

2006년 8월

석사학위논문

후두 편평세포병변에서
*connexin 26*의 발현 의의

조선대학교 대학원

의 학 과

김 성 렬

후두 편평세포병변에서
*connexin 26*의 발현 의의

*The Significance of Connexin 26 Expression
in Squamous Cell Lesions of the Larynx*

2006 년 8 월 25 일

조선대학교 대학원

의 학 과

김 성 렬

후두 편평세포병변에서
*connexin 26*의 발현 의의

지도교수 도 남 용

이 논문을 의학 석사학위신청 논문으로 제출함

2006년 4 월 일

조선대학교 대학원

의 학 과

김 성 렬

김성렬의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 임 성 철 인

위 원 조선대학교 교수 박 종 인

위 원 조선대학교 교수 도 남 용 인

2006 년 5 월 일

조선대학교 대학원

목 차

표 목 차	i
도 목 차	ii
영문초록	iii
I. 서 론	1
II. 연구대상 및 방법	3
III. 결 과	6
IV. 고 찰	9
V. 결 론	13
참고문헌	14
표 및 사진부도	17

표 목 차

Table 1. The result of immunohistochemical staining for intracytoplasmic connexin 26 expression in the laryngeal squamous cell lesions.	17
Table 2. The alteration of intercellular or membranous staining of connexin 26 in the laryngeal squamous cell lesions.	18

도 목 차

Fig. 1. Immunostaining of connexin 26 in squamous epithelial hyperplasia of the larynx, showing positive membranous staining in cells of the parabasal and intermediate layers. LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin.	19
Fig. 2. Immunostaining of connexin 26 in severe dysplasia of the larynx, showing markedly decreased membranous staining in almost all layers of the mucosa. Focal granular expression of connexin 26 between cells of the superficial layer is noted. LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin	20
Fig. 3. Immunostaining of connexin 26 in squamous cell carcinoma in situ of the larynx, showing decreased membranous staining as compared with squamous epithelial hyperplasia with atypia in the right. LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin	21
Fig. 4. Immunostaining of connexin 26 in invasive squamous cell carcinoma of the larynx, showing strong intracytoplasmic staining of the invasive squamous cell nests. LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin.	22
Fig. 5. Immunostaining of connexin 26 in squamous cell carcinoma in situ of the larynx, showing focal cytoplasmic staining of the microinvasive components as compared with adjacent non-invasive components. LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin.	23

ABSTRACT

The Significance of Connexin 26 Expression in Squamous Cell Lesions of the Larynx

Kim Seong-Yeol

Advisor : Prof. Do Nam-Yong, M.D., Ph.D.

Department of Medicine,

Graduate School of Chosun University

Background and Objectives : Gap junctional intercellular communication (GJIC) is a mechanism for direct cell to cell signalling and is mediated by gap junctions, which consist of transmembrane proteins called connexins (Cxs). The authors investigate the role of connexin 26 as a biomarker that helps diagnose laryngeal squamous cell lesions. **Materials and Method** : Paraffin-embedded tissue specimens from 50 patients, who were diagnosed as laryngeal invasive squamous cell carcinoma (n=15), carcinoma *in situ* (n=10), dysplasia (n=15), and non-neoplastic epithelial hyperplasia (n=10) between 1993 and 2005, were immunohistochemically stained for connexin 26 protein. **Results** : Intracytoplasmic positive expression of connexin 26 was 100% in invasive squamous cell carcinoma and 20% in carcinoma *in situ*. However, in dysplasia and hyperplasia, positive expression was none. Moreover, majority of intercellular or membranous staining tended to decline in dysplasia, carcinoma *in situ*, and squamous cell carcinoma. **Conclusion** : These results suggest that aberrant expression of connexin 26 in laryngeal squamous cell lesions can be associated with tumorigenesis and invasion. Further studies need to investigate these expression of connexin 26 may represent more aggressive pathology of the larynx.

KEY WORDS : *Connexin 26 · Larynx · Squamous cell lesions*

I. 서 론

간극결합(gap-junction)은 세포간의 연결 통로를 형성하여 이를 통해서 이온이나 작은 물질들의 세포간 이동이 이루어지게 하는 것이며, 이는 세포간 전달체계에 중요한 역할을 담당한다.¹⁾ 간극결합은 2개의 원통형태의 connexon이 세포바깥쪽에서 연결되어 세포간 통로가 형성되며, 각 connexon은 6개의 connexin이라는 소단위의 단백질로 이루어져 있다.¹⁾ 여러 가지 connexin 중 인체에서 발견되는 대표적인 종류로 connexin 26, 43, 32, 27 등 20여 가지가 알려져 있다.¹⁾

간극결합 세포간 전달체계(gap junctional intercellular communication)는 세포증식(proliferation), 성장 조절, 그리고 세포 분화에 관여할 뿐만 아니라 증식과 고사(apoptosis)의 과정을 조절함으로써 조직 항상성 유지에도 중요한 역할을 하고 있다. 하지만 조직 항상성 유지가 되지 않는 경우는 조직 기능에 문제가 생겨 악성 종양 등 여러 질환들을 일으키게 된다. 즉, 대부분의 종양 세포는 비정상적인 간극결합 세포간 전달체계를 보여주고 이는 종양억제 유전자에 의해 생긴 connexin 단백질의 발현감소 또는 비정상적 국지화(localization)와 밀접히 관련된다고 한다.¹⁾

일반적으로 간극결합 기능이 감소되거나 상실되면 간암, 위암, 피부암, 전립선암을 일으킨다고 하며, connexin 또는 간극결합이 결핍된 세포체계에서 connexin 단백을 외부에서 인위적으로 발현시키면 종양 성장이 억제된다고 알려져 있다.²⁾

그러나, 유방암이나 난소암 등 일부 진행된 종양에서는 오히려 connexin 발현이 유도된 결과를 보이기도 하므로 connexin이나 간극결합 세포간 전달체계는 종양의 종류와 종양발달·진행의 병기에 따라 그 기능을 달리한다는 주

장이 있다.²⁾

종양의 진행과정 평가에 이용될 수 있는 새로운 표지자에 대한 지속적인 연구 결과의 하나로 connexin 단백질의 중요성이 제기되고 있으나, connexin 26에 대한 연구는 미비한 실정이다. 이에 본 연구에서는 암의 진행과 전이에 관련이 있다고 보고되고 있는 connexin 26을 사용하여 후두의 침습성 편평세포암종, 상피내암, 이형성증, 편평세포 증식증으로 진단된 환자의 조직을 면역조직화학적 방법으로 염색하여 이들의 발현정도 및 양상을 관찰하여 connexin 26이 종양의 형성 및 침습에 관여하여, 진단에 도움을 줄 수 있는 생물학적 표지자로서의 의의가 있는지 살펴보고자 하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구재료

가. 대상환자

1993년부터 2005년까지 13년 동안 조선대학교 병원 이비인후과에서 조직검사로 확진된 후두의 침습성 편평상피세포암종(squamous cell carcinoma) 15례, 상피내 암종(carcinoma *in situ*) 10례, 이형성증(epithelial dysplasia) 15례, 편평세포 증식증(epithelial hyperplasia) 10례를 대상으로 하여 조직보관상태가 양호한 것을 무작위 추출하였다. 그리고 정상대조군으로 특별한 조직학적 이상소견을 찾을 수 없는 정상 후두조직 5례를 대상으로 하였다.

나. 시약

면역 조직화학적 검사에 사용된 1차항체는 connexin 26 goat polyclonal antibody (N-19, sc-7261; Santa Cruz Biotechnology, CA, USA)를 이용하였고, 2차항체 및 발색제는 ImmunoCruz™ Staining System (sc-2053; Santa Cruz Biotechnology, CA, USA)를 이용하였으며, Mayer's hematoxylin으로 대조염색을 시행하였고, Clear Mount (Zymed, CA, USA)로 봉입하였다.

2. 연구방법

병리와 조직 슬라이드 화일을 대상으로 후두의 병변을 재검토하여 종양의 침습여부 등을 재확인하고, 연구목적에 부합되는 대표적인 부위를 선택하였다. 관찰 대상이 된 조직들은 10% 중성 포르말린에 충분히 고정하여 파라핀 포매 하였으며 이를 4 μ m 두께의 절편으로 제작하여 hematoxylin-eosin 이중

염색을 실시하였고, connexin 26에 대한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

가. 면역조직화학적 검사

10% 완충 중성 포르말린에 고정 후 제작한 파라핀 포매 조직을 4 μ m 두께로 박절하여 X-tra™슬라이드(Surgipath, Richmond, USA)에 부착하여 xylene으로 탈파라핀한 뒤 무수 알코올, 90%, 75% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 처리하여 흡수시킨 후 LSAB 방법에 의해 염색을 시행하였다. 항원성 회복을 위하여 citrate 완충액(10mM, pH 6.0)에 슬라이드를 담가 전자오븐에 15분간 끓인 후 실온에 방치시켜 20분간 식힌 후 50mM Tris 완충용액(TBS, pH 7.5)으로 수세하였다. 조직절편내의 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위하여 0.3% hydrogen peroxide-methanol에 10분간 처리 후 증류수로 세척하고 차단항체를 실온에서 10분간 반응시킨 뒤 일차항체 connexin 26 (dilution- 1:200)을 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 2시간 반응시켰다. Tris 완충액으로 세척하고 ImmunoCruz™ Staining System을 이용하여 비오틴이 함유된 이차 항체를 실온에서 10분간 반응시킨 후 Tris 완충액으로 수세하고, peroxidase가 결합된 streptavidin용액을 10분간 반응시켰다. Tris완충액으로 세척 후 DAB (diaminobenzoic acid)로 발색하였다. Mayer's hematoxylin으로 대조염색을 시행하고, Clear Mount로 봉입하였다.

양성 대조군으로는 정상 후두점막 조직을 이용하였으며, 음성 대조군으로는 일차항체 대신 Tris 완충액을 썼다.

나. 면역조직화학적 염색의 판정

세포-세포간 접합부에 관찰되는 적갈색 과립상 염색, 세포막을 따라 관찰되는 적갈색 염색, 세포질내에서 관찰되는 적갈색 염색이 관찰되어 각각을 구분하였으며, 세포-세포간 접합부 및 세포막 염색의 경우 양성대조군과 비교하여 그 강도 및 양상의 변화를 구분하였다. 세포-세포간 접합부 및 세포막

염색의 경우는 양성대조군의 염색 강도에 비하여 전체적으로 감소하는 경우를 감소(decrement)라 하였고, 전체적으로 증가하는 경우를 증가(increment)로 구분하였으며, 증가·감소 소견이 부위에 따라 관찰되고 정도가 비슷한 경우는 증가/감소(decrement/increment)로 구분하였다.

다. 통계학적 분석

후두 편평세포병변에 따른 connexin 26 발현 정도 및 양상 변화의 통계학적 의미를 Fisher's exact test를 이용하여 검정하였고, $p < 0.05$ 인 경우를 유의한 것으로 간주하였다.

III. 결 과

1. 정상대조군의 *connexin 26* 발현

방기저층(parabasal layer) 및 중간층(intermediate layer)에서 양성염색이 관찰되었는데, 일부세포는 세포-세포간 접합부의 과립상 양성염색 형태로 관찰되었고, 일부세포는 세포막을 따라 염색되는 양상이 관찰되었다. 일부에서는 불연속적으로 상층(superficial layer)의 세포에서도 세포막 또는 세포-세포간 접합부 형태의 양성 염색이 관찰되었으나, 기저층(basal layer)에서는 관찰되지 않았다.

2. 후두 편평세포병변에서의 *connexin 26* 발현

전체적인 후두 편평세포병변에 따른 *connexin 26* 발현을 정상대조군의 발현 양상을 기준으로 비교하여 보면 침습성 편평세포암종의 경우 15례(100%) 모두에서 세포질내 염색 소견이 관찰되었고, 상피내 암종의 경우 2례(20%)에서 세포질내 염색 소견이 관찰되었다. 그러나, 편평세포 증식증 및 이형성증에서 세포질내 염색 소견이 관찰되는 레는 한 건도 관찰되지 않았다 (Table 1).

한편, 세포간 접합부 및 세포막 염색은 이형성증, 상피내 암종, 침습성 편평세포암종군의 경우 감소되거나 소실되는 경향을 보였다 (Table 2).

가. 편평세포 증식증의 *connexin 26* 발현

정상대조군과 큰 차이없이 방기저층 및 중간층에서 양성염색이 관찰되었다 (Fig. 1).

나. 이형성증의 *connexin 26* 발현

정상대조군의 염색 양상에 비하여 이상 소견을 보였으나 다양하였다. 즉, 정

정상대조군에서 방기저층 및 중간층에서 관찰되던 양성 염색소건이 8례에서 감소하였는데, 주로 세포막을 따라 염색되는 양상에 변화가 초래되었으나 세포간 접합부에서 과립상으로 관찰되던 염색소건에도 변화가 있었다.

한편 4례에서는 정상대조군에서 관찰되던 양성 염색소건이 증가하였는데 모두 세포막을 따라 염색이 증가되는 소건을 보였으며, 그중 2례는 상층의 세포에서 세포간 접합부의 과립상 염색이 증가된 소건을 보였다. 그리고, 3례에서는 이상에서 언급된 염색 정도 및 양상의 변화가 부위에 따라 공존하는 소건을 보였다.

본 연구에 사용된 이형성증은 경도 이형성(mild dysplasia), 중증도 이형성(moderate dysplasia), 중증 이형성(severe dysplasia) 대상환자를 각각 5례씩 총 15례를 비교 검토하였는데, 이형성증의 정도간 connexin 26 발현정도 및 양상의 변화가 유의하지 않아 이를 따로 구분하지 않았다 (Fig. 2).

다. 상피내 암종의 *connexin 26* 발현

2례(20%)에서 세포질내 염색이 관찰되었으나, 그 강도는 침습성 편평세포암종의 평균에 비하여 약하였다. 염색이 정상대조군에 비하여 감소된 부위가 모든 례에서 관찰되었으나, 병변 전체에 걸쳐 connexin 26 염색이 감소된 경우는 4례(40%)이고, 나머지는 부분적인 염색 감소 소견과 함께 국소적으로는 정상대조군과 유사한 정도의 염색소건을 보이거나 오히려 염색이 세포막을 따라 증가된 양상을 보이기도 하였다. 특히 상피증식이 심하고, 유두상 성장(papillomatous growth)을 보이는 경우는 상층에서도 세포간 접합부의 과립상 염색이 증가된 소견을 보였다 (Fig. 3).

라. 침습성 편평세포암종의 *connexin 26* 발현

모든 대상(100%)에서 세포질내 염색이 관찰되었으나 암조직 전체에서 미만성으로 세포질에 양성반응을 보이지는 않았다. 즉, 종양의 일부에서만 세포질

내 염색을 보이는 경우는 6례(40%)이었는데, 그 이외의 부위는 정상대조군에 비하여 세포간 접합부 또는 세포막 염색의 소견이 미미하거나 관찰되지 않았다. 그러나, 나머지 9례(60%)는 미만성으로 세포질내 염색소견을 보였다 (Fig. 4).

한편, 세포질내 염색 소견을 살펴보면 미약한 양성 반응은 물론 강한 양성 반응을 확인할 수 있었는데 이를 별도로 구분하지는 않았다. 특이한 점은 상피내암부위에서 침윤성 성장을 하는 부위를 관찰하면 음성염색을 보이던 상피내암부위가 침윤성 성장을 하는 부위에서는 connexin 26이 세포질내에서 양성발현을 보이는 점이다 (Fig. 5).

IV. 고찰

후두는 많은 종양촉진제(tumor promotor)의 영향을 받는 표적기관이고, 후두암은 두경부 영역에서 가장 발생빈도가 높으며, 전체 악성 종양의 약 2-5%를 차지하는 것으로 알려져 있다. 그러나 후두 조직에서 악성병변으로의 진행에 대한 많은 연구들이 진행이 되고 있으나, connexin 단백질과 간극결합, 간극결합 세포간 전달체계에 대한 연구는 부족한 실정이다.

Connexin 단백질은 세포내 소포체나 골지체에서 합성되어 간극결합으로 해독 후 과정(posttranslation processing), 성숙(maturation) 과정을 거치게 되고, 6개의 connexin 단백질이 connexon을 이루고, 2개의 원통형태의 connexon은 간극결합을 형성한다.^{1,3,4)}

Connexin의 발현은 조직이나 세포에 특이성을 보이나, 한 가지 종류의 세포는 두 가지 이상의 connexin 발현을 가질 수 있다.^{5,6)} 예를 들어 connexin 26은 간, 주산기(perinatal) 뇌, 신장, 장(intestine), 폐, 비장, 위, 내이 와우각, 정소(testis)에서 발견되고, connexin 30은 뇌, 피부, 내이 와우각에서 발견되며, connexin 43은 심장, 뇌, 자궁, 신장, 피부, 각막 등에서 발견된다. 반대로 피부의 상피에서 connexin의 아형(isoform)은 connexin 26, 30, 30.3, 31, 31.1, 37, 43으로 적어도 7가지가 발현된다고 한다. 따라서 이러한 connexin의 분포는 암, 심장 질환, 말초성 신경병증, 백내장 질환과 관련되어진다고 한다.^{5,7)}

간극결합은 최근 몇 년간 종양에 대한 연구에서 특징적인 구조적 또는 기능적인 면을 보여주고 있다. 이것은 connexin에 의해 구성된 후 세포간 전달체계를 형성하여 칼슘이나, 이노시톨 인산(inositol phosphate), 고리 염기(cyclic nucleotide) 등과 같은 1.2kD 크기이하의 세포질 분자들의 세포간 전달에 중요한 역할을 하고 있다.

전통적인 간극결합은 동형(homometric)의 connexon으로 구성되어져 있고, 이 connexon은 단일한 connexin으로 구성되어져 있으며, 일반적으로

connexin 발현의 감소나 간극결합 기능 감소가 발암화와 연관되거나, connexin의 과도한 발현이 종양 억제를 시키는 것은 이 동형의 connexon으로 구성되어진 동형 간극결합을 의미한다.^{4,8-15)} 또한 전통적으로, 잘못된 간극결합 세포간 전달체계를 가진 종양 세포에 connexin 유전자를 주입(transfection)시키면, 종양 세포는 정상 세포 성장을 한다고 알려져 있다.⁵⁾ 게다가, 일부 저자는 간극결합 세포간 전달체계의 상실이 세포의 전이 잠재성과 깊은 연관 관계가 있다고 추정한다.¹⁶⁻¹⁸⁾ Sheen 등은 간암이 connexin 26의 저발현에 기인한다고 주장하였으며,¹⁹⁾ Jason 등은 방광암에서 connexin 26의 저발현 및 세포질내 국지화가 나타난다고 보고하였다.²⁰⁾

한편, 서로 다른 connexin의 아형으로 이루어진 connexon으로 구성된 이형(heterotypic) 간극결합은 connexin 아형의 발현정도에 따라, 숙주의 기질세포와 암세포 사이에서 비정상적인 세포전달체계를 형성하여 숙주 기질세포의 표현형 전환(phenotype transformation)을 일으킴으로써 암세포의 침습을 수용하게 된다고 한다. 따라서, 이형 간극결합에서의 connexin의 발현은 오히려 기질 침습이나, 심지어는 전이를 촉진하게 된다.^{2,21)} 본 연구의 경우, 이형성증 및 상피내 암종군에서 connexin 26의 발현 양상이나 발현 강도가 다양하게 나타나는 현상은 아마도 동형 간극결합과 이형 간극결합이 connexin 26에 의하여 동일 병변내 같이 형성될 수 있음을 시사한다고 할 수 있겠다.

그런데, 이러한 기능적인 간극결합 통로와는 상관없이, 독립적으로 connexin은 성장DNA 분자를 부호화(encode)하여, 발현을 활성화시키는 성장 조절 유전자(growth control gene)를 관리하여, 세포성장이나 세포분화에 관여하고, 성장·억제 경로를 조절한다고 한다.^{22,23)} 이 새로운 시각의 connexin은 세포끼리의 전달에 영향을 주거나 ATP 방출을 촉진시키고, 인산화 반응과 같은 해독 후 변형(posttranslation modification)을 지지할 수 있을 뿐만 아니라, 이런 기능들이 간극결합 통로와 별개로 새로운 신호 전달체계를 사용하여 기능한다고 한다. Olbina 등은 connexin 43의 세포외 돌연변이가 세포막 발현을 저해할지라도, connexin 43의 종양 세포 성장 기능을 감소시키

지 않는다는 것에 대해 connexin 43의 세포 성장 조절은 간극결합 세포간 전달체계를 필요로 하지 않는다고 결론지었다.²⁴⁾ Jamieson 등은 유방암에서,²⁵⁾ Luiza 등은 대장암에서,¹⁾ Amanda 등은 전립선암에서²⁶⁾ connexin 26의 발현 증가(upregulation)가 나타났다고 보고하였고 이러한 발현증가가 connexin의 독립적인 신호전달체계와 관련이 있을 것이라 주장하였다.

따라서, 발암과정에서는 변화된 간극결합 세포간 전달체계나, 종양 세포에서의 connexin의 비정상적 발현 및 세포내 국지화, 또는 독립적인 connexin의 성장·억제의 조절이 관여되어 있으리라 추정할 수 있겠다.

본 연구에서는 통계학적 분석상 침습성 편평세포암종의 경우 전례에서 세포질내 염색 소견이 관찰되었고, 상피내 암종의 경우 20%에서 세포질내 염색 소견이 관찰되었으나, 이형성증과 편평세포 증식증은 모두 세포질내 염색 소견을 보이지 않아, 통계학적으로 유의한 차이를 보였다. 마찬가지로 침습성 편평세포암종과 상피내 암종의 경우는 세포간 접합부 또는 세포막 염색의 경우 이형성증이나 편평세포증식증과는 달리 주로 감소 소견을 보여 통계학적으로 유의하였다. 이러한 결과로서 connexin 26의 저발현 및 세포질내 국지화는 간극결합 세포간 전달체계에 이상을 초래하여 종양을 형성하는 것으로 추정할 수 있고, 또한 세포내 connexin의 독립적인 신호 전달체계도 관여할 수 있음을 가정할 수 있겠다.

한편, 이형성증은 세포간 접합부 또는 세포막에서 다양한 염색 소견을 보였는데, 이는 connexin 26이 종양의 형성 초기에 관여할 수 있음을 보여주지만, 이형성증 시기에 간극결합 세포간 전달체계에 어떤 변화가 있는지, 전암성 병변으로 정상 후두 상피와 어떤 의의 있는 차이가 있는지는 앞으로 연구할 과제이다.

또한 침습성 편평세포암종의 경우 세포질내 염색 소견을 살펴보면 미약한 양성 반응은 물론 강한 양성 반응을 확인할 수 있었으므로, 추후 추가적인 연구를 통하여 환자의 임상병기 특히 림프절 전이여부, 재발여부, 생존율, 생존기간 등 임상적 추적조사자료를 토대로 세포질내 양성 반응의 정도 변화가

갖는 의의를 검토하는 것은 의미가 있을 것으로 추정되고 이것이 세포질내 connexin의 새로운 신호 전달체계와 관련이 있을 것인지, 예를 들어 새로운 신호체계로 인해 생긴 물질이 발암과정에서 발현증가(upregulation)나 발현감소(downregulation)를 결정하는지, 간극결합에서 connexin아형의 조합을 유도하는지 등은 좋은 분자생물학적 과제가 될 수 있겠다.

V. 결 론

후두 편평세포병변 중 침습성 편평상피세포암종 15례, 상피내 암종 10례, 이형성증 15례, 편평세포 증식증 10례를 대상으로 connexin 26단백의 면역조직화학적 염색을 시행하여 종양의 형성 및 침습에 관여하여 편평세포암종의 진단에 도움이 될 수 있는 표지자로서의 가능성을 알아보고자 연구를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Connexin 26은 종양의 형성 및 침습에 중요한 역할을 담당하는 것으로 사료되며, 후두종양이 의심되어 생검된 조직이 분화정도가 좋거나, 대표적인 종양 부위의 선택이 이루어지지 않아 정확한 진단이 곤란한 경우 connexin 26에 대한 면역조직화학적 염색을 실시하여 connexin 26이 세포간 접합부 및 세포막 염색에서 감소되는 경향을 보이면 이형성증, 상피내 암종, 편평상피세포암종을 의심할 수 있고, 세포질내 양성발현을 강하게 보일 경우, 편평상피암종을 의심할 수 있으며, 내시경 생검상 침습부위를 확인하지 못하더라도 침습가능성을 배제하기 위한 노력이 필요하리라 사료된다.

중심 단어 : Connexin 26 · 후두 · 편평세포병변

참고문헌

- 1) Luiza KK, Stanislaw S, Mariusz K, Mariola S. *Alterations in connexin 26 expression during colorectal carcinogenesis. Oncology 2005;68:217-22.*
- 2) Akihiko I, Yu-ichiro K, Kazuya U., Tomoyo O, Chiho O, Noriaki Y, et al. *Increased expression of connexin 26 in the invasive component of lung squamous cell carcinoma significant correlation with poor prognosis. Cancer Lett 2006 Mar 28;234(2):239-48.*
- 3) Falk MM. *Biosynthesis and structural composition of gap junction intercellular membrane channels. Eur J Cell Biol 2000;79:564-74.*
- 4) Evans WH, Martin PE. *Gap junction structure and function(review). Mol MembrBiol 2002;19:121-36.*
- 5) Berit S, Magnus T, Thomas S, Branko P, Jurgen L. *Expression of gap junction proteins (connexin 26,30,32,43) in normal mucosa, hyperkeratosis and carcinoma of the human larynx. ORL 2002;64:324-9.*
- 6) Bruzzone R, White TW, Goodncough DA. *The cellular internet on-line with connexins bioessays. 1996;18:709-18.*
- 7) Donaldson P, Eckert R, Green C, kistler J. *Gap junction channels: new roles in disease. Histol Histopathol 1997;12:219-31.*
- 8) Wilgenbus KK, Kirkpatric CJ, Knuechel R, Willecke K, Traub O. *Expression of Cx 26, Cx 32 and Cx 43 gap junction proteins in normal and neoplastic human tissues. Int J Cancer 1992;51:522-9.*
- 9) Lair DW, Fistouris P, Batist G, Alpert L, Huyng HT, Carystinos GD, et al. *Deficiency of connexin 43 gap junction is an independent marker for breast tumors. Cancer Res 1999;59:4104-10*
- 10) Umhauer S, RJ, Fanning J. *Gap junctional intercellular communication*

- and connexin43 expression in ovarian carcinoma. Am J Obstet Gynecol 2000;182:999-1000.*
- 11) Gee J, Tanaka M, Grossman HB. *Connexin 26 is abnormally expressed in bladder cancer. J Urol 2003;169:1135-7.*
 - 12) Nagahara A, Watanabe S, Miwa H, Endo K, Hirose M, Sato N. *Reduction of gap junction protein 32 in rat atrophic gastric mucosa as an early event in carcinogenesis. J Gastroenterol 1996;31:491-7.*
 - 13) Mesnil M, Krutovskikh V, Omori Y, Yamasaki H. *Role of blocked gap junctional intercellular communication in non-genotoxic carcinogenesis. Toxicol Lett 1995;82/83:701-6.*
 - 14) Yamasaki H. *Gap junctional intercellular communication and carcinogenesis. Carcinogenesis 1990;11:1051-8.*
 - 15) Yamasaki H, Krutovskikh V, Mesnil M, Tanaka T, Zaidan-Dagli ML, et al. *Role of connexin(gap junction) genes in cell growth control and carcinogenesis. CR Acad Sci III 1999;322:151-9.*
 - 16) Hotz-Wagenblatt A, Shalloway D. *Gap junctional communication and neoplastic transformation. Crit Rev Oncog 1993;4:541-58.*
 - 17) Kanno Y. *Modulation of cell communication and carcinogenesis (minireview). Jpn J Physiol 1985;35:693-707.*
 - 18) Nicolson G. *Tumor cell instability, diversification, and progression to the metastatic phenotype. Cancer Res 1987;47:1473-1487.*
 - 19) Sheen IS, Jeng KS, Wang PC, Shih SC, Chang WH, Wang HY, et al. *Are gap junction gene connexins 26, 32 and 43 of prognostic values in hepatocellular carcinoma?(A prospective study) World J Gastroenterol 2004;10(19):2785-90.*
 - 20) Gee J, Tanaka M, Grossman HB. *Connexin 26 is abnormally expressed in bladder cancer. J Urol. 2003 Mar;169(3):1135-7.*

- 21) Ito A, Katoh F, Kataoka TR, Okada M, Tsubota N, Asada H, et al. *A role for heterologous gap junction between melanoma cells and endothelials in metastasis. J. Clin. Invest.*2000;105:1189-97.
- 22) Naus CCG. *Gap junctions and tumour progression. Can J Physiol* 2022;80:136-41.
- 23) Huang BP, Fan Y, Hossain MZ, Peng A, Zeng ZL, Boynton AL. *Reversion of the neoplastic phenotype of human glioblastoma cells by connexin43(Cx43). Cancer Res* 1998;58:5089-96.
- 24) Olbina G, Eckhart W. *Mutation in the second extracellular region of connexin 43 prevent localization to the plasma membrane, but do not affect its ability to suppress cell growth. Mol Cancer Res* 2003;1:690-700.
- 25) Jamieson S, Going JJ, D Arcy R, George WD. *Expression of gap junction proteions connexin 26 and connexin 43 in normal human bresat and in breast tumours. J Pathol* 1998;184:37-43.
- 26) Amanda WT, Lung T, Radhakrishnan Anu, Lim SD, Lin Xi, Edlund M. *Changes in gap junctional connexin isoforms during prostate cancer progression the Prostate* 2005;9999:1-13.

Table 1. The result of immunohistochemical staining for intracytoplasmic connexin 26 expression in the laryngeal squamous cell lesions.

	No(%)		P value
	Negative	Positive	
SCC (n=15)	0	15 (100)	p <0.01
CIS (n=10)	8 (80)	2 (20)	
Dysplasia (n=15)	15 (100)	0	
Hyperplasia (n=10)	10 (100)	0	
Control (n=5)	5 (100)	0	

SCC: invasive squamous cell carcinoma

CIS: carcinoma *in situ*

tested by Fisher's exact test

Table 2. The alteration of intercellular or membranous staining of connexin 26 in the laryngeal squamous cell lesions.

	Decrement	Decrement/Increment	Increment	No(%)
SCC (n=15)	15 (100)	0	0	p <0.01
CIS (n=10)	10 (100)	0	0	
Dysplasia (n=15)	8 (53)	3 (20)	4 (27)	
Hyperplasia (n=10)	0	0	0	
Control (n=5)	0	0	0	

SCC: invasive squamous cell carcinoma

CIS: carcinoma *in situ*

tested by Fisher's exact test

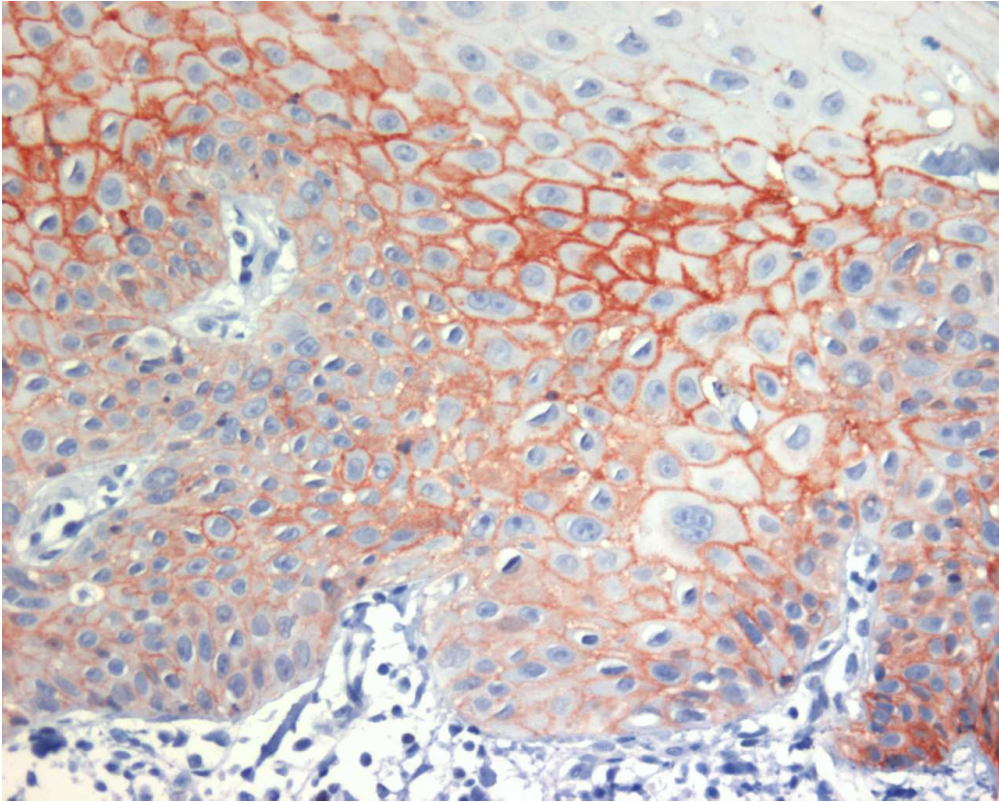


Fig. 1. Immunostaining of connexin 26 in squamous epithelial hyperplasia of the larynx, showing positive membranous staining in cells of the parabasal and intermediate layers. (LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin)

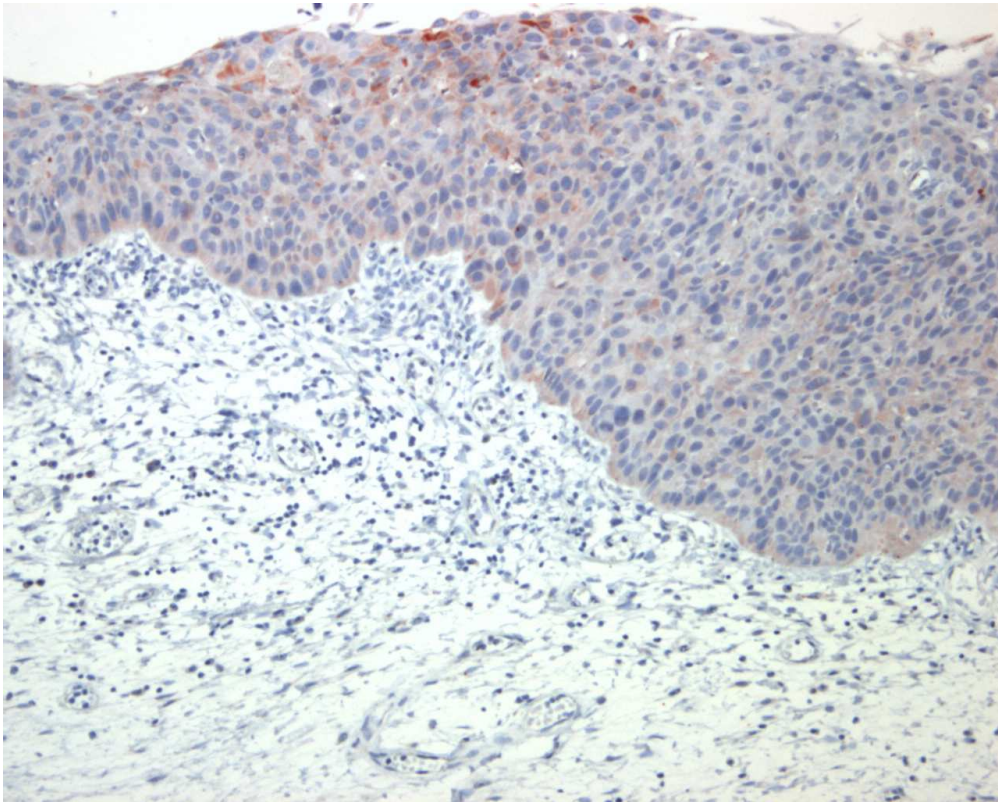


Fig. 2. Immunostaining of connexin 26 in severe dysplasia of the larynx, showing markedly decreased membranous staining in almost all layers of the mucosa. Focal granular expression of connexin 26 between cells of the superficial layer is noted. (LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin)

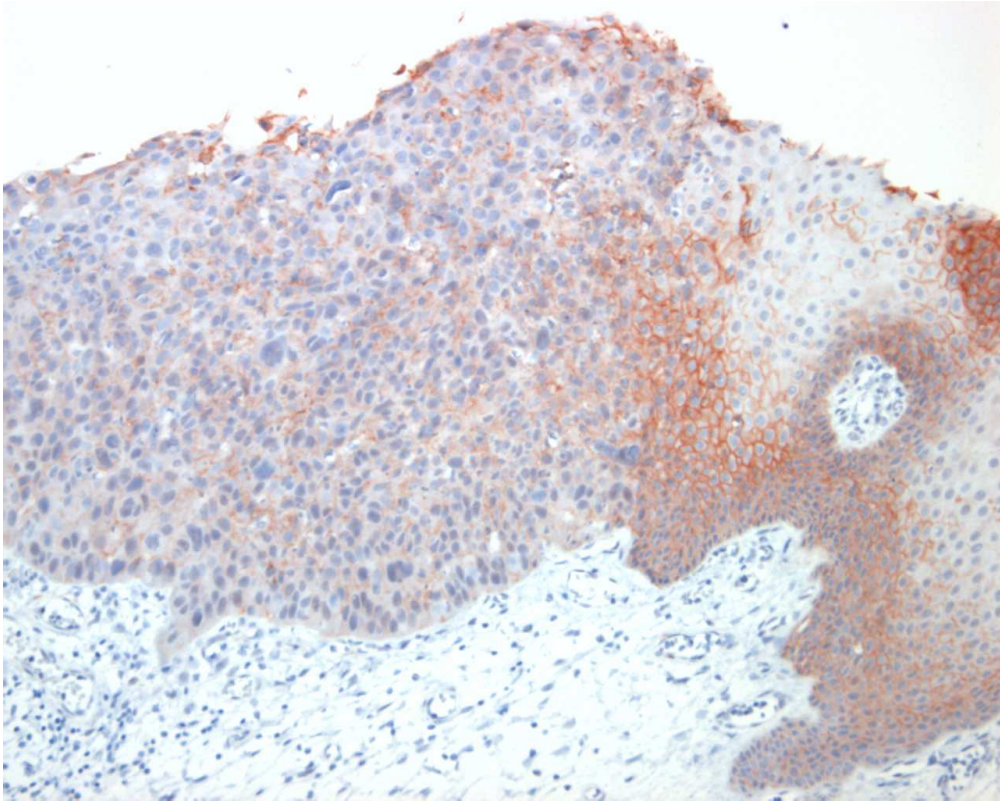


Fig. 3. Immunostaining of connexin 26 in squamous cell carcinoma in situ of the larynx, showing decreased membranous staining as compared with squamous epithelial hyperplasia with atypia in the right. (LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin)

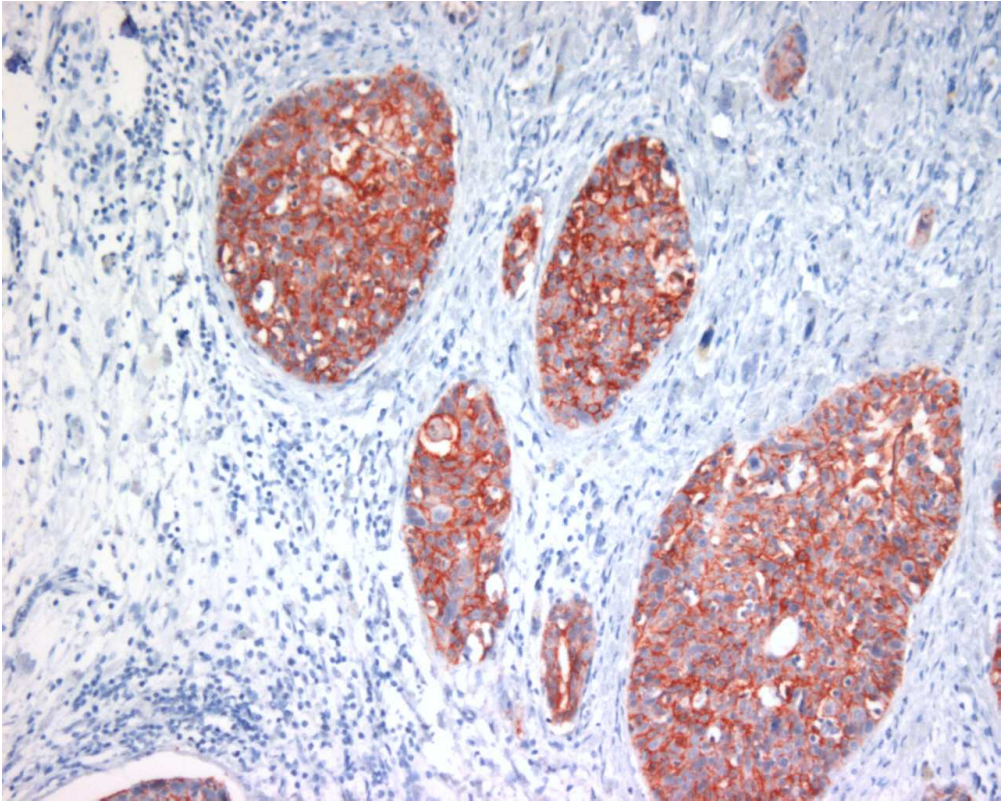


Fig. 4. Immunostaining of connexin 26 in invasive squamous cell carcinoma of the larynx, showing strong intracytoplasmic staining of the invasive squamous cell nests. (LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin)

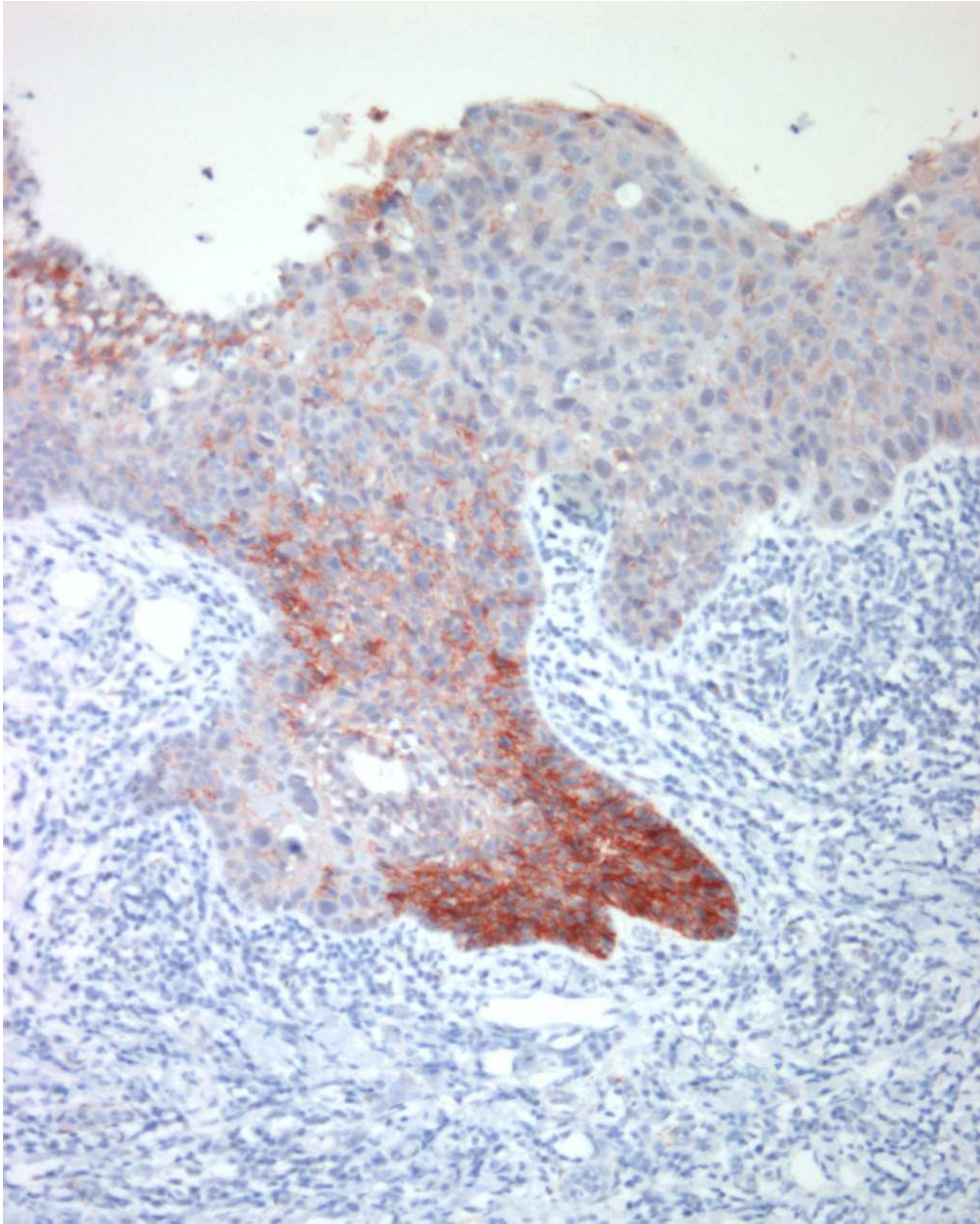


Fig. 5. Immunostaining of connexin 26 in squamous cell carcinoma in situ of the larynx, showing focal cytoplasmic staining of the microinvasive components as compared with adjacent non-invasive components. (LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin)