

구강점막의 백반증과 편평세포암종에서 Epidermal Growth Factor 수용체 및 Transforming Growth Factor- β 1 Type II 수용체 발현

연세대학교 치과대학 구강병리학교실

김 태 연 · 육 종 인 · 김 진

Expression of Epidermal Growth Factor Receptor and Transforming Growth Factor- β 1 Type II Receptor in Oral Leukoplakia and Squamous Cell Carcinoma

Tae Yeon Kim, D.D.S., Jong In Yook, D.D.S., Ph.D. and Jin Kim, D.D.S., Ph.D.

Department of Oral Pathology, Dental College, Yonsei University, Seoul, Korea

Growth stimulatory/inhibitory factors and their receptors are the important mediators of control of epithelial cell proliferation and differentiation. The aim of this study was to observe the distribution of epidermal growth factor receptor (EGFR) and transforming growth factor- β 1 type II receptor (T β RII) during carcinogenesis of oral squamous cell carcinoma (OSCC). Formalin fixed, paraffin embedded tissue from 25 oral leukoplakias (OL) and 15 OSCC was immunostained by avidin-biotin complex method. In OSCC, the carcinomatous area and the adjacent dysplastic/hyperplastic area were examined. In OL, the hyperplasia and the epithelial dysplasia were examined. Monoclonal anti-EGFR Ab and polyclonal anti-T β RII Ab were applied. EGFR was mainly expressed in the basal layer and was increased with epithelial dysplasia in OL. T β RII was not detected in the basal cell layer and dysplastic area in OL. In contrast, the dysplastic area adjacent to OSCC showed positivity in the entire layer including the dysplastic area. In all cases of OSCC, both EGFR and T β RII showed positive reactions. EGFR was increased with the progression to the malignancy, and the expression pattern of T β R II was altered to be positive in the basal cell layer with progression to malignancy. These results suggest that the expression of EGFR appeared to be an early event and T β R II may be related to malignant transformation during oral carcinogenesis. The expression pattern of EGFR and T β R II may contribute to predict the risk of the development of carcinoma in oral premalignant lesions. (**Korean J Pathol 1997; 31: 1247 ~ 1255**)

Key Words: EGFR, T β R II, Squamous cell carcinoma, Oral leukoplakia

접 수: 1997년 6월 17일, 게재승인: 1997년 8월 28일
주 소: 서울시 서대문구 신촌동 134, 우편번호 152-050
연세대학교 치과대학 구강병리학교실, 김 진

ISSN : 0379-1149

*본 논문은 96년도 보건복지부 연구비 HMP-96-M-2-1074의 지원으로 수행되었음.

서 론

구강점막의 편평세포암종의 발생 기전은, field cancerization¹과 다단계 과정²으로 설명되고 있다. 즉, 담배나 술 등의 발암 물질에 노출된 부위에 유전적인 손상이 계속 축적되어 암세포로의 전환이 일어나며, 정상 조직으로부터 세포의 증식을 거쳐 이형성이 심해지면서 상피내암을 거쳐 침습성 성장에 이르는 다단계 과정을 거쳐 진행된다는 것이다.

구강점막을 구성하는 중층편평상피는 외부 자극으로 인해 탈락되며 기저층에서 지속적인 세포 분열을 하여 각화세포로의 분화를 반복하는 조직으로서, 세포의 성장과 분화를 조절하는 인자들, 즉 epidermal growth factor (EGF)와 그 수용체, transforming growth factor (TGF)- β 1과 그 수용체 등에 의해 항상성이 유지된다. 따라서 지속적인 유전적 손상에 따른 이들 인자들의 불균형이 편평세포암종의 발생 과정에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.³

EGF는 정상상피세포의 강력한 세포분열을 유도하는 인자로서, EGF 수용체 (EGFR)는 두경부의 편평세포암종에서 99%로 높은 빈도로 발현이 보고되었고,⁴ 정상 조직에서 전암 병소 단계를 거쳐 침습성 암종으로 이행되는 과정에서 증식능력을 가진 기저층으로부터 분화되는 층으로 점차 발현이 증가되는 경향을 보이며, 특히 암발생의 위험이 없는 조직과는 달리 암종 주위의 정상 조직에서도 높은 빈도로 과발현이 됨으로서 두경부암종의 발생 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 이해되고 있다.⁵⁻⁸

TGF- β 1은 상피세포에서 cyclin-cdk 복합체의 활동을 억제하여 세포주기를 정지시킴으로서 세포 성장을 억제한다.^{9,10} TGF- β 1 수용체중 type II 수용체 (T β R II)는 세포질내에 serine/threonine kinase를 갖는 70 kd의 막 단백질로서 TGF에 직접 결합한다고 알려져 있고, type I 수용체는 53 kd으로 TGF와 type II 수용체와 함께 복합체를 형성하여 인산화 된 후 세포내로 신호를 전달하는 역할을 한다.^{11,12}

피부에 발생한 편평세포암종과 대장의 선암종 등에서 TGF- β 1에 의한 성장 억제 작용이 상실되는 것이 보고되었으며,¹³⁻¹⁵ 실험적으로 유도된 피부암의 경우 양성 유두종에서 악성으로의 진행을 억제하는데 TGF β 의 역할이 중요하다고 알려졌다.^{6,17} 또한 TGF- β 1에 의한 성장 억제 능력은 수용체를 통한 세포내 신호전달체계에 의한다고 보기 때문에 TGF- β 1의 수용체에 관한 연구가 진행된 바, TGF- β 1의 수용

체의 수가 감소되어 TGF- β 1에 의한 성장 억제 작용이 상실되거나,¹⁸⁻²⁰ 수용체의 양적 변화보다는 신호전달체계의 이상 등으로 설명하고 있다.^{21,22} 즉 대장암이나 유방암, 간세포암종 등에서 type I, II 수용체가 부족함을 보고하고 있으나¹⁸⁻²⁰ 이와는 반대로 Heberts등²¹과 Chakrabarty등²²의 연구에 의하면 TGF- β 1의 성장 억제 능력에 저항성을 갖는 편평세포암종과 대장암의 세포주에서는 오히려 TGF- β 1 수용체의 발현이 증가함을 보고하고 있다.

이러한 연구결과들로 보아 편평세포암종의 발생 과정에서 성장억제능력의 장애가 중요한 역할을 하리라고 본다. 구강, 피부등과 같이 기능적으로 증식능력을 가진 기저층과 각화세포로 분화과정을 밟는 층으로 구성된 중층편평상피에서 암종으로 이행되는 단계에서 EGFR의 분포에 관하여는 많은 연구가 있으나 TGF- β 1 수용체의 분포변화에 관하여는 국내외에서 연구된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 상피세포의 성장을 조절하는 EGFR과 TGF- β 1 수용체가 구강암종의 발생 단계에서 어떠한 분포를 보이는지 비교 관찰함으로써 구강점막의 전암병소에서 암발생 위험도를 평가하는 표지자로서 EGFR과 TGF- β 1 수용체의 사용 가능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구 재료

1990년부터 1995년까지 연세대학교 치과대학 구강병리학교실에서 구강 점막의 백색병소로 가진되어 생검 의뢰된 조직 중 백반증 25예와 편평세포암종으로 진단되어 수술받은 15예를 대상으로 하였다.

2. 연구 방법

1) 조직학적 관찰 및 분류: 조직학적 및 면역조직화학적 검사를 위해 보관되어 있는 파라핀 블록을 이용하여 6 μ m 두께의 연속 절편으로 만들었다. Hematoxylin-eosin염색을 조직학적 검사를 위해 시행하였으며, 백반증에서는 상피의 증식 및 이형성 유무를 관찰하였다. 편평세포암종에서는 수술 절제 경계 부위와 암종 및 인접부위로 나누어서 관찰하였고 암종 인접 부위에서는 상피의 이형성 유무로 구분하였다. 상피의 이형성은 WHO 정의에 따라, 핵의 극성 상실, 기저 세포의 과형성, dyskeratosis, 핵의 다형성, 과색소증, 뚜렷한 핵인, 핵/세포질의 비율 증가, 세포 분열 수, 비정상적인 세포 분열 등을 기준으로 분류하였다.²³

2) 면역조직화학적 염색 및 관찰: 박편 표본을 xylene 용액에서 30분간 파라핀을 제거하고 95%, 90%, 70% 알콜과 증류수에 순차적으로 함수하였다. 3% H₂O₂로 20분간 endogenous peroxidase를 제거한 후, 0.1% trypsin으로 효소 처리하여 항원 부위를 노출시키고, goat serum에 30분간 반응시켰다. 일차 항체로는 토끼의 혈청에서 추출한 복합 클론 항체인 TβR II antibody(clone C-16, Santa Cruz Co., Santa Cruz, USA)와 생쥐에서 추출한 단일 클론 항체인 EGFR antibody(clone E-30, Biogenex Co., San Ramon, USA)를 각각 1:50, 1:20으로 희석하여 1시간 이상 반응시키고, avidin-biotin method로 면역 조직 화학 염색을 하였다. 각 단계마다 phosphate buffered saline으로 씻어냈고, aminoethyl carbazole kit (Zymed Co., San Francisco, USA)로 발색한 다음 Mayer's

hematoxylin으로 대조 염색하고 광학 현미경으로 관찰하였다. 본 연구에서 사용한 일차항체는 모두 수용체의 세포외부위(extracellular domain)을 인지하기 때문에, 세포막을 따라서 염색되는 경우를 양성으로 판단하였다.^{5,7} 양성 대조군으로 EGFR은 구강점막상피와 임신 3기의 태반을, TβR II 는 전립선을 각각 사용하였고, 음성 대조군으로 각각 일차항체 대신에 non-immune 혈청을 반응시켰다.

결 과

1. 조직학적 관찰

25예의 백반증에서 8예는 미약한 정도의 상피이형성을 보였고, 나머지 17예는 모두 상피의 증식과 과각화증만이 관찰되었으며 심한 상피이형성은 없

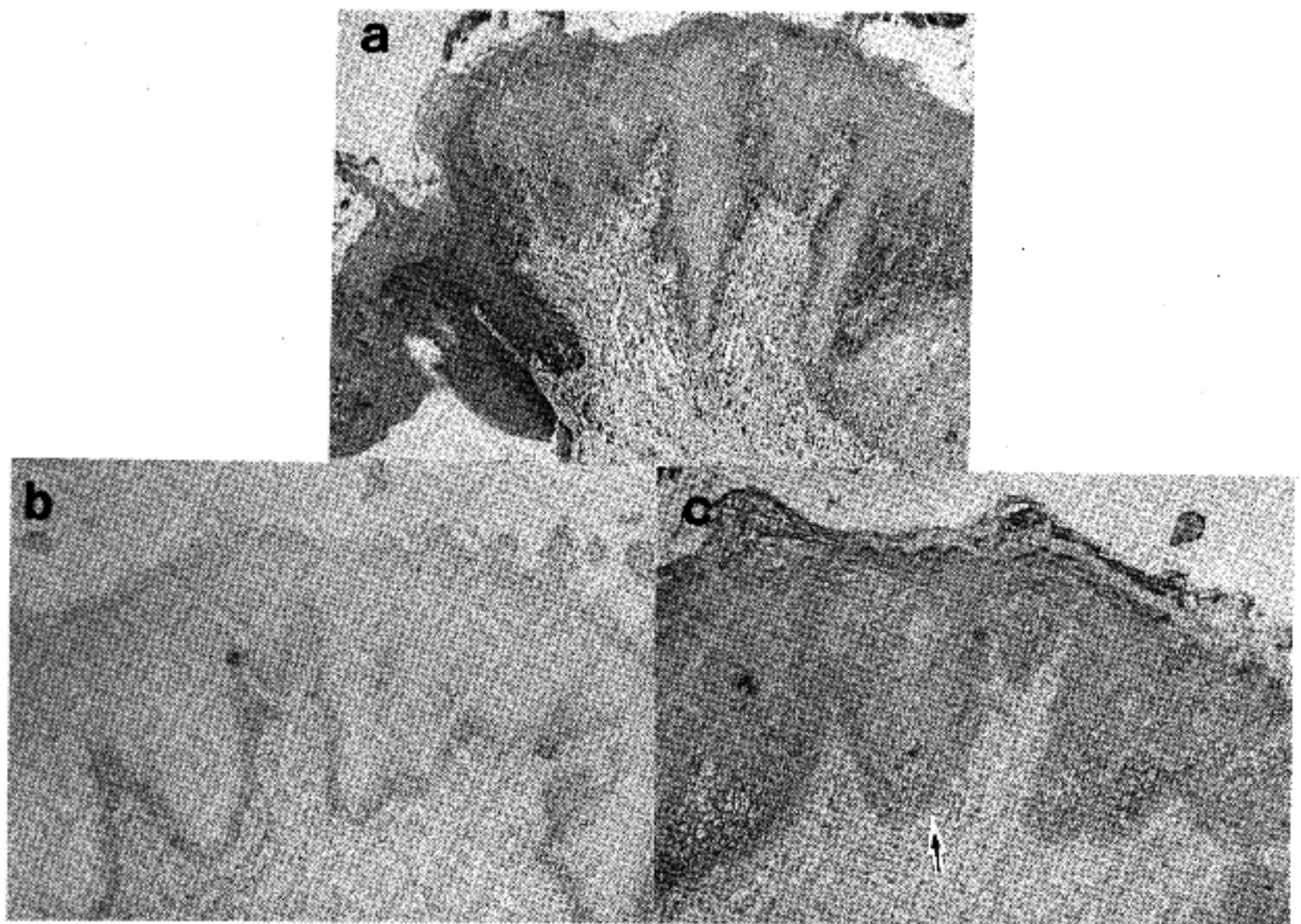


Fig. 1a. Leukoplakia showing mild dysplasia.

- b. A positive reaction of EGFR was shown from the basal cell layer extending to the dysplastic area.
- c. TβR II was expressed in the prickle cell layer, but the dysplastic area including basal cell layer(arrow) showed no positive reaction.

었다. 본 연구에 사용한 구강 편평세포암종 15에는 모두 중등도의 분화를 보였다. 암종주위조직은 수술 시 절제된 정상점막(resection margin), 상피증식, 상피이형성 내지 상피내암종 등 크게 셋으로 구분하였다.

2. EGFR 발현

백반증에서 상피층 증식이 있는 경우는 기저세포층에 강양성 반응을 보였고, 유극층의 하방 1/3부위에도 미약한 양성 반응을 보였다. 이형성이 있는 경우는(Fig. 1a), 기저세포층을 포함하여 이형성이 동반되어 있었던 부위까지 강한 양성 반응을 보였다(Fig. 1b, Table 1).

편평세포암종의 경우 암종 부위에서는(Fig. 2a) 종양 세포의 세포막을 따라 모든 예에서 EGFR에 대해 양성 반응을 보였다(Fig. 2b). 암종 인접 부위에서는 정상 상피인 경우, 기저층에 양성 반응을 보였고 유극층 하방 1/3에도 미약한 양성 반응을 보였다(Fig. 3a). 상피의 증식만 있는 경우는 EGFR은 주로 기저층에 강양성을 보였고 상피 돌기가 길어진 부위에서는 유극층 하방 1/3 부위까지 양성 반응을 보였다. 암종의 인접부위로서 이형성을 보일 경우, EGFR은 기저층을 포함하여 이형성 정도에 따라 상층부까지 양성 반응을 보였으며 침습성 성장의 전 단계인 상피내암으로 진행된 부위는 각화층을 제외한 전 층에서 양성반응을 나타내었다(Fig. 4a, Table 1).

3. TBR II 발현

백반증에서 상피층 증식이 있는 경우는 기저세포층과 각화층을 제외한 모든 층에서 양성 반응을 보였고, 이형성이 있는 예에서는(Fig. 1a), 기저층 및 이형성 부위에서는 음성 반응을 보였고, 나머지 부위에서 양성 반응을 보였다(Fig. 1c, Table 2).

편평세포암종에서 암종 부위에서는(Fig. 2a) EGFR과 마찬가지로 종양 세포의 세포막을 따라 모든 예에서 양성 반응을 보였다(Fig. 2c). 암종 인접 부위에서 TBR II는 정상 상피인 경우는 기저층은 음성 반응을 보였으며, 각화층을 제외한 유극층 전체에서 양성 반응을 보였다(Fig. 3b). 상피 증식만 있는 경우도 마찬가지로 기저층을 제외한 상층부에서 강한 양성 반응을 보였다. 이와는 대조적으로 암종인접부위로서 이형성이 진행되는 경우, 기저층을 포함한 상피에 전체적으로 양성 반응을 보였다(Fig. 4b, Table 2).

고 찰

EGFR은 170 kd의 당단백질로 3가지 영역인 tyrosine kinase 활성을 갖는 세포내 영역, ligand와 결합하는 세포외 영역, 세포막 영역 등으로 구성되어 있으며,²⁴ Grandis등²⁵에 의하면 두경부의 편평세포암종에서 암종 부위와 암종에 인접한 조직학적으로 정

Table 1. Expression of EGFR

Histologic finding(No)	Expression pattern			
	Basal cell layer	Prickle cell layer		
		Lower 1/3	Middle 1/3	Upper 1/3
Leukoplakia (25)				
Hyperplasia (17)	+	±	-	-
Dysplasia (8)	+	+	+/-	-
Adjacent area to carcinoma (15)				
Normal epithelium	+	-	-	-
Hyperplasia	+	±	-	-
Dysplasia	+	+	+/-	+/-
Squamous cell carcinoma (15)	+	+	+	+

+: positive staining ±: weak positive staining +/-: positive or negative staining -: negative staining (No): No. of cases

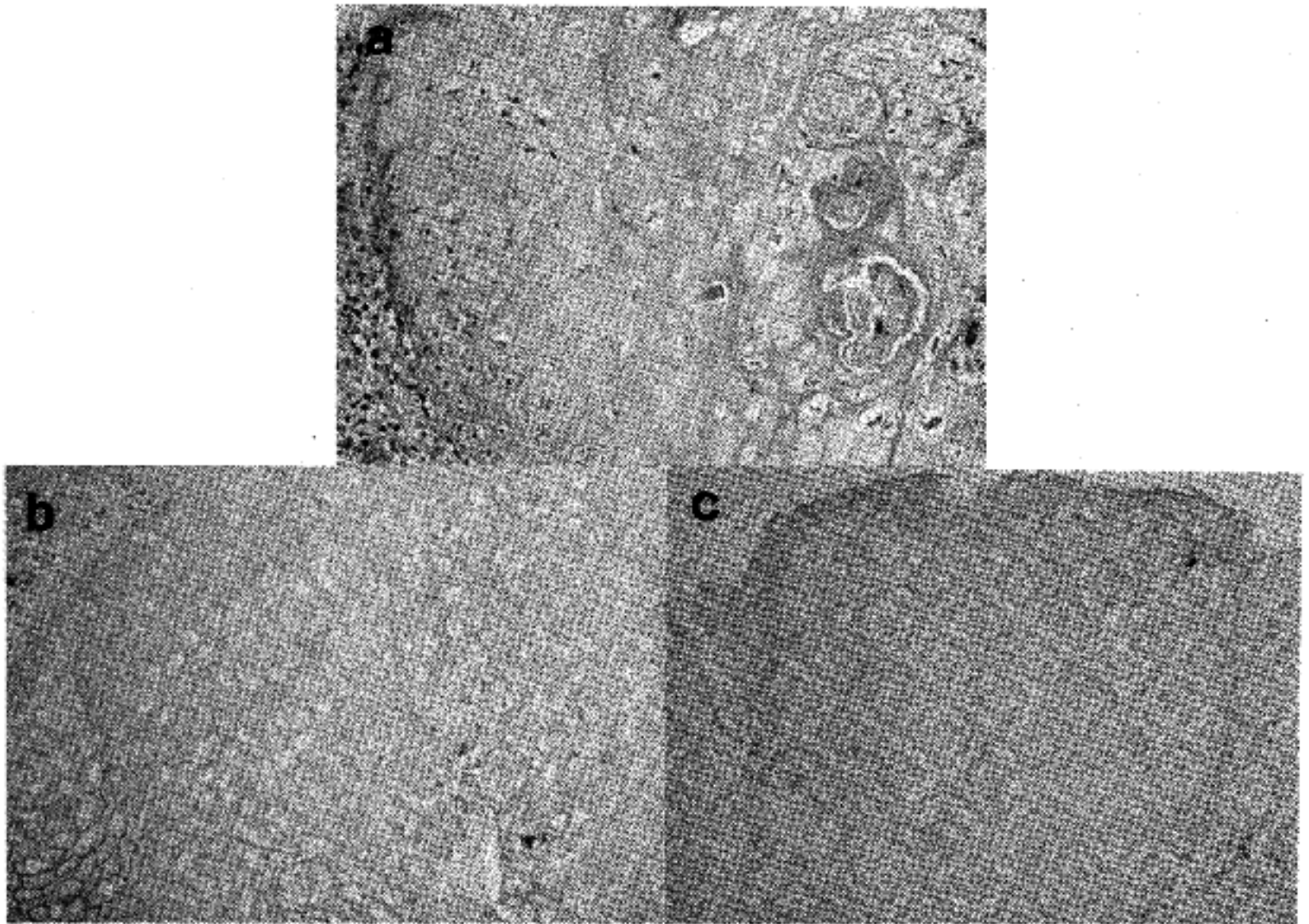


Fig. 2a. Squamous cell carcinoma, moderately well differentiated.
b. Membranous positive staining of EGFR in the tumor cell nests.
c. Membranous positive reaction of TβR II in the cell nests.

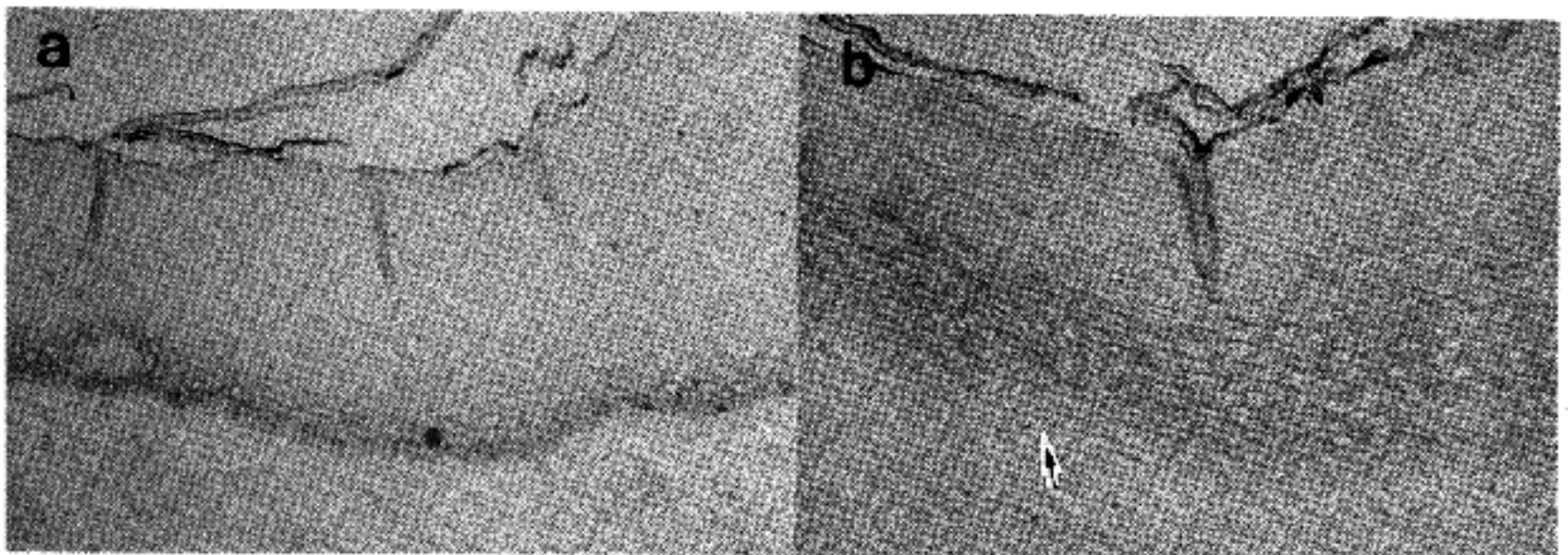


Fig. 3a. Adjacent normal mucosa(resection margin) to squamous cell carcinoma showed a positive reaction of EGFR in the basal cell layer extending to lower 1/3 of prickle cell layer.

b. The same area showed a positive reaction of TβR II in the prickle cell layer. Characteristically, the basal cell layer(arrow) showed no reaction.

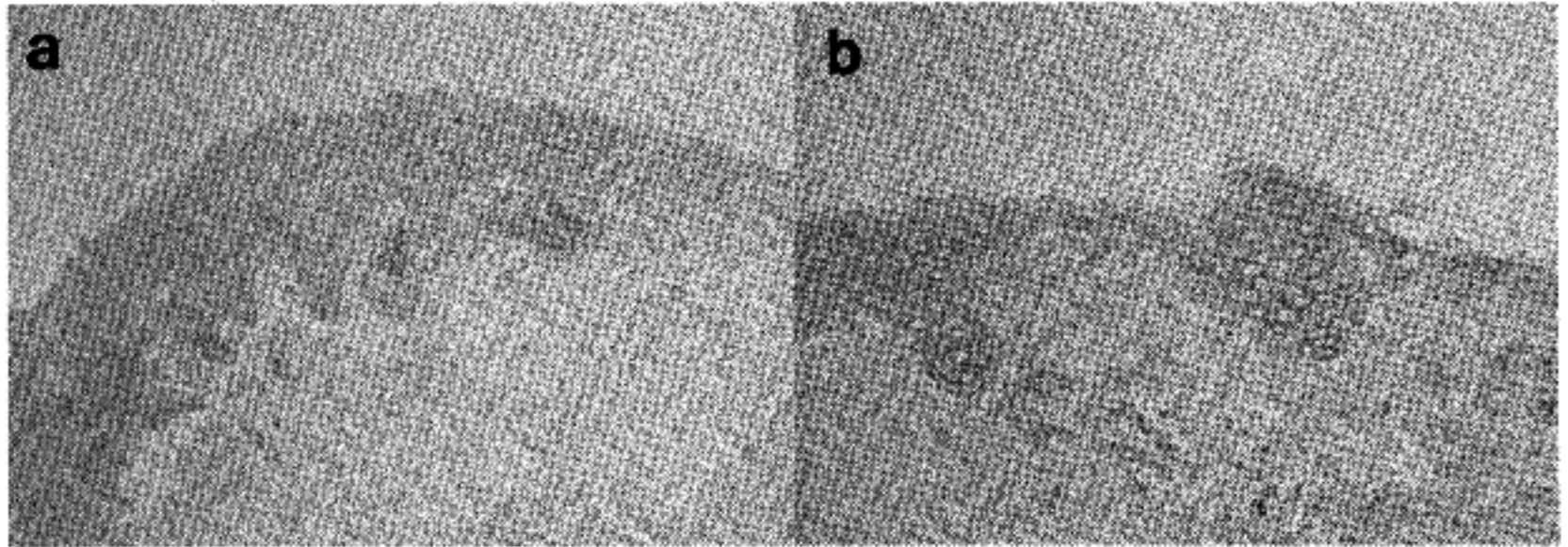


Fig. 4a. Adjacent area to squamous cell carcinoma showing carcinoma in situ. EGFR expression was shown in all of the dysplastic area.

b. TβR II expression was demonstrated in the whole layer including the basal cell layer.

Table 2. Expression of TβR II

Histologic finding(No)	Expression pattern			
	Basal cell layer	Prickle cell layer		
		Lower 1/3	Middle 1/3	Upper 1/3
Leukoplakia (25)				
Hyperplasia (17)	-	+	+	+
Dysplasia (8)	-	-	+/-	+
Adjacent area to carcinoma (15)				
Normal epithelium	-	+	+	+
Hyperplasia	-	+	+	+
Dysplasia	+	+	-	+
Squamous cell carcinoma (15)	-	+	+	+

+: positive staining ±: weak positive staining +/-: positive or negative staining -: negative staining
(No): No. of cases

상인 점막에서 양쪽 모두 대조군보다 TGF-α mRNA는 5배 상승했고, EGFR mRNA는 암종 부위에서 69배, 조직학적으로 정상인 암종 인접 부위에서 29배 상승했다고 보고하였다. 또한 Shin등³도 두경부암을 대상으로한 면역조직화학적 연구결과, 조직학적으로는 정상인 암종 인접 부위는 정상상피인 대조군보다 EGFR이 2배의 강도로 과발현되었고, 과증식과 이형성으로 진행되면서 과발현되는 정도보다 이형성에서 편평세포암종으로 진행할 경우 더욱 상승된

EGFR의 과발현을 보고하여 암발생 초기 과정에서 EGF 및 EGFR의 중요성을 강조하였다. 본 연구에서도 EGFR의 발현은 백반증에서 상피 증식만 관찰되었던 예에 비하여, 이형성이 동반된 경우는 이형성 부위까지 양성 반응이 증가된 소견을 보였다. 침습성 편평세포암종의 인접 부위에서도 이형성이 심할수록 양성 반응 부위가 전층까지 확대되었다. 편평세포암종에서는 전 부위에 양성 반응이 관찰되어 조직학적인 이형성 정도와 EGFR의 발현 정도는 비

례하는 양상을 보였다. 이상과 같은 연구 결과는 암종 발생 과정에서 EGFR의 역할을 강조한 다른 연구 결과들을 뒷받침하는 소견으로 생각되었다.⁵⁻⁸ 본 연구에서는 암종 15예 모두에서 양성반응을 보여 두경부암종에서 99%의 양성율을 보였다는 Santini⁴의 연구결과와 일치하였다. 국내에서는 고등²⁶이 자궁경부암에서 EGFR발현에 관한 연구를 한 바 mRNA in situ hybridization방법으로는 94%의 발현율을, 면역조직화학적 연구에서는 77.4%의 발현을 보였다.

상피세포의 증식을 억제하는 TGF- β 1의 생물학적인 효과를 매개하는 TGF- β 1 수용체에는, type I, type II, type III (betaglycan), type IV, type V 등이 있고, type I, II, III, V 수용체는 몇몇 종양을 제외하고 대부분의 세포에서 함께 발현되며 type IV는 오직 뇌하수체의 세포에서만 보인다. TGF- β 1에 대한 세포 반응의 상실 기전의 하나로 type I과 II 수용체의 상실이 보고되고 있어 가장 많이 연구되고 있다.^{27,28}

상피성 종양 발생에서 TGF- β 1의 성장억제효과가 상실되는 기전에 관한 연구를 보면, 실험적으로 일으킨 피부 유두종 및 암종에서 TGF- β 1의 발현 감소가 보고된 반면,^{16,17} Krieg¹³은 유두종에서 악성으로 이행될때 오히려 TGF- β 1 mRNA의 과발현을 보고하고 있다. 또한 Fowles²⁹은 TGF- β 1 mRNA는 발현되나 TGF- β 1단백질은 상실한다고 보고하면서 TGF- β 1 합성을 위한 전사, 번역 과정에 변화가 TGF- β 1 기능상실의 기전으로 설명하였다. 또 다른 연구에서는 실험적으로 일으킨 구강암종에서 TGF- β 1이 다양하게 생성되는 점으로 TGF- β 1과 종양의 발생과정과를 연관짓기 어렵다고 하였다.³⁰ 한편, 편평세포암종의 세포주에서 TGF- β 1 수용체 발현에 관한 연구를 보면 T β R II mRNA의 감소, 단백질 합성 감소와 함께 kinase 작용을 막는 유전적 변이가 보고되었다.³¹ TGF- β 1 수용체의 유전적 변이는 대장암과 전립선 암에서도 보고된 바 있으나,^{32,33} 편평세포암종의 경우 극히 일부의 종양세포주에서만 유전적 변이가 일어났으므로 발견된 TGF- β 1 수용체의 유전적 변이와 암종에서 성장억제효과 상실과의 연관성은 아직 의문으로 남아있다.³¹

Krieg¹³에 의하면, 정상피부조직에서는 TGF- β 1에 의해 성장억제가 일어나지만 실험적으로 유발한 피부의 유두종에서는 TGF- β 1에 의해 성장억제가 감소되고 편평세포암종에서는 성장억제효과가 완전히 상실되었다. 또한 Manning¹⁵의 연구에서도 대장의 양성 종양인 선종에서는 낮은 농도의 TGF- β 1에 의

해서 성장이 억제되나 악성 종양에서는 높은 농도에서도 성장이 억제되지 않아 대장암의 발생 과정 중 TGF- β 1에 의한 성장억제능력의 상실이 암종으로의 이행 단계에서 일어난다고 보고하였다. 이와 같이 암종 발생 과정중 초기 단계인 전암병소의 세포주에서는 성장억제를 보이며, 암종으로 이행된 경우 TGF- β 1의 반응이 상실되는 것으로 보아 TGF- β 1에 대한 저항력은 암종 발생 과정 중 후기에 일어나는 것으로 보고되고 있다.¹⁴ 본 연구에서도 T β R II는 악성으로 진행됨에 따라 기저층이 음성에서 양성 반응으로 변화되었다. 특히, 암종 주위 조직의 이형성 부위에서도 백반증과는 달리 기저층에서 T β R II는 양성 반응을 보여 구강암의 발생 과정에서 T β R II 분포 변화는 말기에 나타나는 소견임을 알 수 있었다. TGF- β 1에 저항성을 보이는 대장암 세포주와 편평세포암종 세포주에서도 수용체 발현 증가가 보고된 바 있으며, 이들 보고에 의하면 암종에서 T β R II의 발현 변화로 보아 TGF- β 1의 성장억제효과가 상실되는 기전을 TGF- β 1의 신호전달체계의 이상이 일어난 것으로 추측하였다.^{21,22} 또한 최근의 보고에 의하면 실험적으로 일으킨 피부 양성 유두종에서는 TGF- β 1이 증식을 억제하는 작용이 있지만 암종이 발생된 경우에는 오히려 침습성 성장과 관련이 있음을 보고하였다.³⁴ 따라서 본 연구에서 백반증의 기저층에서는 T β R II에 음성반응을 보이다가 침습성 암종 및 암종 인접 이형성 부위에서는 기저층에서 양성으로 나타난 점은 악성으로 이행되면서 신호전달체계의 이상이나 침습성 성장과 관련이 있는 것으로 해석하였다.

본 연구 결과를 종합해보면 EGFR의 발현은 조직학적으로, 암화과정이 진행됨에 따라 비례하여 증가되는 양상을 보였으며, T β R II는 악성으로 진행됨에 따라 기저층이 음성에서 양성 반응으로 변화되었다. 특히, 암종 주위 조직의 이형성 부위에서도 백반증과는 달리 기저층에서 T β R II는 양성 반응을 보여 구강암의 발생 과정에서 EGFR은 비교적 초기에, T β R II는 말기에 나타나는 소견으로 생각되었다. 이와 같은 결과는 두 성장조절인자 수용체의 발현양상을 이용하여 구강의 전암병소에서 암종으로 이행되는 과정을 밝히는 표지자로서 사용가능성을 제시하였다고 생각되며, 암종발생단계에서 두 표지자의 생물학적 역할에 대하여는 분자생물학적 차원의 연구 및 세포주기에 관한 연구가 더불어 진행되어야 하리라고 생각된다.

결 론

저자는 1990년부터 1995년까지 연세대학교 치과대학 구강병리학 교실에서 구강점막의 백색병소로 가진되어 생검 의뢰된 조직 중 백반증 25예와 편평세포암종으로 진단되어 수술받은 15예를 대상으로 EGFR과 T β R II에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 검색을 시행하였다. 연구 결과 EGFR의 발현은 조직학적으로, 악성 단계로 진행됨에 따라 비례하여 증가되는 양상을 보였으며, T β R II는 악성으로 진행됨에 따라 기저층 및 이행성 부위가 음성에서 양성 반응으로 변화되었다. 이와 같은 결과로 미루어보아 구강암의 발생 과정에서 EGFR은 비교적 초기에, T β R II는 암종으로 이행되는 시기에 나타나는 소견으로 생각되었으며, 두 성장조절인자 수용체의 발현양상이 암종 발생 과정의 표지자로 사용될 수 있을 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified epithelium. *Cancer* 1953; 6: 963-8.
2. Farber E. The multistep nature of cancer development. *Cancer Res* 1984; 44: 4217-23.
3. Sporn MB, Roberts AB. Autocrine growth factor and cancer. *Nature* 1985; 313: 745-7.
4. Santini J, Formento JL, Francoval M, Darnard F. Characterization, quantitation and potential clinical value of the epidermal growth factor receptor in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 1991; 13: 132-9.
5. Shin DM, Ro JY, Hong WK, Hittleman WN. Dysregulation of epidermal growth factor receptor expression in premalignant lesions during head and neck tumorigenesis. *Cancer Res* 1994; 54: 3153-9.
6. Shirasuna K, Hashido Y, Matsuya T. Immunohistochemical localization of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in human oral mucosa and its malignancy. *Virchows Arch A Pathol Anat* 1991; 418: 349-53.
7. Otsu M, Hayashi Y. Immunohistochemical study of p53, epidermal growth factor, epidermal growth factor receptor, v-erb B and ras p21 in squamous cell carcinoma of hypopharynx. *Kobe J Med Sci* 1994; 40: 139-53.
8. Frank JL, Garb JL, Banson BB, Peterman J, Neifeld JP, Wares JL. Epidermal growth factor receptor expression in squamous cell carcinoma of hypopharynx. *Surg Oncol* 1993; 2: 161-7.
9. Geng Y, Weinberg RA. Transforming growth factor β effects on expression of G1 cyclins and cyclin dependent protein kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10315-9.
10. Koff A, Ohtsuki M, Polyak K, Roberts JM, Massague J. Negative regulation of G1 in mammalian cells: Inhibition of cyclin E-dependent kinase by TGF- β . *Science* 1993; 260: 536-9.
11. Wrana JL, Attisano L, Carcamo J, et al. TGF- β signals through a heteromeric protein kinase receptor complex. *Cell* 1992; 71: 1003-14.
12. Wrana JL, Attisano L, Wieser R, Ventura F, Massague J. Mechanism of activation of the TGF- β receptor. *Nature* 1994; 370: 341-7.
13. Krieg P, Schnapke R, Schnapke R, Marks F. Transforming growth factor- β 1 and skin carcinogenesis. *Mol Carcinog* 1991; 4: 129-7.
14. Haddow S, Fowles DJ, Parkinso K, Akhurst RJ, Balmain A. Loss of growth control by transforming growth factor- β occurs at a late stage of mouse skin carcinogenesis and is independent of ras gene activation. *Oncogene* 1991; 6: 1465-70.
15. Manning AM, Williams AC, Game SM, Paraskeva C. Differentiation sensitivity of human colonic adenoma and carcinoma cells to transforming growth factor- β . *Oncogene* 1991; 6: 1471-6.
16. Glick AB, Kulkarni AB, Tennenbaum T, et al. Loss of expression of transforming growth factor- β in skin and skin tumors is associated with hyperproliferation and a high risk for malignant conversion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 6076-80.
17. Cui W, Kemp CJ, Duffie E, Balmain A, Akhurst RJ. Lack of transforming growth factor- β 1 expression in benign skin tumors of p53 null mice is prognostic for a high risk of malignant conversion. *Cancer Res* 1994; 54: 5831-6.
18. Mackay SLD, Yaswen LR, Tarnuzzer RW, Schultz GS. Colon cancer cells that are not growth inhibited by transforming growth factor- β lack functional type I and II transforming growth factor- β receptor. *Ann Surg* 1995; 221: 767-77.
19. Chari RS, Kong FM, Mills JJ, Meyers WC. Transforming growth factor- β receptor and mannose 6-phosphate/insuline-like growth factor-II receptor expression in human hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*

- 1994; 2: 171-8.
20. Ito M, Yasui W, Nakayama H, Yokozaki H, Tahara E. Reduced level of transforming growth factor- β type I receptor in human gastric carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1992; 83: 86-92.
 21. Heberts CD, Birnbaum LS. Lack of correlation between sensitivity to growth inhibition and receptor number for transforming growth factor- β in human squamous cell carcinoma cell line. *Cancer Res* 1989; 49: 3196-02.
 22. Chakrabarty S, Jan Y, Brattain MG, Tobon A, Varani J. Diverse cellular responses elicited from human colon carcinoma cells by transforming growth factor- β . *Cancer Res* 1989; 49: 2112-7.
 23. WHO collaborating centre for oral precancerous lesions. Definition of leukoplakia and related lesions: An aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978; 46: 518-39.
 24. Cohen S, Ushiro H, Stoscheck C, Chinkers M. A native 170,000 epidermal growth factor receptor-kinase complex from plasma membrane vesicles. *J Biol Chem* 1982; 257: 1523-31.
 25. Grandis JR, Tweardy DJ. Transforming growth factor- α and epidermal growth factor in head and neck cancer. *J Cell Biochem* 1993; 17: 188-91.
 26. 고향미, 박창수, 정상우. 자궁경부암에서 EGFR 발현에 관한 In situ mRNA hybridization 및 면역조직화학적 염색을 이용한 비교연구. *대한병리학회지* 1995; 29: 343-51.
 27. Massague J. Receptor for the transforming growth factor- β family. *Cell* 1992; 69: 1067-70.
 28. Fanger BO, Wakefield LM, Sporn MB. Structure and property of the cellular receptor for transforming growth factor type β . *Biochemistry* 1985; 25: 3083-91.
 29. Fowlis DJ, Flanders KL, Duffie E, Balmain A, Akhurst RJ. Discordant transforming growth factor- β 1 RNA and protein localization during chemical carcinogenesis of the skin. *Cell Growth Differ* 1992; 3: 81-91.
 30. Donnelly MJ, Patel V, Yeudall WA, Game SM, Scully C, Prime SS. Autocrine production of TGF- α and TGF- β during tumor progression of rat oral keratinocytes. *Carcinogenesis* 1993; 14: 981-5.
 31. Garrigue-Antar L, Munoz-Antonia T, Antonia SJ, Gesmonde J, Vellucci VF, Reiss M. Missense mutations of the transforming growth factor β type II receptors in human head and neck squamous carcinoma cells. *Cancer Res* 1995; 55: 3982-7.
 32. Kim IY, Ahn HJ, Zelner DJ, et al. Genetic change in transforming growth factor β (TGF- β) receptor type I gene correlates with insensitivity to TGF- β 1 in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 1996; 56: 44-8.
 33. Markowitz S, Wang J, Myeroff L, et al. Inactivation of the type II TGF- β receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 1995; 268: 1336-8.
 34. Cui W, Fowlis DJ, Bryson S, et al. TGF- β 1 inhibits the formation of benign skin tumors, but enhances progression to invasive spindle carcinomas in transgenic mice. *Cell* 1996; 86: 531-42.