

병기 IB-IIB 자궁경부암에서의 CD44v4/5, CD44v6, α -Smooth Muscle Actin과 nm23의 발현

고신대학교 의과대학 병리학교실 및 산부인과학교실*

장희경 · 허만하 · 김동휘* · 박은동*

Expression of CD44 Splice Variants(v4/5 and v6), α -Smooth Muscle Actin, and nm23 Proteins in IB-IIB Uterine Cervical Cancer

Hee-Kyung Chang, M.D., Man-Ha Huh, M.D.
Dong-Hee Kim, M.D.* and Un-Dong Park, M.D.*

Department of Pathology and Obstetrics and Gynecology*
Kosin University Medical Center

We examined the expressions of CD44 splice variants (v4/5, v6), α -smooth muscle actin, nm23 to evaluate their roles as prognostic factors in 70 cases of uterine cervical carcinoma (stage IB to IIB) who were surgically treated from January 1989 to June 1990 with a clinical follow-up of a minimum of 5 years. The expression was examined by an immunohistochemical method using archival formalin fixed paraffin embedded tissue. In the 70 cases, 61 cases were squamous cell carcinoma and 9 cases were adenocarcinoma. CD44v4/5, CD44v6, α -smooth muscle actin, and nm23 were detected in 41.4%, 70%, 100%, and 74.3% of tumor samples, respectively. CD44 splice variants and nm23 showed membrane and cytoplasmic staining of tumor cells, respectively. The expression of α -smooth muscle actin showed cytoplasmic staining confined to stromal cells and was classified into three grades by the extent in stromal cells: with less than 10% of stromal cells; 32.9%, 10~50% of stromal cells; 40.0%, more than 50%; 27.1%. These expressions were not correlated with histologic types, lymph node involvement, recurrence, and grades of tumor infiltrating lymphocyte (TIL). But CD44v4/5 had significantly inverse correlation with TIL ($p=0.049$). The expression of CD44v4/5 was significantly correlated with that of CD44v6 ($p=0.05$), and that of α -smooth muscle actin was inversely correlated with that of nm23 ($p=0.049$). In conclusion, in FIGO IB-IIB uterine cervical carcinoma CD44 variants, nm23, and SMA show high prevalence, however, with little prognostic significance assessed by recurrence and lymph node metastasis. (Korean J Pathol 1997; 31: 546~556)

Key Words: Uterine cervical cancer, CD44 v4/5, CD44 v6, α -Smooth muscle actin, nm23 protein

접 수: 1996년 12월 6일, 게재승인: 1997년 3월 12일

주 소: 부산시 서구 암남동 34, 우편번호 602-702

고신의료원 해부병리과, 장희경

서 론

종양의 전이가 암 환자의 주된 사망원인이다. 따라서 치료 전 종양의 전이능력을 포함하여 종양의 생물학적 특성과 악성도를 예측할 수 있는 지표를 찾아내는 것이 종양 연구의 중요한 목적 중의 하나이며 환자 관리에 있어서도 매우 중요한 사항이다.

악성 종양의 침윤과 전이기전은 아직도 규명되지 아니한 부분이 많으나, 종양 세포간의 부착기능을 소실하거나 종양세포와 숙주세포 사이에 새로운 부착기능을 획득하여 혈관기저막과 세포외기질의 파괴가 일어나게 되면 종양세포의 이동력이 증가하게 되어 종양의 침윤과 전이가 발생하게 될 것으로 추측된다. 따라서 세포 부착인자들과 세포외기질의 변화가 종양의 침윤과 전이와 관련되어 일어날 것이라고 추측할 수 있으며¹ 이들의 변화가 종양의 생물학적 동태를 반영할 수 있는 지의 여부를 밝히는 것은 종양병리학적인 측면 뿐이 아니라 임상적인 측면에서도 의의 있는 일이라고 생각된다.

현재 다섯 군의 세포표면 부착수용체가 있는 것이 알려 졌는데 Integrins, Cadherins, Immunoglobulin supergene family, Selectins, HCAM(CD44)가 그것들이며 이들은 생화학적으로나 유전학적으로 독특하나 이들의 기능은 서로 연관되어 있다². 종양의 분화, 침윤, 및 전이에 있어서 이들의 기능이 연구되고 있고 특히 종양성장과 전이에 CD44^{3,4}, Integrins⁵, ICAM-1⁶이 상관관계가 있다는 보고가 있다.

세포표면 부착분자들 중의 하나인 CD44의 유전자는 11번 염색체 단원에 위치하며 20개의 exon으로 구성되어 있다. 20개의 exon 중 exon 6부터 exon 15 사이의 10개 exon(v1~v10)이 교대성접합(alternative splicing)에 의해 수와 조합이 다양하게 재접합하고, 이들의 mRNA가 추가로 세포외영역에 삽입되면 구조와 기능이 다양한 여러 종류의 변형체(CD44 variants)가 만들어진다^{7,8}.

아직까지 각 CD44 변형체의 기능과 또 이들이 종양의 성장에 어떤 기전으로 관여하는지 확실히 모르고 있지만 인체에 발생한 종양에서 CD44 발현과 예후에 관한 연구에 의하면 여러가지 종양세포에서 여러형의 CD44 변형체가 발현되며 몇 연구에서 종양의 형에 따라 발현되는 CD44 변형체도 일정함을 발견하고 특히 CD44 v3, v6, v9, v8~10 같은 형이 과발현되는 각종 종양에서 전이와 재발이 빈번하고^{8,9}, 단클론 항체를 함께 주입하면 전이가 방지되는 것

이 여러 연구를 통해 보고되면서 CD44의 교대성접합에 의한 변형체가 종양세포의 전이능력 획득에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 몇몇 종양에서 이 물질이 예후 추정에 가치가 있을 것으로 기대하고 있다^{10,11}.

여러 가지 원인에 의한 감염성 질환이나 종양으로 세포 손상이 야기되면 우리 인체에는 수복기전에 의한 재생이나 대치가 일어난다. 그 중 대치과정에서 가장 현저한 변화가 섬유화이고 이들 섬유화과정 중에는 여러 가지 세포들이 출현하게 된다. 즉, 섬유모세포, 근섬유모세포, 근섬유양세포, 그리고 섬유세포 같은 간질세포들의 증식을 보게된다. 많은 저자들에 의해 전자현미경적 관찰이나 면역조직화학적 관찰을 통하여 근섬유세포가 평활근세포와 섬유모세포의 중간 형태를 취한다고 알려졌다^{12,13}. 면역조직화학적으로 SMA, vimentin, 그리고 desmin 항체를 이용하여 근섬유모세포를 감별하는데 SMA는 평활근세포의 특징을 나타내며 actin의 이소체로서 평활근세포로 분화해가는 모든 세포의 좋은 표식자이다¹⁴. 진행성 상피종양의 간질은 결합조직 형성이라고 명명된 현저한 근섬유모세포와 섬유모세포들의 증식을 보인 섬유화반응을 보인다^{15,16,17}.

nm23 유전자는 1988년 Steeg등의 암세포주 실험에 의하여 종양의 전이억제유전자로 주목받기 시작하였다¹⁸. nm23 유전자는 17번 염색체의 장완에 위치하고 있고¹⁹ 88%의 상동성을 갖고 있는 nm23-H1과 nm23-H2의 두가지가 있으며²⁰, nm23-H1과 H2가 사람 nucleoside diphosphate kinase(NDPK) A, B와 각각 같은 것으로 밝혀졌다²⁰. 이의 정확한 작용 및 전이억제기전은 아직 밝혀지고 있지 않다. 그럼에도 불구하고 유방암²¹, 난소암²², 전립선암²³, 췌장암²⁴, 위암^{25,26}, 대장암^{23,24,27}, 폐암^{28,29}, 갑상선암^{30,31}, 간세포암³², 신세포암²⁹에서 nm23 이상이 보고되고 있고 이 중에서 난소암, 전립선암, 위암, 폐암, 간세포암에서는 전이억제인자로서, 췌장암은 오히려 전이촉진인자로서의 가능성이 논의되고 있으며, 갑상선암, 대장암은 그 의미가 아직 논란의 대상이 되고 있다.

본 연구자는 우리나라 여성암 중 최대 빈도로 발생하는 자궁경부암을 대상으로 현재 전이와 관련 있다고 알려진 여러 인자 중에서 세포표면 부착분자의 변화가 자궁경부암의 진행과 전이에 어떠한 영향을 주는지 알고자 CD44v4/5, CD44v6를, 종양으로 인한 간질세포의 세포학적 분화로 인한 성분이라고 보고된 바 있는 SMA의 종양조직 및 간질조직에서의 발현과, 그리고 전이억제유전자로 알려진

nm23의 발현을 조사하고 이들 상호간의 관련성 및 병기, 병리학적 유형, 종양주위림프구 침윤정도와의 관련성 유무를 검토함과 아울러 림프절 전이유무, 재발에 미치는 영향을 다른 인자들과 함께 분석하여 예후인자로서의 가치가 있는지를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

1989년 1월부터 1990년 6월까지 고신 대학교 복음병원에서 자궁경부암 FIGO 병기 IB-IIIB로 근치적 자궁절제술과 골반림프절 절제술을 시행한 예중 조직포본분석이 양호하고 5년이상 임상추적이 완료된 70예를 대상으로 하였다.

수술 전에 항암화학요법 또는 방사선치료를 시행하였던 예는 연구대상에서 제외시켰다.

골반림프절 전이, 자궁방결합조직 또는 질 침윤이 있거나, 자궁경부 전층을 침범한 경우에는 보조적으로 수술 후 항암화학요법이나 방사선치료를 시행하였다.

2. 연구방법

(1) 임상기록부의 검색: 환자의 연령, 임상적 병기, 림프절 전이도 등을 조사하였다. 재발 및 생존기간 추적은 일차적으로 통원기록을 조사하고 그 외 전산화통화 및 정부기관 이용 등의 방법으로 전 예를 추적하였다.

(2) 광학현미경적 관찰: 병리조직학적 검색을 위해 10% 중성 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거쳐 통상의 조직처리방법으로 H-E 염색을 시행한 슬라이드를 반복하여 관독하여 종양을 조직학적으로 분류하였고 종양주위 림프구침윤정도를 관찰하였다.

(3) 종양의 조직학적분류: 자궁 경부암 WHO 분류에 따라 선암종과 편평상피암종 으로 대별하였다.

(4) 종양 주위 림프구 침윤 정도(tumor infiltrating lymphocytes: TIL): 종양의 간질 반응은 종양의 경계부에서 호중구를 제외한 림프구와 형질구의 침윤만을 관찰하였고, 침윤 정도에 따라 한 부위의 고배율 시야에서 10개 이하로 보이는 경우를 +, 림프 여포를 형성하는 심한 침윤을 보이는 경우를 +++으로 정하였고 +과 +++ 사이를 ++으로 준정량적으로 관찰하였다.

3. 면역조직화학염색

1) 항체의 종류: ① CD44 변이체 v4/5, v6: exon v4/5, exon v6에 encoded되는 epitope에 대한 exon sequence-specific murine monoclonal antibody(R&D systems, USA) ② α -smooth muscle actin(이하 SMA)(Dako) ③ nm23-H1(Novocastra)이었다.

2) 면역조직화학적 염색의 방법: 24시간 포르말린에 고정한 후 파라핀에 포매된 조직을 대상으로 antigen retrieval system(Biogenex, 20 min in microwave at 600-w power) 처리후에 통상의 avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) 방법으로 염색을 시행하였다. 이때 양성 대조군으로 표피 조직을 사용하였고, 음성 대조군으로는 1차 항체로 같은 종의 비특이성 면역 글로블린 G를 사용하였다.

3) 면역조직화학적 염색의 판정: SMA와 nm23는 세포질에, CD44v4/5, v6는 세포막에 갈색으로 염색된 것을 양성으로 판정하였고, 전 종양세포의 5% 이상으로 중 등도 이상 발현된 것을 양성으로 판정하였다. 준정량적으로 종양의 전 부위를 관찰하여 종양 세포의 5~25%, 26~50%, 51~75%, 76% 이상이 염색되는 경우를 각각 +, ++, +++, +++으로 정하였다. 단 SMA는 상피세포하의 간질 세포에 발현되지 않은 경우는 -, 간질 세포의 10% 미만이 발현된 경우를 +, 10~50%로 발현된 경우를 ++, 50% 이상이 발현된 경우를 +++라고 판정하였다.

4. 통계분석방법

1) 예후 분석 방법: SAS프로그램을 이용하여 각 인자들이 림프절 전이와 재발에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Cox-Mantel test에서 log-rank test를 하였다. 이때 분석한 인자들로는 CD44v4/5, CD44v6, SMA, nm23의 발현, 조직학적 유형, TIL, 자궁방결합조직의 침윤(parametrial invasion), 발생 연령, 림프절 전이유무, 임상 병기였다.

2) 인자들 상호간의 통계 분석: chi-squared test 를 사용하였다. 통계의 결과의 유의성 인정은 $p < 0.05$ 로 하였고, $0.05 < p < 0.1$ 인 경우는 유의성을 인정하지 않았으나 '경향있다'라고 기술하면서 추후의 검증이 필요함을 언급하였다.

연구 결과

1. 환자의 일반적 특징(Table 1)

대상환자들의 연령은 30세부터 68세까지였고, 평균연령은 49.4(\pm 9.25)세이었다. 병리조직학적 진단은 원발성 선암이 9예(12.9%), 워반성 편평상피암이 61예(87.1%)이었다. FIGO분류법에 의한 병기분포는 IB가 51예(72.6%), IIA가 14예(20.0%), IIB가 5예(7.4%)이었다. 림프전 전이가 있었던 예는 70예 중 13예(19.9%)이었으며, 그 중 1개의 림프선에 전이한 예가 10예, 2개 이상의 림프선에 전이한 예가 3예이었다. 총 70예중 14예(20.0%)가 재발하였고, 11예(15.7%)가 자궁경부암으로 사망하였다.

2. 각 항원에 대한 면역조직화학적 염색의 발현 정도 및 양상(Table 2)

1) CD44 v4/5, CDv6: CD44v4/5(Fig. 1), CD44v6(Fig.

Table 1. Patient characteristics

Characteristics	N=70
Age(years)	
Median	49.4
Range	30~68
FIGO stage	
IB	51(72.6%)
IIA	14(20.0%)
IIB	5(7.4%)
Histologic type	
Squamous cell carcinoma	61(87.1%)
Adenocarcinoma	9(12.9%)
Pelvic lymph node involvement	13(19.9%)
Recurrence	14(20.0%)

Table 2. Degree of immunohistochemical staining with invasive uterine cervical cancer(N=70)

Antigen	Immunoreactivity					Positive staining No. of cases(%)
	-	-	++	++	++	
CD44v4/5	41	12	10	7	0	29(41.4)
CD44v6	21	14	19	8	8	49(70.0)
nm23	18	6	16	18	12	52(74.3)
SMA	0	25	30	15		70(100.0)

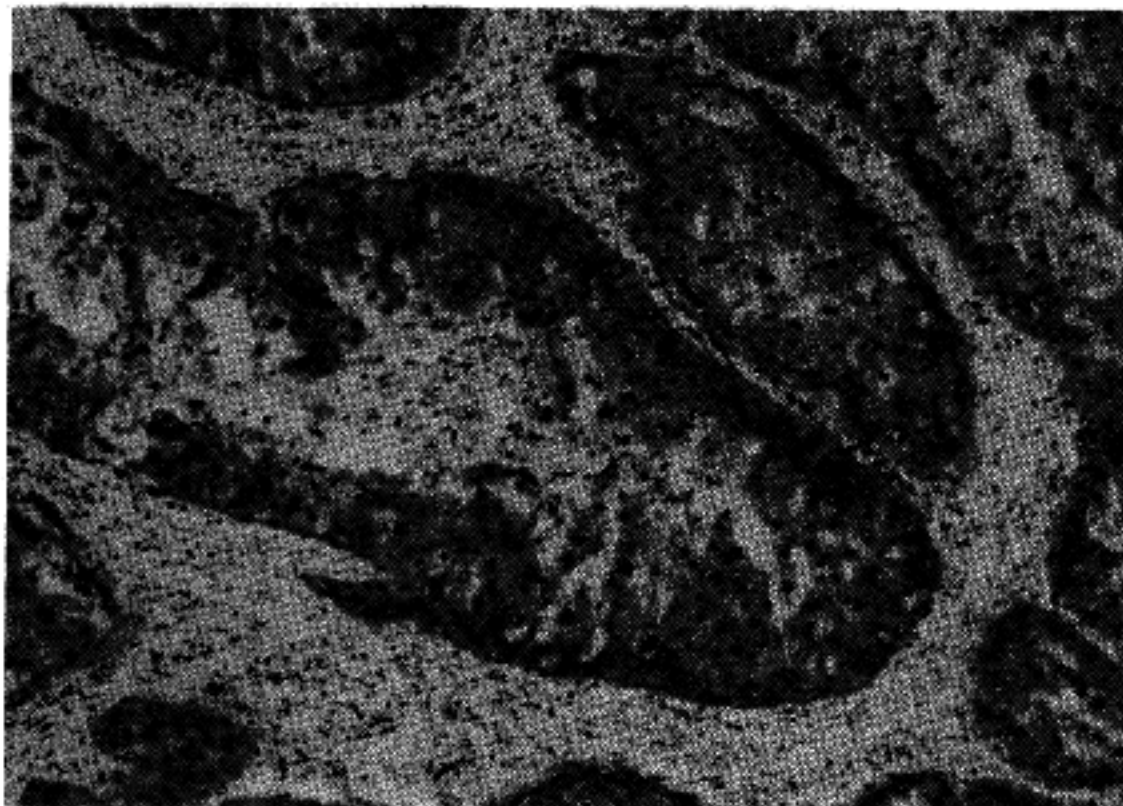


Fig. 1. Positive immunoreactivity of cytoplasm and membrane of tumor cells for CD44v4/5 in squamous cell carcinoma of uterine cervix (ABC, \times 200).

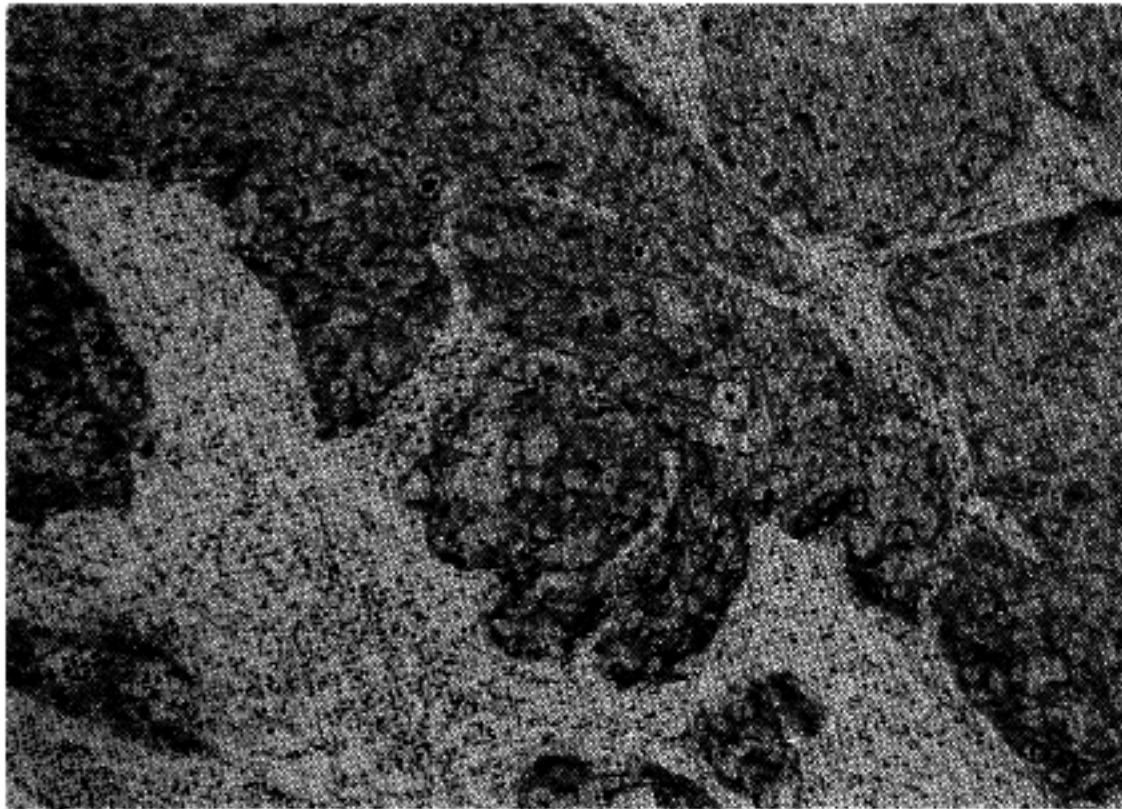


Fig. 2 Positive immunoreactivity of cytoplasm and membrane of tumor cells for CD44v6 in squamous cell carcinoma of uterine cervix (ABC, $\times 200$).

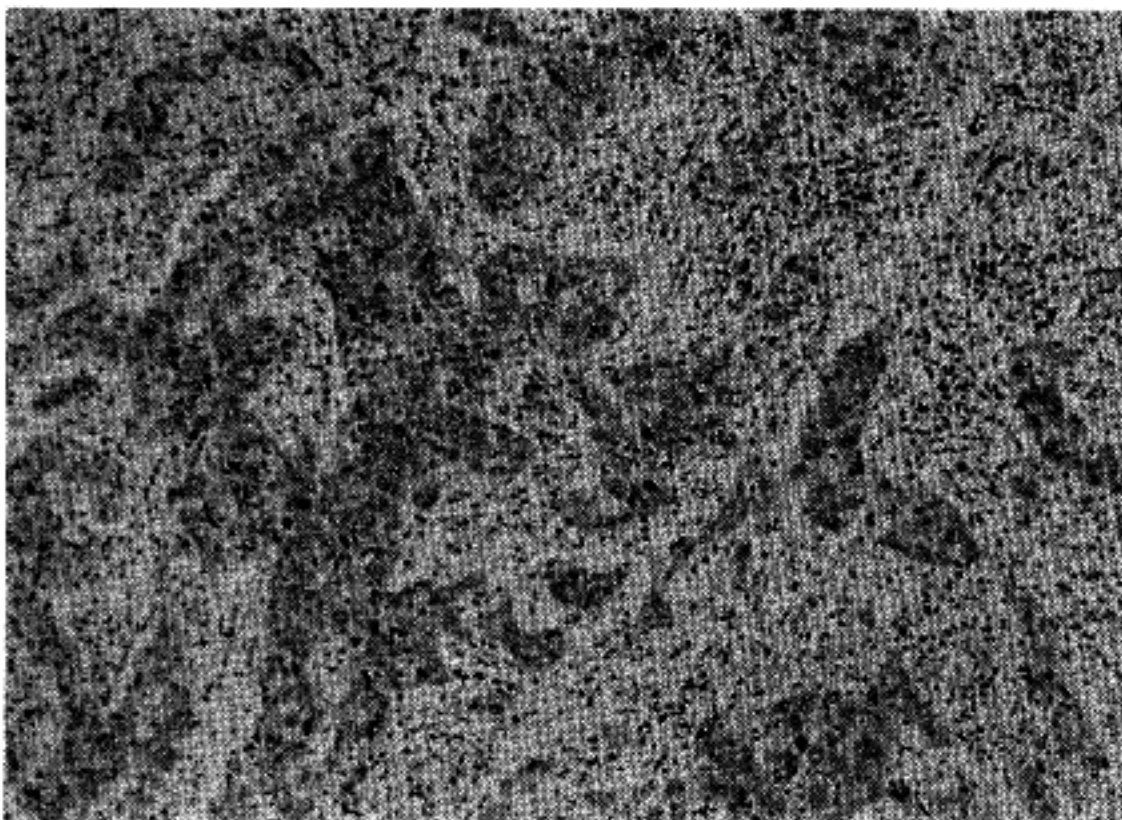


Fig. 3. Positive immunoreactivity of cytoplasm of tumor cells for nm23 in carcinoma of uterine cervix(ABC, $\times 100$).

2)는 종양세포에서 주로 세포막을 따라 염색되었으며, 각각 70예 중 29예와 49예에서 양성반응을 보여 41.4%와 70.0%의 양성율을 보였다. 정상대조군으로 이용한 상피조직은 기저세포의 세포막을 따라 약하게 양성반응을 보였다.

2) nm23: nm23는 종양세포에서 세포질에 염색되었으며(Fig. 3), 70예 중 52예에서 양성반응을 보여 74.3%의 양성률을 보였다.

3) SMA: SMA는 종양의 침습부위 인접의 상피내 암에서는 발현이 없거나 미약한데 비해(Fig. 4), 일단 침습이 이루어진 부위에서는 침습 깊이가 깊어질수록 염색 강도 및 범위가 확대되는 소견을 보였다(Fig. 5). SMA는 70예(100%) 모두에서 양성반응을 보였는데, +가 25예(35.7%), ++가 30예(42.9%), +++가 15예(21.4%)이었다.

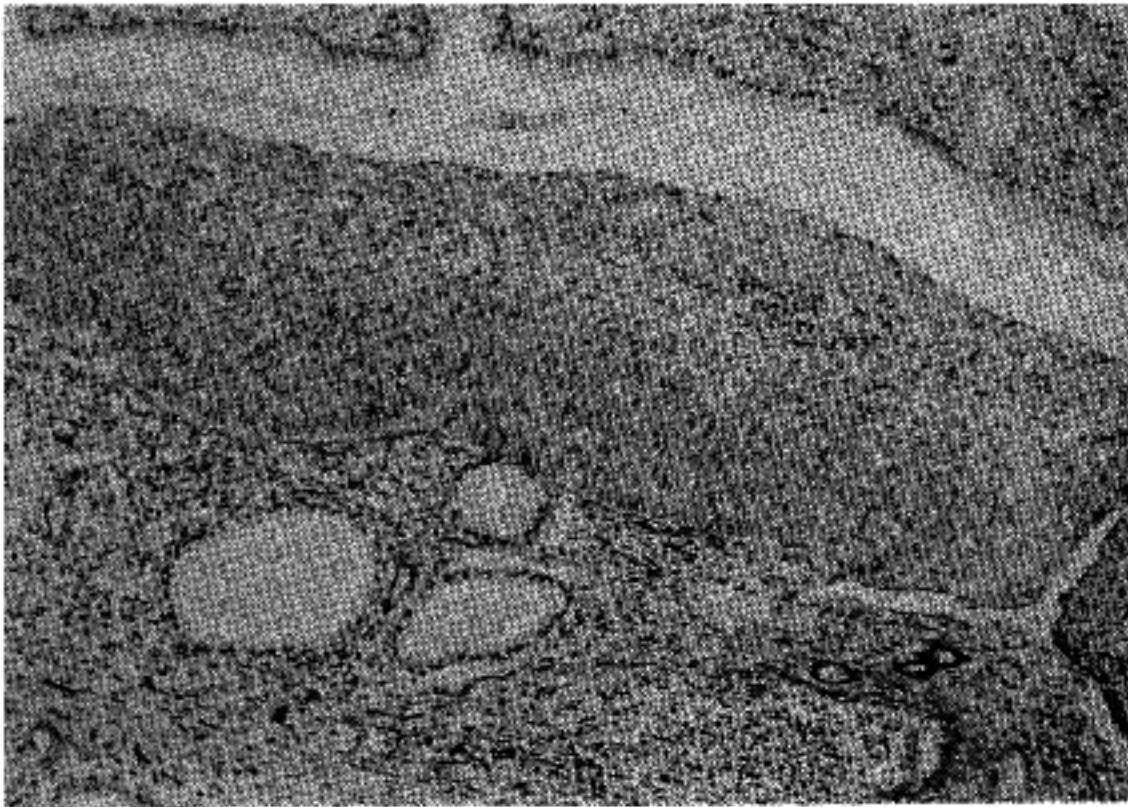


Fig. 4. A few positively stained stromal cells for SMA antibody beneath carcinoma in situ of uterine cervix(ABC, $\times 200$).

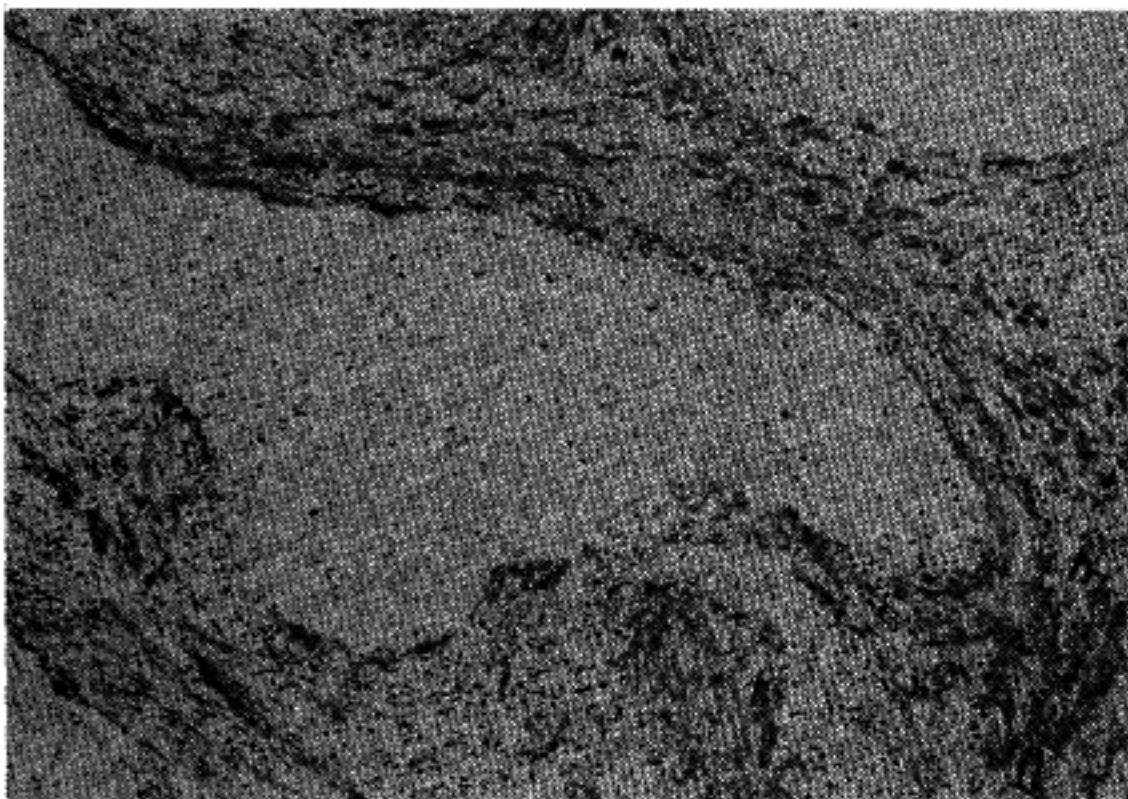


Fig. 5. Numerous positively stained stromal cells for SMA antibody around an invading tumor nest (ABC, $\times 200$).

3. 림프혈 전이와 각 항원들의 관련성(Table 3, 4)

nm23의 발현이 높을수록 림프혈 전이는 감소하는 경향($0.05 < p = 0.062 < 0.1$)을 보였다. 다른 항원들은 유의한 관련성이 인정되지 않았다.

4. 재발과 각 항원들의 관련성(Table 3, 4)

재발과 유의한 관련성이 인정되는 인자들은 없었다.

5. TIL과 각 항원 발현과의 비교(Table 3, 4)

TIL은 8예(11.4%)는 고도, 23예(32.9%)는 중 등도, 29예(41.4%)는 정도의 침윤을 보였으며, 10예(14.3%)는 종양주변부에 림프구 침윤을 보이지 않았다. TIL과 CD44v4/5의 발현간에는 역의 상호관련성 즉 TIL의 정도가 높아질수록 CD44v4/5의 양성률이 유의하게 낮아졌고($p = 0.049$), 다른 항원간의 관련성은 인정되지 않았다.

Table 3. Correlation between overexpression of nm23, CD44v4/5, CD44v6, and clinicopathologic parameters with uterine cervical cancer

Parameters	N=70 n(%)	nm23 expression		CD44v4/5 expression		CD44v6 expression	
		P value	n(%)	P value	n(%)	P value	
Stage							
IB	51	43(84.3)	NS	20(39.2)	NS	39(74.5)	NS
IIA	14	7(50.0)		6(42.9)		8(57.1)	
IIB	5	2(40.0)		3(60.0)		3(60.0)	
Pelvic lymph node involvement							
Absent	57	45(78.9)	0.062	21(36.8)	NS	41(71.9)	NS
Present	13	7(53.8)		8(61.5)		8(61.5)	
Histologic type							
Squamous	61	46(75.4)	NS	26(42.6)	NS	45(73.8)	NS
Adeno-carcinoma	9	6(66.7)		3(33.3)		4(44.4)	
TIL							
Negative	10	7(70.0)	NS	1(10.0)	0.049	6(60.0)	NS
Mild	29	20(69.0)		11(37.9)		19(65.5)	
Moderate	23	19(82.6)		14(60.9)		19(82.6)	
Severe	8	7(87.5)		3(39.3)		5(62.5)	
Recurrence							
No	56	42(75.0)	NS	22(39.3)	NS	37(66.1)	NS
Yes	14	10(71.4)		7(50.0)		12(85.7)	

NS: not significant

P values are the results of χ^2 testSignificant result with $p < 0.05$

TIL: tumor infiltrating lymphocyte

6. 각 항원들간의 상관관계(Table 5)

CD44v4/5와 CD44v6($p=0.05$), nm23과 SMA($p=0.049$) 사이에 유의한 관련성이 인정되었고, 다른 항원들간의 상호관련성은 인정되지 않았다.

고 찰

세포표면 접착 분자들 중의 하나인 CD44는 악성 세포에서 교대성 접합(alternative splicing)을 조절하는 기전에 이상이 오거나 CD44 유전자 돌연변이가 생기면 CD44 전사에 이상이 초래되어 CD44를 과발현하게 되거나 변형체를 만들게 된다³³. 이러한 세포에서는 세포외 기질과 유착이 증가하여 침윤과 전이를 잘 일으키거나 혹은 세포표면 CD44와 ligand

와의 결합력과 상호작용의 변화가 초래되고 세포의 결합력이 떨어져 종양세포는 주위의 세포와 기저막으로부터 쉽게 탈락되어 침윤이 용이해질 것으로 추측된다¹.

본 연구 결과에서는 CD44v4/5, CD44v6 발현율은 각각 41.4%, 70.0%이었으며 재발이나 림프절전이 및 생존율과는 관련이 없는 것으로 나타났다. 그러나 Kainz등³⁴은 자궁경부암에서 본 연구에서와 동일한 방법을 사용하여 CD44v4/5, CD44v6의 발현율이 각각 70%, 67%라고 보고하였으며, CD44 변이체들이 나쁜 예후와 관련이 있으며, 특히 CD44v6는 림프절전이 및 자궁경부암의 예후 인자로서 의의가 있다고 하였다. 이러한 연구 결과의 비교에 있어서 인종적 유전적 요인과 자궁 경부 감염 질환의 빈도나 양상 등 환경적 요인 등이 상이하다는 점이 고려되

Table 4. Correlation between degree of overexpression of SMA and clinicopathologic parameters with uterine cervical cancer

Parameters	N=70	degree of overexpression of SMA			P value
		+	++	+++	
		(n=25)	(n=30)	(n=15)	
Stage					NS
IB	51	23	20	8	
IIA	14	2	7	5	
IIB	5	0	3	2	
Pelvic lymph node involvement					NS
Absent	57	22	24	11	
Present	13	3	6	4	
Histologic type					NS
Squamous	61	22	26	13	
Adeno-carcinoma	9	3	4	2	
TIL					NS
Negative	10	4	6	2	
Mild	29	10	10	7	
Moderate	23	9	11	4	
Severe	8	2	3	2	
Recurrence					NS
No	56	22	23	11	
Yes	14	3	7	4	

NS: not significant

SMA: smooth muscle actin

TIL: tumor infiltrating lymphocyte

Table 5. Correlation between the positive immunoreactivity of CD44v4/5, CD44v6, SMA, nm23 in uterine cervical cancer

	CD44v4/5	CD44v6	SMA	nm23
CD44v4/5	1			
P value	0			
CD44v6	0.23415	1		
P value	0.05	0		
SMA	0.00714	0.02686	1	
P value	0.95	0.82	0	
nm23	0.03033	0.18545	0.23537	1
P value	0.80	0.12	0.049	0

어야 할 것으로 생각되며, 아직은 이 방면의 국외 연구보고도 드물어서 앞으로의 이에 대한 검증이 필요한 상태이다. 따라서 본 결과에 대한 단정적인

해석은 이르다고 본다.

본 연구 결과에서는 nm23의 양성율이 74.3%이며 림프절 전이가 없는 군에서 발현율이 높은 경향 ($p=0.062$)을 보였다. Mandai등³⁵은 다양한 병기의 선암과 편평상피암 각각 39예를 대상으로 한 연구에서 nm23-H1의 발현이 선암에서 46%, 편평상피암에서 36%이었으며, 선암에서는 nm23-H1(-)/c-erbB-2(+)인 경우는 불량한 예후 인자로 추정할 수 있다고 하였다. 그러나 Gunnar등³⁶은 파라핀 포매조직을 이용한 면역조직화학적염색법에 의한 연구에서 nm23가 자궁경부암의 예후인자로서 가치가 없다고 하였다. 본 연구 결과에서는 선암(9예)과 편평 상피암(61예)에서 nm23의 발현이 각각 60%, 75.4%로써 Mandai의 결과보다 높다고 할 수 있으며, 이런 원인의 일부는 본 연구에서는 임상 병기 IB-IIB만을 대상으로 하였고, 염색 방법에서도 antigen retrieval의 방법으로 microwave를 사용한 점 등에서 기인한다고 할 수

있다. 또한, 비록 다른 종양을 대상으로한 연구 결과이긴 하지만 최근까지 보고된 nm23의 예후 인자로서의 의의는 종양 발생 부위와 연구자에 따라 상당한 차이를 보이고 있다. 대장암을 예로 들면 Cohan²⁷, Wang 등³⁷은 nm23의 발현이 있는 환자에서 원격전이 가 빈번하고 생존 기간이 짧았다고 보고하였으나, Myeroff³⁸, Haut 등³⁹은 nm23유전자와 전이 능력과는 상관성이 없다고 보고하였다. 유방암을 대상으로한 보고에서도 이와 유사한 다양한 보고들^{40,41}이 있다. 따라서 nm23의 예후 인자로서의 의의는 보다 많은 연구들에 의한 검증이 있고 난 후 신중히 결론을 내려야 한다고 생각된다.

Sappino 등⁴²은 종양의 간질에 있어서 정상에서는 근육 세포에 특이하게 존재하는 성분인 SMA를 풍부하게 소유하는 세포의 비율이 종양의 발전 단계를 예측하는 데 중요하다고 추측하였다. 즉 간질 세포인 섬유모세포가 SMA를 많이 보유한다는 것은 근섬유모세포(myofibroblast)로 분화된다는 것을 의미하며 이런 분화는 상피암의 침윤 전에 일어난다고 추측된다². 본 연구에서는 SMA는 100%에서 양성 반응을 보였는데 이는 연구 대상을 병기 IB 이상으로 국한시킨 것에서 기인한다고 생각된다. 주 침습 부위 인접의 상피내암에서는 SMA의 발현이 없거나 극히 미약한 데 비해 침습이 일단 이루어지는 부위에서는 SMA가 발현되기 시작하였으며 침습 깊이가 깊어질수록 SMA의 발현의 염색 강도 및 범위가 확대되는 소견을 보였는데, 이는 Cin Torino 등⁴³의 연구 결과와 부합되는 소견이다. 특히 침윤성 종양 주변부의 상피내암에서는 SMA의 발현이 없거나 미미하였으며, 미세침윤암에서는 침윤부위의 간질에서 SMA의 발현이 보다 뚜렷해졌다. 따라서 종양의 위 침습(pseudoinvasion)을 감별하는 데 이러한 SMA의 발현 유무가 크게 도움이 되리라고 생각된다.

각 항원과 인자들간의 상호 관련성 조사에서 TIL의 정도가 심해질수록 CD44v4/5의 발현이 적어진다는(p=0.045)고 할 수 있다. Kainz 등³⁴은 TIL의 정도와 CD44v5, CD44v6들은 역의 상관관계가 있다고 보고하였다. 본 연구 결과는 CD44v6과 TIL과는 상관성이 인정되지 않았으나, CD44v4/5와는 역의 상관성이 있었기 때문에 Kainz의 결과와 부분적으로 부합한다. 또한 Vos⁴⁴, James⁴⁵의 가설에서와 같이 TIL은 좋은 예후에 영향을 미치는 경향(p=0.069)을 보였다. 또한 nm23의 발현이 높을 수록 SMA의 발현 범위가 감소되는 소견을 보였는데, 이는 Howlett 등⁴⁶의 nm23-H1은 기저막 형성을 유도하고 종양의 성장을 멈추

게 한다는 의견과 Schuerch 등¹⁷의 침윤성 암의 간질 세포에서 actin이 풍부해진다는 의견을 고려하면 본 결과는 타당하다고 생각된다. 편평상피암인 경우에 종양의 분화도와 유의한 상관성을 보이는 단백질 발현은 없었다. CD44v4/5와 CDv6의 발현은 유의한 관련성을 보였는데 이는 19개 조합으로 형성되는 CD44 family의 isoform인 것을 감안하면 이해할 수 있다.

본 연구의 관찰 결과에서 림프절 전이와 재발과 관련된 예후 인자는 없었다. 따라서, FIGO IB-II B 자궁 경부암에서는 종양의 전이 능력이나 예후(재발)를 결정하는 것은 한가지 인자가 결정적으로 작용한다기보다는 다양한 인자들이 서로 상쇄 보완하는 단계적인 기전을 통해 이루어진다고 생각되며 앞으로 자궁 경부암에 대한 이 방면의 연구 결과가 지속적으로 추가 보완되면 이들의 종양에서의 역할을 보다 정확히 규명하게 되고 자궁경부암 환자의 예후 추정 및 환자 관리에 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

원발성 침윤성 자궁 경부암에서의 CD44 변이체인 CD44v4/5, CD44v6와 nm23, SMA의 역할을 조사하기 위하여 5년 이상 임상 추적 가능했던 FIGO 병기 IB-II B의 자궁 경부암 70예의 파라핀 포매 조직을 대상으로 면역조직화학 염색을 실시하여 이들의 발현과 병리조직학적 유형과 종양 주위 림프구 침윤정도, 병기, 림프절 전이 유무, 재발과의 관련성을 조사하였다.

1. CD44v4/5, CD44v6, nm23, SMA의 발현은 각각 41.4%, 70.0%, 74.3%, 100%였으며, 조직학적 유형에 따른 각 항원들의 발현에는 유의한 차이가 인정되지 않았다.

2. 재발과 림프절 전이 유무에 따른 항원들의 발현에는 유의한 차이가 없었다. 단 nm23의 발현이 높을수록 림프절 전이가 감소하는 경향을 보였다(p=0.062).

3. 종양주위 림프구 침윤정도(TIL)와 CD44v4/5의 발현과는 역의 상관성(p=0.049)이 인정되었으나, 다른 항원들과는 관련성이 인정되지 않았다.

4. CD44v4/5와 CD44v6사이에는 양의 상관성(p=0.05)이 인정되었으며, SMA와 nm23사이에는 역의 상관성(p=0.049)이 인정되었으나, 다른 항원들 상호간에는 상관성이 인정되지 않았다.

이상의 관찰결과에 미루어 병기 IB-II B의 자궁경

부암에서 SMA, nm23, CD44 v4/5, v6의 발현은 림프절전이 및 재발과의 관련성이 인정되지 않았다. 따라서 예후인자로서의 의의는 장기간의 추적 조사를 통한, 보다 많은 증례를 대상으로한 추가 연구가 필요하다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Tanabe KK, Saya H. The CD 44 adhesion molecule and metastasis. *Crit Rev Oncol* 1994; 5: 201-12.
2. Pignatelli M, vessey CJ. Adhesion molecules: Novel molecular tools in tumor pathology. *Hum Pathol* 1994; 25: 849-56.
3. Gunthert U, Hofmann M, Rudy W, et al. A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. *Cell* 1991; 65: 13-24.
4. Yokozaki H, Ito R, Kuniyasu H, Taniyama K, Tahara E. Expression of CD 44 abnormal transcript in human gastric carcinomas. *Cancer Lett* 1994; 83: 229-34.
5. Horst E, Meijer CJLM, Radaszkiewicz T, Ossekoppele GJ, van Krieken JH, Pals ST. Adhesion molecules in the prognosis of diffuse large-cell lymphoma: Expression of a lymphocyte homing receptor(CD44), LFA-1 (CD11a/18), and ICAM-1(CD54). *Leukemia* 1990; 4: 595-9.
6. Natali P, Nicotra MR, Cavaliere R, et al. Differential expression of intercellular adhesion molecule 1 in primary and metastatic melanoma lesions. *Cancer Res* 1990; 50: 1271-8.
7. Fox SB, Fawcett J, Jackson DG, et al. Normal human tissue, in addition to some tumors, express multiple different CD44 isoforms. *Cancer Res* 1994; 54: 4346-59.
8. Wielenga VJM, Heider KH, Offerhaus JA, et al. Expression of CD44 variant proteins in human colorectal cancer is related tumor progression. *Cancer Res* 1993; 53: 4754-6.
9. Heider KH, Dammrich J, Skroch-Angle P, et al. Differential expression of CD44 splice variants in intestinal-and diffuse-type human gastric carcinomas and normal gastric mucosa. *Cancer Res* 1993; 53: 4197-203.
10. Seiter S, Arch R, Reber S, et al. Prevention of tumor metastasis formation by anti-variant CD44. *J Exp Med* 1993; 177: 443-455.
11. Guo Y, Ma J, Wang J, et al. Inhibition of human melanoma growth and metastasis in vivo by anti-Cd44 monoclonal antibody. *Cancer Res* 1994; 54: 1561-5.
12. Gabbiani G, Ryan GB, Majno G. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and thier possible role in wound contraction. *Experientia* 1971; 27: 549-50.
13. Skalli O, Schu"rch W, Seemayer T, et al. Myofibroblasts from diverse pathologic settings are heterogenous in their content of actin isoforms and intermediate filament proteins. *Lab Invest* 1989; 60: 275-85.
14. Vandekerckhove J, Weber K. At least six different actins are expressed in a higher mammal. An analysis based om the amino acid sequence of the aminoterminal typic peptide. *J Mol Biol* 1978; 126: 783-802.
15. Kratochwil K. The stroma and the control of cell growth. *J Pathol* 1986; 149: 23-4.
16. Liotta LA, Rao CN, Barsky SH. Tumor invasion and the extracellular matrix. *Lab Invest* 1983; 49: 636-49.
17. Schu"rch W, Seemayer TA, Lagace' R. Stromal myofibroblasts in primary invasive and metastatic carcinomas: A combined immunological, light and electron microscopy study. *Virchows Arch(A)* 1981; 391: 125-39.
18. Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, et al. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 200-4.
19. Varesco L, Caligon MA, Simi P, et al. The nm23 gene maps to human chromosome band 17q22 and shows a restriction fragment length pleomorphism with Bgl II. *Genes Chromo Cancer* 1992; 4: 84-8.
20. Gilles AM, Presecan E, Vonica A, Lascu I. Nucleoside diphosphate kinase from human erythrocytes. *J Biol Chem* 1991; 266: 8784-9.
21. Hennessy C, Heury JA, May FE, Westley BB, Angus B, Lennard TW. Expression of the antimetastatic gene nm23 in human breast cancer: an association with good prognosis. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 281-5.
22. Mandai M, Konishi I, Koshiyama M, et al. Expression of metastasis-related nm23-H1 and nm23-H2 genes in ovarian carcinomas. Correlation with clinicopathology, EGFR, c-erbB-2, and c-erbB-3 genes, and sex steroid receptor espression. *Cancer Res* 1994; 54: 1825-30.
23. Igawa M, Rukstalia DB, Tanabe T, Chodak GW. High levels of nm23 expression are related to cell proliferation in human prostate cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 1313-8.
24. Nakamori S, Ishikawa D, Ohigashi H, et al. Clinicopathological features and prognostic significance of nucleoside diphosphate kinase/nm23 gene product in human pancreatic exocrine neoplasm. *Int J Pancreatol* 1993; 14: 125-33.
25. Nakayama H, Yasui W, Yokozaki H, Tahara E. Reduced expression of nm23 is associated with metastasis of human gastric carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1993; 84:

- 184-90.
26. Kodera Y, Isobe K, Yamauchi M, et al. Expression of nm23-H1 RNA levels in human gastric cancer tissues. A negative correlation with nodal metastasis. *Cancer* 1994; 73: 259-65.
 27. Cohan KH, Wang F, Desoto-Lapaix F, et al. Association of nm23-H1 allelic deletion with distant metastases in colorectal carcinoma. *Lancet* 1991; 338: 722-4.
 28. Engel M, Theisinger B, Seib T, et al. High levels of nm23-H1 and nm23-H2 messenger RNA in human squamous cell lung carcinoma are associated with poor differentiation and advanced tumor stages. *Int J Cancer* 1993; 55: 375-9.
 29. Leone A, McBride OW, Weston A, et al. Somatic allelic deletion of nm23 in human cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 2490-3.
 30. Arai T, Watanabe M, Onodera M, et al. Reduced nm23-H1 messenger RNA expression in metastatic lymph nodes from patient with papillary carcinoma of the thyroid. *Am J Pathol* 1993; 142: 1938-44.
 31. Zou M, Shi Y, al-Sedairy S, Farid NR. High levels of nm23 gene expression in advanced stage of thyroid carcinomas. *Br J Cancer* 1993; 8: 385-8.
 32. Yamaguchi A, Urano T, Goi T, et al. Expression of human nm23-H1 and nm23-H2 proteins in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1994; 73: 2280-4.
 33. Matsumura Y, Tarin D. Significance of CD44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation. *Lancet* 1992; 340: 1053-8.
 34. Kainz CH, Kohlberger P, Sliutz G, et al. plice variant of CD44 in Human Cervical Cancer Stage IB to IIB. *Gynecol Oncol* 1995; 57: 383-7.
 35. Mandai M, Konishi I, koshiyama M, et al. Altered expression of nm23-H1 and c-erbB-2 proteins have prognostic significance in adenocarcinoma but not in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1995; 75: 2523-9.
 36. Gunnar B, Kristensen MD, Ruth H, et al. Evaluation of the prognostic significance of nm23/NDP kinase protein expression in cervical carcinoma: An immunohistochemical study. *Gynecol Oncol* 1996; 61: 378-83.
 37. Wang L, Patel U, Ghosh L, Chen HL, Banerjee S. Mutation in the nm23 gene is associated with metastasis in colorectal cancer. *Cancer Res* 1993; 53: 717-20.
 38. Myeroff LL, Markowitz DSD. Increased nm23-H1 and nm23-H2 messenger RNA expression and absence of mutation in colon carcinomas of low and high metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 147-52.
 39. Haut M, Steeg PS, Wilson JK, Merkowitz SD. Induction of nm23 gene expression in human colonic neoplasms and equal expression in colon tumors of high and low metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 712-6.
 40. Okubo T, Inokuma S, Takeda S, Itoyama S, Kinoshita K, Sugawara I. Expression of nm23-H1 gene product in thyroid, ovary, and breast cancers. *Cell Biophys* 1995; 26: 205-213.
 41. Patel DD, Bhatavdekar JM, Chikhlikar PR, et al. Node negative breast carcinoma. *J Surg Oncol* 1996; 62: 86-92.
 42. Sappino AP, Scuerch W, Gabbiani G. Differentiation repertoire of fibroblastic cells: Expression of cytoskeletal proteins as marker of phenotypic modulations. *Lab Invest* 1990; 63: 144-61.
 43. Cintonino M, De Marco EB, Leoncin P, et al. Expression of α -smooth-muscle actin in stromal cells of the uterine cervix during epithelial neoplastic changes. *Int J Cancer* 1991; 47: 843-6.
 44. Vos BM, Moore M. Human tumor infiltrating lymphocytes; a marker of host responses. *Semin Hematol* 1985; 22: 27-40.
 45. James HF. Tumor-infiltrating lymphocytes: New therapy, new hopes. *Gastroenterol* 1990; 98: 531-4.
 46. Howlett AR, Peterson OW, Steeg PS, et al. A novel function of the nm23-H1 gene. overexpression in human breast carcinoma cells lead to the formation of basement membrane and growth arrest. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1833-44.
-