

두경부암의 분자생물학적 변화와 발암 과정

고려대학교 의과대학 내과학교실
신상원

지난 20여 년의 분자생물학적 연구의 결과 암은 이제 유전적 질환으로 이해되고 있다("Cancer is a genetic disease"). 여기서 유전적 질환의 의미는 자손에게 유전되는 질환이라는 의미는 아니다. 암세포의 모든 생물학적 특성이 암세포의 유전물질(DNA)의 변화에 기인하며, 따라서 암세포의 유전물질을 연구하여 암세포의 성장과 전이, 주위조직으로의 침범 등, 암세포 고유한 성질을 규명할 수 있고, 더욱 중요하게는 정상세포가 암세포로 변화하는 과정을 이해할 수 있을 것으로 기대된다는 의미이다.

일반적으로 만성골수성백혈병, 림프종 등의 혈액암은 세포의 성장에 관여하는 단 하나의 유전자 변화만으로도 정상세포가 암세포로 변화될 수 있는 것으로 알려져 있으나, 두경부 편평세포암 등 대부분의 상피세포암은 성장에 관여하는 유전자 이외에도 세포의 결합과 침범, 이동 등에 관여하는 5~10개 유전적 변화가 수년에 걸쳐 정상세포에 축적되면서 전암 병변(pre-malignant lesion)을 거쳐 암세포로 변화하는 다단계암화과정(multistep carcinogenesis)에 의하여 침윤성 종양으로 진행되는 것으로 이해되고 있다(Fig. 1)¹²⁾.

1. 두경부암의 세포유전학적(cytogenetic study) 연구

Van Dyke 등³⁾은 두경부암 세포를 단기간 배양 후 분석한 염색체 검사결과 매우 다양한 형태의 염색체 재배열이 관찰하였다. 3p13-p24, 5q12-q23, 8p22-p23, 9p21-p24, 18q22-q23 염색체 부위의 감소가 40~60%에서 나타난다고 보고하였고, X 염색체 단암의 결손은 여자 환자의 70%에서, 남자환자의 74%에서 Y 염색체의 재배열이 나타남을 보고하였다. 따라서 이들 염색체 부위에 존재하는 종양억제 유전자 기능의 상실이 두경부암의 중요한 암화 기전으로 생각되었다. 이외에도 28~38%의 두경부암에서 3q21-qter, 5p, 7p, 8q, 11q13-q23 염색체 부위 증가도 보고되었다³⁾. FISH(Fluorescent in situ hybridization)을 이용한 연구에서는 전암병변(preneoplastic lesion)에서도 11q13 부위의 증폭이 30~60%의 두경부 암조직에서 관찰되었으나 암 주위의 조직에서 관찰되지는 않은 것으로 보아 비교적 종양 발생의 후기에 나타나는 현상으로 생각되었다⁴⁾.

CGH(Comparative Genomic Hybridization) 기법은 암세포와 정상세포의 DNA를 혼합하여 정상세포에 이종 교합시키면 암세포에서의 특정 염색체 부위의 증가 혹은 감소 정도가 형광색의 변화로 나타나게 된다. 이 방법은 세포

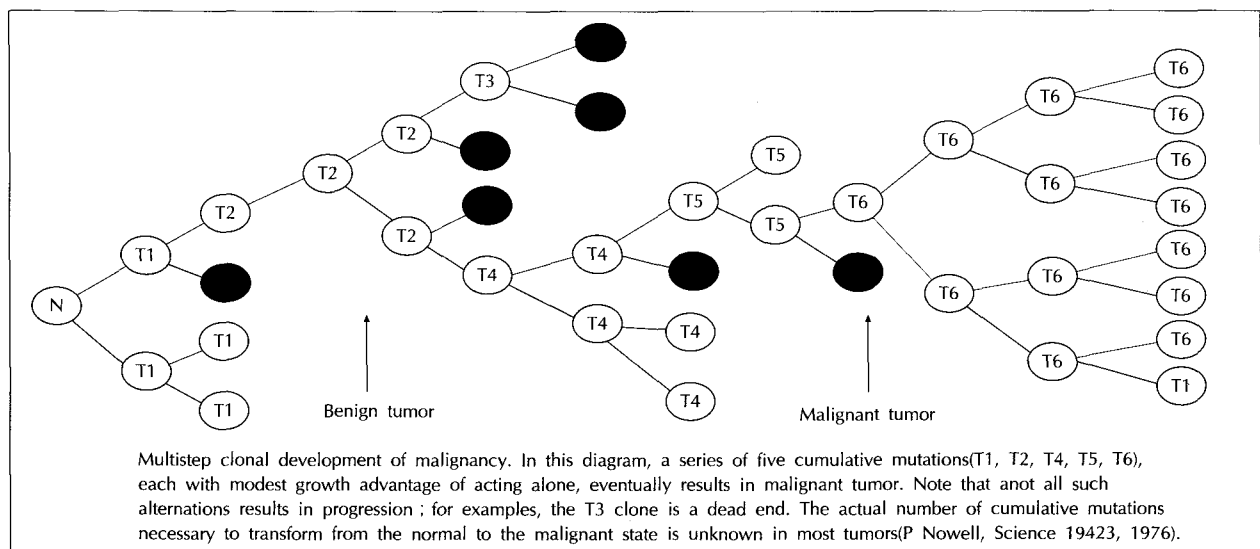


Fig. 1. 상피세포암의 다단계 발암과정의 모식도.

배양과 암세포를 직접 관찰함으로써 생기는 단점을 극복하고 전체 염색체중 특정 부위의 소실(deletion)과 증가(amplification)을 관찰할 수 있는 적절한 방법으로 사용되고있다. 두경부암 세포에서는 CGH를 이용하여 새로이 3q, 5p, 8p, 18q 염색체 부위의 감소와 3q, 8q, 11q의 증가가 관찰되었다⁵⁾.

일반적으로 두경부암의 세포 유전학적 연구에서는 여러 염색체 부위의 감소가 증가보다 더욱 두드러지게 관찰되고 있다. 이러한 염색체의 특정 부위의 감소가 증가보다 두드러진 양상은 두경부암의 발암 과정에 종양억제유전자 기능의 억제와 종양유전자의 활성화보다 중요한 역할을 하고 있음을 시사하는 것으로 생각된다.

2. 두경부암에서 종양유전자(proto-oncogene/oncogene)의 역할

두경부암 세포주의 약 12~30%에서 11q13 염색체 부위의 증가가 보고되고 있고, 세포주기를 조절하는 단백질인 Cyclin D1을 관장하는 *PRAD-1*과 *CCND1* 유전자가 존재하고 있는 것으로 밝혀졌다. 또한 두경부암 조직에서 Cyclin D1 과발현도 동시에 관찰되고 있어 암화 과정에 이들 종양유전자의 활성화가 관여할 것으로 생각된다⁶⁾. 또한 Cyclin D1의 과발현이 암의 재발과도 밀접하게 관계할 것으로 알려져있다. 그러나 *ras* 유전자의 변이는 매우 적은 것으로 알려지고 있으며, EGFR(Epidermal growth factor receptor)의 증폭은 보고되었으나, RNA와 단백질연구 연구에서는 이들 종양유전자의 역할은 아직 밝혀지지 않고 있다.

3. 성장인자(growth factors)의 역할

Transforming Growth Factor- β 는(TGF- β) 암 세포의 성장을 억제하는 성장인자이다. 대장암세포에서 Type II TGF- β receptor가 변이를 일으키면 이 수용체의 정상 작용인 세포의 성장억제 효과가 소실되어 암세포의 성장을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 일부 두경부암 세포주에서도 Type II TGF- β receptor의 변이가 보고되었다⁷⁾. 이외에도 retinoic acid receptor(RARs)가 두경부암의 성장을 억제하는 성장인자로 알려져있다. 특히 암전단계 병변에서 retinoic acid receptor- β mRNA가 감소되어있고, isotretinon을 투여하여 mRNA 증가를 유도할 수 있다는 연구결과는 두경부암의 화학 예방의 가능성을 뒷받침하는 것으로 생각된다⁸⁾.

4. 종양억제유전자(tumor suppressor gene)의 역할

최근 분자생물학의 발전은 Southern blot등의 많은 양

의 DNA를 필요로 하거나, 복잡한 기법을 사용하였던 방법들을 소량의 DNA만으로도 가능한 PCR(Polymerase Chain Reaction) 방법을 이용한 microsatellite 연구를 가능하게 하였다. 이러한 방법은 파라핀 포매된 암조직으로부터 분리된 소량의 DNA에서도 microsatellite의 증폭을 이용하여 소위 LOH(loss of heterozygosity) 연구를 가능하게 되었다⁹⁾. 종양억제유전자는 보통 정상 체세포에서 부모에게 받은 한 쌍의 유전자중 중 한 쪽의 점돌연변이(point mutation)와 남은 한쪽의 염색체의 결손(deletion)에 의하여 불활성화 된다. 이러한 양상은 암세포의 종양억제 유전자가 존재하는 부위의 microsatellite를 PCR에 의하여 증폭하면 한쪽 결손 된 염색체 부위가 증폭되지 않는 소위 "LOH"의 형태로 나타난다. 따라서 염색체 특정 부위에서의 LOH는 그 부위에 존재하는 종양억제유전자의 불활성화를 시사하는 소견이다. Nawroz 등¹⁰⁾은 29개의 두경부암 조직에서 59개의 microsatellite marker로 LOH 양상을 조사하였고, 72%의 종양에서 9p21-22 염색체 부위에서 LOH를 보이는 것으로 보고하였다. 또한 3p, 11q, 13q, 17p 염색체 부위에서도 50% 이상의 LOH가 관찰되었다. 또한 Califano 등¹¹⁾은 9p21 염색체 부위의 LOH가 이형성(dysplasia)과 상피내암(carcinoma in situ)등 침윤성 암 이전의 전암병변의 71%에서 관찰됨을 보고하였고, 17p LOH가 두경부 암의 발암과정의 초기단계에 발생함을 시사하였다. 9p21염색체 부위는 특히 *p16(CDKN2)* 유전자가 존재하는 부위이며, 이는 cyclinD1/cdk4 complex의 강력한 억제제이다. 그러나 정작 *p16* gene의 두경부암에서 변이율은 10~15%에 지나지 않아 유전자 변이 이외의 다른 불활성화 기전이 작용할 가능성이 있을 것으로 생각되고 있다¹²⁾.

이외에도 LOH가 흔히 관찰되는 부위는 3p 염색체 부위이다. Maestro 등¹³⁾은 38개의 두경부암 조직중 78%에서 3p LOH를 보고하였고, 특히 3p24-ter, 3p21.3와 3p14 등의 부위에 종양억제유전자의 가능성을 시사하였다. 이중 현재 3p14.2 부위의 fragile histidine triad (*FHIT*) 유전자가 두경부암의 발암과정에 관여할 것으로 생각된다.

두경부암의 전암병변에서 9p LOH, 3p LOH등이 흔히 나타나는 것으로 보고되었으나, 40~50%에서 나타나는 *p53* 유전자의 변이는 비교적 발암 과정의 후기에 발생하는 것으로 보고되었다. Califano 등은 이러한 결과를 종합하여 초기에 9p LOH로 시작하여 3p, 17p LOH에 의하여 이형성으로 변화하고 11q, 13q, 14q LOH와 *p53* 유전자의 변이에 의하여 상피내암으로 발전하여 6p, 8, 4q 염색체의 소실에 의하여 침윤성 종양으로 변화하는 두경부암의 암화와

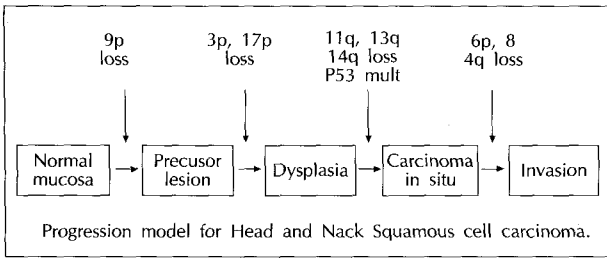


Fig. 2. 두경부암의 암화과정 모식도.

정을 제시하였다(Fig. 2)¹¹⁾.

5. Field cancerization에 대한 분자 생물학적인 접근

최근 두경부암과 폐암등 상부 소화호흡기계에서 흔히 발생하는 소위 다발성 종양(multiple primary cancer)의 발생 기원에 대한 논의가 활발하다. 1953년 Slaughter등은 두경부암 환자의 조직 소견을 관찰한 결과 다발성 종양의 빈도가 매우 높았고, 이 다발성 종양의 주위의 점막 조직이 이미 암화 과정이 진행된 상태임(condemned mucosa)을 보고하였다¹⁴⁾. 따라서 암화 과정이 어느 정도 진행된 암 주위의 전암병변에서 새로운 종양이 발생하였을 것이라는 이론을 발표하였다. 이러한 결과는 소위 "Field Cancerization" 이론으로 두경부에서 다발성 종양의 빈도가 높은 현상을 설명하는 적절한 이론으로 받아들여져 왔다. 한편 1993년 Chung등은 31명의 두경부암 환자의 일차암(primary cancer)과 이차암(second primary cancer)의 p53 유전자의 변이를 조사하였고, 변이가 있었던 21명 모두에서 일차암과 이차암의 p53 유전자의 변이가 일치하지 않다는 사실을 보고하였다¹⁵⁾. 이러한 결과는 이차암이 일차암과 무관하게 독립적으로 발생하였을 가능성이 큰 것으로 설명되었다. 그러나 p53 유전자의 변이는 두경부암 발생 과정의 후기에 발생하고, 동일한 하나의 세포에서 기원한 종양이라도 p53 유전자의 변이 양상이 다를 수 있다는 주장도 제기되었다¹⁶⁾. 또한 두경부암이 소위 상피세포내이동(intraepithelial spread)하거나, 원발 장소에서 분리되어 다른 장소로 물리적으로 이동(flot and seed)하여 두 번째 암을 발생시킬 수 있다는 의견도 제시되었다¹⁶⁾.

Bedi 등¹⁷⁾은 8명의 여성 다발성 두경부암 환자를 조사하여, 4명에서 다발성 암의 X-chromosome inactivation, 9p와 3p LOH 양상이 정확히 일치함을 발표하였다. 이러한 결과는 두경부의 다발성 암이 독립적으로 생겨난다기보다는 일차암이 재발하거나, 물리적으로 이동하여 이차암이 발생함을 시사하였다. 한편 1996년 Califano 등¹¹⁾은 두경부의 암조직과 암주변의 다양한 전암병변을 조사하여, 암조직과 전암병변에서 동일한 LOH 양상이 나타나고 있음을

관찰하였다. 이는 Slaughter등이 조직학적으로 관찰한 것과 같은 현상이 분자 유전학적 방법으로도 관찰된 것으로 생각된다.

최근 연구에서는 다양한 시간적 간격을 두고 검사한 다발성의 전암병변도 동일한 유전적 변화를 보이는 것으로 보고되었다¹⁸⁾. 그러나 이러한 결과를 어떻게 해석할 것인지에 대한 논란이 아직 계속 중인 것으로 생각된다. 즉 두경부에서 이차암 혹은 다발성 암의 발생 기원이 동일한 하나의 세포에서 발생한 동일한 암의 재발 혹은 전이인지, 아니면 동일한 발암 과정에 노출된 또 다른 점막세포가 독립적으로 암화 과정을 거쳐 새로운 암이 발생하였는지에 대한 논란은 아직 유효한 것으로 생각된다. 다발성암의 기원에 대한 논란의 결과는 향후 두경부암의 예방과 치료방침에 적지 않은 영향을 미칠 것으로 생각된다.

요 약

- 1) 두경부암은 5~10개의 유전적 변화가 축적하여 발생하는 다단계암화과정으로 이해되고 있다.
- 2) 두경부암은 세포유전학적 연구결과 염색체의 감소가 증가보다 더욱 우세하여 종양억제유전자의 활성이 억제되는 기전이 종양유전자의 활성화보다 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.
- 3) 9p, 3p, 17p 염색체의 LOH가 두경부암과 암주위의 병변에서 관찰되었으며, 이들의 변화에 의하여 전암병변이 침윤성 암으로 진행되는 것으로 생각된다.
- 4) 두경부암에서 다발성 암과 전암병변이 동일한 유전학적 변화를 갖고있으며, 이들은 동일한 하나의 세포에서 유래한 것으로 생각된다. 그러나 아직 다발성암 발생의 기원에 대하여서는 논란이 계속되고 있다.

REFERENCES

- 1) Nowell PC : Mechanism of tumor progression. *Cancer Res.* 1986 ; 46 : 2203-2207
- 2) Renan MJ : How many mutations are required for tumorigenesis? Implication from human cancer data. *Mol Carcinog.* 1993 ; 7 : 139-146
- 3) Van Dyke DL, Worsham MJ, Benninger MS et al : Recurrent cytogenetic abnormalities in squamous cell carcinomas of the head and neck region. *Genes Chromosomes Cancer.* 1994 ; 9(3) : 192-206
- 4) Lese CM, Rossie KM, Appel BN et al : Visualization of INT2 and HST1 amplification in oral squamous cell carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer.* 1995 ; 12(4) : 288-295
- 5) Bockmuhl B, Schwendel A, Dietel M, Pertersen I : Distinct patterns of chromosomal alternations in high and low grade head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 1996 ; 56 : 5325-5329
- 6) Callender T, el-Naggar AK, Lee MS, Frankenthaler R, Luna MA, Batsakis JG : PRAD-1(CCND1)/cyclin D1 oncogene amplification in primary

- head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer*. 1994, 1 : 74(1) : 152-158
- 7) Garrigue-Antar L, Munoz-Antonia T, Antonia SJ, Gesmonde J, Velucci VF, Reiss M : Missense mutations of the transforming growth factor beta type II receptor in human head and neck squamous carcinoma cells. *Cancer Res*. 1995, 15 : 55(18) : 3982-3987
 - 8) Lotan R, Xu XC, Lippman SM et al : Suppression of retinoic acid receptor-beta in premalignant oral lesions and its up-regulation by isotretinoin. *N Engl J Med*. 1995, 25 : 332(21) : 1405-1410
 - 9) Weber JL, May PE : Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet*. 1989 : 44(3) : 388-396
 - 10) Nawroz H, van der Riet P, Hruban RH, Koch W, Ruppert JM, Sidransky D : Allelotype of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 1994, 1 : 54(5) : 1152-1155
 - 11) Califano J, van der Riet P, Westra W et al : Genetic progression model for head and neck cancer : implications for field cancerization. *Cancer Res*. 1996, 1 : 56(11) : 2488-2492
 - 12) Cairns P, Mao L, Merlo A et al : Rates of p16(MTS1) mutations in primary tumors with 9p loss. *Science*. 1994, 15 : 265(5170) : 415-417
 - 13) Maestro R, Gasparotto D, Vukosavljevic T, Barzan L, Sulfaro S, Boiocchi M : Three discrete regions of deletion at 3p in head and neck cancers. *Cancer Res*. 1993, 1 : 53(23) : 5775-5779
 - 14) Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W : "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium : Clinical implications of multicentric origin. *Cancer*. 1953 : 6 : 963-968
 - 15) Chung KY, Mukhopadhyay T, Jhingook K et al : Discordant p53 gene mutations in primary head and neck cancers and corresponding second primary cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer Res*. 1993 ; 53 : 1676-1683
 - 16) Carey TE : Field cancerization : are multiple primary cancers monoclonal or polyclonal? *Ann Med*. 1996 : 28(3) : 183-188
 - 17) Bedi GC, Westra WH, Gabrielson E, Koch W, Sidransky D : Multiple head and neck tumors : evidence for a common clonal origin. *Cancer Res*. 1996, 1 : 56(11) : 2484-2487
 - 18) Califano J, Westra WH, Meininger G, Corio R, Koch WM, Sidransky D : Genetic progression and clonal relationship of recurrent premalignant head and neck lesions. *Clin Cancer Res*. 2000 ; 6(2) : 347-352