creative commons
COMMONS DEED

저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

치의학석사 학위논문

구강편평세포암종에서 Cyr61 발현에 관한 임상 병리학적 연구

2013 년 11 월

서울대학교 대학원

치의학과

김 기 준

구강편평세포 암종에서 Cyr61 발현에 관한 임상 병리학적 연구

지도 교수 홍 성 두

이 논문을 치의학석사 학위논문으로 제출함
2013 년 10 월

서울대학교 대학원
치의학과
김 기 준

김기준의 치의학석사 학위논문을 인준함
2013 년 11 월

위 원 장 이 재 일 (인)

부위원장 홍 성 두 (인)

위 원 윤 혜 정 (인)

초 록

구강암 중 90%를 차지하고 있는 구강편평세포암종은 불량한 예후와 높은 전이성을 나타낸다. 구강편평세포암종은 수십 년에 걸친 치료법의 발전에도 불구하고 더 효과적인 진단과 치료법의 개발이 필요한 상태이다.

Cyr61은 세포 외 기질 단백질로 세포 간 신호전달이나 세포 주기 등에 관여한다. 또한 Cyr61이 여러 종양의 진행 과정에 관여되어 있는 것으로 밝혀지고 있다. 최근 구강편평세포암종과 Cyr61 발현과의 관련성에 대한 연구가 발표되고 있지만, 아직 Cyr61이 구강편평세포암종에 대해서 정확히 어떤 기능을 하는지 밝혀지지는 않았다. 이번 연구를 통해서 Cyr61의 발현이 임상병리학적 요소들과 어떤 상관관계가 있는지 조사해 보고, 구강편평세포암의 진단과 치료에 이용될 수 있는 가능성에 대해서 평가해 보고자 하였다.

1997년부터 2002년까지 서울대학교 치과병원에서 구강편평세포암종으로 판정받고 외과적 절제 수술을 받은 52명을 대상으로 하였다. 환자들의 의무기록을 통해 환자들의 나이, 성별, 흡연여부, 재발여부 등의 정보를 수집하고 AJCC의 TNM 분류를 이용하여 임상 병기를 분류했다. 종양의 분화 정도를 재검토 하여 분류하였다. 생존율 계산을 위해서 진단일을 기준으로 하여 환자의 사망일과 환자의 최종 내원일까지의 기간을 이용했다.

Cyr61의 발현량을 조사하기 위해 streptavidin-biotin-

peroxidase 방법으로 면역조직화학적 검사를 시행했다. Cyr61의 발현량이 낮은 그룹과 높은 그룹 2개로 분류했다.

Cyr61의 발현과 다양한 임상병리학적 요소들 간의 상관관계를 χ^2-test를 이용하여 분석하였다. 생존율 곡선을 계산하기 위해 Kaplan-Meier 방법을 사용하였고 분석을 위해 로그순위법이 사용되었다. 통계분석은 SPSS 12.0를 이용하였으며 유의 수준은 p-value<0.05로 하였다.

실험결과 Cyr61 발현이 높은 경우에 작은 종양 크기(P=0.020), 낮은 임상 병기(P=0.030), 낮은 림프절 전이성(P=0.002)을 나타냈다. 그러나 나이, 성별, 흡연여부, 암세포의 분화정도, 재발여부 등에 대해서는 통계적으로 유의한 결과를 보이지는 않았다. Cyr61의 발현과 환자의 생존율 간에도 통계적으로 유의한 상관관계가 나타나지는 않았다.(P=0.689)

본 연구에서 구강편평세포암 환자가 Cyr61 발현량이 많은 것은 작은 종양 크기, 낮은 임상 병기, 낮은 림프 노드 전이성과 상관관계가 있다는 것을 보여준다. 이러한 결과는 Cyr61이 종양의 진행을 억제하는 조절자로서 작용한다는 것을 의미하므로 Cyr61이 구강편평세포암종을 진단 및 치료하는 유용한 표적 분자로 이용될 수 있는 가능성을 나타낸다.

주요어 : 구강편평세포암종, Cyr61, 임상병리학적 요소, 면역조직화학적 검사, 생존율
학 번 : 2010-22431

목 차

초 록 i
목 차 iii
표 목 차 iv
그림목차 v

I. 서 론 1

II. 연구 대상 및 방법 3
2.1 연구 대상 3
2.2 연구 방법 3

III. 연구 결과 7
3.1 Cyr61의 발현과 임상병리학적 요소들간의 관계 7
3.2 Cyr61의 발현과 생존율과의 관계 9

IV. 고찰 11

V. 결론 16

참고문헌 17
Abstract 23

표 목차

[표 1] 8

그림 목차

[그림 1] 5
[그림 2] 10

I. 서 론

구강 내에 발생하는 암의 90%는 구강편평세포암종(Oral squamous cell carcinoma)으로 알려져 있다. 구강편평세포암종을 치료하기 위해 외과적 수술과 함께 방사선 치료와 화학요법을 병행하게 되지만, 수십 년에 걸친 치료법의 발전에도 불구하고 여전히 불량한 예후와 높은 전이성을 나타내고 있다. [2-4]

구강암에 영향을 주는 요인들은 여러 가지가 있다. 여성보다는 남성에 많이 나타나는 경향이 있고, 환경적 요인이 암 발생과 진행에 크게 작용하기 때문에 지역별, 나라별로 유병률과 사망률 등이 다양하게 나타난다. 또한 행동양식에 따라 암의 예후에도 차이를 보이는데 그 중 흡연이나 음주량이 큰 연관성을 보인다.[1] 치료 계획을 세우거나 예후를 결정하는데 있어서는 구강암의 TNM 분류나 암의 분화도가 중요한 정보로 사용된다.[5]

CCN family는 세포활동을 조절하고 혈관과 구조 발생에 중요한 역할을 하는 시스테인이 풍부한 세포 외 기질 단백질들의 모임이다. 유사한 서열의 조합으로 이뤄진 총 6개의 단백질이 여기 속하는데, 이들 중 발견된 순서에 따라 3개의 Cyr61(Cystein rich 61/CCN1), CTGF(Connective tissue growth factor/CCN2), NOV(Nephroblastoma overexpressed/CCN3)의 앞 글자를 따서 CCN이라는 이름이 만들어졌다.[6]

CCN family에 속하는 Cyr61은 381개의 아미노산으로 이루어져 구조적으로 특징적인 4개의 도메인을 가지고 있다.[7] Cyr61은 세포 표면의 integrin 수용체와 heparan sulfate proteoglycan들과 접촉하여 다양한 세포 활동을 조절한다. Cyr61은 혈관형성, 세포의 증식, 부착, 이동, 분화를 조절하고, 세포 사멸과 세포 노화를 유도하는 등 다양한 기능을 가지고 있다.[8-13]

Cyr61이 세포 간 신호전달과 세포의 생명 주기 등에 관여하기 때문에 비정상적인 Cyr61 발현은 신체의 병적 변화로 나타날 수 있다. Cyr61이 가지고 있는 혈관형성이나 세포의 증식, 부착, 이동, 분화 등의 기능이 촉진되면 종양 형성을 유도할 수 있다. 그러므로 Cyr61의 과발현은 위암[14,15], 유방암[16-20], 난소암[21], 신경교종암[22,23]의 성장과 진행에 연관되어 나타난다. 반면, Cyr61은 세포 사멸과 세포 노화를 유도하는 기능이 있다. 그 결과 Cyr61의 과발현은 전립선암[24], 자궁근종[25], 비소형 세포 폐암[26,27], 자궁내막암[28]에서 종양을 억제하는 경향을 보인다. 현재 연구된 결과들을 종합하면 Cyr61은 종양이 어떤 조직과 장기에서 유래됐는지에 따라 성장 또는 억제의 방식으로 종양을 조절한다고 볼 수 있다.

최근 구강편평세포암종과 Cyr61 유전자의 관련성에 대한 연구가 많이 진행 중인데, Cyr61 발현에 따른 구강편평세포암종 세포에 나타나는 특성의 변화나,[29,31] Cyr61 발현과 구강편평세포암종의 임상병리학적요소들 간의 관계에 대해 발표되었다.[30] 이러한 연구들이 아직 생체 외 실험에 한정되어 있거나 특정 지역에 국한되어 연구되고 있으므로 Cyr61의 기능을 명확히 밝혀내기 위해서는 더 많은 실험과 결과의 축적이 필요하다.

구강편평세포암종은 인체에서 발견되는 암 중에서 악성도가 높고 빠른 진단이 매우 중요한 질환이라고 할 수 있다. Cyr61은 종양의 진행에 관한 많은 기능들을 가지고 있고, 여러 암종들의 증식과 억제에 높은 연관성을 보이고 있으므로, 이번 연구를 통해 구강편평세포암종과 Cyr61의 관계를 밝혀 질환의 진단과 치료에 이용할 수 있는데 기여하고자 한다.

II. 연구 대상 및 방법

2.1. 연구 대상

1997년부터 2002년까지 서울대학교 치과병원에서 구강편평세포암종으로 판정 받고 외과적 절제 수술을 받은 52명을 대상으로 하였다. 52명 중 39명은 남자였으며 13명은 여자였다. 환자들의 연령은 39세부터 84세까지 분포하고 있으며, 이들의 평균 연령은 59.6세이다.

2.2. 연구 방법

2.2.1. 임상 및 조직병리학적 검사

환자들의 의무기록을 통해 환자들의 나이, 성별, 흡연여부, 재발여부 등의 정보를 수집했다. 52명의 환자들을 현재 AJCC(American Joint Committee for Cancer)에서 권고되는 분류법을 이용해서 종양의 크기(T), 림프절의 전이여부(N), 타 부위로의 전이여부(M)에 따라 임상 병기로 분류하였다.[32] 종양의 분화 정도는 두 명의 병리학자를 통해 재검토 되어 3단계의 등급(저, 중, 고)으로 나누었다. 생존율 계산을 위해서 최종 진단일을 기준으로 하여 환자의 사망일 혹은 환자의 마지막 내원일까지의 기간을 이용했다.

2.2.2. 면역조직화학적 검사

10% 중성 포르말린에 고정한 파라핀 포매 조직을 4μm 두께로 박절하여 코팅된 유리 슬라이드에 부착시킨 후 탈파라핀

처리를 하고 함수시켰다. 항원성을 회복하기 위해 0.01M citrate buffer(pH 6.0)에서 Microwave를 10분간 처리하였다. 조직 내 내인성 과산화효소 활성을 억제하기 위해 0.3% 과산화수소를 30분간 처리하였다. 이후 Rabbit anti-human Cyr61 polyclonal antibody (SC-131000(H-78); Santa Cruz)를 반응시키고 세척한 후 Streptovidine-peroxidase를 30분간 처리하여 DAB(3,3 - diaminobenzidine tetrahydrochloride)로 발색시켰다. 그 다음 Mayer's hematoxylin으로 30초간 대조 염색하였다.

위의 과정으로 Cyr61 단백질의 염색이 완료되면, Haque 등[33]의 연구에서 염색 강도를 분류한 기준에 따라 염색 단계를 다음과 같이 4가지로 나누었다. [그림 1]은 (-) 염색 안됨, (+) 약한 갈색, (++) 약간 어두운 갈색, (+++) 어두운 갈색으로 분류된 조직 슬라이드 사진을 나타낸다. 이렇게 4가지로 분류된 조직들을 다시 (-), (+)는 Cyr61 발현이 낮음, (++), (+++)는 Cyr61 발현이 높음으로 나눠서 2개의 그룹으로 만들었다.

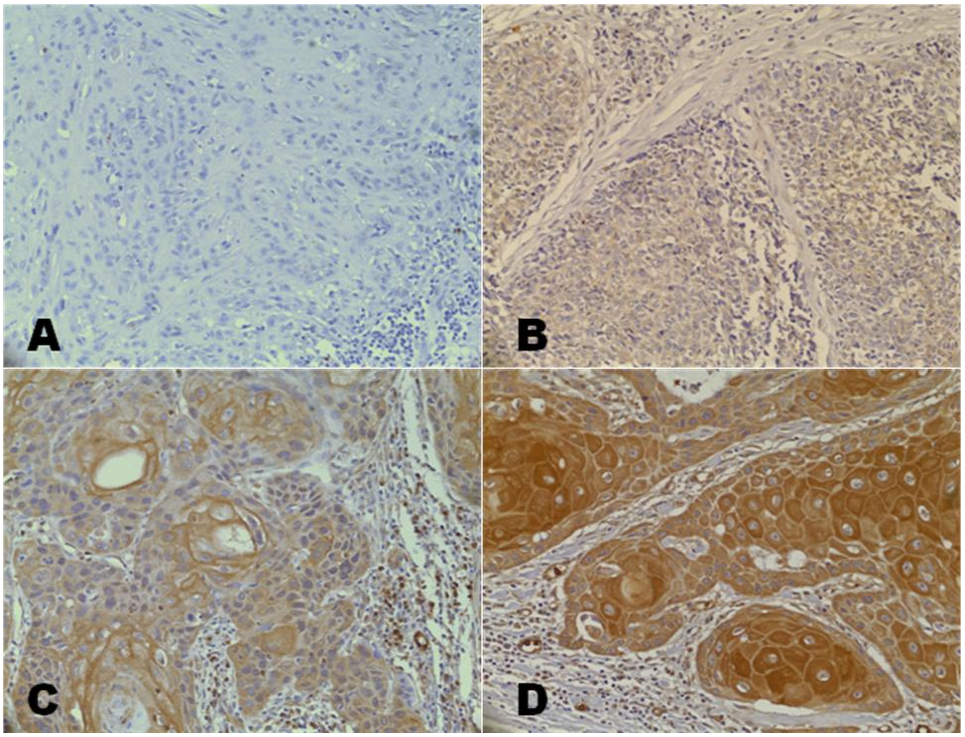


그림 1. Cyr61 발현량을 조사하기 위해 면역조직화학적 검사를 통해 구강편평세포암종 조직 슬라이드를 염색한 결과(A:(−) 염색 안됨, B:(+) 약한 갈색, C:(++) 약간 어두운 갈색, D:(+++) 어두운 갈색)

2.2.3. 통계 분석

Cyr61 단백질의 발현과 다양한 임상병리학적 요소들 간의 상관관계를 χ^2-test를 이용하여 분석하였다. 생존율 곡선을 계산하기 위해 Kaplan-Meier 방법을 사용하였고 분석을 위해 로그순위법이 사용되었다. 통계분석은 SPSS 12.0을 이용하였으며 유의 수준은 p-value<0.05로 하였다.

III. 연구 결과

3.1. Cyr61의 발현과 임상병리학적 요소들간의 관계

면역조직화학적 검사를 통해 구강편평세포암 세포에서 Cyr61 단백질의 면역반응을 조사한 결과, 증례 52개 중에서 35개(67.3%)에서는 Cyr61의 발현이 높음으로, 17개(32.7%)에서는 발현이 낮음으로 분류되었다.

[표 1]은 여러 가지 임상병리학적 요소들과 Cyr61 발현의 관계를 보여주고 있다. 실험결과 Cyr61 발현이 높은 경우에 작은 종양 크기(P=0.020), 낮은 림프 노드 전이성(P=0.002), 낮은 임상 병기(P=0.030)를 나타냈다. 그러나 나이(P=0.616), 성별(P=0.701), 흡연여부(P=0.775), 암세포의 분화정도(P=0.950), 재발여부(P=0.622)들은 Cyr61 발현량과 통계적으로 유의미한 상관관계를 보이지는 않았다.

표 1. Cyr61의 발현과 임상병리학적 요소들과의 관계

Variable	*n*	*Low Cyr61*	*High Cyr61*	*P-value*
Age				
≤ 60	28	10	18	0.616
> 60	24	7	17	
Gender				
Male	38	13	25	0.701
Female	14	4	10	
Smoking				
Yes	23	8	15	0.775
No	29	9	20	
Tumor size				
T1 and T2	33	7	26	0.020
T3 and T4	19	10	9	
Lymph node metastasis				
Positive	17	9	8	0.030
Negative	35	8	27	
Stage				
I and II	28	4	24	0.002
III and IV	24	13	11	
Differentiation				
Well	37	12	25	0.950
Moderate-poor	15	5	10	
Recurrence				
Yes	16	6	10	0.622
No	36	11	25	

3.2. Cyr61의 발현과 생존율과의 관계

구강편평세포암 환자 52명 중에서 22명은 사망했고 5년 생존율은 57.7%(n=30)로 나타났다. Cyr61의 발현과 환자의 생존율 간에 통계적으로 유의미한 상관관계가 나타나지는 않았다.(P=0.689)(그림 2 참조)

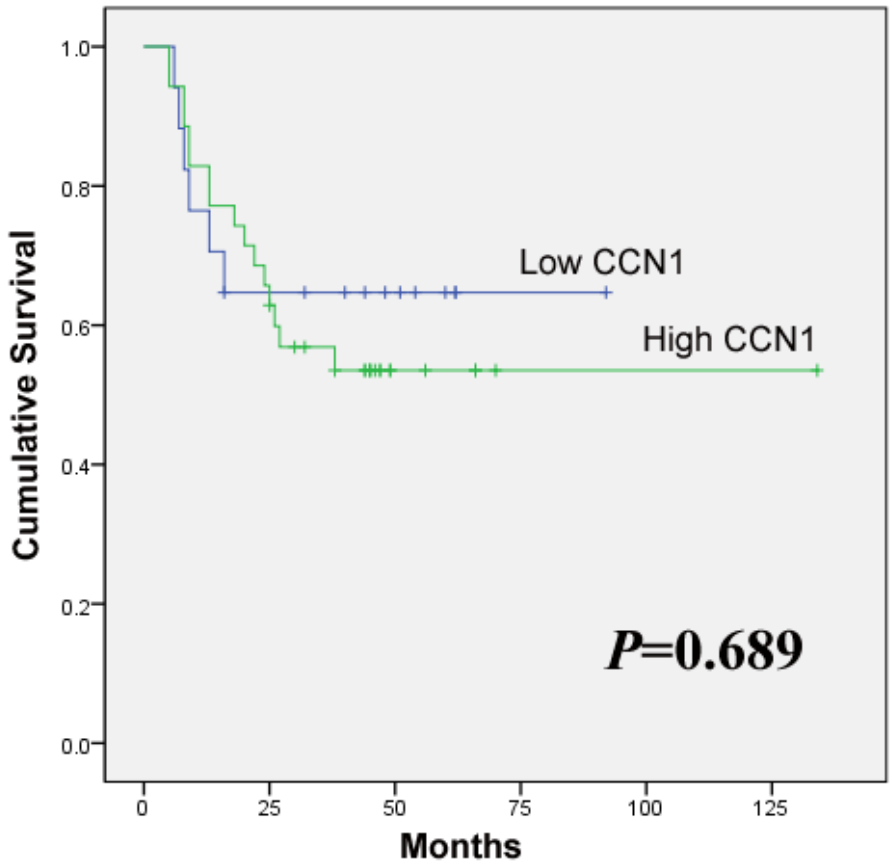


그림 2. Cyr61(CCN1)의 발현이 낮은 경우와 높은 경우에 대한 생존율 그래프

IV. 고찰

아직까지 명확히 밝혀진 사실은 거의 없지만 암세포의 신호 전달 과정을 조절하는데 기질 단백질이 중요한 역할을 하고 있을 것으로 예상되고 있다. CCN family의 단백질들은 세포 기질의 조절자로 내부와 외부의 세포 신호 전달 과정에 관여하고 있으며, 세포 증식과 혈관 형성에도 영향을 주고 있다.[29] Cyr61 역시 CCN family의 구성요소로 여러 종양의 진행과 억제에 연관되어 있다는 연구 결과를 고려해보면 구강편평세포암종에서도 유사한 효과를 보일 수 있다고 예상할 수 있다.

Cyr61은 매우 다양한 기능을 가지고 있는데, 세포 증식과 세포 사멸, 종양 증식과 종양 억제 등 이질적인 기능들을 동시에 가지고 있다. 이렇게 다양하면서도 상반되는 여러 기능들을 가지고 있다는 것이 현재 Cyr61을 표현할 수 있는 가장 대표적인 특징이라고 할 수 있다. 이런 Cyr61의 특징적인 기능들이 생물학적 환경에서 다양하게 나타날 수 있는 이유를 몇 가지 살펴보면 다음과 같다. 첫 번째, 세포 표면에 나타나는 integrin과 heparan sulfate proteoglycans(HSPGs)들이 무엇인가에 따라 다른 기능을 보일 수 있다. 예를 들어, Cyr61 단백질은 integrin $\alpha_{\gamma}\beta_3$에 결합해서 세포 증식, 혈관형성 등을 유도하고, $\alpha_6\beta_1$과 HSPGs에 결합해서 세포 사멸과 노화 등을 유도하게 된다. 두 번째, Cyr61 단백질은 다양한 수용체들과 상호작용을 한다. Cyr61 유전자 서열에 있는 도메인들이 발현되면 특정 부분들이 여러 수용체들과 신호전달을 하게 된다. 세 번째, Cyr61의 발현은 다른 성장 인자, cytokines, morphogens들에 영향을 받으며 기능하게 된다.[34] 결국, 구강편평세포암종과 Cyr61의 관계를 좀 더 깊이 알아보기 위해서는 종양세포에서 발현하는 integrin이나 HSPGs들, 세포가 놓여 있는 미세환경적인 요소들을 알아보기 위해 추가적인 실험을

수행할 필요가 있다고 생각된다.

구강암에 대하여 여성이 더 낮은 생존율을 보인다는 연구가 소수의 학자에게서 발표되었지만, 남성과 여성에 있어서 구강암의 예후에 관한 차이가 분명히 나타나지는 않는다. 나이 역시 구강암의 예후와 상관관계를 보이는지에 대해서는 아직 논란의 여지가 많다. 하지만 흡연을 하는 환자에서 구강암의 예후가 더 좋지 않다는 연구 결과는 많이 보고되었다. 특히 아시아지역에 씹는 담배를 이용하는 사람들이 좋지 않은 예후를 보이는 연구결과가 나타난다.[35] 실험결과를 살펴보면 Cyr61 발현과 나이(P=0.616), 성별(P=0.701), 흡연여부(P=0.775) 모두에서 통계적으로 의미있는 상관관계가 나타나지는 않았다. 흡연여부는 구강암의 예후에 영향을 주지만 Cyr61의 발현과는 독립적인 위험요소로 고려해야 된다고 생각할 수 있다.

실험결과 통계적으로 유의미한 상관관계가 나타난 임상병리학적 요소들은 3가지가 있었는데, 종양 크기(P=0.020), 림프 노드 전이성(P=0.002), 임상 병기(P=0.030)이다. 이 3가지 요소들은 모두 암이 더 진행되거나 악성도가 높아질수록 Cyr61의 발현이 낮아지는 음의 상관관계가 나타났다. 이 중 종양 크기와 림프 노드 전이성은 TNM 분류의 임상 병기를 평가하기 위한 인자이므로 3가지 모두 TNM 분류 체계의 구성성분들이라고 할 수 있다. TNM 분류 체계는 암 환자를 치료하는 의료진이 치료 계획을 세우고, 환자의 예후와 치료 결과를 평가하는데 도움을 주기 위한 분류 체계이다. 종양의 현재 상태와 예후를 평가하는데 세계적으로 통용되는 분류체계와 높은 상관관계를 보이는 것은 Cyr61이 구강암의 치료와 예측에 있어서 중요한 역할을 할 수 있을 것이란 점을 보여주는 것이라고 할 수 있다.

종양의 예후를 평가하기 위해 조직의 분화도를 분석하는데 현미경에서 관찰되는 모양, 특히 세포의 성숙도나 분화 정도에 근거하여 판단하게 된다. 대개 4단계의 분류가 사용된다. 1단계는

분화가 아주 잘된 것으로 종양이 유래한 모 조직을 닮고 있는 반면, 4단계는 미분화되거나 역분화되어 종양이 유래한 조직이 어디인지 구분하기 힘들다. 이번 실험에서는 조직 슬라이드를 검토하여 잘 분화된 조직과 중등도 혹은 빈약한 분화도를 보이는 두 개의 그룹으로 나눠서 Cyr61 발현과의 상관관계를 살펴 보았다. 결과적으로 앞서 언급한 TNM 분류와는 다르게 종양의 분화도는 통계적으로 유의미한 상관관계를 보이지는 않았다. 이는 인체에서 발생하는 암에 관여하는 요소들이 매우 복잡하기 때문에 단순하게 하나의 요소로 평가하기는 어렵고 다른 성분들의 변화를 함께 고려해야 할 것이라는 사실을 말해준다.

앞서 살펴 본 TNM 분류나 종양의 분화도는 암이 가지고 있는 현재 질환의 상태를 말해주는 것이라고 할 수 있는 반면, 재발률과 생존율은 Cyr61 발현량을 평가한 시점 이후에 질환이 어떻게 진행되었는지를 평가할 수 있는 자료들이므로 예후에 더 직접적인 평가가 가능하다고 할 수 있다. 하지만 재발률과 생존율은 Cyr61 발현과 통계적으로 유의미한 상관관계가 나타나지 않았으므로 다른 임상병리학적요소들로 추가적인 실험을 통해 진단에 더 유용한 정보를 알아 낼 필요가 있다.

최근에 발표된 Cyr61과 구강편평세포암종과의 관계를 연구한 결과들을 살펴 보면 이번 실험의 결과와 다른 결론을 가지고 있는 연구들이 있다는 것을 알 수 있다. 먼저 Kang 등[29]의 연구에 의하면 Cyr61의 과발현이 구강편평세포암종의 침습적인 특성을 증가시킨다는 것을 생체 외 실험을 통해서 밝혀 냈다. Kok 등[30]은 Cyr61 발현량과 종양의 크기 및 임상 병기가 양의 상관관계에 있으며 생체 외 실험을 통해 Cyr61 과발현이 구강암 세포 증식을 촉진한다는 발표를 했다. Chuang 등[31]은 Cyr61이 구강암 세포의 이동성을 증가시킨다는 연구 결과를 발표했다. 이 3가지 연구를 종합적으로 해석해보면 공통적으로 Cyr61의 발현량 증가는 구강암의 진행을 촉진시키고 악성도를 증가시킨다고 볼 수 있는데,

이번 실험의 억제자로서 Cyr61이 작용한다는 결과와 반대의 결론이라고 할 수 있다. 이런 상반되는 결과를 해석하기 위해 가능한 가설을 생각해 볼 수 있다. 먼저, 위의 3가지 논문들은 모두 대만이라는 한 국가에서 연구된 결과라는 공통점을 가지고 있다. 서론에서 언급했듯이 구강암은 국가나 지역 등 환경, 문화적 요인에 크게 영향을 받는다는 점을 고려해보면, 대만과 한국이라는 지역적 차이에 따른 효과가 실험에 영향을 끼쳤을 가능성이 있다. 구강암은 한국에서 발생하는 암 중에서 15번째로 많이 발생하며 전체 암 중에서 1.43%를 차지하고 있고, 5년이내 생존률은 60.1%로 나타났다.[36] 반면 대만은 구강암이 전체 암 중에서 6번째로 많이 발생하는 질환으로 전체 중에 9.6%를 차지하고 있으며 현재도 빈도가 증가하는 추세이다. 또한 악성도 역시 높기 때문에 5년 생존율도 낮은 편인데, 가장 큰 요인으로 대만의 국민들이 애용하는 씹는 담배를 원인으로 꼽을 수 있다.[37,38] 한국에서는 씹는 담배가 거의 이용되고 있지 않다. 이렇듯 가까운 아시아 지역의 국가 간에도 환경, 문화적 차이로 인해 실험결과에 영향을 줬을 가능성을 생각해 볼 수 있다. 하지만 차이가 발생하게 된 원인을 명확히 밝히기 위해서는 추가적인 연구가 반드시 수행되어야 하겠다.

Cyr61의 기능을 보다 깊이 이해하기 위해서는 후속 연구가 필요하다. 본 실험은 구강편평세포암종으로 확진을 받은 조직에 대해서 Cyr61 단백질 발현량을 분석했으므로 정상 조직이 이미 암 조직으로 변화를 거친 상태에 대한 결과이다. 그러므로 구강 내 정상 점막 조직들에서 어느 정도 단백질이 발현되는지 평가하는 실험을 추가할 필요가 있다. 본 실험을 통해 Cyr61이 구강편평세포암종의 진행을 억제하는 성질을 살펴 볼 수 있었으므로 정상 조직 발현량이 어느 정도인지에 따라 여러 가지 해석을 시도해 볼 수 있다. 만약 정상 조직에서 Cyr61 단백질 발현량이 적다면, Cyr61은 종양으로 전환된 조직에서 발현량이 증가되었으므로 종양의 예후에만 관련된다고 볼 수 있다. 또 반대로

Cyr61 단백질 발현량이 정상 조직에서 크게 나타나면, 종양의 발생과정에 관여 할 수 있는 가능성도 검토해 볼 수 있다. 또한 임상병리학적 요소들과 발현된 단백질의 상관관계를 검토하는 것에서 더 나아가 실제 질환을 진단하고 치료 목적으로 사용하기 위해서는 Cyr61이 구강암에 작용하는 분자생물학적 기전에 대해서 연구할 필요가 있다. 앞서 언급했듯이 그런 목표를 위해서 세포에 발현된 integrin과 HSPGs, 세포에 주어진 미세 환경과 수용체들과 연관된 많은 실험들이 이어져야 할 것이다.

V. 결론

이 연구는 구강편평세포암 환자의 조직에서 Cyr61 발현량이 많은 것은 작은 종양 크기, 낮은 림프 노드 전이성, 낮은 임상 병기와 상관 관계가 있다는 것을 보여준다. 이 결과는 Cyr61은 종양의 진행을 억제하는 조절자로서 작용할 수 있다는 것을 의미하고 구강편평세포암을 진단하고 치료하는 유용한 표적 분자로 이용될 수 있는 가능성을 보여준다.

참고 문헌

1. Petersen, Poul Erik. "The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century–the approach of the WHO Global Oral Health Programme." Community Dentistry and oral epidemiology 31.s1 (2003): 3-24.

2. Carvalho AL, Ikeda MK, Magrin J, Kowalski LP. Trends of oral and oropharyngeal cancer survival over five decades in 3267 patients treated in a single institution. Oral Oncol 2004;40(1):71–76.

3. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin 2009;59:225–249.

4. Massano, João, et al. "Oral squamous cell carcinoma: review of prognostic and predictive factors." Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology 102.1 (2006): 67-76.

5. Shah JP, Lydiatt W. Treatment of cancer of the head and neck. Cancer J Clin 1995;45(6):352–368.

6. Brigstock, D. R., et al. "Proposal for a unified CCN nomenclature." Molecular Pathology 56.2 (2003): 127-128.

7. O'Brien, Timothy P., et al. "Expression of cyr61, a growth factor-inducible immediate-early gene." Molecular and cellular biology 10.7 (1990): 3569-3577.

8. Leask, Andrew, and David J. Abraham. "All in the CCN family: essential matricellular signaling modulators emerge from the bunker." Journal of cell science 119.23 (2006): 4803-4810.

9. Brigstock, D. R. "The CCN family: a new stimulus package." Journal of Endocrinology 178.2 (2003): 169-175.

10. Perbal, Bernard. "CCN proteins: multifunctional signalling regulators." The Lancet 363.9402 (2004): 62-64.

11. Todorovicç, Viktor, et al. "The matrix protein CCN1 (CYR61) induces apoptosis in fibroblasts." The Journal of cell biology 171.3 (2005): 559-568.

12. Jun, Joon-Il, and Lester F. Lau. "The matricellular protein CCN1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing." Nature cell biology 12.7 (2010): 676-685.

13. Chen, Chih-Chiun, and Lester F. Lau. "Deadly liaisons: fatal attraction between CCN matricellular proteins and the tumor necrosis factor family of cytokines." Journal of cell communication and signaling 4.1 (2010): 63-69.

14. Babic, Alexander M., et al. "CYR61, a product of a growth

factor-inducible immediate early gene, promotes angiogenesis and tumor growth." Proceedings of the National Academy of Sciences 95.11 (1998): 6355-6360.

15. Lin, Ming-Tsai, et al. "Cyr61 induces gastric cancer cell motility/invasion via activation of the integrin/nuclear factor-κB/cyclooxygenase-2 signaling pathway." Clinical cancer research 11.16 (2005): 5809-5820.

16. Tsai, Miaw-Sheue, et al. "Expression and function of CYR61, an angiogenic factor, in breast cancer cell lines and tumor biopsies." Cancer research 60.20 (2000): 5603-5607.

17. Xie, Dong, et al. "Breast cancer Cyr61 is overexpressed, estrogen-inducible, and associated with more advanced disease." Journal of Biological Chemistry 276.17 (2001): 14187-14194.

18. Sampath, Deepak, Richard C. Winneker, and Zhiming Zhang. "Cyr61, a member of the CCN family, is required for MCF-7 cell proliferation: regulation by 17β-estradiol and overexpression in human breast cancer." Endocrinology 142.6 (2001): 2540-2548.

19. Tsai, Miaw-Sheue, et al. "Expression and regulation of Cyr61 in human breast cancer cell lines." Oncogene 21.6 (2002): 964-973.

20. Tsai, Miaw-Sheue, et al. "Cyr61 promotes breast

tumorigenesis and cancer progression." (2002).

21. Gery, Sigal, et al. "Ovarian carcinomas: CCN genes are aberrantly expressed and CCN1 promotes proliferation of these cells." Clinical cancer research 11.20 (2005): 7243-7254.

22. Xie, Dong, et al. "Levels of expression of CYR61 and CTGF are prognostic for tumor progression and survival of individuals with gliomas." Clinical Cancer Research 10.6 (2004): 2072-2081.

23. Xie, Dong, et al. "Cyr61 is overexpressed in gliomas and involved in integrin-linked kinase-mediated Akt and β-catenin-TCF/Lef signaling pathways." Cancer research 64.6 (2004): 1987-1996.

24. Pilarsky, Christian P., et al. "Expression of the extracellular matrix signaling molecule Cyr61 is downregulated in prostate cancer." The Prostate 36.2 (1998): 85-91.

25. Sampath, Deepak, et al. "Aberrant expression of Cyr61, a member of the CCN (CTGF/Cyr61/Cef10/NOVH) family, and dysregulation by 17β-estradiol and basic fibroblast growth factor in human uterine leiomyomas." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 86.4 (2001): 1707-1715.

26. Tong, Xiangjun, et al. "Cyr61, a member of CCN family, is a tumor suppressor in non-small cell lung cancer." Journal of Biological Chemistry 276.50 (2001): 47709-47714.

27. Tong, Xiangjun, et al. "Cyr61 suppresses the growth of non-small-cell lung cancer cells via the β-catenin–c-myc–p53 pathway." Oncogene 23.28 (2004): 4847-4855.

28. Chien, Wenwen, et al. "Cyr61 suppresses growth of human endometrial cancer cells." Journal of Biological Chemistry 279.51 (2004): 53087-53096.

29. Kang, Chung-Jan, et al. "Transcriptome profiling and network pathway analysis of genes associated with invasive phenotype in oral cancer." Cancer letters 284.2 (2009): 131-140.

30. Kok, Sang-Heng, et al. "Expression of Cyr61 (CCN1) in human oral squamous cell carcinoma: an independent marker for poor prognosis." Head & neck 32.12 (2010): 1665-1673.

31. Chuang, Jing-Yuan, et al. "Cyr61 increases matrix metalloproteinase-3 expression and cell motility in human oral squamous cell carcinoma cells." Journal of Cellular Biochemistry 113.6 (2012): 1977-1986.

32. Frederick L, Greene DLP, Fleming ID, et al: AJCC cancer staging manual, 6th ed. Chicago: Springer, 2002.

33. Haque I, Mehta S, Majumder M, Dhar K, De A, McGregor D, Van Veldhuizen PJ, Banerjee SK, Banerjee S. Cyr61/CCN1 signaling is critical for epithelial-mesenchymal transition and

stemness and promotes pancreatic carcinogenesis. Mol Cancer 2011;10:8.

34. Lau, Lester F. "CCN1/CYR61: the very model of a modern matricellular protein." Cellular and Molecular Life Sciences 68.19 (2011): 3149-3163.

35. Massano, João, et al. "Oral squamous cell carcinoma: review of prognostic and predictive factors." Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology 102.1 (2006): 67-76.

36. Jung, Kyu-Won, et al. "Cancer statistics in Korea: incidence, mortality, survival, and prevalence in 2008." Cancer Research and Treatment 43.1 (2011): 1-11.

37. Jemal, Ahmedin, et al. "Global cancer statistics." CA: a cancer journal for clinicians 61.2 (2011): 69-90.

38. Chiang, Chun-Ju, et al. "Cancer trends in Taiwan." Japanese journal of clinical oncology 40.10 (2010): 897-904.

Abstract

A study of correlation between oral squamous cell carcinoma and expression of Cyr61

Kijoon, Kim
School of dentistry
The Graduate School
Seoul National University

There are several types of oral cancers, but around 90% are oral squamous cell carcinoma(OSCC) which has a poor prognosis and a high incidence of metastasis. Despite progress in treatment technology over the past few decades, more effective prognostic evaluation and treatment strategy are needed to manage OSCC.

Although it has been reported that OSCC is associated with Cyr61, the precise role of Cyr61 has not been completely investigated. In this study, we investigated the relation between the expression of Cyr61 and the clinicopathological factors of patients with OSCC. We evaluated the possibility of Cyr61 for

the marker of prognosis and the therapeutic target of OSCC.

Samples from 52 patients with OSCC were examined by immunohistochemistry. All tumors were surgically removed at the department of oral and maxillofacial surgery, Seoul National University Dental Hospital, South Korea, between 1997 and 2002. Clinical data obtained from patient charts included age, gender, smoking habits, TNM stage, and recurrence. Tumors were staged according to the current TNM classification as recommended by the AJCC. Tumors were re-reviewed to determine the histological grade. Survival was calculated from the date of diagnosis until the date of death or last follow-up.

Immunohistochemistry was performed for investigating the expression of Cyr61, using streptavidin-biotin peroxidase technique. Tissues were classified into two groups which were lower expression and higher expression of Cyr61

Relationships between Cyr61 and the various clinicopathological factors were examined using the $\chi 2$-test. Survival curves were calculated using the Kaplan-Meier method and analyzed using the log rank test. P-value<0.05 was considered statistically significant.

Higher level of Cyr61 expression significantly correlated with smaller tumor size (P=0.020), negative lymph node metastasis (P=0.002), lower clinical stage (P=0.030). However, there were no significant correlations of Cyr61 expression level with

age, gender, smoking, histologic differentiation of cancer cells, and recurrence. There were also no significant correlations between Cyr61 expression and patient overall survival.(P=0.689)

In conclusion, this study demonstrated that high Cyr61 expression in patients with OSCC significantly correlates with smaller tumor size, negative lymph node metastasis, lower clinical stage. These results suggest that Cyr61 might be a negative regulator on the tumor progression and a useful target molecule for the treatment of OSCC.

Keywords : oral squamous cell carcinoma, Cyr61, clinicopathogical parameters, immunohistochemistry, survival rate
Student Number : 2010-22431