J Korean Gastric Cancer Assoc
2001;1(2):92-99

□ 원 저 □

위 선암종에서의 E-cadherin, β-catenin 및 c-Met 단백 발현에 대한 연구

고려대학교 의과대학 병리학교실, [1]일반외과학교실

조성진 · 김민경 · 신봉경 · 민연기[1] · 조민영[1] · 서성옥[1] · 원남희 · 채양석

Study of the Expression of E-cadherin, β-catenin, and c-Met in Gastric Adenocarcinomas

Seong Jin Cho, M.D., **Min Kyung Kim**, M.D., **Bong Kyung Shin**, M.D., **Youn Ki Min**, M.D.[1], **Min Young Cho**, M.D.[1], **Sung Ock Suh**, M.D.[1], **Nam Hee Won**, M.D. and **Yang Seok Chae**, M.D.

Departments of Pathology and [1]Surgery, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

Purpose: E-cadherin is an adhesion molecule essential for tight connection between cells, forming the cadherin/catenin complex. Truncated β-catenin disrupts the interaction between E-cadherin and α-catenin, leading to the loss of intercellular adhesion. Met protein, the hepatocyte growth factor receptor, plays important roles in signal transduction. We investigated the relationships between the expressions of E-cadherin, β-catenin, and c-met protein and the clinicopathological and prognostic parameters in gastric adenocarcinomas.

Materials and Methods: The patterns of E-cadherin, β-catenin, and c-met protein expression were studied using immunohistochemistry in formalin-fixed, paraffin-embedded archival tissues from 76 surgically resected gastric adenocarcinomas.

Results: Increased expressions of E-cadherin, β-catenin, and c-met were more significantly correlated in early gastric cancers (EGC) than in advanced gastric cancers (AGC) (P=0.002, P=0.003 and P=0.026). The positive immunoreactivities of all three markers were markedly lower in signet ring-cell type and poorly differentiated type lesions than in intestinal-type lesions. Decreased expression of the β-catenin protein correlated well with increased tumor invasion depth (P=0.039), and increased lymph node metastasis correlated well with reduced expression of c-met (P=0.046).

Conclusion: In gastric cancers, reduced expressions of the E-cadherin, β-catenin, and c-met proteins may play some role in poorer tumor differentiation, deeper tumor invasion, and increased lymph node metastasis. Also, the c-met gene is thought to play a specific role in the mechanism of the yet unknown catenin action. **(J Korean Gastric Cancer Assoc 2001;1:92-99)**

Key Words: c-Met, E-cadherin, β-catenin, Gastric adenocarcinoma, Immunohistochemistry

중심 단어: c-Met, E-cadherin, β-catenin, 위선암종, 면역조직화학검사

서 론

암세포의 전이과정에서 세포외 기질 통과기전은 암세포 상호간의 부착력 감소, 세포외 기질에 부착, 세포외 기질의 분해, 암세포의 이동의 순으로 설명할 수 있다.(1) 이 중 세포간 부착력에 관여하는 Cadherin은 칼슘 이온에 의존성이 있는 120kDa 크기의 막성 세포 고착물질(adhesion molecule)로서 같은 cadherin끼리 결합하는 동종 친화성 상호작용의 성질을 가지며 catenin과 복합체를 이루어 세포내 골격단백질인 actin과 결합하여 특정 세포의 구조를 유지시킨다.(2) Cadherin과 catenin의 변이와 소실에 대한 연구는 비교적 많이 진행되어 여러 장기의 상피세포 암종에서 종양의 진행 정도에 따라 발현의 차이가 발생하고 또한 이들의 소실 또는 변이는 암세포의 침윤성 획득에 기여한다고 알려져 있다.(3) 이들 고착물질들이 암의 침윤성과 관련이 있다는 사실은 E-cadherin에 대한 항체를 처리하여 cadherin-catenin 복합체의 붕괴가 초래됨으로 인해 세포가 침윤성을 획득하게

책임저자 : 채양석, 서울시 성북구 안암동 5가 126-1
고려대학교 의과대학 안암병원 해부병리과, 136-705
Tel: 02-920-5590/5782, Fax: 02-920-5590
E-mail: chaeys@kuccnx.ac.kr

이 논문은 2001년 3월 제90차 US & Canadian Academy of Pathology에서 poster session 연제로 선정되었음.
접수일 : 2001년 1월 2일, 게재승인일 : 2001년 2월 25일

된다는 연구 결과로 알려졌다.(4,5)

한편 암세포의 이동에 관여하는 운동인자들 중 하나인 간세포 성장 인자(HGF: Hepatocyte Growth Factor)는 주로 상피조직에서 발현되는 tyrosine kinase 활성능을 가진 고친화성 수용체인 Met 단백에 결합하여 세포내 신호전달체계를 연속적으로 활성화시켜 발암 기전에 기여한다고 알려져 있다.(6) 이 수용체는 여러 암종 즉, 간,(7) 폐,(8) 대장,(9) 난소,(10) 전립선,(11) 신장,(12) 갑상선(13) 등 다양한 장기의 암종에서 발현이 증가된다고 알려져 있고, 뇌종양에서는 고등급 종양일수록 Met 단백의 발현의 증가와 낮은 생존율을 보이며,(14) 유방암종에서는 종양의 침윤 정도와 밀접한 관련이 있을 것으로 알려져 있다.(15) 위암종에서는 암세포에서의 Met 단백의 발현 정도와 종양의 병기, 림프절 전이, 분화도와 연관된다는 보고도 있다.(16,17)

Cadherin과 catenin에 대한 연구는 대장, 유방, 난소, 위, 식도, 췌장, 전립선 등에 발생한 상피세포 암종에서 종양의 진행 정도에 따른 발현 양상의 차이에 대한 연구나 변이에 대한 연구가 있으나,(18-24) 국내에서는 위장 종양에서의 E-cadherin과 β-catenin을 동시에 조사한 연구는 드물며 더욱이 c-met 단백 발현을 연계시켜 분화도와 전이 기전을 규명한 문헌은 미미한 실정이다. 이에 저자들은 한국인에서 가장 흔히 발생하는 위선암에서 c-met 외에도 E-cadherin과 β-catenin의 면역조직 화학염색을 시행하여 임상 병기와 조직학적 분화도에 따른 발현 양상 차이를 분석하고 이 병소에서의 발현 양상을 비교 검토하여 이들의 발현이 위선암종의 분화 및 전이 기전에 어떤 역할을 하는지를 알아보고자 하였다.

방 법

1) 연구재료

1994년 10월부터 1997년 12월까지 고려대학교 의료원에 입원하여 위선암으로 진단 받아 절제되었던 검체의 유리 슬라이드를 재검토하여, 병변의 대표성을 갖고 종양과 정상 혹은 만성 위축성 위염의 소견의 점막이 함께 있는 76예를 대상으로 면역조직화학 염색법을 이용하여 E-cadherin, β-catenin, 및 Met 단백의 발현 양상을 조사하였다. 76예 중에는 조기위암 28예와 진행위암 48예가 포함되었다.

2) 병리조직학적 검색

76예 실험 대상의 H&E 슬라이드를 광학현미경으로 재검색을 시행하였으며, 조직학적 분화도는 WHO 분류에 의거하여 구분하였다.

3) 면역조직화학 염색

10% 중성 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거친 조직을 5~6μm 두께로 연속 세 개의 절편을 만들어 100% xylene으로 3~5분간 탈파라핀하고, 증류수로 함수시킨 후 각 절편은 c-Met, E-cadherin과 β-catenin 단백에 대하여 면역조직화학적 염색을 시행하였다.

(1) E-cadherin, β-catenin 단백에 대한 염색: 절제된 조직은 10% 중성 완충 포르말린에 고정하여 파라핀에 포매한 후 5μm 두께 절편으로 하여 사용하였다. Xylene으로 탈파라핀하고 에탄올로 함수과정을 거쳐 증류수로 수세하였다. 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위하여 3% 과산화수소수로 10분간 처리하고 Tris 완충 용액 (Tris 3.025 g, NaCl 40 g, 1 M HCl 22 ml in H_2O 5 l, pH 7.4)으로 씻어 냈다. 조직의 항원성 노출을 높이기 위하여 citrate 완충 용액(sodium citrate 14.7 g, 1M HCl 27 ml in H_2O 5 l, pH 6.0)에 담궈 압력솥에 2분간 끓였다. E-cadherin (Zymed, San Francisco, CA)과 β-catenin (Transduction Laboratories, Lexington, KY)에 대한 항체를 각각 1 : 100과 1 : 120으로 희석하여 첨가하고, 1시간 동안 반응시켰다. Avidin-biotin-peroxidase complex (Dako ABC kit, Copenhagen, Denmark) 방법에 따라 항체를 확인하였다. Biotinylated anti-mouse antibody를 상온에서 15분간 반응시키고 Tris완충액으로 씻어냈다. Streptavidin-peroxidase solution을 가하고 15분 후에 Tris 완충액으로 다시 씻어주었다. DAB (H_2O_2-3,3'-diaminobenzidine)용액으로 발색하고 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하였다.

(2) c-Met 단백에 대한 염색: c-Met 염색은 상기 E-cadherin, β-catenin 염색과 기본 과정은 같으며, 다만 1차 항체인 Met 단백에 대한 다클론성 항체(h-Met C-12, Santa Cruz, USA)를 1 : 100으로 희석하여 실온에서 하룻밤 동안 반응시킨 후 다음날 PBS액으로 세척 후 상기 염색과 동일한 방법을 시행하였다.

4) 결과 판정 방법

정상 대조군으로는 위암 주변의 종양이 없는, 비교적 정상에 가까운 상피세포부위를 이용하였다. E-cadherin, β- catenin 염색의 경우는 정상 위 점막 상피세포와 같은 막 염색성을 보일 때 양성으로 하였고, 세포질이나 핵 염색을 보이는 경우와 전혀 염색이 되지 않는 경우를 이상 발현으로 간주하였다. 면역염색 양상은 세포막 염색성을 소실한 정도에 따라 90% 이상의 세포들이 정상 상피세포와 같은 막 염색성을 보이는 경우를 (+), 정상 막 염색성이 90% 미만인 경우와 세포질이나 핵에 염색된 경우를 (-)로 분류하였다. c-Met 단백의 경우는 세포질에서 갈색으로 염색되는 세포를 양성으로 판정하였으며, 이들 세가지 단백 모두 전체 종양세포에 대해 5% 이

상의 경우만 양성으로 취급하였고 그 미만은 모두 음성으로 취급하였다.

5) 통계학적 분석

면역조직화학 염색의 결과와 임상, 병리학적 예후인자들간의 통계학적 관련성을 chi-square test, t-test 또는 ANOVA test로 분석하였으며 환자의 나이, 성, 분화도, 침윤정도, 림프절 전이와의 상관관계를 t-test 및 ANOVA, SPSS로 통계적 유의성을 분석하였으며 유의수준은 $P<0.05$로 하였다.

결 과

1) 임상 및 병리조직학적 소견

총 76예 중에서 조기위암은 28예, 진행성 위암은 48예 이었다. 종양의 침윤 정도를 관찰한 결과 점막에 위치한 경우가 13예(17.1%), 점막하층까지 침윤한 경우가 15예(19.7%), 고유근층을 침윤한 경우가 14예(18.4%), 근육층을 뚫고 장막층 이상을 침윤한 예가 34예(44.7%)이었다. 림프절 전이가 있는 경우는 38예(50.0%)이었고, 림프절 전이가 없는 예는 38예(50.0%)이었으며 조기위암은 모두 림프절 전이가 없었다. 조직학적 유형은 고분화성 선암종이 15예(19.7%), 중등도 분화성 선암종이 29예(38.2%), 저분화성 선암종이 15예(19.7%), 그리고 인환세포형 선암종이 17예(22.4%)이었으며, 조기위암 중 저분화성 선암종과 인환세포형 선암종은 모두 5예이었고, 진행성 위암 중 고분화성 선암종은 3예에 불과하였다(Table 1).

2) E-cadherin과 **β-catenin** 단백 발현과 임상, 병리학적 예후인자와의 비교

E-cadherin (Fig. 1)과 β-catenin (Fig. 2) 단백 발현은 모두 정상 점막 상피세포에서 세포막 측면과 기저부에서 강염색성을 보였고, 내강쪽에 가까운 부분은 상대적으로 약염색성을 보였으며 주변 간질 세포나 혈관 등에서는 전혀 염색성을 보이지 않았다. 전반적으로 진행성 위암군에서 E-cadherin과 β-catenin의 발현이 조기위암군에 비해 현저히 감소되었다($P=0.002$, $P=0.003$).

(1) 조기위암군에서의 조직학적 분화도에 따른 발현: 조기위암군에서는 고분화도의 경우 E-cadherin 1예에서만 이상 염색성을 보였고 나머지 예에서는 E-cadherin과 β-catenin의 발현은 정상 점막세포와 같은 염색성으로 발현되었다(91.7%, 100.0%). 중등도 분화성의 경우는 E-cadherin과 β-catenin에 대해 각각 1예에서만 이상 염색성을 보였으며, 저분화성의 경우는 이상 발현이 없었고, 인환세포형 암종의 경우는 4예 중 각각 2예에서 이상 염색성을 보였다(Table 1).

(2) 진행성 위암군에서의 조직학적 분화도에 따른 발현: 진행성 위암군에서 고분화도의 경우 E-cadherin과 β-catenin에 대해서 각각 1예에서만 이상 염색성을 보였다. 18예의 중등도 분화성 선암종의 경우는 E-cadherin과 β-catenin에 대해 각각 12예(66.7%), 14예(77.8%)에서 발현을 보였다. 14예의 저분화성 선암종의 경우는 E-cadherin과 β-catenin에 대해 각각 5예(35.7%), 7예(50.0%)에서 발현을 보였다. 13예의 인환세포형 암종의 경우는 각각 5예(38.5%),

Table 1. Positive expression rates of E-cadherin, β-catenin and c-Met proteins according to the histologic type

Tumor type	Total no.	No. of positive immunoreactivity (%)		
		E-cadherin	β-catenin	c-Met
EGC	28			
WD	12	11 (91.7)	12 (100.0)	9 (75.0)
MD	11	10 (90.9)	10 (90.9)	3 (27.3)
PD	1	1 (100.0)	1 (100.0)	1 (100.0)
Signet	4	2 (50.0)	2 (50.0)	1 (25.0)
AGC	48			
WD	3	2 (66.7)	2 (66.7)	2 (66.7)
MD	18	12 (66.7)	14 (77.8)	9 (50.0)
PD	14	5 (35.7)	7 (50.0)	3 (21.4)
Signet	13	5 (38.5)	2 (15.4)	2 (15.4)

EGC = early gastric cancer; AGC = advanced gastric cancer; WD = well differentiated; MD = moderately differentiated; PD = poorly differentiated; Signet = signet ring cell adenocarcinoma.

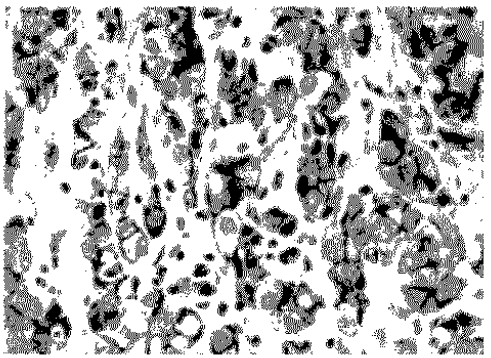

Fig. 1. The glands of well-differentiated gastric adenocarcinoma show strong immunoreactivity for E-cadherin stain at the tumor cell membranes (×400).

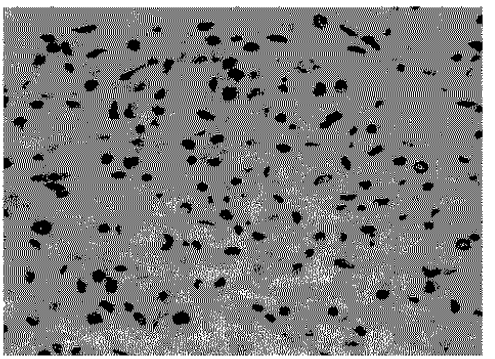

Fig. 3. The signet ring cell type adenocarcinoma cells show negative reaction for E-cadherin stain (×400).

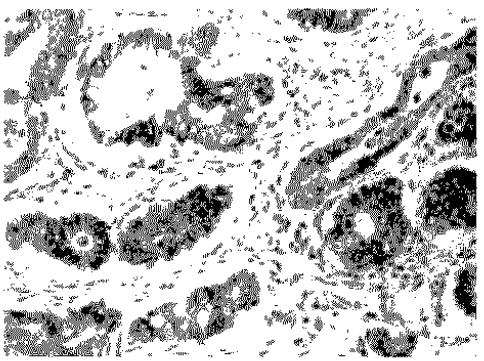

Fig. 2. The glands of moderately-differentiated gastric adenocarcinoma show strong immunoreactivity for β-catenin stain at the tumor cell membranes (×200).

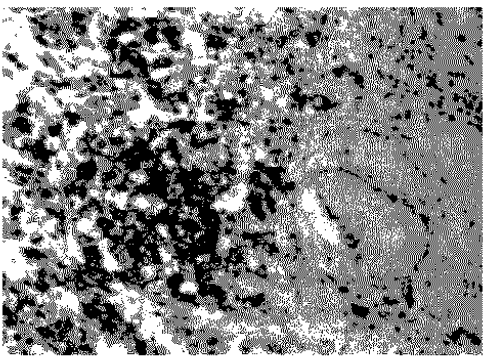

Fig. 4. The c-Met immunostain is strongly positive at the cytoplasm of the well-differentiated adenocarcinoma glands (×200).

Table 2. Correlation between expression of E-cadherin, β-catenin, c-Met proteins and clinicopathologic findings of gastric adenocarcinomas

Clinico-pathologic factors		Total no.	No. of positive immunoreactivity (%)		
			E-cadherin	β-catenin	c-Met
Depth of invasion	m	13	13 (100.0)	13 (100.0)	7 (53.8)
	sm	15	11 (73.3)	12 (80.0)	7 (46.7)
	mp	14	6 (42.9)	9 (64.3)	7 (50.0)
	si	34	18 (52.9)	16 (47.1)	9 (26.5)
Lymph node metastasis					
	negative	38	29 (81.6)	32 (84.2)	19 (50.0)
	positive	38	19 (50.0)	18 (47.4)	11 (28.9)

m = mucosa; sm = submucosa; mp = muscularis propria; si = serosa-infiltrating.

2예(15.4%)에서 발현을 보였다. 이와 같이 조직학적 분화도에 따른 면역 염색성 변화에서 E-cadherin과 β-catenin 모두 분화도가 나쁠 수록 세포막 염색성이 소실됨을 보였고 이는 통계학적으로 유의하였다($P<0.05$). 특히 인환세포형 암종의 경우는 장형 암종과 비교하여 E-cadherin과 β-catenin의 발현이 현저하게 낮았다(P=0.039, P=0.000)(Table 1)(Fig. 3).

(3) 침윤도에 따른 발현: 28예의 조기위암 중 점막에 국한된 조기위선암종의 경우는 E-cadherin과 β-catenin이 모두 발현되었으며 점막하층을 침범한 경우는 E-cadherin과 β-catenin에 대해 이상 염색을 보인 경우는 점막하층을 침범한 선암이었으며 각각 11예(73.3%)와 12예(80.0%)에서 발현되었다. 진행성 위암은 E-cadherin의 발현은 고유 근층을 침범한 경우 42.9%, 장막 이상을 침범한 경우 52.9%, β-catenin의 발현은 고유 근층을 침범한 경우 64.3%, 장막 이상을 침범한 경우 47.1%의 발현율을 보여 β-catenin의 소실은 종양의 침윤 깊이와 유의한 상관성을 보였으며 (p=0.039), E-cadherin의 경우는 통계학적 의의를 보이는 차이는 없었지만 침윤이 깊어짐에 따라 발현율이 저하되는 양상을 보였다(Table 2).

(4) 림프절 전이에 따른 발현: E-cadherin은 림프절 전이가 있는 38예의 암종 중 19예(50.0%), 전이가 없는 암 종 중 29예(81.6%)에서 발현되었다(P=0.061). β-catenin은 림프절 전이가 있는 암종 중 18예(47.4%), 전이가 없는 암종 중 32예(84.2%)에서 발현되어(P=0.053), E-cadherin과 β-catenin이 모두 림프절 전이에 따른 염색성의 통계학적으로 유의한 차이는 없었지만 림프절 전이가 있는 군에서 발현 소실이 큰 경향을 보였다(Table 2).

(5) E-cadherin과 β-catenin 단백 발현의 상관성: 전체 76예 중 60예(78.9%)에서 E-cadherin과 β-catenin이 동시 발현 또는 소실 양상을 보였으며 통계학적으로 유의하였다.

3) c-Met의 발현

Met 단백은 정상 위 상피 조직이나 종양 주위의 간질에서는 양성 소견을 보이지 않거나 또는 일부에서는 매우 미약한 발현을 보였으며, 주로 종양세포의 세포질에서 갈색으로 관찰되었다(Fig. 4).

(1) 조직학적 분화도에 따른 발현(Table 1): Met 단백은 15예의 고분화도 암종 중 11예(73.3%), 29예의 중등도 분화도는 12예(41.4%), 15예의 저분화도는 4예(26.7%), 그리고 17예의 인환세포종인 경우는 3예(17.6%)에서 발현되어 분화도가 낮아질수록 Met 단백 발현이 유의하게 감소하였으며($P<0.05$), 저분화도 및 인환세포암종을 합친 군은 고분화도 및 중등도 분화도와 비교하여 Met 단백의 발현이 현저히 낮았다(P=0.01).

(2) 침윤도 및 림프절 전이에 따른 발현(Table 2): 진행성 위암군에서의 Met 발현율은 16예(33.3%)로서 조기위암군(14예, 50.0%)에 비해 감소된 양상을 보였으며 (P= 0.026), 염색 강도 또한 일반적으로 조기위암군이 진행성 위암군 보다 더욱 강한 염색성을 보였다. 침윤 깊이에 따른 발현은 침윤도가 커질수록 낮아지는 양상을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다. 한편 림프절 전이가 없는 군이 림프절 전이가 있는 군보다 Met 발현이 높았으며 이는 유의한 상관성을 보여주었다(P= 0.046).

(3) E-cadherin 및 β-catenin과의 상관성: Met 단백 발현은 E-cadherin과 35예(46.1%), β-catenin과 32예(42.1%)에서 동시 발현 또는 소실을 보였는데 Spearman 상관 분석과 Chi-square 분석에서 이들간의 발현 사이에는 뚜렷한 상관관계는 없었다.

고 찰

Cadherin과 catenin 같은 고착 물질은 세포간 결합이나 세포골격 유지에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌으며 여러 상피세포 암종에서 임상, 병리학적 예후인자와 이들의 발현 양상에 대한 많은 연구가 이루어져 왔으며,(18-24) 일반적으로 cadherin은 catenin과 복합체를 형성하고, 이는 다시 세포골격과 결합함으로써 세포의 모양을 형성하는 데 기여한다고 알려져 있다.(1-4)

16q22.1에 위치하는 E-cadherin 유전자의 변이와 이형접합 소실에 대한 여러 문헌이 보고되었으며 특히 미만형 또는 인환세포 암종에서의 변이율이 높아 E-cadherin이 미만형 위 선암종의 형성에 관여하고 E-cadherin의 변이시에 종양 세포간의 결합력이 완전히 소실됨에 따라 선모양의 조직학적 구조가 상실된다는 보고들이 있다.(25,26)

Catenin은 α, β, γ 세 종류가 있으며, E-cadherin-β-catenin-α-catenin 또는 E-cadherin-γ-catenin-α-catenin의 형태로 복합체를 형성한다. α-catenin은 복합체 형태로 E-cadherin과 직접 결합하여 actin과 같은 세포골격과 결합할 수 있도록 매개하며, β-catenin의 변이가 생기면 α-catenin과 결합하는 아미노기 말단 부분이 소실되어 E-cadherin과 α-catenin이 결합하지 못해 세포결합력을 상실하게 되므로 β-catenin은 catenin 물질들 중 cadherin-catenin 복합체 기능에서 가장 중추적인 역할을 하는 것으로 보인다.(18) 최근에는 β-catenin이 E-cadherin 외에도 APC 단백과 결합하여 세포내 신호전달 체계에 관여한다는 보고들이 최근 알려져 있으며,(27,28) β-catenin이 E-cadherin과 결합하지 못하게 되면 APC 단백과 결합하여 Tcf, Lef-1 같은 전사요소에 직접 작용하여 신호전달 체계에 관여한다고 한다.

본 연구에서는 E-cadherin과 β-catenin 단백 발현 소실

과 조직학적 분화도와의 유의성 있는 상관관계가 발견되었고, E-cadherin과 β-catenin의 동시 발현율이 유의성이 있어서 Becker등(25)과 김등(26) 및 Bailey등(22)의 연구 결과와 부합되었으며 β-catenin 단백 발현 소실과 암종의 침윤 정도와의 상관성을 추가로 확인할 수 있었다. 한편 E- cadherin과 β-catenin 단백 발현이 상당 부분 일치하지 않으므로 이들 단백의 기능 소실 기전에 어떤 다른 기전이 있을 것으로 생각하여 본 연구에서는 동시에 암세포의 이동에 관여하는 운동인자들 중 최근 발암기전에 관여하는 것으로 알려진 간세포 성장인자(HGF)의 수용체인 c-met 유전자 산물이 어떤 역할을 하는지를 규명하기 위해 c- Met 단백에 대한 면역조직 염색도 실시하였다.

HGF는 tyrosine kinase 활성능을 가진 고친화성 수용체인 Met 단백에 결합, 세포내 신호전달체계를 연속적으로 활성화시켜 암종의 발생에 기여한다고 알려져 있다. c-met 발암유전자는 Vande Woude 등이 화학발암제를 처리하여 획득한 골육종 세포에서 최초로 규명한 유전자로 Met 단백은 tyrosine kinase activity를 갖는 190kDa transmembrane heterodimer이다.(29) c-met 유전자의 확실한 작용기전은 아직 완전히 규명되지는 못했지만, 간 세포 외에도 다양한 장기에서 발현되는 것으로 알려졌으며, HGF에 의해 활성화되어 주로 상피 조직에서 발현되고 세포내 신호전달 체계에 관여할 것으로 추정되고 있다. HGF/SF는 종양세포와 세포외 기질의 경계면에서 발견되는 운동인자들의 하나로서 종양세포의 성장 자체에도 관여함이 밝혀지고 있다. 즉 HGF/SF에 대한 특이 수용체가 Met 단백으로서 Met 단백의 기본 분자 구조는 세포막에 걸쳐 있는 형태로서 세포외로 50kDa의 α-chain과 세포막에 걸친 β-chain이 이황화 결합으로 되어 있는 구조이며, 세포내측으로 tyrosine kinase 활성을 갖는다. 즉 HGF/SF가 이 수용체에 결합하게 되면 이 효소에 의해 이 단백 수용체는 인산화됨으로써 활성화되고 다른 tyrosine kinase들의 활성을 조절하여 다양한 세포들의 성장, 운동, 분화, 이동, 형태에 영향을 미친다.(6) 최근의 연구에 의하면 Met 단백은 간, 췌장, 대장, 뇌, 갑상선, 전립선 등 다양한 장기의 암종에서 발현이 증가된다고 하며,(7-15) 그 발현 정도가 종양의 임상 및 생물학적 성상에 미치는 연구가 진행되고 있으나 위선암종을 대상으로 한 Met 단백 발현 연구는 드문 실정이다.(16,17)

본 연구에서는 E-cadherin과 β-catenin 단백 발현 소실과 유사하게 위 선암종의 분화도가 낮아질수록 Met 단백 발현이 유의하게 감소하였으며 종양의 침윤 깊이와 전이능이 커질수록 Met 단백 발현 감소의 경향을 보였다. 이 결과 중 분화도와 관련된 참고 문헌은 드물었지만, 종양의 침윤 깊이 및 전이 여부와의 관련성에 있어서는 Kuniyasu 등(17)의 결과와 상반된 소견을 보였고 실험 대상 장기는 다르지만 결직장암종에서 Met 단백의 발현이 종양의 병기 및 전이능이 높을수록 증가된다는 Hiscox등(9)과 최등(30)의 결과와도 부합되지 않는 특성을 보였다. 그러나 본 연구 결과로 위선암종의 발암 및 암종의 분화기전에 E-cadherin과 β-catenin 단백 발현 소실이 관여하는 것 이외에 c-met 유전자가 관여할 수 있는 가능성을 암시하며 이들 인자들의 분자적 기전들에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다.

결 론

저자는 위선암종 76예를 대상으로 c-Met, E-cadherin과 β-catenin 단백 발현에 대해 면역조직화학검사를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 진행성 위암군은 조기위암군에 비해 c-Met, E-cadherin 및 β-catenin 단백 발현이 유의성 있게 감소하였다(P=0.026, 0.002, 0.003).

2. 조직학적 분화도에 따른 비교에서 c-Met, E-cadherin과 β-catenin 모두 분화도가 나쁠 수록 염색성이 소실됨을 보였고 이는 통계학적으로 유의하였다($p<0.05$). 특히 인환세포형 암종의 경우는 장형 암종과 비교하여 c-Met, E-cadherin과 β-catenin의 발현이 현저하게 낮았다(P=0.01, P=0.039, P=0.000). 또한 60예(78.9%)에서 E-cadherin과 β-catenin 단백의 유의하게 동시 발현 또는 소실 양상을 보였다.

3. β-catenin의 소실은 종양의 침윤 깊이와 유의한 상관성을 보였으며(P=0.039), c-Met 및 E-cadherin의 경우는 통계학적 의의를 보이는 차이는 없었지만 침윤 깊이에 따라 발현율이 저하되는 양상을 보였다.

4. E-cadherin과 β-catenin이 모두 림프절 전이에 따른 염색성의 통계학적으로 유의한 차이는 없었지만 림프절 전이가 있는 군에서 발현 소실이 큰 경향을 보였으며, c-Met 단백은 림프절 전이가 없는 군이 림프절 전이가 있는 군보다 Met 발현이 유의하게 높았다(P=0.046).

이상의 결과로 본 연구에서는 Met와 E-cadherin 및 β-catenin 단백 발현 소실과의 상호 관련성은 확인되지 못했지만, 위선암종의 분화도 형성과 인환세포 암종 발암 기전은 Met, E-cadherin, β-catenin 세가지 단백 발현 소실과 관련이 있으며, 침윤도는 β-catenin 단백 발현 소실과 유의한 상관성을 보여 이들 인자들이 발암 기전 중 형태학적 분화과정에 일정한 역할을 할 것으로 생각되었다. 또한 이들 세가지 인자들은 조기위암군에서, 림프절 전이가 없는 군에서 높은 발현을 보이므로 암종의 초기 발암과정에 관여할 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Mignatti P, Robbins E, Rifkin DB. Tumour invasion through the human amniotic membrane: requirements for a proteinase cascade. Cell 1986;47:487-498.
2. Nose A, Nagajuchi A, Takeichi M. Expressed recombinant cadherins mediate cell sorting in model systems. Cell 1988; 54:993-1001.
3. Shiozaki H, Tahara H, Oka H, Miyata M, Kobayashi K, Tamura S, Iihara K, Doki Y, Hirano S, Takeichi M, Mori T. Expression of immunoreactive E-cadherin adhesion molecules in human cancers. Am J Pathol 1991;139:17-23.
4. Kemler R. From cadherins to catenins: cytoplasmic protein interactions and regulation of cell adhesion. Trend Genet 1993; 9:317-321.
5. Behrens J, Mareel MM, Van Roy FM, Birchmeier W. Dissecting tumor cell invasion: epithelial cells acquire invasive properties after the loss of uvomorulin-mediated cell-cell adhesion. J Cell Biol 1989;108:2435-2447.
6. Rosen EM, Meromasky L, Setter E, et al. Purified scatter factor stimulates epithelial and endothelial cell migration. Proc Soc Exp Biol Med 1990;195:34-43.
7. Boix L, Rosa JL, Ventura F, Castells A, Bruix J, Rodes J, Bartrons R. c-met mRNA overexpression in human hepatocellular carcinoma. Hepatology 1994;1:88-91.
8. Rygaard K, Nakamura T, Spang-Thomsen M. Expression of the proto-oncogenes c-met and c-kit and their ligands, hepatocyte growth factor/scatter factor and stem cell factor, in SCLC cell lines and xenografts. Br J Cancer 1993;67(1): 37-46.
9. Hiscox SE, Hallett MB, Puntis MC, Nakamura T, Jiang WG. Expression of the HGF/SF receptors, c-met, and its ligand human colorectal cancers. Cancer Invest 1997;15:513-2.
10. Di Renzo MF, Olivero M, Katsaros D, et al. Overexpression of the Met/HGF receptor in ovarian cancer. Int J Cancer 1994;58(5):658-662.
11. Humphrey PA, Zhu X, Zarnegar R, Swanson PE, Ratliff TL, Vollmer RT, Day ML. Hepatocyte growth factor and its receptor (c-MET) in prostatic carcinoma. Am J Pathol 1995; 147(2):386-396.
12. Pisters LL, el-Naggar AK, Luo W, Malpica A, Lin SH. C-met proto-oncogene expression in benign and malignant human renal tissues. J Urol 1997;158(3 Pt 1):724-728.
13, Belfiore A, Gangemi P, Costantino A. Negative/low expression of the Met/hepatocyte growth factor receptor identifies papillary thyroid carcinomas with high risk of distant metastases. J Clin Endocrinol Metab 1997;82(7):2322-2328.
14. Moriyama T, Kataoka H, Kawano H, et al. Comparative analysis of expression of hepatocyte growth factor and its receptor, c-Met, in gliomas, meningiomas and schwannomas in humans. Cancer Lett 1998;124(2):149-155.
15. Alan BT, Morag P, Ernest ES, Alexander B, Bruce E. Coexpression of hepatocyte growth factor and receptor (MET) in human breast carcinoma. Am J Pathol 1996;148:225-232.
16. Taniguchi K, Yonemura Y, Nojima N, Hirono Y, Fushida S, Fujimura T, Miwa K, Endo Y, Yamamoto H, Watanabe H. The relation between the growth patterns of gastric carcinoma and the expression of hepatocyte growth factor receptor (c-met), autocrine motility factor receptor, and urokinase-type plasminogen activator receptor. Cancer 1998;1;82(11):2112-2122.
17. Kuniyasu H, Yasui W, Yokozaki H, Kitadai Y, Tahara E. Aberrant expression of c-met mRNA in human gastric carcinomas. Int J Cancer 1993;19;55(1):72-75.
18. Hiscox S, Jiang WG. Expression of E-cadherin, α, β, and γ-catenin in human colorectal cancer. Anticancer Res 1997; 17:1349-1354.
19. De Leeuw WJ, Berx G, Vos CB, Peterse JL, De Vijver MJ, Litvinov S, Roy FV, Cornelisse CJ, Cleton-Jansen AM. Simultaneous loss of E-cadherin and catenins in invasive lobular breast cancer and lobular carcinoma in situ. J Pathol 1997;183:404-411.
20. Davies BR, Worsley SD, Ponder BA. Expression of E-cadherin, α-catenin, and β-catenin in normal ovarian surface epithelium and epithelial ovarian cancers. Histopathol 1998;32:69-80.
21. Jawhari A, Jordan S, Poole S, Browne P, Pignatelli M, Farthing MJG. Abnormal immunoreactivity of the E-cadherin-catenin complex in gastric carcinoma: relationship with patient survival. Gastroenterol 1997;112:46-54.
22. Bailey T, Biddlestone L, Shepherd N, Barr H, Warner P, Jankowski J. Altered cadherin and catenin complexes in the Barrett's esophagus-dysplasia-adenocarcinoma sequence: correlation with disease progression and dedifferentiation. Am J Pathol 1998;152:135-144.
23. Gunji N, Oda T, Todoroki T, Kanazawa N, Kawamoto T, Yuzawa K, Scarpa A, Fukao K. Pancreatic carcinoma: correlation between E-cadherin and α-catenin expression status and liver metastasis. Cancer 1998;82:1649-1656.
24. Voeller HJ, Truica CI, Gelmann EP. β-catenin mutations in human prostate cancer. Cancer Res 1998;58:2520-2523.
25. Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, Becker I, Nekarda H, Siewert JR, Hofler H. E-cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. Cancer Res 1994;54:3845-3852.
26. Kim JY, Sol MY, Lee SK. Immunohistochemical study of E-cadherin expression in gastric adenocarcinoma. Korean J Pathol 1997;31:745-753.
27. rford K, Crockett C, Jensen JP, Weissman AM, Buers SW. Serine phosphorylation-regulated ubuquitination and degradation of β-catenin. J Biol Chem 1997;272:24735-24738.
28. Sparks AB, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Mutational

analysis of the APC/β-catenin/Tcf pathway in colorectal cancer. Cancer Res 1998;58:1130-1134.

29. Testa JR, Park M, Blair DG, Kalbakji A, Arden K, Vande Woude GF. Analysis by pulsed field gel electrophoresis reveals complex rearrangements in two MET alleles in a chemically-treated human cell line, MNNG-HOS. Oncogene 1990;5(10):1565-1571.
30. 최경운, 이진숙, 이창훈, 설미영, 서강석. 결직장암종에서 Met 단백의 발현. 대한병리학회지 2000;34:501-508.