

## 대장의 샘종 및 샘암종에서 Osteopontin, ZO-1 및 E-cadherin의 발현

정유경 · 이미자 · 임성철 · 기근홍  
전호종 · 서재홍

조선대학교 의과대학 병리학교실

접 수 : 2005년 2월 14일  
게재승인 : 2005년 6월 24일

책임저자 : 이 미 자  
우 501-759 광주광역시 동구 서석동 375  
조선대학교 의과대학 병리학교실  
전화: 062-230-6345  
Fax: 062-234-4584  
E-mail: mjblee@chosun.ac.kr

\*본 논문은 2003년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

### Expression of Osteopontin, ZO-1 and E-cadherin in Adenoma and Adenocarcinoma of the Colon

Yu Kyung Jeong, Mi Ja Lee, Sung Chul Lim, Keun Hong Kee, Ho Jong Jeon and Chae Hong Suh

Department of Pathology, College of Medicine, Chosun University, Gwangju, Korea

**Background :** The expressions of osteopontin (OPN), zonula occludens-1 (ZO-1) and E-cadherin, known as cell adhesion-associated substances, were examined in adenoma and adenocarcinoma of the colon. The relationship of their expressions with clinicopathologic factors was examined to investigate the roles of these proteins in the development, invasion or metastasis of colon adenocarcinoma. **Methods :** The expressions of OPN, ZO-1, and E-cadherin were examined in 54 cases of adenoma and 67 cases of adenocarcinoma of the colon by immunohistochemical staining. **Results :** The expression of OPN in colon adenocarcinoma correlated with staging ( $p=0.012$ ) and distant metastasis ( $p=0.021$ ). The expression of ZO-1 was closely related with tumor cell differentiation ( $p<0.001$ ), and the reduced expression of E-cadherin was associated with tumor cell differentiation ( $p=0.05$ ) and lymph node metastasis ( $p<0.001$ ). Co-expression of ZO-1 and E-cadherin was significantly associated with tumor cell differentiation, and the expressions of ZO-1 and E-cadherin were reduced or lost in all cases (5 cases) of poorly differentiated adenocarcinoma. **Conclusions :** Our data suggest that OPN is involved in the process of invasion and metastasis of colon adenocarcinoma, and ZO-1- and E-cadherin-mediated cell adhesion may play an important role in the differentiation of colon adenocarcinoma.

**Key Words :** Colon; Adenocarcinoma; Osteopontin; Zonula occludens-1 protein; E-cadherin

대장암은 서양에서 흔하게 발생하는 종양이지만 우리나라에서도 최근 식생활이 서구화되면서 대장암의 발생률 및 이에 따른 사망률이 급격히 증가하고 있다. 우리나라 통계청 발표에 따르면, 2003년 암으로 인한 사망률에서 대장암이 폐암, 위암, 간암에 이어 4위를 차지하고 있으며, 해마다 그 비율이 높아지고 있다.<sup>1</sup> 대장암을 비롯한 여러 악성 종양의 발생원인, 진행 및 악화 인자, 형태학적 특징 등에 대해 분자생물학적, 유전학적 변화 및 이들의 상호 관련성에 관한 다양한 연구가 진행되고 있다. 근래에는 간질조직으로 침윤성 성장 및 원격 전이 등 암종이 진행되는 과정에 세포 부착과 관련된 물질들이 중요한 역할을 하는 것으로 알려지면서, 이들 물질들의 역할에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.<sup>2</sup>

Osteopontin (OPN)은 CD44 및 그 변이체에도 부착할 수 있는 인테그린 부착 단백질이다. 또한 vitronectin, 섬유소원, fibronectin 등의 다른 부착성 배위자(adhesive ligands)에 대한 수용체도 있어 세포 부착과 화학주성에 중요한 역할을 한다.<sup>3,4</sup> OPN은

다양한 생리학적 세포기능을 수행하고 있는 것으로 알려져 있다. 특히 골 조직에서 파골세포의 분화, 골 형성 및 골 흡수 과정에 작용하며,<sup>5</sup> 그 밖에 면역기능과 혈관 재형성에도 관여한다고 알려져 있다.<sup>6</sup> 이러한 생리학적 기능 외에도 OPN은 다양한 병리학 과정에도 관여하는 것으로 알려져 있는데 유도물질에 의해 악성이 초래된 세포주에서 OPN의 발현이 현저하게 증가되었으며 전이능력을 보여주었다.<sup>7,8</sup> 또한 여러 장기에서 종양세포와 기질 사이에 인테그린 매개 신호전달을 통한 부착성 상호작용을 매개함으로써 암종의 발생, 침습 및 전이에 중요한 역할을 한다고 보고되었다.<sup>9-11</sup> OPN은 혈액, 소변, 모유 등의 다양한 체액에서 분비되는데,<sup>12</sup> 정상상태에서는 낮은 수준을 유지하지만 전이 암종을 지닌 환자의 혈액에서는 의미 있게 상승했으며, 혈액에서의 OPN 상승이 불량한 예후와 관련 있다는 보고도 있다.<sup>13,14</sup>

Zonula occludens-1 (ZO-1)은 치밀이음부(tight junction) 관련 단백질로, 상피세포의 극성을 유지하는 데 중요할 뿐만 아니라 세포 외 환경을 세포 내 신호경로로 연결하고 세포 골격을

유지하는 데도 중요한 단백질이다.<sup>15,16</sup> ZO-1은 cingulin, 7H6 등과 같은 몇몇 치밀이음부 관련 단백질보다 치밀이음부 막에 좀 더 가까이 위치하며, 치밀이음부의 중요한 조절인자로 여겨진다.<sup>15,16</sup> 또한 세포-세포 부착, 세포 극성 그리고 투과성에서 ZO-1의 중요성을 비추어볼 때 ZO-1의 발현에 관한 연구는 매우 의미 있으리라 생각된다.

다양한 세포 부착 물질들에 의한 세포와 세포의 상호작용은 세포의 기능 및 분화에 아주 중요한 역할을 한다.<sup>2</sup> 현재 세포 부착 물질은 100가지 이상이 밝혀져 있다. 이들 세포 부착 물질 중 cadherin은 가장 중요한 물질 가운데 하나로서 면역학적 성질과 분포하고 있는 조직에 따라 현재 11종류가 알려져 있다.<sup>14,17</sup> 그 중 E-cadherin은 갈습 의존성 세포막 단백질로서, 점막 상피 세포막의 접착대(zonula adherens)에 집중되어 있어 세포 경계연에 발현한다. E-cadherin은 같은 종류의 세포를 부착시켜 상피의 구조를 유지하는 데 중요한 성분으로, 세포와 세포 사이에서 접촉제 구실만 하는 것이 아니라, 세포 간의 상호작용을 매개하여 조직의 구조형성과 유지에 중요한 역할을 한다.<sup>17</sup> E-cadherin은 종양세포에서도 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있는데, 하향조절에 의해 활성도가 저하되거나 발현에 이상이 생기면 종양 세포 간의 결합력이 떨어지고 종양세포가 서로 분리되어 침윤과 전이를 할 가능성이 높아진다.<sup>18</sup>

이에 본 연구에서는 대장의 샘종 및 샘암종을 대상으로 세포 부착 관련 물질인 OPN, ZO-1과 E-cadherin에 대한 면역조직화학 염색을 시행하여 이들의 발현 양상을 관찰하고, 대장암의 임상병리학적 소견과의 상관관계를 분석함으로써, 이들 물질이 대장암종의 진행과정에 어떠한 역할을 하는지 알아보고자 하였다.

## 재료와 방법

### 연구재료

1995년 1월부터 2004년 4월까지 조선대학교 병원에서 병리학적으로 대장의 샘종 및 샘암종으로 진단된 파라핀 포매 조직 중 보존 상태가 양호하고 임상 기록을 검토할 수 있는 예들을 대상으로 하여 샘종 54예, 샘암종 67예를 선별하였다. 수술 전에 화학 요법이나 방사선 요법을 받은 예는 연구대상에서 제외하였다. 샘종은 크기에 따라 장경 1 cm 이상과 미만으로 구분하였고, 조직학적으로는 관상, 관-용모상, 용모상 유형으로 분류하였다. 샘암종은 조직학적 분화도에 따라 고, 중, 저분화로 구분하였고, 병기는 Astler-Coller 분류를 사용하였으며, 침윤 깊이, 림프관 전이 및 원격 전이 여부 등을 검토하였다.

### 면역조직화학 염색

모든 예의 헤마톡실린 에오신 염색표본을 재검색하고, 병변을

대변할 수 있는 가장 대표적인 파라핀 블록을 선택하였으며 암종에서는 대조군이 될 수 있도록 정상 점막이 같이 포함된 조직을 선택하였다. 선택한 파라핀 포매 조직을 4-5  $\mu\text{m}$  두께의 절편으로 박절하여 X-tra 슬라이드(Surgipath, Richmond, USA)에 부착하고 크실렌에 5분간 3회 탈파라핀시킨 후 함유과정을 거친 다음 증류수로 세척하였다. 그런 다음 항원성 회복을 위해 citrate 완충용액(10 mM, pH 6.0)에 슬라이드를 담근 후 전자 레인지를 이용하여 98°C에서 10분간 끓였다. 실온에서 20분간 식힌 후 Tris 완충 용액에 세척하고 조직 절편에 있는 내인성 과산화효소의 활성을 억제시키기 위해 3% 과산화수소를 사용하여 10분간 처리하였다. Tris 완충용액에 세척하고 비특이 항원을 제거하기 위해 차단 항체를 실온에서 10분간 반응시킨 후 여분의 용액을 제거하였다.

일차 항체로 OPN (AKm2A1, Santa Cruz, CA, USA)은 1:30으로, E-cadherin (4A2C7, Zymed, San Francisco, CA, USA)은 1:50으로 희석하여 4°C에서 하룻밤 반응시키고, ZO-1 (Z-R1, Zymed)은 1:50으로 희석하여 상온에서 1시간 반응시켰다. 일차 항체 반응 후 Tris 완충용액에 5분간 3회 세척한 다음 비오틴이 결합된 이차 항체를 실온에서 15분간 반응시켰다. 그런 다음 Tris 완충용액으로 씻어내고 streptavidin-biotin conjugate 용액에 10분간 반응시켰다. Tris 완충용액으로 씻어내고 발색제는 AEC (3-amino-9-ethyl carbazole)를 이용하였으며 헤마톡실린으로 대조염색하고 Crystal Mount로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

면역조직화학 염색 결과는 다음 기준에 의거하여 판정하였다. OPN은 종양세포의 10% 이상에서 분명하게 염색되었을 경우 +, 10% 미만으로 염색되었거나 염색되지 않았을 경우는 -로 판정하였다. ZO-1은 정상 점막의 염색도와 비교하여 종양세포의 70% 이상에서 염색되었을 경우 발현 보존, 70%에서 10% 염색 시에는 발현 감소, 10% 미만일 경우 발현 소실로 판정하였다. E-cadherin은 종양세포의 70% 이상에서 세포막에 염색되었을 경우 발현 보존, 막성 염색이 70%에서 10% 사이이거나 세포질에 주로 염색되었을 경우는 발현 감소, 막성 염색이 10% 미만일 경우 발현 소실로 판정하였다. ZO-1과 E-cadherin의 발현 결과에 대한 통계 분석에는 발현 보존된 예를 발현 보존형, 발현 감소와 발현 소실을 합하여 발현 감소형으로 처리하였다. 관독의 정확도를 기하기 위해 이미 관독한 슬라이드를 무작위 추출하여 반복 관찰하였다.

### 통계학적 분석

OPN, ZO-1, E-cadherin의 발현 정도와 샘종 및 샘암종의 임상병리학적 인자 사이의 관계, 그리고 이들 세 가지 단백질 발현의 상관관계를  $\chi^2$  test와 Fisher's exact test를 통해 분석하였다. p 값이 0.05 미만일 때 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 인정하였다.

**결 과**

**임상병리학적 소견**

샘종 54예의 연령 분포는 33세부터 77세로 평균 연령은 59세였고, 남자가 39예(72.2%), 여자가 15예(27.8%)였다. 샘종의

크기는 장경 1 cm 미만인 46예(85.2%), 1 cm 이상 2 cm 미만이 4예(7.4%), 2 cm 이상이 4예(7.4%)였다. 조직학적으로는 관상이 32예(59.2%), 관-융모상이 11예(20.4%), 융모상이 11예(20.4%)였다. 샘암종 67예의 연령 분포는 25세부터 81세로 평균 연령은 59.9세였고, 남자가 40예(59.7%), 여자가 27예(40.3%)였다. 샘암종의 조직학적 분화도는 고분화 20예(29.9%), 중

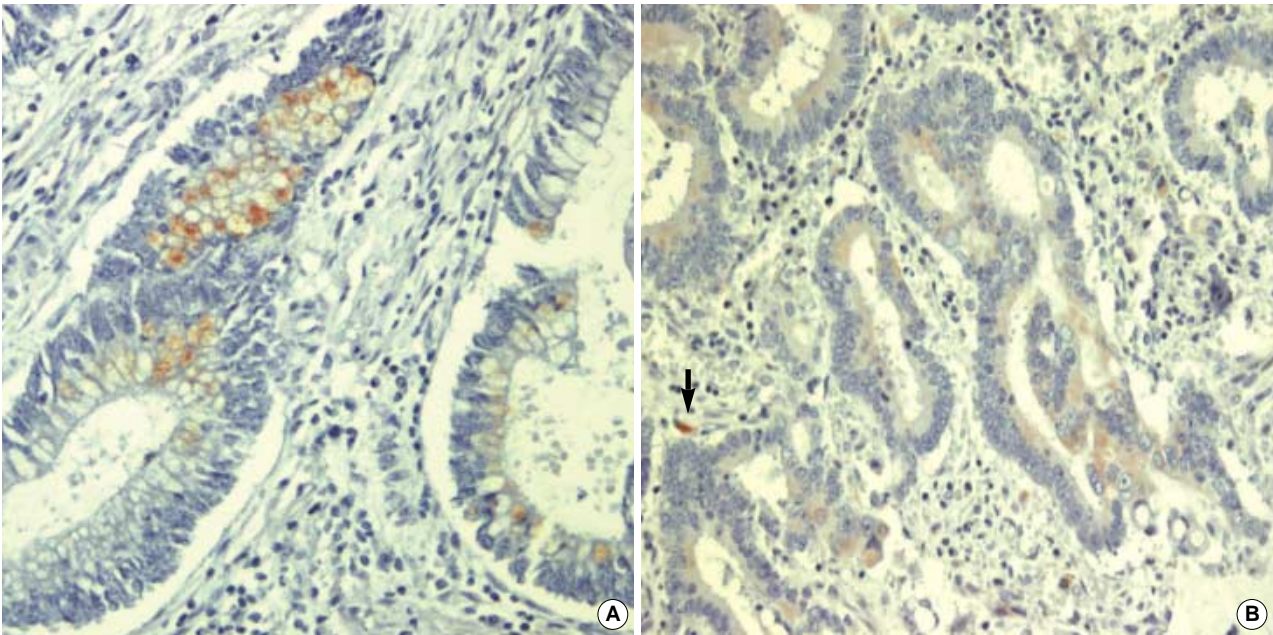


Fig. 1. Immunohistochemical stain for osteopontin shows cytoplasmic staining of tumor cells and peritumoral macrophages (arrow) in adenoma (A) and adenocarcinoma (B) of the colon.

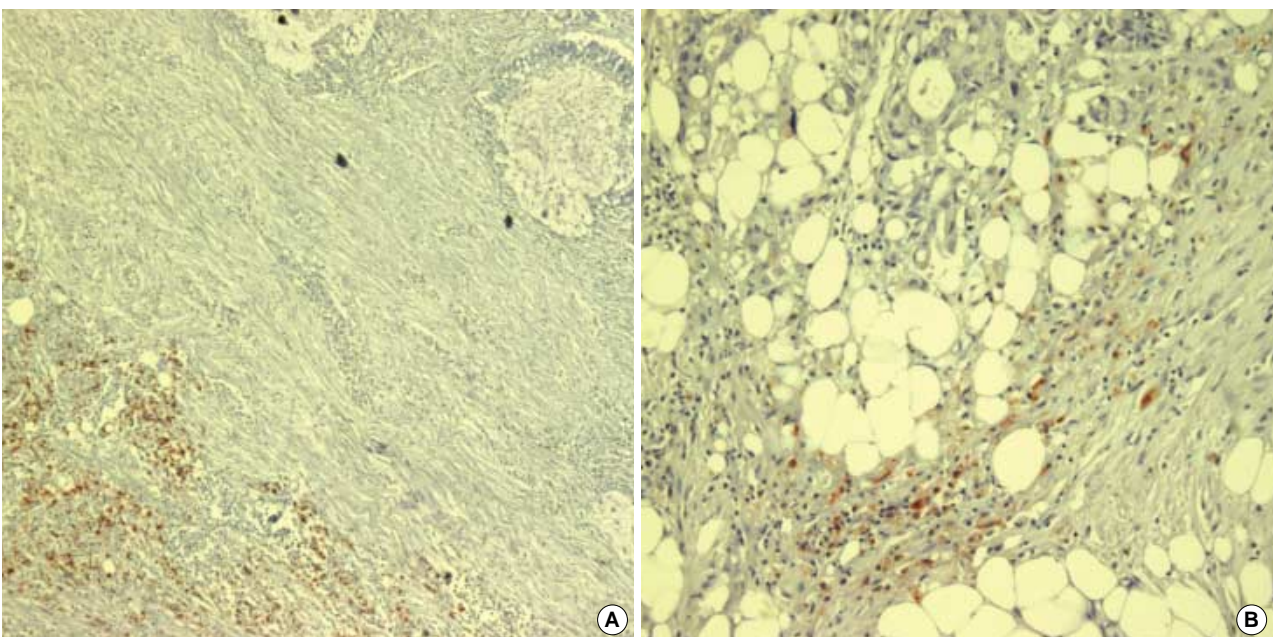


Fig. 2. Immunohistochemical stain for osteopontin shows positivity in peritumoral macrophages of the tumor in muscle layer (A) and peritumoral adipose tissue (B) of colon adenocarcinoma.



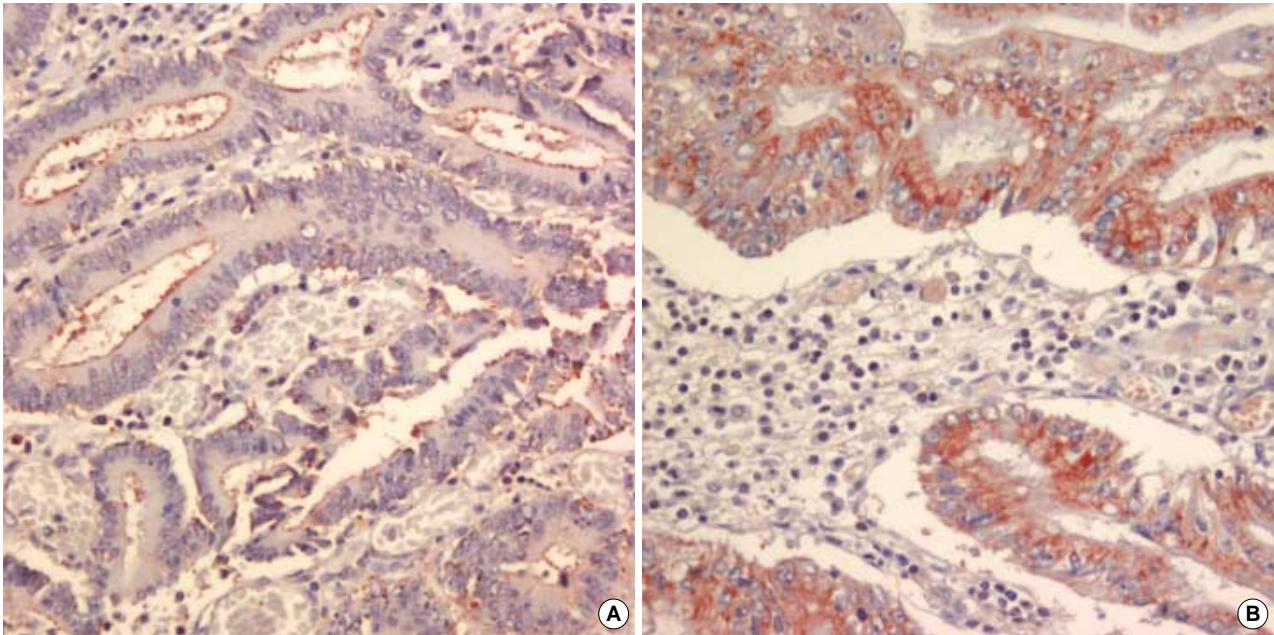


Fig. 3. Immunohistochemical stain for ZO-1 shows reactivity at apical cell border of tumor glands (A) and cytoplasm of tumor cells (B) in colon adenocarcinoma.

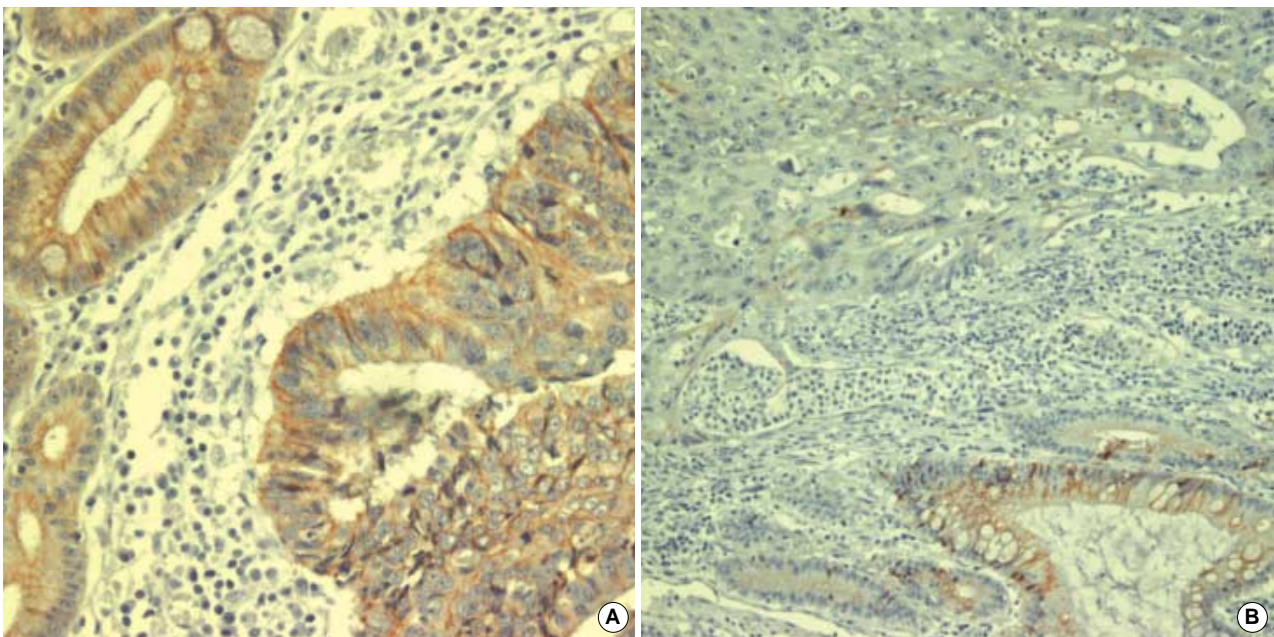


Fig. 4. Immunohistochemical stain for E-cadherin shows membranous staining of cancer cells (right) as well as adjacent normal epithelial cells (left) (A), and marked reduced staining of cancer cells (upper) compared with normal epithelial cells (lower) (B).

분화 42예(62.7%), 저분화 5예(7.5%)였고, 침윤 깊이는 점막 또는 점막하층까지가 2예(3.0%), 근교유층까지가 13예(19.4%), 장막하층 또는 대장주위 지방층까지가 52예(77.6%)였다. 림프절 전이가 없는 군은 36예(53.7%), 림프절로 전이된 군은 31예(46.3%)였고, 원격 전이가 없는 군은 55예(82.1%), 원격 전이가 있는 군은 12예(19.9%)였으며, 원격 전이는 간, 신장, 방광,

뇌 등으로 일어났고, 간으로의 전이가 9예로 가장 많았다. 병기는 Astler-Coller 분류에 따라 A가 1예(1.5%), B1이 9예(13.4%), B2가 20예(27.9%), C1이 2예(3.0%), C2가 23예(34.3%), D가 12예(17.9%)였다.

**OPN, ZO-1 및 E-cadherin의 면역조직화학적 발현 양상**

OPN은 정상 상피에서 아주 국소적으로 적은 예에서 염색되었을 뿐 거의 발현되지 않았다. 샘종(Fig. 1A) 및 샘암종(Fig. 1B)에서는 종양세포의 세포질에 염색되었고, 전반적으로 다소 약하고 국소적인 발현을 보였다. 일부 분화가 좋은 곳에서는 샘 구조의 꼭대기 쪽 표면 근처에서 발현되었으며, 종양의 구성 세포 중 다형성 세포의 세포질에서 더 잘 발현되는 경향을 보였다. 또한 많은 예에서 점막 표면에 가까운 간질과 종양조직 내 간질에 있는 만성 염증세포 특히 대식세포에 강하게 염색되었으며 상당수 예에서 종양세포가 대장의 근육층을 뚫고 대장 주위의 지방층으로 침윤하는 가장자리를 따라서 대식세포가 염색되는 경향을 보였다(Fig. 2).

ZO-1은 대장의 정상 점막 상피의 꼭대기 쪽 세포 가장자리를 따라 발현되었고, 세포질에 같이 염색되기도 하였다. 종양세포에서는 정상 점막 상피에서보다 좀더 다양한 양상으로 발현되었는데, 샘 구조를 잘 유지하고 있는 종양세포에서는 꼭대기 쪽 세포 가장자리를 따라 발현되거나(Fig. 3A) 세포질에 같이 발현되었다(Fig. 3B). 그러나 샘 구조가 없이 덩어리 혹은 흩어져 날개로 성장하거나 미만성으로 침윤하는 종양에서는 세포질에 발현은 되나 강도가 훨씬 약해지거나 불규칙한 양상으로 염색되었으며 전혀 발현이 안 되는 곳도 많았다. 저분화 샘암종에서는 세포질에 불규칙하게 분포하며 점상으로 발현되기도 하였다. 그러나 전체적인 종양의 분화도와는 상관없이 종양 내 샘 구조를 가진 부분에서는 세포 가장자리를 따라 발현되는 양상을 보였다.

E-cadherin은 정상 점막 표면 상피 세포의 세포막에 대부분 균일하게 염색되었으며, 이것을 정상발현의 대조군으로 삼았다. 종양에서도 세포의 세포막 혹은 세포막과 세포질에 염색되었으며 샘 구조가 유지되는 종양세포에서는 잘 발현되나(Fig. 4A) 고형성 혹은 미만성으로 침윤하는 종양세포에서는 현저하게 감소하거나 소실되었다(Fig. 4B).

샘종 54예 중 OPN 양성인 12예(22.2%), 음성인 42예(77.8%)였고, ZO-1은 발현 보존형이 45예(83.3%), 발현 감소형이 9예(16.7%: 발현 감소 8예, 발현 소실 1예)였으며, E-cadherin은 발현 보존형이 38예(70.4%), 발현 감소형이 16예(29.6%: 발현

감소 13예, 발현 소실 3예)였다. 샘암종 67예 중 OPN 양성인 24예(35.8%), 음성이 43예(64.2%)였고, ZO-1은 발현 보존형이 43예(64.2%), 발현 감소형이 24예(35.8%: 발현 감소 21예, 발현 소실 3예)였으며, E-cadherin은 발현 보존형이 35예(52.2%), 발현 감소형이 32예(47.8%: 발현 감소 24예, 발현 소실 8예)였다. 샘종에 비해 샘암종에서 OPN의 양성률이 높았으며, ZO-1과 E-cadherin의 발현 보존율은 감소하였다(Table 1).

**면역조직화학 발현과 임상병리학적 인자의 상관관계**

샘종에서 임상병리학적 인자와 OPN, ZO-1, E-cadherin 발현의 관계

샘종의 크기에 따른 발현을 보면 OPN 양성인 1 cm 이하군(46예)에서 9예(19.6%), 1 cm 이상 2 cm 미만군(4예)에서 1예(25.0%), 2 cm 이상군(4예)에서 2예(50.0%)였고, ZO-1의 발현 보존형은 1 cm 이하군(46예)에서 38예(82.6%), 1 cm 이상 2 cm 미만군(4예)에서 4예(100%), 2 cm 이상군(4예)에서 4예(100%)였으며, E-cadherin의 발현 보존형은 1 cm 이하군(46예)에서 30예(65.2%), 1 cm 이상 2 cm 미만군(4예)에서 4예(100%), 2 cm 이상군(4예)에서 4예(100%)였다.

조직학적 유형에 따른 발현을 살펴보면 OPN 양성인 관상(32예)에서 4예(12.5%), 관-용모상(11예)에서 6예(54.6%), 용모상(11예)에서 2예(18.2%)였고, ZO-1의 발현 보존형은 관상(32예)에서 25예(78.1%), 관-용모상(11예)에서 11예(100%), 용모상(11예)에서 9예(81.8%)였으며, E-cadherin의 발현 보존형은 관상(32예)에서 26예(81.3%), 관-용모상(11예)에서 6예(54.6%), 용모상(11예)에서 6예(54.6%)였다. 샘종에서 크기, 조직학적 유형 및 연령과 OPN, ZO-1, E-cadherin 발현의 통계학적 유의성은 없었다.

샘암종의 조직학적 분화도와 OPN, ZO-1, E-cadherin 발현의 관계

분화도와 OPN 양성 발현 사이에는 유의한 관련성이 없었다. 그러나 ZO-1은 고분화 20예 중 발현 보존형 18예(90.0%), 발현

**Table 1.** Immunoreactivities of osteopontin, ZO-1 and E-cadherin in adenoma and adenocarcinoma of the colon

	Osteopontin (%)		ZO-1 (%)		E-cadherin (%)	
	(+)	(-)	preserv-ed	reduc-ed	preserv-ed	reduc-ed
Adenoma (n=54)	12 (22.2)	42 (77.8)	45 (83.3)	9 (16.7)	38 (70.4)	16 (29.6)
Adenocarcinoma (n=67)	24 (35.8)	43 (64.2)	43 (64.2)	24 (35.8)	35 (52.2)	32 (47.8)
p value	NS		NS		NS	

NS, not significant.

**Table 2.** Expressions of osteopontin, ZO-1 and E-cadherin according to histologic differentiation in colon adenocarcinoma

Differentiation	Osteopontin (%)		ZO-1 (%)		E-cadherin (%)	
	(+)	(-)	preserv-ed	reduc-ed	preserv-ed	reduc-ed
Well (n=20)	6 (30.0)	14 (70.0)	18 (90.0)	2 (10.0)	12 (60.0)	8 (40.0)
Moderate (n=42)	17 (40.5)	25 (59.5)	25 (59.5)	17 (40.5)	23 (54.8)	19 (45.2)
Poor (n=5)	1 (20.0)	4 (80.0)	0 (0)	5 (100)	0 (0)	5 (100)
p value	NS		<0.001		0.05	

NS, not significant.



**Table 3.** Expressions of osteopontin, ZO-1 and E-cadherin according to Astler-Coller stage in colon adenocarcinoma

Stage	Osteopontin (%)		ZO-1 (%)		E-cadherin (%)	
	(+)	(-)	preserved	reduced	preserved	reduced
A (n=1)	0 (0)	1 (100)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)
B1 (n=9)	0 (0)	9 (100)	3 (33.3)	6 (66.7)	5 (55.6)	4 (44.4)
B2 (n=20)	5 (25.0)	15 (75.0)	15 (75.0)	5 (25.0)	13 (65.0)	7 (35.0)
C1 (n=2)	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0)	2 (100)	1 (50.0)	1 (50.0)
C2 (n=23)	10 (43.5)	13 (56.5)	14 (60.9)	9 (39.1)	10 (43.5)	13 (56.5)
D (n=12)	8 (66.7)	4 (33.3)	10 (83.3)	2 (16.7)	6 (50.0)	6 (50.0)
p value	0.012		NS		NS	

NS, not significant

**Table 5.** Relationship between expressions of ZO-1 and E-cadherin, and clinicopathologic parameters in colon adenocarcinoma

	ZO-1 (+) & E-cadherin (+)	ZO-1 (+) or E-cadherin (+)	ZO-1 (-) & E-cadherin (-)	p value
Differentiation				<0.001
WD (n=20)	10 (50.0%)	10 (50.0%)	0 (0%)	
MD (n=42)	16 (38.1%)	16 (38.1%)	10 (23.8%)	
PD (n=5)	0 (0%)	0 (0%)	5 (100%)	
Stage				NS
A (n=1)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	
B1 (n=9)	2 (22.2%)	4 (44.4%)	3 (33.3%)	
B2 (n=20)	10 (50.0%)	8 (40.0%)	2 (10.0%)	
C1 (n=2)	0 (0%)	1 (50.0%)	1 (50.0%)	
C2 (n=23)	9 (39.1%)	6 (26.1%)	8 (34.8%)	
D (n=12)	5 (41.7%)	6 (50.0%)	1 (8.3%)	
Lymph node metastasis				NS
negative (n=36)	16 (44.4%)	15 (41.7%)	5 (13.9%)	
positive (n=31)	10 (32.3%)	11 (35.5%)	10 (32.3%)	
Distant metastasis				NS
negative (n=55)	21 (38.2%)	20 (36.4%)	14 (25.5%)	
positive (n=12)	5 (41.7%)	6 (50.0%)	1 (8.3%)	

(+), preserved type; (-), reduced type; WD, well differentiated; MD, moderately differentiated; PD, poorly differentiated; NS, not significant.

감소형 2예(10.0%), 중분화 42예 중 발현 보존형 25예(59.5%), 발현 감소형 17예(40.5%), 저분화 5예 중 발현 감소형 5예(100%)로, 분화가 나빠질수록 발현보존형의 비율은 감소하고 발현 감소형의 비율이 증가하였으며, 이는 통계학적으로 유의한 상관성을 보였다(p<0.001). E-cadherin은 고분화 20예 중 발현 보존형 12예(60.0%), 발현 감소형 8예(40.0%), 중분화 42예 중 발현 보존형 23예(54.8%), 발현 감소형 19예(45.2%), 저분화 5예 중 발현 감소형 5예(100%)로, 분화가 나빠질수록 발현 보존형의 비율은 감소하고 발현 감소형의 비율이 증가하였다(p=0.05) (Table 2).

**병기와 OPN, ZO-1, E-cadherin 발현의 관계**

OPN은 병기A 1예와 병기B1 9예 모두에서 음성이었으며 0예, 병기B2 20예 중 5예(25.0%), 병기C1 2예 중 1예(50.0%), 병

**Table 4.** Expressions of osteopontin, ZO-1 and E-cadherin according to depth of invasion, lymph node metastasis and distant metastasis in colon adenocarcinoma

	Osteopontin (%)		ZO-1 (%)		E-cadherin (%)	
	(+)	(-)	preserved	reduced	preserved	reduced
Depth of invasion						
submucosa (n=2)	0 (0)	2 (100)	2 (100)	0 (0)	1 (50.0)	1 (50.0)
muscle (n=13)	2 (15.4)	11 (84.6)	4 (30.8)	9 (69.2)	9 (69.2)	4 (30.8)
subserosa or pericolic adipose tissue (n=52)	22 (42.3)	30 (57.7)	37 (71.2)	15 (28.8)	25 (48.1)	27 (51.9)
p value	NS		NS		NS	
Lymph node metastasis						
negative (n=36)	16 (44.4)	20 (55.6)	24 (66.7)	12 (33.3)	22 (61.1)	14 (38.9)
positive (n=31)	8 (25.8)	23 (74.2)	19 (61.3)	12 (38.7)	5 (16.1)	26 (83.9)
p value	NS		NS		<0.001	
Distant metastasis						
negative (n=55)	16 (29.1)	39 (70.9)	33 (60.0)	22 (40.0)	30 (54.5)	25 (45.5)
positive (n=12)	8 (66.7)	4 (33.3)	10 (83.3)	2 (16.7)	6 (50.0)	6 (50.0)
p value	0.021		NS		NS	

NS, not significant.

기C2 23예 중 10예(43.5%), 병기D 12예 중 8예(66.7%)에서 양성이어서, 병기가 진행된 상태일수록 OPN의 양성 발현율이 높았으며, 통계학적으로 의의가 있었다(p=0.012). 그러나 ZO-1과 E-cadherin의 발현은 병기와 유의한 관련성이 없었다(Table 3).

**침윤 깊이, 림프절 전이 및 원격 전이와 OPN, ZO-1, E-cadherin 발현의 관계**

침윤 깊이와 OPN, ZO-1, E-cadherin 발현 사이에는 서로 유의한 관련이 없었다. 림프절 전이 유무와 OPN, ZO-1 발현과는 관련성이 없었다. 그러나 E-cadherin 발현은 림프절 전이가 없는 36예 중 발현 보존형이 22예(61.1%), 발현 감소형이 14예(38.9%), 림프절로 전이된 31예 중 발현 보존형이 5예(16.1%), 발현 감소형이 26예(83.9%)였으며, 림프절로 전이된 예에서 E-cadherin의 발현 감소형의 비율이 높아졌으며, 통계학적으로 유의하였다(p<0.001).

OPN의 발현은 원격 전이가 없는 55예 중 16예(29.1%)에서 양성, 원격 전이된 12예 중 8예(66.7%)에서 양성으로 원격 전이된 군에서 OPN 양성률이 유의하게 높았다(p=0.021). ZO-1 및 E-cadherin 발현과 원격 전이 유무와는 관련성이 없었다(Table 4).

**샘암종의 OPN, ZO-1, E-cadherin의 동시 발현과 임상병리학적 인자의 관계**

OPN과 ZO-1 또는 E-cadherin의 동시 발현은 샘암종의 여러 임상병리학적 인자와 관련이 없었다. ZO-1과 E-cadherin이 모

두 발현 보존된 군과 둘 중 하나만 발현 보존된 군, 둘 다 발현 감소된 군으로 나누어 분석했을 때, 고분화 20예 중 둘 다 발현 보존된 군이 10예(50.0%), 하나만 발현 보존된 군이 10예(50.0%), 둘 다 발현 감소된 군이 0예(0%)였다. 그리고 중분화 42예 중에는 둘 다 발현 보존된 군이 16예(38.1%), 하나만 발현 보존된 군이 16예(38.1%), 둘 다 발현 감소된 군이 10예(23.8%)였으며, 저분화 5예는 모두(100%) 둘 다 발현 감소된 군이었다. 이렇듯 분화가 나뉠수록 ZO-1과 E-cadherin 모두 발현이 감소되는 비율이 높았으며 통계적으로 의의가 있었다( $p < 0.001$ ). 그러나 병기와 침윤 깊이, 림프절 전이 및 원격 전이와는 상관관계가 없었다(Table 5).

## 고 찰

종양세포의 침윤과 전이는 종양세포가 능동적으로, 혹은 주위 조직의 구조 변화를 매개하는 단백질에 의해 세포와 세포 사이, 세포와 기질 혹은 내피세포와의 부착에 의해 세포가 탈락 부착하는 복잡한 단계를 거쳐 일어난다.<sup>18</sup> 이러한 과정에 관련된 분자생물학적·유전학적 연구와 더불어 세포 부착 관련 물질에 대한 중요성이 대두되고 있다. 그리하여 본 연구에서는 대장의 샘종 및 샘암종을 대상으로, 부착 단백질 중 하나인 OPN과 치밀이음부-관련 세포질 단백질인 ZO-1, 그리고 세포 부착 물질인 E-cadherin의 발현에 관하여 연구하였다.

샘종의 OPN 발현율은 22.2%였고, 조직학적 유형이나 크기와는 관련성이 없었으며, 샘암종에서 발현율은 35.8%로 병기가 진행할수록, 또 원격 전이가 있을수록 발현율이 증가하여 통계학적으로 유의한 관련성을 보였다(각각  $p = 0.012$ ,  $p = 0.021$ ). Coppola 등<sup>9</sup>은 여러 장기의 암종을 대상으로 면역조직화학 염색을 통한 OPN 발현에 대한 연구에서 대장 암종의 85%에서 OPN이 발현하였고 병기와 유의한 관련성이 있다고 보고하였다. 이는 본 연구에서 나타난 발현율과 다소 차이가 있기는 하나, OPN 발현이 대장 샘암종의 병기와 관련 있다는 점은 일치하였다.

많은 샘암종 예에서 OPN은 종양 주변의 간질 또는 종양 간질 내의 대식세포에서 강한 발현을 보였다. OPN은 종양세포와 대식세포에 같이 발현되거나, 종양세포는 발현되지 않고 대식세포만 발현된 경우는 많았으나, 대식세포에서는 발현되지 않고 종양세포에서만 발현되는 경우는 한 예도 없었다. 즉 종양세포에서 OPN이 발현된 경우 항상 주변 대식세포의 발현을 동반하고 있었으며, 이로써 종양세포의 OPN 발현에 종양 주위 침윤 대식세포의 발현이 밀접하게 관련되어 있을 것으로 생각하였다.

또한 Brown 등<sup>3</sup>과 Maki 등<sup>19</sup>도 대부분의 암종에서 면역조직화학 염색에서는 종양세포와 종양 간질 내 대식세포 둘 다에서 OPN이 발현되었으나 제자리부합법에서는 종양 간질 내 대식세포에서는 OPN mRNA가 발현되나 대부분의 종양세포에서는 발현되지 않아, 아마도 종양 주위 침윤 대식세포에서 분비된 OPN

이 integrin  $\alpha v \beta 3$ 을 통해 종양세포에 부착 또는 흡수되어 면역조직화학 염색상 종양세포에서도 발현되었을 것이라 하였다. 또한 OPN mRNA를 발현하는 대식세포의 존재가 종양의 가장자리에서 현저하여 이들이 종양세포의 침습과 전이 등의 과정에 영향을 미칠 것이라 하였다.

다른 연구에서도 제자리부합법상 대식세포의 OPN이 종양의 변연부와 종양의 피사 부분에서 현저하게 나타나는 것은 주로 대식세포에서 분비된 OPN이 종양의 변연부와 세포외 기질 성분 사이의 상호 작용을 증가함을 암시한다 하였다.<sup>20</sup> 본 연구에서도 종양이 근 고유층, 장막 또는 대장 주위 지방층으로 침윤하는 가장자리를 따라 대식세포의 발현이 증가되는 경향을 보였다. 그러나 다른 연구<sup>14,21</sup>에서는 종양 침윤 염색세포뿐 아니라 난소암이나 유방암세포 자체에서도 제자리부합법상 OPN mRNA가 발현되거나 생체내 OPN 합성이 확인되었다. 따라서 대장암에서 OPN 발현의 구체적인 기원을 알기 위해서는 제자리부합법을 포함한 다양한 분자생물학적 연구가 필요할 것으로 생각한다. 그러나 OPN 합성의 기원이 종양세포이건 대식세포이건, 또는 둘 다건 간에 OPN 발현이 대장 샘암종의 진행에 관여할 것으로 생각하였다. 즉 종양세포가 OPN과 부착 또는 흡수하거나 합성하는 능력은 종양세포의 공격성과 관련 있다고 생각하였다. 또한 종양이 침윤하는 가장자리를 따라 대식세포에서 OPN 발현율이 증가하고, 종양세포에서 OPN 발현이 병기 및 원격 전이와 관련이 있는 것으로 미루어 아마도 OPN이 세포 이동에 영향을 미치는 것이 아닌가 생각된다.

OPN은 주로 integrin  $\alpha v \beta 3$ 에 부착함으로써 세포 부착과 화학주성에 기여하고 integrin  $\alpha v \beta 1$ ,  $\alpha v \beta 5$ ,  $\alpha v \beta 1$  그리고 CD44 (특히 V6와 V7) 또는 CD44 변이체와도 결합하는 것으로 생각된다. 이러한 다양한 세포 표면 수용체와 부착함으로써 단백질 분해 효소의 유도과 성장 인자 키나아제의 활성화를 포함한 종양세포 유전자 발현의 변화를 유도하고, 이어 세포의 운동성을 증가시키며, 이러한 기전을 통해 종양의 침윤 및 전이 등 병리적인 과정에서도 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다.<sup>3,4,9</sup> 특히 침습하는 종양세포와 기저막 또는 세포 외 기질 성분 사이의 integrin  $\alpha v \beta 3$  수용체를 통한 특별한 상호 작용이 침윤 및 전이가 진행되는 과정에 중요한 작용을 하는 것으로 생각된다.<sup>20</sup>

간세포암종에서 OPN 발현에 관한 연구에서 간암세포가 피막을 침습한 예에서 현저히 OPN이 과발현되었다고 하는데<sup>22</sup> 이 또한 같은 기전 때문이라 생각되었다. 그러나 다양한 종양에서 OPN 발현을 연구한 다른 문헌에 따르면 위장관계, 비뇨생식기계, 부인과 기원의 종양에서는 OPN이 높은 빈도로 발현되는 반면에 피부, 뇌, 침샘 기원의 종양에서는 거의 발현되지 않아 이들 종양에서는 암종의 진행에 다른 분자생물학적인 경로가 관련되어 있을 가능성을 제기하였다.<sup>9</sup> 혈장 내 OPN의 증가가 전이성 유방암 환자의 짧은 생존율과 관련된다는 보고<sup>13</sup>가 있으며, 림프절의 전이가 없는 유방암 환자군에서 종양세포에서의 OPN 양성률이 불량한 임상 예후와 관련되어 있다는 보고도 있었다.<sup>21</sup> 따라

서 대장 암종에서 분자생물학적 연구 및 임상적으로 OPN의 혈장 내 수치를 측정하는 등 추가 연구를 통해 이들 결과와 대장 암종 예후의 관련성 등을 더 연구해야 할 것으로 생각된다.

ZO-1은 샘암종에서는 64.2%에서만 발현이 보존되었는데 주로 분화가 좋은 암종 특히 샘 구조가 있는 곳의 꼭대기쪽 가장자리나 세포질에서 잘 발현되었다. 그리고 분화도가 나빠질수록 발현 감소형의 비율이 높아졌으며, 특히 샘 구조가 거의 없는 저분화 암종에서는 모든 예에서 발현이 감소되거나 소실되어 대장 샘암종의 조직학적 분화도와 ZO-1의 발현사이에는 강한 상관성이 있었다( $p < 0.001$ ). 또한 전반적인 분화도가 나빠진다고 중앙 내에 부분적으로 샘 구조를 포함하는 곳에서는 발현이 보존되어 샘 구조의 형태학적 구성에서 ZO-1이 매우 중요한 역할을 하고 있다고 생각되었다.

유방암을 대상으로 한 연구에서도 저분화 암종의 90% 이상에서 ZO-1의 발현이 감소되거나 소실되어 중앙의 분화도와 밀접한 관련성을 보였다.<sup>16</sup> Kaihara 등<sup>23</sup>은 대장 암종에서 중앙세포의 역분화와 ZO-1 및 E-cadherin의 현저한 발현 감소가 대장 암종의 간 전이와 밀접한 관련성을 나타낸다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 간으로 전이된 9예에서 간 전이 여부와 ZO-1 발현 사이에 유의한 관련성을 찾을 수 없었다. 이는 아마도 Kaihara의 예<sup>23</sup>에서는 간 전이가 있는 대장 암종의 세포가 저분화를 보이는 예가 많았던 것에 반해, 본 연구에서는 전이가 있는 대장 암종의 분화도가 모두 고분화 또는 중분화를 보인 점을 반영하는 것으로 생각하였다.

E-cadherin은 샘암종에서 분화가 나빠질수록 발현이 감소되는 경향을 보였다( $p = 0.05$ ). 또한 림프절 전이 유무와 높은 상관성을 보였는데( $p < 0.001$ ) 림프절 전이가 있는 군에서 현저하게 발현이 감소되었다. 대장암에서 E-cadherin 발현과 임상병리학적 인자의 관계를 살펴보면, Gofuku 등<sup>24</sup>은 대장암에서 E-cadherin의 발현은 중앙의 분화도를 제외한 다른 임상병리학적 소견과 관련이 없다고 하였다. 그러나 Kinsella 등<sup>25</sup>은 대장암에서 E-cadherin은 중앙의 분화나 병기와는 상관관계가 없으며 림프절과 간 전이가 있었던 경우 발현이 감소되었지만 중앙의 전이를 예측할 수 있는 인자로서의 가치는 인정할 수 없다고 하였다. 국내 문헌<sup>26</sup>에서도 E-cadherin의 발현 감소와 대장 샘암종의 분화도, 임상 병기, 침윤 깊이, 림프절 전이, 생존율 등과의 관련성에서 유의한 관련성을 보이는 인자들이 비슷하기도 하였지만 서로 조금씩 달랐다. 이처럼 E-cadherin의 발현은 조직학적 분화도, 림프절 전이, 침윤 깊이, 임상 병기, 생존율 등과 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있지만, 유의성을 가지는 임상병리학적 변수는 관찰된 암종에 따라 차이를 보이고, 같은 암종이라 할지라도 장이나 연구자에 따라 다소 상이한 결과를 보이고 있다.

OPN, ZO-1 및 E-cadherin 단백질의 상호 관련성을 살펴보면 OPN과 ZO-1 또는 E-cadherin과는 유의한 관련성을 찾을 수 없었다. 그러나 ZO-1과 E-cadherin의 동시 발현여부는 조직 분화도에서 밀접한 관련성을 보였다( $p < 0.001$ ). 즉 분화가 좋을

수록 ZO-1과 E-cadherin 둘 다 발현 보존되는 비율이 높았고, 저분화 암종의 모든 예(5예)에서 ZO-1과 E-cadherin의 발현이 둘 다 감소되었다. 이는 샘 구조의 형성 또는 와해에 ZO-1 단백질 자체만으로도 밀접한 관련성을 보이지만 E-cadherin 또한 관련되어 있고 이들의 독립적인 또는 상호 유기적인 작용에 영향을 받는 것으로 생각되었다.

Morton 등<sup>27</sup>은 전이성 암종에서 E-cadherin의 발현이 강한 예를 보고하면서, 이는 아마도 다른 매개물질의 유전적 변이로 E-cadherin 분자가 정상적으로 존재하지만 세포 간 접착기능이 떨어져 침윤을 일으킨 것으로 생각하였다. Kimura 등<sup>15</sup>은 샘 구조가 결여된 덩어리 형태로 성장하는 위장관계 종양에서 세포와 세포 사이의 접착성은 유지되어 E-cadherin은 발현되지만 샘 구조가 형성되지 않아 ZO-1과 occludin의 발현은 결여되고, 한편 일부 날개로 흩어져 있는 중앙세포에서는 ZO-1이 점상의 약한 발현을 보이거나 이들이 각각 부착되지 않아 E-cadherin은 발현되지 않았다 하였다.

본 연구에서는 약간 다른 경향을 보였는데 ZO-1이 샘 구조가 있는 부분에서 더 잘 발현되기는 하였으나, 덩어리 형태로 성장하는 부분에서는 잘 발현되는 예에서 중간 정도 혹은 아주 약하게 발현되는 예까지 다양하였다. 그리고 E-cadherin 역시 세포들이 서로 부착되어 있음에도 발현 양상은 발현 보존에서 소실까지 다양하였다. 또한 저분화 암종에서 덩어리보다 좀더 미만성으로 성장하는 세포에서는 E-cadherin의 발현은 감소되거나 소실되나, ZO-1은 거의 발현이 소실되는 경향이 있었다. 이는 세포-세포 간 부착에는 일차적으로 E-cadherin이 중요하지만 샘 구조를 형성하려면 E-cadherin뿐만 아니라 치밀이음부 관련 단백질 ZO-1이 중요하게 작용하기 때문으로 생각되었다.

또한 반지세포암종 1예와 국소적으로 반지세포를 포함하는 저분화 암종 1예에서 반지세포에서 ZO-1과 E-cadherin의 발현이 거의 모두 소실되어, 17예의 대장직장암종의 반지세포 변이형 모두가 E-cadherin의 발현이 현저하게 감소하거나 소실되었다는 보고<sup>28</sup>와 일치하였으며, 대장 샘암종 중 반지세포 변이형이 세포 간 접착소실의 대표적인 예라 생각되었다. 따라서 샘암종의 형태 형성 및 진행에는 ZO-1, E-cadherin 및 기타 관련 물질들의 독립적인 작용과 더불어 이들의 상호 유기적인 작용에 의한 세포 간 부착기능의 유지 또는 와해가 중요하다고 생각하였다.

ZO-1과 E-cadherin이 중앙세포의 분화에 상호 밀접한 관련성을 보인 데 반해, OPN과 이들 두 단백질의 관련성을 찾기 어려운 이유는 이들 단백질 모두 세포의 부착과 관련된 단백질기는 하나 그 대상 및 작용이 다르기 때문으로 생각하였다. 즉 OPN은 중앙세포와 주변 간질 세포의 부착을 매개함으로써 중앙세포의 침윤 또는 전이에 영향을 미치는 반면, ZO-1과 E-cadherin은 같은 종류의 세포 사이의 부착에 관여하며 이들 단백질이 발현 감소되거나 소실되면 중앙세포 간의 부착이 와해되어 중앙 세포의 형태 변화나 진행에 영향을 미치기 때문이 아닌가 생각하였다.

결론적으로 OPN은 대장 샘암종의 침윤 및 전이 등의 진행 과



정에 관여하고, ZO-1과 E-cadherin의 상호 작용에 의한 세포 부착 기능이 대장 샘암종의 형태 형성에 중요한 역할을 하는 것으로 생각하였다.

### 참고문헌

1. Korea National Stational Office. Death by cause. WWW.nso.go.kr; Korean Stational Information system (KOSIS).
2. Pignatelli M, Vessey CJ. Adhesion molecules: novel molecular tools in tumor pathology. *Hum Pathol* 1994; 25: 849-56.
3. Brown LF, Papadopoulos-Sergiou A, Berse B, *et al.* Osteopontin expression and distribution in human carcinomas. *Am J Pathol* 1994; 145: 610-23.
4. Furger KA, Menon RK, Tuckl AB, Bramwelll VH, Chambers AF. The functional and clinical roles of osteopontin in cancer and metastasis. *Curr Mol Med* 2001; 1: 621-32.
5. Giachelli CM, Steitz S. Osteopontin: a versatile regulator of inflammation and biomineralization. *Matrix Biol* 2000; 19: 615-22.
6. Shijubo N, Uede T, Kon S, Nagata M, Abe S. Vascular endothelial growth factor and osteopontin in tumor biology. *Crit Rev Oncog* 2000; 11: 135-46.
7. Chambers AF, Behrend EL, Wilson SM, Denhardt DT. Induction of expression of osteopontin (OPN; secreted phosphoprotein) in metastatic, ras-transformed NIH 3T3 cells. *Anticancer Res* 1992; 12: 43-7.
8. Craig AM, Bowden GT, Chambers AF, *et al.* Secreted phosphoprotein mRNA is induced during multi-stage carcinogenesis in mouse skin and correlates with the metastatic potential of murine fibroblasts. *Int J Cancer* 1990; 46: 133-7.
9. Coppola D, Szabo M, Boulware D, *et al.* Correlation of osteopontin protein expression and pathological stage across a wide variety of tumor histologies. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 184-90.
10. Tuck AB, O'Malley FP, Singhal H, *et al.* Osteopontin and p53 expression are associated with tumor progression in a case of synchronous, bilateral, invasive mammary carcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 1997; 121: 578-84.
11. Agrawal D, Chen T, Irby R, *et al.* Osteopontin identified as lead marker of colon cancer progression, using pooled sample expression profiling. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 513-21.
12. Bautista DS, Saad Z, Chambers AF, *et al.* Quantification of osteopontin in human plasma with an ELISA: basal levels in pre- and postmenopausal women. *Clin Biochem* 1996; 29: 231-9.
13. Singhal H, Bautista DS, Tonkin KS, *et al.* Elevated plasma osteopontin in metastatic breast cancer associated with increased tumor burden and decreased survival. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 605-11.
14. Kim JH, Skates SJ, Uede T, *et al.* Osteopontin as a potential diagnostic biomarker for ovarian cancer. *JAMA* 2002; 287: 1671-9.
15. Kimura Y, Shiozaki H, Hirao M, *et al.* Expression of occludin, tight-junction-associated protein, in human digestive tract. *Am J Pathol* 1997; 151: 45-54.
16. Hoover KB, Liao SY, Bryant PJ. Loss of the tight junction MAGUK ZO-1 in breast cancer: relationship to glandular differentiation and loss of heterozygosity. *Am J Pathol* 1998; 153: 1767-73.
17. Damsky CH, Richa J, Solter D, Knudsen K, Buck CA. Identification and purification of a cell surface glycoprotein mediating intercellular adhesion in embryonic and adult tissue. *Cell* 1983; 34: 455-66.
18. Kim TY, Baek MJ, Chae MK, *et al.* Expression of E-cadherin and  $\alpha$ -catenin in patients with colorectal cancer. *J Korean Surg Soc* 2001; 60: 524-30.
19. Maki M, Hirota S, Kaneko Y, Morohoshi T. Expression of osteopontin messenger RNA by macrophages in ovarian serous papillary cystadenocarcinoma: a possible association with calcification of psammoma bodies. *Pathol Int* 2000; 50: 531-5.
20. Oates AJ, Barraclough R, Rudland PS. The role of osteopontin in tumorigenesis and metastasis. *Invasion Metastasis* 1997; 17: 1-15.
21. Gotoh M, Sakamoto M, Kanetaka K, Chuuma M, Hirohashi S. Overexpression of osteopontin in hepatocellular carcinoma. *Pathol Int* 2002; 52: 19-24.
22. Tuck AB, O'Malley FP, Singhal H, *et al.* Osteopontin expression in a group of lymph node negative breast cancer patients. *Int J Cancer* 1998; 79: 502-8.
23. Kaihara T, Kusaka T, Nishi M, *et al.* Dedifferentiation and decreased expression of adhesion molecules, E-cadherin and ZO-1, in colorectal cancer are closely related to liver metastasis. *J Exp Clin Cancer Res* 2003; 22: 117-23.
24. Gofuku J, Shiozaki H, Tsujinaka T, *et al.* Expression of E-cadherin and alpha-catenin in patients with colorectal carcinoma. Correlation with cancer invasion and metastasis. *Am J Clin Pathol* 1999; 111: 29-37.
25. Kinsella AR, Green B, Lepts GC, Hill CL, Bowie G, Taylor BA. The role of the cell-cell adhesion molecule E-cadherin in large bowel tumour cell invasion and metastasis. *Br J Cancer* 1993; 67: 904-9.
26. Moon SB, Kim JK, Park SH, *et al.* Expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin complex in human adenocarcinoma and adenoma of stomach and colon. *Korean J Gastroenterol* 2000; 36: 473-82.
27. Morton RA, Ewing CM, Nagafuchi A, Tsukita S, Isaacs WB. Reduction of E-cadherin levels and deletion of the alpha-catenin gene in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 1993; 53: 3585-90.
28. Kim HC, Kim HJ, Kim JC. Reduced E-cadherin expression as a cause of distinctive signet-ring cell variant in colorectal carcinoma. *J Korean Med Sci* 2002; 17: 23-8.