

결직장암에서 CD44s, CD44v5, CD44v6, p27^{kip1}의 발현 양상

인제대학교 의과대학 외과학교실, ¹가톨릭대학교 의과대학 외과학교실

정인철 · 김기홍 · 박영진 · 송병주 · 이명수 · 김철남 · 장석효 · 원종만¹ · 김지일

The Expression of CD44s, CD44v5, CD44v6, p27^{kip1} in Colorectal Carcinoma

In Chull Jung, M.D., Ki Hong Kim, M.D., Young Jin Park, M.D., Byung Joo Song, M.D., Myung Soo Lee, M.D., Chul Nam Kim, M.D., Seok Hyo Chang, M.D., Jong Man Won, M.D.¹ and Ji Il Kim, M.D.

Purpose: In treating colorectal carcinoma, metastasis and recurrence are the most important problems encountering after a curative resection of the tumor. Therefore, understanding the mechanism of the disease progression and being able to predict the likelihood of recurrence is very important.

Methods: In this study, 56 colorectal carcinoma cases were reviewed. Immunohistochemical staining on CD44s, CD44v5, CD44v6, and p27^{kip1} were performed to determine the expression level of the protein, the patient's clinical findings and the pathophysiology.

Results: 1) CD44v5 showed a positive response in 47 (83.9%) out of 56 cases. By analyzing the Astler-Coller classification and the invasion of the lymphatic system, the value expressed was significantly high. 2) p27^{kip1} showed a positive response in 35 (62.5%) out of 56 cases. As the disease progressed, there was a significant decrease according to analysis of Astler-Coller classification, and the invasion of the lymph node and lymphatics. The relationship showed an inverse correlation as the disease progressed. 3) For the CD44s and CD44v6, analysis by the Astler-Coller classification, the histological pattern, lymph node metastasis, invasion of the lymphatic system and the depth of the invasion, were not significantly different.

Conclusion: CD44v5 and p27^{kip1} have a relationship with tumor progression, and is a valuable marker for prognosis. In particular, CD44v5 appeared to be involved in tumor

progression where the tumor cell^L invaded the lymphatic system. (J Korean Surg Soc 2002;62:319-326)

Key Words: Colorectal carcinoma, CD44, p27^{kip1}
중심 단어: 결직장암, CD44, p27^{kip1}

Department of Surgery, College of Medicine, Inje University, Ilsan Paik Hospital, Ilsan, ¹Department of Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

서 론

결직장암은 세계적으로 볼 때 악성종양 중 발생 빈도가 3위인 암으로 우리나라에서도 식생활의 변화와 연관하여 발생 빈도가 점차 증가하고 있는 추세이며 남자의 경우 위암, 간암, 폐암 다음으로 많고, 여자의 경우 위암, 유방암, 자궁경부암 다음으로 많아 남녀 모두에서 4위를 차지한다.(1) 결직장암의 치료에 있어서 가장 중요한 문제는 수술 후 전이 및 재발이며, 이에 대한 위험도를 예측하는 예후 인자로 다양한 병기 분류법을 사용하고 있다. 분자 생물학적으로 종양은 종양 유전자의 활성화와 종양 억제 유전자의 불활성화와 연관된 다단계적인 유전자 변이가 축적되어 발생하며, 결직장암에서는 '정상-선종-선암'이라는 기전으로 잘 정립되어 있다.(2) 종양 세포가 침윤 및 전이에 관련된 일련의 유전자 변이가 축적되고 전이의 전 과정을 수행하는 데 필요한 유전자 산물을 갖게 되면 이 종양 세포는 전이 능력을 획득하게 된다.(3) 이러한 전이가 종양으로 인한 사망의 직접적인 원인이 되므로 종양이 전이능을 획득하게 되는 기전을 밝히고 이를 예측하는 것이 예후에 매우 중요하다. 종양 세포의 증식능과 이동, 이주 능력이 중요한 전이 인자로 작용하는 데 최근 세포의 부착, 이동, 이주, 성장, 분화 등을 조절하는 세포부착물질 및 세포의 증식에 관여하는 인자들과 종양 세포 전이와의 연관성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

CD44는 당단백 세포 표면물질로 초기에는 림프구 귀소 수용체(lymphocyte homing receptor)로 알려졌으나 혈구세포 외에 다양한 상피세포와 내피세포 및 중간엽세포에도 존재

책임저자 : 김지일, 경기도 고양시 일산구 대화동 2240
☎ 411-706, 인제대학교 일산백병원 일반외과
Tel: 031-910-7613, Fax: 031-910-7319
E-mail: jikim@ilsanpaik.ac.kr

접수일 : 2002년 1월 31일, 게재승인일 : 2002년 2월 11일
이 논문의 요지는 2001년도 추계통합학술대회에서 발표하였음.
본 논문은 2002년도 인제대학교 학술 연구 조성비 보조에 의한 것임.

하며 세포간, 세포-기질 간 상호작용과 세포의 이주, 종양의 성장 및 침윤에 관여하는 세포 부착물질로 생각되고 있다.(4-6) CD44 유전자는 11p13에 위치하고 있고 20개의 axon을 가지고 있으며 CD44s 분자는 5개의 아미노말단 axon과 5개의 카르복시말단 axon으로 구성된다. 중간 부위를 구성하는 나머지 10개의 axon들은 정상적으로 발현되지 않으나 교대접합(alternative splicing)에 의해 5번과 6번 axon 사이에 삽입되면 다양한 이형들이 만들어진다.(7) 이러한 CD44 이형 중 CD44v6은 동물 모델의 여러 종양 세포주, 특히 전이능을 갖는 종양 세포주에 존재한다고 알려져 있다.(8) 사람에서는 호즈킨 림프종을 비롯한 유방암, 폐암, 위암 등의 고형암에서 발현이 보고되었다.(9,10) CD44v6과 더불어 CD44v5를 포함한 다른 이형들도 암의 성장과 전이에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.(11)

종양의 전이와 함께 종양의 증식 능력도 중요한 예후인자로서 활발한 연구가 진행되고 있는데, p27^{kip1}은 cyclin-dependent kinase inhibitor (CKI)들 중의 하나로 세포의 성장과 증식을 조절한다고 알려져 있다.(12) p27^{kip1}의 주요 기능은 세포의 성장을 억제하는 역할이지만 종양이 진행되는 과정에서 p27^{kip1}의 성장억제 기능을 극복할 수 있게 되면 종양세포가 오히려 p27^{kip1}의 발현을 억제하게 되고,(13) 세포의 증식은 촉진되며 세포간 접착력은 감소되어 종양 전이가 촉진된다고 생각하고 있다.(14) 또한 유방암과 결직장암 등 일부 고형암에서는 종양의 악성도와 역상관 관계가 있다는 보고가 있다.(15)

결직장암에서 세포 부착 물질 CD44와 그 이형들의 발현 양상과 종양 진행과의 연관성에 대한 연구가 있으나 주장하는 바가 다양하며 특히 종양 전이의 중요한 단계인 '림프관 침범'을 기준으로 분석한 연구는 매우 적다. 본 연구는 원발성 결직장암에서 CD44s, CD44v5, CD44v6, 그리고 p27^{kip1}에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 단백질 발현 양상과 환자의 임상 및 병리조직학적 소견을 비교하여 종양의 발생과 진행 및 예후에 대한 연관성을 알아보고자 하였다.

방 법

1) 대상

1997년 1월부터 1999년 12월까지 결직장암으로 진단받아 근치적 또는 비근치적 절제술로 얻어진 조직 중 선암으로 진단된 예로 파라핀 블록 보관상태가 양호하고 임상기록의 재검토가 가능했던 56예를 대상으로 하였다.

2) 방법

(1) 임상기록 및 병리조직소견 검색: 환자의 임상기록지로부터 림프절 전이 및 원격 전이 유무를 조사하였고, 병리조직 검사를 위해 의뢰되었던 조직에서 육안 및 현미경적

소견을 검색하였다. 임상병기는 Astler-Coller 분류법에 따라 분류하였으며, 조직학적 분류는 WHO 분류를 기준으로 하였다.

(2) 면역조직화학 염색 방법: CD44 단백질 검출을 위한 일차항체로는 anti-CD44std monoclonal antibody (Bender Med. systems, Austria), anti-human CD44v5 monoclonal antibody (R&D systems, Minneapolis, Minnesota, USA), anti-human CD44v6 monoclonal antibody (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA)를 사용하였고, p27^{kip1} 단백질 검출을 위한 일차항체로는 anti-p27^{kip1} monoclonal antibody (Transduction Lab. Lexington, Kentucky, USA)를 사용하였다. 이들 단백질에 대한 면역조직화학 염색방법은 다음과 같다. 10% 중성 완충 포르말린에 고정된 후 통상적으로 제작된 파라핀 포매 조직을 4μm 두께로 박절하고 poly-L-lysine으로 처리한 슬라이드에 부착시켜 56°C 온상고에서 48시간 동안 건조시킨 후 크실렌(xylene) 용액에서 파라핀을 제거하고 100%, 90%, 80% 및 70% 에탄올에 각각 1분씩 담가 함수시키고 증류수로 씻어내었다. 3% 과산화수소수를 조직절편 위에 떨어뜨려 30분간 실온에 방치하여 내인성 peroxidase를 제거하고 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 후 citrate buffer (pH 6.0) 용액에 15분간 microwave 전처리하였다. 1 : 500으로 희석된 단클론 1차 항체와 4°C에서 하룻밤 반응시킨 후, 2차 항체(biotinylated anti-mouse anti-rabbit and anti-goat monoclonal antibody)를 실온에서 30분간 반응시킨 후 PBS로 씻었다. Streptavidin peroxidase complex를 30분간 반응시키고 PBS로 씻은 후 발색제인 tri-amino-9-ethyl-carbazole (AEC)을 첨가하였다. Mayer hematoxylin으로 30초간 대조 염색 후 crystal mount로 봉입하여 현미경으로 관찰하였다.

3) 면역조직화학 염색의 판독

염색된 조직을 현미경으로 관찰하여 CD44s는 세포질 내 적갈색 과립으로 혹은 세포막을 따라 적갈색으로 염색되면 양성으로 판독하였고, CD44v5와 CD44v6은 세포막을 따라 적갈색 과립으로 염색되면 양성으로 판독하였으며, p27^{kip1} 단백질의 발현은 핵내에 적갈색 과립으로 염색되면 양성으로 판독하였다.

CD44s, CD44v5 그리고 CD44v6의 발현은 현미경 400배 시야에서 500개의 세포를 연속적으로 계수하여 양성인 세포가 5% 이하인 경우는 음성으로, 6~35%인 경우는 약양성으로 1점(Fig. 1A), 36~70%인 경우는 중등도 양성으로 2점(Fig. 1B), 71% 이상인 경우는 강양성으로 3점으로 하였으며(Fig. 1C), 양성으로 염색되는 종양세포의 염색 강도에 따라 약양성으로 염색된 경우를 1점, 강양성으로 염색된 경우 3점, 그 중간 정도로 염색되면 2점으로 평가하였다(Fig. 2). 양성 발현의 최종 등급은('양성 등급') 양성반응을 보이는 세포 수에 따른 반정량적인 점수와 양성 강도에 따른 점수를 곱하여 나오는 1점부터 9점까지의 수치를 다시 세 등급

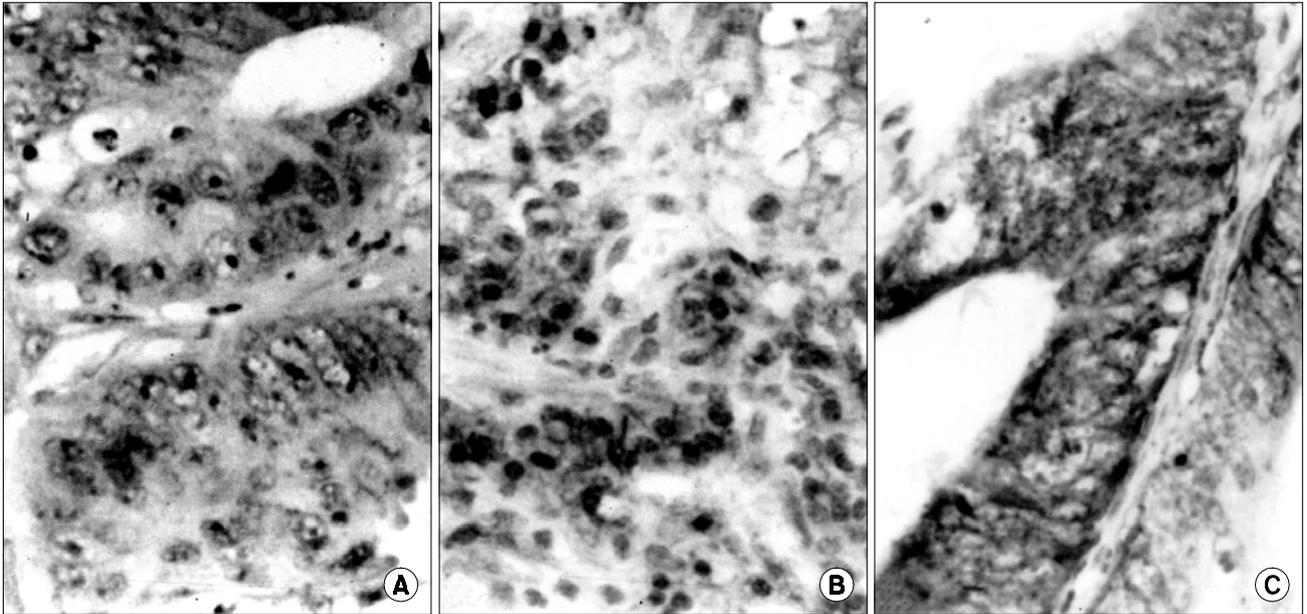


Fig. 1. Representative immunohistochemical staining of CD44s according to percentage. A = grade 1 (6~35%), B = grade 2 (36~70%), C = grade 3 (more than 70%) (× 200).

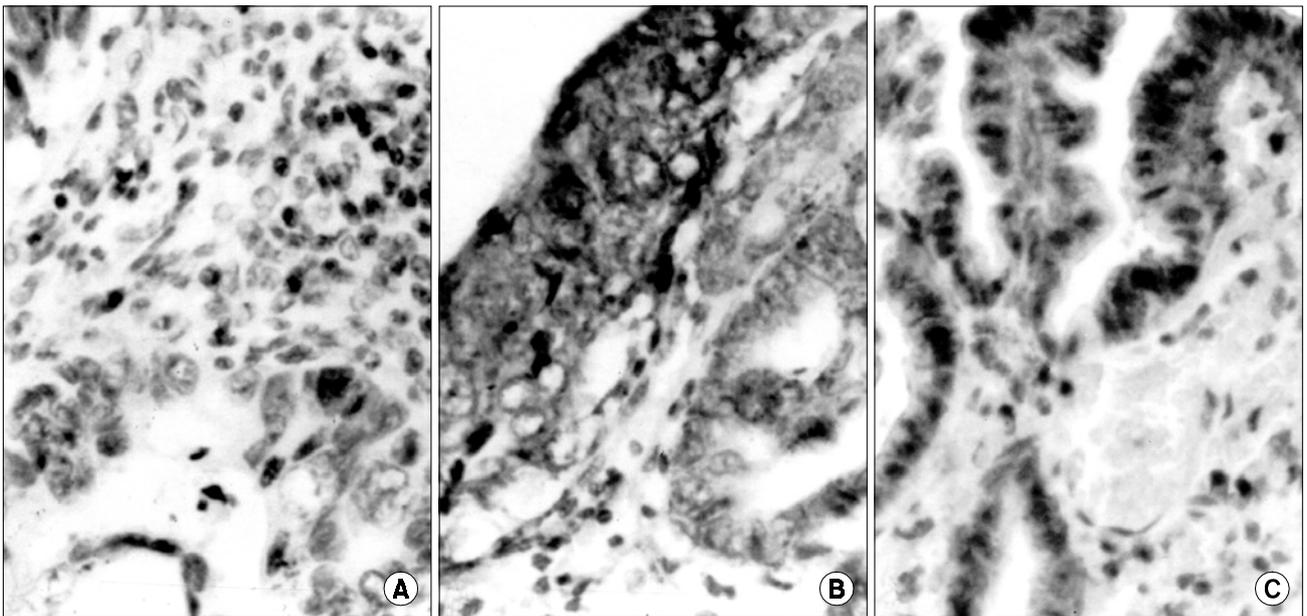


Fig. 2. Representative immunohistochemical staining of CD44s according to intensity. A = grade 1 (weak positive), B = grade 2 (between grade 1 & 3), C = grade 3 (strong positive) (× 200).

으로 나누어 1, 2점은 1등급(약양성 발현), 3, 4점은 2등급(중등도 양성 발현), 6, 9점은 3등급(강양성 발현)으로 정하였다.(11,16)

p27^{kip1} 단백질의 발현도 같은 방법으로 계수하여 양성세포 수가 9% 이하인 경우는 음성으로 보았으며, 양성 세포 수가 10~50%인 경우 1점, 51% 이상인 경우 2점으로 평가하

였다.(17)

4) 통계학적 분석

각 염색에서 양성 반응의 빈도의 비교 분석은 IBM PC의 SPSS system (version 10.0)을 이용하여 Spearman 상관 계수를 구하여 상관 관계를 알아보고, Chi-square 혹은 Mantel

Haenszel chi-square test를 이용하여 P-value가 0.05 이하일 때를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1) 자료 분석

56예의 연령 분포는 33세에서 72세로 평균 연령은 53.4세 이었다. 그중 50대가 16예(28.6%), 60대가 18예(32.1%)로 50대와 60대가 반 이상을 차지하였으며 남자가 32예(57.1%), 여자가 24예(42.9%)로 남녀 비는 약 1.3 : 1로 남자가 약간 많았다.

암의 조직학적 유형별로는 통상적인 선암이 52예, 점액선암 3예, 유두상 선암 1예였으며, 52예의 통상적인 선암 중 고분화 암 11예(21.2%), 중분화 암 38예(73.1%), 저분화 암 3예(5.7%)로 중분화 선암이 가장 많았다.

Astler-Coller 분류에 의한 병기별로는 A 4예(7.1%), B1 12예(21.4%), B2 18예(32.1%), C1 3예(5.4%), C2 16예(28.6%), D 3예(5.4%)였으며, 림프절 및 원격 전이는 없으나 림프관 침범이 확인된 예는 B1 12예 중 3예(25%)와 B2 18예 중 5예(27.8%)였다. 또한 암의 침윤 정도로 보면 근육층을 넘어선 경우가 B2와 C2를 합하여 34예(60.7%)로 가장 많았다. 원격 전이가 확인된 3예는 간 전이가 2예, 난소 전이가 1예였다.

2) 면역조직화학 염색 양상과 단백질 발현 빈도

(1) **CD44s**: 종양 주위의 정상 점막 선세포의 세포질 또는 세포막은 대부분은 약양성 발현을 보였다. 종양세포에서는 세포막을 따라 염색되는 것과 세포질 내 과립상으로 염색되는 등 다양한 형태를 보였다. 총 56예의 결직장암 중 47예(83.9%)에서 양성반응을 보였고, 20예(35.6%)는 약양성, 17예(30.4%)에서는 중등도, 10예(17.9%)에서는 강양성의 과발현을 보였다(Table 1).

(2) **CD44v5**: 종양주위 정상 점막 상피세포에서는 거의 발현을 보이지 않았고, 종양조직에서는 국소 또는 많은 종양 세포에서 세포막을 따라 다양한 강도의 발현을 보였다. 총 56예의 결직장암 중 47예(83.9%)에서 양성 반응을 보였고, 이 중 14예(25.0%)는 약양성, 14예(25.0%)는 중등도 양성, 19예(33.9%)에서는 강양성의 과발현을 보였다(Table 1).

(3) **CD44v6**: CD44v6은 CD44v5와 유사한 염색양상을 보였다. 정상 점막 상피세포에서는 음성이었으며 총 56예의 결직장암 중 49예(87.5%)에서 양성 반응을 보였고, 이 중 14예(25.0%)는 약양성, 14예(25.0%)는 중등도 양성, 21예(37.5%)에서는 강양성의 과발현을 보였다(Table 1).

(4) **p27^{kip1}**: 총 56예의 결직장암 중 35예(62.5%)에서 양성 반응을 보였고, 이 중 19예(33.9%)는 국소적으로 양성을 보였으며 16예(28.6%)에서는 비교적 넓은 부위에서 양성반응을 보였다(Table 1).

3) 종양의 진행도와 단백질 발현 양상의 상관관계

(1) **Astler-Coller 분류에 따른 연관성**: CD44s는 병기에 따라 유의한 차이가 없었으며, CD44v5는 Astler-Coller 분류에 따라 병기가 진행할수록 유의하게 높은 발현을 보였고, CD44v6은 병기가 진행함에 따라 발현이 높아지는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. p27^{kip1} 단백질은 병기가 진행할수록 발현이 감소하였으며 통계학적으로 유의한 차이가 있었다(Table 2).

(2) **조직학적 분류에 따른 연관성**: CD44s는 중분화 선암에서 약간 높은 발현을 보였고, CD44v5와 CD44v6은 분화도가 떨어질수록 약간 높은 발현을 보였으며, p27^{kip1} 단백질은 분화도가 좋을수록 높은 발현을 보이는 경향이 있었으나 모두 통계학적으로 유의한 차이는 없었다(Table 3).

(3) **림프절 전이와의 연관성**: CD44s의 발현과 림프절 전이는 유의한 차이가 없었으며, CD44v5는 림프절 전이가 있는 경우에서 높게 발현되는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 아니었고, CD44v6 또한 통계학적으로 유의한

Table 1. Immunohistochemical staining pattern of CD44s, CD44v5, CD44v6, and p27^{kip1} in colorectal carcinoma

	No. of case (%)			
	CD44s	CD44v5	CD44v6	p27 ^{kip1}
Negative	9 (16.1)	9 (16.1)	7 (12.5)	21 (37.5)
Positive	47 (83.9)	47 (83.9)	49 (87.5)	35 (62.5)
+	20 (35.6)	14 (25)	14 (25)	19 (33.9)
++	17 (30.4)	14 (25)	14 (25)	16 (28.6)
+++	10 (17.9)	19 (33.9)	21 (37.5)	- (-)
Total	56 (100)	56 (100)	56 (100)	56 (100)

Table 2. Incidence of CD44s, CD44v5, CD44v6, and p27^{kip1} expression according to Astler-Coller classification

Stage	Total No. of case (%)	No. positive immunoreactivity (%)			
		CD44s	CD44v5	CD44v6	p27 ^{kip1}
A	4 (7.1)	3 (75.0)	3 (75.0)	3 (75.0)	3 (75.0)
B1	12 (21.4)	11 (91.7)	10 (83.3)	11 (91.7)	9 (75)
B2	18 (32.1)	16 (88.9)	14 (77.8)	16 (88.9)	14 (77.8)
C1	3 (5.4)	2 (66.7)	3 (100)	3 (100)	1 (33.3)
C2	16 (28.6)	13 (81.2)	14 (87.5)	13 (81.2)	7 (43.7)
D	3 (5.4)	2 (66.7)	3 (100)	3 (100)	1 (33.3)
Total	56 (100)	47 (83.9)	47 (83.9)	49 (87.5)	35 (62.5)
P value		0.384	0.025	0.375	0.008

Table 3. Incidence of CD44s, CD44v5, CD44v6 and p27^{kip1} in relation with histologic type

Histologic type	Total No. of cases (%)	No. of positive cases (%)			
		CD44s	CD44v5	CD44v6	p27 ^{kip1}
*WD	11 (20)	8 (72.7)	7 (63.7)	8 (72.7)	8 (72.7)
† MD	38 (68)	34 (89.5)	34 (89.5)	35 (92.1)	24 (63.2)
‡ PD	3 (5)	2 (66.7)	3 (100)	3 (100)	2 (66.7)
§ Papillary	1 (2)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0 (0)
Mucinous	3 (5)	2 (66.7)	2 (66.7)	2 (66.7)	1 (33.3)
Total	56	47	47	49	35
P value		0.492	0.227	0.320	0.513

*WD = well differentiated adenocarcinoma; † MD = moderately differentiated adenocarcinoma; ‡ PD = poorly differentiated adenocarcinoma; § Papillary = papillary adenocarcinoma; || Mucinous = mucinous adenocarcinoma.

Table 4. Incidence of CD44s, CD44v5, CD44v6 and p27^{kip1} expression according to lymph node involvement

Node metastasis	Total No. of cases (%)	No. of positive immunoreactivity (%)			
		CD44s	CD44v5	CD44v6	p27 ^{kip1}
Negative	34 (61)	30 (88.2)	27 (79.4)	30 (88.2)	26 (76.5)
Positive	22 (39)	17 (77.3)	20 (90.9)	19 (86.4)	9 (40.9)
Total	56 (100)	47 (83.9)	47 (83.9)	49 (87.5)	35 (62.5)
P value		0.234	0.224	0.572	0.008

차이가 없었다. p27^{kip1} 단백질은 전이가 있는 경우 유의하게 발현이 감소되었다(Table 4).

(4) 림프관 침범과의 연관성: CD44s는 유의한 차이가 없었으나, CD44v5는 림프관 침범이 있는 경우 유의하게 높은 발현을 보였으며, CD44v6은 림프관 침범이 있는 경우에서 발현 강도가 높은 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. p27^{kip1} 단백질은 림프관 침범이 있는 경우 유의하게 발현이 감소되었다(Table 5).

(5) 종양 침윤 깊이와의 연관성: CD44s는 유의한 차이가 없었고, CD44v5와 CD44v6은 종양 침윤의 깊이에 따라 발현 강도가 높아지는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. p27^{kip1} 단백질은 종양 침윤의 깊이에 따라 감소하는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다(Table 6).

고 찰

결직장암은 우리나라에서도 발생 빈도가 점차 증가하고

Table 5. Incidence of CD44s, CD44v5, CD44v6 and p27^{kip1} according to lymphatics involvement

Lymphatic invasion	Total No. of cases (%)	No. of positive immunoreactivity (%)			
		CD44s	CD44v5	CD44v6	p27 ^{kip1}
Negative	26 (46.4)	22 (84.6)	19 (73.1)	22 (84.6)	23 (88.5)
Positive	30 (53.6)	25 (83.3)	28 (93.3)	27 (90)	12 (40)
Total	56 (100)	47 (83.9)	47 (83.9)	49 (87.5)	35 (62.5)
P value		0.811	0.0001	0.086	0.0001

Table 6. Incidence of CD44s, CD44v5, CD44v6 and p27^{kip1} expression according to depth of invasion

Depth of invasion	Total No. of cases (%)	No. of positive immunoreactivity (%)			
		CD44s	CD44v5	CD44v6	p27 ^{kip1}
A	4 (7.1)	3 (75)	3 (75)	3 (75)	3 (75)
B1 & C1	15 (26.8)	13 (86.7)	13 (86.7)	14 (93.3)	10 (66.7)
B2 & C2	34 (60.7)	29 (85.3)	28 (82.4)	29 (85.3)	21 (61.8)
D	3 (5.4)	2 (66.7)	3 (100)	3 (100)	1 (33.3)
Total	56 (100)	47 (83.9)	47 (83.9)	49 (87.5)	35 (62.5)
P value		0.731	0.389	0.621	0.124

A = limited to the mucosa; B1 & C1 = extending into the muscularis propria but not penetrating through it (B1 = node negative; C1 = node positive); B2 & C2 = penetrating through the muscularis propria (B2 = node negative; C2 = node positive); D = distant metastatic spread.

있는 추세이며 남녀 모두에서 4번째로 빈발하는 암으로 환자의 절반 이상이 암 전이로 사망한다. 종양 절제 후 전이와 재발 가능성에 대한 예후 추정인자로는 환자의 연령, 종양의 크기, 종양 침윤의 깊이와 림프절 전이를 포함하는 Astler-Coller 병기 분류, 조직학적 유형 및 종양 관련 유전자 발현 여부 등이 있으며 이 중 전이 여부가 중요한 예후인자 중의 하나이다. 또한 수술 당시 림프절이나 원격장기에 미세전이 이미 일어났으나 통상적인 검사에서 확인되지 않을 수가 있으며 이에 대한 예측은 중요한 의미가 있다.

정상세포에서 여러 단계의 유전자 변이가 축적되어 종양 세포로 전환되고, 이 종양세포가 증식하는 과정에서 보다 빨리 증식할 수 있는 세포가 선택되어 종양 증식을 하게 되며, 계속되는 유전자 변이가 일어나서 원발종양으로부터 전이가 일어나는 여러 단계를 충분히 수행할 수 있는 능력을 획득한 세포만이 전이를 일으키게 된다.(3,18) 종양의 전이는 원발종양에서 종양세포의 탈락, 기저막을 넘어서 세포외 기질로 이동, 림프관이나 혈관 침범, 원발 장기의 혈관 벽에 부착 및 탈출, 전이 장기에서 증식하는 여러 단계를

거쳐서 일어난다.(18) 종양세포의 '이주능과 증식능'은 종양 전이와 관련된 중요한 인자이다.(19)

종양 세포의 이주과정에서 세포-세포, 세포-기질 간의 상호작용이 중요하며 최근 이러한 과정에 관여하는 세포 부착분자(adhesion molecule)에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 세포 부착분자 군에는 cadherin, integrin, selectin, CD44 family 및 immunoglobulin superfamily 등이 있다. 이 중 CD44는 세포막 통과가 가능한 당단백으로 히알루론산 수용체로서 림프구가 내피세포에 부착하여 림프구의 재순환과 활성화에 관여하며 림프구 외에도 다양한 상피세포와 중간엽세포에서도 발현되어 세포-세포 간, 세포-기질 간의 상호작용에 관여할 뿐만 아니라 종양세포와 혈관 내피세포와의 상호작용에 관여한다. 고대접합으로 만들어지는 CD44 이형들의 기능은 아직 잘 알려져 있지 않으나 종양 발생 및 종양 전이와 연관이 있다고 보고되었다.(8,20) 그 후 대장암 및 여러 고형 암에서 CD44 이형이 보고되었으며, 종양의 진행 및 전이와의 연관성에 대해서는 다양한 결과를 보여주고 있다.

CD44s가 종양 발생에 관여하는지 또는 어떤 역할을 하는지에 대해서는 아직 명확히 규명되지는 않았지만 Abbasi 등(21)은 선종성 용종과 결직장암에 대한 CD44s와 Ki-67 발현 연구에서, CD44s는 정상세포, 양성 및 악성 종양 모두에서 증식이 왕성한 부위에서만 발현되었고 종양의 진행과는 연관성을 보이지 않았다고 보고하였다. 그러나 김 등(16)은 CD44s가 정상 세포보다 종양세포에서 유의하게 높은 발현을 보여 종양발생과 관련이 있는 것으로 생각된다고 하였다.

저자의 연구에서 CD44s는 Astler-Coller 병기 분류, 종양의 분화도, 림프절 및 림프관 침범, 종양 침윤 깊이와 유의한 상관 관계를 보이지 않아 종양의 전이 및 재발 등 예후를 예측하는 인자로 이용하기에는 적절하지 않을 것으로 생각된다.

CD44v5의 발현에 대해서는 아직 많은 연구가 이루어지지 않았지만, Wielenga 등(22)은 결직장암의 병기가 진행하면 CD44v5의 발현이 증가한다고 보고하였으나, Herrlich 등(23)은 CD44v5가 결직장암 발암과정의 초기부터 발현된다고 하였고, Neumayer 등(24)은 저분화 선종에서 가장 강한 발현을 보인다고 보고하였다.

저자의 연구에서 CD44v5는 Astler-Coller 분류에 따른 분석에서 병기의 진행과 유의한 상관 관계가 있었으며, 림프관 침범이 있는 경우 유의하게 높게 발현되어 통계학적으로 유의한 연관성을 보였다. 그러나 림프절 전이 여부에 따른 분석에서는 림프절 전이가 있는 경우에서 높게 발현되는 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다. 림프관 침범이 있는 경우는 그 자체로 림프절 및 원격 전이와 동일시할 수는 없으나 통상적인 검사로 확인되지 않는 미세 전이가 이미 일어났을 가능성 또는 적어도 앞으로 전

이가 일어날 가능성이 있음을 의미한다. 따라서 결직장암에서 CD44v5의 발현은 앞으로 전이가 나타날 가능성을 암시할 수 있어서 예후인자로서의 가치가 있다고 생각된다. 또한 종양의 진행과정 중 종양 세포가 림프관을 침범하는 과정에 관여하는 것으로 생각된다. 그러나 이 과정을 밝히기 위해서는 추가적인 연구가 필요할 것이다.

Wielenga 등(22)은 결직장암에서 변종인 CD44v6의 발현이 Astler-Coller 병기 A/B에서보다 병기 C/D에서 더 강하게 나타나므로 CD44 이형이 암의 진행과 전이에 관여하며 이미 밝혀진 전이가 없는 경우에도 앞으로 전이가 나타날 가능성을 암시할 수 있어 예후인자로서의 가치가 있다고 하였다. 또 전 등(25)은 CD44의 몇몇 이형은 결직장암의 표식자가 될 수 있으며, 특히 이에 대한 RT-PCR 방법을 이용하면 정상으로 보이는 인접 림프절에서도 미세전이 여부를 민감하게 확인할 수 있다고 하였다. 그러나 Koretz 등(26)은 분화가 좋지 않은 선암에서 발현의 빈도가 높지만 Dukes 병기, 조직형 그리고 종양의 위치와는 연관성이 없는 것으로 보고하였고 더구나 생존율 및 재발 출현시기와의 비교에서도 연관성을 보이지 않아 CD44v6이 독립적인 예후인자로서의 가치가 없다고 하였다. 김 등(16)은 CD44와 CD44v6의 발현 유무는 환자의 나이, 성별, 침윤 정도, 림프절 전이 유무, 종양의 분화도 및 종양의 위치 등의 예후 예측인자들과 유의한 차이를 찾을 수 없다고 하였다. 그러나 이 등(27)은 CD44v6에 양성인 종양세포의 백분율에 따라 등급을 매긴 후 이를 종양의 진행 정도와의 상관 관계를 조사한 결과 Astler-Coller 병기 C/D인 침윤성 선암이 선종, 상피내암 및 Astler-Coller 병기 A/B인 침윤성 암에 비해 유의하게 높은 결과를 보여 종양 조직에서 CD44v6이 광범위하게 양성으로 염색되는 경우 전이가 있을 가능성을 암시하는 또 하나의 인자가 될 수 있을 것이라고 하였다. CD44v6과 종양의 진행과의 연관성에 대해서는 여러 연구들에서 그 주장하는 내용이 다양하나 '정상세포에서는 발현되지 않으며 선종 이상의 종양에서만 발현된다.'는 점에 대해서는 거의 이견이 없다.

저자의 연구에서도 CD44v6은 Astler-Coller 병기 분류, 조직학적 유형, 림프절 전이 및 림프관 침범 그리고 종양 침윤의 깊이에 따른 분석에서 모두 상관 관계를 보이지 않아 예후인자로 이용하기에는 적당하지 않은 것으로 생각된다.

종양의 전이와 함께 종양의 증식 능력도 중요한 예후인자로 작용한다. p27^{kip1}은 다양한 cyclin-dependent kinase inhibitor (CKI)들 중의 하나로 세포주기의 G1기에서 S기로의 이행을 조절하는 CDK2/cyclin E 복합체와 CDK4,6/cyclin D 복합체의 기능을 억제한다.(28) p27^{kip1} 발현의 소실은 세포주기 조절 억제가 감소되어 결국 세포 증식이 촉진되는 효과를 나타낸다. 또한 p27^{kip1} 발현의 감소가 세포간 접착력을 감소시켜 종양 전이에 기여한다는 보고가 있다.(14,17) Fredersdorf 등(15)은 유방암과 결직장암에서 병기가 진행될

수록 p27^{kip1} 발현이 감소하는 역상관 관계를 보인다고 하였으며, Kudoh 등(29)은 p27^{kip1} 발현과 비호즈킨 림프종의 조직병리학적 등급과의 연관성 연구에서 유의한 상관 관계가 있었으며, 환자의 생존기간 분석에서 p27^{kip1} 발현이 감소할수록 예후가 나쁘다고 하였다.

저자의 연구에서도 Astler-Coller 분류에 따른 병기가 진행할수록 p27^{kip1} 발현이 유의하게 감소되었으며, 림프절 전이 및 림프관 침범이 있는 경우에서 유의하게 감소되어 종양의 진행과 역상관 관계를 보였으며, 예후인자로서의 가치가 있다고 생각되었다.

결 론

저자들은 56예의 원발성 결직장암을 대상으로 세포 부착 물질 CD44 및 그 이형인 CD44v5, CD44v6과 p27^{kip1} 단백질 발현 양상이 종양의 발생과 진행에 어떤 연관성이 있는지를 알아보고자 면역조직화학적 염색을 시행하고, 환자의 임상 및 병리조직학적 소견을 비교분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) D44s의 발현 양상은 총 56예 중 47예(83.9%)에서 양성 반응을 보였으나 Astler-Coller 분류, 조직학적 유형, 림프절 전이, 림프관 침범 및 종양의 침윤 깊이에 따른 분석에서 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

2) CD44v5는 총 56예 중 47예(83.0%)에서 양성 반응을 보였으며, Astler-Coller 분류, 림프관 침범 여부에서 병기가 진행할수록 발현도가 높았으며 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 조직학적 유형, 림프절 전이 및 종양의 침윤 깊이에 따른 분석에서 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

3) CD44v6은 정상점막에서는 거의 발현되지 않았고, 총 56예의 대장암 중 49예(87.5%)에서 양성 반응을 보였으나 Astler-Coller 분류, 조직학적 유형, 림프절 전이, 림프관 침범 및 종양의 침윤 깊이에 따른 분석에서 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

4) p27^{kip1}은 총 56예의 대장암 중 35예(62.5%)에서 양성 반응을 보였고, Astler-Coller 분류, 림프절 전이 및 림프관 침범에 따른 분석에서 병기가 진행될수록 발현도가 유의하게 감소하여 종양의 진행과 역상관 관계가 있었다. 조직학적 유형이나 종양의 침윤 깊이에 따른 분석에서 유의한 차이는 없었다.

이상의 결과로 CD44s와 CD44v6은 종양의 발생이나 진행과는 연관을 보이지 않아 예후인자로서의 가치가 없는 것으로 나타났으나, CD44v5와 p27^{kip1}은 종양의 진행과 연관성이 있음을 알 수 있었고, 예후인자로서의 가치가 있다고 생각된다. 특히 CD44v5는 종양의 진행과정 중 종양 세포가 림프관을 침범하는 과정에 관여하였을 가능성을 시사한다.

REFERENCES

- 1) Landis SH, Murry T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 1998. CA Cancer J Clin 1998;48:6-29.
- 2) Cho KR, Vogelstein B. Genetic alterations in the adenoma-carcinoma sequence. Cancer 1992;70(6 suppl):1727-31.
- 3) Hart IR, Goode NT, Wilson RE. Molecular aspects of the metastatic cascade. Biochim Biophys Acta 1989;989:65-84.
- 4) 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.
- 5) Jackson DG, Buckley J, Bell JI. Multiple variants of the human lymphocyte homing receptor CD44 generated by insertions at a single site in the extracellular domain. J Biol Chem 1992; 267:4732-9.
- 6) Faassen AE, Schrage JA, Klein DJ, Oegema TR, Couchman JR, McCarthy JB. A cell surface chondroitin sulfate proteoglycan, immunologically related to CD44, is involved in type I collagen-mediated melanoma cell motility and invasion. J Cell Biol 1992;116:512-31.
- 7) Underhill C. CD44: the hyaluronan receptor. J Cell Sci 1992; 103:293-8.
- 8) Gunthert U, Hofman M, Rudy W, Reber S, Zoller M, Haufmann I, et al. A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. Cell 1991;65:13-24.
- 9) Charpin C, Garcia S, Bouvier C, Devictor B, Andrac L, Choux R, et al. Automated and quantitative immunocytochemical assays of CD44v6 in breast carcinomas. Hum Pathol 1997;28: 289-96.
- 10) Tran TA, Kallakury BVS, Sheehan CE, Ross JS. Expression of CD44 standard form and variant isoforms in non-small cell lung carcinomas. Hum Pathol 1997;28:809-14.
- 11) Muller W, Schneiders A, Heider KH, Meier S, Hommel G, Gabbert HE. Expression and prognostic value of the CD44 splicing variants v5 and v6 in gastric cancer. J Pathol 1997; 183:222-7.
- 12) Polyak K, Kato YJ, Solomon MJ, Sherr CJ, Massague J, Roberts JM, Koff A. p27^{kip1}, a cyclin-dependent kinase inhibitor, links transforming growth factor- β and contact inhibition to cell cycle arrest. Genes Dev 1994;8:9-22.
- 13) Orossetti R, Kawamata N, Gombart AF, Miller CW, Hatta Y, Hiramata T. Blood 1995;86:1924-30.
- 14) Pagano M, Tom SW, Theodoras AM, Beer-Romero P, Del Sal G, Chau V, et al. Science 1995;269:682-5
- 15) Fredersdorf S, Burns J, Milne AM, Packham G, Fallis L, Gillett CE, et al. High level expression of p27^{kip1} and cyclin D1 in some human breast cancer cells: Inverse correlation between the expression of p27^{kip1} and degree of malignancy in human breast and colorectal cancers. Proc Natl Acad Sci USA 1997;94:6380-5.
- 16) Kim DC, Rha SH, Jeong JS, Hong SH. Expression of cell

- adhesion molecules -CD44 molecules -CD44 and -CD44v6 in colorectal carcinoma. *Korean J Pathol* 1998;32:655-62.
- 17) Thomas GV, Szigeti K, Murphy M, Draetta G, Pagano M, Loda M. Down-regulation of p27 is associated with development of colorectal adenocarcinoma metastases. *Am J Pathol* 1998;153:681-7.
- 18) Hart IR, Saini A. Biology of tumor metastasis. *Lancet* 1992; 339:1453-7.
- 19) Robbins BA, de la Vega D, Ogata K, Tan EM, Nakamura RM. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies. *Arch Pathol Lab Med* 1987;111:841-5.
- 20) Reber S, Matzku S, Gunthert U, Ponta H, Herrlich P, Zoller M. Retardation of metastatic tumor growth after immunization with metastasis-specific monoclonal antibodies. *Int J Cancer* 1990;46:919-27.
- 21) Abbasi AM, Chester KA, Talbot IC, Macpherson AS, Boxer G, Forbes A, et al. CD44 is associated with proliferation in normal and neoplastic human colorectal epithelial cells. *Eur J Cancer* 1993;29A:1995-2002.
- 22) Wielenga VJ, Heider KH, Offerhaus GJ, Adolf GR, van den Berg FM, Ponta H, et al. Expression of CD44 variant proteins in human colorectal cancer is related to tumor progression. *Cancer Res* 1993;53:4754-6.
- 23) Herrlich P, Zoller M, Pals ST, Ponta H. CD44 splice variants: metastases meet lymphocytes. *Immunol Today* 1993;14:395-8.
- 24) Neumayer R, Rosen HR, Reiner A, Sebesta C, Schmid A, Tuchler H, et al. CD44 expression in benign and malignant colorectal polyps. *Dis Colon Rectum* 1999;42:50-5.
- 25) Chun SY, Bae OS, Kim JB. The significance of CD44 variants expression in colorectal cancer and its regional lymph nodes. *J Korean Med Sci* 2000;15:696-700.
- 26) Koretz K, Moller P, Lehnert T, Hinz U, Otto HF, Herfarth C. Effect of CD44v6 on survival in colorectal carcinoma. *Lancet* 1995;345:327-8.
- 27) Lee E, Kim KM, Lee A, Kim BK. Expression of CD44v6 protein in the progression of colorectal carcinomas. *Korean J Pathol* 2000;34:636-41.
- 28) Draetta GF. Mammalian G1 cyclins. *Curr Opin Cell Biol* 1994; 6:842-6
- 29) Kudoh S, Kumaravel TS, Kumaravel B, Eguchi M, Asaoku M, Dohy H, et al. Protein expression of cell cycle regulator, p27Kip1, correlates with histopathological grade of non-Hodgkin's lymphoma. *Jpn J Cancer Res* 1999;90:1262-9.
-