

위선암의 예후인자로서 CD44 E/H 비율의 의의

가톨릭대학교 의과대학 외과학교실, ¹병리학교실

이근호 · 김영하 · 박원상¹ · 박조현

The Ratio of CD44 Epithelial Variant Transcript to CD44 Hematopoietic Variant Transcript: Prognostic Significance in Gastric Adenocarcinoma

Keun-Ho Lee, M.D., Young-Ha Kim, M.D., Won-Sang Park, M.D.¹ and Cho-Hyun Park, M.D.

Purpose: The purpose of this study was to evaluate the prognostic significance of the ratio of CD44 epithelial variant transcript to CD44 hematopoietic variant transcript in gastric adenocarcinoma.

Methods: We performed reverse transcription-polymerase chain reactions for CD44 expression in tumor tissue and adjacent noncancerous mucosa obtained from the surgical specimens of 35 patients with gastric adenocarcinoma. We determined the epithelial/hematopoietic variant (E/H) ratio in each specimen. We also probed the difference between the tumor (T) E/H and noncancerous mucosa (N) E/H and analysed its correlation with clinicopathological parameters including Lauren's classification, the status of differentiation, the depth of invasion, lymph node metastasis, perineural invasion, clinical stage and disease-free survival rate.

Results: The mean of the E/H ratio was higher in the tumor tissue than in the adjacent noncancerous mucosa (0.13 vs. 0.09), but lacked statistical significance. The T(E/H) ratio demonstrated significant correlations with Lauren's classification ($P < 0.05$) and differentiation ($P < 0.05$). There was no significant correlation between the T(E/H) ratio and other clinicopathological parameters. The T(E/H)-N(E/H) in patients with intestinal type was 0.15 ± 0.24 , as compared with -0.08 ± 0.40 in patients with diffuse type ($P < 0.05$). In patients with differentiated tumor, the T(E/H)-N(E/H) was 0.15 ± 0.25 , as compared with 0.07 ± 0.39 in patients with undifferentiated tumor ($P < 0.05$). There was no difference in the disease-free survival between the patients with higher T(E/H)-

N(E/H) and those with lower T(E/H)-N(E/H) (22 months vs. 19 months in median).

Conclusion: The prognostic significance of CD44 E/H ratio in gastric adenocarcinoma is still unclear. However, our results suggest that CD44E/H ratio is a potential prognostic factor in patients with differentiated gastric adenocarcinoma. (J Korean Surg Soc 2001;60:623-629)

Key Words: Gastric adenocarcinoma, CD44, CD44 E/H ratio
중심 단어: 위선암, CD44, CD44 E/H 비율

Departments of Surgery and ¹Pathology, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

서론

세포막에 존재하는 당단백질인 CD44는 최초에 순환 림프구의 림프절 재귀 수용체(lymph node homing receptor)로 알려졌는데(1) 세포외부의 막근위영역(membrane proximal region) 정보를 포함하는 10개의 exon들(v1-v10) 사이에서 교대성 접합절단(alternative splicing)이 일어나고, 그 결과 생성된 20여 가지의 아형들이 다양한 기능을 갖는 것으로 밝혀지고 있다.(2) 이 가운데 hematopoietic form으로 불리는 CD44H는 10개의 exon들이 모두 탈락된 80~90 kD의 아형으로 중배엽 및 혈액세포 기원의 세포에서 발현되고,(3) 림프구의 재귀,(1) 림프구 생성,(4) T세포의 활성화(5) 등에 관여한다. 발암과정 및 암세포의 전이능과 연관된 흥미로운 것은 다양한 exon을 포함하는 아형들로, 특정한 CD44 아형의 발현이 전이능 획득과 유관하다고 보고된 바 있다.(6) 인체의 암 가운데 위암,(7) 대장암,(8) 유방암,(9) 그리고 non-Hodgkin's lymphoma(10) 등의 면역조직화학염색법에 의한 연구에서 특정 CD44 아형의 발현과 생존기간이 관련 있다고 보고되었다. Epithelial 또는 restricted form으로 불리는 CD44E는 exon v8-v10을 포함하는 150 kD의 아형으로 정상 상피에서는 약하게 발현되는 반면 상피세포암을 포함한 일부 암에서는 강하게 발현된다.(11) CD44E의 기능 역시 다른 아형들과 마찬가지로 잘 알려져 있지 않지만 CD44E를 섬유육종에 transfection시킨

책임저자 : 박조현, 서울시 서초구 반포동 505
☎ 137-705, 가톨릭대학교 의과대학 외과
Tel: 02-590-2727, Fax: 02-595-2992
접수일 : 2000년 12월 13일, 게재승인일 : 2000년 12월 30일
본 연구는 가톨릭대학교 성모자애병원 학술 연구비 지원을 받았음.

결과 CD44H에 비해 전이가 빈번히 발생한다는 실험결과는 림프구 재순환과 유사한 기전에 의해 특정 CD44 아형이 림프절과 원위부 전이를 효과적으로 매개함을 암시하는 소견이다.(12) 대장암의 CD44 아형들에 대한 분석에서 CD44H는 정상 대장점막과 암중에서 모두 발견되었지만 CD44E는 암중에서만 발견되고 정상 점막에서는 매우 약하게 발견되어 이들이 암의 진행과 전이에 관련이 있음을 시사하였다.(13,14) 또한 CD44에 대한 중합효소 연쇄반응시 CD44 E/H 비율이 현저히 높아 작은 생검 조직에서 암을 진단하는데 유용하며 CD44 E/H 비율의 증가가 암세포의 전이능 획득과 연관하다는 주장도 있으나 이와 반대되는 주장도 있어서 대장암에서 CD44 E/H 비율의 임상적 의의는 아직 일치된 견해가 없다.(15-17) 위암의 경우에는 CD44 E/H 비율이 높은 경우 생존기간이 짧은 것으로 보고된 바 있으며, 위암에서 암조직과 정상조직간의 CD44 E/H 비율의 차이가 림프절 전이, 위벽 침윤도, 혈관 및 림프관 침윤도 등의 중요한 병리학적 예후인자들과 유의한 상관관계를 갖는 것으로 보고되었다.(17,18) 위암은 우리나라에서 발생빈도가 가장 높으며 암사망률 중 제 1위를 차지하는 악성종양으로 암세포의 위벽 침윤도 및 림프절 전이가 가장 중요한 예후인자로 잘 알려져 있다.(19) 그러나 병리학적 예후인자들은 개개 환자에서의 재발 및 예후를 예측하는 데 한계가 있어 분자생물학적 수준의 새로운 예후인자들에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

본 연구는 위암조직과 암 주위의 정상 점막에서 역전사 중합효소 연쇄반응(RT-PCR)을 이용하여 CD44E와 CD44H 전사체 양을 측정하고 CD44 E/H 비율을 구하여, 기존의 임상병리학적 예후 인자들과의 상관관계, 그리고 재발률 등을 비교하여 위암의 진행 정도와 환자의 예후를 나타내는 지표로 사용 가능한지를 확인하고자 시도하였다.

방 법

1) 조직수집 및 대상

조직학적으로 위선암으로 진단받고 수술 전 항암 화학요법을 시행 받지 않은 환자로써 1996년 5월부터 1998년 4월까지 위절제술을 시행받은 환자 가운데 병리조직학적 분류상 혼합형은 제외하고 조직의 보존 상태가 양호한 40명의 환자에서 조직을 수집하였다. 이 가운데 암조직에서 CD44H에 해당하는 83 bp 크기의 밴드가 확인되지 않은 5명을 제외하여 35명을 분석 대상으로 하였다. 임상 및 병리조직학적 특징은 수술 당시와 추적검사 기록을 분석하였다. 연령분포는 19세부터 76세까지로 평균 56.3세였으며 남자가 23명으로 더 많았다. 임상병기는 각각 1기 6명, 2기 4명, 3기 15명, 4기 10명이었다. 추적기간은 5개월에서 37개월까지, 평균 20개월이었다. 조직은 위절제 시에 정상 위점막 및 위암조직을 무균적으로 절제하여 각각 포르말

린과 영하 70°C에서 보관하였다. 정상 위점막은 위암조직으로부터 가장 멀리 떨어진 부위를 선택하였으며, 위암조직은 종양의 중심부에서 괴사 부위를 피하여 육안적으로 정상조직이 포함되지 않도록 절제하였다.

2) 역전사 중합효소 연쇄반응 및 CD44 전사체의 정량분석

정상 위점막 및 위암조직으로부터 Micro-FastTrack[®] 2.0 mRNA Isolation Kit (Invitrogen Co., Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 각각 polyadenylated mRNA를 분리하고, 형판(template)은 CD44 cDNA를 Moloney murine leukemia virus의 역전사 효소를 이용하여 random primed cDNA를 합성하였다. 중합효소 연쇄반응은 10 mM Tris-HCL (pH 8.3), 1.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 25 U/ml Taq DNA polymerase, 200 mM deoxynucleotide triphosphate, 0.4 M oligonucleotide primer를 사용하여, thermal cycler (Perkin Elmer Cetus, Norwalk, CT, USA)에서 denaturation (94°C, 1분), annealing (60°C, 1분), extension (72°C, 1분) 과정을 32회 시행하였다. Oligonucleotide primers는 5'-TCCCAGACGAAGACAGTCC-CTGGAT-3'와 5'-CACTGGGGTGAATGTGTCTTGGTC-3'로 CD44의 cDNA가 절제(splicing out)되는 exon v1-v10의 막근위부(membrane proximal region)를 증폭시켰으며 증폭산물은 Mini-Gel Migration Mupid-2 (Cosmo Bio Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 전기영동 한 뒤 ethidium bromide에 염색된 밴드들을 densitometer (Imagemaster VDS, Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA)를 사용하여 정량분석 하였다.

3) 역전사 중합효소 연쇄반응 산물의 확인

역전사 중합효소 연쇄반응 산물이 CD44 mRNA에 의한 것임을 확인하기 위하여 염기서열 분석을 실시하였다. 염기서열 분석은 cyclic sequencing kit (Perkin-Elmer, Foster, CA, USA)를 사용하여 제조사의 지시에 따라 시행하였다. 이를 요약하면 증폭산물을 1% low molecular agarose gel에서 전기영동하고 각각의 밴드를 자외선 발광기(UV illuminator) 하에서 잘라낸 뒤 50 µl 증류수에 2일간 방치하여 증폭 산물들을 추출한 후 염기서열 분석의 형판으로 사용하였다. 형판 10 µl에 ddNTP가 포함되어 있는 cyclic mixture 4 µl와 한쪽 primer 1 µl 그리고 P³²-dCTP 0.2 µl를 첨가하여 25 cycle의 PCR을 실시하였다. 반응 산물에 동일 양의 loading dye를 첨가한 뒤 95°C에서 5분간 변성시키고 4°C에서 급냉한 후 6% denaturing polyacrylamide gel에서 전기영동을 시행하여 자가 방사법으로 염기서열이 CD44 mRNA임을 확인하였다.

4) 통계

병리조직학적 특성에 따른 CD44E/CD44H 발현비의 차

이는 Student's t-test를 이용하여 비교하였다. 환자의 무병 생존율은 Kaplan-Meier 법을 사용하였으며, 생존율의 차이는 log-rank test로 비교하였다. 통계적 유의성은 P-value가 0.05 미만인 경우를 의의 있는 것으로 하였다.

결 과

1) 역전사 중합효소 연쇄반응 산물의 염기서열 분석

83 bp의 산물은 염기서열 분석 결과 CD44 유전자의 exon 1에서 10까지가 소실된 염기서열을 보였으며, 479 bp의 산물에서는 CD44 유전자의 exon 1에서 7까지가 소실된 염기서열을 확인하였다(Fig. 1). 본 실험은 RNA 추출, 역전사 중합효소 연쇄반응 및 염기서열 분석을 3번 반복함으로써 확인하였다.

2) 위선암에서 CD44의 발현

CD44 특이 탐색자를 이용한 RT-PCR에서 여러 가지 아종에 해당하는 다양한 크기의 밴드들과 함께 CD44H에 해당하는 83 bp 크기의 밴드가 전체 40예 가운데 35예(87.5%)의 암 조직과 주위 정상 조직에서 관찰되었다. 또한 479 bp 크기의 CD44E 밴드는 암 조직에서는 전체 40예 중 21예(52.5%)에서 관찰되었으며, 주위 정상조직에서는 전체 40예 중 16예(40.0%)에서 관찰되었다(Fig. 2).

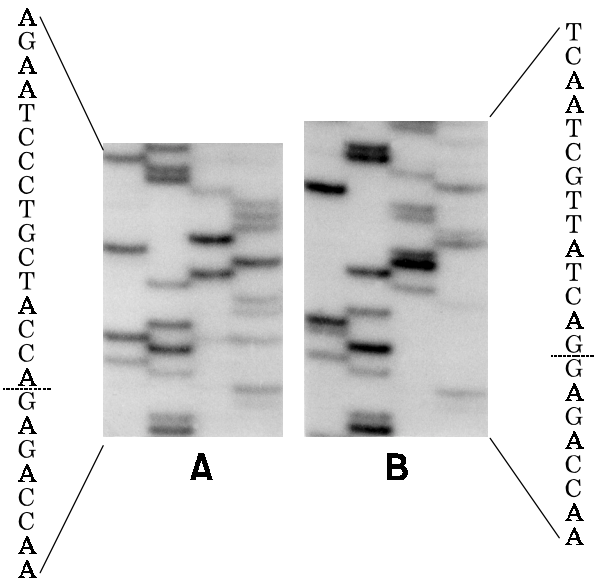


Fig. 1. Sequence analysis of RT-PCR products of CD44 in gastric adenocarcinoma. (A) RT-PCR product of hematopoietic variant showed RNA transcript missing exon 1-10 with alternative splicing at nucleotide number 845. (B) RT-PCR product of epithelial variant showed RNA transcript, but exon 1-7.

3) 위선암의 CD44 E/H 비율과 병리조직학적 특성의 비교

암조직에서 CD44H가 관찰되지 않은 5명을 제외한 위선암 환자 35명 가운데 13명(37.1%)에서는 암조직의 E/H 비율(T(E/H))이 주위의 정상조직에서의 비율(N(E/H))보다 높았으며, 8명(22.9%)에서는 더 낮게 나타나서 암조직에서 더 높게 나타나는 경우가 많았다. T(E/H)의 평균은 0.13 ± 0.25 였으며 N(E/H)의 평균은 0.09 ± 0.28 로, 암조직의 E/H 비율이 주위 정상조직보다 높았지만 통계적인 의의는 없었다($P=0.53$). 조직형에 따른 분류에서 장형과 미만형 환자군의 T(E/H)는 각각 0.21 ± 0.32 와 0.04 ± 0.07 로 장형에서 통계적으로 유의하게 높았다($P < 0.05$). 또한 장형 환자군에서는 T(E/H)가 0.21 ± 0.32 로 N(E/H)의 0.07 ± 0.14 보다 높게 나타났으나($P < 0.05$) 미만형 환자군에서는 각각 0.04 ± 0.07 와 0.12 ± 0.38 로 차이가 없었다($P=0.63$). T(E/H)는 분화형 환자군에서 0.22 ± 0.33 , 미분화형 환자군에서 0.04 ± 0.07 로 분화형 환자군에서 더 높게 나타났다($P < 0.05$). 역시 분화형 환자군에서도 T(E/H)가 0.22 ± 0.33 으로 N(E/H)의 0.07 ± 0.14 보다 높게 나타났으나($P < 0.05$) 미분화형 환자군에서는 각각 0.04 ± 0.07 와 0.11 ± 0.37 로 차이가 없었다($P=0.65$). 그밖에 위벽 침윤도, 림프절 전이, 신경 침윤, 암의 임상병기 등에 따른 분류에서는 T(E/H) 값에 유의한 차이가 없었다(Table 1).

4) T(E/H)-N(E/H)와 병리조직학적 특성의 비교

암조직과 주위 정상조직의 E/H 비율의 차이, 즉 T(E/H)-N(E/H)는 -1.57 부터 0.76 의 범위로 평균 0.04 ± 0.34 였다. T(E/H)-N(E/H)의 평균값을 병리조직학적 특성들과 비교하였는데 조직형과 분화도에 따라 의미 있는 차이가 있었다. 즉 장형과 미만형의 T(E/H)-N(E/H) 값은 각각 $0.15 \pm$

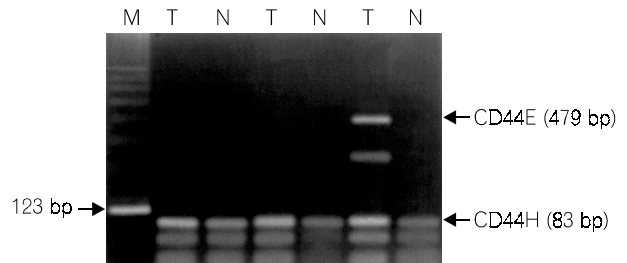


Fig. 2. Detection of CD44 cDNA in gastric adenocarcinomas by RT-PCR. T and N represents gastric adenocarcinoma and noncancerous gastric mucosa, respectively. M represents 123-bp Ladder used as molecular size markers. The 479-bp and 83-bp RT-PCR products represent the CD44 epithelial variant (CD44E) cDNA and the CD44 hematopoietic variant (CD44H) cDNA, respectively.

Table 1. CD44E/CD44H ratio and pathologic features in gastric adenocarcinoma

Pathologic features	Cases	E/H ratio (mean ± SD)	P-value
Histologic type			
Intestinal	18	0.21 ± 0.32	< 0.05
Diffuse	17	0.04 ± 0.07	
Differentiation			
Differentiated	17	0.22 ± 0.33	< 0.05
Undifferentiated	18	0.04 ± 0.07	
Depth of invasion			
t2 ≥	15	0.18 ± 0.32	N.S.
t3 ≤	20	0.09 ± 0.18	
Lymph node metastasis			
(-)	8	0.13 ± 0.14	N.S.
(+)	27	0.13 ± 0.28	
Perineural invasion			
(-)	16	0.15 ± 0.31	N.S.
(+)	19	0.10 ± 0.18	
Clinical stage			
I, II	10	0.20 ± 0.34	N.S.
III, IV	25	0.10 ± 0.20	

E/H ratio represents the amount of the CD44 epithelial variant transcript relative to the CD44 hematopoietic variant transcript. N.S. = not significant

0.24와 -0.08 ± 0.40 으로 장형에서 더 높았으며 ($P < 0.05$), 분화도에서는 분화형 환자군과 미분화형 환자군에서 각각 0.15 ± 0.25 와 0.07 ± 0.39 로 미분화형 환자군보다 분화형 환자군에서 더 높았다 ($P < 0.05$). 위벽 침윤도, 림프절 전이, 신경 침습, 암의 임상병기 등에 따른 분류에서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (Table 2).

5) 무병 생존율과 CD44 E/H 비율의 연관성

T(E/H)에 따른 무병생존기간을 비교하기 위하여 저 T(E/H) 환자군과 고 T(E/H) 환자군으로 나누었다. 분류 기준은 위선암 조직에서 E/H 비율들의 평균값인 0.13을 기준으로 하였다. 저 T(E/H)군과 고 T(E/H)군의 무병 생존기간은 각각 평균 27.3개월과 25.6개월로 저 T(E/H)군에서 더 길었으나 통계적인 차이는 없었다 ($P=0.67$, Table 3). 암 조직과 주위 정상조직 사이에서 E/H 비율의 차이, 즉 T(E/H)-N(E/H)도 평균값인 0.04를 기준으로 저 T(E/H)-N(E/H)군과 고 T(E/H)-N(E/H)군으로 나누어 재발까지의 기간을 비교하였다. 임상병기에 따른 분포는 두 군 사이에 차이가 없었다 ($P=0.57$). 1년과 3년 무병 생존율은 저 T(E/H)-N(E/H)군에서 각각 80.9%와 59.7% 그리고 고 T(E/H)-N(E/H)군에서 각각 75.0%와 58.3%였다 (Fig. 3). 무병 생존

Table 2. T(E/H)-N(E/H) and pathologic features in gastric adenocarcinoma

Pathologic features	Cases	T(E/H)-N(E/H) (mean ± SD)	P-value
Histologic type			
Intestinal	18	0.15 ± 0.24	< 0.05
Diffuse	17	-0.08 ± 0.40	
Differentiation			
Differentiated	17	0.15 ± 0.25	< 0.05
Undifferentiated	18	0.07 ± 0.39	
Depth of invasion			
t2 ≥	15	0.13 ± 0.26	N.S.
t3 ≤	20	-0.04 ± 0.38	
Lymph node metastasis			
(-)	8	0.10 ± 0.12	N.S.
(+)	27	0.01 ± 0.36	
Perineural invasion			
(-)	16	0.02 ± 0.44	N.S.
(+)	19	0.05 ± 0.15	
Clinical stage			
I, II	10	0.14 ± 0.21	N.S.
III, IV	25	0.00 ± 0.38	

The value of the T(E/H)-N(E/H) indicates the difference of E/H ratios between tumor tissue and adjacent noncancerous mucosa. N.S. = not significant

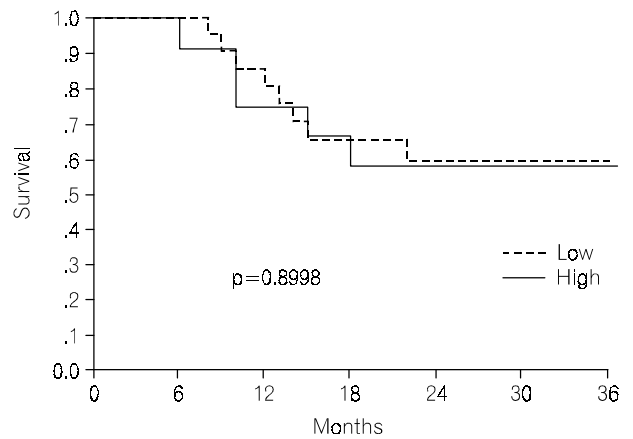


Fig. 3. Kaplan-Meier analysis of disease-free survival in patients with gastric adenocarcinoma with low or high T(E/H)-N(E/H).

기간의 평균값은 각각 26.8개월과 26.5개월로 통계적인 차이가 없었다 ($P=0.90$, Table 3). 병리조직학적 특징 가운데 무병 생존율을 떨어뜨리는 위험인자로는 림프절 전이와 암의 임상병기 등이 있었다. 즉 림프절 전이가 없는 환자

Table 3. Disease-free survival according to clinicopathological parameters and the T (E/H)-N(E/H)

Pathologic features	Cases	Survival (months)		P-value
		Median	Mean	
Histologic type				
Intestinal	18	22.0	28.5	N.S.
Diffuse	17	15.0	24.3	
Differentiation				
Differentiated	17	22.0	28.0	N.S.
Undifferentiated	18	17.0	25.0	
Depth of invasion				
t2≥	15	24.0	28.4	N.S.
t3≤	20	17.0	23.2	
Lymph node metastasis				
(-)	8	*	*	<0.05
(+)	27	22.0	23.8	
Perineural invasion				
(-)	16	23.0	30.1	N.S.
(+)	19	22.0	23.8	
Clinical stage				
I, II	10	24.5	34.7	<0.05
III, IV	25	22.0	23.2	
T(E/H)				
Low	24	17.5	27.3	N.S.
High	11	22.0	25.6	
T(E/H)-N(E/H)				
Low	23	19.0	26.8	N.S.
High	12	22.0	26.5	

The value of the T(E/H)-N(E/H) indicates the difference of E/H ratios between tumor tissue and adjacent noncancerous mucosa. *No evidence of recurrence was observed during the follow-up period.

군에서는 추적기간 동안 재발한 경우가 없었으나 림프절 전이가 있는 환자군에서는 평균 무병 생존기간이 23.8개월로 더 짧았다($P < 0.05$). 암의 임상병기에서는 2기 이하 환자군이 34.7개월의 평균 무병 생존기간을 보인 반면, 3기 이상 환자군에서는 23.2개월로 역시 유의한 차이가 있었다($P < 0.05$, Table 3).

고 찰

위암의 치료는 외과적 절제술에 의하지만 많은 환자들이 진행된 상태에서 진단되어 수술 후 항암 화학요법 등 보조적 치료를 필요로 한다. 현재까지 수술 후 보조요법의 지표가 되고있는 것은 병리조직학적 인자들로 암세포의 위벽 침윤도 및 림프절 전이 정도가 사용되고 있으며

그 외에 Borrmann형, 조직학적 분화도, 혈관 및 림프관 침윤도 등에 의존하고 있다. 최근에는 암세포의 복막전이 여부를 알아내기 위해 복강 세척액에서 carcinoembryonic antigen (CEA)을 이용한 RT-PCR이 시행되고 있으며(20) 혈행성 전이와 연관되어 신생 미세혈관의 생성 등에 관한 연구가 진행되고 있다.(21) 아울러 암세포의 생물학적 특성과 연관된 다양한 예후인자들에 관한 연구가 진행되고 있는데 크게 나누어보면 암세포관련 단백질분해효소 및 그 억제제, 세포부착물질, 암유전자 및 암억제유전자 등이다.(22) 이 중 세포부착물질은 암세포의 생성에서 전이에 이르는 일련의 과정에 관련된 생물학적 기능을 갖는 중요한 예후인자로 인식되고 있는데 위암에서 연구가 활발한 세포부착물질로는 CD44 및 E-cadherin을 들 수 있다. CD44는 세포막에 존재하는 당단백질로서 11번 염색체에 유전자가 위치하는 세포부착물질이다.(1) CD44는 림프관 등에서 모세혈관 이후의 소정맥 내피세포에 유착하는데 작용하며 세포외 기질과도 결합을 한다.(3) CD44는 10개의 exon들이 세포외부의 막근위영역 정보를 지배하는데 이들 사이의 교대성 접합절단(alternative splicing)으로 다양한 아형이 만들어진다. 아형들의 기능은 아직도 많이 밝혀지지 않았지만 여러 가지 암에서 관찰되어 암의 성장과 전이에 관여하는 것으로 생각되고 있다.(23,24) 쥐의 췌장암 모델에서는 전이능이 강한 세포주에서 발현된 CD44의 특정 아형이 전이능이 약한 세포주에서도 전이능을 갖게 해 주는 것으로 확인되었고(6) 전이능이 매우 강한 쥐의 췌장암 세포주에 단일클론 항체를 투여하면 전이가 억제되는 것도 관찰되었다.(25) 사람의 대장과 유방암에서도 CD44 아형의 전사체가 정상 점막에 비하여 높게 나타나고, 특히 전이가 있는 경우에 더 높게 나타난다.(13) 대장암 환자에서 CD44E의 과발현은 암의 전이능과 관련이 있으며,(15) CD44v8-10의 발현이 예후인자로서 가치가 있었다.(26)

위암에서는 CD44v6 특이 단일항체염색에서 장형과 미만형이 차이를 보여 서로의 기원이 다르다는 주장을 뒷받침하였다.(27) 또 미만형의 위선암에서는 종양의 침윤도, 림프절 전이, 임상 병기 등과도 연관이 있으며 환자의 예후 인자로서의 가치도 있었다.(28) 역전사 중합효소 연쇄 반응을 이용한 박등(29)의 분석에 의하면 CD44E는 정상 조직의 19.0%에서 증폭이 관찰된 반면 위암조직과 전이 림프절에서는 각각 66.7% 및 61.9%가 증폭을 보여서 위암의 형성 및 림프절 전이 과정에 CD44E가 중요한 역할을 하고 있음을 시사하였다. 특히 미만형 위암조직에서는 CD44E의 증폭이 모두 나타나서 미만형 위암의 형성 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 추정할 바 있다. 본 연구에서는 CD44H가 암종과 정상조직 모두에서 85.0%의 발현율을 보인데 반하여 CD44E는 암종에서는 52.5%, 주위의 정상조직에서는 40.0%의 발현율을 나타내서, CD44E가 암

중에서 더 높은 빈도로 발현하였다. 이는 위암의 형성과정에 CD44E가 역할을 할 것이라는 주장(29)과 일치하는 결과이다.

최근 PCR을 이용한 분석에서 검체나 개체에 따른 오류를 줄이고 정량적인 비교를 위하여 동일한 조직에서 CD44 E/H의 비율을 분석하는 것이 보다 객관적인 방법으로 제시되고 있다. 위암 조직에서 주위 정상조직 보다 높은 E/H 비율을 보이며, 특히 암세포가 근육층 침범, 림프절 전이 및 림프관 침습이 있는 경우에 종양의 E/H 비율이 정상점막의 E/H 비율에 비하여 높게 나타난다.(18) 역전사 증합효소 연쇄반응을 이용한 연구에서 CD44 E/H 비율은 병리조직학적 분류와는 연관이 없었으나, 같은 병기의 환자들에서도 E/H 비율이 높을수록 생존율이 저조하고 CD44H의 감소와 CD44E의 증가가 암종의 성장과 전이능을 향상시켜서 CD44 E/H 비율이 예후인자로 활용될 가능성을 보여 주었다.(17) 본 연구에서도 위암 조직의 CD44 E/H 비율이 정상조직의 CD44 E/H 비율에 비하여 높은 경향을 보여 위암 발생과정에서 CD44E의 역할을 추정하게 하며 CD44 E/H 비율이 높은 환자들의 평균 무병 생존기간이 CD44 E/H 비율이 낮은 환자들의 경우보다 짧아서, 암 조직에서 CD44E 발현이 높은 환자의 예후가 불량하다는 다른 연구자들의 보고(17,18)와 일치하였으나 통계적으로 유의한 정도는 아니었다. 또한 CD44 E/H 비율이 높을수록 분화암이 많았으나 평균 무병 생존기간에 차이가 없어서 CD44 E/H 비율의 높고 낮음이 위선암의 재발에 독립적인 예후인자로 작용함을 증명할 수 없었다. 그러나 조직형이나 분화도에 따른 분류에서 T(E/H)가 미만형과 미분화형보다 장형과 분화형에서 높고, 또한 이들에서는 T(E/H)가 N(E/H)보다 유의하게 높게 나타나서, 발생이나 진행에 따라 분류된 위선암의 일부에서는 CD44 E/H 비율이 유의하게 일정한 양상을 보이는 것을 알 수 있다.

암조직과 정상조직에서의 CD44 E/H 비율의 차이, 즉 T(E/H)-N(E/H) 값은 T(E/H) 값과 밀접한 연관관계를 보여서 조직형, 분화도, 암의 침윤도, 신경 침습, 림프절 전이, 암의 임상병기와의 연관관계도 T(E/H) 값의 결과와 일치하였다. 즉 장형과 분화형에서만 T(E/H)-N(E/H) 값이 높게 나타났으며 다른 병리조직학적 소견과는 연관이 없었다. 전체 환자군에서 T(E/H)-N(E/H) 값에 따른 무병 생존율도 차이가 없었다. 그러나 조직형과 분화도에 따라 T(E/H)-N(E/H) 값이 차이가 있게 나타난 것은 위선암에서 혈행성 전이와 CD44E가 연관이 있음을 뒷받침하는 소견이다. Yamaguchi등(26)은 위암 조직의 분화도가 양호한 환자군에서 CD44E의 발현율이 높으며 이러한 환자들에서 간 전이와 혈행성 전이가 많다고 하였는데 이는 본 연구의 결과와 일부 일치하는 것으로, 암의 기원과 전이 양상에 따라 일부 위선암에서는 예후인자로 활용될 가능성이 있음을 시사한다.

Miwa등(18)이나 Sibuya등(17)은 T(E/H)-N(E/H)값이 생존율에 영향을 미치는 예후인자로서의 가능성이 있다고 하였으나 병리조직학적인 특징들과의 연관관계는 서로 상반되는 결과를 제시하였다. 본 연구 결과에서는 T(E/H)-N(E/H)값이 높은 환자군이 낮은 환자군 보다 무병 생존율이 낮았으나 통계적인 의미가 없어서 이들의 보고에서처럼 암의 재발이나 생존에 있어서 직접적인 위험인자라고 할 수 없었다. 림프절 전이와 암의 임상 병기 등 생존율에 영향을 주는 병리조직학적 인자들과도 연관이 없어서 이들의 보고(17,18)와 모두 일치하지 않았다. 따라서 T(E/H)-N(E/H) 값도 CD44 E/H 비율과 함께 위암에서 예후인자로서의 유용성은 아직 분명하다고 할 수 없다.

결 론

- 1) 암조직과 주위 정상 점막의 CD44 E/H 비율에 따른 환자의 무병생존율이 차이가 없었다. 그러므로 위선암 환자에서 CD44 E/H 비율이 예후인자로서 의의가 있는지는 명확하지 않다.
- 2) 장형과 분화형 위선암 환자군에서는 암조직의 CD44 E/H 비율이 주위 정상점막에서보다 유의하게 높았으나 미만형 및 미분화암에서는 차이가 없었다. 이는 위선암의 기원에 따라 전이양상 특히 혈행성 전이와 연관된 예후인자로서 활용될 가능성이 있음을 시사한다.

REFERENCES

- 1) Jalkanen S, Bargatze RF, de los T, Butcher EC. Lymphocyte recognition of high endothelium: antibodies to distinct epitopes of an 85-95-kD glycoprotein antigen differentially inhibit lymphocyte binding to lymph node, mucosal, or synovial endothelial cells. *J Cell Biol* 1987;105:983-90.
- 2) Tolg C, Hofmann M, Herrlich P, Ponta H. Splicing choice from ten variant exons establishes CD44 variability. *Nucleic Acids Res* 1993;21:1225-9.
- 3) Stamenkovic I, Aruffo A, Amiot M, Seed B. The hematopoietic and epithelial forms of CD44 are distinct polypeptides with different adhesion potentials for hyaluronate-bearing cells. *EMBO J* 1991;10:343-8.
- 4) Miyake K, Medina KL, Hayashi S, Ono S, Hamaoka T, Kincaid PW. Monoclonal antibodies to Pgp-1/CD44 block lympho-hemopoiesis in long-term bone marrow cultures. *J Exp Med* 1990;171:477-88.
- 5) Arch R, Wirth K, Hofmann M, Ponta H, Matzku S, Herrlich P, et al. Participation in normal immune responses of a metastasis-inducing splice variant of CD44. *Science* 1992;257:682-5.
- 6) Gunthert U, Hofmann M, Rudy W, Reber S, Zoller M, Hausmann I, et al. A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. *Cell* 1991;65:13-24.

- 7) Mayer B, Jauch KW, Gunthert U, Figdor CG, Schildberg FW, Funke I, et al. De-novo expression of CD44 and survival in gastric cancer. *Lancet* 1993;342:1019-22.
- 8) Mulder JW, Kruyt PM, Sewnath M, Oosting J, Seldenrijk CA, Weidema WF, et al. Colorectal cancer prognosis and expression of exon-v6-containing CD44 proteins. *Lancet* 1994;344:1470-2.
- 9) Kaufmann M, Heider KH, Sinn HP, von Minckwitz G, Ponta H, Herrlich P. CD44 variant exon epitopes in primary breast cancer and length of survival. *Lancet* 1995;345:615-9.
- 10) Ristamaki R, Joensuu H, Soderstrom KO, Jalkanen S. CD44v6 expression in non-Hodgkin's lymphoma: an association with low histological grade and poor prognosis. *J Pathol* 1995;176:259-67.
- 11) Stamenkovic I, Amiot M, Pesando JM, Seed B. A lymphocyte molecule implicated in lymph node homing is a member of the cartilage link protein family. *Cell* 1989;56:1057-62.
- 12) Dougherty GJ, Landorp PM, Cooper DLHRK. Molecular cloning of CD44R1 and CD44R2, two novel isoforms of the human CD44 lymphocyte "homing" receptor expressed by hemopoietic cells. *J Exp Med* 1991;74:1-5.
- 13) Matsumura Y, Tarin D. Significance of CD44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation. *Lancet* 1992;340:1053-8.
- 14) Tanabe KK, Stamenkovic I, Cutler M, Takahashi K. Restoration of CD44H expression in colon carcinomas reduces tumorigenicity. *Ann Surg* 1995;222:493-501.
- 15) Tanabe KK, Ellis LM, Saya H. Expression of CD44R1 adhesion molecule in colon carcinomas and metastases. *Lancet* 1993;341:725-6.
- 16) Shibuya Y, Okabayashi T, Oda K, Tanaka N, Orita K. Expression of CD44 variant isoforms in human primary colon carcinomas and metastasis. *Gan To Kagaku Ryoho* 1996;23:169-73.
- 17) Shibuya Y, Okabayashi T, Oda K, Tanaka N. Ratio of CD44 epithelial variant to CD44 hematopoietic variant is a useful prognostic indicator in gastric and colorectal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 1998;28:609-14.
- 18) Miwa T, Watanabe A, Yamada Y, Shino Y, Yamada T, Yamashita J, et al. Progression in gastric carcinoma relative to the ratio of CD44 epithelial variant transcript to CD44 hematopoietic variant transcript. *Cancer* 1996;77:25-9.
- 19) Korea National Statistical Office. 1997 Annual Report. Seoul; 1998.
- 20) Kodera Y, Nakanishi H, Yamamura Y, Shimizu Y, Torii A, Hirai T, et al. Prognostic value and clinical implications of disseminated cancer cells in the peritoneal cavity detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and cytology. *Int J Cancer* 1998;79:429-33.
- 21) Araya M, Terashima M, Takagane A, Abe K, Nishizuka S, Yonezawa H, et al. Microvessel count predicts metastasis and prognosis in patients with gastric cancer. *J Surg Oncol* 1997;65:232-6.
- 22) Allgayer H, Heiss MM, Schildberg FW. Prognostic factors in gastric cancer. *Br J Surg* 1997;84:1651-64.
- 23) Heider KH, Hofmann M, Hors E, van den Berg F, Ponta H, Herrlich P, et al. A human homologue of the rat metastasis-associated variant of CD44 is expressed in colorectal carcinomas and adenomatous polyps. *J Cell Biol* 1993;120:227-33.
- 24) Koopman G, Heider KH, Horst E, Adolf GR, van den Berg F, Ponta H, et al. Activated human lymphocytes and aggressive non-Hodgkin's lymphomas express a homologue of the rat metastasis-associated variant of CD44. *J Exp Med* 1993;177:897-904.
- 25) Seiter S, Arch R, Reber S, Komitowski D, Hofmann M, Ponta H, et al. Prevention of tumor metastasis formation by anti-variant CD44. *J Exp Med* 1993;177:443-55.
- 26) Yamaguchi A, Urano T, Goi T, Saito M, Takeuchi K, Hirose K, et al. Expression of a CD44 variant containing exons 8 to 10 is a useful independent factor for the prediction of prognosis in colorectal cancer patients. *J Clin Oncol* 1996;14:1122-7.
- 27) Heider KH, Dammrich J, Skroch-Angel P, Muller-Hermelink HK, Vollmers HP, Herrlich 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.
- 28) Saito H, Tsujitani S, Katano K, Ikeguchi M, Maeta M, Kaibara N. Serum concentration of CD44 variant 6 and its relation to prognosis in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 1998;83:1094-101.
- 29) Park CH, Kang WK, Hong YS, Kim IC. Alteration of CD44 expression in gastric carcinogenesis and lymph node metastasis. *J Korean Surg Soc* 1998;54:36-46.