

간전이를 동반한 대장암 환자에서 원발 종양 및 간전이 종양의 베타-카테닌 발현

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 외과, ¹성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 병리과, ²삼성 생명과학연구소, 임상의학연구센터, 암연구센터

한상아 · 박치민 · 강신재 · 송상용¹ · 김상희² · 손대순² · 윤성현 · 이우용 · 전호경

Expression of β -catenin in Colorectal Cancer with Liver Metastasis

Sang Ah Han, M.D., Chi Min Park, M.D., Sin Jae Kang, M.D., Sang Yong Song, M.D.¹, Sang Hee Kim,² Dae Soon Son,² Seong Hyeon Yun, M.D., Woo Yong Lee, M.D., HoKyung Chun, M.D.

Department of Surgery, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, ¹Department of Pathology, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, ²Cancer Research Center, Center for Clinical Research, Samsung Biomedical Research Institute, Seoul, Korea

Purpose: Decreased expression of β -catenin has been known to be associated with tumor metastasis. However, the clinical relationship between the degree of expression and the prognosis in colorectal cancer (CRC) remains unclear. In this study, we evaluated the prognostic value of β -catenin expression in CRC patients with liver metastasis.

Methods: Paraffin embedded blocks were obtained from 70 patients who underwent potentially curative resection for CRC with liver metastasis. Samples from normal colon mucosa, primary CRC and metastatic liver lesion were prepared in tissue microarrays and were stained by immunohistochemistry with monoclonal antibody against β -catenin. The membranous β -catenin expression was assessed and the β -catenin expression difference between primary CRC and metastatic liver lesion was analysed in relation to overall survival as well as disease free survival rates. **Results:** In β -catenin expression, preserved expression (score >6) was observed in 42.0%, and 21.9% of primary CRC tumor samples and tumor samples from metastatic liver lesion respectively. The degree of β -catenin expression in metastatic liver lesion was significantly lower than that in primary CRC (P=0.022).

According to the difference of β -catenin expression score between primary CRC and liver metastasis, patients were classified as group 'A' and 'B'. Group 'A' was defined as patients showing remarkably decreased expression of β -catenin in metastatic liver lesion in that the difference of the score was three or more. Group 'B' was defined as patients showing maintained or increased β -catenin expression in metastatic liver lesion in comparison to primary CRC, in that the difference of β -catenin expression score was less than three. Overall survival rate and disease free survival rate were significantly better in group 'B' than group 'A' (P=0.02, P=0.002). **Conclusions:** Decreased expression of β -catenin in metastatic liver lesion may be a poor prognostic marker in colorectal cancers with liver metastasis. A further large-scaled investigation is necessary to define the role of β -catenin in CRC. **J Korean Soc Coloproctol 2004;20:391-398**

Key Words: Beta-catenin, Colorectal neoplasm, Metastatic liver lesion, Tissue microarray, Immunohistochemistry

베타 카테닌, 대장 직장암, 간전이, Tissue 마이크로어레이, 면역조직화학염색

서 론

최근 대장암에 대한 수술적 술기가 발전하고, 보조 요법으로 항암제 및 방사선치료를 시행하면서 대장암의 생존율이 많이 향상되었다.^{1,2} 그러나, 적극적인 간 절제술을 병행함에도 불구하고 재발률은 30~40%로 보고되고 있으며, 같은 정도의 병기를 가진 환자들에

접수: 2004년 7월 15일, 승인: 2004년 10월 27일
책임저자: 전호경, 135-230, 서울시 강남구 일원동 50번지
성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 외과
Tel: 02-3410-3465, Fax: 02-3410-0040
E-mail: hkchun@smc.samsung.co.kr
본 논문의 요지는 제12차 세계대장항문학회(ISUCRS)에서 구연 발표되었음.

Received July 15, 2004, Accepted October 27, 2004
Correspondence to: HoKyung Chun, Department of Surgery, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul 135-230, Korea.
Tel: +82-2-3410-3465, Fax: +82-2-3410-0040
E-mail: hkchun@smc.samsung.co.kr

게 같은 치료를 시행하여도 몇몇 환자는 술 후 급속한 재발이나 전이로 사망하게 된다.³⁻⁵ 이는 같은 병기의 대장암이라 할지라도 분자 생물학적으로 악성도의 차이가 있기 때문이며 이러한 종양의 악성도를 예측하기 위해 여러 가지 생물학적인 표지자와 임상적 통계를 이용하고 있지만, 이러한 재발과 전이를 예측하거나 치료하는데 있어 만족할 만한 방법은 아직 확립되지 않았다. 만약 종양의 악성도를 예측할 수 있는 표지자가 있다면 예후 및 치료전략을 결정하는데 있어 매우 중요한 자료가 될 수 있으며 또한 치료성과를 높이는 데 크게 기여할 것으로 생각된다. 종양의 침습과 전이에 관한 최근 연구에서는 분자생물학적 기법의 발달로 인해 악성 종양의 진행 과정에 관계되는 여러 분자수준이나 유전자 수준의 인자들이 밝혀지고 있으며, 최근에 세포 간 부착에 관여하는 여러 가지 세포 부착 인자가 발견되었고, cadherins, integrins, selectin, cell-determinant CD44, 그리고 immunoglobulin superfamily 에 속하는 접합 분자 등이 있다. β -catenin은 α -, γ -catenin과 함께 E-cadherin-catenin complex를 이루는 물질로, E-cadherin과 결합하여 세포-세포 간 접합의 구조적 작용뿐만 아니라 E-cadherin과는 별도로 세포의 운명을 결정하는 세포 내 신호 전달에 관여하여 유전자 발현을 조절하는 역할도 하는 것으로 알려졌다.⁶⁻⁸ 종양세포에서 β -catenin의 발현의 감소는 위암이나 대장암, 담낭암, 폐암 등에서 보이며 종양의 침윤도 및 예후와 연관이 있다는 보고에 힘입어,⁹⁻¹¹ 대장암에서 그 의의를 평가하기 위한 연구가 원발 종양에 대하여 지속적으로 이루어져 왔으나 전이암에 대해서는 그 연구가 많지 않다. 특히 원발 종양과 전이 간종양 사이에 β -catenin 발현 양상의 변화와 그 변화가 임상적으로 가지는 의미에 대한 연구는 드물다. 따라서, 저자들은 동시성 간전이기가 있는 대장암 환자에서 원발 종양과 간전이 종양의 세포막 β -catenin 발현 양상과 환자의 재발률 및 생존율의 관계를 밝힘으로써 β -catenin이 간전이를 동반한 대장암의 예후와 관련이 있는지 알아보고자 하였다.

방 법

1995년 10월부터 2002년 10월까지 성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 외과에서 대장암으로 진단받고 림프절 전이에 관계없이 동시성으로 간에 전이가 있어 근치적 대장암 수술과 동시에 근치적 간 절제를 시행한 환자들 중 원발 종양 조직과 간전이 조직을 동시

에 확보할 수 있었던 70명을 대상으로 하였다. 수술 후 각 환자의 원발 종양과 간전이 종양에서 조직을 채취하였으며 동시에 정상 대장 조직도 채취하여 면역조직화학염색 판독 시 판별기준으로 이용하였다. 대장암으로 수술 받은 70명의 환자에게서 조직의 채취에 대하여 수술 전 환자의 동의를 받았으며, 이들 환자에서 얻은 검체는 파라핀 블록으로 만들어 tissue microarray를 제작하여 β -catenin에 대한 면역조직화학염색을 시행하였다. 환자의 임상 정보는 후향적으로 분석하였다.

1) Tissue microarray의 조직 대표성 검증

Tissue microarray를 제작하기 전 대장암이 아닌 양성질환(급성 충수돌기염 4명, 계실염 3명)으로 회맹장 절제술이나 우측결장반절제술을 시행 받은 환자를 7명 선정하여 절제된 결장 조직의 절제연에서 정상 결장조직을 채취하였다. 이 환자들 조직의 unstained section에 β -catenin을 염색하여 정상결장조직에서 β -catenin의 발현양상을 확인하였다. 연구 대상이 된 환자들의 hematoxylin-eosin 슬라이드를 검토하여 정상조직과 대장암 조직이 동시에 포함된 section을 선택하여 조직의 피사가 없고 세포의 상태가 양호한 곳을 선정하고 paraffin block의 상태가 양호한지 한 번 더 확인하였다. 대장암 조직과 같은 파라핀 블록에 포함된 정상조직을 검토하여 조직의 상태가 양호하면서 암조직이나 상피내암이 없는 곳을 선정하여 1군데서 조직을 사출하였고, 원발 종양과 간전이 종양의 조직은 각각 2군데서 사출하였다. 각 조직에 대해서는 조직 전체를 대표하기 위해 core block의 size를 2 mm로 선정하였다.

2) Tissue microarray의 제작과 면역조직화학법

Tissue microarray를 만들기 위해 종양조직으로부터 조직 상태가 양호한 부위를 골라 hematoxylin-eosin 슬라이드에 표시하였다. Recipient 블록에 thin-walled stainless biopsy needle을 가지고 40개(가로 5개×세로 8개)의 구멍을 내고, 원통모양의 core 조직샘플을 donor 블록의 선택된 부위로부터 분리한 다음 solid stylet으로 recipient 블록에 직접 사출하여 tissue array를 완성하였다(각 환자마다 정상조직 1개, 원발 종양 2개, 간전이 종양 2개)(Fig. 1).

종양조직의 β -catenin 염색을 위해 tissue array 블록을 microtome (Leica Microsystem, Wetzlar, Germany)을 이용하여 4 μ m 두께로 자른 후 poly-L-lysine이 코팅된 슬라이드로 옮겼다. 이때 조직이 슬라이드로부터 유실

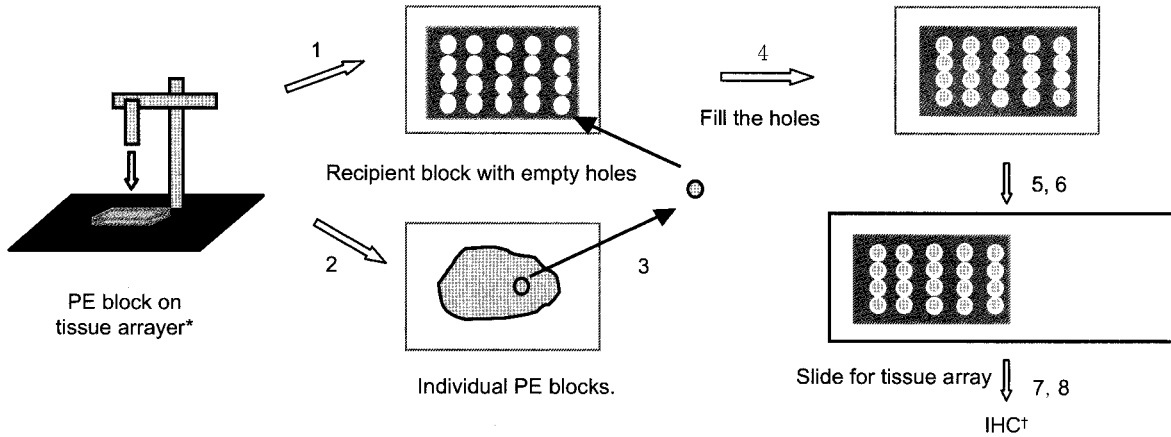


Fig. 1. Methods of tissue microarrays. (1) Make the holes on empty recipient block at regular interval using tissue arrayer. (2) Select and mark the tumor area on H&E (hematoxylin-eosin) slide. (3) One core sample from each donor block; sampled from tumor area. (4) Transfer tissue cores into the hole of recipient block; 40 cores in one block. (5) Microsection tissue array by 4 μ m using microtome. (6) Transfer the section to slide. (7) Deparaffinization and hydration. (8) Immunostaining with various antibody. *PE: paraffin embedded, †IHC: immunohistochemical stain.

되지 않도록 60°C 배양기에서 교차 결합시켰다.

항원 노출을 높이기 위해 0.01 Mol/L citrate 완충액 (pH 6.0)에서 5분 정도 microwave 오븐으로 전 처치를 한 후 상온에서 식힌 후 증발한 양만큼 증류수로 채운 후, 과도한 비 특이 결합을 방지하기 위해 3% 과산화수소를 이용하여 20분간 처리한 후 PBS (phosphate-buffered saline)로 각 5분 동안 3회 세척하고, 샘플은 xylene에서 각각 5분 동안 3번 처리하여 탈 파라핀과정을 거친 후 100%, 95%, 80%, 70%, 50%의 에탄올로 가수한 다음 증류수로 세척하였다.

2% bovine serum albumin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 10분간 상온 처리한 후 세척의 과정 없이 human β -catenin에 대한 mouse의 단 클론 항체(Transduction Laboratories, Lexington, KY, USA)를 1 : 100으로 희석하여 4°C에서 overnight 처리한 후 PBS로 3회 세척하였다. 0.1% Triton X-100이 함유된 PBS로 10분간 처리하고 PBS로 5분간 3회 세척하였다. Biotin이 결합된 이차항체(DAKO LSAB[®]2 system, Peroxidase Kit, Glostrup, Denmark)를 30분간 상온 처리하고 PBS로 3회 세척한 후 streptavidin-biotin-peroxidase 완충액으로 30분간 상온 처리하고 PBS로 3회 세척하였다.

PBS에 0.2% hydrogen peroxidase가 첨가된 0.05% diaminobenzidine chromogen (stable DAB, Resgene)을 이용하여 발색시킨 후 hematoxylin (DAKO Glostrup, Denmark)으로 대조염색을 하여 결과를 판독하였다 (Fig. 2, 3).

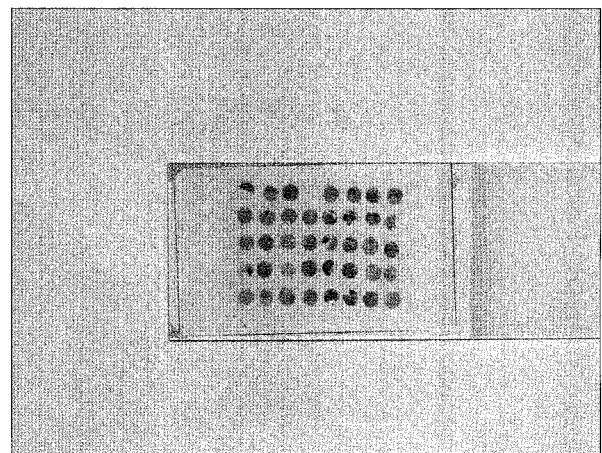


Fig. 2. Image of tissue microarray stained with monoclonal anti- β -catenin (1 : 100).

3) 면역조직화학염색의 판독

Tissue microarray 슬라이드의 판독은 환자의 임상정보를 모르는 1명의 병리 의사가 광학현미경으로 시행하였다. β -catenin의 발현은 세포막의 발현을 기준으로 판독하였으며 등급의 기준은 염색강도와 염색의 비율에 따라 각각 4 (0~3)등급으로 분류하였다. 먼저 염색강도에 따라 대조군(정상조직군)의 염색을 강 양성(등급 3)으로 하여 등급 0 (0~25%), 등급 1 (25~50%), 등급 2 (50~75%), 등급 3 (75~100%)으로 분류하였으며, 염색 비율에 따라서는 대조군(정상조직군)의 염색비율을 등급 3으로 하여 등급 0 (0), 등급 1 (0~

1/3), 등급 2 (1/3~2/3), 등급 3 (2/3~3/3)으로 분류하였다. 각조직의 면역조직화학염색 정도는 염색 강도와 비율을 곱하여 채점하였으며 0점부터 9점까지 분포를 보였다. 이 점수를 β -catenin 발현 점수로 정의하였다. 각 환자마다 원발 대장암에 대해 2군데, 간전이 종양에 대해 2군데 조직을 취하여 tissue microarray에 포함시켰으므로 각 대상조직에 대한 두 조직의 β -catenin 발현이 일치하는지 확인하였다. 일치하지 않을 때는 종양조직이 충분히 포함되었는지 재검토한 후 재판정하였으며, 두 조직간의 β -catenin 발현 점수가 다를 때는 평균값을 취하였다. 한 조직이 유실되었을 때는 한 조직만으로 판정하였다.

4) 통계분석

범주형의 자료는 chi-square test를 이용하여 분석하고, 환자의 재발률과 생존율의 변화는 Kaplan-Meier 생존곡선과 log-rank 검정법으로 유의성을 살폈으며, P

값이 0.05 미만인 경우 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다. 통계처리는 SPSS 11.0 for Windows (SPSS Inc.,Chicago, IL, USA)를 이용하였다.

결 과

1) 환자의 임상적 특징

환자는 남자 48명, 여자 22명이었으며, 원발 종양의 위치는 결장이 38명, 직장이 32명이었다. 평균 추적관찰 기간은 25.5 ± 18.2 개월이었으며, 중앙 추적 관찰 기간은 22 (2~95)개월이었다. 간전이 종양의 평균 크기는 3.3 cm이었고 단일성 전이가 50명(70.4%), 다발성 전이가 20명(29.6%), 일측성 전이가 58명(83.1%), 양측성 전이가 12명(16.9%)이었다. 환자의 평균 무병생존 기간은 16.9개월이었고 평균 생존기간은 26.2개월이었다. 3년 무병 생존율은 18.1%였고, 3년 전체 생존율은 45.2%였다(Table 1).

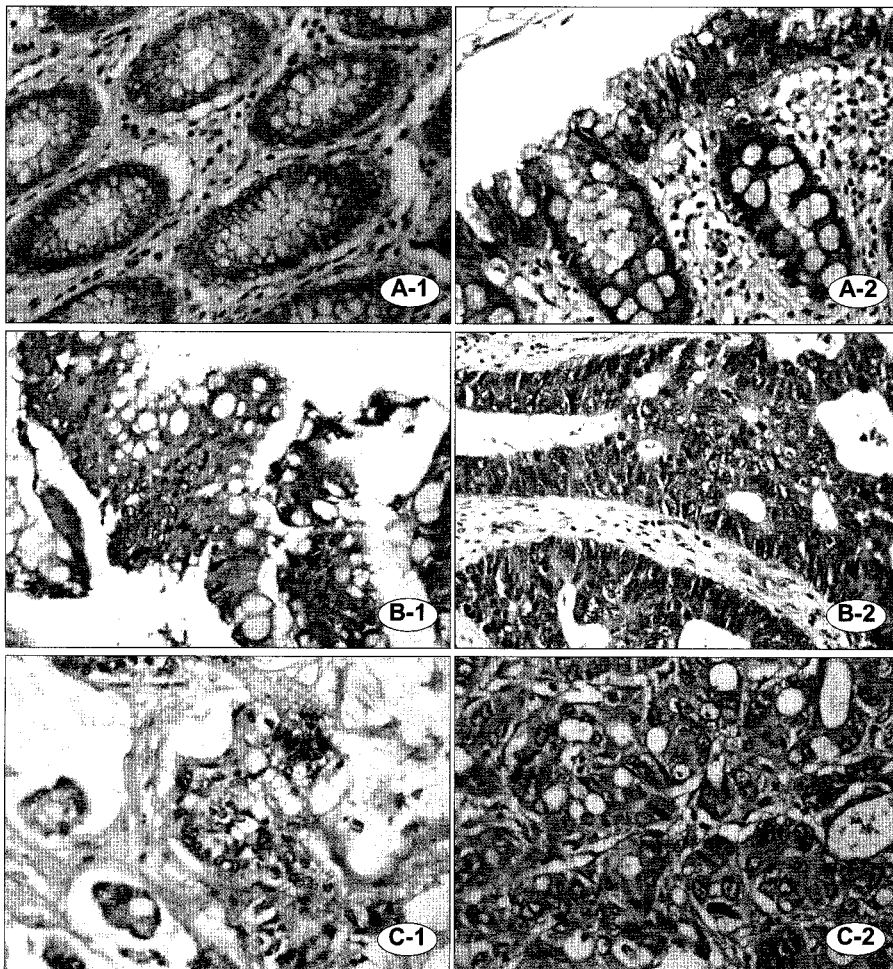


Fig. 3. Tissue microarray section stained with monoclonal anti- β -catenin ($\times 400$). Normal colon mucosa (a-1, 2), primary colon cancer (b-1, 2), metastatic liver tumor (c-1, 2).

2) 정상 대장조직의 β -catenin 발현

정상 대장조직으로 선정된 7명의 양성질환 환자에서 β -catenin 발현은 모두 균일하게 강양성을 보여 9점으로 평가하였다. Tissue microarray에 포함된 정상 대장 조직도 모두 9점으로 β -catenin의 발현이 정상적인 것으로 판정되었다.

3) 원발종양과 간전이 종양의 β -catenin 발현

원발종양의 β -catenin 발현은 앞서 기술한 바와 같이 염색강도와 염색비율을 곱하여 채점하였다. 원발종양의 평균 β -catenin 발현 점수는 6.49 ± 2.15 였으며 간전이 종양의 평균 β -catenin 발현 점수는 5.32 ± 2.32 로 원발 종양의 β -catenin 발현이 통계적으로 유의하게 높은 것으로 나타났다($P=0.022$). 원발종양에서 β -catenin 발현 점수가 6점을 초과한 환자는 29명(41.9%) 이지만, 간전이 종양에서는 15명(21.7%)이었다.

4) 원발 종양과 간전이 종양사이의 β -catenin 발현 점수 차이와 생존율 분석

전체 환자군의 β -catenin의 발현 점수를 살펴보면 정상 대장점막조직, 원발 종양, 간전이 종양으로 가면서 점수가 낮아지는 것을 알 수 있었다(9.00, 6.49, 5.32). 각 환자에서 원발 종양과 간전이 종양의 β -catenin 발현 점수 차를 살펴보면 -5부터 8점까지 분포를 보였다. 원발 종양과 간전이 종양의 β -catenin 발현 점수의 차는 평균 1.17 ± 2.36 으로 양의 값을 보였으며 한 명의 환자에서만 β -catenin이 간전이 종양에서 오히려 발현이 증가하였다. 암조직이 원발 종양에서 간으로 전이 될 때 β -catenin의 현저한 감소가 가지는 임상적 의의를 분석하기 위해 원발 종양보다 간전이 종양에서 β -catenin 발현 점수가 3점 이상 감소한 경우(Group 'A')와 감소하였더라도 3점 미만으로 감소하였거나, 같은 점수를 보였거나 오히려 증가한 경우(Group 'B')를 구분하여 임상자료와 생존 자료에 대해 후향적 분석을 시행하였다. 두 그룹간에 성별, 나이, 림프절 전이 수, 단일전이, 다발성전이, 간전이 종양의 평균 크기는 통계적 차이가 없었다. 평균 무병생존기간을 살펴보았을 때 Group 'A'가 13.9 ± 6.1 개월, Group 'B'가 26.3 ± 4.2 개월로 β -catenin 발현이 간전이 종양에서 현저히 감소한 Group 'A'의 무병생존기간이 통계적으로 유의하게 짧았다(Table 2, Fig. 4, $P=0.002$). 전체 생존기간을 살펴보았을 때 Group 'A'는 30.9 ± 4.7 개월, Group 'B'

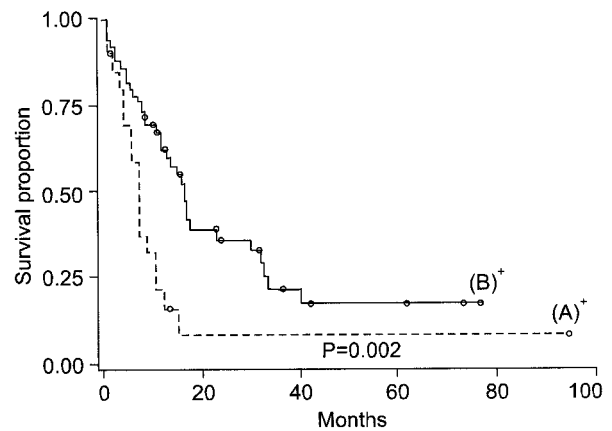
Table 1. Demographic findings of patients.

Demographic findings	
M : F	48 : 22
Colon : Rectum	38 : 32
Median follow up period (months, range)	22 (2~95)
Liver metastasis	
Single : Multiple	50 (70.4%) : 20 (29.6%)
Mean metastatic tumor size (cm)	3.3
Mean recurrence free survival (months)	16.9
Mean overall survival (months)	26.2
Three year disease free survival rate (%)	18.1
Three year overall survival rate (%)	45.2

Table 2. Disease free survival and overall survival of Group 'A' and 'B'.

	Disease free survival (months)	Overall survival (months)
Group 'A'*	13.9 ± 6.1	30.9 ± 4.7
Group 'B'†	26.3 ± 4.2	46.9 ± 8.2
P value	0.002	0.02

*Difference of β -catenin expression score between primary colorectal cancer and liver metastasis in Group 'A' ≥ 3 ,
 †Difference of β -catenin expression score of between primary colorectal cancer and liver metastasis in Group 'B' < 3 .



Difference of β -catenin expression score (A) ≥ 3 , (B) < 3

Fig. 4. Kaplan-Meier survival curve for disease free survival classified by the difference between β -catenin expression in primary colorectal cancer and metastatic liver lesion: Group 'B' shows better disease free survival rate than that of group 'A' with statistical significance.

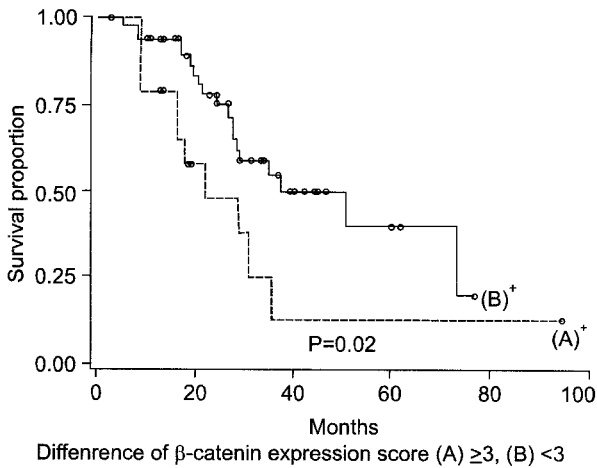


Fig. 5. Kaplan-Meier survival curve for overall survival rate classified by the difference between β -catenin expression in primary colorectal cancer and metastatic liver lesion: Group 'B' shows better overall survival rate than that of group 'A' with statistical significance.

는 46.9 ± 8.2 개월로 간전이 종양에서 β -catenin 발현이 현저히 감소한 Group 'A'의 전체 생존기간이 통계적으로 유의하게 짧았다(Table 2, Fig. 5, $P=0.02$).

고 찰

이 연구에서는 tissue microarray를 이용하여 대장 및 직장암의 원발 종양과 간전이 종양의 β -catenin에 대한 mouse의 단 클론 항체를 이용한 면역조직화학염색을 시행하여 간전이를 동반한 대장암에서 β -catenin이 가지는 임상적 의미를 알아보고자 하였다.

β -catenin은 E-cadherin과 결합하여 세포 간 접합의 구조적 작용에 관여하는 물질로 여러 종양(위암, 대장암, 간암, 유방암)에서 세포막 β -catenin 발현이 감소되어 있음이 보고 되었고 이러한 β -catenin의 감소가 종양의 생성과 악성화 과정, 전이 과정에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 특히 대장암에서 E-cadherin과 β -catenin의 발현 감소는 분화도, 침습도, 전이와 관련이 있고 이는 환자의 예후와도 관련이 있다고 보고하고 있다.^{12,13} 따라서 저자는 전이의 첫 단계인 세포 부착에 관련된 β -catenin의 발현 정도와 간전이가 있는 대장암 환자의 재발률 및 생존율과의 관계를 조사하여 간전이를 동반한 대장암 환자에서 β -catenin의 역할에 대해 살펴보았다.

연구 결과, 원발 종양에 비해 간전이 종양에서 β -catenin의 발현이 의미 있게 감소됨이 관찰되었고 이러

한 결과는 β -catenin이 대장암의 전이를 일으키는 중요한 요소로 작용함을 추측할 수 있었다. 또한 본 연구에서 대장암의 원발 종양에 비해 간전이 종양에서 β -catenin 발현이 현저히 감소한 경우, 환자의 전체 생존율이 의미 있게 낮았으며, 무병생존율 또한 의미 있게 낮았다. 이는 β -catenin의 발현 정도의 차이가 간전이를 동반한 대장암 환자에서 예후와 관련이 있음을 보여주고 있으며 이는 곧 암의 악성도와도 관련이 있음을 추측할 수 있다.

Tissue microarray는 high-throughput technic의 하나로, 작은 유리 슬라이드 위에 여러 개(수십-수만)의 검체를 얹어 놓고 시료와 반응시켜 한 번의 실험으로 동시에 많은 검체에 대한 연구를 시행할 수 있는 방법이다. Tissue microarray의 장점은 여러 환자의 조직 또는 한 환자의 여러 조직에 대해 동시에 실험할 수 있으므로, 대량의 조직을 한꺼번에 처리할 수 있고, 실험 환경에서 발생하는 오차나 판독 시 발생하는 오차를 줄일 수 있다는 것이다. 그러나, tissue microarray로 연구를 수행할 때는 tissue microarray에 포함되는 조직이 그 환자의 조직을 대표할 수 있는지 반드시 검증하여야 한다. 이 연구에서는 조직 대표성에 대한 검증으로 환자의 슬라이드와 파라핀 블럭을 모두 검토하여 조직의 상태가 양호하고 괴사조직이 포함되지 않은 곳을 선정하였고, core block의 size를 2 mm로 선정하여 암 조직이 충분히 포함될 수 있게 하였다.¹⁰

대장암 조직에서 β -catenin의 면역조직화학염색 시 그 판독의 기준은 아직 표준화되어 있지 않아 연구자마다 기준에 조금씩 차이가 있는 것이 실정이고, 이 연구에서는 세포막의 발현 강도와 염색 비율을 곱한 값으로 발현 점수를 정하였다. 이는 염색 비율만으로 판정할 경우 강하게 염색되나 균등하지 못한 분포를 보이는 조직에서 발현이 현저히 저하된 것으로 판정하는 오류를 보정하고, 판독자의 직관에만 의존하지 않고 반정량적인 기준을 적용하기 위한 것이다.¹⁴

원발 대장암과 전이 림프절에서 세포막 β -catenin 발현의 감소는 환자의 생존율과 관계가 있다는 보고가 있다.¹⁵ 본 연구에서는 전이 림프절의 β -catenin 발현 정도와 생존율에 대해서는 조사하지 않았지만, 대장암의 전이에서 혈행성 전이인 간전이 못지않게 림프절 전이도 큰 비중을 차지하고 있어 림프절을 통한 전이 과정에 β -catenin이 어떻게 관계하는지도 향후에 관심을 두고 연구해야 할 과제라고 하겠다. 또한, β -catenin은 세포의 접합인자로서 전이 관계하는 것 외에 그 자체로 세포 내 신호전달에 관여하여 유전자의 발

현을 조절하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 β -catenin의 조절기전에 관해서는 많은 연구가 진행되고 있는데, 지금까지 밝혀진 바에 따르면, APC 단백질이 β -catenin 발현을 조절하는 데 중심적인 역할을 한다. GSK-3 β (glycogen synthase kinase-3 β)가 세포질 내에서 APC 단백질, axin, free β -catenin과 복합체를 형성하면 GSK-3 β 는 actin과 함께 β -catenin, APC의 인산화작용을 거쳐 프로테오솜(proteosome)에 의해 분해된다.¹⁶⁻¹⁸ 대장암의 경우 APC 혹은 β -catenin의 유전자 변이로 인한 기능 상실로 β -catenin이 세포질에 축적되거나,^{19,20} LEF/TCF(leucocyte enhancer factor/T-cell factor)계와 중합하여 핵을 통과하여 β -catenin-LEF/TCF복합체를 형성하며 이는 세포막에서 세포극성을 유지하는 ZO-1 (zonula occludens-1)의 유전자를 억제하여 세포막의 극성 상실을 유발하여 세포부착력을 떨어뜨리고²¹ 이 복합체의 활성화는 c-myc, cyclin D1 등의 발현을 증가시켜 결과적으로 세포의 전사를 증가시켜 종양을 일으킨다고 한다.^{22,23} 그리고 β -catenin의 세포질과 핵 내의 축적은 APC 유전자 혹은 β -catenin의 변이로 생기며 이는 대장의 선종에서 악성화의 변화에 중요한 역할을 한다고 알려져 있고,^{24,25} 대장암에 있어 원발종양에서 64%, 전이 간종양에서 21%에서 핵 내 β -catenin 발현이 나타난다고 한 보고가 있다.⁹ 이 연구에서 중점적으로 살펴본 세포막 β -catenin의 감소는 세포질 내 유리 β -catenin의 증가를 간접적으로 반영하는 지표임을 고려할 때, 세포막의 β -catenin의 발현만으로 세포부착력 저하로 인한 암의 진행을 파악하는 것보다는 세포질 및 핵 내의 β -catenin 발현을 동시에 고려하는 것이 필요할 것으로 생각된다. 대장암에서 핵 내 β -catenin에 대해 면역조직화학 염색을 시행하였을 때 핵 내 β -catenin 발현 점수가 높은 경우 림프절 전이가 심하고 예후가 나빠지는 보고가 있고,²⁶ 핵 내 β -catenin의 발현이 p53 유전자의 발현 조절에 관계한다는 보고도 있다.²⁷ 이 연구에서는 핵 내 β -catenin 축적에 대해서는 파악하지 않았지만, 대장암의 원발 종양과 전이 간 종양 조직에서의 핵 내 β -catenin의 발현 양상에 대한 더 깊은 연구를 시행하는 것이 전이에 관한 β -catenin의 역할을 이해하는데 도움이 되리라 생각된다. 또한 핵 내 β -catenin은 세포질내의 유리 β -catenin이 축적되어 핵 내에 쌓이는 것이므로 세포막, 세포질 내, 핵 내에서의 β -catenin 발현의 상관관계에 대해서도 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

간전이를 동반한 대장암 환자에서 원발 종양보다 간전이 종양에서 β -catenin의 발현이 감소하는 경향을 보였으며 원발 종양에 비해 간전이 종양에서 β -catenin 염색강도가 현저히 감소한 군에서 환자의 무병 생존율과 생존율이 통계적으로 유의하게 낮았다. 따라서, β -catenin은 대장암의 간전이에 관여하는 중요한 인자로, 간전이를 동반한 대장암 환자의 잠재적 예후 지표로서 의미를 가지며, 향후 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. Wanebo HJ, Chu QD, Vezeridis MP, Soderberg C. Patient selection for hepatic resection of colorectal metastases. Arch Surg 1996;131:322-9.
2. Salo JC, Paty PB, Guillem J, Minsky BD, Harrison LB, Cohen AM. Surgical salvage of recurrent rectal carcinoma after curative resection: a 10-year experience. Ann Surg Oncol 1999;6:171-7.
3. Blumgart LH, Fong Y. Surgical options in the treatment of hepatic metastasis from colorectal cancer. Curr Probl Surg 1995;32:333-421.
4. Scheele J, Stangl R, Altendorf-Hofmann A, Gall FP. Indicators of prognosis after hepatic resection for colorectal secondaries. Surgery 1991;110:13-29.
5. Nordlinger B, Guiguet M, Vaillant JC, Balladur P, Boudjema K, Bachellier P, et al. Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver. A prognostic scoring system to improve case selection, based on 1568 patients. Cancer 1996;77:1254-62.
6. Beavon IR. The E-cadherin-catenin complex in tumour metastasis: structure, function and regulation. Eur J Cancer 2000;36:1607-20.
7. Kemler R. From cadherins to catenins: cytoplasmic protein interactions and regulation of cell adhesion. Trends Genet 1993;9:317-21.
8. Ozawa M, Kemler R. Molecular organization of the uvomorulin-catenin complex. J Cell Biol 1992;116:989-96.
9. Hugh TJ, Dillon SA, O'Dowd G, Getty B, Pignatelli M, Poston GJ, et al. β -catenin expression in primary and metastatic colorectal carcinoma. Int J Cancer 1999;82:504-11.
10. Choi YS, Shim YM, Kim SH, Son DS, Lee HS, Kim GY, et al. Prognostic significance of E-cadherin and β -catenin in resected stage I non-small cell lung cancer. Eur J Cardiothorac Surg 2003;24:441-9.

11. 문정호, 최창수, 양영일, 백계형, 최영길. 담낭 선종과 암종에서 β -catenin의 발현 양상. 대한외과학회지 2002;63:138-45.
12. Gofuku J, Shiozaki H, Tsujinaka T, Inoue M, Tamura S, Doki Y, et al. Expression of E-cadherin and α -catenin in patients with colorectal carcinoma. Correlation with cancer invasion and metastasis. Am J Clin Pathol 1999;111:29-37.
13. Ghadimi BM, Behrens J, Hoffmann I, Haensch W, Birchmeier W, Schlag PM. Immunohistological analysis of E-cadherin, α -, β - and γ -catenin expression in colorectal cancer: implications for cell adhesion and signaling. Eur J Cancer 1999;35:60-5.
14. Ikeguchi M, Makino M, Kaibara N. Clinical significance of E-cadherin-catenin complex expression in metastatic foci of colorectal carcinoma. J Surg Ocol 2001;77:201-7.
15. 문성배, 김재관, 박수현, 한준열, 최명규, 이교영 등. 위와 대장의 선암 및 선종에서 E-cadherin/ β -catenin 복합체의 발현. 대한소화기학회지 2000;36:473-82.
16. Behrens J, Jerchow BA, Würtele M, Grimm J, Asbrand C, Wirtz R, et al. Functional interaction of an axin homolog, conductin, with β -catenin, APC and GSK3 β . Science 1998;280:596-9.
17. Hart MJ, de los Santos R, Albert IN, Rubinfeld B, Polakis P. Down-regulation of β -catenin by human Axin and its association with the APC tumor suppressor, β -catenin and GSK3 β . Curr Biol 1998;8:573-81.
18. Sakanaka C, Weiss JB, Williams LT. Bridging of β -catenin and glycogen synthase kinase-3 β by axin and inhibition of β -catenin-mediated transcription. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:3020-3.
19. Rosin-Arbesfeld R, Townsley F, Bienz M. The APC tumour suppressor has a nuclear export function. Nature 2000;406:1009-12.
20. Brabletz T, Herrmann K, Jung A, Faller G, Kirchner T. Expression of nuclear β -catenin and c-myc is correlated with tumor size but not with proliferative activity of colorectal adenomas. Am J Pathol 2000;156:865-70.
21. Mann B, Gelos M, Siedow A, Hanski ML, Gratchev A, Ilyas M, et al. Target genes of β -catenin-T cell-factor/lymphoid-enhancer-factor signaling in human colorectal carcinomas. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:1603-8.
22. He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, et al. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. Science 1998;281:1509-12.
23. Shuttman M, Zhurinsky J, Simcha I, Albanese C, D'Amico M, Pestell R, et al. The cyclin D1 gene is a target of the β -catenin/LEF-1 pathway. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:5522-7.
24. Hao X, Palazzo JP, Ilyas M, Tomlinson I, Talbot IC. Reduced expression of molecules of the cadherin/catenin complex in the transition from colorectal adenoma to carcinoma. Anticancer Res 1997;17:2241-7.
25. Herter P, Kuhnen C, Müller KM, Wittinghofer A, Müller O. Intracellular distribution of β -catenin in colorectal adenomas, carcinomas and Peutz-Jeghers polyps. J Cancer Res Clin Oncol 1999;125:297-304.
26. Wong SC, Lo ES, Lee KC, Chan JK, Hsiao WL. Prognostic and diagnostic significance of beta-catenin nuclear immunostaining in colorectal cancer. Clin Cancer Res 2004;10:1401-8.
27. 문길민, 박영진, 김한성, 박성혜, 김지일, 김기홍 등. 대장암에서 β -catenin 및 p53 단백질의 발현양상과 종양의 병리학적 특성 간의 상호관계. 대한대장항문학회지 2002;18:311-6.