

구강편평상피암종에서 stromal cell-derived factor-1의 발현

김경욱 · 한세진 · 노규섭

단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2010;36:1-6)

Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) expression in the oral squamous cell carcinoma

Kyung-Wook Kim, Se-Jin Han, Kyu-Seob Roh

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Dankook University

Purpose: Chemokines are structurally related, small polypeptide signaling molecules that bind to and activate a family of transmembrane G protein-coupled receptors, the chemokine receptors. Recently, interaction between the chemokine receptor CXCR4 and its ligand, stromal cell-derived factor 1 (SDF-1 or CXCL12), has been found to play an important role in tumorigenicity, proliferation, metastasis and angiogenesis in many cancers such as lung cancer, breast cancer, melanoma, glioblastoma, pancreatic cancer and cholangiocarcinoma.

Hence, the goal of this study is to identify the correlation of clinicopathological factors and the up-regulation of SDF-1 expression in oral squamous cell carcinoma.

Material and methods: We studied the immunohistochemical staining of SDF-1, quantitative RT-PCR (qRT-PCR) of SDF-1 gene in 20 specimens of 20 patients with oral squamous cell carcinoma.

Results: 1. In the immunohistochemical study of poor differentiated and invasive oral squamous cell carcinoma, the high level staining of SDF-1 was observed. And the correlation between immunohistochemical SDF-1 expression and tumor nodes metastases (TNM) classification of specimens was significant. (χ^2 test, $P < 0.05$)

2. In the SDF-1 gene qRT-PCR analysis, SDF-1 expression was more in tumor tissue than in carcinoma in situ tissue. Paired-samples analysis determined the difference of SDF-1 mRNA expression level between the cancer tissue and the carcinoma in situ tissue. (Student's t -test, $P < 0.05$)

Conclusion: These findings suggest that up-regulation of the SDF-1 may play a role in progression and invasion of oral squamous cell carcinoma.

Key words: Chemokine, Chemokine CXCL12 (SDF-1), Oral squamous cell carcinoma

(원고접수일 2009. 11. 5 / 1차수정일 2009. 11. 27 / 2차수정일 2009. 12. 15 / 게재확정일 2010. 1. 7)

I. 서 론

세계적으로 구강암은 사람에게 발생하는 모든 암종 중 약 2.65% 가량을 차지하고 있다. 구강암 중 구강편평상피암종이 가장 빈발하며, 전이 및 재발률이 높아 장기 생존율이 50% 미만일 정도로 예후가 불량하다¹⁻³. 이의 치료는 외과적 수술, 방사선 치료 및 항암화학요법을 주로 사용하고 있으며, 이러한 여러 가지 치료 방법들에 대한 많은 발전에도 불구하고 구강편평상피암종은 국소적 재발과 전이로 인하여 그 예후가 크게 개선되지 않았다^{4,6}.

임상적으로 구강편평상피암종으로 진단된 환자들의 치료 계획 및 예후는 주로 tumor nodes metastases (TNM) 분류를 따른다. 하지만, 치료 결과들이 이 기준에 부합하지 않는 경우가 많으며, 이에 따라 암종의 분자생물학적 특성에 따른 좀더 정확한 환자의 예후를 판별할 수 있는 인지자(marker)를 찾으려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 정상조직과 암종의 분자생물학적 특성의 차이는 다양한 원인들이 관여하며, 이들은 암종의 세포주기 변화, 세포사멸에 대한 저항, 염색체 이상 및 여러 성장인자들의 분비 등을 일으켜 암종의 성장과 progression에서 중요한 역할을 한다⁷.

Chemokine은 세포에서 분비되는 단백질 또는 cytokine의 일종으로 chemokine이라는 명칭은 chemotatic cytokine을 의미하며 목표 부위로 세포들을 이주시키는 주화성 인자(chemoattractant)로 작용하는 특성을 가지고 있다⁸. Chemokine의 크기는 8-14 kDa으로 아주 작으며, 표적 세포의 세포막 표면에 존재하는 transmembrane G protein-linked receptor인 chemokine receptor와 상호 작용하여 세포내 신

김 경 욱

330-714 충남 천안시 안서동 29

단국대학교 치과대학 부속병원 구강악안면외과

Kyung-Wook Kim

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Dankook University

29 Anseodong, Choean, Chungnam, 330-714, Korea

Tel: +82-41-550-1991~3 Fax: +82-41-551-8988

E-mail: kkwoms@dku.edu

호 전달체계를 활성화시킨다. Chemokine의 분자 구조 중 2개의 cysteine 말단기의 변화에 따라 크게 CC chemokine, CXC chemokine, C chemokine, CX3C chemokine의 4가지로 분류하며 이들은 각 특성에 따라 면역체계에 관여하는 세포들을 조절하거나 항상성(homeostasis)을 유지하는데 관여하며 신생혈관형성(angiogenesis) 및 상처치유의 촉진 등 다양한 기능을 수행한다^{9,10}.

CXC chemokine의 한 종류인 stromal cell-derived factor-1 (SDF-1)은 정상조직의 섬유아세포(fibroblast)나 혈관내피세포(endothelial cell) 같은 간엽세포(stromal cells)에서 발현된다¹¹. SDF-1은 그것이 작용하는 세포의 세포막에 있는 수용체인 CXCR4와 결합하여 그 특성을 나타내며, 주로 림프구(lymphocyte)에 대한 강력한 주화작용(chemotaxis)을 하거나 골수로부터 혈관내피전구세포(endothelial progenitor cell)를 유도하여 혈관형성에 관여한다¹². SDF-1의 이러한 기능 때문에 종양세포에서 신생혈관형성에 의한 성장 및 전이에 밀접한 관련성이 있을 것이라 추측하여 왔으며, 실제로 최근의 연구들은 SDF-1과 그것의 수용체인 CXCR4와의 상호작용이 폐암, 유방암, 흑색종 및 췌장암 등 암종들의 증식, 전이 및 신생혈관형성에서 아주 중요한 역할을 한다고 보고하고 있다¹³⁻¹⁸.

하지만, 현재까지 구강편평상피세포암종에서 SDF-1의 발현에 대한 연구는 많지 않으며 특히, SDF-1의 발현에 따른 암종 환자의 임상병리학적 양상과의 연관성에 대한 연구는 거의 없다. 이에 본 연구는 구강편평상피암종에서 조직학적 특성에 따른 SDF-1의 발현 양상을 검사하고 환자의 임상적 정보와 TNM 분류에 따른 SDF-1 발현의 차이에 대한 상관관계를 알아보고자 시행하였다. 또한 암종의 침습성과 SDF-1 발현과의 관계에 대한 간접적인 비교를 위해 상피내암과의 그 발현의 차이를 비교하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

실험에 사용된 조직편은 단국대학교 치과대학 부속 치과병원 구강악안면외과에서 구강편평상피세포암으로 최종 진단받은 환자 20명의 수술 후 절제된 조직 20편과 상피내암으로 진단받은 절제 조직 20편을 사용하였다. 면역조직화학적 염색은 20편의 구강편평상피세포암 조직에서만 시행하였고 quantitative RT-PCR (qRT-PCR)의 경우에는 침습성이 적은 상피내암의 gene fold 값을 측정해 구강편평상피세포암종과의 차이를 살피기 위해 각각 20개의 조직편 모두를 사용하였다.

절제된 조직은 10% neutral buffered formalin으로 8-12시간 고정 후 통상적인 방법으로 paraffin block으로 만들었다.

2. 연구 방법

1) 면역조직화학적 염색

면역조직화학적 염색은 절제된 조직의 paraffin block에서 6 μ m의 절편을 만들어 통상적인 탈 파라핀 과정을 거친 후 항원을 회복시키기 위하여 0.01M citrate buffer (pH 6.0)에 15분간 끓였다. Buffer 용액이 식은 후 phosphate buffered saline (PBS) (pH 7.4) 액에 3분씩 3회 수세 후 내인성 peroxidase를 차단하기 위하여 90 mL methanol/10 mL 30% H₂O₂ 용액에 실온에서 15분간 반응시켰다. 그 후 실온에서 3분씩 3회 PBS로 수세 후 일차 항체인 쥐 단일클론 SDF-1 항체(R&D System, Minneapolis, MN USA)를 1:50 항체 희석액으로 희석 후 실온에서 2시간 반응시켰다. 그 후 3분씩 3회 PBS로 수세 후 항체 enhancer (Lab Vision Corp., Fremont, CA, USA)로 30분간 실온에서 반응시킨 후 PBS로 2회 수세하였다. 그 후 HRP polymer (Lab Vision Corp., Fremont, CA, USA)로 실온에서 30분 반응시킨 후 역시 PBS로 3회 수세하였다. 그 후 Diaminobenzidine (DAB) 용액(Lab Vision Corp., Fremont, CA, USA)으로 15분간 반응시켰다. 그 후 증류수로 수세 후 hematoxylin으로 대조염색하고 다시 graded alcohol로 탈수시킨 후 xylene으로 투명화시켜 balsam으로 cover glass를 덮고 광학현미경으로 관찰하였다. 환자의 임상적 정보를 모르는 구강병리의사 한명에 의한 맹검법으로 정상조직과 비교하여 아주 강한 염색은 3점, 보통 염색은 2점, 약한 염색은 1점, 차이가 없는 경우는 0점으로 하였으며, 3점과 2점은 양성(positive)으로 1점과 0점은 음성(negative)으로 분류하였다¹⁹.

2) quantitative RT-PCR (qRT-PCR)

(1) Total RNA extraction

Paraffin block에서 3개의 15 μ m의 절편을 얻은 후 이를 xylene용액에 5분씩 3회 반응시켜 탈 파라핀 후 100% ethanol로 5분씩 3회 xylene을 씻어내고 diethyl pyrocarbonate (DEPC) 처리된 증류수로 graded ethanol 용액을 만들어 흡수시켰다. 그 후 hematoxylin으로 10초간 간단히 염색 한 후 DEPC 처리된 증류수로 수세하였다. 그 후 26G needle로 종양조직을 현미경 하에 얻어 eppendorf tube에 넣고 High Pure RNA Paraffin Kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)로 total RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 NanoDrop spectrophotometer (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA)으로 양과 질을 측정하였다.

(2) cDNA 합성

Total RNA 1-2 μ g을 주형으로 Maxime RT PreMix Kit, Random primer (Intron Biotech., Seongnam, Korea)을 사용하여 cDNA를 합성하였다. 즉, 20 μ l 반응액을 45°C에서 60분간 반응시킨 후 reverse transcriptase를 95°C에서 5분간 불활성 시켰다.

(3) PCR reaction

PCR primer와 probe는 Primer Express (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) software로 design하여 합성하였다. 각각의 primer sequence와 probe sequence는 다음과 같으며 20 ul 반응으로 AccuPower DualStar PCR PreMix Kit (Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용하였다. 합성한 cDNA 반응액 20 ul에 DEPC 처리한 증류수 80 ul를 섞어 희석한 후 이를 3 ul 취하여 PCR 주형으로 하였다.

반응 조성은 다음과 같다.

PCR forward primer, 10 pmole	1 ul
PCR reward primer, 10 pmole	1 ul
Taqman Probe, 10 pmole	1 ul
Template	3 ul
DEPC 처리 증류수	14 ul

PCR 기계는 ExiCycler (Bioneer, Daejeon, Korea)를 사용하였고 각각의 반응조건은 95°C에서 5분 처리 후 변성, 95°C에서 20초, annealing/extension은 60°C에서 30초를 50 cycle 처리하였다. 그 후 각 검체를 triplicate하여 분석하였다.

House keeping gene glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)와 SDF-1 유전자의 primer와 probe는 다음과 같다.

SDF-1 alpha qRT-PCR Taqman Probe

Forward primer 5'-TGGCTTAACAGGGAGCTGGAA-3'
 Reverse primer 5'-AGTCGGTATCTGAGTGCCACAGA-3'
 Probe 5'-FAM-CTTCTTCAGACACTGAGGCTCCCGCA-TAMRA-3'
 GAPDH Forward Primer 5'-GAAGGTGAAGGTCTGGAGTC-3'
 GAPDH Reverse Primer 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'
 GAPDH Probe 5'-FAM-CAAGCTTCCCGTTCTCAGCC-TAMRA-3'

96-channel optical unit로 분석하여 house keeping gene GAPDH과 SDF-1 발현을 상대적으로 계산한 $\Delta C_T = C_T (SDF-1) - C_T (GAPDH)$ 을 $2^{-\Delta C_T}$ 로 환산하여 표시하였다.

3) 통계학적 분석

면역조직화학적 염색 결과에 따른 SDF-1 expression level과 암종의 임상적, 조직학적 양상과의 관계를 알아보기 위해 (χ^2 test를 사용하였으며, 유의성은 $P < 0.05$ 로 하였다).

또한, SDF-1 mRNA의 상대적 수치 (SDF-1/GAPDH)에 대한 암종의 임상적 양상과 상피내암 조직과의 발현의 차이에 대한 관계를 알아보기 위해 student's *t*-test를 사용하였으며, 유의성은 $P < 0.05$ 로 하였다.

Ⅲ. 연구 결과

1. 면역조직화학적 염색 소견

정상적인 구강조직에서 SDF-1 발현은 간엽조직의 혈관 내피세포에서만 관찰되었으며, 상피내암 조직의 경우, SDF-1의 발현이 거의 관찰되지 않았다.(Fig. 1, 2.)

반면, 중등도 분화 구강편평상피세포암종의 경우, 침습적인 종양세포의 세포질과 세포막에서 SDF-1의 발현이 관찰되었으며, 저등도 분화 구강편평상피세포암종의 경우에도 정상조직에 비해 증가된 SDF-1 발현을 관찰할 수 있었다.(Fig. 3, 4.)

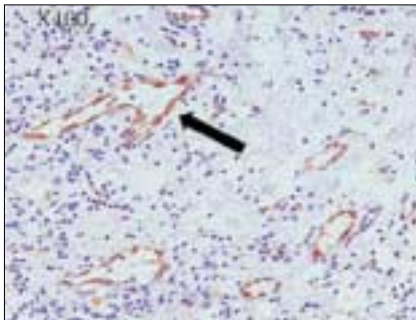


Fig. 1.

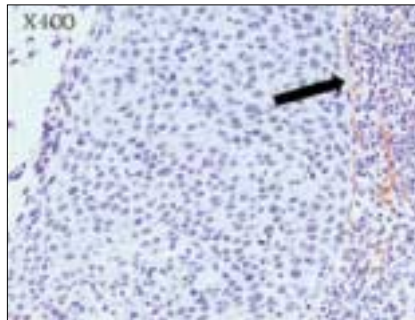


Fig. 2.

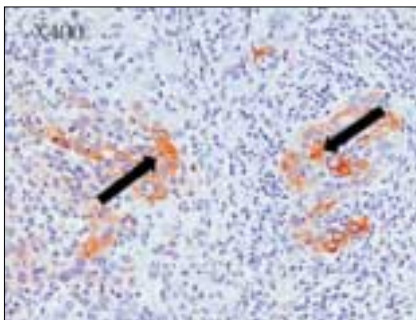


Fig. 3.

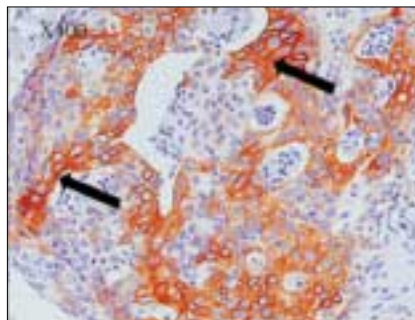


Fig. 4.

Fig. 1. Immunohistochemical staining for SDF-1 of normal oral tissue.(×400)

Fig. 2. Immunohistochemical staining for SDF-1 of oral carcinoma in situ.(×400)

Fig. 3. Immunohistochemical staining for SDF-1 of moderate differentiated oral squamous cell carcinoma.(×400)

Fig. 4. Immunohistochemical staining for SDF-1 of poor differentiated and invasive oral squamous cell carcinoma.(×400)
 (SDF-1: stromal cell-derived factor-1)

2. 면역조직화학적 염색 결과에 따른 SDF-1 expression과 암종의 임상적, 조직학적 양상과의 관계

SDF-1 Negative staining은 총 20예 중에 8예(40%)였으며 Positive staining은 12예(60%)였다. 암종의 TNM 분류 양상과 SDF-1 발현과의 연관성이 유의하게 나타났으나 다른 요인들과 SDF-1 발현 차이와의 연관성에 유의성이 없었다.(Table 1.)

3. qRT-PCR of SDF-1

실험에 사용된 총 20개의 모든 종양 조직에서 농도의 차이는 있으나 뚜렷한 SDF-1 mRNA 발현을 관찰할 수 있었다. 하지만, 20편의 상피내암 조직의 경우, 극히 낮은 SDF-1 발현 농도를 보였다.

4. SDF-1 mRNA의 상대적 수준(SDF-1/GAPDH)과 암종의 임상적, 병리학적 양상과의 관계

20예의 종양 조직편에서 GAPDH에 대한 SDF-1의 상대적

수치는 0.79에서 1.77로 평균 1.289이었다. 반면, 상피내암 조직 20편에서 상대적 수치는 0.08에서 0.36으로 평균 0.244였다. 암종에서 SDF-1 mRNA 발현이 상피내암 조직에서 보다 더 높았으며 이는 통계학적으로 유의성이 있었다.(Student's *t*-test, $P < 0.05$) 하지만 환자의 성별, 나이, TNM 분류와 같은 임상적인 요인들과 SDF-1 발현과의 연관성은 유의하게 나타나지 않았다.(Table 2.)

IV. 고 찰

암종의 성장과 국소적 침습 및 전이를 위해 신생혈관형성과 암세포 기저부 간엽세포들과의 상호작용(reciprocal interaction)이 필수적이며, 이를 위해 암세포는 그 자체에서 여러 가지 단백질 물질들(cytokines)을 분비하거나 주변 세포로부터 분비를 자극한다. 암종에서 그 발현이 증가하는 이들 물질들은 대부분의 경우, 암종의 progression과 invasion에 영향을 미친다. 암종의 예후와 관련하여 임상적인 TNM 분류만으로는 그 치료 결과들을 예측하는데 한계가 있기 때문에 최근 연구들은 다양한 분자 인지자(molecular marker)를 이용하여 환자의 예후와의 연관성을 판별하기

Table 1. The correlation between immunohistochemical SDF-1 expression and clinical and pathological factors.

Variable	Case (n)	SDF-1 positive expression		
		n (%)	χ^2	P
Sex				
Male	11	5 (45.5%)	0.303	0.582
Female	9	3 (33.3%)		
Age				
60 ≤	5	1 (20.0%)	1.111	0.292
60 >	15	7 (46.7%)		
Histological differentiation				
Well	13	4 (30.8%)	1.319	0.251
Moderate/Poor	7	4 (57.1%)		
Tumor size				
T1/T2	11	2 (18.2%)	4.848	0.028*
T3/T4	9	6 (66.7%)		
Nodal status				
N (-)	11	2 (18.2%)	4.848	0.028*
N (+)	9	6 (66.7%)		
Metastasis				
M (-)	17	5 (29.4%)	5.294	0.021*
M (+)	3	3 (100%)		
TNM stage				
I/II	8	1 (12.5%)	4.201	0.040*
III/IV	12	7 (58.3%)		

n = number of patients, P = P value

* χ^2 test, significance $P < 0.05$

(SDF-1: stromal cell-derived factor-1)

Table 2. Relationship between relative levels of SDF-1 mRNA (SDF-1/GAPDH) and clinical and pathological factors.

Variables	No.	SDF-1 mRNAa (mean ± SD)	P value
Sex			
Male	11	1.3822 ± 0.2202	0.37
Female	9	1.2422 ± 0.2934	
Stage			
I-II	8	1.2050 ± 0.2290	0.302
III-IV	12	1.2163 ± 0.2637	
Tumor status			
T1	11	1.1978 ± 0.1900	0.249
T2-4	9	1.3622 ± 0.3307	
Lymph node status			
N0	11	1.2356 ± 0.2330	0.155
N1-3	9	1.3944 ± 0.3956	
Metastasis status			
M0	17	1.1833 ± 0.1418	0.927
M1	3	1.5433 ± 0.1594	
Tissue			
Oral squamous CA	20	1.2855 ± 0.2742	0.000*
Carcinoma in situ	20	0.2440 ± 0.1277	

a: SDF-1 mRNA expression derived from real-time quantitative RT-PCR

* P value derived from Student's *t* test

(GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)

위한 시도들을 하고 있다.^{20,21}

세포에서 분비되는 아주 작은 크기의 단백질인 chemokine 또한 최근에 암종의 표지 인지자로서 그 가능성을 가늠하기 위한 많은 연구들이 시행되어 왔다. 그 중 CXC chemokine은 α -chemokine이라고도 불리우며, chemokine의 4가지 분류 중 구조적으로 하나의 amino acid로 나누어지는 2개의 cysteine 말단기를 가진 형태를 지칭한다. 이들은 CXCR이라는 세포 표면에 있는 수용체와 결합하게 되는데 현재까지 밝혀진 순서대로 CXCR1부터 CXCR7까지 7개의 수용체가 알려져 있다.^{9,10}

SDF-1 또는 CXCL12라고 알려진 물질은 CXC chemokine의 일종으로 뼈, 폐, 간, 뇌, 림프조직 등 신체의 다양한 기관에서 그 발현이 관찰되며 특히, 골모세포(osteoblast), 섬유아세포(fibroblast) 및 혈관내피세포(endothelial cell)에서 주로 생산된다고 한다. SDF-1의 표적 세포 표면 수용체는 CXCR4로 알려져 있으며, 이들의 결합에 의한 상호작용은 정상조직에서 림프구(lymphocyte)의 이주 및 혈관형성을 촉진시키는 기능을 한다고 알려져 있다.^{11,22-24} 그런데 이러한 기능들은 암종에 있어서도 그 성장 및 전이를 위해서도 필요한 과정들이며 이 때문에 암종과 SDF-1 발현과의 연관성에 대한 연구들이 시행되었고 여러 연구들에서 SDF-1이 암종의 tumorigenicity, proliferation, metastasis 및 angiogenesis에서 중요한 역할을 한다고 보고하였다.¹³⁻¹⁸

암종에서 SDF-1의 발현 증가에 따른 역할은 크게 신생혈관형성과정의 촉진과 국소적 침습 및 림프조직으로의 전이로 나눌 수 있다. 혈관형성과정에서 SDF-1은 골수에서 혈관내피전구세포를 유도하거나 혈관내피세포에 직접 작용하여 모세혈관구조를 만들게 한다.^{25,26} 또한 SDF-1은 암세포를 자극하여 혈관내피성장인자(vascular endothelial growth factor)와 interleukin-8 (IL-8) 같은 다양한 혈관형성인자들을 분비하도록 하여 간접적으로 혈관형성과정을 촉진시킨다.²⁷

Daly 등²¹은 구강편평세포암종의 침습 및 전이는 주변의 기저간엽조직의 섬유아세포로부터 받는 신호(signals)에 의존하며, 섬유아세포에서 분비되는 SDF-1의 과발현은 암세포의 국소적 침습을 자극하는 인자로 작용한다고 하였다. 또한 Uchida 등¹⁶은 SDF-1과 그것의 수용체인 CXCR4와의 결합에 의해 세포내 신호전달체계가 활성화 되고 이런 signaling에 의한 세포사멸 저항 및 림프절로의 암세포 전이를 촉진시킨다고 보고하였다. SDF-1에 의해 활성화되는 세포 내 Akt/protein kinase B (PKB)는 여러 암종에서 활성변이가 관찰되는 강력한 세포생존인자이다. Akt는 Bad를 인산화시킴으로써 Bad가 Bcl-xL과 결합하지 못하게 함으로써 Bcl-xL이 anti-apoptotic한 기능을 나타내게 한다. 또한 Akt에 의해 caspase 9이 인산화되는데 이는 caspase 9의 불활성화를 초래하여 세포사멸을 억제한다. 또 한가지 Akt의 기질 단백질로 알려진 것이 FKHR transcription factor인데 이들은 세포사멸에 관여하는 여러 유전자의 발현을 촉진

하는 바, Akt는 FKHR 전사인자들을 인산화 함으로써 이들 을 세포질 내에 국한시켜 기능을 못하게 함으로써 세포사멸을 억제한다고 알려져 있다.^{28,29}

많은 연구들에서 정상조직과 비교하여 증가한 SDF-1의 발현이 종양의 성장 및 전이, 신생혈관형성과 연관이 있다고 하였고 실제로 유방암, 폐암 및 췌장암등에서 SDF-1의 발현이 증가한다고 하였다.¹⁵⁻¹⁸ Dewan 등³⁰은 유방암에서 SDF-1 발현과 환자의 임상적, 예후적 인자와의 연관성에 대한 연구에서 SDF-1의 증가가 암종의 progression과 관련성이 있다고 하였으며, 이런 결과로 SDF-1이 유방암의 예후에 대한 표지자로도 사용될 가능성이 충분하다고 주장하였다.

본 연구의 면역조직화학적 검사 결과, SDF-1 발현이 정상적인 구강편평상피조직의 경우, 상피 전층에서 그 발현이 거의 관찰되지 않았고 다만, 상피 기저 간엽조직의 혈관내피세포에서만 관찰되었다. 이러한 양상은 SDF-1이 정상 상피 조직에서 그 발현이 제한되며 간엽조직의 섬유아세포 또는 혈관내피세포에서만 발현된다는 다른 연구들의 결과들과 일치하였다.³¹ 특이한 점은 상피내암 조직에서 SDF-1의 발현이 음성으로 관찰되는데 반해, 구강편평상피세포암종에서 SDF-1의 강한 발현이 관찰되었다는 것이다. 상피내암은 조직학적으로 암세포가 상피조직에서 간엽조직으로 침범하지 않은 상태를 말하는데 간엽조직으로의 침습이 일어나는 암종으로 성장 시, SDF-1의 발현이 증가한다는 것은 암종의 성장 및 국소적 전이와 SDF-1이 관련 된다는 것을 간접적으로 알려주는 증거라고 생각되었다. 이러한 사실은 면역조직화학적 염색 결과에 따른 SDF-1 staining과 암종 및 TNM 분류와의 관계를 알아보기 위한 통계학적 분석에서 그 연관성이 유의하게 나타났다는 사실로 증명되었다.

한편, Kang 등²⁰은 SDF-1의 발현과 암종의 임상적, 병리학 적 양상과의 관계를 통계적으로 분석하기 위해 quantitative RT-PCR을 시행하였다. 본 연구에서도 마찬가지로 방법으로 SDF-1 유전자의 발현을 정량화하였으며, 그에 따른 SDF-1 mRNA의 상대적 수준(SDF-1/GAPDH)과 암종의 임상적, 병리학 적 양상과의 관계를 통계학적으로 분석한 결과, 상피내암 조직과 암종 조직에서 SDF-1 발현의 차이가 유의성이 있게 나타났다. 이는 아직 기저 조직으로 침습이 일어나지 않은 상피내암에서 보다 성장과 침습이 일어난 암종에서 SDF-1의 발현이 활성화되어 있다는 것을 나타낸다고 생각되었다.

V. 결 론

세포들의 이주를 유도하는 주화성 인자인 chemokine의 일종인 SDF-1은 정상 또는 병적 상태 모두에서 혈관형성을 직접적 또는 간접적으로 촉진하는 기능을 가지고 있다. 특히, SDF-1은 chemokine receptor인 CXCR4와 결합하여 세

포내 신호전달체계를 활성화하여 종양의 증식과 전이에 영향을 미친다고 알려져 있다.

본 연구를 통하여 SDF-1 발현이 정상조직세포 및 상피내 암에서 보다 구강편평상피세포암종에서 증가하였고 SDF-1 발현과 구강편평상피암종의 TNM 분류에 따른 상관관계에 유의성이 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 암종의 SDF-1이 암종의 progression 및 국소적 전이에 관여하리라는 것을 추론케 한다. 향후, 구강편평상피세포암종에서 더 많은 SDF-1의 발현 및 임상적 요인들 및 조직학적 양상에 대한 데이터의 축적이 이루어진다면 암종의 예후에 대한 인지자(marker)로서 그 사용이 가능하리라 사료된다.

참고문헌

- Sankaranarayanan R, Masuyer E, Swaminathan R, Ferlay J, Whelan S. Head and neck cancer: a global perspective on epidemiology and prognosis. *Anticancer Res* 1998;18:4779-86.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001;94:153-6.
- 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;40:71-6.
- Pisani P, Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999;83:18-29.
- Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999;80:827-41.
- Carvalho AL, Magrin J, Kowalski LP. Sites of recurrence in oral and oropharyngeal cancers according to the treatment approach. *Oral Dis* 2003;9:112-8.
- Hemmer J, Kreidler J. Flow cytometric DNA ploidy analysis of squamous cell carcinoma of the oral cavity. Comparison with clinical staging and histologic grading. *Cancer* 1990;66:317-20.
- Fernandez EJ, Lolis E. Structure, function, and inhibition of chemokines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002;42:469-99.
- Laing KJ, Secombes CJ. Chemokines. *Dev Comp Immunol* 2004;28:443-60.
- Murdoch C, Finn A. Chemokine receptors and the role in inflammation and infectious diseases. *Blood* 2000;95:3032-43.
- Hosokawa Y, Hosokawa I, Ozaki K, Nakae H, Murakami K, Miyake Y, et al. CXCL12 and CXCR4 expression by human gingival fibroblasts in periodontal disease. *Clin Exp Immunol* 2005;141:467-74.
- Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol* 2000;18:217-42.
- Müller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan M, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001;410:50-6.
- Taichman RS, Cooper C, Keller ET, Pienta KJ, Taichman NS, McCauley LK. Use of the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 pathway in prostate cancer metastasis to bone. *Cancer Res* 2002;62:1832-7.
- Scotton CJ, Wilson JL, Milliken D, Stamp G, Balkwill FR. Epithelial cancer cell migration: a role for chemokine receptors? *Cancer Res* 2001;61:4961-5.
- Uchida D, Begum NM, Almofti A, Nakashiro K, Kawamata H, Tateishi Y, et al. Possible role for stromal-cell-derived factor-1/CXCR4 signaling on lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. *Exp Cell Res* 2003;290:289-302.
- Bertolini F, Dell'Agnola C, Mancuso P, Rabascio C, Burlini A, Monestiroli S, et al. CXCR4 neutralization, a novel therapeutic approach for non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res* 2002;62:3106-12.
- Murakami T, Maki W, Cardones AR, Fang H, Tun Kyi A, Nestle FO. Expression of CXC chemokine receptor-4 enhances the pulmonary metastatic potential of murine B16 melanoma cells. *Cancer Res* 2002;62:7328-34.
- Ghadjar P, Coupland SE, Na IK, Noutsias M, Letsch A, Stroux A, et al. Chemokine receptor CCR6 expression level and liver metastases in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:1910-6.
- Kang H, Watkins G, Parr C, Douglas-Jones A, Mansel RE, Jiang WG. Stromal cell derived factor-1: its influence on invasiveness and migration of breast cancer cells in vitro, and its association with prognosis and survival in human breast cancer. *Breast Cancer Research* 2005;7:R402-10.
- Daly AJ, McIlreavey L, Irwin CR. Regulation of HGF and SDF-1 expression by oral fibroblasts-implications for invasion of oral cancer. *Oral Oncol* 2008;44:646-51.
- Kim H, Muller WJ. The role of the epidermal growth factor receptor family in mammary tumorigenesis and metastasis. *Exp Cell Res* 1999;253:78-87.
- Youngs SJ, Ali SA, Taub DD, Rees RC. Chemokines induce migrational responses in human breast carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 1997;71:257-66.
- Hill MW, Mackenzie IC. The influence of differing connective tissue substrates on the maintenance of adult stratified squamous epithelia. *Cell Tissue Res* 1984;237:473-8.
- Mirshahi F, Pourtau J, Li H, Muraine M, Trochon V, Legrand E, et al. SDF-1 activity on microvascular endothelial cells: consequences on angiogenesis in vitro and in vivo models. *Thromb Res* 2000;99:587-94.
- Molino M, Woolkalis MJ, Prevost N, Praticó D, Barnathan ES, Tarabozzi G, et al. CXCR4 on human endothelial cells can serve as both a mediator of biological responses and as a receptor for HIV-2. *Biochim Biophys Acta* 2000;1500:227-40.
- Yang SX, Chen JH, Jiang XF, Wang QL, Chen ZQ, Zhao W, et al. Activation of chemokine receptor CXCR4 in malignant glioma cells promotes the production of vascular endothelial growth factor. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;335:523-8.
- Datta SR, Brunet A, Greenberg ME. Cellular survival: a play in three Acts. *Genes Dev* 1999;13:2905-27.
- Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 2001;411:342-8.
- Dewan MZ, Ahmed S, Iwasaki Y, Ohba K, Toi M, Yamamoto N. Stromal cell-derived factor-1 and CXCR4 receptor interaction in tumor growth and metastasis of breast cancer. *Biomed Pharmacother* 2006;60:273-6.
- Strieter RM, Burdick MD, Mestas J, Gomperts B, Keane MP, Belperio JA. Cancer CXC chemokine networks and tumour angiogenesis. *Eur J Cancer* 2006;42:768-78.