대구의지 2008;34:518-524

구강편평상피암종에서 DCC 유전자의 역할

고성규 · 한세진 · 김경욱
단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2008;34:518-524)

ROLE OF DCC(DELETED IN COLORECTAL CANCER) GENE IN ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Seong-Kyu Ko, Se-Jin Han, Kyung-Wook Kim
Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Dankook University

Chromosome 18q alteration plays a key role in colorectal tumorigenesis, and loss of heterozygosity at 18q is associated with a poor prognosis in colon cancer. DCC(Deleted in Colorectal Cancer) is a putative tumor- suppressor gene at 18q21 that encodes a transmembrane protein with structural similarity to neural cell adhesion molecule that is involved in both epithelial and neuronal cell differentiation.

DCC is implicated in regulation of cell growth, survival and proliferation. Thus, tumor progression in squamous cell carcinoma, stomach cancer, colorectal cancer correlates with downregulation of DCC expression. The mechanism for DCC suppression is associated with hypermethylation of the DCC gene promoter region.

Hence, the goal of this study is to identify the promoter methylation responsible for the down-regulation of DCC expression in oral squamous cell carcinoma.

12 of tissue specimens for the study are excised and gathered from 12 patients who are diagnosed as SCC in department of OMS, dental hospital, dankook university. To find expression of DCC in each tissue samples, immunohistochemical staining, RT-PCR gene analysis and methylation specific PCR are processed. The results are as follows.

1. In the DCC gene RT-PCR analysis, 5(41.6%) of 12 specimens of oral squamous cell carcinoma did not expressed DCC gene.
2. In the promoter methylation specific PCR analysis, 5(41.6%) of 12 specimens showed promoter methylation of DCC gene.
3. In the immunohistochemical staining of poor differentiated and invasive oral squamous cell carcinoma, loss of DCC expression was observed.

These findings suggest that methylation of the DCC gene may play a role in loss of gene expression in invasive oral squamous cell carcinoma.

Key words: Oral squamous cell carcinoma, DCC gene, Promoter methylation

Ⅰ. 서 론

종양의 발생 원인 및 성장 과정에는 복합적인 요인들이 작용하며 아직까지도 많은 부분들이 명확히 밝혀지지 않았다. 하지만, 분자생물학 분야의 발전과 함께 암종과 관련된 여러 인자들 중 특히 유전자 변이에 대한 연구가 활발히 시행되었으며 현재 수백 개 이상의 유전자가 암의 발생 및 성장에 관여한다고 알려져 있다. 이런 유전자들은 대부분 종양 억제 유전자(tumor suppressor gene)의 비활성화 또는 그와 반대로 종양 유발 유전자(oncogene)의 활성화로 인한 염색체의 구조 및 형태의 변화를 야기하여 정상세포를 암세포로 변화시키는 작용을 한다. 종양 유발 유전자는 c-myc, c-myh, bcl-2 그리고 neu 등이 있으며 종양 억제 유전자로는 p53, p16, Rb 등이 대표적이다[1-3].

DCC는 Deleted in Colorectal Cancer의 약어로 명칭에서도 알 수 있듯이 직장암 발병과의 밀접한 관계 때문에 유력한 종양 억제유전자로 추정되고 있다. DCC 유전자에 의해 만들어지는 단백질 또한 DCC라고 불리며 DCC단백질은 하나의 signal peptide 기본틀에 11개의 domain구조를 가지고 있는 transmembrane receptor이다[4-11].

DCC 단백질의 domain은 크게 C-terminal cytoplasmic domain, transmembrane hydrophilic domain 그리고 N-terminal extracellular domain으로 구성되어 있다. 특히, cytoplasmic domain은 세포내 caspase-9 dependent pathway와 연계되어 있으며, extracellular domain은 세포외 기질에 존재하는 heparin과 netrin-1이라는 물질과 결합하는 부위이며 이로 인해 신경축색돌기 유도 수용체(axon guidance receptor)의 역할을 한다. netrin-1은 신경축색돌기 유도에 관여하는 단백질로서 구조적으로는 라미닌(laminin)과 유사하다. Netrin-1에 의한 작용 기전이 아직까지 명확히 밝혀지지 않았지만 DCC 단백질과 netrin-1의 결합여부에 따라 해

김 경 욱
330-714 충남 천안시 안서동29
단국대학교 치과대학 부속병원 구강악안면외과
Kyung-Wook Kim
Dept. of OMFS. College of Dentistry, Dankook University
29 Anseodong, Choenan, Chungnam, 330-714, Korea
Tel: 82-41-550-1991~3 Fax: 82-41-551-8988
E-mail: kkwoms@dku.edu

당되는 세포가 증식 또는 사멸될 수 있다고 알려져 있다[12-18].

최근의 연구들은 DCC 유전자의 산물인 DCC 단백질과 이것과 결합하는 netrin-1과의 상호작용이 종양의 발생과 성장에 영향을 준다고 보고하고 있다. DCC 유전자는 직장암에서 그 유전자 발현이 감소 또는 상실되는 것이 관찰되며 DCC 유전자가 초기 대장암이 진행성 암으로 발전하는데 관여한다고 한다. 또한 다른 선암 또는 위암 등에서도 DCC 유전자의 발현 감소가 관찰된다. 반면, 직장암에서 netrin-1의 발현은 증가하며 이는 netrin-1과 DCC 단백질의 결합에 의한 종양세포의 증식 및 성장과의 비례적 관계에 대한 한 가지 증거라 할 수 있다[19-24].

이러한 DCC 유전자의 발현을 억제시키는 여러 기전 중 유전자의 promoter methylation이 가장 유력한 원인으로 생각되고 있다. DNA에서 염기의 특정 부위에 메칠화(methylation) 되는 것을 흔히 볼 수 있는데, DNA 분자에서 이와 같이 변형된 또는 이례적인 염기는 유전 정보의 발현을 조절한다든지 혹은 유전 정보를 여러 가지 파기요인으로부터 방어하기 위한 특이한 신호로 이해되고 있다. 한편, 종양 조직 등 병적 상태에서 유전자 promoter 메칠화(methylation)는 유전자 발현이 억제되는 가장 중요한 메카니즘 중 하나로 알려져 있다. 실제로 다양한 암종에서 DCC 유전자 promoter methylation이 관찰되었다[25-33].

구강편평상피세포암종의 경우에도 암종의 분화도 또는 침습성에 따라 DCC 유전자의 발현이 감소 또는 소실되며 이는 다른 암종에서처럼 DCC 유전자의 promoter methylation이 그 원인 기전이라고 추측해 볼 수 있다[34-36].

이에 본 연구는 구강편평상피세포암종에서 DCC 유전자의 발현 양상을 검사하고 암종의 특성에 따른 DCC 유전자 발현의 차이와 promoter methylation과의 상관성을 알아보고자 하였다.

Ⅱ. 연구재료 및 방법

1. 연구 재료

실험에 사용된 조직편은 단국대학교 치과대학 부속 치과병원 구강악안면외과에서 구강편평상피세포암으로 최종 진단받은 환자 12명의 수술 후 절제된 조직 12편을 사용하였다.

절제된 조직은 10% neutral buffered formalin으로 8-12시간 고정 후 통상적인 방법으로 paraffin block으로 만들어졌다.

2. 연구 방법

1) DCC 유전자 RT-PCR 분석

탈 파라핀한 조직 절편에서 종양조직을 취하여 total RNA를 RNA Tissue Kit(inTron, Korea)로 추출하였다. 얻어진 total RNA으로부터 역전사를 시켜 cDNA를 만들기 위해 RT-PCR Kit(inTron, Korea)로 합성 후 PCR을 시행하였다. 대조군으로 house keeping gene인 GAPDH의 발현을 보았다.

PCR은 2분동안 95℃에서 initial denaturation을 시행하였고 95℃에서 30초 동안, 55℃에서 30초 동안, 72℃에서 30초 동안 35cycle 처리하였다. 대조군으로 사용된 정상인 GAPDH는 95℃에서 1분, 95℃에서 30초동안, 55℃에서 30초 동안, 72℃에서 1분 동안 35cycle denaturation 처리하였으며 마지막 확장을 위해 72℃ 10분으로 하였다. PCR product는 capillary electrophoresis 기계(eGene INC., USA)로 분석하였으며, 각각의 primer sequence와 PCR 조건은 다음과 같았다(Table 1).

2) Methylation Specific PCR 분석

탈 파라핀 조직절편에서 종양조직을 현미경하에서 채취한 후 그 종양조직에서 QuickGene DNA Tissue Kit(Fujifilm, Japan)를 이용하여 제조사의 manual에 따라 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA를 EpiTech Bisulfite Kit (Qiagen, Germany)로 처리한 후 PCR을 시행하였다.

PCR은 2분동안 94℃에서 initial denaturation을 시행하였고 94℃에서 30초 동안, 60℃에서 30초 동안, 72℃에서 30초 동안 35 cycle 처리하였다.

Primer sequence와 PCR 조건은 다음과 같았으며 PCR product는 capillary electrophoresis 기계(eGene INC., USA)로 분석하였다(Table 2).

3) 면역조직화학적 염색

통상적인 방법으로 4㎛ 파라핀 절편의 탈 파라핀 후 antigen retrieval을 위하여 0.01M Citrate buffer (pH 6.0)로 pressure cooker로 15분 처리 한 후 endogenous peroxidase와 nonspecific binding을 막기 위하여 20% 과산화수소용액/methanol에 15분 처리 후 normal goat serum에 20분 처리 하였다. DCC에 대한 polyclonal antibody(Novocastra Co, UK)를 1:50으로 희석 후 조직에 얹어 4℃에서 8시간 이상 incubation 하였다. 그 후 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.0)으로 3회 수세 후 lab Vision Kit 에 있는 일차항체 enhancer에 20분간 incubation 하였고 PBS로 3회 수세한 후, Polymer 로 40분간 실온에서 incubation 하였다. 역시 3회 PBS로 수세 후 DAB(Diaminobenzidine)으로 발색하여 hematoxylin으로 대조염색 하였다. 맹검법으로 병리의사가 광학현미경으로 관찰하여 세포의 염색 정도에 따라 75% 이상일 경우 정상적인 발현으로 75% 이하일 경우 발현의 감소로 그 양상을 기록하였다.

4) 통계 분석

DCC 유전자 발현과 promoter methylation과의 관련성을 검증하기 위해 chi-square test를 사용하였다. 유의성은 5%이하로 하였다.

Ⅲ. 연구 결과

1. DCC 유전자의 발현

실험에 사용된 총 12개의 조직편 중 7개의 샘플에서 DCC 유전자의 발현을 관찰할 수 있었으며, 나머지 5개의 샘플에서는 DCC 유전자의 발현을 관찰할 수 없었다(Fig. 1).

2. DCC 유전자의 Promoter Methylation

DCC 유전자가 발현되었던 7개의 샘플 중 5개에서 DCC 유전자의 promoter unmethylation이 관찰되었으며 2개에서는 promoter unmethylation과 methylation이 동시에 나타났다. 또한 DCC 유전자 발현이 나타나지 않았던 5개의 샘플 모두에서 DCC 유전자 promoter methylation이 관찰되었다(chi-square test, $p<0.05$), (Table 3 & Fig. 2).

3. 면역조직화학적 염색 소견

정상적인 구강편평상피조직에서 DCC 단백질은 basal cell의 cytoplasm에서 진홍색으로 진하게 염색되어 강한 발현을 나타나는 것이 관찰되었다. 또한 구강타액선 분비 도관 이장세포(normal secretory ductal epithelial cells)에서도 DCC가 진하게 염색되었다(Fig. 3, 4).

중등도 분화된 구강편평상피세포 암종에서 DCC의 발현은 정상 세포군과 비교 시 그 염색 정도가 덜하였다. 특히, 잘 분화되었지만 침습적인 구강편평상피세포 암종의 경우 DCC 발현이 거의 관찰되지 않았다(Fig 5, 6).

Table 1. Sequences of Primers for DCC Gene RT-PCR

Primer	Primer sequence	AT
DCC RT-PCR-forward	5′-TTCCGCCATGGTTTTTAATCA-3′	55℃
DCC RT-PCR-reverse	5′-AGCCTCATTTTCAGCCACACA-3′	
GAPDH RT-PCR-forward	5′-CATGGGGTGTGAACCATGAGA-3′	55℃
GAPDH RT-PCR-reverse	5′-GTCTTCTGGGTGGCAGTGAT-3′	

* AT: annealing temperature

Table 2. Sequences of Primers for Methylation Specific PCR

Primer	Primer sequence	AT
MSP-forward	5′-GGGTATTTAAGTTGGTTTTTGTA-3′	60℃
MSP-reverse	5′-AAAATACGCGCTAAAC-3′	
USP-forward	5′-GTTTGGGTATTTAAGTTGGTTTTTGTA-3′	52℃
USP-reverse	5′-AAAATACACACTAAAC-3′	

* AT: annealing temperature

Table 3. Relation of DCC Gene Expression and Promoter Methylation

	DCC Gene Expression	No Expression of DCC Gene
Promoter Unmethylation	5 samples	0 sample
Promoter Methylation	0 sample	5 samples
Unmethylation + Methylation	2 samples	0 sample
Total	7 samples	5 samples

chi-square test, $p<0.05$

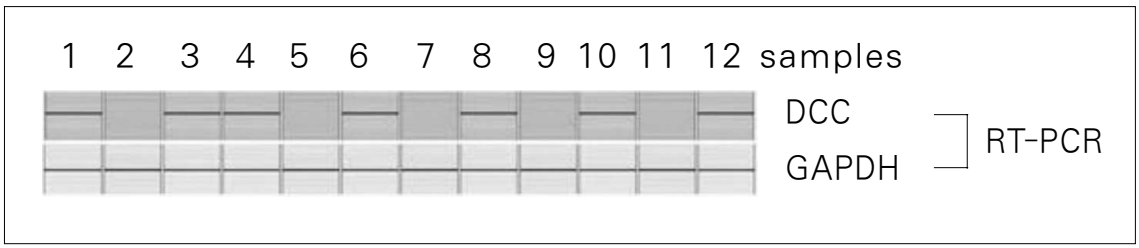

Fig. 1. DCC gene expression after RT-PCR of #1-#12 samples
(U: unmethylation, M: methylation, MSP: methylation specific PCR)

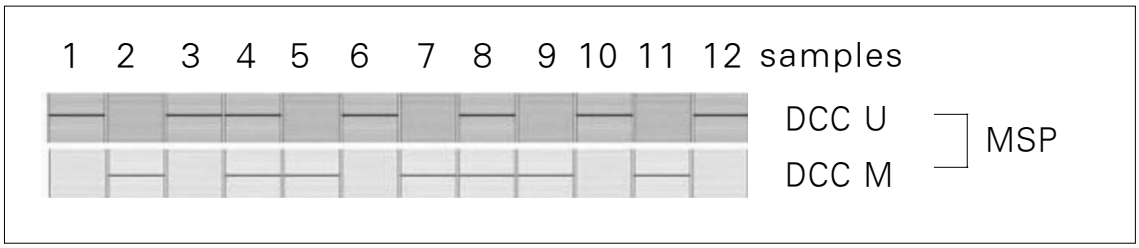

Fig. 2. DCC gene promoter methylation specific PCR of #1-#12 samples
(U: unmethylation, M: methylation, MSP: methylation specific PCR)

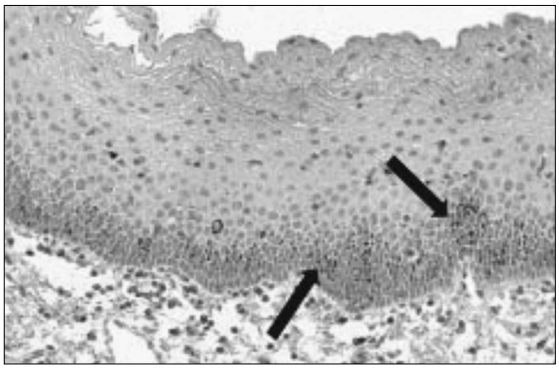

Fig. 3. Immunohistochemical stainings for DCC of normal oral squamous cells(×250)

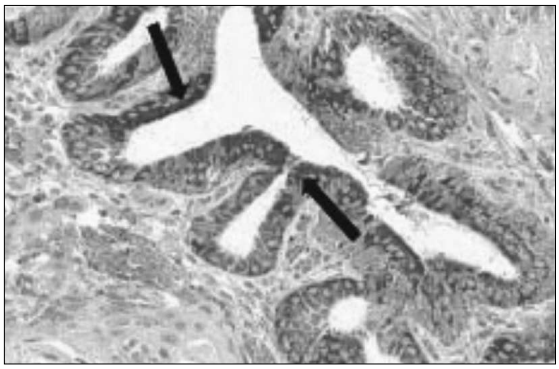

Fig. 4. Immunohistochemical stainings for DCC of normal secretory ductal epithelial cells(×250)

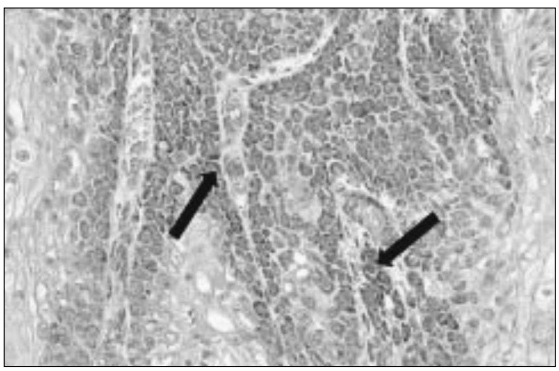

Fig. 5. Immunohistochemical stainings for DCC of moderate differentiated oral squamous cell carcinoma(×300)

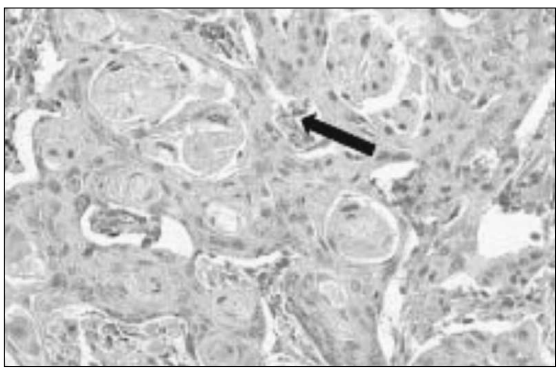

Fig. 6. Immunohistochemical stainings for DCC of well differentiated and invasive oral squamous cell carcinoma(×300)

Ⅳ. 총괄 및 고찰

구강편평상피세포암종은 구강에 발생하는 암 중에서 가장 빈발하고, 장기 생존율이 50% 이하일 정도로 파괴적인 행태를 보이며, 전통적인 치료 방법인 수술, 방사선 치료 및 화학요법의 비약적 발전에도 불구하고 지난 40년 동안 예후가 크게 개선되지 않았다. 이를 극복하기 위해 구강암의 초기 진단을 위한 종양 발생의 원인, 성장 과정 및 예후 영향 인자 등에 대한 연구와 효과적인 치료방법의 개발 연구들이 꾸준히 시행되어 왔다[37-40].

암세포의 발생으로부터 증식, 진전, 전이에 이르는 과정에는 여러 가지 유전자의 변화가 축적되고 발암기전의 각 단계마다 다양한 유전자 변화가 있으며 현재 유전자 및 분자생물학의 발달로 구강암과 종양 유발 유전자(oncogene) 및 종양 억제 유전자(tumor suppressor gene)와의 관계에 대한 많은 부분이 밝혀졌다. 이런 정보를 이용하여 전통적인 수술적 방법 외 표적 항암제 치료 같은 화학 요법의 발달을 가져왔으며 또한 진단 분야에서도 종양 표지자(tumor marker) 등의 발달로 조기 진단 및 예후 예측에 도움을 주고 있다[1,37].

종양의 진단을 위해 이용되는 일반적인 병리조직학적 검사는 그 한계를 가지고 있는데 절제 종양 조직 처리 과정 동안 조직의 변형으로 인한 정확한 변연(tumor margin)을 확인하는 것이 어렵고 또한 종종 변연이 clear 하더라도 재발되는 경우가 많은데 이는 병리조직학적으로는 정상이지만 이미 유전자 및 분자수준에서 세포의 변형이 왔기 때문이다. 이러한 경우를 미루어 보았을 때 분자 생물학을 이용한 종양의 평가가 병리조직학적 검사 보다 더 정확할 수 있음을 알 수 있다[41].

DCC 유전자(Deleted in Colorectal Cancer)는 직장암에 대한 연구를 통해 발견되었고 염색체 18q21.3에 위치한 유전자이며 DCC 유전자의 산물인 DCC 단백질은 190-kd 크기의 면역글로불린 계통 단백질로 세포막을 가로질러 세포막의 안과 밖에 위치하는 transmembrane receptor이다. DCC 단백질은 결직장 점막, 방광, 췌장, 신장, 구강점막 등에서 발현되며 그 기능에 대해 아직까지 명확히 밝혀지지 않았지만, 세포와 세포외 기질 사이의 신호전달에 관여하여 세포의 분화, 성장 및 종양세포의 전이와 관련이 있다고 알려져 있다[4-8].

초기 연구들에서 염색체 18q의 변이와 직장암의 발생 및 나쁜 예후와의 밀접한 관련성 때문에 DCC 유전자가 유력한 종양 억제 유전자인 것으로 생각하였다. 하지만 DCC 유전자는 somatic mutation이 거의 없으며 DCC 유전자를 제거한 transgenic mice 모델 연구에서 DCC 유전자의 발현이 없는 생쥐(DCC-/-)는 신경계통의 결손으로 인해 24시간 안에 죽었고 heterozygous mice(DCC+/-)는 정상적인 생쥐(DCC+/+)와 비교하여 통계적으로 유의한 종양 형성 발생률의 차이를 보여주지 못했다는 사실로 인해 DCC 유전자 보다는 염색체 18q에 존재하는 다른 유전자가 종양 억제 유전자일 것이라고 추정하게 되었다[4,9-11].

최근에 신경축색돌기 유도에 관여하는 세포외 기질 단백질인 netrin-1과 DCC 단백질과의 상호 작용에 의해 해당되는 세포의 증식 또는 사멸이 조절 될 수 있다는게 밝혀지면서 다시 DCC가 선택적인 종양 억제 유전자일 가능성이 제기되게 되었다. DCC 단백질의 extracellular domain은 netrin-1과 결합하게 되며 cytoplasmic domain은 세포내 caspase-9 dependent pathway와 연계되어 있다. DCC 단백질과 netrin-1의 결합 시에는 세포의 분화, 성장 및 이주를 촉진시키며 반대로 netrin-1이 결합하지 않게 되면 세포 내 단백질 분해 효소인 caspase-9의 활성화를 유도시키는데 활성화된 caspase-9은 다시caspase-3를 활성화시키고, caspase-3는 ICAD(inhibitor of the caspase- activated deoxyribonuclease)를 포함한 여러 기질단백질들을 절단하여 세포 사멸(apoptosis)을 촉진하게 되고 CAD(caspase-activated deoxyribonuclease)와 결합하고 있던 ICAD가 caspase-3에 의해 절단되면, CAD가 활성화하여 핵에 존재하는 염색체 DNA를 절단함으로써 DNA fragmentation을 유도하게 된다. 따라서 종양 세포가 증식, 성장하기 위해서는 세포 외 기질에 netrin-1이 풍부하여 DCC 단백질과 많이 결합하거나 DCC의 발현을 억제하여 DCC에 의한 세포 사멸 작용을 저지하는 방법을 추측할 수 있으며 실제로 여러 연구들은 대장암이나 위암 등에서 DCC의 발현이 감소하거나 상실되는 것을 관찰할 수 있었으며 반대로 netrin-1의 과발현이 관찰되었다고 보고하고 있다[12-18].

Carvalho 등[44]은 두경부암종에 대한 연구를 통해 DCC 유전자가 종양 억제 유전자일 가능성을 주장하였으며 암종에서 DCC 발현의 억제는 유전자 promoter methylation에 의한 것이라고 하였다. 유전자 promoter methylation은 유전자 발현이 억제되는 가장 중요한 메카니즘 중 하나로 알려져 있다[25-33].

본 연구에서 DCC 유전자의 발현을 보기위한 RT-PCR 분석에서 12편의 샘플 중 5개의 샘플(41.6%)에서 유전자 발현이 관찰되지 않았다. 이런 결과는 Fearon 등[5]이 대장암종의 70%에서 유전자 발현이 소실되었다는 연구 보고 또 Sato 등[22]이 위암의 61%에서 유전자 발현이 감소하였다는 연구 보고와는 차이가 있는데 아마도 실험에 사용된 암종의 종류와 발생 부위 차이에 따른 것이라 생각된다.

DCC 유전자의 발현과 유전자 promoter 메칠화의 상관관계를 알아보기 위한 methylation specific PCR 분석을 통해 DCC 유전자가 발현되지 않았던 5개의 샘플 모두(41.6%)에서 유전자 promoter methylation이 관찰되었다. 이는 Ishii 등[45]의 식도암에서 DCC 유전자 methylation 연구 결과인 46.4%와 유사한 결과였다. 하지만 Carvalho 등[44]의 75% 결과와는 차이가 있는데 이것은 실험에 사용된 종양 조직의 분화도와 침습성의 차이에 따른 것이라 생각된다.

DCC 발현의 검증을 위한 면역조직화학적 검사 결과는 다른 연구에서처럼 정상조직세포들에 비해 구강편평상피세포암종에서 DCC의 발현이 감소 또는 소실 된 것을 관찰 할 수 있었는데, 특이한 점은 조직병리학적 조직 소견 상 중등도로 분화되고 침습성이 덜한 구강편평상피세포암종에서는 DCC의 발현이 정상 세포에 비해 중간 정도로 감소하였으나 분화도가 높고 침습성이 강한 구강편평상피세포암종에서는 DCC의 발현이 거의 나타나지 않았다는 것이다. 이는 DCC의 발현 정도가

암종의 분화도 및 침습성과 상관관계가 있다고 생각해 볼 수 있다.

결론적으로 DCC 발현이 구강편평상피세포암종에서 감소되었고 DCC 유전자 promoter의 메칠화가 발현을 억제하는데 중요한 메카니즘으로 작용한다는 사실을 알 수 있었다. 또한 DCC 발현과 구강편평상피암종의 분화도와 침습성에 따른 상관관계에 대한 가능성을 추론할 수 있었다. 향 후, 구강편평상피세포암종에서 더 많은 DCC 유전자의 발현 및 promoter 메칠화에 대한 데이터의 축적이 이루어진다면 진단적 표식자로서 그 사용이 가능하리라 사료된다.

Ⅴ. 결 론

DCC 유전자는 명칭에서도 알 수 있듯이 직장암 발병과의 밀접한 관계 때문에 tumor-suppressor gene으로 추정되고 있으며, 직장암에서 그 유전자 발현이 감소 또는 상실되는 것이 관찰되며 다른 선암 또는 위암 등에서도 DCC 유전자의 발현 감소가 나타난다.

직장암에서 DCC 유전자의 발현을 억제시키는 여러 기전 중에서 유전자의 promoter methylation이 가장 유력한 원인으로 생각되고 있다. 구강편평상피세포암종의 경우에도 암종의 분화도 또는 침습성에 따라 DCC 유전자의 발현이 감소 또는 소실되며 이는 직장암에서처럼 유전자의 promoter methylation이 그 원인 기전이라고 추측해 볼 수 있다.

이에 본 연구는 구강편평상피세포암종에서 DCC 유전자의 발현 양상을 검사하고 암종의 특성에 따른 DCC 유전자 발현의 차이와 promoter methylation과의 상관성을 알아보고자 하였다.

실험에 사용된 조직편은 단국대학교 치과대학 부속 치과병원 구강악안면외과에서 구강편평상피세포암으로 최종 진단받은 환자 12명의 수술 후 절제된 조직 12편을 사용하였다. 각각의 조직편에서 DCC 유전자 발현을 검사하기 위한 RT-PCR 분석과 promoter methylation specific PCR 및 DCC 단백질의 발현을 검증하기 위한 면역조직화학적 검사를 시행한 결과, 12개의 구강편평상피암종 조직편 중 promoter methylation은 5예(41.6%)에서 관찰되었고 promoter methylation이 관찰된 5예 모두는 동시에 DCC 유전자가 발현되지 않았다. 또한 암종의 분화도가 떨어지거나 침습성이 강한 구강편평상피암종에서 DCC 유전자 발현 억제와 promoter methylation이 관찰되었다. 이러한 유전자 발현 현상은 면역조직학적 검사에서 증명되었다.

따라서 구강편평상피세포암종의 발생과 DCC 발현 억제는 밀접한 관계가 있으며 이러한 유전자 발현 억제의 기전은 유전자의 promoter methylation에 의한 것임을 알 수 있었다. 향후 이와 같은 DCC 유전자의 promoter methylation에 의한 발현 억제와 구강편평상피세포암종과의 상관관계를 이용하여 진단적 marker 또는 종양 억제 방법의 하나로 활용할 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

1. 강정훈, 김경욱, 이재훈 : 원발성 및 전이성 구강편평상피세포암종 세포주에서 p21 및 p73 mRNA 발현에 관한 연구. 대한구강악안면외과학회지 2001 ;27:483-90
2. Hiyama T, Sato T, Yoshino K : Second primary cancer following laryngeal cancer with special reference to smoking habits. Jpn J Cancer Res 1992;83:334-39
3. Morita M, Kusano H, Ohno S : Multiple occurrence of carcinoma in the upper aerodigestive tract associated with esophageal cancer: reference to smoking, drinking and family history. Int J Cancer 1994;58:207-10
4. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR : Genetic alterations during colorectal tumor development. N Engl J Med 1988;319:525-32
5. Fearon ER, Cho KR, Nigro JM : Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. Science 1990;247:49-56
6. Cho KR and Fearon ER : Linking tumor suppressor genes and altered cell surface interactions in cancer. Eur J Cancer 1995; 31A:1055-65
7. Shibata D, Reale MA, Lavin P : The DCC protein and prognosis in colorectal cancers. N Engl J Med 1996;335:1727-32
8. Carethers JM : The cellular and molecular pathogenesis of colorectal cancer. Gastroentero Clin North Am 1997;24:737-54
9. Roesler J , Srivatsan E, Moatamed F : Tumor suppressor activity of neural cell adhesion molecule in colon carcinoma. Am J Surg 1997;174: 251-57
10. Fearon ER and Vogelstein B : A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 1990;61:759-67
11. Tanaka K, Oshimura M, Kikuchi R : Suppression of tumorigenicity in human colon carcinoma cells by introduction of normal chromosome 5 or 18. Nature 1991;349:340-42
12. Cho KR, Oliner JD, Simons JW : The DCC gene - structural analysis and mutations in colorectal carcinomas. Genomics 1994;19:525-31
13. Forcet C, Ye X, Granger L : The dependence receptor DCC(deleted in colorectal cancer) defines an alternative mechanism for caspase activation. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:3416-21
14. Lawlor KG and Narayanan R : Persistent expression of the tumor suppressor gene DCC is essential for neuronal differentiation. Cell Growth Differ 1992;3:609-16
15. Hedrick L, Cho KR, Fearon ER : The DCC gene product in cellular differentiation and colorectal tumorigenesis. Genes Dev 1994;8:1174-83
16. Serafini T, Kennedy TE, Galko MJ : The netrins define a family of axon outgrowth-promoting proteins homologous to C. elegans UNC-6. Cell 1994;78(3):409-24
17. Kennedy TE, Serafini T, de la Torre JR : Netrins are diffusible chemotropic factors for commissural axons in the embryonic spinal cord. Cell 1994;78(3):425-35
18. Oster SF, Deiner M, Birgbauer E : Ganglion cell axon pathfinding in the retina and optic nerve. Semin. Cell Dev. Biol. 2004;15:125-36
19. Klingelhutz AJ, Hedrick L, Cho KR : The DCC gene suppresses the malignant phenotype of transformed human epithelial cells. Oncogene 10:1581-6, 1995
20. Kato H, Zhou Y, Asanoma K : Suppressed tumorigenicity of human endometrial cancer cells by the restored expression of the DCC gene. Br J Cancer 2000;82:459-66
21. Velcich A, Corner G, Palumbo L : Altered phenotype of HT29 colonic adenocarcinoma cells following expression of the DCC gene. Oncogene 1999;18:2599-06
22. Sato K, Tamura G, Tsuchiya T : Frequent loss of expression without sequence mutations of the DCC gene in primary gastric cancer. Br J Cancer 2001;85:199-03
23. Arakawa H : Netrin-1 and its receptors in tumorigenesis. Nat Rev Cancer 2004;4:978-87
24. Mehlen P and Fearon ER : Role of the dependence receptor DCC in colorectal cancer pathogenesis. J Clin Oncol 2004;22:3420-8
25. Herman JG and Baylin SB : Gene silencing in cancer in association

with promoter hypermethylation. N Engl J Med 2003;349:2042-4
26. Miyamoto K, Fukutomi T, Akashi-Tanaka S : Identification of 20 genes aberrantly methylated in human breast cancers. Int J Cancer 2005;116:407-14
27. Tamura G. : Promoter methylation status of tumor suppressor and tumor-related genes in neoplastic and non-neoplastic gastric epithelia. Histol Histopathol 2004;19:221-8
28. Wolf P, Hu YC, Doffek K : O6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter hypermethylation shifts the p53 mutational spectrum in non-small cell lung cancer. Cancer Res 2001;61:8113-7
29. Nakamura M, Watanabe T, Yonekawa Y : Promoter methylation of the DNA repair gene MGMT in astrocytomas is frequently associated with G:CA:T mutations of the TP 53 tumor suppressor gene. Carcinogenesis 2001;22:1715-9
30. Esteller M, Toyota M, Sanchez-Cespedes M : Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is associated with G to A mutations in K-ras in colorectal tumorigenesis. Cancer Res 2000;60:2368-71
31. Esteller M, Risques R-A, Toyota M : Promoter hypermethylation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase is associated with the presence of G:C to A:T transition mutations in p53 in human colorectal tumorigenesis. Cancer Res 2001;61:4689?92
32. Oue N, Shigeishi H, Kuniyasu H : Promoter hypermethylation of MGMT is associated with protein loss in gastric carcinoma. Int J Cancer 2001;93:805-9
33. Zhang L, Lu W, Miao X : Inactivation of DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation and its relation to p53 mutations in esophageal squamous cell carcinoma. Carcinogenesis 2003;24:1039-44
34. Yamashita K, Upadhyay S, Osada M : Pharmacologic unmasking of epigenetically silenced tumor suppressor genes in esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Cell 2002;2:485-95
35. Ogi K, Toyota M, Ohe-Toyota M : Aberrant methylation of multiple genes and clinicopathological features in oral squamous cell carcinoma. Clin Cancer Res 2002;8:3164-71
36. Chuong CM, Jiang TX, Yin E : cDCC(chicken homologue to a gene deleted in colorectal carcinoma) is an epithelial adhesion molecule expressed in the basal cells and involved in epithelial-mesenchymal interaction. Dev Biol 1994;164:383-7
37. Parkin DM : Global cancer statistics in the year 2000. Lancet Oncol 2001;2:533-43
38. Mork J : Forty years of monitoring head and neck cancer in Norway-no good news. Anticancer Res 1998;18:3705-8
39. Forastiere A, Koch W, Trotti A : Head and neck cancer. N Engl J Med 2001;345:1890-1900
40. Lippman SM and Hong WK : Second malignant tumors in head and neck squamous cell carcinoma: the overshadowing threat for patients with early-stage disease. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1989;17:691-4
41. Brian L : Molecular Biology and Clinical Behavior of Oral Cancer. Oral Maxillofacial Surg Clin N Am 2006;18;483-91
42. Fazeli A, Dickinson SL, Hermiston ML : Phenotype of mice lacking functional Deleted in colorectal cancer (DCC) gene. Nature 1997;386:796-04
43. Hahn SA, Schutte M, Hoque AT : DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. Science 1996;271:350-3
44. Carvalho A, Chuang A, Jiang W : Deleted in colorectal cancer is a putative conditional tumour suppressor gene inactivated by promoter hypermethylation in head and neck squamous cell carcinoma. Cancer Res 2006;66:9401-07
45. Ishii T, Murakami J, Notohara K : Oesophageal squamous cell carcinoma may develop within a background of accumulating DNA methylation in normal and dysplastic mucosa. Gut 2007;56:13-9