

다형성 선종과 선양낭성 암종에서 상피성장인자 발현에 관한 연구

박승구 · 한세진 · 김철환 · 김경욱

단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2008;34:245-249)

THE STUDY OF EGF EXPRESSION BETWEEN HUMAN PLEOMORPHIC ADENOMA AND ADENOID CYSTIC CARCINOMA

Seung-Gu Park, Se-Jin Han, Chul-Hwan Kim, Kyung-Wook Kim

Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Dankook University

Epidermal growth factor is a single-chain polypeptide consisting of 53 amino acids and has a potent mitogenic activity that stimulates proliferation of various normal and neoplastic cells through the interaction with its specific receptor(epidermal growth factor receptor, EGFR).

Pleomorphic adenoma is the most common salivary benign tumor and histologically, it contains the epithelial cell, the myo-epithelial cell and mesenchymal ingredient, which is various aspect. Adenoid cystic carcinoma is an infiltrative malignant salivary gland tumor with three different histological patterns: cribriform, tubular or solid. The tumor cell structure composed of modified myoepithelial cell, and basaloid cell. In this study, we used an immunohistochemical technique to investigate the expression of EGF in 6 specimens of adenoid cystic carcinoma and 10 specimens of pleomorphic adenoma taken from patients treated at Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Dankook University.

The results were as follows.

1. In pleomorphic adenoma, ductal structure and scattered spindle cells in hyalinized stroma, disclosing myxoid stroma and hyalin, cartilage formation were observed. Immunohistologically, weak EGF expression in ductal structure and negative in stromal area were observed.
2. Cribriform type of adenoid cystic carcinoma showed numerous pseudocyst surrounded by dark small neoplastic cells in the back-ground of fibrous connective tissue and moderate EGF expression of dark cells adjacent to pseudo lumen in cribriform pattern, while weak expression in other most cells.
3. Tubular type of adenoid cystic carcinoma showed numerous ductal pattern surrounded by two layered neoplastic cells in the back-ground of fibrous connective tissue and strong EGF expression in luminal cells of ductal structure, while weak expression in outer cells.

From the results obtained, we suggest that EGF is mainly biosynthesized in cells forming duct like structures of tubulo-ductal type or cribriform adenoid cystic carcinoma and it may play a role, as a cell mitogen in adenoid cystic carcinoma growth.

Key words: Epidermal growth factor, Pleomorphic adenoma, Adenoid cystic carcinoma

I. 서 론

타액선 종양은 전체 타액선 질환의 약 20%를 차지하며 타액상피 실질(parenchymal) 또는 주위의 간질(간엽조직, mesenchymal)에서 유래된다. 다형성선종(Pleomorphic adenoma)은 실질기원 종양으로 가장 호발하는 타액선 양성 종양이며 현미경적 소견에서 주로 도관구조를 구성하는 상피 세포와 소성의 점액양 간질에 높은 비율로 존재하는 근상피 세포 및 간엽조

직 성분을 포함하는 매우 다양한 소견을 보여준다^{1,2).}

선양낭성 암종(Adenoid cystic carcinoma)은 대, 소타액선에서 발생하는 악성 타액선 종양으로, 침습성이 매우 강하고, 신경주위의 침윤이 특히 심한 악성종양으로서, 전체 악성 종양 중, 대타액선에서는 4.4%, 소타액선에서는 1.2%의 빈도를 보이며 외과적 절제술의 치료 후 높은 재발률을 보인다. 조직병리학적으 주로 사상체(cribriform)형을 이루고 있으며, 도관형(tubular form), 충실소(solid nest)형 등 3가지 형태로 구성되어 있고 세포구조는 기저양세포(basaloid cell), 또는 근상피세포(myoepithelial cell)로 구성되어 있다^{3,4,5).} 또한 선양낭성 암종의 임상적 양상이나 예후는 그 암종의 조직학적 형태와 관련있다고 알려져 왔다^{6,7).}

상피성장인자(Epidermal growth factor, EGF)는 53 amino-acids로 구성된 single-chain polypeptide로써, 세포 표면의 수용체(EGFR)와 결합하여 다양한 형태의 세포들의 증식을 유도할 수

김 경 욱

330-716 충남 천안시 안서동 29
단국대학교 치과대학 부속병원 구강외과

Kyung-Wook Kim

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Dankook University,
29 Amseodong, Choenan, Chungnam, 330-716, Korea
Tel: 82-41-550-1994 Fax: 82-41-550-8988
E-mail: kkwoms@dku.edu

있는 강력한 분열 유발성 능력을 갖고 있는 단백질이다. Cohen(1962) 등이 생쥐의 악하선으로부터 처음으로 추출하였으며 이후 사람의 urine, 타액, 세포외액에서도 추출되게 되었고 많은 관련 연구가 시행되었다^{8,9)}.

상피성장인자수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR)는 다양한 세포의 세포막에 존재하는 분자량 170 kDa의 막투과성 당단백질이다¹⁰⁾. 상피성장인자수용체는 상피의 증식이 빠르게 일어나는 여러 종류의 상피세포와 상피조직에서 관찰된다¹¹⁾. 상피성장인자와 세포의 세포막에 존재하는 상피성장인자수용체와의 결합은 수용체의 세포 내 domain의 tyrosinekinase를 활성화시킨다. 이와 같이 활성화된 tyrosine kinase는 downstream 기질을 인산화시킴으로써 궁극적으로는 DNA의 복제와 세포 분열을 야기 시키며, 이런 특성이 종양 세포에서 증식 및 발암 기전에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다. 이에 저자는 사람의 다형성 선종과 선양낭성 암종에서 상피성장인자(EGF) 발현 양상을 관찰하고 종양형성에 어떠한 관계가 있는지 알아보려고 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

연구 대상으로는 단국대학교 구강악안면외과에서 수술 시행한 타액선 종양 중 조직병리학적으로 확진된 다형성 선종 10례와 선양낭성암종 6례의 조직표본을 대상으로 하였으며 그 중, 선양낭성암종은 조직병리학적 형태에 따라 사상형 3례, 도관형 3례로 분류하여 실험하였다.

2. 연구 방법

(1) H & E 염색

채취된 종양을 절취하여 10% 중성 포르말린에 고정 후 4 μ m 파라핀 절편을 제작한 후, 통법에 따라 H & E 염색을 시행하고 광학현미경하에서 각 표본의 조직병리학적 특징을 관찰하였다.

(2) 면역조직화학적 검사

절취한 조직을 고정한 후 Poly-L-Lysine으로 처리된 슬라이드에 4~8 μ m 파라핀 절편을 제작한 후, 면역조직화학적 염색을 시행하기 위하여 절편을 0.3% H₂O₂에 5분 간 부란시키고 10mM PBS 로 세척하여 제 1차 항체인 Polyclonal anti-EGF Ab(Oncogene Science, U.S.A.)를 사용하였다.

PBS로 세척하고 LSAB(labelled streptavidine biotin)법으로 처리 후, 발색제는 Diaminobenzidine을 이용하였으며 Mayer's Hematoxylin으로 대조염색 시행하였다.

염색된 각 조직표본을 광학현미경으로 관찰 후, 각각의 상피성장인자(EGF) 발현 양상을 관찰하여 다음과 같이 기록하였다(Table 1).

III. 연구 결과

1. H & E 염색 소견

다형성 선종은 2가지의 우세한 분화 형태인 도관과 근상피 형태가 특징이며, 관구조의 내강은 입방세포로 이장되어 있으며, 방추형의 신장된 근상피세포가 결합 조직의 유리질화된 간질에 넓게 퍼져있는 양상을 나타내었다(Fig. 1).

Table 1. EGF Staining Nomenclature

(-)	Negative
(+)	Weak : positive staining of 10% or less of tumor cells
(++)	Moderate : positive staining of 11-50%
(+++)	Strong : positive staining of more than 50%

Table 2. Immunohistochemical Staining of EGF in Normal Salivary Gland

Cell type	Striated duct	Intercalated duct	Excretory duct	Acinus cells
EGF	+	+	-	-

Table 3. Immunohistochemical Staining of EGF in Pleomorphic Adenoma

Cell type	Tubulo-glandular structure			Stromal area		
	Inner cells	Outer cells	Hyalin	Myxoid	Chondroid	Undifferentiated myoepithelial cells
EGF	+	-	-	-	-	-

Table 4. Immunohistochemical Staining of EGF in Adenoid Cystic Carcinoma

Cell type	Cribriform type		Tubulo-ductal type	
	Pseudocystic area cells	Other area cells	Inner cells	Outer cells
EGF	++	+	+++	+

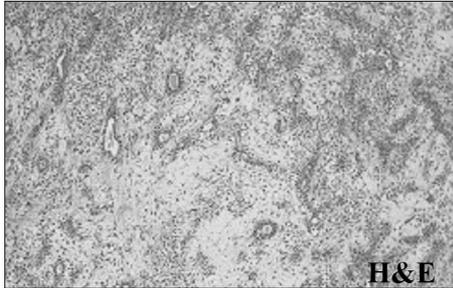


Fig. 1. H & E staining findings in pleomorphic adenoma (×100).

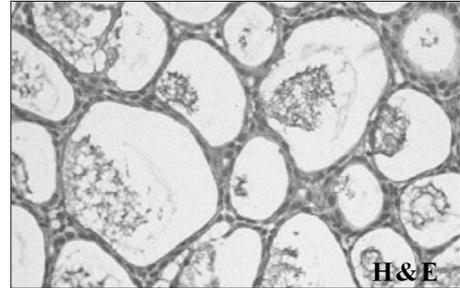


Fig. 2. H & E staining findings in cribriform type of adenoid cystic carcinoma (×100).

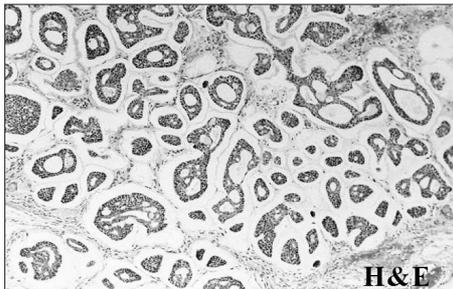


Fig. 3. H & E staining findings in tubulo-ductal type of adenoid cystic carcinoma (×100).

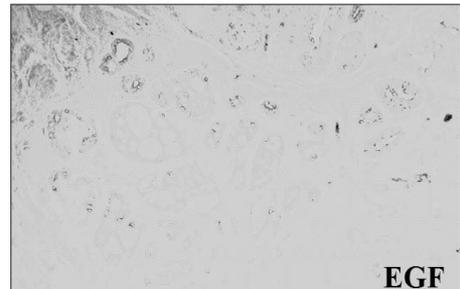


Fig. 4. EGF staining immunohistochemical findings in pleomorphic adenoma (×200).

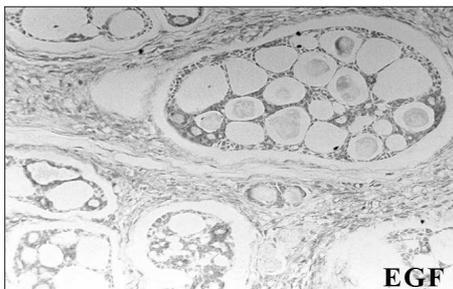


Fig. 5. EGF staining immunohistochemical findings in cribriform type of adenoid cystic carcinoma (×200).

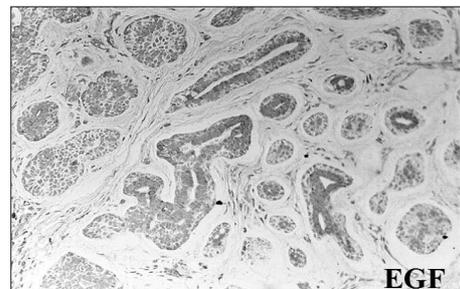


Fig. 6. EGF staining immunohistochemical findings in tubulo-ductal type of adenoid cystic carcinoma (×200).

선양낭성 암종의 사상형(cribriform type)은 다수의 소낭이 수많은 원주로 분리되어 스위스 치즈 양상을 보이며, 소낭 주위로 둘러싸는 세포들을 관찰할 수 있었다. 관상형(tubulo-ductal type)에서는 유리질화 된 기질 사이로 1-3층의 기저양 세포로 둘러싸여 있는 다수의 작은 관 구조를 관찰하였다(Fig. 2, 3).

2. 면역조직화학적 검사 소견

1) 정상 타액선

정상 타액선의 선조도관 및 개재도관에서 EGF 양성반응을 보였으나, 분비도관 및 도관내세포에서는 음성반응을 보였다(Table 2).

2) 다형성 선종

다형성 선종에서는 도관 내세포와 도관을 이루는 세포에 양성 반응을, 산재하는 근상피세포, 점액성 조직, 초자양 물질 및 초자양 지역에서는 음성반응을 보였다(Fig. 4, Table 3).

3) 선양낭성 암종

선양낭성 암종의 사상형에서는 가성낭 조직을 둘러싸는 세포에서 EGF 양성반응을 보였고 사상체를 이루는 종양세포에서는 산재되어 미약한 양성반응을 나타냈으며, 도관형에서는 두 층의 종양세포 중 도관 내세포에서 강한 EGF 양성반응을 보였다(Fig. 5, 6, Table 4).

IV. 총괄 및 고찰

포유류의 세포 성장과 분화는 다양한 성장인자들에 의해 조절 된다¹¹. 성장인자는 세포의 특정한 수용기와 상호작용 하는 단백질로서, 표현형의 조절, 세포의 운동성과 세포골격구조의 변화, 세포 증식 속도의 변화 등을 포함하는 다양한 생물학적 반응들을 야기한다. 성장인자는 특정 세포에서만 생산되는 것이 아니라 여러 종류의 세포에서 생산되며, 다양한 범위의 서로 중복되는 생물학적 기능을 가지고 있고 일반적으로 비교적 짧은 거리에서 작용한다. 대부분 포유류 세포들은 여러 가지 성장인자를 분비 한다¹²⁻¹⁴.

상피성장인자(Epidermal growth factor, EGF)는 53 amino-acids 로 구성된 single-chain polypeptide로써, 세포 표면의 수용체(EGFR)와 결합하여 다양한 형태의 세포들의 증식을 유도할 수 있는 강력한 분열 유발성 능력을 갖고 있는 단백질이다^{15,16}. Cohen 등이 생쥐의 악하선으로부터 처음으로 추출하였으며 이후 사람의 urine, 타액, 세포외액에서도 추출되게 되었고 많은 관련 연구가 시행되었다^{8,9,17,18}.

상피성장인자수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR)는 다양한 세포의 세포막에 존재하는 분자량 170 kDa의 막투과성 당단백질이다¹⁰. 상피성장인자수용체는 상피의 증식이 빠르게 일어나는 여러 종류의 상피세포와 상피조직에서 관찰 된다^{11,19}. 상피성장인자와 세포의 세포막에 존재하는 상피성장인자수용체와의 결합은 수용체의 세포 내 domain의 tyrosinekinase 를 활성화시킨다. 이와 같이 활성화된 tyrosine kinase는 downstream 기질을 인산화시킴으로써 궁극적으로는 DNA의 복제와 세포 분열을 야기 시킨다. 상피성장인자는 상피성장인자수용체와의 결합으로 세포의 증식을 촉진시키는데 중요한 역할을 한다. 이러한 성장인자 생산의 증가는 구강에서 발생하는 암종의 발암기전 및 암종의 성장에 중요한 역할을 할 것으로 생각 된다²⁰.

구강 편평상피 세포암종²¹, 위암²¹, 타액선 종양²² 등에서 상피성장인자의 발현이 관찰되어왔다. Tahara 등은 위암에서의 상피성장인자 발현 연구를 통해 상피성장인자 발현 양성인 위암환자가 음성인 환자보다 그 예후가 더 좋지 않았다고 하였으며 상피성장인자가 위암의 침습적 성장에 중요한 역할을 하며

위암 환자의 악성도를 판단하는 생체 인지자(biologic marker)로서 기여할 수 있다고 주장하였다²¹.

Mori 등은 타액선에 발생한 선양낭성 암종에서의 상피성장인자 발현을 처음으로 보고하였다²³. 선양낭성 암종(Adenoid cystic carcinoma)은 대, 소타액선에서 발생하는 악성 타액선 종양이다. 침습성이 매우 강하고, 신경주위의 침윤이 특히 심한 악성종양으로서, 주로 50대 후반에 호발하며 전체 악성 종양 중, 대타액선에서는 4.4%, 소타액선에서는 1.2%의 빈도를 보이며 이하선, 악하선에서 가장 흔한 발병을 나타내고, 구강내의 구개부, 구강저의 소타액선에서도 발생한다²³. 외과적 절제술 후, 임상적으로 5년 생존율은 비교적 높지만, 초기 치료 후 10~15년 내에 국소전이와 혈류전이로 인하여 약 40%이상 재발하는 낮은 완치율을 가진 암종이다^{3,5}.

선양낭성암종은 조직병리학적으로 주로 사상체(cribriform)형을 이루고 있으며, 도관형(tubular form), 충실소(solid nest)형 등으로 구성되어 있다. 세포구조는 기저양세포(basaloid cell), 또는 근상피세포(myoepithelial cell)로 구성되어 있다. 각각의 암종세포군 내에서 수많은 위낭 공간을 형성하여 사상체 형태를 가지는 것이 특징적인데, 가성낭은 근상피세포 형태의 암종 세포에 둘러싸인 모양을 하고 있고 기저막 성분을 포함하는 세포의 기질로 채워져 있다^{24,25}. 가성낭 내부에는 거의 세포 성분은 없으나 암종 세포에서 세포 간극으로 유리되는 세포외기질 성분들로 구성되어 있다²⁹⁻³⁰.

이번 연구에서는 선양낭성 암종의 상피성장인자 발현이 암종의 가성낭 또는 도관형 구조에서 양성 반응을 나타내었는데 이들 구조물은 암종의 조직병리학적 특성을 나타내는 것들로서 상피성장인자가 이들을 만들어내는 세포들로부터 생성되었다고 생각된다. 대표적 타액선 양성 종양인 다형성 선종의 경우, 도관을 형성하는 세포에서만 미약한 상피성장인자 발현 양성 반응을 나타내었다는 사실과 비교했을 때, 선양낭성 암종의 상피성장인자를 만들어내는 가성낭, 도관형 구조 생성 세포들이 암종의 분화와 성장에 중요한 역할을 하리라 여겨진다.

V. 결 론

선양낭성 암종은 침습적이고 재발 경향이 높은 타액선 악성 종양으로 상피성장인자(EGF) 발현이 종양의 특성과 연관되어 있다고 추정되며, 이에 사람의 다형성 선종과 선양낭성 암종에서 상피성장인자(EGF) 발현 양상을 관찰, 비교하기 위해 단국대학교 구강악안면외과에서 수술 시행한 타액선 종양 중 조직병리학적으로 확진된 다형성 선종 10례와 선양낭성 암종 6례의 조직표본을 대상으로 면역조직화학적 검사를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 다형성 선종에서는 도관 내세포와 도관을 이루는 세포에 양성 반응을, 산재하는 근상피세포, 점액성 조직, 초자양 물질 및 초자양 지역에서는 음성반응을 보였다.
2. 선양낭성 암종의 사상형에서 가성낭 조직을 둘러싸는 세

포에서 EGF 양성반응을 보였고 사상체를 이루는 종양세포에서는 산재되어 미약한 양성반응을 나타냈다.

3. 선양낭성 암종의 도관형에서는 두 층의 종양세포 중 도관내세포에서 강한 EGF 양성반응을 보였다.

이상의 소견으로 다형성 선종에서는 EGF가 도관을 형성하는데 국한되어 있지만, 선양낭성 암종의 사상형에서는 비록 근상피세포 기원 종양세포의 형성에는 무관하였으나 가성낭을 만드는데 관여하며 도관형에서는 도관 형성에 관여하는 것으로 생각되었다. 이에 EGF 발현은 타액선에 발생하는 선양낭성 암종의 형성과 성장에 밀접한 관계가 있으리라 사료되었다.

참고문헌

- J. Phillip Sapp *et al.*: Contemporary Oral and Maxillofacial pathology. Mosby. 336-355, 1997.
- John E. Norman, Mark McGurk: Color atlas and text of the salivary glands disease, disorders and surgery. Mosby-Wolfe. 63-65, 229-240, 1995
- Batasakis JG, Luna MA, el-Naggar A: Histopathologic grading of salivary gland neoplasm: adenoid cystic carcinomas. Ann Oto Rhinol Laryngol 1990;99:1007-9.
- Brookstone MS, Huvos AG, Spiro RH: Central adenoid cystic carcinoma of mandible. J Oral Maxillofacial Surg 48:1329-33, 1990.
- Nascimento AG, Amaral ALP, Prado LAF, *et al.*: Adenoid cystic carcinoma of salivary glands: a study of 61 cases with clinicopathologic correlation. Cancer 1986;57:312-319.
- Perzin KH, Gullane P, Clairmont AC: Adenoid cystic carcinoma arising in salivary glands: a correlation of histological features and clinical courses. Cancer 1978;42:265-282.
- Szanto PA, Luna MA, White RA: Histologic gradig of adenoid cystic carcinomas of the salivary gland. Cancer 1984;54:1062-1069.
- Cohen S: Isolation of submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. J Biol Chem 1962;237:1544-1562.
- Cohen S, Carpenter G: Human epidermal growth factor: isolation and chemical and biological properties. Proc Natl Acad Sci USA 1975;72:1317-1321.
- 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 1989;59:559-562.
- 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 1992;249:243-247.
- 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 1991;418:349-353.
- James R, Bradshaw RA: Polypeptide growth factors. Ann Rev Biochem 1984;53:259-292.
- Modjtahedi H, Hickish T, Nicolson M, *et al.*: Phase I trial and tumor localization of the anti-EGFR monoclonal antibody ICR62 in head and neck or lung cancer. Br J Cancer 1996;73:228-235.
- Carpenter G, Zengdegi JG: Epidermal growth factor, its receptor, and related proteins. Experim Cell Res 1986;164:1-10.
- Ino M, Ushiro K, Ino C, *et al.*: Kinetics of epidermal growth factor in saliva. Acta Otolaryngol(Stockh), Suppl 1993;500:126-130.
- 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 1994;158:245-255.
- Ozanne B, Richards CS, Hendler F, *et al.*: Over-expression of the EGF receptor is a hallmark of squamous cell carcinomas. J Pathol 1986;149:9-14.
- 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 1992;25:387-394.
- Pusztai L, Lewis CE, Lorenzen J, *et al.*: Review article, Growth factors: Regulation of normal and neoplastic growth. J Pathol 1993;169:191-201.
- Tahara E, Sumiyoshi H, Hata J, Yasui W, Taniyama K, hayashi T, Nagae S. and Sakamoto S: Human epidermal growth factor in gastric carcinoma as a biologic marker of high malignancy. Jpn J Cancer Res 1986;77:145-152.
- Mori M, Naito R, Okada Y, *et al.*: Immunohistochemical distribution of human epidermal growth factor in salivary gland tumors. Virchows Arch. A Pathol Anat 1987;411:499-507.
- Ellis GL, Auclair PL, Gnepp DR: Surgical Pathology of the Salivary Glands. Philadelphia, WB Saunders, 1991.
- Toida M, Takeuchi J, Hara K: Histochemical studied of intercellular component of salivary gland tumors with special reference to glycosaminoglycan, laminin, and vascular elements. Virchows Arch[A] 1984;403:15-26.
- Toida M, Takeuchi J, Hara K: Histochemical studies on pseudocysts in adenoid cystic carcinoma of the human salivary gland. Histochem J 1985;17:913-924.
- Caseliz J, Schulzei G: Adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: an immunohistochemical study. J Oral Pathol 1986;5:308-318.
- Azumi N, Battiform H: The cellular composition of adenoid cystic carcinoma. An immunohistochemical study. Cancer 1987;60:1589-1598.
- Saku T, Okabe H, Yagi Y, *et al.*: A comparative study on the immunolocalization of keratin and myosin in salivary gland tumors. Acta Pathol Jpn 1984;4:1031-1040.
- Busttil A: Adenoid cystic carcinoma of minor salivary glands. J Laryngol Otol 1977;91:41-53.
- Mochomovitz LE, Kahn LB: Adenoid cystic carcinoma of the salivary gland and its histologic variants. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1977;44:394-404.