Immunohistochemical Evaluation of E-cadherin/catenin (α -, β -, γ -catenin and p120^{CTN}) Complex Expression in Early Gastric Cancer

Tae Yong Jo, M.D.¹, Tae Yong Jeon, M.D.¹, Kyu Hwang Chae, M.D.¹, Dong Heon Kim, M.D.¹, Moon Sup Sim, M.D.¹, Do Youn Park, M.D.² and Kang Seuk Suh, M.D.²

Departments of ¹Surgery and ²Pathology, College of Medicine, Pusan National University, Busan, Korea

Purpose: The significance of abnormal E-cadherin/catenin complex expression and the correlation of each of its components in cancer remain unclear. This study aimed to characterize the clinical significance of the abnormal membrane expression of the E-cadherin/catenin complex and the localization patterns of the β -catenin and p120^{CTN} in early gastric cancer.

Materials and Methods: Immunohistochemical staining for E-cadherin, α -, β - and γ -catenin and p120^{CTN} were performed on 47 early gastric cancer specimens. The patterns of membrane expression of the E-cadherin/catenin complex, and the localization patterns of the β -catenin and p120^{CTN}, were semi quantitatively graded as loss, reduced, preserved or negative and positive.

Results: An abnormal immunoreactivity of at least one of E-cadherin/catenin complex proteins was noted in 46 (97.8%) of the 47 early gastric cancer cases. There were no significant correlations of the membrane E-cadherin/catenin expression with, either, sex, age, location, size, macroscopic type, depth of invasion or lymphovascular

invasion. Abnormal expressions of membrane E-cadherin, β -catenin and γ -catenin were more frequent in the diffuse-type than in the intestinal type. No linear correlation was shown for the β -catenin between the membrane and cytoplasmic expressions. Nuclear staining of the β -catenin was observed in 5 (10.6%) cases, but nuclear staining of the p120^{CTN}, a promotor of Kaiso transcriptional factor, was not seen.

Conclusion: These results suggest that alterations of the E-cadherin/catenin complex may be involved in the early stages of gastric cancer. Although β -catenin functions as a transcriptional factor, the inactivation of membrane E-cadherin does not appear to result in significant increases in the level of cytoplasmic β -catenin. Kaiso transcriptional factor may not be involved in the early carcinogenesis of gastric cancer. (*Cancer Research and Treatment* 2003;35:16-24)

Key Words: Stomach neoplasm, Cell adhesion, Cadherin, Catenin

서론

상피세포의 세포막에 존재하는 E-cadherin은 같은 종류의 세포를 부착시키는 부착분자이다. E-cadherin의 외측영역(extracellular domain)은 인접하고 있는 상대편 세포 E-cadherin의 외측영역과 결합하고, 내측영역(intracellular domain)은 catenin (α -, β -, γ -catenin, p120^{CTN})에 의해 세포뼈대와 결합한다(1). 세포막에서 E-cadherin과 catenin이 상호 유기적으로 결합한 형태를 E-cadherin/catenin 복합체라 하

고, 이들 복합체에 의해 세포 사이의 결합이 유지되게 된다.

복합체를 구성하는 단백질 중에서 특히, β -catenin, p120^{CTN}은 세포 부착작용 이외에, 신호전달 체계에도 관여한다. β -catenin이 핵으로 유입되면, 전사인자 T-cell factor/lymphoid enhance factor-1 (TCF/LEF-1)과 결합하여 여러 가지 유전자를 발현시키는데, 이러한 과정을 'Wnt/Wingless 신호전달 체계'라고 한다(2). 최근에 p120^{CTN}이 핵으로 유입되어 전사 인자인 Kaiso와 결합한다는 사실이 밝혀졌고, β -catenin과 마찬가지로 유전자 발현에 관여할 것으로 생각된다(3).

E-cadherin/catenin 복합체는 종양세포에서도 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있다. 세포막에서 복합체 구성 단백질들의 발현에 이상이 생기면, 종양세포의 결합력이 감소하게 되고, 종양세포 탈락으로 전이가 유발되게 된다. 선종이나 암 전구 병변에서도 복합체 발현변화를 관찰할 수 있

Correspondence: Tae Yong Jeon, Department of Surgery, College of Medicine, Pusan National University, 1-10, Ami-dong, Seo-gu, Busan 620-739, Korea. (Tel) 051-240-7238, (Fax) 051-247-1365, (E-mail) JTY3@chollian.net

Received October 15, 2002, Accepted December 28, 2002

는데(4), 이는 종양 시작단계부터 복합체 발현변화가 관여한다는 사실을 시사한다. 종양발생의 초기에 E-cadherin/catenin 복합체 발현의 변화는 조직학적 분화도를 결정하고, 암세포의 고유한 특성인 침습성과 전이능력을 발휘하게 할 것으로 생각된다.

β -catenin이 핵으로 이동하는 현상은 간세포암(5), 갑상선암(6), 대장암(7) 등에서 보고되었으며, TCF/LEF-1에서 전사된 종양발생 유전자에 의해 종양 성장이 촉진되는 것으로 생각된다(8). p120^{CTN}이 핵으로 이동하는 현상은 최근에 폐암(9)과 구강 상피종양 세포주(10)에서 관찰되었으며, Kaiso 전사인자와 결합하는 점으로 미루어 유전자 발현에 관여할 것으로 생각되지만, 발현되는 종양발생 유전자는 아직 밝혀지지 않았다.

각종 암종에서 E-cadherin/catenin 복합체 발현에 관해 시행된 연구들은 대부분 E-cadherin과 일부 catenin에 국한해서 발현을 관찰하거나, 세포막에 국한된 발현양상과 임상 병리학적 예후인자 사이의 연관성을 연구한 것들이었다. 하지만, 종양세포사이의 부착력은 E-cadherin뿐만 아니라 α -, β -, γ -catenin, p120^{CTN}의 상호 유기적인 작용으로 유지되기 때문에 E-cadherin과 일부 catenin만으로 결합능력 감소를 평가하는 것은 부적절하다. 그리고, β -catenin과 p120^{CTN}은 세포결합 작용 이외에 신호전달체계에 작용해서 종양발생 유전자를 발현할 수 있기 때문에 단순히 세포막 수준에서 발현여부를 평가하는 것은 종양세포에서 이들이 담당하는 중요한 역할을 간과할 수 있다. 그러므로 본 연구는 조기위암 절제조직에서 세포막 E-cadherin/catenin 복합체 발현 변화와 β -catenin, p120^{CTN}의 발현 위치변화를 임상적, 병리학적 인자와 비교 분석함으로써, 조기위암에서 이들 복합체 발현 변화가 가지는 의의를 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

1) 대상

2000년 1월부터 2001년 10월까지 부산대학병원 일반외과에서 위암으로 진단되어 외과적 절제술을 시행한 절제조직 중 병리조직학적 판독소견이 조기위암에 해당하고, 보관 상태가 양호한 47예를 대상으로 하였다. 임상 정보는 병력지를 근거로 얻었으며, 47예 모두 수술 전 항암제 또는 방사선 치료를 시행하지 않았다.

2) 임상병리학적 변수

전체 47예 중 남자는 34예(72.3%), 여자는 13예(27.7%)였으며, 32세에서 75세의 연령분포(평균 54.9세)를 보였다. 종

양의 발생부위는 하루 1/3에서 발생한 경우가 29예(61.7%), 중부 1/3에서 발생한 경우가 18예(38.3%)였으며, 상부 1/3에서 발생한 경우는 없었다. 종양의 크기는 1 cm 미만인 11예(23.4%), 1 cm 이상 2 cm 미만인 16예(34.05%), 2 cm 이상이 20예(42.6%)였다. 육안적 분류로 용기형이 4예(8.5%), 편평형이 6예(12.8%), 함몰형이 37예(78.7%)였다. Lauren분류상 장형이 32예(68.1%), 미만형이 15예(31.9%)였다. 종양침윤 깊이는 점막에 국한된 경우가 22예(46.8%), 점막하층까지 침범한 경우가 25예(53.2%)였다. 종양세포가 신경, 혈관, 림프관을 침범한 경우는 47예 중 6예(12.8%)에서 관찰되었고 림프절 침윤은 47예 중 4예(8.5%)에서 관찰되었다.

3) 면역조직화학염색

파라핀 포매조직을 두께 5 μ m 절편으로 박절한 후 xylene으로 5분간 3회 탈파라핀시킨 후 무수 알코올, 90%, 75% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 처리하여 함수과정을 거쳤다. 조직절편은 10 mM citrate 완충용액(pH=5.0)에서 10분간 전자렌지에 가열하여 항원성을 증가시켰다. 조직 절편에 있는 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위해 0.3% hydrogen peroxide-methanol에 10분간 처리 후 증류수로 세척하였다. 절편을 50 mM Tris Buffered Solution으로 수세 후 비특이적 항원을 제거하기 위해 30분간 염소혈청과 반응시켰다. 여분의 용액을 제거한 후 E-cadherin과 α -, β -, γ -catenin 그리고 p120^{CTN}에 대한 일차항체로 4°C에서 하룻밤 반응시켰다. 일차항체 반응 후 절편을 TBS로 5분간 3회 수세한 다음 biotin이 부착된 이차항체와 작용시킨 후 통상적인 ABC (avidin-biotin complex)법으로 20분간 반응시켰다. 발색제는 3-amino-9-ethyl carbazole (AEC)을 사용하였고 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하여 glycerol gelatin으로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

4) 면역조직화학염색에 대한 판정

종양세포의 E-cadherin/catenin 복합체의 발현 정도는 광학현미경하에서 인접한 정상 점막세포와 비교하여 반정량적으로 평가하였다. 평가는 세포막에서 E-cadherin/catenin 복합체 발현변화와 β -catenin과 p120^{CTN}의 세포질/핵에서의 발현으로 나누어서 시행하였다.

위암조직에 인접한 정상 점막세포의 세포막에서 E-cadherin, α -, β -, γ -catenin, p120^{CTN}은 균일하게 염색되었으며 이를 양성 대조군으로 간주하였다. 종양세포의 세포막에서 정상 점막세포와 같은 정도로 염색되거나 각 조직 절편에서 종양세포의 90% 이상에서 양성으로 염색된 경우를 정상발현으로 판정하였고, 양성염색의 정도가 90% 미만이거나 10% 이상인 경우는 발현감소라고 판정하였다. 염색의

Fig. 1. Abnormal loss or reduced membrane E-cadherin/catenin complex expression (arrowhead) in early gastric cancer, compared with adjacent normal tissue with preserved membranous expression (arrow) (immunohistochemical stain, $\times 200$), A: Abnormal membrane expression of E-cadherin, B: Abnormal membrane expression of β -catenin, C: Abnormal membrane expression of α -catenin, D: Abnormal membrane expression γ -catenin, E: Abnormal membrane expression of p120^{CTN}.

Fig. 2. Cytoplasmic or nuclear expression of β -catenin and p120^{CTN} in early gastric cancer (immunohistochemical stain, $\times 200$), A: Immunohistochemical staining of β -catenin showing nuclear expression, B: Immunohistochemical staining of β -catenin showing cytoplasmic expression, C: Immunohistochemical staining of p120^{CTN} showing cytoplasmic expression.

정도가 10% 미만이거나 전혀 염색되지 않았던 경우를 발현 소실로 판정하였다(Fig. 1).

위암조직에 인접한 정상 점막세포의 세포질과 핵에서 β -catenin, p120^{CTN}의 염색은 관찰되지 않았으며 염색이 관찰되지 않는 정상 점막세포 소견을 음성 대조군으로 간주하였다. 종양세포의 세포질이나 핵이 면역조직화학검사에서 각각의 항체에 염색되는 경우를 세포질 양성(+) 혹은 핵 양성(+)이라고 판정하였고, 염색이 되지 않는 경우를 세포질 음성(-) 혹은 핵 음성(-)으로 판정하였다. 세포질 염색에서 양성 판정의 경우 염색의 강도에 따라 강양성 혹은 약양성으로 표현하였다(Fig. 2).

5) 통계학적 분석

E-cadherin/catenin 복합체의 발현과 임상적, 병리학적 변수 사이의 유의성 검증은 종속 변수가 연속 변수일 경우 Student t-test를 이용하였으며, 이산 변수일 경우 χ^2 -검정을 사용하였다. 95%의 유의 수준에서 통계학적 검증을 하였다 ($P < 0.05$).

결 과

1) E-cadherin/catenin 복합체의 세포막 발현

(1) E-cadherin/catenin 복합체의 발현양상: 전체 47예 중 46예(97.8%)는 최소 1개 이상의 E-cadherin/catenin 복합체에 비정상적 염색소견이 관찰되었다. 세포막에서 E-cadherin 발현이 감소되거나 소실된 경우는 각각 19예(40.4%), 20예(42.6%)로 83.0%에서 비정상적인 염색소견을 나타내었다. 세포막에서 catenin 발현의 감소와 소실은 β -catenin이 44예(93.6%)로 가장 빈도가 높았으며, α -catenin 35예(74.5%), γ -

Fig. 3. Membrane expression of E-cadherin and catenins (α , β - and γ -catenin, p120^{CTN}) in early gastric cancer. * $P < 0.05$.

catenin 34예(72.3%), p120^{CTN} 30예(63.8%)의 순서로 관찰되었다. 특히 E-cadherin과 β -catenin의 발현 감소/소실 빈도가 다른 catenin에 비해 의미있게 높은 것으로 관찰되었다($P < 0.05$, Fig. 3).

(2) E-cadherin/catenin 복합체 발현양상과 임상병리학적 변수와 상관관계: 세포막 E-cadherin 발현은 성별, 연령, 발생 부위, 종양크기, 육안적 소견, 종양침범 깊이, 림프관/혈관 침범, 림프절 침범 여부와는 연관성이 없었다. Lauren 분류에 따라 E-cadherin 발현을 관찰한 결과, 미만형에서 E-cadherin 발현 감소/소실이 의미 있게 높았다($P < 0.01$). 세포막 α -catenin 발현은 성별, 연령, 발생 부위, 종양크기, 육안적 소견, Lauren 분류, 종양침범 깊이, 림프관/혈관 침범, 림프절 침범 여부와는 연관성이 없었다. 세포막 β -catenin 발현은 성별, 연령, 발생 부위, 종양크기, 육안적 소견, 종양침범 깊이, 림프관/혈관 침범, 림프절 침범 여부와는 연관성이 없었다. Lauren 분류에 따라 β -catenin 발현을 관찰한 결과, 미만형에서 β -catenin 발현의 감소/소실이 의미 있게 높았다($P = 0.03$). 세포막 γ -catenin 발현은 성별, 연령, 발생 부위, 종양크기, 육안적 소견, 종양침범 깊이, 림프관/혈관 침범 여부와는 연관성이 없었다. Lauren 분류에 따라 γ -catenin 발현을 관찰한 결과, 미만형에서 γ -catenin 발현의 감소/소실이 의미 있게 높았으며($P < 0.01$), 림프절 침범의 경우에도 γ -catenin 발현의 감소/소실이 의미 있게 높았다($P = 0.03$). 세포막 p120^{CTN} 발현은 성별, 연령, 발생 부위, 종양크기, 육안적 소견, Lauren 분류, 종양침범 깊이, 림프관/혈관 침범, 림프절 침범 여부와는 연관성이 없었다(Table 1).

(3) E-cadherin/catenin 복합체 발현의 상호 연관성: E-cadherin 발현보존 8예 중 β -catenin 발현보존은 2예였으며, E-cadherin 발현감소/발현소실된 39예 중 β -catenin 발현감소/발현소실은 38예로 E-cadherin 발현과 β -catenin 발현 사이에 통계적으로 유의한 연관성이 관찰되었다($P = 0.02$). E-cadherin 발현보존 8예 중 γ -catenin 발현보존은 5예였으며, E-cadherin 발현감소/발현소실된 39예 중 γ -catenin 발현감소/발현소실은 31예로 E-cadherin 발현과 γ -catenin 발현 사이에 통계적으로 유의한 연관성이 관찰되었다($P = 0.02$). α -catenin 발현보존 12예 중 γ -catenin 발현보존은 7예였으며, γ -catenin 발현감소/발현소실된 35예 중 γ -catenin 발현감소/발현소실은 29예로 α -catenin 발현과 γ -catenin 발현 사이에 통계적으로 유의한 연관성이 관찰되었다($P < 0.01$, Fig. 4).

2) β -catenin과 p120^{CTN}의 세포질, 핵 발현

(1) β -catenin과 p120^{CTN}의 발현위치: 세포질과 핵에서 β -catenin이 양성소견을 보인 경우는 각각 15예(31.9%), 5예

Table 1. Membrane expression patterns of E-cadherin/catenin complex in relation to clinicopathological factors of early gastric cancer

Parameters	n=47	E-cadherin				α-catenin				β-catenin				γ-catenin				p120CTN			
		1	2	3	P	1	2	3	P	1	2	3	P	1	2	3	P	1	2	3	P
Sex																					
Male	34	12	16	6	NS*	11	13	10	NS	26	5	3	NS	12	11	11	NS	6	13	15	NS
Female	13	8	3	2		9	2	2		10	2	1		6	5	2		5	6	2	
Age, years																					
≤56	24	12	8	4	NS	12	4	8	NS	20	2	2	NS	10	7	7	NS	6	8	10	NS
>56	23	8	11	4		8	11	4		16	5	2		8	9	6		5	11	7	
Location																					
Middle third	18	8	8	2	NS	8	6	4	NS	15	1	2	NS	5	6	7	NS	4	6	8	NS
Lower third	29	12	11	6		12	9	8		21	6	2		13	10	6		7	13	9	
Tumor size, cm																					
1.0>	11	7	3	1	NS	9	0	2	NS	9	1	1	NS	4	4	3	NS	4	4	3	NS
1.0≤ <2.0	16	5	9	2		7	6	3		12	4	0		5	8	3		3	8	5	
2.0≤	20	8	7	5		4	9	7		15	2	3		9	4	7		4	7	9	
Macroscopic type																					
Elevated	4	1	2	1	NS	2	0	2	NS	3	0	1	NS	2	1	1	NS	0	4	0	NS
Flat	5	2	1	2		2	1	2		2	2	1		1	3	1		2	1	2	
Depressed	38	17	16	5		16	14	8		31	5	2		15	12	11		9	14	15	
Lauren classification																					
Intestinal	32	7	18	7	<0.01	11	11	10	NS	21	7	4	0.03	7	13	12	<0.01	5	12	15	NS
Diffuse	15	13	1	1		9	4	2		15	0	0		11	3	1		6	7	2	
Depth of invasion																					
Mucosa	22	13	7	2	NS	12	5	5	NS	19	2	1	NS	9	8	5	NS	7	10	5	NS
Submucosa	25	7	12	6		8	10	7		17	5	3		9	8	8		4	9	12	
Lymphovascular invasion																					
Absence	41	18	18	5	NS	18	13	10	NS	33	5	3	NS	15	14	12	NS	10	15	16	NS
Presence	6	2	1	3		2	2	2		3	2	1		3	2	1		1	4	1	
Lymph node metastasis																					
Absence	43	18	19	6	NS	19	13	11	NS	34	6	3	NS	14	16	13	0.03	10	17	16	NS
Presence	4	2	0	2		1	2	1		2	1	1		4	0	0		1	2	1	

*Not Significant. 1: Loss, 2: Reduced, 3: Preserved

Fig. 4. Correlation among membrane E-cadherin/catenin complex expression in early gastric cancer. *P<0.05.

Fig. 5. Correlation between membrane and cytoplasmic expression of β -catenin and p120^{CTN} in early gastric cancer.

(10.6%)였으며, 세포질 β -catenin 양성 15예 중 강양성은 6예(12.8%), 약양성은 9예(19.1%)에서 관찰되었다. 세포질에서 p120^{CTN}이 양성소견을 보인 경우는 14예(29.8%)였으며, 강양성은 5예(10.6%), 약양성은 9예(19.1%)에서 관찰되었다. 하지만, 핵에서 p120^{CTN}의 양성 소견은 전혀 관찰할 수 없었다.

(2) β -catenin과 p120^{CTN} 발현위치와 임상병리학적 변수와 상관관계: 세포질 또는 핵 β -catenin 발현은 성별, 연령, 발생 부위, 종양크기, 육안적 소견, Lauren 분류, 종양침범 깊이, 림프관/혈관 침범, 림프절 침범 여부와는 연관성이 없었다. 세포질 p120^{CTN} 발현은 성별, 연령, 발생 부위, 종양크기, 육안적 소견, Lauren 분류, 종양침범 깊이, 림프절 침범 여부와는 연관성이 없었으나 림프관/혈관을 침범한 경우에 세포질 p120^{CTN} 발현이 의미있게 높았다($P=0.03$).

(3) β -catenin과 p120^{CTN} 발현위치의 상호 연관성: β -catenin의 세포막, 세포질 발현의 상호 연관성을 살펴보면, 세포막 발현이 보존된 3예 중 세포질 양성은 1예(33.3%)였으며, 세포막 발현이 감소한 7예 중 세포질 양성은 2예(28.6%), 세포막 발현이 소실된 37예 중 세포질 양성은 12예(32.4%)였으며, 세포막 β -catenin 발현 감소/소실에 따른 세포질 β -catenin 발현에는 연관성은 관찰되지 않았다. β -catenin의 세포질, 핵 발현의 상관관계를 살펴보면, 세포질 발현이 음성인 32예 중 핵 발현 양성은 2예(6.3%), 세포질 발현이 약양성인 9예 중 핵 발현 양성은 1예(11.1%), 세포질 발현이 강양성인 6예 중 핵 발현 양성은 2예(33.3%)였으며, 세포질 β -catenin 양성 정도에 따라 핵 발현이 증가하는 선형 상관성을 보였으나, 통계적 유의성은 없었다. p120^{CTN}의 세포막, 세포질 발현의 상관관계를 살펴보면, 세포막 발현이 보존된 17예 중 세포질 양성은 3예(17.6%), 세포막 발현이 감소한 19예 중 세포질 양성은 5예(26.3%), 세포막 발현

이 소실된 11예 중 세포질 양성은 6예(54.5%)였으며, 세포막 p120^{CTN} 발현감소에 따라 세포질 p120^{CTN} 발현이 증가하는 선형 상관성을 보였으나, 통계적 유의성은 없었다 (Fig. 5).

고 찰

세포막에서 E-cadherin과 catenin (α -, β -, γ -catenin, p120^{CTN})이 상호 유기적으로 결합한 형태를 E-cadherin/catenin 복합체라 하고, 이들 복합체에 의해 세포 사이 결합이 유지되게 된다. 종양세포에서 복합체 구성 성분의 발현 감소는 종양세포의 분화도, 국소침범, 생존율과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있으나, 이러한 연구들은 E-cadherin과 일부 catenin에 국한된 연구이거나, 세포막 수준의 복합체 발현 변화와 예후인자의 상관관계를 분석하는 연구가 대부분이었기 때문에, E-cadherin/catenin 복합체 발현 변화를 전체적으로 평가하는 데 다소 미흡한 점이 있었다. 그러므로 본 연구는 조기위암 절제조직 47예를 대상으로 E-cadherin, α -, β -, γ -catenin 그리고 p120^{CTN}의 세포막 수준에서 발현 양상과 β -catenin, p120^{CTN}의 세포질, 핵 수준에서 발현 변화를 임상적, 병리학적 인자와 비교 분석하였고, 조기위암에서 복합체를 구성하는 단백질들의 발현 양상이 가지는 상호 연관성을 면역조직화학검사를 이용해서 조명하였다.

조기위암 47예의 절제조직에서 세포막 E-cadherin/catenin 복합체 발현 양상을 조사한 결과, 46예(97.8%)에서 비정상적인 면역조직반응이 관찰되었다. 이는 조기위암에서 E-cadherin/catenin 복합체 발현 변화가 흔히 발생함을 의미하고, E-cadherin과 catenin의 발현 감소가 암 발생과정의 초기에 작용한다는 이론에 일치하는 소견이라 할 수 있다. 세포

막 면역조직화학염색에서 발현감소, 발현소실을 비정상 발현이라고 정의할 때, E-cadherin 39예(83.0%), β -catenin 44예(93.6%), α -catenin 35예(74.5%), ν -catenin 34예(72.3%), p120^{CTN} 30예(63.8%)에서 비정상 발현을 나타내었다. 이 결과는 Shun(11)이 조기위암에서 관찰한 비정상 발현 빈도; E-cadherin 34.0%, β -catenin 37.7%, α -catenin 66.0%, ν -catenin 69.8%보다 높았으나, Shun의 경우 비정상 발현의 판단기준을 「50% 이하 염색인 경우」로 간주했기 때문에 낮은 빈도로 관찰된 것으로 생각한다. 세포막 발현에서 E-cadherin과 β -catenin의 비정상 발현 빈도는 다른 catenin의 비정상 발현 빈도보다 통계적으로 유의하게 높았고, 이러한 점은 조기위암에서 E-cadherin, β -catenin 비정상 발현이 α -, ν -catenin 혹은 p120^{CTN} 비정상 발현보다 중요하게 작용할 것으로 생각한다.

조기위암 47예의 절제조직에서 세포막 E-cadherin/catenin 복합체 발현과 성별, 연령, 발생 부위, 종양의 크기, 육안적 소견, 침범 깊이, 림프관/혈관 침범 여부와 상관관계는 관찰되지 않았다. 하지만, Lauren분류상 미만형에서 세포막 E-cadherin, β -, ν -catenin 발현의 감소/소실 빈도가 의미있게 높았고, 림프절 전이가 있는 경우에 ν -catenin 발현의 감소/소실 빈도가 의미있게 높았다. Ohene-Abuakwa 등(12)은 세포막 E-cadherin 발현 감소와 조기위암의 육안적 소견 사이에 유의한 상관관계가 있다고 보고하였으나, 본 연구에서는 육안형과 복합체 발현 사이에 유의한 상관관계는 없었다($P=0.92$) 일반적으로 세포막 E-cadherin/catenin 복합체 발현 변화와 분화도(13), 림프절 전이(14), 침범 깊이(15), 병기(16), 생존율(17) 등과 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있지만, 유의성을 가지는 임상적, 병리학적 변수는 관찰된 암종에 따라 차이를 보이고, 같은 암종이라 하더라도 관찰자에 따라 다소 상이한 결과로 보고되고 있다. 하지만, 암세포의 E-cadherin/catenin 복합체 발현을 연구한 거의 모든 문헌에서 비정상 발현과 종양세포 분화의 연관성을 보고하고 있다. 본 연구에서도 E-cadherin, β -catenin, ν -catenin 비정상 발현은 미만형과 밀접한 연관이 있으며, 세포막 복합체의 기능적 장애가 상피세포의 분화, 구조에 결함을 유발하고, 그 결과 암의 진행과정에서 미만형과 같이 분화도가 낮은 종양으로 이행하는 데 관여하는 것으로 생각된다. 위암에서 세포막 ν -catenin 비정상 발현을 보고한 Joo 등(18)에 의하면 림프절 침범과의 연관성은 관찰할 수 없었다. 위암에서 ν -catenin 비정상 발현은 E-cadherin, β -catenin 비정상 발현 보다 빈도가 낮았기 때문에 ν -catenin 발현감소와 림프절 침범 사이의 연관성이 우연히 관찰된 오류일 가능성도 있지만, 실제적인 통계적 유의성에 관해서는 좀 더 많은 증례를 통한 검증이 필요할 것으로 생각한다.

세포막 E-cadherin/catenin 복합체 발현의 상호 연관성에서는 E-cadherin과 β -catenin 발현, E-cadherin과 ν -catenin 발현 그리고 α -catenin과 ν -catenin 발현 사이에 통계적으로 유의한 연관성이 관찰되었다. E-cadherin의 C-말단부에 결합하는 β -, ν -catenin은 E-cadherin 발현 감소에 의존적으로 세포막 발현 감소가 유발된다고 알려져 있다(19). 세포내 β -catenin은 ν -catenin보다 많이 존재하고 있으며, E-cadherin의 C-말단부에서 서로 경쟁적으로 부착하는 것으로 알려져 있다. 그러므로 조기위암에서 E-cadherin, β -catenin, ν -catenin 발현 감소의 상호 연관성 중에서도 특히, E-cadherin, β -catenin 발현 감소의 연관성이 중요한 것으로 생각된다.

β -catenin은 세포결합 작용 이외에 신호전달 체계에 관여한다는 점에서 관심의 대상이 되고 있다. 세포막에서 β -catenin이 유리되는 경우에 세포질에서 APC, AXIN, GSK-3 β 와 결합한 후, proteasome에서 퇴화과정을 거치게 된다(20). 하지만, 세포막에 존재하는 Frizzled 수용체를 통하여 Wnt 신호가 발생하면, APC와 GSK-3 β 의 β -catenin 결합이 감소하게 되고, 그 결과 proteasome에서 퇴화되지 못한 β -catenin은 세포질에서 증가하게 된다(21). 세포질에 축적된 β -catenin은 핵으로 이동한 후 TCF/LEF-1 전사인자와 결합하고, c-myc(8), cyclin D1(22) 등과 같은 유전자를 전사한다. 종양세포에서 β -catenin이 핵으로 유입되면 종양발생 유전자를 전사한다는 점은 분명하다. 하지만, 종양세포의 경우 세포막 E-cadherin/catenin 복합체 발현이상으로 세포질로 유리된 β -catenin이 세포질을 거쳐 핵에 유입된 후 암발생 유전자를 발현하는지 아니면, 단순히 proteasome에서 퇴화되는지 여부는 불명확하다.

β -catenin과 유사한 구조를 가지는 p120^{CTN}은 핵에서 Kaiso 전사인자와 결합함으로써 신호전달 체계에 관여하는 것으로 추정된다. p120^{CTN}은 cadherin과 RhoA 단백질에 상호 배타적으로 결합하기 때문에 cadherin에 부착된 p120^{CTN}은 세포결합에 관여하고, RhoA에 결합하는 p120^{CTN}은 GTPase 활성성을 조절하는 것으로 알려져 있다(23). 현재 추정되는 가설은 RhoA 단백질에 결합된 p120^{CTN}이 신호전달에 관여할 것으로 생각되지만, 밝혀진 발현 유전자는 없으며, 세포막에서 유리되는 p120^{CTN}이 β -catenin과 유사한 퇴화과정을 거치는지, 어떠한 경우에 핵으로 유입되는지 전혀 알려져 있지 않다.

조기위암 47예의 절제조직에서 세포질과 핵에서 β -catenin의 양성발현은 각각 15예(31.9%), 5예(10.6%)였다. 세포질에서 p120^{CTN} 양성발현은 14예(29.8%)였으며, 핵에서 p120^{CTN}의 양성발현은 전혀 관찰할 수 없었다. Aho 등(24)은 핵 유입 결정에 p120^{CTN} N-말단의 특이한 유전자 서열이 필수적이라는 점을 보고하였고, Montonen 등(25)은 조직과 세

포마다 발현되는 p120^{CTN} isoform이 다르다는 점을 관찰하였다. 그러므로 조기위암 조직의 핵에서 p120^{CTN} 발현이 되지 않은 이유는 조기위암에서 생성하는 p120^{CTN} isoform들이 핵 유입에 필수적인 유전자 서열을 가지고 있지 못하였기 때문인 것으로 생각되지만, 침습적인 진행성 위암으로 이행한 후에 p120^{CTN} isoform이 발생할 가능성이나, 표본의 개수가 증가하는 경우에 p120^{CTN}의 핵 발현 가능성을 배제할 수는 없기 때문에 이에 관해서는 차후에 연구가 시행되어야 할 것으로 생각한다.

세포질, 핵에서 β -catenin, p120^{CTN}의 발현과 성별, 연령, 발생 부위, 종양의 크기, 육안적 소견, Lauren 분류, 종양 침범 깊이, 림프관 침범 여부와 연관성은 관찰되지 않았지만, 세포질 p120^{CTN}이 양성인 경우에 림프관/혈관 침범 가능성이 유의하게 높았다(P=0.03). p120^{CTN}은 cadherin과 결합해서 세포벽에 발현하는 경우 세포결합에 관여하기 때문에 비활성 상태로 유지되지만, p120^{CTN}이 Rho 단백질과 결합해서 세포질에 발현하는 경우에는 GTPase 활동성 조절의 작용을 나타내게 된다(23). 아직까지 알려진 작용 기전은 없지만, p120^{CTN}의 경우, 세포벽에 발현하는 경우보다 세포질에 발현하는 경우에 다양한 작용기전에 관여함으로써 예후에 영향을 미치는 보조인자로 작용할 가능성이 높다.

β -catenin의 세포막, 세포질, 핵 발현의 상관관계를 살펴본 바에 의하면, 세포막 β -catenin의 발현 감소/소실에 따른 세포질 β -catenin 발현 사이에 상관관계는 관찰되지 않았다. 하지만, 세포질 β -catenin 양성 정도에 따라 핵 β -catenin 발현이 증가하는 선형 상관성은 관찰되었다. 이러한 소견은 종양세포 세포막에서 유리된 β -catenin이 세포질에서 증가되고, 세포질에서 증가한 β -catenin이 핵으로 유입되어 암발생 유전자를 발현할 것이라는 가설과 다소 차이가 나는 소견이라 할 수 있다. 이는 아마도, 종양세포의 세포막에서 유리된 β -catenin이 세포질에서 증가하더라도 대부분 proteasome에서 퇴화되기 때문에 세포질 β -catenin은 증가하지 않았던 것으로 생각된다.

p120^{CTN}의 세포막, 세포질 발현의 상관관계를 살펴본 바에 의하면, 세포막 p120^{CTN}의 발현 감소/소실과 세포질 p120^{CTN}발현 증가 사이에 선형 상관성이 관찰되었다. 세포막에서 유리되는 p120^{CTN}에 비례해서 세포질에 p120^{CTN}이 증가한다는 사실은 proteasome에 상응하는 퇴화기관이 존재하지 않거나, 퇴화과정이 서서히 진행된다는 사실을 시사한다.

흔히 유발되었으며, 특히 E-cadherin, β -, γ -catenin 비정상 발현은 미만형과 밀접한 관련이 있었다. 세포막 E-cadherin 발현 감소로 세포막에서 유리되는 β -catenin이 증가하더라도, 세포질에서 β -catenin은 일정한 수준으로 관찰되었는데, 이는 TCF/LEF-1 전사인자인 β -catenin 핵 유입이 단순히 세포막 β -catenin 유리만으로 이루어지지 않음을 시사한다. 조기위암에서 p120^{CTN}의 핵 염색을 관찰할 수 없었던 점으로 미루어 조기위암의 발생과정에 Kaiso 전사인자 관련 가능성이 낮을 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. Nagar B, Overduin M, Ikura M, Rini JM. Structural basis of calcium-induced E-cadherin rigidification and dimerization. *Nature* 1996;380:360-364.
2. Barker N, Morin PJ, Clevers H. The Yin-Yang of TCF/beta-catenin signaling. *Adv Cancer Res* 2000;77:1-24.
3. Daniel JM, Ireton RC, Reynolds AB. Monoclonal antibodies to Kaiso: a novel transcription factor and p120^{ctn}-binding protein. *Hybridoma* 2001;20:159-166.
4. Perl AK, Wilgenbus P, Dahl U, Semb H, Christofori G. A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma. *Nature* 1998;392:190-193.
5. Miyoshi Y, Iwao K, Nagasawa Y, Aihara T, Sasaki Y, Imaoka S, Murata M, Shimano T, Nakamura Y. Activation of the beta-catenin gene in primary hepatocellular carcinomas by somatic alterations involving exon 3. *Cancer Res* 1998;58:2524-2527.
6. Garcia-Rostan G, Tallini G, Herrero A, D'Aquila TG, Carcangiu ML, Rimm DL. Frequent mutation and nuclear localization of beta-catenin in anaplastic thyroid carcinoma. *Cancer Res* 1999;59:1811-1815.
7. Sparks AB, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Mutational analysis of the APC/beta-catenin/Tcf pathway in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:1130-1134.
8. He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science* 1998;281:1509-1512.
9. Saijo Y, Sato G, Usui K, Sato M, Sagawa M, Kondo T, Minami Y, Nukiwa T. Expression of nucleolar protein p120 predicts poor prognosis in patients with stage I lung adenocarcinoma. *Ann Oncol* 2001;12:1121-1125.
10. Lo Muzio L, Pannone G, Staibano S, Mignogna MD, Serpico R, Fanali S, De Rosa G, Piattelli A, Mariggio MA. p120^{cat} Delocalization in cell lines of oral cancer. *Oral Oncol* 2002;38:64-72.
11. Shun CT, Wu MS, Lin MT, Chang MC, Lin JT, Chuang SM. Immunohistochemical evaluation of cadherin and catenin expression in early gastric carcinomas: correlation with clinicopathologic characteristics and Helicobacter pylori infection. *Oncology* 2001;60:339-345.
12. Ohene-Abuakwa Y, Noda M, Perenyi M, Kobayashi N, Kashima K, Hattori T, Pignatelli M. Expression of the E-cadherin/catenin (alpha-, beta-, and gamma-) complex correlates with the macroscopic appearance of early gastric cancer. *J Pathol* 2000;192:433-439.
13. Karatzas G, Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Chatzigianni E, Papanikolaou S, Riza F, Papanikolaou D. E-cadherin expression correlates with tumor differentiation in colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 1999;46:232-235.

결 론

조기위암에서 E-cadherin/catenin 복합체의 비정상 발현은

14. Yoshida R, Kimura N, Harada Y, Ohuchi N. The loss of E-cadherin, alpha- and beta-catenin expression is associated with metastasis and poor prognosis in invasive breast cancer. *Int J Oncol* 2001;18:513-520.
15. Gofuku J, Shiozaki H, Tsujinaka T, Inoue M, Tamura S, Doki Y, Matsui S, Tsukita S, Kikkawa N, Monden M. 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.
16. Zheng Z, Pan J, Chu B, Wong YC, Cheung AL, Tsao SW. Downregulation and abnormal expression of E-cadherin and beta-catenin in nasopharyngeal carcinoma: close association with advanced disease stage and lymph node metastasis. *Hum Pathol* 1999;30:458-466.
17. Ramesh S, Nash J, McCulloch PG. Reduction in membranous expression of beta-catenin and increased cytoplasmic E-cadherin expression predict poor survival in gastric cancer. *Br J Cancer* 1999;81:1392-1397.
18. Joo YE, Rew JS, Kim HS, Choi SH, Park CS, Kim SJ. Changes in the E-cadherin-catenin complex expression in early and advanced gastric cancers. *Digestion* 2001;64(2):111-119.
19. Sanson B, White P, Vincent JP. Uncoupling cadherin-based adhesion from wingless signalling in *Drosophila*. *Nature* 1996;383:627-630.
20. Polakis P. More than one way to skin a catenin. *Cell* 2001;105:563-566.
21. Yun KJ, Han WC, Choi SH, Kim TH. Immunohistochemical study of β -catenin expression between hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. *Cancer Res Treat* 2002;34:117-121.
22. Shtutman M, Zhurinsky J, Simcha I, Albanese C, D'Amico M, Pestell R, Ben-Ze'ev A. The cyclin D1 gene is a target of the beta-catenin/LEF-1 pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:5522-5527.
23. Anastasiadis PZ, Moon SY, Thoreson MA, Mariner DJ, Crawford HC, Zheng Y, Reynolds AB. Inhibition of RhoA by p120 catenin. *Nat Cell Biol* 2000;2:637-644.
24. Aho S, Levansuo L, Montonen O, Kari C, Rodeck U, Uitto J. Specific sequences in p120ctn determine subcellular distribution of its multiple isoforms involved in cellular adhesion of normal and malignant epithelial cells. *J Cell Sci* 2002;115:1391-1402.
25. Montonen O, Aho M, Uitto J, Aho S. Tissue distribution and cell type-specific expression of p120ctn isoforms. *J Histochem Cytochem* 2001;49:1487-1496.