

자궁 경부 침윤성 편평세포암종의 E-cadherin 발현과 DNA Ploidy 분석에 대한 연구

—상피내 종양과의 비교—

고신대학교 의과대학 병리학교실 및 부산대학교 의과대학 병리학교실*

김유진 · 설미영* · 허만하 · 이선경*

E-Cadherin Expression and DNA Ploidy Analysis in Invasive Squamous Cell Carcinoma of the Uterine Cervix

—Comparison with those of CIN—

Yoo Jin Kim, M.D., Mee Young Sol, M.D.*, Man-Ha Huh, M.D.
and Sun Kyung Lee, M.D.*

Departments of Pathology, College of Medicine,
Pusan National University* and Kosin University

Epithelial cadherin (E-cadherin) is a Ca^{2+} -dependent cell-cell adhesion molecule that connects cells via homotypic interactions. Its function is critical in the induction and maintenance of cell polarity and differentiation, and its loss is associated with an invasive and poorly differentiated phenotype in a wide range of tumors. Formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections from 36 cases of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and 14 cervical squamous cell carcinomas were investigated for the expression of E-cadherin immunohistochemically. While E-cadherin expression was usually restricted on the cell membrane of basal and parabasal cells in normal cervix, the presence of cytoplasmic E-cadherin was found to be associated with its grade in CIN lesions. Also, marked cytoplasmic staining was commonly revealed in poorly differentiated ones than well-differentiated squamous cell carcinomas. More intense reactivity of cytoplasmic E-cadherin was frequently seen in the foci of invasion than adjacent carcinoma in situ, and in its periphery than the center of tumor islands. In addition, DNA ploidy and S-phase fraction of squamous cell carcinomas were analyzed and compared with those of CIN lesion. We found that invasive squamous cell carcinomas more frequently disclosed DNA aneuploidy than CIN lesions, and there was correlation between cytoplasmic E-cadherin expression and DNA aneuploidy. Also, cytoplasmic E-cadherin-reactive cervical neoplasms had a higher rate of cell proliferation than that of membranous E-cadherin-reactive cases. These data suggest that the increased cytoplasmic E-cadherin expression may represent one of the abnormalities underlying the loss of polarity and invasiveness of cancer cells, and the abnormal E-cadherin expression combined

접 수: 1996년 11월 18일, 게재승인: 1997년 4월 8일

주 소: 부산시 서구 압남동 34, 우편번호 602-702

고신의료원 해부병리과, 김유진

with/without DNA ploidy or S-phase fraction may serve as a prognostic indicator. (Korean J Pathol 1997; 31: 557 ~ 565)

Key Words: E-cadherin, DNA ploidy, S-phase fraction, Uterine cervix, Neoplasm

서 론

Cadherin은 120 kD의 막성 당단백질로서, 칼슘이온의존성의 동종친화성 상호 작용으로 세포와 세포 간의 유착을 일으키는 중요한 매개체이다. 다양한 종류의 cadherin 분자들이 존재하며, 특히 그 중에서 E-cadherin은 상피세포들 간에 선택적으로 작용하여, 유착 접합부(adherens junctions) 형성에 참여한다^{1,2}. E-cadherin의 기능은 -COOH 종말 세포내 영역을 액틴 세포 골격에 결합시키는 α -, β - 및 γ -catenin에 의해 부분적으로 조절된다³.

E-cadherin이 정상적인 상피세포의 통합성 유도와 유지에 필수적이므로, 정상적인 E-cadherin의 소실은 암종세포의 침윤성 및 저분화의 표현형과 연관성이 있다는 실험결과들^{4,5}이 보고되고 있다. 나아가, 정상적인 E-cadherin의 소실 또는 이상이 다양한 악성종양들의 저분화형이나 진행된 병기에서 흔하게 발생한다는 임상-병리학적인 연구 결과들도 보고되고 있으며, 그 중 유방암⁶, 결직장암⁷, 전립선암⁸, 방광암⁹, 췌장암¹⁰, 그리고 두경부의 편평세포암종¹¹ 등에 관한 연구들이 있다.

그러나, 자궁 경부 종양을 대상으로 시행한 연구는 아직 소수에 불과하며¹², 특히 침윤성 편평세포암종에서, 침윤성 병소에서의 E-cadherin 발현의 변화를 상피내 암종의 것과 비교하여 관찰한 연구는 아직 보고된 바 없다. 저자는 상피내 종양과 침윤성 암종에서 각각의 E-cadherin의 발현의 범위와 강도를 비교하고, 침윤성 암종에서 종양세포의 분화도와 E-cadherin 발현 간의 상관관계를 관찰하여 E-cadherin의 예후 인자로서의 가능성에 대해 조사해 보고자 한다. 또한, 광학현미경상 미묘한 정도의 침윤을 보이는 병소 부위를 인지해 내는 표지자로서의 E-cadherin의 가치를 분석하고자 한다.

한편, DNA 배수성의 변화가 다양한 종류의 종양에서 그 종양의 독립적인 예후 인자로 작용할 수 있다는 여러 문헌들^{13,14}이 보고되고 있고, 자궁 경부

종양을 대상으로 한 조사도 이루어지고 있다¹⁵⁻¹⁸. 또한, 전립선암이나 유방암을 대상으로 E-cadherin 발현과 DNA 배수성의 변화 간의 상관 관계를 조사한 문헌들^{6,19,20}도 보고되고 있다. 이에 저자들은 면역조직화학적 연구를 시행한 대상 예들 중 일부 종례의 파라핀 포매 조직의 상태가 양호한 예들을 선택하여, 유식세포측정기로 DNA aneuploidy의 빈도를 관찰하고, 아울러 세포 증식 속도 지수로 이용되는 합성기 세포분획을 분석하여 각각의 결과와 E-cadherin 발현 간의 통계학적 연관성을 조사함으로써, 이들이 자궁 경부암의 진행 단계에서 각각 상호의존적 또는 독립적인 예후 인자로 작용할 수 있을 지에 대해 알아 보고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구 재료

최근 1년간 부산대학교 병원 해부병리과에서 진단된 자궁 경부 종양 중, 파라핀 포매 조직의 보관 상태가 양호한 36예의 상피내 종양(CIN I 8예, CIN II 15예 및 CIN III 13예)과 14예의 편평세포암종(8예의 미세침윤성 암종과 6예의 침윤성 암종)을 대상으로 하였다.

2. 연구 방법

1) 병리조직학적 검색: 헤마톡실린-에오신 염색 절편을 이용하여, 상피내 종양은 Richart등²¹의 기준에 따라 CIN I(경도 이형성), CIN II(중등도 이형성) 및 CIN III(고도 이형성 및 상피내 암종)로 재분류하였고, 침윤성 병소를 가지는 편평세포암종은 FIGO 분류법²²에 따라 미세침윤성 암종과 침윤성 암종으로 세분하였다. 미세침윤성 및 침윤성 암종은 통계학적으로 보다 객관적인 평가를 위해, 종양세포 소의 기저막의 파괴와 함께 주변 기질의 반응이 일어난 경우, 즉 염증세포의 침윤과 다소 간의 콜라겐 섬유 침착이 동반되어 분명한 침윤성 병소가 관찰되는 예들로 재분류하였으며, 침윤의 정도를 평가하기가

에매한 경우는 본 연구에서 배제하였다^{23,24}. 또한, 모든 편평세포암종은 종양세포의 분화도에 따라 고·중·저분화로 분류하였다.

2) **면역조직화학적 염색:** 10% 중성 완충 포르말린에 고정시킨 조직의 파라핀 포매 조직을 4 μ m 두께로 박절한 후 탈파라핀과 함수 과정을 거쳐 수세 후, 항원의 발현성을 높이기 위해 citric acid buffer에 담구어 10분간 microwave oven에서 가열하였다. 이후의 과정은 labeled streptavidin biotin(LSAB) kit (DAKO)를 이용하여 통상의 avidin-biotin complex (ABC)법²⁵에 따라 실시하여 Mayer hematoxylin으로 대조 염색을 실시하였다. 일차 항체는 monoclonal anti-uvomorulin, rat IgG1 isotype, DECAM1(Sigma, St. Louis, USA)를 1 : 200으로 희석하여 사용하였다. 양성 대조군으로는 정상 자궁 경부 조직을 사용하였고, 음성 대조군은 일차 항체 대신에 항체 희석액을 이용하여 실험군과 같이 처리하였다.

E-cadherin 발현의 분포와 강도는 다음의 판정 기준에 따라 평가하였다: 막성 발현을 M, 세포질성 발현을 C, 음성 반응을 -, 그리고 양성 반응의 경우는 상피층의 하 1/3까지만 발현된 경우, 하 2/3까지 발현된 경우 및 전층이 모두 발현된 경우로 분류하였다. 또한, 세포질성 발현을 보이는 경우들을 염색성의 강도에 따라 +(경도), ++(중등도) 및 +++(고도)로 세분하였다.

3) **DNA 배수성 검색:** 면역조직화학적 검색을 위해 이용한 재료 중, CIN 18예(CIN I 3예, CIN II 9예, CIN III 6예)와 편평세포암종 11예를 선택하여서, 파라핀 포매 조직을 이용하여 유식세포측정기로 측정하였다.

① **DNA 배수성 검색:** Hedley²⁶와 Jacobson²⁷의 방법을 다소 변형시켜 파라핀 포매 조직으로부터 세포부유액을 얻었다. 파라핀 포매 조직에서 얻은 70 μ m 두께의 절편을 xylene으로 30분 간 2회 처리하여 파라핀을 제거하고 단계적 저농도의 에탄올(100%, 96%, 64%, 32%, 16%)과 증류수를 거쳐 함수시킨 후 PBS(phosphate buffered saline)로 세척하였다. 절편을 0.4% Pepsin(Sigma)용액에 30분간 37°C에서 처리 후 PBS로 수세하고, 가위로 조직을 잘게 자른 후 5 ml 주사기로 흡입 및 분출시켜 개개 세포의 유리를 촉진시키고 citrate buffer로 1회 세척하였다. 세포부유액을 60 μ m 구경의 nylon mesh를 통해 여과시켰다. 여과액내의 유리 세포수가 2×10^5 /ml이 되도록 조정하여 최종 부유액을 만들어서 trypsin으로 10분 간 실온에서 반응시키고, trypsin inhibitor와 RNase

로 10분 간 실온에서 반응시킨 후, 0.416% propidium iodide와 spermine tetrahydrochloride로 20분 간 4°C 암실에서 염색하였다. 염색된 단일세포 부유액을 15 mW argon-ion laser가 부착된 FACScan(Becton Dickinson, USA) 유식세포측정기를 이용하여 DNA 배수성을 측정하였다. 각 증례마다 20,000개 이상의 세포를 측정하였고, 측정 조직내 포함된 정상 조직 성분의 G₀/G₁ peak를 diploid peak로 이용하였다. 각 측정시마다 chicken RBC를 내부 기준으로 사용하였다.

② **DNA histogram의 분석 및 합성기 세포분획의 측정:** G₀/G₁ peak, S-phase fraction 및 G₂/M peak로 구성된 single cell cycle의 소견을 보인 경우를 DNA diploidy라 하였고, DNA aneuploidy는 비정상적인 "stem cell line"의 존재로 적어도 2개 이상의 분리된 G₀/G₁ peak가 나타나는 경우로 하였다. 평균변이계수(coefficient of variation: C.V.)는 표준편차를 평균치로 나눈 값으로 산정하였다. 유식세포측정기에 의해 얻어진 DNA histogram을 Multicycle program(Multiple option cell cycle analysis)(Phoenix, USA)으로 분석하여 얻어진 S phase의 백분율을 합성기 세포분획으로 하였다.

4) **통계 처리 방법:** 세포질성 E-cadherin 발현과 DNA aneuploidy 빈도와 상관성에 대한 통계는 Fisher의 정확 확률 검정법을, 세포질성 E-cadherin 발현과 합성기 세포분획 간의 상관관계는 Student's t-test를 이용하였다. 이 이외의 모든 통계처리는 chi-square test를 이용하였다.

결 과

1. 면역조직화학적 검색 결과

1) **정상 자궁 경부 조직의 E-cadherin의 발현:** 4예의 정상 조직 중 3예에서 중층 편평상피의 기저세포와 방기저세포의 세포-세포 간에 E-cadherin이 발현되었으며, 때때로 기저세포층에 국한된 정도의 세포질성 발현도 관찰되었다. 나머지 1예는 전 상피층이 염색되었다. 또한, 공동세포도 강한 막성 발현을 나타내었다.

2) **상피내 종양(CIN)에서의 E-cadherin의 발현:** 총 36예의 상피내 종양의 E-cadherin 면역조직화학적 염색 결과, 대부분의 경우에서 막성 발현은 소실되면서 세포질성 발현이 나타났으며, 그 분포는 CIN I의 세포질성 발현은 주로 기저세포층에, 그리고 CIN II에서는 상피층의 하 2/3까지만 국한되어 발현되었고, CIN III의 대부분은 전층에서 세포질성 발현을 보였

Table 1. Cytoplasmic expression of E-cadherin in cervical intraepithelial neoplasia(CIN)

	CIN I	CIN II	CIN III	Total
Basal layer only	5	2	0	7
Basal and middle layers	1	10	4	15
whole layers	0	2	9	11

다(Table 1)(Fig. 1). 3예의 상피내 종양에서는 세포질성 발현이 나타나지 않았다.

3) 침윤성 편평세포암종에서의 E-cadherin의 발현: 면역화학적 염색이 8예의 미세침윤성 및 6예의 침윤성 암종에서 실시되었다. 세포질성 발현의 출현 빈도는 고도 내지는 중등도의 분화도를 보이는 종양보다 분화도가 낮은 종양에서 더 자주 관찰되었으나, 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다($p > 0.05$).

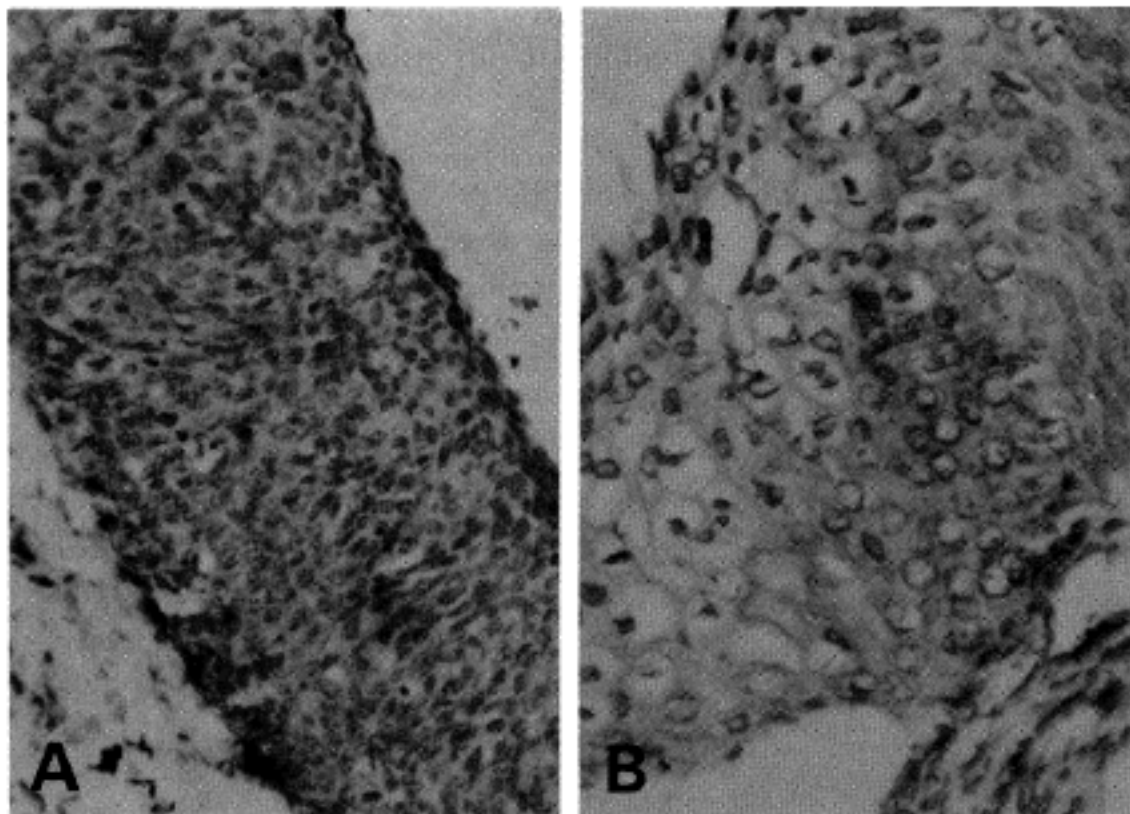


Fig. 1. A) In CIN III(cervical intraepithelial neoplasia III), cytoplasmic E-cadherin expression of moderate degree is noted in whole layers of surface epithelium. B) Heterogeneous E-cadherin expression in CIN III: Membranous staining in koilocytes(left lower) and marked cytoplasmic staining in some dysplastic cells(center) are revealed, in contrast to no reactivity in remaining dysplastic cells(right upper).

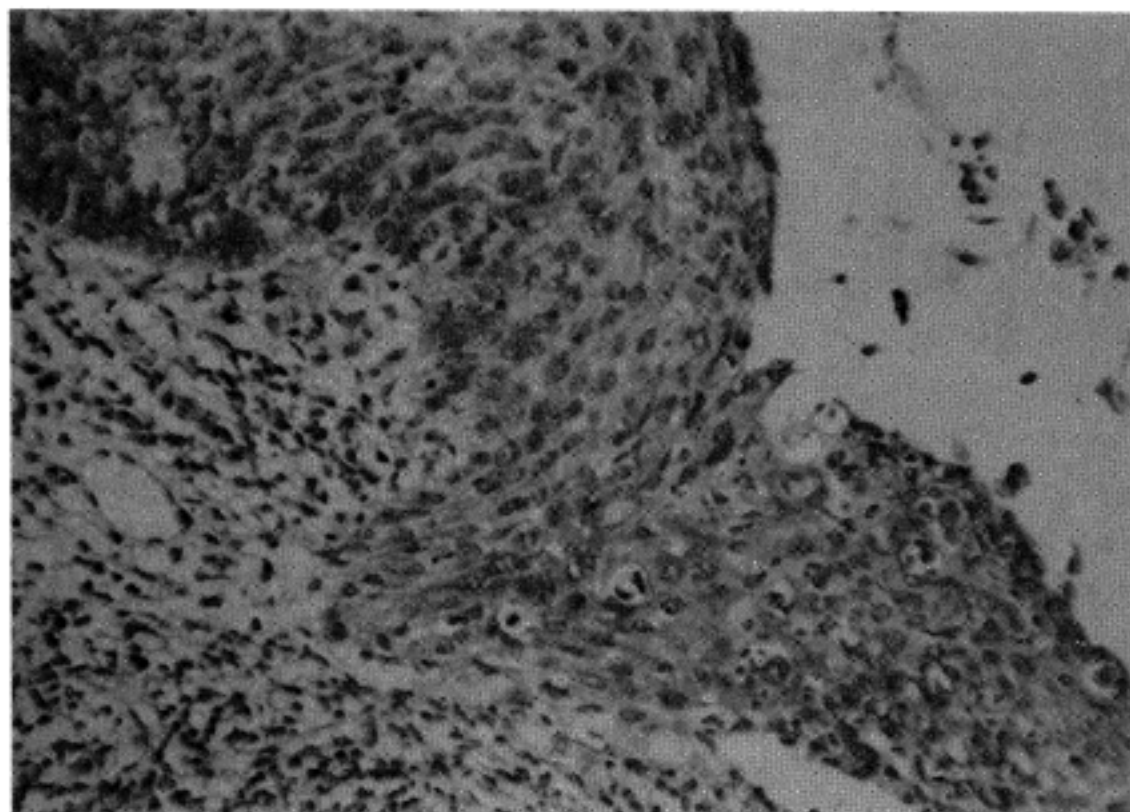


Fig. 2. In minimally invasive squamous cell carcinoma: Focus of stromal invasion of tumor cells show more intense, cytoplasmic E-cadherin staining than adjacent carcinoma in situ area.

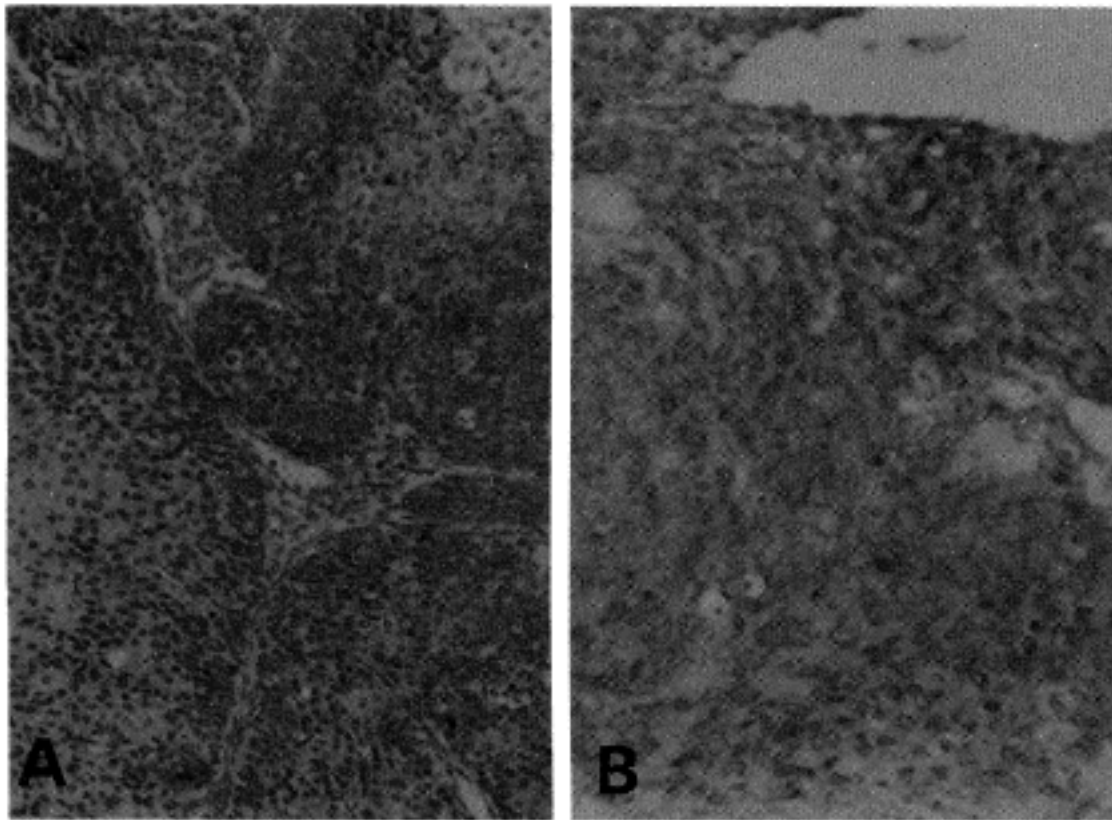


Fig. 3. In invasive squamous cell carcinoma: A) E-cadherin expression in well-differentiated squamous cell carcinoma reveals more intense cytoplasmic staining in its periphery than the center of tumor islands in low power view. B) High power view of poorly differentiated, squamous cell carcinoma shows marked cytoplasmic E-cadherin expression.

Table 2. Correlation between intensity of cytoplasmic E-cadherin expression and invasiveness of squamous cell carcinomas

Intensity	+	++	+++	Total No. of case
CIN	24	6	3	33
SCC	1	5	8	14

*CIN: cervical intraepithelial neoplasia
 SCC: invasive squamous cell carcinoma
 p<0.0001

그러나, 세포질성 염색성의 강도 비교에서 침윤성 암종이 상피내 종양보다 강한 발현을 보였고(p<0.0001), 특히 상피내 암종, 미세침윤성 암종 및 침윤성 암종을 세포질성 발현의 강도로 비교하여 보았을 때, 침윤의 정도가 심할수록 강도가 증가되었다(p=0.007). 또한, 미세침윤성 암종의 침윤성 병소에서 주변의 상피내 암종 부위보다 세포질성 면역성이 다소 강하게 발현되었고(Fig. 2), 침윤성 암종에서 종양세포의 심 가장자리가 중앙부보다 상대적으로 더 강하게 발현되기는 하였으나(Fig. 3), 이러한 염색 강도의 부분적인 증가를 침윤 유무의 지표로 반영하기에는 통계학적인 예수가 부족하였다(Table 2).

2. DNA 배수성 검색

50예 중 29예에서 DNA 배수성 검사가 시행되었

Table 3. Frequency of DNA aneuploidy pattern in CIN and SCCs

	DNA ploidy		Total No. of case
	Diploidy(%)	Aneuploidy(%)	
CIN	17(94)	1(6)	18
SCC	5(45)	6(55)	11
Total	22	7	29

p=0.003

으며, DNA aneuploidy는 18예의 상피내 종양 중에서는 단 1예의 상피내 암종에서만 나타났고, 침윤성 암종 중에서는 11예 중 6예에서 관찰되었다(p=0.003)(Table 3)(Fig. 4).

3. E-cadherin 발현과 DNA 배수성 및 합성기 세포분획(S-phase fraction)과의 비교

총 11예의 편평세포암종을 조사한 결과, 세포질성 E-cadherin 발현을 보이는 경우 중 DNA aneuploidy가 나타난 경우는 6예였고, 막성 발현을 보이는 경우에는 aneuploidy가 한 예에서도 관찰되지 않았다(p=0.015)(Table 4). 또한, 세포질성 E-cadherin 발현이 나타난 경우의 합성기 세포분획은 38.6±15.1로, 막성 발현을 보이는 경우의 합성기 세포분획 18.6±7.1에

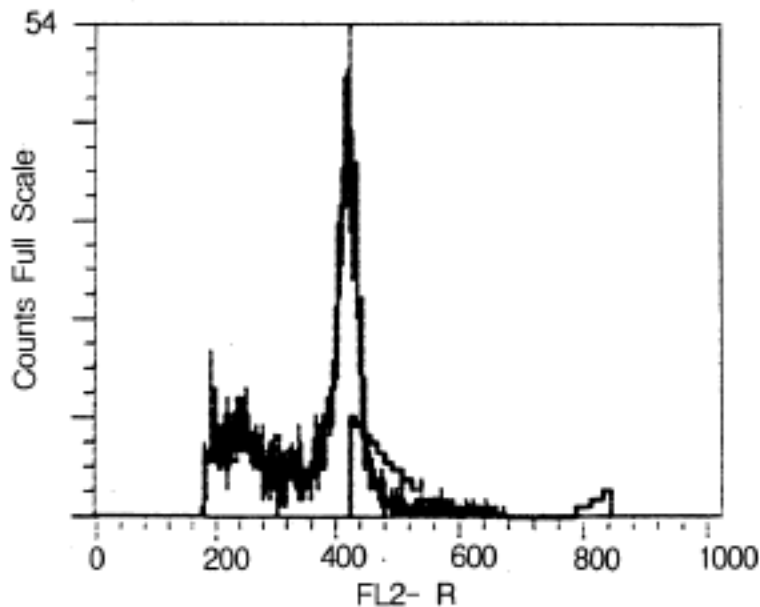


Fig. 4. DNA histograms analysed by flow cytometry: Aneuploidy pattern.

Table 4. Relationship between cytoplasmic E-cadherin expression and DNA aneuploidy in SCCs

E-cadherin expression	DNA ploidy		Total
	Diploidy(%)	Aneuploidy(%)	
Membranous	2(100)	0(0)	2
Cytoplasmic	3(33)	6(67)	9
Total	5	6	11

p=0.015

Table 5. Relationship between cytoplasmic E-cadherin expression and S-phase fraction

E-cadherin expression	S-phase fraction(%)
Membranous	18.6 ± 7.1
Cytoplasmic	38.6 ± 15.1

p=0.02

비해 높게 나타났다(p=0.02)(Table 5).

고 찰

인체의 여러 종류의 조직에서 상피세포들은 강한 세포 간의 유착으로 체계적인 구조물을 형성한다^{1,2}.

하지만, 암세포들 간의 유착성이 정상적인 세포보다 약하다는 견해가 이미 1944년²⁸에 제시된 바 있으며, 감소된 유착성으로 인해 종양 세포의 침윤성이 획득된다는 보고²⁹도 있다. 이러한 배경 하에, 암세포에서 상호-유착성이 감소되는 기전을 밝히고, 그것의 생물학적인 성향에 끼치는 영향을 평가하려는 시도들이 계속되고 있다²⁻⁴.

세포의 유착에 관여하는 분자들은 크게 칼슘이온 의존성 군과 비의존성 군으로 나뉘며, 그중 칼슘이온 의존성 유착분자들을 "cadherin"이라 하고, 이것은 칼슘이온 비의존성 군보다 더 강한 세포 간의 유착을 일으킨다고 한다³⁰. 지금까지 밝혀진 여러 종류의 cadherin 중, E(epithelial)-cadherin은 거의 모든 상피세포에 존재하는 것으로서, 상피세포 간의 유착과 상피 조직의 통합성 유지를 관장하는 가장 중요한 매개체이다^{1,2}. E-cadherin의 변성은 세포 분화의 소실을 초래하고, 세포를 원래의 위치에서 이탈시켜 림프절이나 다른 장기로 전이되게 한다는 연구들^{2,4,29,31}이 보고되고 있다. 이러한 이론들을 토대로, 정상적인 E-cadherin 발현의 소실과 종양의 예후 사이에 높은 상관성이 있다는 보고들이 여러 종류의 종양을 대상으로 이루어지고 있다⁶⁻¹².

또한, 각질세포 배양시에 E-cadherin에 대한 항체를 주입하여, 정상적인 세포의 증충화 현상의 소실을 유발시킨 실험뿐만 아니라³², 역으로 분화도가 나쁜 대장암 세포계에 E-cadherin cDNA를 트랜스펙션(transfection)시킴으로써, 세포간 유착이 증가되고 종양의 침윤성이 억제되었다는 실험 결과도 보고되고 있다³³.

한편, E-cadherin의 발현이 다양한 종류의 인체 조직과 종양에서 그 장기 특이성에 따라 국소화(localization)되어 나타난다는 연구 결과³⁴를 비롯하여 여러 가지 종양을 대상으로 조사한 보고들^{6,11}에서 E-cadherin에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 연구 결과, 정상적인 E-cadherin의 발현은 세포와 세포 간, 즉 막성으로 발현되는 반면, 비균질적 발현, 세포질성 발현, 그리고 발현되지 않는 경우는 비정상적인 것으로 판단되었다. 이러한 면역 반응의 차이는, E-cadherin 유전자의 변이나 소실에 의한 단백질 생산의 감소 또는 그 기능상의 장애로 기인한다거나^{2,35}, 매개체 역할을 하는 catenin의 감소 또는 기능의 결함에 의한 cadherin-catenin 유착복합체의 형성 장애 때문에 정상적인 막성 E-cadherin 발현이 불가능해지기 때문이라는 실험 결과³⁶들로 해석되고 있다. 뿐만 아니라, 분화 및 침윤과 같은 생물학적인 과정은,

integrin, immunoglobulin superfamily 및 CD 44와 같은 상호 유착에 관여하는 다른 많은 복합체들에 의해서도 조절됨으로^{2,31}, 이러한 유착 분자들과 각각의 수용체에 의해 조절되는 역할 간의 기능적인 상호작용에 대해서도 밝혀져야 할 것이다.

본 연구에서 정상 자궁 경부 상피는 주로 막성 E-cadherin 발현을 보인 반면, 상피내 종양과 편평세포암종 세포의 대부분에서 세포질성 발현이 나타났으므로, Vessey 등¹²의 보고에서와 같이, 여러 가지의 비정상적인 E-cadherin 발현 중에서도 편평세포암종들에서 자주 관찰되고 그 강도와 범위의 비교 대조가 가능하다고 생각되어지는, 세포질성 발현을 평가 지표로 이용하였다. 그 결과, CIN I의 경우는 E-cadherin 세포질성 발현이 주로 기저세포층에, CIN II에서는 상피층의 하 2/3까지 나타났으며, CIN III는 전층에서 발현되는 예수가 우세하였다. 또한, E-cadherin 세포질성 발현은 침윤성 암종에서 상피내 종양보다 더 강하게 발현되었고($p < 0.0001$), 침윤의 정도가 클수록 미세침윤성 병변보다 전반적으로 강하게 나타났다($p = 0.007$).

이상의 연구 결과에서, 악성 종양에서의 세포질성 E-cadherin 발현이 종양의 침윤 정도와 연관성이 있었으므로 E-cadherin의 예후 인자로서의 가능성을 추정해 볼 수 있겠으나, 보다 많은 예수를 대상으로 한 연구에 의해 그 근거가 제시되어야 할 것이다. 그리고 암종 환자에서 유전자 전달(gene transfer)이나 생물학적인 치료로 정상적인 막성 E-cadherin을 발현시키면, 그 종양이 침윤성과 전이율이 낮은 표현형으로 유도된다는 이론에 대해, 인체의 종양을 대상으로 한 보다 광범위한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

유식세포측정기에 의해 얻어진 DNA 배수성은 환자의 예후 추정에 많은 도움을 주며, 일반적으로는 aneuploidy인 종양이 diploidy인 종양에 비해 예후가 불량한 것으로 알려져 있으나^{13,14}, 자궁 경부암을 대상으로 한 여러 연구들에서는 DNA 배수성의 변화와 예후 간의 상관성에 대해 다양한 결과들이 보고되고 있다¹⁵⁻¹⁸. 즉, Rutgers 등¹⁵과 Davis 등¹⁶은 DNA 배수성의 변화가 예후인자로서 별 가치를 지니지 않는다고 한 반면, Jakobsen 등¹⁷ 및 Adelson 등¹⁸에 의해서는 DNA 배수성의 예후 인자로서의 이용 가능성이 제시되고 있다. 본 연구에서는 aneuploidy의 출현 빈도와 편평세포암종의 침윤성 정도 간의 관계를 비교해 본 결과, aneuploidy의 빈도가 상피내 종양보다는 침윤성 암종세포에서 더 높게 나타났으며

($p = 0.003$), DNA 배수성이 종양세포의 악성화와 연관되어 있음을 보여준다.

한편, 이러한 DNA 배수성의 변화와 E-cadherin 발현 간의 상관관계를 조사한 문헌들도 보고되고 있다. 즉, Ross 등¹⁹은 전립선암 조직을 이용한 연구에서, DNA aneuploidy가 정상적인 E-cadherin 발현이 소실된 종양에서 자주 관찰되며, 이들 인자들은 각각 전립선암의 예후인자로서의 가치를 지닌다고 보고하였다. 반면, 유방암 조직을 이용한 연구들^{6,20}에 의하면, 정상적인 E-cadherin 발현의 소실과 DNA aneuploidy 간에 의미있는 상관관계가 없는 것으로 나타났으나, 본 연구에서는 정상적인 막성 E-cadherin 발현을 보이는 경우보다 비정상적인 세포질성 발현을 보이는 경우에서 DNA aneuploidy가 자주 관찰되었다($p = 0.015$).

또한, 유식세포측정기로 측정되어진 합성기 세포분획은 하나의 세포 증식능의 지표로서, 자궁 경부암을 포함한 여러 암종세포에서 세포 증식능이 높을수록 낮은 증식능을 보이는 경우보다 예후가 불량하다고 한다^{18,37-39}. 본 연구에서는 합성기 세포분획과 E-cadherin 발현 간의 상관성에 대해 조사하여 본 결과, 세포질성 E-cadherin 발현을 보이는 경우의 합성기 세포분획은 38.6 ± 15.1 로, 막성 발현을 보이는 경우 18.6 ± 7.1 에 비해 높게 나타났으므로, 세포질성 E-cadherin 발현과 합성기 세포분획 간에 상관관계가 있음을 알 수 있었다($p = 0.02$).

이상의 성적은, 일반적으로 알려져 있는 비정상적인 E-cadherin 발현 중 세포질성 염색성이 자궁 경부의 이형성 병변과 편평세포암종에서 나타나는 세포의 분화와 극성(polarity)의 소실을 반영함을 보여준다. 결국, 정상적인 E-cadherin의 소실은 세포의 유착력의 저하로 인한 편평세포암종 세포의 침윤성 획득에 기여하므로, DNA 배수성 분석 및 합성기 세포분획의 측정과 함께, 일종의 예후 인자로서 이용될 가능성을 제시해 준다고 볼 수 있겠다. 이의 검증을 위해 환자들의 추적검사가 가능한, 보다 많은 예에 대한 검사가 실시되어야 하겠으며, 다른 임상적 및 병리학적 예후인자와의 상관성을 고려하여 분석되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

최근 1년간 부산대학교 병원 해부병리과에서 진단된, 36예의 자궁 경부 상피내 종양과 14예의 편평세포암종의 파라핀 포매 조직을 이용하여 시행한

E-cadherin 면역조직화학적 검색과, 이 중 29예를 선택하여 시행한 DNA 배수성 검색 및 합성기 세포분획의 측정에서, 이러한 인자들이 자궁 경부 종양의 상피내 종양에서 침윤성 암종으로 진행시에 어떻게 변화되며, 그 의미는 무엇인가에 대해 시행한 연구 결과를 다음과 같이 요약하였다.

1) 자궁 경부 상피내 종양에서, 세포질성 E-cadherin 발현은 CIN I의 대부분에서 기저세포층에, CIN II에서는 상피층의 하 2/3까지만 관찰되었으며, CIN III는 주로 전 층에서 세포질성 발현이 나타났다.

2) E-cadherin의 세포질성 발현은 상피내 종양보다 침윤성 편평세포암종에서 강하게 발현되었고, 침윤의 정도가 심할수록 강도도 증가되었다.

3) 편평세포암종에서 종양의 분화도와 세포질성 E-cadherin 발현 간에는 통계학적인 상관성이 없었다.

4) 총 29예를 대상으로 시행한 DNA 배수성 검사에서 DNA aneuploidy는 상피내 종양에서보다 편평세포암종에서 더 자주 관찰되었다.

5) 세포질성 E-cadherin 발현과 DNA aneuploidy 및 합성기 세포분획의 증가 간에는 각각 통계학적 유의성이 있었다.

위의 성적은, 정상적인 E-cadherin의 소실이 자궁 경부 상피내 종양과 편평세포암종의 병리 발생에 관여함과 아울러, 종양세포의 침윤성 획득에도 기여함을 의미한다고 볼 수 있다. 결국, 이러한 비정상적인 E-cadherin의 발현은 DNA 배수성 분석이나, 세포 증식속도를 반영한다고 알려져 있는 합성기 세포분획의 측정과 함께, 독자적 또는 상호보완적 예후인자로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Takeichi M. Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 1991; 251: 1451-5.
2. Pignatelli M, Vessey CJ. Adhesion molecules: Novel molecular tools in tumor pathology. *Human Pathol* 1994; 25: 849-56.
3. Ozawa M, Kemler R. Molecular organization of the uvomorulin-catenin complex. *J Cell Biol* 1992; 116: 989-96.
4. Behrens J, Mareel MM, Van Roy FM, et al. Dissection tumor cell invasion: epithelial cells acquire invasive properties after the loss of uvomorulin-mediated cell-cell adhesion. *J Cell Biol* 1989; 108: 2435-47.
5. Pignatelli M, Liu D, Nasim MM, Stamp GWH, Hirano S, Takeichi M. Morphoregulatory activities of E-cadherin and beta-1 integrins in colorectal tumor cells. *Br J Cancer* 1992; 66: 629-34.
6. Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K, et al. Expression of E-cadherin cell adhesion molecules in human breast cancer tissues and its relationship to metastasis. *Cancer Res* 1993; 53: 1696-701.
7. Nigam AK, Savage FJ, Boulos PB, Stamp GWH, Liu D, Pignatelli M. Loss of cell-cell and cell-matrix adhesion molecules in colorectal cancer. *Br J Cancer* 1993; 68: 507-14.
8. Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, et al. Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high grade prostate cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 5104-9.
9. Bringuier PP, Umbas R, Schaafsma E, Karthaus HFM, Debruyne FMJ, Schalken JA. Decreased E-cadherin immunoreactivity correlates with poor survival in patient with bladder tumors. *Cancer Res* 1993; 53: 3241-5.
10. Pignatelli M, Ansari TW, Gunter P, et al. Loss of membranous E-cadherin expression in pancreas cancer: correlation with lymph node metastasis, high grade, and advanced stage. *J Pathol* 1994; 174: 243-8.
11. Schipper JH, Frixen UH, Behrens J, Unger A, Jahnke K, Birchmeier W. E-cadherin expression in squamous cell carcinomas of the head and neck: inverse correlation with tumor dedifferentiation and lymph node metastasis. *Cancer Res* 1991; 51: 6328-37.
12. Vessey CJ, Wilding J, Folarin N, et al. Altered expression and function of E-cadherin in cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma. *J Pathol* 1995; 176: 151-9.
13. Friedlander ML, Hedley DW, Taylor IA. Clinical and biological significance of aneuploidy in human tumors. *J Clin Pathol* 1984; 37: 961-74.
14. Frankfurt OS, Chin JL, Englander LS, Greco WR, Pontes JE, Rustum Y. Relationship between DNA ploidy, glandular differentiation and tumor spread in human prostate cancer. *Cancer Res* 1985; 45: 1418-23.
15. Rutgers DH, van Der Lindon PM, van Peperzeel HA. DNA-flow cytometry of squamous cell carcinoma from the human uterine cervix: The identification of prognostically different subgroups. *Radiother Oncol* 1986; 7: 475-80.
16. Davis JR, Aristizabal S, Way DL, Weiner SA, Hicks MJ, Hagaman RM. DNA ploidy, grade, and stage in prognosis of uterine cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1989; 32: 4-7.
17. Jakobsen A. Prognostic impact of ploidy level in

- carcinoma of the cervix. *Amer J Clin Oncol* 1984; 7: 475-80.
18. Adelson MD, Johnson TS, Sneige N, et al. Cervical carcinoma DNA content, S-fraction, and malignancy grading: II. comparison with clinical staging. *Gynecol Oncol* 1987; 26: 57-70.
 19. Ross JS, Figge HL, Bui HX, et al. E-cadherin expression in prostatic carcinoma biopsies: correlation with tumor grade, DNA content, pathologic state, and clinical outcome. *Mod Pathol* 1994; 7: 835-41.
 20. Lipponen P, Saarelainen E, Ji H, Aaltomaa S, Syrjänen K. Expression of E-cadherin(E-CD) as related to other prognostic factors and survival in breast cancer. *J Pathol* 1994; 174: 101-9.
 21. Richart RM. Cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol Annu* 1973; 8: 301-28.
 22. FIGO Cancer Committee Staging Announcement. *Gynecol Oncol* 1986; 25: 383-5.
 23. Burghardt E. Diagnostic and prognostic criteria in cervical microcarcinoma. *Clin Oncol* 1982; 1: 323-33.
 24. Leman MH, Benson WL, Kurman RJ, Park RC. Microinvasive carcinoma of the cervix. *Obstet Gynecol* 1976; 48: 571-8.
 25. Hsu SM. The use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 553-60.
 26. Hedley DW, Frieland ML, Taylor IW, et al. Method for analysis of cellular DNA content of paraffin embedded pathological material using flow cytometry. *J Histochem Cytochem* 1983; 31: 1333-6.
 27. Jacobson AB, Thorud E, Fossa SD, et al. DNA flow cytometry in metastases and a recurrency of malignant melanomas. A comparison of results from fresh and paraffin embedded material. *Virch Arch B Cell Pathol* 1988; 54: 273-8.
 28. Coman DR. Decreased mutual adhesiveness, a property of cells from squamous cell carcinomas. *Cancer Res* 1944; 4: 625-9.
 29. Coman DR. Mechanism of the invasiveness of cancer. *Science* 1947; 105: 347-8.
 30. Yoshida-Noro C, Suzuki N, Takeichi M. Molecular nature of the calcium-dependent cell-cell adhesion system in mouse teratocarcinoma and embryonic cells studied with a monoclonal antibody. *Dev Biol* 1984; 101: 19-27.
 31. Pignatelli M. E-cadherin: a biological marker of tumor differentiation. *J Pathol* 1993; 171: 81-2.
 32. Wheelock MJ, Jensen PJ. Regulation of keratinocyte intercellular junction organization and epidermal morphogenesis by E-cadherin. *J Cell Biol* 1992; 117: 415-25.
 33. Miyaki M, Tanaka K, Kikuchi YR, Muraoka M, Konishi M, Takeichi M. Increased cell-substratum adhesion, and decreased gelatinase secretion and cell growth, induced by E-cadherin transfection of human colon carcinoma cells. *Oncogene* 1995; 11: 2547-52.
 34. Eidelman S, Damsky CH, Wheelock MJ, et al. Expression of the cell-cell adhesion glycoprotein cell-CAM 120/80 in normal human tissues and tumors. *Am J Pathol* 1989; 135: 101-10.
 35. Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, et al. Exon skipping in the E-cadherin gene transcript in metastatic human gastric carcinomas. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 803-4.
 36. Vermeulen SJ, Bruyneel EA, Bracke ME, et al. Transition from the noninvasive to the invasive phenotype and loss of α -Catenin in human colon cancer cells. *Cancer Res* 1995; 55: 4722-8.
 37. Barlogie B, Johnston DA, Smallwood L, et al. Prognostic implications of ploidy and proliferative activity in human solid tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 1982; 6: 17-28.
 38. Yonemura Y, Sugiyama K, Fujimura T, Aretxabala XD, Kamata T, Kosaka T. Correlation of DNA ploidy and proliferative activity in human gastric cancer. *Cancer* 1988; 62: 1497-502.
 39. Braly PS. The current status of flow cytometry in gynecologic oncology. *Oncology* 1992; 6: 23-8.
-