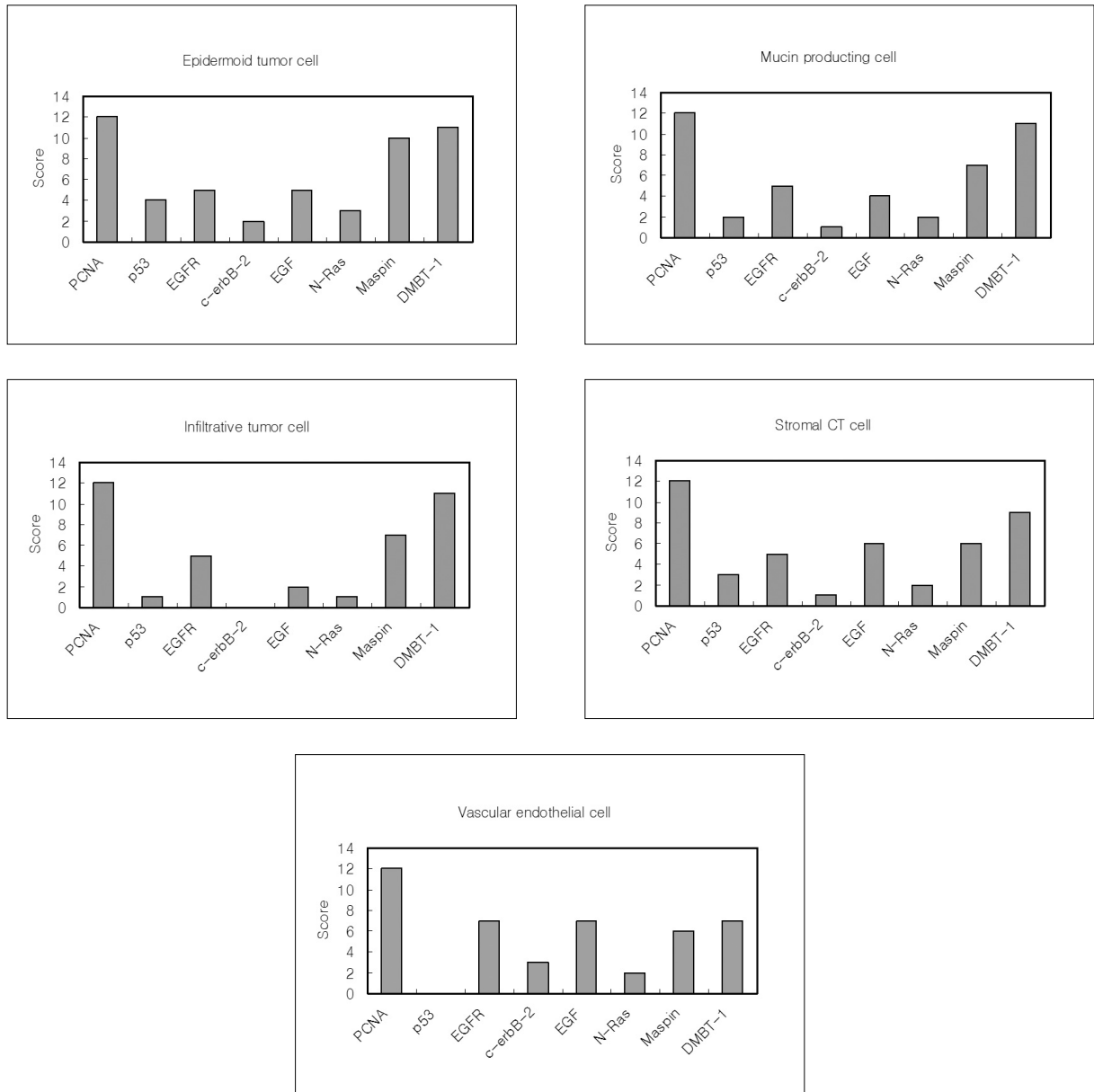


Fig. 3. Total staining calculation according to the cell type on mucoepidermoid carcinoma.

치(moderate 등급)를 기록하였으며, 편평상피세포암종의 혈관내피세포(vascular endothelial cell)에서 가장 낮은 수치 (obscure 등급)를 기록하였다. DMBT-1의 경우 예상과 달리 편평상피세포암종에서 가장 강한 발현(strong 등급)을 보였으며 나머지 타액선종양간 비교에서도 악성도에

따라 점액표피암종과 선양낭성암종에서 강한 발현 양상 (각각 moderate, weak 등급)을 나타내었고, 다형성선종에선 가장 약한 발현 (weak or obscure 등급)을 보였다 (Fig. 1-5).

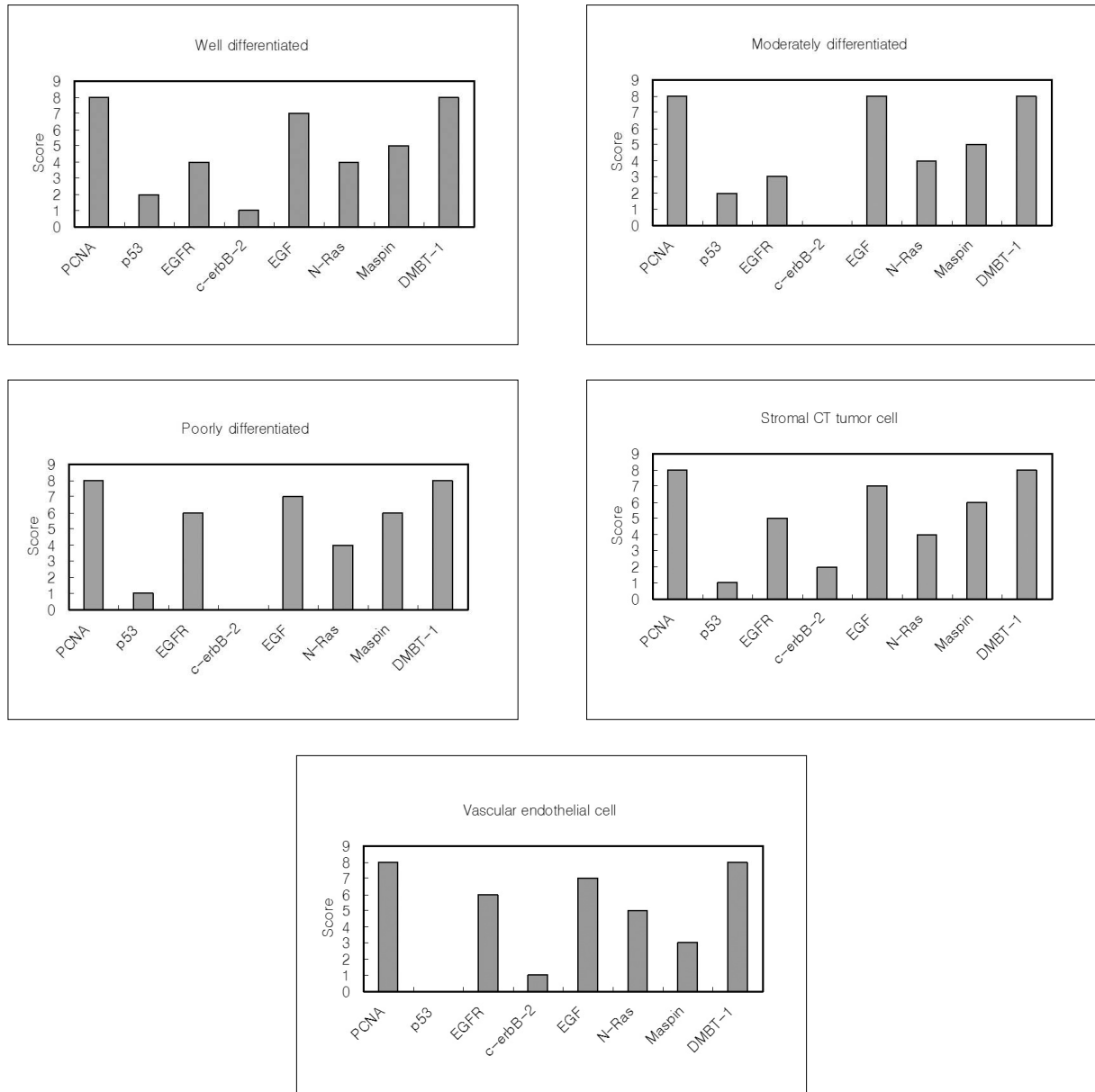


Fig. 4. Total staining calculation according to the cell type on squamous cell carcinoma.

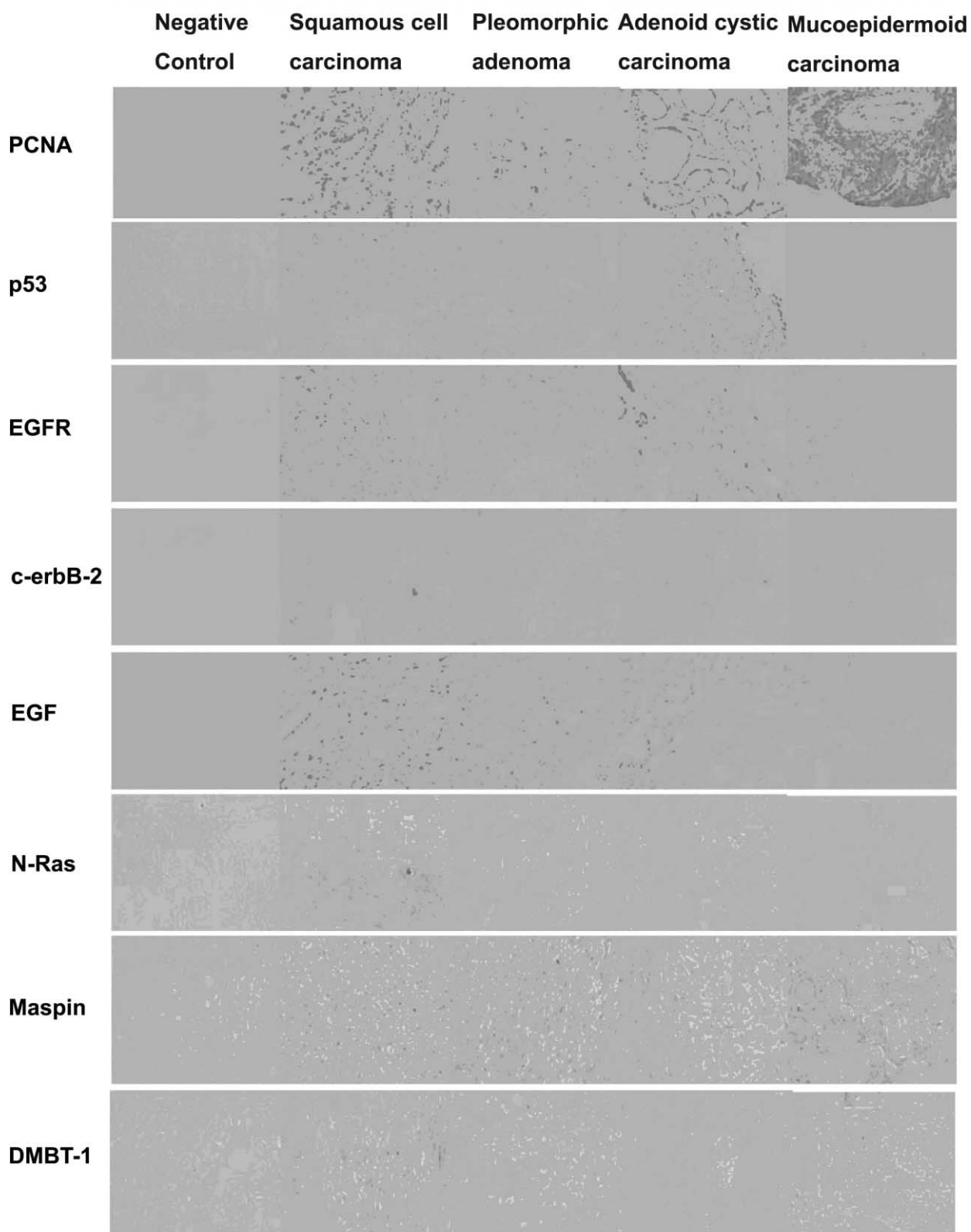


Fig. 5. Immunohistochemical expression patterns of salivary gland tumors according to the used antibody (magnification $\times 400$).

IV. 총괄 및 고찰

본 연구에서는 타액선암종의 대표적 표현형인 선양낭성암종과 점액표피암종에서 문헌검색결과 과발현될 것으로 예상되는 종양유전자와 몇몇 의미있는 종양억제유전자의 발현을 평가하여 보았다. 즉 임상적으로 주변조직 침투와 혈관성 전이의 경향을 보이는 타액선암종에서의 종양증식 관련유전자의 발현을 단백 수준에서 파악하여 타액선 양성종양인 다형성선종, 그리고 비교적 연구결과가 확립되어 있는 구강점막 편평상피세포암종과 비교하여 분석하였다.

본 연구진은 기존 연구에서 18례의 선양낭성암종에서 상피성장인자 신호전달 관련인자들의 발현을 검색하여 종물 주변의 정상 타액선 조직과 비교함으로써 검색된 인자들 중 TGF- α 와 c-erbB-2가 과발현되고, EGFR이 종양세포와 종양관련 혈관내피세포, 그리고 조직특이 섬유아세포와 면역관련 세포들에서 활성화되어 있음을 보고한 바 있다.²⁹⁾ 본 연구결과에서 나타났듯이 EGFR과 c-erbB-2는 일반적으로 악성도가 타액선종양보다 높은 것으로 알려진 구강점막 편평상피세포암종에서보다 타액선암종에서 과발현되어 매우 의미있는 인자임이 밝혀졌다. 또한 본 연구에서 밝혀진 특기할만한 사실은 타액선암종에서 p53이 높게 조절되어 있는 것으로 판명되어 임상적으로 증식속도와 악성도가 낮은 타액선암종의 소견을 뒷받침할 한 요인이 될 수 있음을 추론하였다.

Shiratsuchi 등은 편평상피세포암 세포주를 대상으로 한 실험에서 EGF첨가는 암세포의 Matrigel 침투능력을 증가시킨다는 것을 관찰하였다³⁰⁾. EGF가 세포의 uPA (urokinase-type plasminogen activator)와 uPA 수용체를 발현시킴으로써 이들 상호작용이 단백질 분해작용을 증대시키고, uPA receptor매개 신호체계를 활성화하여 궁극적으로 암세포의 운동성과 침투성을 증가시킨다는 것을 확인하였다. 또한 EGF 혹은 TNF- α 도 SCC 종양세포에서 기질침투 관련 단백질인 pro-MMP의 생성을 유도함을 보였다. 본 연구에서 EGF는 악성도가 높은 SCC에서 가장 강한 발현을 보였으며(moderate-strong 등급) 두번째로는 선양낭성암종(moderate 등급)이었으며, 다형성선종과 점액표피암종은 비슷한 양상으로 낮은 발현 (obscure or weak 등급)을 보였다. 악성도가 다른 PA와 MEC가 비슷한 발현을 보여 악성도에 따른 marker로 보기는 어려웠다.

EGFR은 타이로신 인산화활성을 위한 수용체로서 모든 세포표면에 존재하며 상피기원 두경부 종양의 약 75%에서 과발현된다³¹⁾. Chen 등에 의하면 씹는 담배잎에 많이 노출되는 지역에서 사는 환자의 구강의 SCC 에서 EGFR과 HER-2가 정상조직에 비하여 과발현됨을 관찰하였다. 이중 EGFR의 과발현이 종양의 Stage 및 원발병소의 깊이, 임파절 capsule 외로의 전이 그리고 불량한 생존률과 통계적으

로 관련이 있었음을 보고하였다. 그러나 HER-2의 과발현은 임상병리적인 지표와의 연관성을 나타내지 않았다고 보고하였다³²⁾. 또한 Maubec 등의 피부의 전이성 SCC 연구에서도 EGFR은 모든 표본에서 과발현되었으나 HER-2는 13개의 specimen중 4개에서만 과발현되었다고 보고하였다³³⁾. 대부분의 두경부 종양에서는 EGFR은 과발현되거나 이상 발현됨을 보이며, 이 과발현은 국소적인 재발 및 불량한 생존율과 관련이 있었다³²⁾. 또한 Sorensen 등의 연구에서는 73명의 이하선 악성종양환자의 79%에서 EGFR 양성 발현을 보고하였다. 조직학적 구분에선 선양낭성암종이 77% (13명중 10명), 점액표피암종은 78% (9명중 7명), 선방세포암종(acinic cell carcinoma) 70% (20명중 14명), 그리고 6개의 편평상피세포암과 3개의 타액선관암종(salivary duct carcinoma)에서 양성을 보였다. 그러나 그의 연구에선 EGFR의 발현과 악성 정도, 종양의 크기, 임파절 상태, 종양단계, 생존 등과는 관련이 없다고 보고하였다³⁴⁾. 그러나 본 연구에서는 EGFR은 ACC에서 가장 강한 발현 양상(moderate 등급)을 보였으며 나머지 세 타액선종양에서는 모두 약한 발현(obscure or weak 등급)을 나타내었다. 또한 HER-2는 ACC에서 강한 발현 양상(weak 등급)을 나머지 세 타액선에선 약한 발현을 보여 EGFR과 함께 타액선 선양낭성암종에서 의미있는 종양증식인자임이 확인되었다.

증식성핵항원 (PCNA)은 DNA의 복제, 손상된 DNA수복에 있어 중요한 단백질이다. 이 단백질은 양성병소 및 악성병소 모두에서 세포복제시 발견되며 SCC등과 같이 종양이 더 파괴적일수록 단백질이 더 많이 발현되는 것이 관찰되었다³⁵⁾. 본 연구결과 PCNA는 다형성선종에서는 발현이 미미하였으나 나머지 암종에서는 모두 강한 발현(strong 등급)을 보였다. 따라서 타액선 암종의 악성도를 따르는 양상을 보였다.

Kiyoshima 등이 타액선암종에서 변이 p53 종양억제유전인자의 발현을 PCR-SSCP(Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism)과 면역조직화학염색의 방법을 통해 관찰한 결과 ACC에선 총 17개 표본중에서 3개(17.6%), MEC는 27개 표본중 4개(14.8%)에서 p53 변이가 관찰되었다. p53변이가 발현된 ACC는 모두 소타액선 기원이었으며, 모든 임상례에서 재발과 전이를 보였다. 그러나 MEC에선 4개중 1개에서만 이 불량한 예후를 보였다. 면역조직화학염색에서는 양성반응률과 MEC의 조직학적 등급과 강한 관련을 보였으나 임상적 예후와는 무관하였다³⁵⁾. 구강의 편평상피세포암에서의 p53변이는 20-60%³⁶⁾, 결장직장암종에서는 49-70%³⁷⁾, 췌장암종에서는 30-60%의 발현이 보고된 것에 비해 타액선암에서는 낮은 수치를 보였다³⁸⁾. 이는 p53변이가 두 타액선종양에서 종양발생에 결정적인 역할을 한다고 볼 수는 없지

만 ACC에선 종양의 진전에 중요한 역할을 할 것이라고 여겼다. 본 연구에서는 단백질 수준에서의 p53은 ACC에서 상대적으로 강한 발현 (weak 등급)을 보였으며 나머지 종양에서는 모두 약한 발현 (no stain or obscure 등급)을 나타내어 전반적으로 악성도와 관계없이 모두 미미하게 표현되었다. 추후 변이 p53단백질에 대한 연구가 뒤따라야 할 것이다.

Xia W 등에³⁹⁾ 의하면 Maspin의 진단적 가치는 최근 구강 편평상피세포암에서 강조되고 있는데 mspin의 높은 발현은 임파절 전이의 부재와 관련이 있으며 환자의 전체 생존기간의 증가와 관련이 있다고 보고하였다. Maass 등에²⁰⁾ 의하면 유방암이 진행됨에 따라 Maspin 발현의 점진적 소실은 이 단백질이 종양에서 의미있는 잠재적 진단/예후 인자라고 밝힌바 있다. 고환암과 대장암의 임상연구에서 Maspin의 발현과 p53의 발현은 중요한 역의 관계가 보고되기도 하였다. 더 나아가 대부분의 종양에서 Maspin의 p53-의존성 조절경로가 존재한다고 알려져 있다. 그럼에도 불구하고 위의 보고들과 상반된 견해도 있다. Sugimoto 등은 방광암에서 Maspin이 높게 조절되었으며 근육 침습성 방광암의 발달에 중요한 역할을 할 것이라고 보고하였다⁴⁰⁾. 본 연구진의 연구에서 Maspin은 타액선암종 모두에서 유사한 강도의 발현 (weak or moderate 등급)을 보였다. 또한 표본 수는 작지만 p53과는 전반적으로 역의 발현양상이 관찰되기도 하였다. 그러나 모두 동일한 발현도를 보였으므로 악성도의 진단적 marker로서의 기능에 대해서는 추가적 연구가 필요하다.

Braidotti 등은⁴¹⁾ 유방암 조직에 대한 연구에서 DMBT-1의 발현을 조사한 결과 정상조직 및 악성종양에 인접한 과증식 조직에서는 이 인자가 높게 조절되며, 암조직에서는 낮게 조절되는 것을 관찰하였다. 이로써 DMBT-1의 재분포는 유방암에 있어 중요한 역할을 할 것이라고 결론지었다. 그들은 이 인자가 과증식된 상피세포가 증식조절성을 상실하는 기전을 정상화하고 종양상태로 이행되는 것을 막을 것이라고 추측하였다. 증식성 병소에서 종양으로 이행시 DMBT-1이 상실되는 기전은 아직 불확실하다. Sasaki 등은 간내 담관암에서 DMBT-1 발현관찰시 간의 도관내 유두성 신생물 (intraductal papillary neoplasm)과 비침습성 담관암, 간내 담석증시 담관상피세포에서는 이 인자가 증가하였으며 침습적인 담관암에서는 발현이 감소함을 보고하면서 침습적인 담관암의 진행에는 DMBT-1의 상실이 중요할 것이라고 제안하였다⁴²⁾. 이번 타액선 암종 연구에서 DMBT-1의 발현도는 악성도의 순서를 따르는 경향을 보여 기존의 연구들과는 반대되는 경향을 보였다. 이는 타액선암에서 이 인자의 역할이 다르거나 연구의 오차에 기인한 것이라 여겨진다.

정상세포의 성장과 분화, 종양 생성에 기여하는 유전자형과 표현형의 인지 등에 있어서의 Ras 단백질의 중요한 역할로 인하여 새로운 치료약물 개발이 이루어지는 등 오늘날 Ras는 종양치료에 있어 중요한 목표가 되었다. 변형된 Ras 역시 치료에 있어 목표가 되는 단계에 이르렀다⁴³⁾. 본 타액선암 연구에서 N-Ras의 발현도는 SCC에서만 상대적으로 강한 발현(weak 등급)이 있는 반면 나머지 세 타액선 종양 모두에서는 미약한 발현 (no stain or obscure)만이 있어 타액선암의 악성도 측정시 진단 표지자로서의 기능은 의문시 된다.

V. 결 론

타액선 악성종양인 선양낭성암종과 점액표피암종에서의 종양증식 관련단백들의 발현정도를 결정하여, 타액선 양성 종양인 다형성선종, 그리고 구강점막 편평상피세포암종에서의 발현정도와 비교, 분석하여 다음과 같은 결과를 도출하였다.

- 1) PCNA는 다형성선종에서는 그 발현이 미미하였으며, 암종에서는 모두 강한 발현을 보였으며 타액선암종과 편평상피세포암종간의 차이는 없었다.
- 2) EGF는 편평상피세포암종에서와 비교하여 타액선암종에서 약하게 발현되었다.
- 3) EGFR은 선양낭성암종에서 가장 강하게 발현되었으며 나머지 종양에서는 비교적 약하게 발현되었다. c-erbB-2(HER-2) 역시 선양낭성암종에서 강하게 발현되어 EGFR과 비교시 강도는 약하지만 유사한 발현양상을 나타내었다.
- 4) N-Ras는 편평상피세포암종에서와 비교하여 타액선암종에서 낮게 발현되었다.
- 5) p53은 검색된 모든 암종에서 전반적으로 약하게 발현되었다. 선양낭성암종에서 나머지 종양보다 상대적으로 높은 발현이 관찰되었으나 강도자체의 등급은 약한 등급을 넘지 않았다. 나머지 세 종양간에서도 발현강도의 차이는 없었으며 모두 판별이 어려운 등급을 넘지 않았다.
- 6) Maspin은 검색된 종양에서 모두 그 발현이 미미하였다.
- 7) DMBT-1은 편평상피세포암종에서와 비교하여 타액선암종에서 약하게 발현되었다.

위의 결과를 종합하여 타액선암종의 악성도를 측정하는 진단적 표지자로서 유망한 것은 EGFR과 c-erbB-2(HER-2)인 반면, p53의 경우 타액선암종에서는 그 역할이 크지 않은 것으로 보고하는 바이다.

참고문헌

1. Fordice J, Kershaw C, El-Naggar A et al : Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: predictor of morbidity and mortality. *Arch Otolaryngol Head and neck* 125 : 149, 1999.
2. Friedman EW, Schwartz AE : Diagnosis of salivary gland tumors. *Cancer* 24 : 266, 1974.
3. Wang JL, Zheng BY, Li XD et al : Predictive significance of the alterations of p16INK4A, p14ARF, p53, and proliferating cell nuclear antigen expression in the progression of cervical cancer. *Clinical Cancer Research* 10 : 2407, 2004.
4. Thomas GR, Nadiminti H, Regalado J : Molecular predictors of clinical outcome in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Int. J. Exp. Path.* 86 : 347, 2005.
5. Khazaie K, Schirmacher V, Lichtner RB : EGF receptor in neoplasia and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 12 : 255, 1993.
6. Miettinen PJ, Berger JE, Meneses J et al : Epithelial immaturity and multiorgan failure in mice lacking epidermal growth factor receptor. *Nature* 376 : 337, 1995.
7. Threadgill DW, Dlugosz AA, Hansen LA et al : Targeted disruption of mouse EGF receptor: effect of genetic background on mutant phenotype. *Science* 269 : 230, 1995.
8. Sibilina M, Wagner EF : Strain-dependent epithelial defects in mice lacking the EGF receptor. *Science* 269 : 234, 1995.
9. Troyer KL, Lee DC : Regulation of mouse mammary gland development and tumorigenesis by the ERBB signaling network. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 6 : 7, 2001.
10. Maarten L, Janmaat ML, Giuseppe G : Small-molecule Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors. *The Oncologist* 8 : 576, 2003.
11. Bruns CJ, Solorzano CC, Harbistone MT et al : Blockade of the epidermal growth factor receptor signaling by a novel tyrosine kinase inhibitor leads to apoptosis of endothelial cells and therapy of human pancreatic carcinoma. *Cancer Res* 60 : 2926, 2000.
12. Radinsky R, Risin S, Fan D et al : Level and function of epidermal growth factor receptor predict the metastatic potential of human colon carcinoma cells. *Clin cancer Res* 1 : 19, 1995.
13. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F et al : Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 19 : 183, 1995.
14. Dziemianczyk D, Grabowska SZ, Czyzewska E et al : wybrane aspekty biochemiczne i fizjologiczne. *Czas Stomat* 53 : 656, 2000.
15. Prime SS, Game SM, Matthews JB et al : Epidermal growth factor and transforming growth factor alpha characteristics of human oral carcinoma cell lines. *Br J Cancer* 69(1) : 8, 1994.
16. Partridge M, Kiguwa S, Emilion G et al : New insight into p53 protein stabilisation in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 35 : 45, 1999.
17. Soengas MS, Capodici P, Polsky D et al : Inactivation of the apoptosis effector Apaf-1 in malignant melanoma. *Nature* 409 : 207, 2001.
18. Balajee AS, Geard CR : Chromatin-bound PCNA complex formation triggered by DNA damage occurs independent of the ATM gene product in human cells. *Nucleic Acid Research* 29 : 1341, 2001.
19. Tsuji T, Mimura Y, Wen S et al : The significance of PCNA and p53 protein in some oral tumours. *Int J Oral Maxillofac Surg* 24 : 221, 1995.
20. Maass N, Hojo T, Rosel F et al : Down regulation of the tumor suppressor gene maspin in breast carcinoma is associated with a higher risk of distant metastasis. *Clinical Biochemistry* 34 : 303, 2001.
21. Sheng S, Carey J, Seftor EA et al : Maspin acts at the cell membrane to inhibit invasion and motility of mammary and prostatic cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 93 : 11669, 1996.
22. Mollenhauer J, Wiemann S, Scheurlen W et al : DMBT1, a new member of the SRCR superfamily, on chromosome 10q25.3-26.1 is deleted in malignant brain tumours. *Nat. Genet.* 17 : 32, 1997.
23. Wu W, Kemp BL, Proctor ML et al : Expression DMBT1, a candidate tumor suppressor gene, is frequently lost in lung cancer. *Cancer Res.* 59 : 1846, 1999.
24. Takeshita H, Sato M, Shiwaku HO et al : Expression of the DMBT1 gene is frequently suppressed in human lung cancer. *Jpn J. Cancer Res.* 90 : 903, 1999.
25. Mori M, Shiraishi T, Tanaka S et al : Lack of DMBT1 expression in oesophageal, gastric and colon cancers. *Br. J. Cancer* 79 : 211, 1999.
26. Boguski MS, McCormick F : Proteins regulating Ras and its relatives. *Nature* 366 : 643, 1993.
27. Zhang XF, Settleman J, Kyriakis JM et al : Normal and oncogenic p21ras proteins bind to the amino-terminal regulatory domain of c-Raf-1. *Nature* 364 : 308, 1993.
28. Lowy DR, Willumsen BM : Function and regulation of Ras. *Annu Rev Biochem* 62 : 851, 1993.
29. Park YW, Kim JH : Immunohistochemical assays for the expression of epidermal growth factor-signaling proteins in adenoid cystic carcinomas of human salivary glands. *J Kor Acad Maxillofac Plast Reconstr Surg* 28 : 499, 2006.
30. Shiratsuchi T, Ishibashi H, Shirasuna K : Inhibition of Epidermal growth factor-induced invasion by Dexamethasone and AP-1 Decoy in Human Squamous Cell Carcinoma Cell Lines. *J of Cellular physiology* 193 : 340, 2002.
31. Grunwald V, Hidalgo M : The epidermal growth factor receptor: a new target for anticancer therapy. *Curr Probl Cancer* 26 : 109, 2002.
32. Chen IH, Chang JH, Liao CT : Prognostic significance of EGFR and Her-2 in oral cavity cancer in betel quid prevalent area. *British J of Cancer* 89 : 681, 2003.
33. Maubec E, Duvillard P, Velasco V : Immunohistochemical Analysis of EGFR and HER-2 in patients with Metastatic Squamous Cell Carcinoma of the skin. *Anticancer Research* 25 : 1205, 2005.
34. Sorensen KB, Godballe C, Stricker K et al : Parotid carcinoma: expression of kit protein and epidermal growth factor receptor. *J Oral Pathol Med* 35 : 286, 2006.
35. Kiyoshima T, Shima K, Kobayashi I et al : Expression of p53 tumor suppressor gene in adenoid cystic and mucoepidermoid carcinomas of the salivary glands. *Oral Oncology* 37 : 315, 2001.
36. Paterson IC, Eveson JW, Prime SS : Molecular changes in oral cancer may reflect aetiology and ethnic origin. *Oral Oncol Eur J Cancer* 32B : 150, 1996.
37. Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM et al : p53 gene

- mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 50 : 7717, 1990.
38. Scarpa A, Capelli P, Mukai K et al : Pancreatic adenocarcinomas frequently show p53 gene mutations. *Am J Pathol* 142 : 1534, 1993.
39. Xia W, Lau YK, Mickey CT et al : High tumoral maspin expression is associated with improved survival of patients with oral squamous cell carcinoma. *Oncogene* 19 : 2398, 2000.
40. Sugimoto S, Maass N, Takimoto Y et al : Expression and regulation of tumor suppressor gene maspin in human bladder cancer. *Cancer Letters* 203 : 209, 2004.
41. Braidott P, Nuciforo PG, Mollenhauer J et al : DMBT1 expression is down-regulated in breast cancer. *BMC cancer* 4 : 46, 2004.
42. Sasaki M, Huang SF, Chen MF et al : Decreased of Deleted in Malignant Brain Tumor-1(DMBT-1)expression is a crucial late event in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Histopathology* 43 : 340, 2003.
43. Midgley RS, Kerr DJ : Ras as a target in cancer therapy. *Hematology* 44 : 109, 2002.

저자 연락처

우편번호 210-702
강원도 강릉시 지변동
강릉대학교 치과대학 구강악안면외과학교실
박영욱

원고 접수일 2006년 12월 21일
게재 확정일 2007년 8월 2일

Reprint Requests

Young Wook Park

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Kangnung National Univ.
Gibyun-dong, Gangneung, Gangwon, 210-702, Korea
Tel: +82-33-640-3183 Fax: +82-33-642-6410
E-mail: ywpark@kangnung.ac.kr

Paper received 21 December 2006
Paper accepted 2 August 2007