

## 소아에서 발생한 대장의 염증성 질환에서 E-cadherin의 발현

부산성모병원 소아청소년과, 부산대학교 의과대학 \*병리학교실, †소아과학교실

이 나 영 · 박 도 윤\* · 박 재 홍†

### E-cadherin Expression in Colonic Epithelium of Various Colitis in Children

Na Young Lee, M.D., Do Youn Park, M.D.\* and Jae Hong Park, M.D.†

Department of Pediatrics, Busan St. Mary's Medical Center, Departments of \*Pathology and †Pediatrics,  
College of Medicine, Pusan National University, Busan, Korea

**Purpose:** Colitis is a condition associated with a spectrum of altered morphologic changes and cellular adhesion. E-cadherin plays a key role in the establishment and maintenance of epithelial tissue structure and cell-cell adhesion. The purpose of this study is to evaluate E-cadherin expression in colonic epithelium of various colitis in children.

**Methods:** The expressions of E-cadherin were examined in 39 cases of colonic mucosal biopsy specimen using immunohistochemical staining. When more than 50 percent of cells exhibited uniformly the same intensity and pattern of immunostaining as the adjacent normal mucosa, the antigen expression was considered normal. Abnormal expression was defined when less than 50 percent of cells stained, when cells showed a heterogeneously weak or altered distribution, or when complete absence of staining was observed.

**Results:** Fifteen cases with non-specific colitis (38.5%), 7 cases of with Crohn's disease (17.9%), 5 cases of infectious colitis and milk protein sensitive proctocolitis (12.8%), 3 cases of ulcerative colitis (7.7%), 2 cases of Henoch-Schönlein purpura colitis (5.1%), one case of Behcet's disease and ischemic colitis (2.6%) were included in this study. E-cadherin expression was decreased in all kinds of colitis. Reduced expression of E-cadherin was observed in 77 percent of cases. E-cadherin was weaker or no expression in reparative epithelium and "ulcer associated cell lineage".

**Conclusion:** Altered expression of E-cadherin occurs during mucosal inflammation in any kinds of colitis. These changes may be involved in promoting cell migration during epithelial restitution of the gastrointestinal mucosa. (Korean J Pediatr Gastroenterol Nutr 2009; 12: 177~182)

**Key Words:** E-cadherin, Colitis, Children

접수 : 2009년 8월 24일, 승인 : 2009년 9월 21일

책임저자 : 박재홍, 626-770, 경남 양산시 물금면 범어리, 부산대학교 어린이병원 소아청소년과

Tel: 055-360-3153, Fax: 051-360-2181, E-mail: jhongpark@pusan.ac.kr

## 서 론

세포 접합 기전은 배아 발달, 조직과 기관의 형태 결정, 그리고 정상 조직 구조를 유지하는데 매우 중요한 역할을 한다. 상피세포에서 세포간 접합은 E (epithelial)-cadherin에 의해 매개되는데, E-cadherin은 120 kd 크기의 분자로 세포 외 및 세포질 영역을 가진 경막 당단백의 하나이다. 이 분자는 모든 정상 상피세포의 zonula adherens junction에 주로 위치한다. N 말단부는 세포 접합에 관여하고 C 말단부는 catenin으로 알려진 여러 분자들을 거쳐 세포골격과 연결된다<sup>1)</sup>.

E-cadherin은 동종 세포를 부착시켜 상피의 구조를 유지하는데 중요한 성분으로 세포와 세포 사이에서 접착제 구실만 하는 것이 아니라, 세포 간의 상호작용을 매개하여 조직의 구조형성과 유지에 중요한 역할을 한다<sup>2)</sup>. 따라서 E-cadherin의 발현 소실은 상피세포의 조직 변이를 유발하여 세포 간 결합기능의 결함을 초래한다<sup>3)</sup>. 암 조직에서 E-cadherin의 발현 감소는 암의 침투와 전이와 밀접한 관계가 있음이 밝혀졌으나<sup>1)</sup>, 염증 질환에서의 역할에 대해서는 많은 연구가 진행 중이다.

점막 염증에 반응하여 음와 상피세포의 증식과 용모 위축 등의 기능적 및 형태학적 변화가 장 상피세포에서 일어나며, 염증성 대장 질환들은 장관의 만성 염증, 상피 조직의 손상, 점막의 궤양, 상피조직의 회복이 다양하게 반복되어 나타나며 방어기전에도 변화가 나타난다<sup>4)</sup>. 이러한 과정 중에 세포와 세포 간의 결합을 담당하고 있는 E-cadherin과 연관된 단백질들의 변화가 발생할 것으로 추측할 수 있다.

크론병의 침범된 회장 상피세포에서 치밀이음부 (tight junction)의 완전 소실 또는 형태 변화가 보고<sup>5)</sup>된 바 있는데, 이것은 장 염증 상태에서 E-cadherin 발현의 보상성 변화가 일어날 수 있음을 시사한다. 염증성 장 질환에서 E-cadherin의 발현에 대한 다른 연구<sup>6)</sup>에서 활동성 궤양성 대장염의 전 예와 활동성 크론병의 절반에서 궤양 변연부의 E-cadherin 발현이 소실되었음을 보고하였다. 또한 E-cadherin 발현과 질병의 활성도 사이에 상관관계가 있음을 밝혔다.

염증성 대장 질환에서 E-cadherin 발현에 어떠한 변화가 나타나는지에 대한 연구는 주로 크론병이나 궤양

성 대장염에 국한되어 이루어졌다<sup>5~8)</sup>. 그러나 다른 원인의 대장염에서도 상피세포 조직의 변이가 나타나기 때문에 E-cadherin의 발현에 변화가 있으리라 추측할 수 있다. 국내에서는 성인을 대상으로 위궤양에서 E-cadherin과  $\beta$ -catenin의 발현율이 62%, 16%로 현저히 감소한다는 보고가 있으나<sup>9)</sup>, 소아에서 여러 원인의 대장염을 대상으로 E-cadherin의 발현에 대한 연구를 한 것은 국내외에서 거의 없는 실정이다. 이에 저자들은 소아에서 발생한 대장의 염증성 질환들에서 상피세포에서 E-cadherin의 발현에 어떠한 변화가 있는지를 살펴보았다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

1998년 1월부터 2003년 8월까지 부산대학교병원 소아청소년과에서 대장 내시경술과 대장 점막 조직 검사를 통해 대장염으로 진단된 39명을 대상으로 하였다. 대장 내시경술은 Olympus PCF-240-I를 이용하였고, 전 처치제로 midazolam, demerol, propofol, ketamine을 병용하였다.

크론병과 궤양성 대장염의 진단은 임상적, 내시경적, 방사선학적, 병리학적 소견을 종합하여 일본 후생성의 Research Committee of Inflammatory Bowel Disease에서 제정한 진단 기준에 합당한 경우로 하였다<sup>10)</sup>. 베체트 장염은 전신 베체트병이 있으며 전형적인 장궤양이 증명되면 진단하였다<sup>11)</sup>. 감염성 장염은 임상 증상, 조직 및 혈액 배양 검사를 통해 원인이 확인된 경우로 하였으며, 허혈성 장염과 Henoch-Schönlein purpura 대장염, 음식 단백질 과민성 직장대장염은 임상 증상 및 내시경적 소견으로 진단하였다.

### 2. 면역조직화학적 염색

E-cadherin 단백질의 세포 내 발현을 보기 위하여 면역조직화학적염색을 시행하였다. 항원을 얻기 위해 조직 파쇄된 블록을 4  $\mu$ m 두께로 박절한 후 탈파라핀과 함수 과정을 거쳐 수세 후, 항원의 발현성을 높이기 위해 citric acid buffer에 10분간 담가 microwave-oven에서 가열하는 heat induced epitope retrieval method를 이용하였으며, endogenous peroxidase 활성을 차단하였다. 그

후의 과정은 labelled streptavidin biotin kit를 이용하여 통상의 avidin-biotin complex (ABC법)에 따라 실시하여 Mayer hematoxylin으로 대조염색을 실시하였다. 항체는 생쥐의 monoclonal anti-human E-cadherin antibody (Zymed, USA)를 사용하였다.

한 명의 병리학자에 의해 염색의 정도를 모두 판정하였다. 염색 조직을 광학현미경으로 관찰하였으며 주변의 정상 조직과 비교하여 E-cadherin의 발현이 동일한 강도와 양상을 가진 세포가 50% 이상인 경우를 정상으로 판정하였고, 발현이 정상인 세포가 50% 미만이거나 염색의 분포에 이상이 있거나 전혀 염색되지 않은 경우를 이상 발현으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 대상 환자군

39명 중 남녀 비는 1 : 1이었고, 1세 미만이 7명(18.0%), 1~5세 16명(41.0%), 6~10세 8명(20.5%), 11세 이상이

Table 1. Age and Sex Distribution of Patients

Age (yr)	Male	Female	Total (%)
< 1	4	3	7 (18.0)
1~5	8	8	16 (41.0)
6~10	5	3	8 (20.5)
> 11	2	6	8 (20.5)
Total	19	20	39 (100.0)

Mean age: 5.33 years (2 months~15 years).

Table 2. E-cadherin Immunoreactivity in Inflamed Colonic Mucosa

	No. of cases	E-cadherin expression	
		Preserved	Reduced
Non-specific colitis	15	4	11
Crohn's disease	7	1	6
Infectious colitis	5	1	4
Milk protein sensitive proctocolitis	5	1	4
Ulcerative colitis	3	1	2
Henoch-schölein purpura	2	1	1
Behcet's disease	1	0	1
Ischemic colitis	1	0	1
Total	39	9	30

8명(20.5%)으로 평균 나이는 5.33세였다(Table 1).

내원 시 주 증상은 혈변 27예(69.2%), 복통 13예(35.9%), 설사 9예(23.1%), 발열 5예(12.8%), 구토 1예(2.6%)였다. 진단은 비특이성 장염 15예(38.5%), 크론병 7예(18%), 감염성 장염과 식이 단백 과민성 직결장염 각각 5예(12.8%), 궤양성 대장염 3예(7.7%), Henoch-Schönlein purpura 대장염 2예(5.1%), Behcet병과 허혈성 대장염이 각각 1예였다.

### 2. E-cadherin의 면역화학 발현 양상

E-cadherin 발현 양상은 39예 중 정상 발현이 9예(23.1%), 발현 감소가 30예(76.9%)였다. 모든 대장염의 상피세포에서 E-cadherin 발현이 전반적으로 감소되었는데, 특히 염증이 심한 부위에서 발현 감소가 현저하였다. 각 질환별 E-cadherin의 발현 감소는 비특이성 대

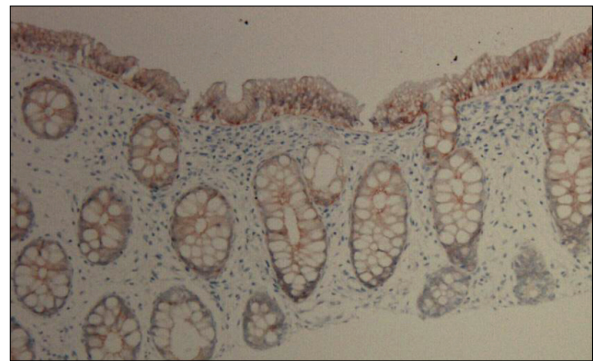


Fig. 1. Immunoreactivity for E-cadherin showing normal membranous staining (Original magnification, ×200).

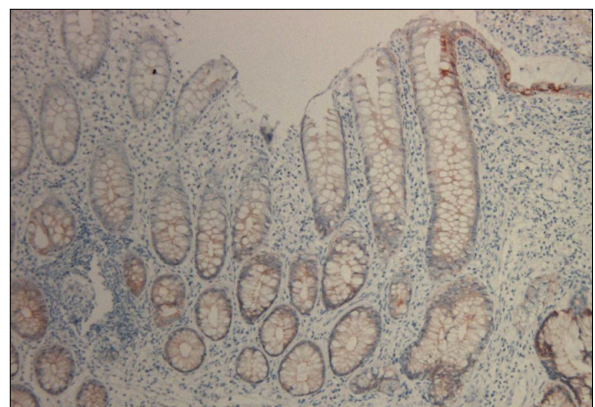


Fig. 2. Immunoreactivity for E-cadherin showing loss of membranous E-cadherin immunoreactivity (Original magnification, ×100).

장염 15예 중 11예(73.3%), 크론병 7예 중 6예(85.7%), 감염성 대장염과 음식 단백 과민성 직결장 각각 5예 중 4예(80.0%), 궤양성 대장염 3예 중 2예(66.7%), Henoch-Schönlein purpura 대장염 2예 중 1예(50.0%), 베체트 장염과 허혈성 대장염 2예 모두(100.0%)에서 관찰되었다(Table 2). 크론병, 궤양성 대장염 및 베체트 장염 등 만성 염증성 장질환에서는 병변부에서 떨어진 상피세포에서는 정상 발현을, 궤양 주위나 재생 상피가 있는 부위는 심한 발현 감소를 보였다(Fig. 1, 2).

## 고 찰

본 연구에서는 비특이성 대장염, 크론병, 감염성 대장염, 음식 단백 과민성 직결장염, 궤양성 대장염, Henoch-Schönlein purpura 대장염, 베체트병, 허혈성 대장염 등 소아에서 볼 수 있는 다양한 원인의 대장염이 포함되었으며, 조직 샘플 중 76.9%에서 원인에 관계없이 상피세포에서의 E-cadherin 발현 감소가 있었다. 활동성 염증이 심한 부위에서 발현 감소가 현저하였으며, 크론병, 궤양성 대장염 및 베체트 장염 등 만성 염증성 장질환에서는 병변부에서 떨어진 상피세포에서는 정상 발현을, 궤양 주위나 재생 상피가 있는 부위는 심한 발현 감소를 보였다. 이러한 변화는 만성 염증성 장질환에서의 E-cadherin 변화에 대한 다른 보고와 동일한 결과를 보였다.

크론병과 궤양성 대장염, 급성 회장염 등 염증 질환에서 E-cadherin-catenin 복합체의 발현에 대한 연구 보고<sup>8)</sup>를 보면, 활동성 염증이 동반된 정상 부위의 점막 상피세포에서는 복합체의 발현이 증가하고 특히 궤양 인접부의 상피세포는 발현이 증가된 반면 궤양 부위의 세포에서는 발현이 없거나 감소하였다. 또한 국소 염증에서는 침범된 부위에서 발현이 증가하였고, 상피세포가 탈락된 부위의 재생 상피에서는 발현이 감소되어 있음을 관찰하였다. 이것은 장 염증 상태에서 E-cadherin 발현의 보상성 변화가 일어날 수 있음을 시사하며, 발현 감소는 세포의 이동을 원활하게 하여 상피세포 손상을 대치하고 발현 증가는 상피세포의 안정성을 향상시키는 역할을 할 것으로 추정되고 있다<sup>12)</sup>. 즉 E-cadherin의 기능적 또는 구조적 변화는 세포 간 접합을 상실케 하므로 염증 상태에서 상피세포는 정상 구조를 유지하

기 위해 E-cadherin 발현을 증가시키고 재생 상피와 궤양 부위 세포에서는 이들 세포의 이동을 용이하게 하기 위해 발현이 감소된 것으로 보고 있다<sup>12)</sup>.

장 상피세포는 Lieberkuhn's crypts의 multipotential stem cell의 분화, crypt-villus axis에서의 세포 이동, 세포 분열, 분화, 세포 사멸, luminal shedding들이 연속적으로 일어나는 빠른 전환이 특징이다. 이러한 일련의 과정에 있어서 다양한 세포 부착 물질들에 의한 세포와 세포의 상호작용은 세포의 기능 및 분화에 아주 중요한 역할을 한다<sup>13)</sup>. 현재 세포 부착 물질은 100가지 이상이 밝혀져 있으며 이 중 정상 장관상피 조직의 구성과 기능을 발전시키고 유지시키는 세포세포간 결합과 세포 substratum 간의 결합에 있어 중심적인 역할을 하는 것이 E-cadherin과 연결 단백질인 integrin이다<sup>14)</sup>. E-cadherin은 cadherin 단백질군의 한 종류인 당단백으로 주로 상피 조직의 세포표면에서  $Ca^{++}$  의존성 방식으로 세포와 세포의 결합에 관여하며, 배형성, 염증조직에서 세포의 이동, 세포의 분화 및 미분화 등과 밀접한 관련이 있다<sup>15,16)</sup>.

염증성 대장 질환은 형태학적 변화와 더불어 세포 접합에 생기는 다양한 변화와 관련된 질환이다. E-cadherin의 변화가 종양 세포의 침윤성 증가와 발암, 진행, 전이에 관여한다고 알려진 악성 종양과는 상대적으로 염증성 대장 질환에서의 E-cadherin의 역할 및 발현의 변화에 대해서는 알려진 바가 적다<sup>17,18)</sup>. 정상 상피세포에서 E-cadherin의 발현은 점막을 따라 균일하게 연결되어 있는 모습을 보이나 본 연구에서와 같이 궤양의 바닥에 위치한 세포들에서는 E-cadherin의 발현이 감소되어 있거나 나타나지 않고 세포 간의 결합도 감소된다. 이러한 E-cadherin의 변화는 세포 간의 부착능을 감소시켜서 이동을 용이하게 하여 상피세포의 재생을 돕기 위한 것이며, 궤양의 치유 시기에 따라 점차적으로 E-cadherin의 발현이 정상 상피세포 수준으로 회복된다는 보고도 있다<sup>7)</sup>. 반면에 장관 내 급성 염증이 있는 경우에는 E-cadherin-catenin 결합체의 발현이 증가되며, 특히 궤양에 인접한 상피세포에서는 그 발현 변화의 정도가 현저하다고 하였다<sup>8)</sup>. 급성 염증 시의 이러한 변화는 염증 반응이 일어나는 동안 상피 세포의 장벽을 유지하기 위한 것으로 생각되고 있다<sup>19)</sup>.

결론적으로 본 연구를 통해 다양한 원인에 의해 발

생하는 대장의 염증성 질환에서 활동성 염증 반응과 E-cadherin의 발현 감소는 연관이 있을 것으로 판단되며, 향후 더 많은 연구를 통해 E-cadherin 발현의 변화에 관련된 여러 요소들과 기전을 밝힘으로써 염증성 위장관 질환의 치료에 도움을 줄 수 있으리라 기대한다.

## 요 약

**목 적:** 소아에서 다양한 원인에 의해 발생한 대장염에서 점막의 형태학적 변화와 세포 접합에 다양한 변화가 있으리라 예상되어 세포 간의 결합을 유지하는 E-cadherin의 변화를 살펴보았다.

**방 법:** 1998년 1월부터 2003년 8월까지 부산대학교 병원 소아청소년과에서 하루 위장관 내시경술과 대장점막 조직 검사를 통해 대장염으로 진단된 39명을 대상으로 하였다. 파라핀 블록에서 면역조직화학염색법을 이용하여 E-cadherin의 세포 내 발현을 조사하였다. 주변의 정상 조직과 비교하여 E-cadherin의 발현이 동일한 강도와 양상을 가진 세포가 50% 이상인 경우를 정상으로 판정하였고, 발현이 정상인 세포가 50% 미만이거나 염색 분포의 이상이 있거나 전혀 염색되지 않은 경우를 이상으로 판정하였다.

**결 과:** 1) 본 연구에서 비특이성 대장염 15예(38.5%), 크론병 7예(17.9%), 감염성 대장염 5예(12.8%), 음식 단백질 과민성 직결장염 5예(12.8%), 궤양성 대장염 3예(7.7%), Henoch-Schönlein purpura 대장염 2예(5.1%), 그 외 베체트병, 허혈성 대장염 1예가 포함되었다. 2) 모든 종류의 대장염에서 상피세포 E-cadherin 발현 감소가 관찰되었으며, 77%의 대상 포본에서 E-cadherin 발현 감소가 있었다. 3) 활동성 염증이 심한 부위에서 E-cadherin 발현 감소가 현저하였으며 병변부에서 떨어진 상피세포에서는 정상 발현을, 궤양 주위나 재생 상피가 있는 부위는 심한 발현 감소를 보였다.

**결 론:** 모든 종류의 염증성 대장 질환에서 E-cadherin 발현 감소가 있었다. 이러한 변화는 염증과 궤양이 있는 부위에서 상피세포 접합을 느슨하게 함으로써 상피세포의 재생을 위한 세포의 이동을 용이하게 하기 위한 작용이라고 판단된다.

## 참 고 문 헌

- 1) Takeichi M. Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 1991;251:1451-5.
- 2) Damsky CH, Richa J, Solter D, Knudsen K, Buck CA. Identification and purification of a cell surface glycoprotein mediating intercellular adhesion in embryonic and adult tissue. *Cell* 1983;34:455-66.
- 3) Blok P, Craanen ME, Dekker W, Tytgat GN. Loss of E-cadherin expression in early gastric cancer. *Histopathology* 1999;34:410-5.
- 4) Kucharzik T, Walsh SV, Chen J, Parkos CA, Nusrat A. Neutrophil transmigration in inflammatory bowel disease is associated with differential expression of epithelial intercellular junction proteins. *Am J Pathol* 2001;159:2001-9.
- 5) Marin ML, Greenstein AJ, Geller SA, Gordon RE, Aufses AH Jr. A freeze fracture study of Crohn's disease of the terminal ileum: changes in epithelial tight junction organization. *Am J Gastroenterol* 1983;78:537-47.
- 6) Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Efstathiou J, Valizadeh A, Noda M, Playford RJ, et al. Expression of catenins and E-cadherin during epithelial restitution in inflammatory bowel disease. *J Pathol* 1998;185:413-8.
- 7) Hanby AM, Chinery R, Poulsom R, Playford RJ, Pignatelli M. Downregulation of E-cadherin in the reparative epithelium of the human gastrointestinal tract. *Am J Pathol* 1996;148:723-9.
- 8) Demetter P, De Vos M, Van Damme N, Baeten D, Elewaut D, Vermeulen S, et al. Focal up-regulation of E-cadherin-catenin complex in inflamed bowel mucosa but reduced expression in ulcer-associated cell lineage. *Am J Clin Pathol* 2000;114:364-70.
- 9) 문성배, 김재광, 최 황, 이봉수, 안병민, 정규원 등. 위선암, 위선종 및 위궤양에서 E-cadherin과  $\beta$ -catenin의 발현. *대한소화기학회지* 1999;34:463-71.
- 10) Yao T, Matsui T, Hiwatashi N. Crohn's disease in Japan: diagnostic criteria and epidemiology. *Dis Colon Rectum* 2000;43(10 Suppl):85S-93S.
- 11) Cheon JH, Shin SJ, Kim SW, Lee KM, Kim JS, Kim WH. Diagnosis of intestinal Behcet's disease. *Korean J Gastroenterol* 2009;53:187-93.
- 12) Dogan A, Wang ZD, Spencer J. E-cadherin expression in intestinal epithelium. *J Clin Pathol* 1995;48:143-6.
- 13) Pignatelli M, Vessey CJ. Adhesion molecules: novel molecular tools in tumor pathology. *Hum pathol* 1994;25:849-56.

- 14) Zbar AP, Simopoulos C, Karayiannakis AJ. Cadherins: an integral role in inflammatory bowel disease and mucosal restitution. *J Gastroenterol* 2004;39:413-21.
  - 15) Takeichi M. The cadherin cell adhesion receptor family: roles in multicellular organization and neurogenesis. *Prog Clin Biol Res* 1994;390:145-53.
  - 16) Gumbiner BM. Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell* 1996;84:345-57.
  - 17) Nigam AK, Savage FJ, Boulos PB, Stamp GW, Liu D, Pignatelli M. Loss of cell-cell and cell-matrix adhesion molecules in colorectal cancer. *Br J Cancer* 1993;68:507-14.
  - 18) Pignatelli M, Ansari TW, Gunter P, Liu D, Hirano S, Takeichi M, et al. Loss of membranous E-cadherin expression in pancreatic cancer: correlation with lymph node metastasis. high grade and advanced stage. *J pathol* 1994;174:243-8.
  - 19) MacDonald TT, Horton MA, Choy MY, Richman PI. Increased expression of laminin/collagen receptor (VLA-1) on epithelium of inflamed human intestine. *J Clin Pathol* 1990;43:313-5.
-