

구강편평세포암종에서 Snail과 E-cadherin의 면역조직화학적 발현

유미현¹⁾, 육종인^{2,3)}, 김남희³⁾, 고현석³⁾, 백정미³⁾, 박정국³⁾, 이상휘^{3,4)}, 김현실³⁾

남서울대학교 치위생학과¹⁾, 연세대학교 치과대학 구강병리학교실²⁾, 연세대학교 치과대학 구강종양연구소³⁾, 연세대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, 구강과학연구소⁴⁾

<ABSTRACT>

The Immunohistochemical Expression of Snail and E-cadherin in Oral Squamous Cell Carcinoma

Mi Heon Ryu¹⁾, Jong In Yook^{2,3)}, Hyun Seok Ko³⁾, Jeong Mi Baik³⁾, Zheng Guo Piao³⁾, Sang Hwuy Lee^{3,4)}, Hyun Sil Kim³⁾

Department of Dental Hygiene, Namseoul University¹⁾, Department of Oral Pathology, Yonsei University College of Dentistry²⁾, Oral Cancer Research Institute, Yonsei University College of Dentistry³⁾, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Oral Science Research Center, Yonsei University College of Dentistry⁴⁾

Epithelial-mesenchymal transition (EMT) can play an important role in carcinogenesis of oral squamous cell carcinoma (OSCC). EMT is characterized by morphological and phenotypical change of epithelial cells into mesenchymal cells, and transcriptional repressor of E-cadherin, Snail is critical for EMT. In order to investigate the role of Snail and E-cadherin in OSCC, we analyzed the immunohistochemical pattern of Snail and E-cadherin in 18 OSCCs. The expression of Snail in the OSCC was increased whereas the expression of E-cadherin in the OSCC was decreased in comparison with those of normal oral mucosa, showing reverse correlation. Especially, the fibroblasts near the islands of OSCC showed the positivity of Snail, suggesting the reactive fibroblasts to the EMT of epithelial tumor cells. In metastatic squamous cell carcinoma in cervical lymph node, the positivity of Snail of tumor cells was higher than that of primary OSCC. We concluded that the increased Snail expression and the decreased E-cadherin expression were involved in the progression, invasion and metastasis of OSCC.

Key words : Oral squamous cell carcinoma, Epithelial-mesenchymal transition, Snail, E-cadherin, Immunohistochemistry

I. 서론

구강암은 세계적으로 빈발하는 10대 암의 하나로서, 발생

빈도는 인종이나 생활 환경에 따라 차이는 있으나 인체에서 발생하는 전체 암종의 2~3%를 차지하고 있으며 이 중 구강편평세포암종(oral squamous cell carcinoma)이 구강 내에서 생기는 모든 악성 종양의 90% 이상을 차지한다¹⁾. 구강암은 악성도가 높은 편에 속하며 초기에 발견하면 80~90% 완치할 수 있으나, 환자의 절반 이상이 3기 이상 진행된 후 발견하기 때문에 예후가 나쁜 편이며 수술적 절제시 광범위한 얼굴의 구조 상실과 기능 손상 등을 초래할 수 있다¹⁾.

* Correspondence : Hyun Sil Kim, Department of Oral Pathology, Yonsei University College of Dentistry, Sinchondong 134, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Tel: 02-2228-3033, E-mail: go2prague@yuhs.ac

* 본 논문은 2007년도 남서울대학교 학술연구비 지원(유미현)과 신진교수연구비(김현실; KRF-2007-331-E00223)와 중점연구소(김남희, 고현석, 김현실, 박정국, 백정미, 육종인, 이상휘; KRF-2005-005-J05903) 지원에 의해 연구되었음.

암종의 진행과정에서는 종양세포의 국소적 침습(local invasion)과 전이가 일어나는데 이 과정에서 상피성 종양세포의 상피세포의 간엽화 현상(epithelial-mesenchymal transition, EMT)이 동반된다²⁾. 상피세포의 간엽화 현상은 상피세포가 세포 극성 및 부착성이 상실되며 세포 표현형이 변화하여 간엽세포로서의 특징을 나타나게 되는 현상을 말한다²⁻⁴⁾. 이 과정에서 간엽성 표현형을 나타내기 위해 특정 유전자의 전사 프로그램이 변화하며, 세포의 이동성이 증가하고, 세포-세포 사이, 혹은 세포-세포외기질 사이 상호작용이 변화한다고 알려져 있다⁵⁾.

상피세포의 간엽화 현상은 발생학적으로도 원장 형성(gastrulation) 과정에서 일어난다고 알려져 있으며 초기 발생단계에서만 뿐만 아니라 심혈관계, 근골격계, 두개안면구조, 말초혈관조직 등과 같은 조직형성 과정에서도 일어난다³⁾. 암종 형성 과정에서는 상피성 종양세포의 E-cadherin 등의 세포 접착물질이 소실되면서 상피성 종양세포가 형태학적 변화를 일으켜 섬유모세포와 비슷한 형태로 변화하며 납작해지는 등의 변화를 유발한다^{4,5)}. 상피세포의 간엽화 현상은 암종 발생 과정의 중요한 초기 기전 중의 하나로 알려져 있으며²⁾ 상피성 종양세포는 탈분화하며 세포와 세포, 세포와 기저막간 결합이 소실되어 이동성을 얻게 된다⁵⁾. 또한 기저막을 파괴하며 침윤성 성장을 시작하고 종양세포가 림프관이나 혈관으로 전이하는 과정에서도 관여하는 것으로 알려져 있다^{2,5)}.

E-cadherin은 Ca^{2+} 의존적인 세포접착단백질 중 하나로 알려져 있으며 유전자는 16q22 부위에 위치한다^{6,7)}. E-cadherin은 세포와 세포의 상호 관계 조절, 상피세포의 부착과 연결에 중요한 역할을 하며 발생 과정에서는 형태 형성 과정과 세포의 이동에 관여한다고 알려져 있다^{4,5,7,8)}. 또한 세포질 내에서는 α -, β -catenin을 통해 세포 뼈대(cytoskeleton)의 구조물인 액틴 미세사(actin microfilament)와 연결되어 있으며 인접 세포와 동일한 단백질로 상호 연결되어 있다⁷⁾. 이러한 구조는 세포의 성장과 분화 기전을 조절하는 신호 전달에 관여한다⁷⁾.

암종 형성 과정의 세포-세포간 상호작용에서는 대부분 E-cadherin의 발현이 감소하거나 기능이 감소한다고 알려져 있어 E-cadherin이 암종의 침습 과정을 억제하는 유전자(invasion suppressor gene)로 생각되기도 하였다^{2,5)}. 이러한 현상은 상피세포의 간엽화 현상에서 E-cadherin의 발

현이 감소하면서 일어나는 것으로 생각되며, 암종 형성 과정과 침습, 전이 등에서 cadherin family의 감소가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다^{2,5)}.

Snail은 20q13.2에 위치하는 transcriptional factor이며 상피세포의 간엽화 현상의 key regulator로 알려져 있다^{2,4-6)}. Snail은 E-cadherin의 transcriptional start site에 인접한 E2 box에 직접적으로 결합하는 zinc-finger protein으로 E-cadherin의 transcription을 억제한다^{2,4,6,9)}. Snail은 상피성 종양세포에서 E-cadherin 유전자 발현의 repressor로 알려져 있으며^{2,5,6)} 암종 형성 과정과 종양 침습에서 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다²⁾.

E-cadherin과 Snail이 연관된 종양 상피세포의 간엽화 과정은 난소암^{2,10)}, 자궁내막 선암종^{10,11)}, 방추형세포암종(spindle cell carcinoma)¹²⁾, 유방암^{10,13,14)}, 위암^{10,15)}, 결장암^{10,16)}, 간세포암종¹⁰⁾, 식도암^{6,10,17-19)}, synovial sarcoma^{4,10)} 등에서 연구되어 왔다. 그러나 구강편평세포암종에서는 상피세포의 간엽화 현상에서 중요한 역할을 하는 E-cadherin과 Snail의 역할에 대한 연구가 미미한 실정이며²⁰⁻²²⁾ 구강편평세포암종에서 확립한 세포주에서 연구된 것이 대부분이다. 본 연구에서는 구강편평세포암종 환자에서 채취한 암종 조직을 대상으로 구강편평세포암종에서의 E-cadherin과 Snail의 발현 정도와 특징을 분석하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

1) 정상 대조군

정상 대조군으로는 흡연 경력이 없고 구강내 다른 병소가 없는 건강한 성인 남녀를 대상으로 정상 구강 점막을 채취하여 사용하였다. 정상 대조군은 모두 9예였다.

2) 구강편평세포암종 환자

1990년부터 2006년 8월까지 연세대학교 치과대학 부속병원 구강악안면외과에 내원한 환자 중 조직 생검에 의하여 구강편평세포암종으로 진단받은 환자를 대상으로 하였다. 연구에 사용한 구강편평세포암종은 18예로서, 치과 및 의과 임상 기록지 재검토가 가능하며 조직 보관 상태와 파라핀 블록 보관 상태가 양호하여 H/E(hematoxylin and eosin) 슬라이드

이드의 검색과 unstained slide의 제작이 가능한 예를 대상으로 하였다.

2. 연구 방법

조직학적 관찰을 위해 생검된 구강편평세포암종 환자의 조직을 10% 중성 포르말린에 24시간 고정하고 증류수에 20분 세척하였다. 이후 에틸알코올로 탈수하고 xylene으로 세척하여 파라핀으로 포매한 후 3 μ m 두께의 박절 표본을 제작하였다. 이 박절 표본을 탈파라핀화 과정과 에틸알코올 함수 과정, 수세 과정을 거쳐 H/E 염색을 시행하였다.

면역조직화학염색을 시행하기 위해 상기의 파라핀 포매 블록에서 박절 표본을 만들어 30분간 xylene 용액에 담가 파라핀을 제거하고 100%, 90%, 70% 에틸알코올에 순차적으로 함수하였다. 3% H₂O₂ 용액으로 10분간 내인성 과산화효소(endogenous peroxidase)를 제거한 후, pH 6.0의 citric buffer 용액에서 40분간 끓인 후 25분간 cooling하여 항원을 노출시켰다. 이후 horse serum(Vectorstain[®] kit, Vector, Burlingame, CA, USA)에 30분간 반응시킨 후 Snail(1:2000, polyclonal antibody를 이미 제작하였음¹³⁾) 항체와 E-cadherin(1:100, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 항체를 일차 항체로 사용하여 각각 avidin-biotin 방법으로 면역조직화학염색을 시행하였다. 각 단계마다 phosphate buffered saline(PBS)으로 씻어냈고, DAB(3,3'-diaminobenzidine, DAB kit, Vector, Burlingame, CA, USA)로 발색한 다음 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하고 광학 현미경으로 관찰하였다.

염색 후 각 슬라이드당 구강편평세포암종 10부위를 임의로 선정하여 digital camera가 부착된 연구용 현미경(Olympus, VANOX-S, Tokyo, Japan)을 사용하여 200배율로 사진 촬영하였다. Snail의 경우 선정된 부위의 양성 판정은 semiquantitative method를 사용하여 종양상피세포가 염색되지 않은 경우를 grade 0, 양성으로 염색된 종양상피세포가 전체 종양상피세포의 10% 미만인 경우를 grade 1, 11~50%인 경우를 grade 2, 51~80%인 경우를 grade 3, 80% 이상인 경우를 grade 4로 판정하였다¹²⁾. E-cadherin은 양성 반응을 보이는 경우 구강편평세포암종의 종괴와 비교적 먼 부분에 위치한 정상구강점막과 비교하여 50% 이상의 염색 강도가 증가한 경우는 preserved, 정상구강점막과 비교하여 염색강도가 감소한 경우는 reduced로 판정하였다⁶⁾.

3. 통계 처리

구강편평세포암종에서의 Snail과 E-cadherin의 발현 정도를 비교하기 위하여 SPSS 통계프로그램 ver 14.00(SPSS Co. Inc., Illinois, CA, USA)을 이용하여 Snail과 E-cadherin의 수치를 독립 변수로 지정한 후 정상 대조군과 구강편평세포암종의 발현 수치를 paired t-test로 비교하였고 Snail과 E-cadherin의 상관관계를 평가하였다. p-value가 0.05 이하인 경우를 유의한 결과로 간주하였다.

III. 연구 결과

1. 연구 대상자의 임상적 특징

구강편평세포암종 환자는 모두 18명이었으며 평균 연령은 53.8세였다. 성별 분포는 남성이 16명, 여성이 2명이었다. 발생 부위는 4예가 혀, 협점막과 치은에 각각 3예가 발생하였고 2예가 구강저에 발생하였다. 구강편평세포암종의 조직학적 분화도는 11예가 중증의 분화도를 보였으며 분화가 좋은 경우는 모두 5예였다(Table 1).

2. 면역조직화학염색 결과

1) 정상 대조군의 E-cadherin과 Snail의 발현

정상 구강점막에서 Snail은 기저층의 일부 세포의 핵에 양성 반응을 보였으며(Fig. 1B), E-cadherin은 상부 기저층과 유극층의 세포에서 세포막 부위에 양성으로 나타났다(Fig. 1C).

2) 구강편평세포암종의 E-cadherin과 Snail의 발현

Snail은 18예 중 15예의 종양조직에서 양성 반응을 보였다. 양성 반응을 보이는 경우는 대부분의 종양세포에 양성을 나타냈으며 종양세포의 핵에 강한 양성 반응을 보였고 핵주위 세포질에도 양성 반응을 나타냈다. 또한 종양세포섬에 인접한 일부 섬유모세포, 혈관 내피세포, 림프구의 일부, 타액선 도관 세포, 횡문근 근육세포에서도 양성 반응을 보였다(Table 2, Fig. 2B).

E-cadherin은 18예 중 12예에서 종양세포에서 양성 반응을 보였다(Table 3, Fig. 2C). E-cadherin은 대부분 종양세포섬의 중심 부위에 위치한 종양세포의 세포막에서 양성 반응을 보였으며 종양세포섬의 주변부에 위치한 세포에서는

음성 반응을 보였다.

Snail에 양성 반응을 나타내는 구강편평세포암종 세포는 E-cadherin에 음성 반응을 보였으며 통계학적으로도 Snail과 E-cadherin의 반응 정도는 역상관관계를 나타내었다 (Table 4). 그러나 구강편평세포암종의 조직학적 분화도에 따른 Snail과 E-cadherin의 발현 정도는 차이를 보이지 않았다.

경부 림프절에 전이된 1예에서는 Snail에서 grade 4의 강 양성 반응을 보여 원발성 암종보다 Snail발현이 증가하였다 (Fig. 3B).

3) 구강편평세포암종 인접 간질 조직(stromal interface)에서의 Snail의 발현

구강편평세포암종에서 Snail에 양성인 경우 종양상피세포섬 사이의 간질 조직의 일부 세포는 Snail 양성 반응을 보였다(Fig 2B). 이들 세포는 대부분 종양상피세포에 인접하여 위치하고 있었으며 형태학적으로 방추형의 섬유모세포의 형태를 하고 있거나 미분화된 간엽세포의 형태를 보이고 있었다.

Table 1. Clinical and histological data for 18 cases of oral squamous cell carcinoma

Case	Sex	Age	Primary site	Grade
1	M	53	Buccal mucosa	Well differentiated
2	M	55	Palate	Poorly differentiated
3	M	23	Tongue	Well differentiated
4	M	51	Mandible	Well differentiated
5	M	51	Buccal mucosa	Poorly differentiated
6	M	64	Maxilla	Moderately differentiated
7	F	59	Gingiva	Well differentiated
8	F	60	Mandible	Moderately differentiated
9	M	73	Tongue	Moderately differentiated
10	M	58	Mouth floor	Moderately differentiated
11	M	34	Soft palate	Moderately differentiated
12	M	77	Mouth floor	Well differentiated
13	M	28	Buccal mucosa	Moderately differentiated
14	M	67	Gingiva	Moderately differentiated
15	M	73	Gingiva	Moderately differentiated
16	M	37	Tongue	Moderately differentiated
17	M	41	Retromolar trigone	Moderately differentiated
18	M	66	Tongue	Moderately differentiated

Table 2. Snail expression in oral squamous cell carcinoma

Snail	Score	Primary Tumor (n=18)	
		(n)	(%)
Negative		3	16,7
Positive		15	83,3
	1+	1	5,6
	2+	3	16,7
	3+	3	16,7
	4+	8	44,4

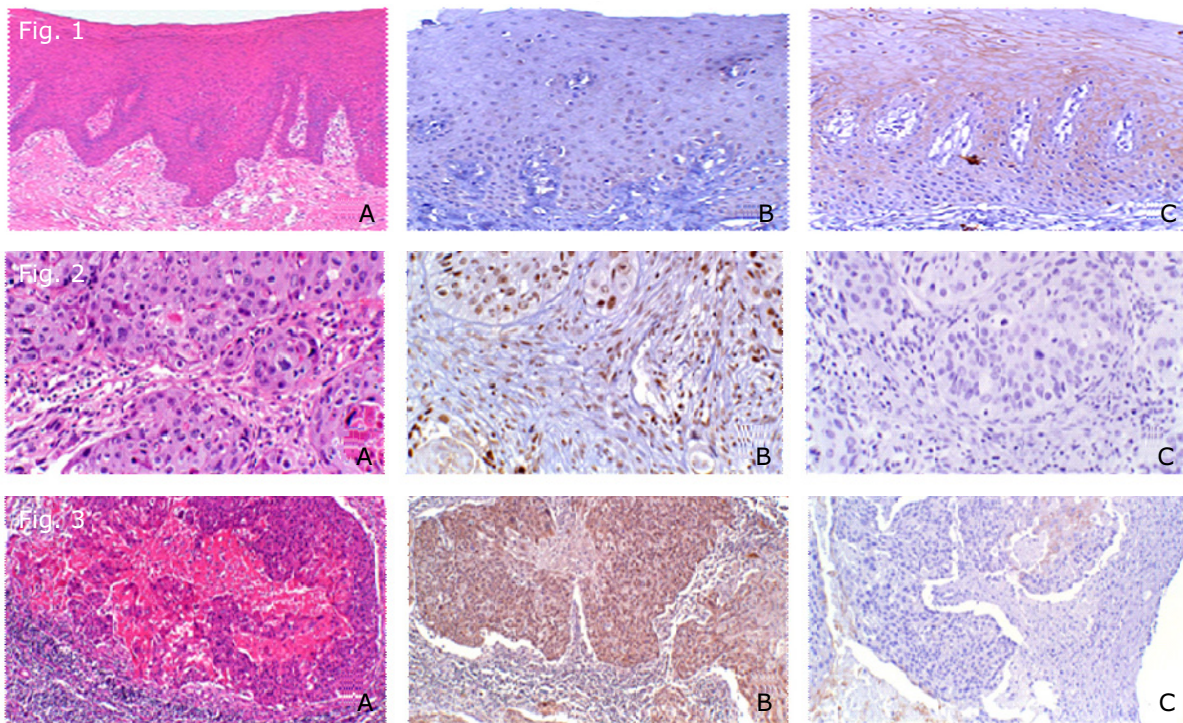


Fig. 1. The expression of Snail and E-cadherin in normal oral mucosa. Snail exhibited nuclear positive staining (Fig. 1B) in focal basal cells and E-cadherin showed typical membranous reaction (Fig. 1C) in upper suprabasal and spinous cell layer. (A: H/E, B: Immunohistochemistry for Snail, $\times 200$, C: Immunohistochemistry for E-cadherin, $\times 200$) **Fig. 2.** The expression of Snail and E-cadherin in oral squamous cell carcinoma, H/E stained slide demonstrated moderately differentiated squamous cell carcinoma (Fig. 2A). The expression of Snail was very strong in the nucleus of invasive carcinoma cancer cells. The fibroblasts near islands of oral squamous cell carcinoma also revealed the positivity for Snail. (Fig. 2B). The expression of E-cadherin was scarce in invasive SCC samples, showing inverse relation to Snail expression. (Fig. 2C). (A: H/E, B: Immunohistochemistry for Snail, $\times 200$, C: Immunohistochemistry for E-cadherin, $\times 200$) **Fig. 3.** The expression of Snail and E-cadherin in metastatic squamous cell carcinoma. Primary gingival squamous cell carcinoma metastasized to cervical lymph node (Fig. 3A). Tumor cells exhibited increased Snail expression in comparison with primary squamous cell carcinoma (Fig. 3B) and showed scant E-cadherin expression (Fig. 3C). (A: H/E, B: Immunohistochemistry for Snail, $\times 100$, C: Immunohistochemistry for E-cadherin, $\times 100$)

Table 3. E-cadherin expression in oral squamous cell carcinoma

E-cadherin	Evaluation	Primary Tumor (n=18)	
		(n)	(%)
Negative		6	33.3
Positive		12	66.7
	Reduced	3	16.7
	Preserved	9	50.0

Table 4. Comparison of Snail expression between preserved and reduced expression of E-cadherin in oral squamous cell carcinoma

	E-cadherin expression		
	Preserved	Reduced	Negative
Snail expression			
Positive (n=15)	7	3	5
Negative (n=3)	2	0	1

IV. 고찰

암종 발생과정에서 발생하는 상피세포의 간엽화 현상은 극성을 보이는 상피세포가 이동성이 있는 세포로 전환되는 특징이 있으며 암종 발생 초기 단계에서 침습과 전이에 관여하는 중요한 과정이다²⁾. 이 과정에서는 E-cadherin의 소실이 일어나면서 상피세포의 표현형이 변화하는데, E-cadherin 유전자의 억제 인자인 Snail, slug, SIP1 등의 전사인자가 관련되어 있으며 이 중 Snail은 상피세포의 간엽화 과정에서 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다^{5,15,23)}. Snail은 암종 형성과정의 비교적 초기 단계에서 관여하여 E-cadherin과 다른 상피세포 표지자(epithelial marker)를 억제하고 종양 침습에 관여하여 이를 촉진하는 간엽세포 표지자(mesenchymal marker)를 발현시킨다²⁴⁾. 암종 형성 과정에서의 상피세포의 간엽화 현상 연구는 암종 진행에 관여하는 유전자를 밝혀내기 위한 새로운 연구 방법으로 대두되고 있다.

연구 결과 정상 구강점막에서의 Snail 발현은 기저세포층에 국한되었으나 구강편평세포암종에서는 대부분의 종양세포에 강양성 반응을 나타내어 정상 대조군보다 발현이 증가하였음을 알 수 있었다. 또한 정상 대조군의 경우 상피세포의 핵에만 양성 반응을 보였으나 구강편평세포암종의 경우 종양세포의 핵과 세포질에 함께 강한 양성 반응을 나타내는 경우가 많아 과발현되었다고 생각하였다. E-cadherin은 18예 중 6예에서 음성 반응을 보였고 양성으로 판정된 경우에서도 정상구강점막보다 감소한 경우가 3예로서, 연구된 예의 50%에서 발현이 감소하였다.

구강편평세포암종에서의 E-cadherin은 Snail과 역상관관계의 발현 양상을 보이고 있으며 대부분의 Snail 양성 세포에서는 E-cadherin 음성 반응을 보였다. 또한 E-cadherin 양성 반응을 보이는 세포는 종양상피세포섬의 중심 부분에 위치하고 있었으며 종양상피세포섬의 주변부에 위치하여 간질 조직과 접하는 세포는 E-cadherin 음성 반응을 나타내어 주로 종양세포의 침윤성 성장을 유발하는 세포에

서 E-cadherin의 소실을 보이는 것으로 생각된다. 이러한 결과는 인체의 다른 암종에서 Snail과 E-cadherin의 역상관계 발현 양상을 보고한 다른 논문의 결과와 일치하였다^{11,14,15)}.

Yokoyama 등은 구강편평세포암종 세포주를 대상으로 한 연구에서 종양상피세포섬 중양 부위의 세포에서는 E-cadherin이 양성으로 발현되었으나 종양상피세포섬 가장자리 부위의 세포는 음성으로 나타나 E-cadherin의 비균질적 발현을 보고하였다²²⁾. 또한 E-cadherin 음성인 세포에서는 Snail 발현이 양성으로 나타났으며 세포 형태가 변화하면서 침습력이 증가하였다²²⁾. E-cadherin 음성으로 나타나는 종양에서는 침습력이 증가하는 것으로 알려져 있으며¹⁵⁾ 구강편평세포암종의 종양세포에서 비균질적 발현 양상이 나타나는 것은 구강편평세포암종의 침습력과 전이율이 높은 것과 연관되어 있음을 시사하는 소견으로 생각된다.

종양세포섬에 인접한 섬유모세포는 종양세포가 생산하는 Ras 유전자나 phosphatidyl inositol 3-kinase (PI3-kinase)에 반응하여 활성도가 증가한다²⁵⁾. 이는 종양세포의 Snail 발현 증가에 연관되어 있는 것으로 알려져 있다²⁶⁾. 또한 Franci 등은 in vitro 실험에서 종양과 인접한 섬유모세포의 Snail 발현이 증가하였다고 하였으며, 자궁내막 선암종과 결장암에서 종양세포에 인접한 간질조직세포에서 Snail 양성 반응을 보고하였다^{11,27)}. 본 연구에서는 대부분의 간질조직 세포에서는 Snail이 발현되지 않았으나 종양상피세포섬에 인접한 간질 조직 세포에서 특히 Snail 양성 반응을 관찰할 수 있었다. 이들 세포와 인접한 종양세포에서는 Snail 양성 반응, E-cadherin 음성 반응을 보이는 것으로 보아 상피세포의 간엽화 현상에 의해 Snail이 E-cadherin을 억제하며, 인접 섬유모세포는 종양세포에 반응하여 Snail 양성 반응을 나타내는 것으로 생각된다.

E-cadherin을 억제하는 기전은 Snail에 의한 발현 억제 이외에도 E-cadherin 유전자의 돌연변이, 결손이나 LOH, 과메틸화에 의한 억제, β -catenin 유전자 변이 등에 의한 것으로 알려져 있다^{4,5,11,15)}. 본 연구에서는 1예에서 Snail과 E-cadherin 발현이 모두 음성으로 나타났는데, 이 경우 E-cadherin의 발현 억제는 Snail에 의한 억제 기전보다는 E-cadherin 유전자 자체의 이상 등 다른 원인에 의한 것으로 추측할 수 있다. 종양 억제유전자의 돌연변이는 암종의 형성 과정에서 주요한 원인으로 생각된다. 위암과 유방암에

서 E-cadherin 유전자의 돌연변이가 보고되었으며^{4,28,29)} 상피성 암종 형성 과정에서도 E-cadherin의 발현 감소가 나타나^{2,4,30)} 구강편평세포암종의 경우에서도 E-cadherin의 발현 억제는 암종 형성 과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

구강편평세포암종이 경부 림프절로 전이한 예에서는 Snail 발현이 원발성 암종보다 증가하였으며 E-cadherin 발현은 감소하였다. Snail은 종양 형성 과정의 초기단계에서부터 관여한다고 알려져 있으며 암종세포의 전이에도 관여한다¹¹⁾. 식도암과 난소암에서의 Snail 양성 발현은 림프절 전이와 상관 관계가 있는 것으로 보고되었으며^{2,10,17,18)} E-cadherin과 Snail 발현 양상의 변화는 환자 예후와도 관련 있는 것으로 생각된다^{2,17)}. 두경부 편평세포암종에서도 Yang 등이 Snail 과발현이 경부 림프절 전이와 원격 전이의 상관성이 있음을 제시하였다⁹⁾. 구강편평세포암종의 전이 과정에서 일어나는 상피세포의 간엽화 현상은 아직 명확히 규명되어 있지 않으나, 전이과정의 중요한 인자를 targeting 함으로써 암종 초기단계에서의 치료 방법 개발에 가능성을 제시할 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 구강편평세포암종이 비교적 진행된 단계에서 상피세포의 간엽화 현상에 관계된 Snail과 E-cadherin의 발현 정도를 분석하였다. 그러나 상피세포의 간엽화 현상은 구강편평세포암종 발생 과정의 비교적 초기 단계에서부터 일어나는 것으로 알려져 있어 Snail과 E-cadherin의 발현 기전을 명확히 규명하기 위해서는 구강암의 다단계 발생 과정의 초기병소로 알려져 있는 구강백반증과의 비교가 필요하다. 또한 실험에 사용된 구강편평세포암종의 예가 18예였으며, 경부 림프절로 전이된 예가 1예로서 임상적으로 의미를 부여하기 위해서는 좀더 다양한 증례에서 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결론

구강편평세포암종의 발생 과정에서 상피세포의 간엽화 현상과 관련된 Snail과 E-cadherin의 발현정도를 면역조직화학염색을 이용하여 분석하였다. 구강편평세포암종의 종양세포에서는 Snail의 발현이 증가하였으며, E-cadherin 발현은 감소하였다. 또한 종양세포에서 Snail과 E-cadherin의

발현은 역상관관계를 나타냈으며 종양 세포와 인접한 간질 조직의 섬유모세포도 Snail 양성 반응을 보였다. 경부 림프절로 전이한 경우에서도 Snail 발현이 증가하여, Snail 발현 증가와 E-cadherin 발현 감소 소견은 구강편평세포암종의 진행과 침윤, 전이에 관여하는 것으로 생각된다. 향후 이를 바탕으로 구강편평세포암종의 발생 초기 단계에서 상피세포의 간엽화 현상에 대한 규명이 필요할 것으로 생각된다.

VI. 참고문헌

1. Sapp JP, Eversole LR, Wysocki GP : Contemporary oral and maxillofacial pathology. 2nd edition, St Louis, Missouri: Mosby, 2004; 173-185.
2. Blechschmidt K, Sassen S, Schmalfeldt B, Schuster TH, Fler H, Becker KF : The E-cadherin repressor Snail is associated with lower overall survival of ovarian cancer patients. *Br J Cancer* 2008; 98:489-495.
3. Nakaya Y, Sukowati EW, Wu Y, Sheng G : RhoA and microtubule dynamics control cell-basement membrane interaction in EMT during gastrulation. *Nat Cell Biol* 2008; 10:765-775.
4. Saito T, Oda Y, Kawaguchi K : E-cadherin mutation and Snail overexpression as alternative mechanisms of E-cadherin inactivation in synovial sarcoma. *Oncogene* 2004; 23:8629-8638.
5. Peinado H, Portillo F, Cano A : Transcriptional regulation of cadherins during development and carcinogenesis. *Int J Dev Biol* 2004; 48:365-375.
6. Takeno S, Noguchi T, Fumoto S, Kimura Y, Shibata T, Kawahara K : E-cadherin expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma: promoter hypermethylation, Snail overexpression, and clinicopathologic implications. *Am J Clin Pathol* 2004; 122:78-84.
7. Ross MH, Pawlina W : Histology a Text and Atlas. 5th edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006; 140-141.
8. Takeichi M : Cadherins in cancer: implications for invasion and metastasis. *Curr Opin Cell Biol* 1993; 5:806-811.
9. Yang MH, Chang SY, Chiou SH : Overexpression of NBS1 induces epithelial-mesenchymal transition and co-expression of NBS1 and Snail predicts metastasis of head and neck cancer. *Oncogene* 2007; 26:1459-1467.
10. Becker KF, Rosivatz E, Blechschmidt K, Kremmer E, Sarbia M, H : Fler H Analysis of the E-cadherin repressor Snail in primary human cancers. *Cells Tissues Organs* 2007; 185:204-212.
11. Blechschmidt K, Kremmer E, Hollweck R : The E-cadherin repressor snail plays a role in tumor progression of endometrioid adenocarcinomas. *Diagn Mol Pathol* 2007; 16:222-228.
12. Zidar N, Gale N, Kojc N : Cadherin-catenin complex and transcription factor Snail-1 in spindle cell carcinoma of the head and neck. *Virchows Arch* 2008; 453:267-274.
13. Yook JI, Li XY, Ota I, Hu C : A Wnt-Axin2-GSK3beta cascade regulates Snail1 activity in breast cancer cells. *Nat Cell Biol* 2006; 8:1398-1406.
14. Cheng CW, Wu PE, Yu JC : Mechanisms of inactivation of E-cadherin in breast carcinoma: modification of the two-hit hypothesis of tumor suppressor gene. *Oncogene* 2001; 20:3814-3823.
15. Rosivatz E, Becker KF, Kremmer E : Expression and nuclear localization of Snail, an E-cadherin repressor, in adenocarcinomas of the upper gastrointestinal tract. *Virchows Arch* 2006; 448:277-287.
16. Shioiri M, Shida T, Koda K : Slug expression is an independent prognostic parameter for poor survival in colorectal carcinoma patients. *Br J Cancer* 2006; 94:1816-1822.
17. Natsugoe S, Uchikado Y, Okumura H : Snail plays a key role in E-cadherin-preserved esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2007; 17:517-523.
18. Usami Y, Satake S, Nakayama F : Snail-associated epithelial-mesenchymal transition promotes oesophageal squamous cell carcinoma motility and progression. *J Pathol* 2008; 215:330-339.
19. Uchikado Y, Natsugoe S, Okumura H : Slug Expression in the E-cadherin preserved tumors is related to prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; 11:1174-1180.

20. Onoue T, Uchida D, Begum NM, Tomizuka Y, Yoshida H, Sato M : Epithelial–mesenchymal transition induced by the stromal cell–derived factor–1/CXCR4 system in oral squamous cell carcinoma cells. *Int J Oncol* 2006; 29:1133–1138.
21. Takkunen M, Grenman R, Hukkanen M, Korhonen M : García de Herreros A, Virtanen I Snail–dependent and–independent epithelial–mesenchymal transition in oral squamous carcinoma cells. *J Histochem Cytochem* 2006; 54:1263–1275.
22. Yokoyama K, Kamata N, Hayashi E : Reverse correlation of E–cadherin and snail expression in oral squamous cell carcinoma cells in vitro. *Oral Oncol* 2001; 37:65–71.
23. Elloul S, Silins I, Tropé CG, Benshushan A, Davidson B, Reich R : Expression of E–cadherin transcriptional regulators in ovarian carcinoma. *Virchows Arch* 2006; 449:520–528.
24. Peinado H, Marin F, Cubillo E : Snail and E47 repressors of E–cadherin induce distinct invasive and angiogenic properties in vivo. *J Cell Sci* 2004; 117:2827–2839.
25. Stuelten CH, Dacosta Byfield S, Arany PR, Karpova TS, Stetler–Stevenson WG, Roberts AB : Breast cancer cells induce stromal fibroblasts to express MMP–9 via secretion of TNF–alpha and TGF–beta. *J Cell Sci* 2005; 118:2143–2153.
26. Peinado H, Quintanilla M, Cano : A Transforming growth factor beta–1 induces snail transcription factor in epithelial cell lines: mechanisms for epithelial mesenchymal transitions. *J Biol Chem* 2003; 278:21113–21123.
27. Francí C, Takkunen M, Dave N : Expression of Snail protein in tumor–stroma interface. *Oncogene* 2006; 25:5134–5144.
28. Becker KF, Atkinson MJ, Reich U : E–cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. *Cancer Res* 1994; 54:3845–3852.
29. Becker KF, Kremmer E, Eulitz M : Analysis of E–cadherin in diffuse–type gastric cancer using a mutation–specific monoclonal antibody. *Am J Pathol* 1999; 155:1803–1809.
30. Santos–García A, Abad–Hernández MM, Fonseca–Sánchez E : E–cadherin, laminin and collagen IV expression in the evolution from dysplasia to oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11:E100–5.

