

자궁경부암에서 혈청을 이용한 표피성장인자 수용체의 정량적 분석에 관한 연구

고려대학교 의과대학 산부인과학교실, 임상병리학교실*
임청현 · 이용호 · 조윤정* · 이낙우 · 김영태 · 이규완

=Abstract=

Serum Epeidermal Growth Factor Receptor(EGFR) in Cervical Cancer

Chung Hyun Lim, M.D., Yong Ho Lee, M.D., Yoon Jung Cho, M.D.*,

Nak Woo Lee, M.D., Young Tae Kim, M.D., Kyu Wan Lee, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Clinical Pathology, College of Medicine, Korea University,
Seoul, Korea*

Epidermal growth factor receptor (EGFR) is overexpressed in various malignancies including carcinoma of the breast, lung, esophagus, cervix, and stomach. In patients with cervical carcinoma, its overexpression may be associated with advanced stage and poor prognosis. So, we evaluated the levels of serum EGFR in patients with cervical carcinoma.

The level of EGFR extracellular domain was determined in serum from 57 cervical carcinoma patients(adenocarcinoma: 2, squamous cell carcinoma: 39, carcinoma in situ(CIS): 16) and 28 cases of healthy control using enzyme-linked immunosorbent assay(Calbiochem). In invasive carcinoma, serum EGFR level was measured in 11 cases of Stage Ia, 9 cases of Stage Ib, 4 cases of Stage IIa, 15 cases of Stage IIb, 2 cases of stage III patients.

The mean ages of the healthy controls, of the wome with carcinoma in situ(CIS), and with invasive cervical carcinoma were not different(49.3, 44.4, 49.5, respectively, $p=0.241$). The mean serum level of EGFR in healthy control($n=28$), carcinoma in situ(CIS)($n=16$), and invasive carcinoma patients($n=41$) were not significantly different($71.4 \pm 12.8\text{fmol/ml}$, $79.2 \pm 26.8\text{fmol/ml}$, $61.8 \pm 18.4\text{fmol/ml}$, respectively, $p=0.071$).

In conclusion, the expression of EGFR was not increased in patients with cervical cancer compared with normal women. And no significant differences were found depending on the clinical stage.

Key Words: Cervical carcinoma, epidermal growth factor receptor, serum, enzyme-linked immunosorbent assay.

서 론

악성 종양 발생에는 다양한 분자생물학적인 변이가 발견되는데 종양유전자와 종양억제 유전자의 변이가 주된 역할을 담당하는 것으로 알려져 있으나

^{1,2)} 그외에도 종양세포들은 스스로 성장인자를 생산하며 그 수용체와 결합함으로써 암화 작용을 하는 것으로 보고되고 있다.

표피성장인자(EGF)는 표피성장인자 수용체(EGFR)와 결합하여 상피세포의 성장 및 분화를 자극하는 것으로 알려져 있지만 그 정확한 기전은 정확히

밝혀지지 않았다.

표피성장인자 수용체는 분자량 170,000의 변형막 당단백질(transmembrane glycoprotein)로써 세포의부영역(extracellular ligand binding domain, ECD), 경막영역(transmembrane domain) 및 세포내영역(intracellular protein kinase domain)으로 구성되어 있으며³⁾ 세포의 영역에 표피성장인자와 TGF- α 등이 결합한다.⁴⁾ 이러한 결합이 이루어진 후 DNA가 증식하고 세포의 분화 및 성장을 촉진한다.

이러한 표피성장인자 수용체의 과발현은 다양한 종류의 종양에서 발견되고, 유암, 방광암, 두경부암, 식도암, 폐암, 위암에서 표피성장인자 수용체의 과발현이 예후, 생존율 및 병기와 상관관계가 있음을 보고하였다.⁵⁻¹⁰⁾

부인과 종양에서 표피성장인자 수용체의 발현율이 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 유방암에서 증가한다는 보고가 있으나,¹¹⁾ 자궁경부의 종양화에 있어서 표피성장인자 수용체의 역할은 아직 불분명하며 보고가 적기 때문에 결론을 내리기에는 많은 연구가 필요할 것으로 생각되어 왔다.

표피성장인자 수용체의 과발현을 측정하는데 지금까지 가장 흔하게 사용된 방법은 면역조직화학적 방법이지만 민감도와 재현성이 떨어지고 표피성장인자 수용체를 정량적 분석하는데 어려움이 있다. 최근에 종양 환자의 혈청에서 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay)를 이용하여 표피성장인자 수용체의 ECD를 정량적으로 분석하는 것이 가능해졌으며^{10,12)} 덜 침습적이기 때문에 자주, 쉽게 이용될 수 있다.

본 연구에서 자궁경부암에서는 지금까지 시행된 적이 없는 ELISA를 이용한 표피성장인자 수용체의 정량적 분석을 통해 자궁경부암과의 상관관계를 밝히려 한다.

연구대상 및 방법

1) 연구대상

고려대학교 의과대학 산부인과 부인암 클리닉에 내원하여 조직 검사상 자궁경부 상피내암 또는 자궁경부암으로 확진된 환자 57례(자궁경부 상피내암 16례, 자궁경부암 41례)를 대상으로 수술전에 채혈

을 실시하여 ELISA를 이용한 표피성장인자 수용체를 측정하였다. 한편 대조군으로는 자궁경부 세포진 검사상 정상으로 판독된 28명을 대상으로 하였다.

연구 대상군의 평균 연령은 대조군이 49.3 ± 10.9 세, 자궁경부 상피내암이 44.4 ± 8.2 세, 자궁경부암이 49.5 ± 11.0 세였다.

자궁경부암의 임상병기는 Ia가 11례, Ib가 9례, IIa가 4례, IIb가 15례, III가 2례였고 자궁경부암 환자 41례의 조직학적 분포를 보면 편평세포암이 39례, 선암이 2례였다.

2) 연구방법

대상환자군과 대조군 환자의 정맥에서 채혈을 실시한 후 혈청을 분리하여 분석 시행 전까지 -70°C 에 보관하였다. 혈청은 ELISA 분석 kit(Oncogene Science, Uniondale, USA)를 이용하여 표피성장인자 수용체의 ECD(extracellular domain)를 측정하였다. 우선, $3\mu\text{l}/\text{well}$ 의 농도로 mouse monoclonal Ab가 coating되어있는 well에 혈청을 첨가한 후 37°C 에서 3시간 동안 incubation시키고 세척한 후 detector Ab를 첨가하여 실온에서 60분간 incubation시켰다. 이 well을 다시 세척 후 horseradish peroxidase와 결합되어 있는 goat anti-rabbit Ig을 첨가 후 실온에서 30분간 배양시켰다. 세척 후 o-phenylenediamine substrate 용액을 첨가하여 실온에서 60분간 빛을 차단한 후 배양시키고 stop solution(2.5N sulfuric acid)을 첨가하였다. Stop 용액을 첨가 후 30분 이내에 490nm 파장의 spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

흡광의 표준 곡선(standard curve)은 A431 종양세포로부터 얻은 EGFR을 serial dilution(80, 60, 40, 20, 10, 5, and 0 fmol of EGFR ECD/ml)하여 시료의 흡광도와 비교하여 농도를 측정하였다.(Fig 1)

3) 통계적 분석

각 군의 평균치는 Student's t test와 One way ANOVA를 이용하여 비교하였고, p value 0.05이하를 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

연구 결과

1. 환자의 임상적 특성

각 군간의 평균나이는 통계적 유의성이 없었으며 (대조군, 49.3 ± 10.9 세; 자궁경부 상피내암, 44.4 ± 8.2 세; 자궁경부암, 49.5 ± 11.0 세; $p=0.241$), 각 군간의 분만력에 따른 통계적 유의성도 관찰할 수 없었다.(대조군, 2.0 ± 0.9 ; 자궁경부 상피내암, 2.2 ± 0.8 ; 자궁경부암, 2.5 ± 1.2 ; $p=0.129$)(Table 1)

나이와 분만력에 따른 혈청 표피성장인자 수용체의 농도도 통계적 유의성을 관찰할 수 없었다.(Table 2 and 3)

2. 각 군간의 혈청 표피성장인자 수용체의 농도

1) 대조군, 자궁경부 상피내암 및 침윤성 자궁경부암에서의 혈청 표피성장인자 수용체의 농도

표피성장인자 수용체의 농도는 대조군이 71.4 ± 12.8 , 자궁경부 상피내암이 71.2 ± 26.8 , 자궁경부암이 $61.8 \pm 18.4 \text{ fmol/ml}$ 로 통계적인 차이는 관찰할 수 없었으며($p=0.071$)(Table 4)(Fig 2), 대조군과 자궁경부 상피내암($p=0.970$), 자궁경부 상피내암과 자궁경부암($p=0.136$)에서도 서로 각각 차이를 발견할 수 없었다(Table 5 and 6). 하지만 대조군과 자궁경부암에서는 자궁경부암에서 통계적으로 의미있게 낮은 농도를 보이고 있다.($p=0.020$)(Table 7)

2) 자궁경부암에서 예후 인자에 따른 혈청 표피성장인자 수용체의 농도

자궁경부암의 임상병기에 따른 표피성장인자 수용체의 농도는 Ia가 63.2 ± 18.0 , Ib가 58.6 ± 21.6 , IIa

Table 1. Patients characteristics

| | Age | Parity |
|-----------------|-----------------|---------------|
| Control | 49.3 ± 10.9 | 2.0 ± 0.9 |
| CIS* | 44.4 ± 8.2 | 2.2 ± 0.8 |
| Invasive cancer | 49.5 ± 11.0 | 2.5 ± 1.2 |
| Range | 17-74 | 0-7 |
| Statistics | $p = 0.241$ | $p = 0.129$ |

*CIS: carcinoma in situ

Table 2. Serum EGFR* levels according to age

| Age(yr) | No. of cases | EGFR* |
|------------|--------------|-----------------|
| <30 | 4 | 67.2 ± 17.1 |
| 30-39 | 9 | 65.0 ± 21.4 |
| 40-49 | 34 | 64.4 ± 18.3 |
| >50 | 38 | 69.2 ± 19.9 |
| Statistics | | $p = 0.745$ |

*EGFR: epidermal growth factor receptor

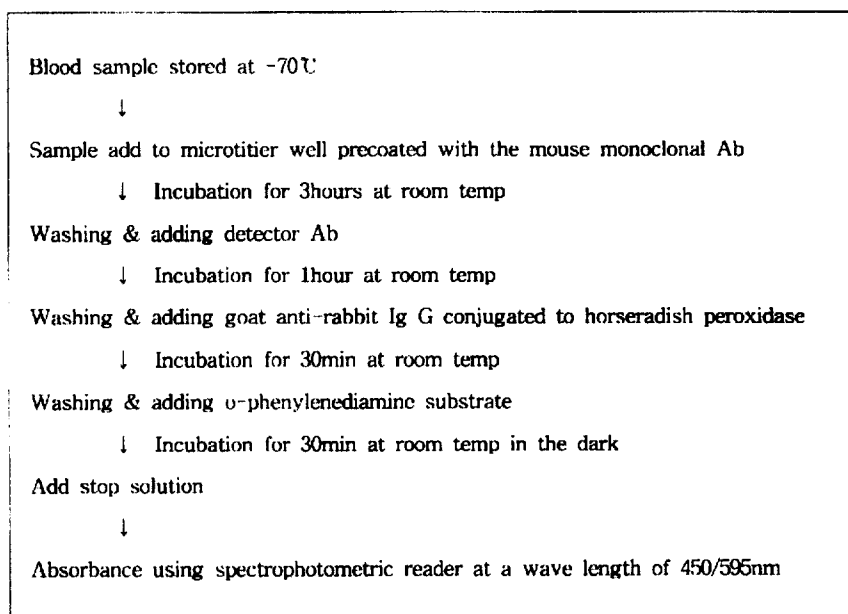


Fig 1. Flow sheet of EGFR analysis by ELISA

Table 3. Serum EGFR^{*} levels according to parity

| Parity | No. of cases | EGFR [*] |
|------------|--------------|-------------------|
| 0 | 5 | 61.9±15.3 |
| 1 | 5 | 80.0±13.3 |
| 2 | 46 | 66.4±20.6 |
| 3 | 24 | 65.9±17.3 |
| 4 | 2 | 55.4±36.4 |
| >5 | 3 | 71.7±14.3 |
| Statistics | | p = 0.607 |

^{*}EGFR: epidermal growth factor receptor

Table 4. Serum EGFR^{*} levels in control, CIS^{**}, and invasive cancer

| | No. of cases | EGFR [*] |
|-------------------|--------------|-------------------|
| Control | 28 | 71.4±12.8 |
| CIS ^{**} | 16 | 71.2±26.8 |
| Invasive cancer | 41 | 61.8±18.4 |
| Statistics | | p=0.071 |

^{*}EGFR: epidermal growth factor receptor

^{**}CIS: carcinoma in situ

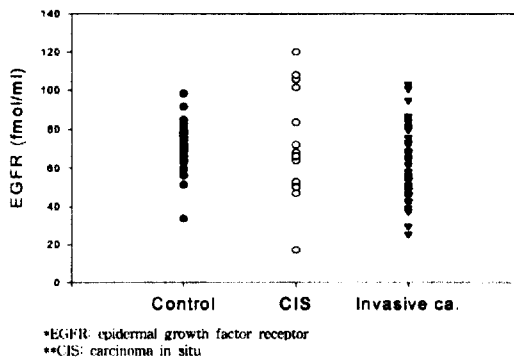


Fig 2. Serum EGFR^{*} levels in control, CIS^{**}, and invasive cancer

가 72.5±11.8, IIb가 61.1±19.6, III가 52.0±8.6fmol/ml으로 각 임상 병기에 따른 표피성장인자 수용체의 농도는 통계적인 차이를 관찰할 수 없었다.(p=0.707)(Table 8)

자궁경부암의 조직학적 형태에 따른 표피성장인자 수용체의 농도를 살펴보면 편평상피암(39례)이 62.1±17.5, 선암(2례)이 56.0±43.3으로 두 군간에

Table 5. Serum EGFR^{*} levels in control vs CIS^{**}

| | No. of cases | EGFR [*] |
|-------------------|--------------|-------------------|
| Control | 28 | 71.4±12.8 |
| CIS ^{**} | 16 | 71.2±26.8 |
| Statistics | | p=0.970 |

^{*}EGFR: epidermal growth factor receptor

^{**}CIS: carcinoma in situ

Table 6. Serum EGFR^{*} levels in CIS^{**} vs invasive cancer

| | No. of cases | EGFR [*] |
|-------------------|--------------|-------------------|
| CIS ^{**} | 16 | 71.2±26.8 |
| Invasive cancer | 41 | 61.8±18.4 |
| Statistics | | p=0.136 |

^{*}EGFR: epidermal growth factor receptor

^{**}CIS: carcinoma in situ

Table 7. Serum EGFR^{*} levels in control vs invasive cancer

| | No. of cases | EGFR [*] |
|-----------------|--------------|-------------------|
| Control | 28 | 71.4±12.8 |
| Invasive cancer | 41 | 61.8±18.4 |
| Statistics | | p=0.020 |

^{*}EGFR: epidermal growth factor receptor

Table 8. Serum EGFR^{*} levels according to stage

| Stage | No. of cases | EGFR [*] |
|------------|--------------|-------------------|
| Ia | 11 | 63.2±18.0 |
| Ib | 9 | 58.6±21.6 |
| IIa | 4 | 72.5±11.8 |
| IIb | 15 | 61.1±19.6 |
| III | 2 | 52.0±8.6 |
| Statistics | | p=0.707 |

^{*}EGFR: epidermal growth factor receptor

통계적 유의성을 관찰할 수 없었으며(p=0.880)(Table 9), 종양의 크기를 4cm으로 분류하였을 때 4cm 이하(14례)는 59.8±18.7, 4cm 이상(4례)은 68.6

Table 9. Serum EGFR^{*} levels according to histologic type

| Histology | No. of cases | EGFR [*] |
|-------------------------|--------------|-------------------|
| Squamous cell carcinoma | 39 | 62.1 ± 17.5 |
| Adenocarcinoma | 2 | 56.0 ± 43.3 |
| Statistics | | p=0.880 |

*EGFR: epidermal growth factor receptor

±27.5fmol/ml로 역시 통계적 차이를 관찰할 수 없었다.(p=0.461)(Table 10)

한편, 임파선 전이에 따른 혈청 표피성장인자 수용체의 농도를 살펴보면 전이된 군(2례)은 69.3 ± 16.0 전이되지 않은 군(12례)은 64.0 ± 16.2로 통계적 유의성이 없었으며(p=0.671)(Table 11) 침윤 깊이에 따른 혈청 표피성장인자 수용체의 농도에서도 3mm 이하(9례)는 64.3 ± 19.2, 3-5mm(1례)는 68.8 ± 0.0, 5mm 이상인 군(10례)은 59.4 ± 15.0으로 통계적인 유의성을 관찰할 수 없었다.(p=0.546)(Table 12)

고 찰

종양의 발생에는 종양유전자의 활성화와 종양억제 유전자의 비활성화 등 여러 유전자의 변화가 관여하는 것으로 알려져 있는데^{1,2)} 이러한 종양유전자와 종양억제 유전자외에도 여러 분자생물학적 변이를 수반하는데, 그 한 예로 종양세포들은 스스로 성장인자를 생산하며 그 수용체와 결합함으로써 성장인자들과 그 수용체는 정상세포 증식의 조절과 종양 발생에 관여하는 것으로 알려져 있다.¹³⁻¹⁵⁾

표피성장인자(EGF)는 1962년 Cohen¹⁶⁾이 처음으로 쥐의 하악 타액선에서 분리한 분자량이 6045 dalton인 single chain polypeptide hormone으로 상피세포의 성장 및 분화를 자극하는 것으로 알려져 있다. 표피성장인자는 생체내에서 1ng에서 80ng까지 다양한 농도로 분포되어 있으나, 혈청 농도와 병리현상과의 관계에 대해서는 알려져 있지 않으며 1985년에 Mattila 등¹⁷⁾은 생후 2년에 소변에서의 표피성장인자의 농도가 2배로 증가한다고 보고하였지만 그에 대한 생리학적 의미는 알려져 있지 않다.

표피성장인자가 세포들에서 돌연변이원(mitogen)

Table 10. Serum EGFR^{*} levels according to tumor size

| Tumor size | No. of cases | EGFR [*] |
|------------|--------------|-------------------|
| ≤4cm | 14 | 59.8 ± 18.7 |
| >4cm | 4 | 68.6 ± 27.5 |
| Statistics | | p=0.461 |

*EGFR: epidermal growth factor receptor

Table 11. Serum EGFR^{*} levels according to lymph node metastases

| LN metastases | No. of cases | EGFR [*] |
|---------------|--------------|-------------------|
| Positive | 2 | 69.3 ± 16.0 |
| Negative | 12 | 64.0 ± 16.2 |
| Statistics | | p=0.671 |

*EGFR: epidermal growth factor receptor

Table 12. Serum EGFR^{*} levels according to invasion depth

| Invasion depth | No. of cases | EGFR [*] |
|----------------|--------------|-------------------|
| ≤3mm | 9 | 64.3 ± 19.2 |
| >3~5mm | 1 | 68.8 ± 0.0 |
| >5mm | 10 | 59.4 ± 15.0 |
| Statistics | | p=0.546 |

*EGFR: epidermal growth factor receptor

으로 작용하기 위해서는 다른 성장인자와 같이 세포 수용체와 결합하여 생체내에서 일련의 반응을 유발시켜야 한다.¹⁸⁾

생체내 반응을 유발시킨 표피성장인자-표피성장인자 수용체(EGF-EGFR) 복합체는 형질 세포막의 clathrin coated 부위에 위치해 있다가 세포에 의해 함입(internalization)된다.^{19,20)} 이렇게 함입된 표피성장인자-표피성장인자 수용체 복합체는 세포분열에 어떠한 신호를 보내어 일련의 반응을 유발시킬 것이라고 추측되지만 그 정확한 기전은 밝혀져 있지 않다.

이러한 성장인자 수용체들 중 표피성장인자 수용체는 유전자가 7번 염색체에 위치하는²¹⁾ 분자량 170,000의 변형막 당단백질(transmembrane glycopro-

tein)로써 621개의 아미노산으로 구성된 세포외부영역(extracellular ligand binding domain), 23개의 아미노산으로 구성된 경막영역(transmembrane domain) 및 524개의 아미노산으로 구성된 세포내영역(intracellular protein kinase domain)으로 구성되어 있으며³⁾ 세포의 영역에 표피성장인자와 transforming growth factor- α (이하, TGF- α) 등이 결합한다.⁴⁾ Todaro 등²²⁾은 암 유발인자로 알려진 TGF- α 가 표피성장인자와 20% 정도의 유사성밖에 갖지 않았으나 표피성장인자 수용체와 결합하여 세포의 변형 및 증식을 초래함을 관찰하였다. 표피성장인자나 TGF- α 가 표피성장인자 수용체에 결합하게 되면 신호 변환 과정(signal transduction pathway)을 활성화 시키고 결과적으로 DNA의 복제가 증가되고 세포의 성장 및 증식을 자극하며^{10,23)} 그 기능은 paracrine 방법으로 표피성장인자와 표피성장인자 수용체는 정상 및 비정상 세포에서의 증식 및 분화에 관여하는 것으로 알려져 있다.

한편, 표피성장인자 수용체는 1984년에 Ullrich 등³⁾이 완전한 염기 서열을 밝혀낸 이후 erb-B 종양 유전자와의 유사성으로 인해 종양유전자로서의 가능성에 대한 연구가 많이 이루어졌다. 1984년에 Downward 등²⁴⁾은 erb-B 종양 유전자의 단백질이 절단된 표피성장인자 수용체(truncated EGFR)라고 보고하였으며 1987년 Velu 등²⁵⁾과 Di Force 등²⁶⁾은 표피성장인자 수용체 자체도 배양중인 세포주(NIH-3T3)에서의 변형을 초래하였다고 보고하였다. 또한 Beug 등²⁷⁾은 erb-B 단백질이 활성화된 표피성장인자 수용체로서 작용하여 세포의 변형을 초래하였다고 보고하였다.

특히 표피성장인자가 세포의 발암과정(carcinogenesis)에 관여한다는 근거로 1986년 Stoscheck 등²⁸⁾에 의해 널리 증명되었으며 그후 많은 연구가들이 암과 표피성장인자 수용체와의 상관관계에 대하여 진행되어 왔다. 그 결과로 표피성장인자 수용체는 세포내영역에 세포증식의 초기단계에서 중요한 역할을 하는 타이로신 키나제가 있어^{23,29)} 시험관과 생체내에서 형질전환을 초래하므로^{25,26)} 종양 발생과 진행에 관여하는 것으로 알려져 있다.

그밖에 여러종류의 암에서 표피성장인자 수용체 유전자의 증폭 또는 재배치가 보고되었다.³⁰⁻³⁹⁾ 이와 같이 표피성장인자 수용체 유전자가 사람의 암 발

생 및 진행에 관여하는 기전에 대한 많은 연구가 진행되어 있으나 아직 자궁경부암에서의 연구는 거의 없는 실정이기 때문에 본 실험을 시행하였다.

1984년에 Ullrich 등³⁾이 사람의 외음부 편평상피암 세포주인 A431 세포주에서 표피성장인자 수용체 유전자의 증폭 및 재배열을 보고한 이후 유방암,^{30,31,40)} 신장암,³²⁾ 신경교종,³³⁾ 폐암^{34,35,41)} 등에서 증폭 또는 재배열이 있음을 보고하였다.

이러한 표피성장인자 수용체의 과발현은 다양한 종류의 종양에서 발견되고, 유암, 방광암, 두경부암, 식도암, 폐암, 위암에서 표피성장인자 수용체의 과발현이 예후, 생존율 및 병기와 상관관계가 있음을 보고하였다.⁵⁻¹⁰⁾

부인과 종양에서는 Xu 등³⁶⁾과 Gullick 등⁴²⁾은 자궁경부암, 난소암, 외음부암에서 표피성장인자 수용체의 양은 증가되었지만 표피성장인자 수용체 유전자의 증폭이나 재배열은 나타나지 않아서 유전자의 증폭만이 표피성장인자 수용체 양의 증가의 유일한 기전은 아니라고 하였다. 한편 Bauknecht 등¹¹⁾은 표피성장인자 수용체의 발현율이 자궁경부암에서 83%, 자궁내막암에서 58%, 난소암에서 45%와 유방암에서 33%를 나타내며 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암의 약 30%와 유방암의 16%에서 정상조직과 비교하여 표피성장인자 수용체의 값이 증가한다고 보고하였다.

자궁경부의 종양화에 있어서 표피성장인자 수용체의 역할은 아직 불분명하며 보고가 적기 때문에 논의의 여지가 있으나, Cowley 등⁴³⁾은 편평세포암주에서 표피성장인자 수용체의 증가를 보고하였고 Ozanne 등⁴⁴⁾은 편평세포의 악성종양화 과정에서 일반적으로 표피성장인자 수용체가 과발현 된다고 보고하였다.

자궁경부암에서 표피성장인자 수용체의 과발현은 연구 결과마다 차이가 있지만 6-81%까지 보고되었다.⁴⁵⁻⁵¹⁾ 김 등⁵²⁾은 표피성장인자 수용체의 과발현율이 자궁경부 침윤암에서 72.5%, 자궁경부 상피내암에서 25%로 보고하였다.

자궁경부암에서 표피성장인자 수용체를 검사하는 방법으로는 radioligand binding assay,⁴⁵⁻⁴⁷⁾ 면역조직화학법,^{42,48-51)} 그리고 flow-cytometric analysis(유세포 분석)⁵⁰⁾이 있다.

표피성장인자 수용체의 과발현을 측정하는데 지

금까지 가장 흔하게 사용된 방법은 파라핀 포매조직을 이용한 면역조직화학적(immunohistochemistry) 방법이다.^{6,7,53-55)} 이러한 면역조직화학적 방법은 정성분석에 있어서 좋은 방법이지만, 민감도와 재현성이 떨어지고 표피성장인자 수용체를 정량적 분석하는데 어려움이 있다.⁵⁶⁾

최근에 종양 환자의 혈청에서 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay)를 이용하여 표피성장인자 수용체의 ECD를 정량적으로 분석하는 것이 가능해졌다.^{10,12)}

본 연구에서 시행한 ELISA 방법으로 혈청에서의 표피성장인자 수용체의 정량적 분석이 가능하게 되었으며, ELISA를 이용한 종양단백의 정량적 분석은 수술적으로 제거된 조직을 이용한 방법보다 덜 침습적이기 때문에 자주, 쉽게 이용 될 수 있다.

지금까지 부인과 종양에서 시행되어 온 표피성장인자 수용체의 측정 방법은 조직 절편에서의 면역조직화학적 방법이며 저자가 실험한 혈청에서의 표피성장인자 수용체의 정량적 분석은 처음으로 이루어진 것으로 이의 결과를 발표하는 바이다.

결 론

고려대학교 의과대학 산부인과 부인암 클리닉에 내원하여 조직 검사상 자궁경부 상피내암 또는 자궁경부암으로 확진된 환자 57례(자궁경부 상피내암 16례, 자궁경부암 41례)를 대상으로 수술전에 채혈을 실시하여 ELISA를 이용한 혈청 표피성장인자 수용체를 측정하였으며 대조군으로는 자궁경부 세포진 검사상 정상으로 판독된 28명을 대상으로 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 각 군간의 평균나이는 통계적 유의성이 없었으며, 각 군간의 분만력에 따른 통계적 유의성도 관찰할 수 없었다. 나이와 분만력에 따른 혈청 표피성장인자 수용체의 농도도 통계적 유의성을 관찰할 수 없었다.
- 2) 대조군과 자궁경부 상피내암에서 혈청 표피성장인자 수용체의 농도는 통계적인 차이를 관찰할 수 없었으며, 자궁경부 상피내암과 자궁경부암에

서도 서로 각각 차이를 발견할 수 없었다. 하지만 대조군과 자궁경부암에서는 자궁경부암에서 통계적으로 의미있게 낮은 농도를 보이고 있었다.

- 3) 자궁경부암에서 예후 인자에 따른 혈청 표피성장인자 수용체의 농도를 보면 임상병기에 따른 표피성장인자 수용체의 농도는 통계적인 차이를 관찰할 수 없었다. 조직학적 형태에 따른 혈청 표피성장인자 수용체의 농도도 통계적 유의성을 관찰할 수 없었으며, 종양의 크기를 4cm으로 분류하였을 때 역시 통계적 차이를 관찰할 수 없었다. 한편, 임파선 전이에 따른 혈청 표피성장인자 수용체의 농도에서도 통계적 유의성이 없었으며, 침윤 깊이에 따른 혈청 표피성장인자 수용체의 농도에서도 통계적인 유의성을 관찰할 수 없었다 ($p=0.546$).

결국, 임상병리학적 요소들과 표피성장인자 수용체의 농도와는 상관관계를 보이지 않았다. 하지만 앞으로 더 많은 수의 시료를 가지고 무작위적, 전향적인 연구가 필요하리라고 생각된다.

- 참고문헌 -

1. Bishop JM, Molecular themes in oncogenesis. Cell 1991;64:235.
2. Hollingsworth RE and Lee WH, Tumor suppressor genes: new prospects for cancer. J Natl Cancer Inst 1991;83:91.
3. Ullrich A, Coussens L, Hayflick JS et al. Human epidermal growth factor receptor cDNA sequence and aberrant expression of the amplified gene in A431 epidermoid carcinoma cells. Nature 1984;309:418-425.
4. Velu TJ, Structure, function and transforming potential of the epidermal growth factor-receptor. Mol Cell Endocrinol 1990;70:205.
5. Sainsbury JR, Farndon JR, Needham GH, et al. Epidermal growth factor receptor status as predictor of early recurrence of death from breast cancer. Lancet 1987;1398.
6. Veale D, Ashcroft T, Marsh C, Gibson GJ, Harris AL. Epidermal growth factor receptors in non-small cell lung cancer. Br J Cancer 1987;55:513-6.

7. Yasui W, Hata J, Yokozaki H, Nakatani H, Ochiai A, Ito H, et al. Interaction between epidermal growth factor and its receptor in progression of human gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1988;41:211-7.
8. Neal D, Sharples L, Smith K, et al. The epidermal growth factor receptor and the prognosis in bladder cancer. *Cancer* 1990;65:1619.
9. Gullick WJ. Prevalence of aberrant expression of the epidermal growth receptor in human cancers. *Br Med Bull* 1991;47:87.
10. Choi JH, Oh JY, Ryu SK, Kim SJ, Lee NY, Kim YS, et al. Detection of epidermal growth factor receptor in the serum of gastric carcinoma patients. *Cancer* 1997; 79:1879-83.
11. Bauknecht T, Kohler M, Janz I, et al. The occurrence of epidermal growth factor receptors and the characterization of EGF-like factors in human ovarian, endometrial, cervical and breast cancer. *J Cancer Res Oncol* 1989;115:193.
12. Partanen R, Hemminki K, Koskinen H, Luo J-C, Carney WP, Brandt-Rauf PW. The detection of increased amounts of the extracellular domain of the epidermal growth factor receptor in serum during carcinogenesis in asbestosis patients. *J Occup Med* 1994;36:1324-8.
13. Goustin AS, Leof EB, Shipley GD, et al. Growth factors and cancer. *Cancer Res* 1986;46:1015.
14. Cross M and Dexter TM. Growth factors in development, transformation, and tumorigenesis. *Cell* 1991; 64:271.
15. Di Force PP, Pierce JH, Fleming TP, et al. Overexpression of the human EGF receptor confers an EGF-dependent transformed phenotype to NIH 3T3 cells. *Cell* 1987;51:1063.
16. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein acceleration incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 1962;237:1555-62.
17. Mattila AL, Perheentupa J, Pesonen K, Viinikka L. Epidermal growth factor in human urine from birth to puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1985 Nov; 61(5): 997-1000.
18. Carpenter G, and Cohen S. Epidermal growth factor. *Ann Rev Biochem* 1979;48:193-216.
19. Stoscheck CM, Carpenter G. Down regulation of epidermal growth factor receptors : direct demonstration of receptor degradation in human fibroblasts. *J Cell Biol* 1984;98:1048-1053.
20. Decker SJ. Aspects of metabolism of the epidermal growth factor receptor in A431 human epidermoid carcinoma cells. *Mol Cell Biol* 1984;4:571-575.
21. Fukushima SI, Matsubara KI, Yoshida M, et al. A novel v-erbB-related gene, c-erbB-2 on human chromosome 17 and its amplification in a gastric cancer cell line. *Mol Cell Biol* 1986;6:955-958.
22. Todero GJ, Fryling C, DeLarco JE. Transforming growth factors produced by certain human tumor cells: polypeptides that interact with human EGF receptors. *Proc Natl Acad USA*. 1980;77:5258-5262.
23. Cohen S, Ushiro H, Stoscheck CM. A native 170,000 epidermal growth factor receptor-kinase complex from shed plasma vesicle. *J Biol Chem* 1982;257:1523-1527.
24. Downward J, Parker P. and Waterfield MD. Auto-phosphorylation site on the epidermal growth factors in mammals. *Endocr Rev* 1990;11:418-422.
25. Velu TJ, Beguinot L, Vass WC et al. Epidermal growth factor-dependent transformation by a human EGF receptor proto-oncogene. *Science* 1987;238:1408-1410.
26. Di Force PP, Pierce JH, Fleming TP et al. Over expression of the human EGF receptor confers an EGF-dependent transformed phenotype to NIH3T3 cells. *Cell* 1987;51:1063-1067.
27. Beug H, Hayman MJ. Temperature-sensitive mutants of avian erythroblastosis virus : surface expression of the v-erb B product correlates with transformation. *Cell* 1984;36:963-972.
28. Stoscheck CM, and King LE. Role of epidermal growth factor in carcinogenesis. *Cancer Res* 1986;46:1030-1037.
29. Ushiro H and Cohen S. Identification of phosphotyrosine as a product of epidermal growth factor-activated protein kinase in A-431 cell membranes. *J Biol Chem* 1980;225:8363.
30. King CR, Krøen MH, Aaronson SA. Amplification of a novel-v-erb B-related gene in a human mammary carcinoma. *Science* 1985;229:974-976.
31. Ro J, North SM, Gallick GZ et al. Amplified and overexpression epidermal growth factor receptor gene in uncultured primary human breast carcinoma. *Cancer Res* 1988;48:161-164.
32. Yao M, Shuin T, Misaki H et al. Enhanced expression of c-myc and epidermal growth factor receptor (c-erb B-1) genes in primary human renal cancer. *Cancer Res* 1988;48:6753-6757.
33. Libermann Ta, Nusbaum HR, Razon N et al. Expression of epidermal growth factor receptor(EGFR) in human lung tumors. *Nature* 1985;313:144-147.
34. Cerny T, Barnes DM, Hasleton P et al. Expression of epidermal growth factor receptor(EGFR) in human lung tumors. *Br J Cancer* 1986;54:265-269.
35. Sakiyama S, Nakamura Y, Uasuda S. Expression of epidermal growth factor receptor gene in cultured human lung cancer cells. *Jpn J Cancer Res* 1986;77:

- 965-969.
36. Xu Y, Richert N, Ito S et al. Characterization of epidermal growth factor receptor gene expression in malignant and normal human cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:7308-7312.
 37. Yamamoto T, Ikawa S, Akijama T, et al. Similarity of protein encoded by the human c-erbB-2 gene to epidermal growth factor receptor. *Nature* 1986;319:230-234.
 38. Wong AJ, Bigner SH, Bigner DD et al. Increased expression of the epidermal growth factor receptor gene in malignant gliomas is invariably associated with gene amplification. *Proc Natl Acad Sci* 1987;84:6899-6903.
 39. Lee JS, Ro JS, Eisbruch A et al. Multiple restriction length polymorphism of the human epidermal growth factor receptor gene. *Cancer Res* 1988;48:4045-4048.
 40. Guerin M, Gabillot M, Mathieu M et al. Structure and expression of c-erb B-2 and EGF receptor genes in inflammatory and non-inflammatory breast cancer: prognostic significance. *Int J Cancer* 1989;43:201-208.
 41. Lee JS, Blick M, Milici A et al. Enhanced expression of epidermal growth factor receptor(EGFR) gene without gene amplification or rearrangement in uncultured non-small cell lung cancer(NSCLC). *Proc Am Assoc Cancer Res* 1987;28:20-27.
 42. Gullick WJ, Marsden JJ, Whittle N, et al. Expression of epidermal growth factor receptors on human cervical, ovarian, and vulvar carcinoma. *Cancer Res* 1986;46:285-292.
 43. Cowley GP, and Gusterson BA. Increased epidermal growth factor receptors on human squamous carcinoma cell lines *Br J Cancer* 1986;53:223-229.
 44. Ozanne B, Richards CS, Hendler F, Burns D, et al. Overexpression of the EGF receptor is a hallmark of squamous cell carcinomas. *J Pathol* 1986;149:9-14.
 45. Battaglia F, Scambia G, Pacini PB, et al. Epidermal growth factor receptor expression in gynecological malignancies. *Gynecol Obstet Invest* 1989;27:42-44.
 46. Kohler M, Janz I, Wintzer HO, et al. The expression of EGF receptors, EGF-like factors and c-myc in ovarian and cervical carcinomas and their potential clinical significance. *Anticancer Res* 1989;9:1537-1548.
 47. Pfeiffer D, Stellwag B, Pfeiffer A, et al. Clinical implication of the epidermal growth factor receptor in the squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1989;33:146-150.
 48. Berchuck A, Rodriguez G, Kamel A, et al. Expression of epidermal growth factor receptor and HER-2/Neu in normal and neoplastic cervix, vulva, and vagina. *Obstet Gynecol* 1990;76:381-387.
 49. Hayashi Y, Hachisuge T, Lwasaka T, et al. Expression of ras oncogene product and EGF receptor in cervical squamous cell carcinomas and its relationship to lymph node involvement. *Gynecol Oncol* 1991;40:147-151.
 50. vanDam PA, Lowe DG, Watson JV, et al. Multiparameter flow-cytometric quantitation of epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 oncoprotein in normal and neoplastic tissue of the female genital tract. *Gynecol Oncol* 1991;42:256-264.
 51. Hale RJ, Buckley CH, Gullick WJ. et al. Prognostic value of epidermal growth factor receptor expression in cervical carcinoma. *J Clin Pathol* 1993;46:149-153.
 52. 김재욱, 김영태, 김동규, 이정필, 송찬호. Quantitative analysis of epidermal growth factor receptor in cervical neoplasia and its clinical correlation with prognostic factors. *대한산부 회지* 1995;38:427-435.
 53. Sugiyama K, Yonemura Y, Miyazaki I. Immunohistochemical study of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in gastric carcinoma. *Cancer* 1989;63:1557-61.
 54. Lee EY, Cibull ML, Strodel WE, Haley JV. Expression of HER-2/neu oncoprotein and epidermal growth factor receptor and prognosis in gastric carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:235-9.
 55. Suzuki T, Tsuda T, Haruma K, Yoshihara M, Sumii K, Kajiyama G. Growth of human gastric carcinomas and expression of epidermal growth factor, transforming growth factor- α , epidermal growth factor receptor and p185c-erb B-2. *Oncology* 1995;52:189-95.
 56. Czerniak B, Herz F, Wersto RP, Alster P, Puszkun E, Schwarz E, et al. Quantitation of oncogene products by computer assisted image analysis and flow cytometry. *J Histochem Cytochem* 1990;38:463-6.