[UCI]I804:24011-200000233992

2007년 2월
박사학위논문

대장의 샘암종에서 *paxillin*과 *galectin-3* 발현

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

김 선 표

대장의 샘암종에서 *paxillin*과 *galectin-3* 발현

Expression of Paxillin and Galectin-3 in Colorectal Adenocarcinoma

2007년 2월 25일

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

김 선 표

대장의 샘암종에서 *paxillin*과 *galectin-3* 발현

지도교수 이 미 자

이 논문을 의학박사학위신청 논문으로 제출함.

2006년 10월

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

김 선 표

김선표의 박사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 홍 순 표 印

위 원 조선대학교 교수 전 호 종 印

위 원 조선대학교 교수 조 남 수 印

위 원 조선대학교 교수 민 영 돈 印

위 원 조선대학교 교수 이 미 자 印

2006년 12월

조 선 대 학 교 대 학 원

목 차

표목차 ····· ii

도목차 ····· iii

초 록 ····· 1

I. 서론 ····· 3

II. 연구재료 및 방법 ····· 5

III. 결과 ····· 8

IV. 고찰 ····· 12

V. 결론 ····· 16

참고문헌 ····· 17

표 ····· 22

그림 ····· 27

표 목 차

Table 1. Correlation between paxillin positivity and clinicopathologic factors in colorectal adenocarcinoma

Table 2. Correlation between galectin-3 positivity and clinicopathologic factors in colorectal adenocarcinoma

Table 3. Correlation between paxillin and galectin-3 expression in colorectal adenocarcinoma

Table 4. Univariate analysis of overall survival rate and time according to clinicopathologic factors in colorectal adenocarcinoma

Table 5. Cox multivariate analysis of overall survival in colorectal adenocarcinoma

도 목 차

Fig. 1. Immunohistochemical stains for paxillin in colorectal adenocarcinoma. Immunoreactivity of paxillin shows diffuse cytoplasmic positivity in the epithelium of non-neoplastic gland of colon (A). The paxillin is expressed in the diffuse cytoplasmic reactivity in moderately differentiated (B), poorly differentiated (C) and mucinous (D) adenocarcinoma of colorectum. Some cells shows nuclear staining that accompanied the cytoplasmic staining.

Fig. 2. Immunohistochemical stains for galectin-3 in colorectal adenocarcinoma. Immunoreactivity of galectin-3 shows diffuse cytoplasmic and nuclear positivity in the epithelium of non-neoplastic gland (arrow) adjacent to adenocarcinoma (A). The galectin-3 is expressed in the diffuse cytoplasmic and nuclear reactivity in moderately differentiated (B) and mucinous (C) adenocarcinoma. The contiguous normal mucosa (arrow) shows positivity, but negativity in adenocarcinoma (D).

Fig. 3. Univariate analysis of 125 patients of colorectal adenocarcinoma shows a significant difference in the overall survival according to the node metastasis (p=0.005).

Fig. 4. Univariate analysis of 125 patients of colorectal adenocarcinoma shows a significant difference in the overall survival according to the distant metastasis (p=0.000).

Fig. 5. Univariate analysis of 125 patients of colorectal adenocarcinoma shows a significant difference in the overall survival according to the stage (p=0.000).

Fig. 6. Univariate analysis of 125 patients of colorectal adenocarcinoma shows a significant difference in the overall survival according to the galectin-3 expression (p=0.04).

ABSTRACT

Expression of Paxillin and Galectin-3 in Colorectal Adenocarcinoma

Kim, Sun-Pyo
Advisor : Prof. Lee, Mi-Ja, Ph.D.
Department of Medicine,
Graduate School of Chosun University

Background: The focal adhesion complex including paxillin is an important link between the actin cytoskeleton and the plasma membrane and proteins that assemble at sites of attachment of the cell to the extracellular matrix. Galectin-3 is a β-galactoside binding protein and expressed at elevated levels in a variety of neoplastic cells. The aim of this study was to investigate, by clinicopathologic and survival analysis, the correlation between the tumor progression and prognosis and the expression of paxillin and galectin-3 in colorectal cancer. ***Methods:*** Expression of paxillin and galectin-3 was evaluated using immunohistochemistry in 125 patients with colorectal adenocarcinoma. The results were compared with both clinicopathological factors (sex, location, histologic grade, tumor size, tumor depth, lymph node metastasis, distant metastasis and stage) and the overall survival. ***Results:*** The paxillin expression was positive in 67 cases (53.6%) and significantly correlated with a smaller tumor size (p=0.001), shallower tumor depth (p=0.007) and lower stage (p=0.03). The galectin-3 expression was positive in 82 cases (65.6%) and significantly correlated with deeper invasion to wall (p=0.000),

lymph node metastasis (p=0.000), higher stage (p=0.000). In a univariate survival analysis, lymph node metastasis (p=0.001), distant metastasis (p=0.000), stage (p=0.000) and galectin-3 expression (p=0.04) were independent predictors of patient outcome. ***Conclusion:*** These findings suggest that the decreased paxillin expression and increased galectin-3 expression may play a role in the tumor invasion and progression. P axillin expression may be associated with good prognostic marker. Galectin-3 expression may be associated with poor prognosis and is an useful factor for predicting prognosis of patients with colorectal adenocarcinoma.

Key Words: Colorectal cancer, Paxillin, Galectin-3, Immunohistochemistry, Prognosis

I. 서 론

주위 조직으로의 침윤과 전이는 암세포의 주된 특징이다. 이러한 과정에 세포 운동을 조절하는 기전이 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 세포가 세포외 기질에 유착할 때 세포들은 세포표면에 있는 integrin 수용체를 통해서 상호작용을 한다.[1] 세포가 세포외 기질과 유착하는 자리에 integrin과 연결되어 모여 있는 단백들을 국소유착 복합체(focal adhesion complex)라 칭하며 이들은 actin 세포골격과 세포막사이의 중요한 연결부분을 구성하고 있다. 이러한 국소유착 복합체 중 대표적인 단백이 국소유착 카이네이스(focal adhesion kinase, FAK)와 paxillin이다.[1] 국소 유착 복합체는 세포유착과 운동성에 관여하기 때문에 세포의 악성화와 연관이 있을 것으로 생각되는데 최근 FAK의 높은 발현이 유방암과 대장암에서 관찰되었다는 보고가 있다.[2,3] Paxillin 또한 세포 운동에 관여한다고 알려졌지만 paxillin의 정확한 기능은 완전히 밝혀지지 않았다. 오히려 paxillin 발현 감소와 종양의 침윤성 행동 사이에 상호관련이 있으며[4,5] 폐암세포주에서 paxillin이 과발현되었을 때 세포운동이 감소되었다.[5] 그러나 대장암에서의 paxillin 발현과 그 역할에 대한 연구는 아직 미미한 실정이다.[6]

Galectin-3는 lectin 분자로서 β-galactoside 결합 단백이며 세포성장, 세포유착, 발암성 형질전환, 전이 및 세포자멸사 등에 관여한다고 알려져 있다.[7,8] 정상적으로 대장, 유방 및 신장의 상피세포와 단핵세포, 탐식세포 등에서 발현한다.[9] 종양발생 및 전이과정에서 galectin-3 역할이 정확히 밝혀지지 않았지만 악성림프종, 흑색종 및 갑상샘암에서 galectin-3 발현이 보고되었다.[7,10] 또 일부 종양에서 galectin-3 발현과 종양의 진행사이에 직접적인 관계가 있었다.[11-15] 유방암에서 조직학적 악성화가 증가할수록 galectin-3 발현이 감소하였는데 이는 아마도 암세포의 침윤과 전이 가능성을 시사한다고 하겠다.[11,12]

위암에서 galectin-3 발현은 주위 정상 점막보다 원발 위암 조직과 전이 병변에서 높게 관찰되었으나,[14] 난소암에서 galectin-3 발현은 임상병리학적 특징과는 상관성이 없었다.[13] 대장암에서의 galectin-3 발현과 그 의미에 대한 연구는 부족한 실정이다.[15]

본 연구에서는 대장암에서 paxillin과 galectin-3 발현을 평가하고, 이들 단백 발현이 여러 임상병리학적 인자와 어떠한 관계에 있는지 상관성을 알아냄으로써 대장암의 침윤과 진행에 어떠한 역할을 하는지 알아보고자 하였으며, 환자 생존율과 연관시켜 상관관계를 유출해 냄으로써 예후인자로서의 가치를 평가하고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

A. 연구 재료

연구재료는 1992년부터 2001년까지 조선대학교 병원에서 대장 샘암종으로 진단받고 외과적 절제술을 시행한 환자 중 파라핀 포매 조직이 보관되어 있는 125예를 대상으로 하였다. 수술 전에 항암요법이나 방사선치료를 받은 경우는 제외하였다.

선택한 환자의 생존여부, 생존기간 및 사망원인은 통계청에 의뢰하여 위탁처리 하였다. 2004년 12월 31일까지 확인하여 최소 3년 이상의 생존율을 추적 조사하였다.

B. 연구 방법

1. 임상병리학적 인자

비연속적으로 선택한 환자의 임상 기록, 병리 진단지와 조직검사 슬라이드 등을 재검토하여 환자의 나이와 성별을 조사하였고 위치는 우측(맹장, 상행결장), 좌측(하행결장, 에스 자 결장)과 직장으로 분류하였다. 종양의 조직학적 유형은 WHO 분류[16]에 따라 고분화형, 중분화형, 저분화형 및 점액 샘암종으로 분류하였고 종양의 크기는 가장 긴축의 길이에 따라 5.0 cm 미만과 5.0 cm 이상으로 분류하였다.

AJCC (American Joint Commission on Cancer)의 TNM system[17]에 따라 원발 종양의 침윤 깊이는 점막하 침윤(T1), 고유근육 침윤 (T2), 장막하 또는 대장직장 주위 지방조직 침윤(T3), 인접한 장기나 구조로 침윤(T4)으로 분류

하였다. 림프절 전이여부는 전이가 없는 경우(N0), 1-3개 림프절 전이가 있는 경우(N1)와 4개 이상 림프절 전이가 있는 경우(N2)로 분류하였다. 먼 곳으로의 전이여부(M0, M1)를 조사하였고 병기는 I (T1N0, T2N0), II (IIA: T3N0, IIB: T4N0), III (IIIA: T1-2N1, IIIB: T3-4N1, IIIC: TxN2), IV (TxNxM1)로 분류하였다.

2. 면역조직화학 염색

선택한 환자의 조직검사 슬라이드를 조사하여 연구목적에 부합되는 대표적인 부위가 있는 파라핀 포매 조직을 4 μm 두께로 박절하여 X-tra 슬라이드(Surgipath, Richmond, IL)에 부착하였다. Xylene에 탈파라핀한 뒤 알코올로 함수과정을 거친 다음 증류수로 세척하였다. 항원성 회복을 위해 citrate 완충용액 (10mM, pH 6.0)에 슬라이드를 담근 뒤 압력조리기(Pressure cooker; Russell Hobbs^{R}, Cell Marque, Hot springs, AR)를 이용하여 121℃에서 15분 동안 끓였다. 실온에서 20분간 식힌 다음 tris 완충용액에 세척하고 내인성 과산화효소의 활성을 억제시키기 위해 3% 과산화수소를 사용하여 5분 동안 처리하였다. Tris 완충용액에 세척하고 차단항체를 실온에서 10분 동안 반응시켰다. 사용한 일차항체는 paxillin (5H11, 1:100, LabVision, CA)과 galectin-3 (9C4, 1:100, Novocastra, Newcastle, U.K.)로 모두 4℃에서 밤새 반응시켰다. Tris 완충용액에 세척하고 비오틴이 결합된 이차항체 (Cap-Plus^{TM} detection kit, second generation labeled streptavidin-biotin detection system, Zymed, San Francisco, CA)를 실온에서 10분 동안 반응시킨 뒤 tris 완충용액으로 수세하고 peroxidase가 결합된 streptavidin용액을 10분 동안 반응시켰다. Tris 완충용액으로 세척하고 발색제는 AEC (3-amino-9-ethyl carbazol)를 사용하였으며 hematoxylin으로 대조염색하고 crystal mount로 봉입하였다. 각각의 항체에 대해 양성과 음성대조군을 사용

하였다. 양성 대조군으로는 paxillin는 발현이 이미 알려진 대장암 조직을 이용하였고 galectin-3는 림프절 조직을 이용하였다.

3. 면역조직화학 염색 판정 및 평가

Paxillin과 galectin-3에 대한 양성 판정 및 평가는 종양세포의 10% 이상에서 종양세포의 세포질과 핵에 또는 세포질에 미만성으로 염색될 때를 양성으로 판정하였다.

4. 통계학적 분석

Paxillin 및 galectin-3 발현과 임상병리학적 인자와의 상관성은 Pearson chi-square test로 검정하였다. 각 인자에 따른 단변량 생존율 분석은 Kaplan-Meier 방법에 의하여 구하였으며, 이의 유의성은 log-rank test로 검정하였다. 또한 다변량 생존율 분석은 단변량 분석에서 생존율에 유의한 차이를 보이는 인자와 기존 연구에서 의의 있게 밝혀진 인자들을 독립변수로하고 사망여부를 종속변수로 하여 Cox 회귀 모형에 의한 대응비를 계산하였다. 모든 통계 검증은 p값이 0.05 이하일 때 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 인정하였으며 SPSS 프로그램(version 12.0)을 사용하였다.

III. 결　　과

A. 임상병리학적 인자

본 연구에 사용된 125예에 대한 임상병리학적 인자에 대한 결과는 표 1과 같다.

우측 대장암이 33예(26.4%), 좌측 대장암이 31예(24.8%), 직장암이 61예(48.8%)였다. 조직학적 유형은 고분화형 22예(17.6%), 중분화형 80예(64%), 저분화형 10예(8%) 및 점액 샘암종 13예(10.4%)였다. 종양의 크기는 5.0 cm 미만이 59예(47.2%)와 5.0 cm 이상이 66예(52.8%)였다. 원발 종양의 침윤 깊이는 점막하 침윤(T1)이 2예(1.6%), 고유근육 침윤(T2)이 25예(20%), 장막하 또는 대장직장 주위 지방조직 침윤(T3)이 94예(75.2%), 인접한 장기나 구조로 침윤(T4)이 4예(3.2%)였다. 림프절 전이여부는 전이가 없는 경우(N0)가 84예(67.2%), 1-3개 림프절 전이가 있는 경우(N1)가 29예(23.2%), 4개 이상 림프절 전이가 있는 경우(N2)가 12예(9.6%)였다. 먼 곳으로의 전이가 없는 경우가 122예(97.6%)였고 전이가 있는 경우가 3예(2.4%)였다. 병기는 I군이 24예(19.2%), IIA군이 57예(45.6%), IIB군이 2예(9.6%), IIIA군이 1예(0.8%), IIIB군이 25예(20%), IIIC군이 13예(10.4%), IV군이 3예(2.4%)였다.

B. Paxillin 발현과 임상병리학적 인자와의 상관성

Paxillin은 샘암종 주변 정상 대장 점막 상피세포에서 약하게 또는 중등도의 강도로 발현되었다(Fig. 1A). 샘암종에서는 67예(53.6%)에서 세포의 세포질에 미만성으로 중등도의 강도로 발현되었으며 일부에서 핵에 같이 발현되었다 (Fig. 1B - 1D). 샘암종 58예(46.4%)에서는 paxillin이 발현되지 않았다.

Paxillin 발현과 임상병리학적 인자와의 상관성 (표 1)을 살펴보면 종양의 크기가 클수록 paxillin 발현율이 감소하였고(p=0.001), 종양의 침윤 깊이가 깊을수록 paxillin 발현율이 감소하였다(p=0.007). 또한 병기가 높을수록 paxillin 발현율이 감소하였다(p=0.03).

환자의 성별, 대장암의 위치, 조직학적 유형, 림프절 전이여부 및 먼 곳으로 전이여부와 paxillin 발현 여부를 비교하였을 때 모두 통계학적으로 유의성이 없었다. 림프절 전이가 없는 군보다 전이가 있는 군에서 paxillin 발현율이 감소하였지만 통계학적 유의성이 없었다(p=0.63). 먼 곳으로 전이와의 연관성은 전이군의 개체수(3예)가 너무 적아 통계적 유의성을 논하기가 어려웠다.

C. Galectin-3 발현과 임상병리학적 인자와의 상관관계

Galectin-3는 샘암종 주변 정상 대장 점막 상피세포에서 약하게 또는 중등도의 강도로 발현되었다(Fig. 2A). 샘암종에서 galectin-3 발현은 82예(65.6%)에서 대부분 세포의 세포질과 핵에 미만성으로 중등도의 강도로 발현되었고 소수에서 세포질에만 염색이 되었다(Fig. 2B, 2C). 주변 정상 대장 점막에서 발현된 반면 샘암종 43예(34.4%)에서는 galectin-3가 발현되지 않았다 (Fig. 2D).

Galectin-3 발현과 임상병리학적 인자와의 상관성 (표 2)을 살펴보면 종양의 침윤 깊이가 깊을수록 galectin-3 발현율이 증가하였다(p=0.000). 림프절 전이가 없는 경우보다 많이 있을수록 galectin-3 발현율이 증가하였다(p=0.001). 또한 병기가 높을수록 galectin-3 발현율이 증가하였다(p=0.000).

환자의 성별, 대장암의 위치, 조직학적 유형, 종양의 크기 및 먼 곳으로 전이여부와 galetcin-3 발현 여부를 비교하였을 때 모두 통계학적으로 유의성이 없었다.

D. Paxillin 발현과 *galectin-3* 발현과의 상관성

Paxillin 발현과 galectin-3 발현과의 상관성을 살펴보면 paxillin이 양성일 때 galectin-3 양성이 61.2%, paxillin이 음성일 때 galectin-3 양성이 70.7%로 통계학적 유의성이 없어(p=0.17) 서로 관련이 없었다(표 3).

E. 생존율과 예후인자와의 상관성

최소 3년 이상 추적 조사한 125명의 환자들의 생존율은 76.0%였다. 생존율과 환자의 성별, 위치, 조직학적 유형, 종양 크기, 침윤 깊이(T), 림프절 전이 수(N), 먼 곳으로 전이(M), 병기, paxillin 발현 및 galectin-3 발현과의 상관관계를 비교한 결과, 림프절 전이 수, 먼 곳으로 전이, 병기 및 galectin-3 발현이 통계학적으로 유의하였다(표 4).

림프절 전이 수에 따른 생존율과 생존기간 비교에서 림프절 전이가 없는 군의 생존율은 83.3%, 평균 생존기간은 124개월, 1개에서 3개까지 전이한 군의 생존율 62.0%, 평균 생존기간은 74개월, 4개 이상 전이한 군의 생존율 58.3%, 평균 생존기간은 46개월로 통계학적으로 유의하였다(p=0.005, Fig. 3).

먼 곳으로 전이에 따른 생존율 비교에서 전이가 없는 군의 생존율 77.8%, 평균 생존기간 117개월, 전이가 있는 군의 생존율 0%, 생존기간 19개월로 통계학적으로 유의하였다(p=0.000, Fig.4).

병기에 따른 생존율 비교에서 병기 I군의 생존율 87.5%, 생존기간 123개월, 병기 II군의 생존율 83.0%, 생존기간 128개월, 병기 III군의 생존율 64.1%, 생존기간 75개월, 병기 IV군의 생존율 0%, 생존기간 19개월로 통계학적으로 유의하였다(p=0.000, Fig. 5).

Galectin-3 발현에 따른 생존율 비교에서 음성인 경우 생존율 86.0%, 생존

기간 133개월, 양성인 경우 생존율 70.7%, 생존기간 99개월로 통계학적으로 유의하였다(p=0.04, Fig. 6).

단변량 분석에서 통계학적 유의성이 관찰된 인자들에 대한 다변량 분석 결과 (표 5) 먼 곳으로 전이가 통계학적으로 유의하였다(p=0.01). 먼 곳으로 전이가 없는 군보다 전이가 있는 군에서 사망률이 20.6배 정도 높았고 신뢰구간은 1.85～229.59이었다.

IV. 고 찰

국소유착 복합체는 세포외 기질과 유착하는 세포 부위에 있는 단백들로 integrin 수용체를 통한 세포내 신호전달에 중요한 역할을 한다.[1] 국소유착 복합체에는 FAK, paxillin, vinculin과 talin 등이 있으며 이 중 FAK가 세포와 세포외 기질사이의 신호전달에 중요한 매개체이다.[18] 국소유착 복합체 발현의 변화는 세포의 운동성에 영향을 주며 종양의 침윤성 행동을 조장한다.[19] 유방암과 자궁경부암에서 FAK 과발현이 세포의 악성 전환의 표지자로 증명된[20] 반면 폐암세포주에서 paxillin 과발현은 암세포 운동성의 감소와 관련이 있었으며 폐의 소세포암종에서 paxillin 발현은 감소되었다.[5] 이는 paxillin 감소가 폐암의 특정 유형을 더 운동성 있게 만들어 더 공격성을 일으킬 수 있으며 paxillin 발현 감소와 종양 침윤이 관련이 있음을 보여준다고 생각한다. 그러나 Vadlamudi 등[21]은 유방암에서 paxillin 발현이 조직학적 악성도가 높은 경우에 증가하였고 HER-2 과발현과 상관성이 있다고 하였다. HER-2/neu 과발현 또는 증폭은 유방암세포의 진행에 있어 더 공격적인 양상과 관련이 있는데 paxillin이 유방암에서 이러한 HER-2/neu 경로에 어떤 역할을 하지 않을까 생각하였다.[21] 그러나 최근 Madan 등[2]의 연구에 의하면 paxillin 발현은 조직학적 악성도, HER-2/neu 과발현과는 상관이 없으며 오히려 림프절 전이나 혈관 또는 림프관 침범이 없는 경우에 paxillin 발현이 증가하여 유방암에서 paxillin 발현은 좋은 예후인자로 추정하였다. 대장암에서 paxillin 발현에 대한 연구는 Ayaki 등[6]의 결과뿐인데 정상 대장 점막, 원발 종양과 전이 종양 사이의 차이를 연구하였다. 정상 점막에 비해 원발 종양에서 paxillin 발현이 의의있게 높게 나타났지만 원발 종양과 전이 종양사이에 paxillin 발현에는 차이가 없었다.

본 연구에서 paxillin 발현과 임상병리학적 인자와의 상관성은 종양의 크기

가 클수록 paxillin 발현율이 감소하였고(p=0.001), 종양의 침윤 깊이가 깊을수록 paxillin 발현율이 감소하였다(p=0.007). 또한 병기가 높을수록 paxillin 발현율이 감소하였다(p=0.03). 이러한 소견은 대장 샘암종이 진행할수록 paxillin 발현이 소실되는 경향을 보여 종양의 침윤과 진행에 paxillin 소실이 역할을 할 것으로 추측된다. 생존율과 paxillin 발현과는 통계학적 유의성이 없었지만 종양크기, 침윤 깊이 및 병기와 상관성이 있어 대장암에서 paxillin 발현은 좋은 예후인자로서의 가능성을 시사하였다.

FAK와 paxillin의 인산화가 세포 유착과 운동을 위한 신호전달에 결정적으로 관여하기 때문에[18,22] 임상 표본에서 관찰되는 FAK와 paxillin 발현의 증가 또는 감소가 이러한 과정에 충분한 영향을 미칠 것으로 생각된다. 최근 국소유착 복합체 중 FAK가 세포의 악성화와 종양의 침윤을 조장한다는 연구결과[2,3,20]를 볼 때 paxillin의 분자생물학적 기전 또는 정확한 기능에 대한 많은 관심이 유발될 것으로 생각되며 이를 위해서는 여러 종양 조직에서 paxillin의 역할에 대한 연구가 필요하리라 생각한다.

Galectin-3는 면역세포와 상피세포에서 발현되며 생리적 및 병적 과정에서 많은 역할을 할 것으로 알려지고 있다.[7] Galectin-3의 정확한 생물학적 기능에 대해서는 잘 알려져 있지 않지만 galectin-3 발현이 종양의 진행과 전이를 조장한다는 보고가 있다.[8,11-15] 갑상샘, 유방암, 위암, 난소암 및 대장암에서 galectin-3 발현과 종양 진행과 상관성이 있었는데[8,11-15] 특히 갑상샘 유두암종에서 galectin-3 발현이 증가되어 이들 종양을 진단하는데 유용하게 사용되었다.[8,23,24] 그러나 여러 종류의 종양에서 악성이 진행되는 동안 galectin-3 발현이 증가 또는 감소를 보이기 때문에 종양의 기원 상피세포와 연관시켜볼 때 galectin-3 발현이 종양의 진행 및 전이와 항상 관련이 있다는 것은 분명치 않다. 대장암에서 galectin-3 발현은 전이 상태로 진행할 때 증가[25]를 보였으나 전립샘암,[26] 난소암,[13] 유방암[11,12]에서는 감소되었다. Idikio 등[11]의 연구에서 보면 유방암의 조직학적 악성화가 증가할수록 galectin-3 발현은 감소하여

이는 암세포의 침윤과 전이 가능성을 시사한다고 하였다. 또 다른 연구에서도 정상과 양성 유방조직에서는 galectin-3 발현이 증가하였지만 암세포에서는 galectin 발현이 감소하였다.[27] 그러나 유방암 세포주를 이용한 실험에서 galectin-3 발현은 전이 및 침윤 가능성을 보였다.[28,29] 또한 Honjo 등[29]은 galectin-3 발현을 차단하였을 때 유방암 세포주의 성장이 의의있게 억제됨으로 인해 galectin-3 발현은 유방의 종양형성에 역할을 할 것으로 생각하였다. Galectin-3는 종양유전자라기 보다는 종양으로의 변환과 전이에 일부 관여할 것[30]으로 생각되나 아직까지 galectin-3가 관여하는 종양 진행 경로는 분명치 않다.

최근에 galectin-3가 세포내 발현되는 위치를 세포질과 핵으로 나누어서 판정하는 경향이 있는데 혀에 발생한 암에서 암세포 핵에 galectin-3 발현이 감소한 경우 환자의 생존율이 감소되었다.[31] 정상 전립샘 조직 상피세포에서 galectin-3 발현은 핵과 세포질에 모두 발현되는 반면 전립샘 암의 일부 예에서는 핵에서 발현되지 않고 세포질에서만 관찰되었다.[32] 전립샘암에서 galectin-3가 암세포 핵에서 발현할 경우에는 종양형성을 억제하였으나 세포질에서 발현한 경우에는 종양의 진행과 관련이 있었다.[32] 이러한 결과는 galectin-3 발현 위치가 세포 표현형에 영향을 주는 것이 아닌가 생각한다. 즉 세포의 핵에 galectin-3가 발현될 때는 종양형성과 같은 세포증식과 연관이 있을 것으로 판단되며 세포질에 발현될 때는 세포의 분화 즉 종양의 진행과 관련 있을 것으로 생각한다. 이러한 가정은 정상 대장점막에서 galectin-3가 세포질에 염색되는 경우는 주로 crypt의 상부와 표면 상피세포 즉 최종적으로 분화된 세포에서 관찰되는 것으로 증명된다.[15] 따라서 대장암에서 galectin-3 발현이 세포질에서 관찰될 때 이는 종양의 진행과 관련된 중요한 예후인자라고 하였다.[33] 그러므로 핵에서 galectin-3 발현이 소실되는 것은 정상세포가 암세포로 변환에 중요한 사건이 될 수 있다고 생각한다.

본 연구에서 galectin-3 발현은 정상 대장 점막의 상피세포 및 대장 샘암종

세포의 세포질과 핵에서 주로 발현되고 소수에서 세포질에만 염색되었기 때문에 핵에서 발현이 소실된 경우만을 따로 판정하기는 어려웠다. Galectin-3 발현은 종양의 침윤 깊이가 깊을수록, 림프절 전이가 없는 경우보다 많이 있을수록(p=0.001), 그리고 병기가 높을수록(p=0.000) 발현율이 증가하였다. 이러한 소견은 대장 샘암종이 진행할수록 galectin-3 발현이 증가되는 경향을 보여 종양의 침윤과 진행에 galactin-3 발현이 역할을 할 것으로 생각한다. 또한 생존율과 galectin-3 발현과는 통계학적 유의성이 관찰되어 galectin-3 발현시 생존율과 생존기간은 감소되어 대장암에서 galectin-3 발현은 불량한 예후인자로서 가능성을 시사하였다. 이러한 결과는 최근 보고된 Endo 등[34]의 결과와 유사하였다. 이 연구결과[34]에 의하면 대장암에서 galectin-3 발현은 주로 세포질에서 관찰되고 생존율이 감소함으로인해 대장암의 예후를 결정하는데 galectin-3는 독립적인 인자로 제시하였으며 면역조직화학 검사로 galectin-3 발현을 검색하는 것이 도움이 된다고 하였다. 다만 암세포 핵에서 galectin-3의 기능에 대한 본질이나 생물학적 중요성을 결정하기 위해서는 앞으로 더 많은 연구가 필요하리라 생각한다.

V. 결 론

대장암에서 세포유착과 관련 있는 paxillin과 galectin-3 발현을 면역조직화학 염색으로 평가하고, 이들 단백 발현이 여러 임상병리학적 인자와의 상관성을 알아냄으로써 대장암의 침윤과 진행에 관여하는 역할과 환자 생존율을 연관시켜 예후인자로서의 가치를 평가한 결과 paxillin 발현은 종양의 크기가 클수록, 종양의 침윤 깊이가 깊을수록, 병기가 높을수록 paxillin 발현율이 감소하여 대장 샘암종의 침윤과 진행에 paxillin 소실이 역할을 할 것으로 확인되어 대장 샘암종에서 paxillin 발현은 좋은 예후인자로 판단된다.

Galectin-3는 대장 샘암종의 침윤 깊이가 깊을수록, 림프절 전이가 없는 경우보다 많이 있을수록, 병기가 높을수록 galectin-3 발현율이 증가하였고 galectin-3 발현시 생존율과 생존기간이 감소되어 대장 샘암종의 침윤과 진행에 galactin-3 발현이 역할을 할 것으로 생각되며 galectin-3 발현은 불량한 예후인자로 판단된다.

참 고 문 헌

1. Schaller MD. Paxillin: a focal adhesion-associated adaptor protein. Oncogene 2001; 20: 6459-72.
2. Madan R, Smolkin MB, Cocker R, Fayyad R, Oktay MH. Focal adhesion proteins as markers of malignant transformation and prognostic indicators in breast carcinoma. Hum Pathol 2006; 37: 9-15.
3. Cance WG, Harris JE, Iacocca MV, Roche E, Yang X, Chang J, Simkins S, Xu L. Immunohistochemical analyses of focal adhesion kinase expression in benign and malignant human breast and colon tissues: correlation with preinvasive and invasive phenotypes. Clin Cancer Res 2000; 6: 2417-23.
4. Scibelli A, d'Angelo D, Pelagalli A, Tafuri S, Avallone L, Della Morte R, Staiano N. Expression levels of the focal adhesion-associated proteins paxillin and p130CAS in canine and feline mammary tumors. Vet Res 2003; 34: 193-202.
5. Salgia R, Li JL, Ewaniuk DS, Wang YB, Sattler M, Chen WC, Richards W, Pisick E, Shapiro GI, Rollins BJ, Chen LB, Griffin JD, Sugarbaker DJ. Expression of the focal adhesion protein paxillin in lung cancer and its relation to cell motility. Oncogene 1999; 18: 67-77.
6. Ayaki M, Komatsu K, Mukai M, Murata K, Kameyama M, Ishiguro S, Miyoshi J, Tatsuta M, Nakamura H. Reduced expression of focal adhesion kinase in liver metastases compared with matched primary human colorectal adenocarcinomas. Clin Cancer Res 2001; 7: 3106-12.
7. Perillo NL, Marcus ME, Baum LG. Galectins: versatile modulators of

cell adhesion, cell proliferation, and cell death. J Mol Med 1998; 76: 402-12.

8. Aratake Y, Umeki K, Kiyoyama K, Hinoura Y, Sato S, Ohno A, Kuribayashi T, Hirai K, Nabeshima K, Kotani T. Diagnostic utility of galectin-3 and CD26/DPPIV as preoperative diagnostic markers for thyroid nodules. Diagn Cytopathol 2002; 26: 366-72.
9. Akimoto Y, Hirabayashi J, Kasai K, Hirano H. Expression of the endogenous 14-kDa beta-galactoside-binding lectin galectin in normal human skin. Cell Tissue Res 1995; 280: 1-10.
10. Kawachi K, Matsushita Y, Yonezawa S, Nakano S, Shirao K, Natsugoe S, Sueyoshi K, Aikou T, Sato E. Galectin-3 expression in various thyroid neoplasms and its possible role in metastasis formation. Hum Pathol 2000; 31: 428-33.
11. Idikio H. Galectin-3 expression in human breast carcinoma: correlation with cancer histologic grade. Int J Oncol 1998; 12: 1287-90.
12. Castronovo V, Van Den Brule FA, Jackers P, Clausse N, Liu FT, Gillet C, Sobel ME. Decreased expression of galectin-3 is associated with progression of human breast cancer. J Pathol 1996; 179: 43-8.
13. van den Brule FA, Berchuck A, Bast RC, Liu FT, Gillet C, Sobel ME, Castronovo V. Differential expression of the 67-kD laminin receptor and 31-kD human laminin-binding protein in human ovarian carcinomas. Eur J Cancer 1994; 30A: 1096-9.
14. Lotan R, Ito H, Yasui W, Yokozaki H, Lotan D, Tahara E. Expression of a 31-kDa lactoside-binding lectin in normal human gastric mucosa and in primary and metastatic gastric carcinomas. Int J Cancer 1994; 56: 474-80.

15. Schoeppner HL, Raz A, Ho SB, Bresalier RS. Expression of an endogenous galactose-binding lectin correlates with neoplastic progression in the colon. Cancer 1995; 75: 2818-26.
16. Hamilton SR, Aaltonen LA. WHO classification of tumors. Pathology and genetics. Tumours of the digestive system. Lyon: IARCPress, 2000.
17. Greene FL, Rage DL, Fleing ID, et al. AJCC cancer staging manual. 6th ed. New York: Springer-Verlage, 2002.
18. Schlaepfer DD, Hauck CR, Sieg DJ. Signaling through focal adhesion kinase. Prog Biophys Mol Biol 1999; 71: 435-78.
19. Turner CE. Paxillin interactions. J Cell Sci 2000; 23: 4139-40.
20. Oktay MH, Oktay K, Hamele-Bena D, Buyuk A, Koss LG. Focal adhesion kinase as a marker of malignant phenotype in breast and cervical carcinomas. Hum Pathol 2003; 34: 240-5.
21. Vadlamudi R, Adam L, Tseng B, Costa L, Kumar R. Transcriptional up-regulation of paxillin expression by heregulin in human breast cancer cells. Cancer Res 1999; 59: 2843-6.
22. Kornberg L, Earp HS, Parsons JT, Schaller M, Juliano RL. Cell adhesion or integrin clustering increases phosphorylation of a focal adhesion-associated tyrosine kinase. J Biol Chem 1992; 267: 23439-42.
23. Beesley MF, McLaren KM. Cytokeratin 19 and galectin-3 immunohistochemistry in the differential diagnosis of solitary thyroid nodules. Histopathology 2002; 41: 236-43.
24. Coli A, Bigotti G, Zucchetti F, Negro F, Massi G. Galectin-3, a marker of well-differentiated thyroid carcinoma, is expressed in thyroid nodules with cytological atypia. Histopathology 2002; 40: 80-7.

25. Irimura T, Matsushita Y, Sutton RC, Carralero D, Ohannesian DW, Cleary KR, Ota DM, Nicolson GL, Lotan R. Increased content of an endogenous lactose-binding lectin in human colorectal carcinoma progressed to metastatic stages. Cancer Res 1991; 51: 387-93.
26. Pacis RA, Pilat MJ, Pienta KJ, Wojno K, Raz A, Hogan V, Cooper CR. Decreased galectin-3 expression in prostate cancer. Prostate 2000; 44:118-23.
27. Raimond J, Rouleux F, Monsigny M, Legrand A. The second intron of the human galectin-3 gene has a strong promoter activity down-regulated by p53. FEBS Lett 1995; 363: 165-9.
28. Nangia-Makker P, Thompson E, Hogan C, Ochieng J, Raz A. Induction of tumorigenicity by galectin-3 in a non-tumorigenic human breast cancer cell line. Int J Oncol 1995; 7: 1079-87.
29. Honjo Y, Nangia-Makker P, Inohara H, Raz A. Down-regulation of galectin-3 suppresses tumorigenicity of human breast carcinoma cells. Clin Cancer Res 2001; 7: 661-8.
30. Raz A, Zhu DG, Hogan V, Shah N, Raz T, Karkash R, Pazerini G, Carmi P. Evidence for the role of 34-kDa galactoside-binding lectin in transformation and metastasis. Int J Cancer 1990; 46: 871-7.
31. Honjo Y, Inohara H, Akahani S, Yoshii T, Takenaka Y, Yoshida J, Hattori K, Tomiyama Y, Raz A, Kubo T. Expression of cytoplasmic galectin-3 as a prognostic marker in tongue carcinoma. Clin Cancer Res 2000; 6: 4635-40.
32. van den Brule FA, Waltregny D, Liu FT, Castronovo V. Alteration of the cytoplasmic/nuclear expression pattern of galectin-3 correlates with prostate carcinoma progression. Int J Cancer 2000; 89: 361-7.

33. Sanjuan X, Fernandez PL, Castells A, Castronovo V, van den Brule F, Liu FT, Cardesa A, Campo E. Differential expression of galectin 3 and galectin 1 in colorectal cancer progression. Gastroenterology 1997; 113: 1906-15.
34. Endo K, Kohnoe S, Tsujita E, Watanabe A, Nakashima H, Baba H, Maehara Y. Galectin-3 expression is a potent prognostic marker in colorectal cancer. Anticancer Res 2005; 25: 3117-21.

Table 1. Correlation between paxillin positivity and clinicopathologic factors in colorectal adenocarcinoma

		Total	Paxillin expression		p value
			positive (%)	negative (%)	
Number of cases		125	67 (53.6)	58 (46.4)	
Age (yr)	Mean		62.0±11.5	60.6±11.2	0.91
	Range		22～84	33～80	
Sex	Male	62	32 (51.6)	30 (48.4)	0.39
	Female	63	35 (55.6)	28 (44.4)	
Location	Right	33	14 (42.4)	19 (57.6)	0.30
	Left	31	17 (54.8)	14 (45.2)	
	Rectum	61	36 (59.0)	25 (41.0)	
Histologic grade	well	22	10 (45.5)	12 (54.5)	0.48
	moderately	80	47 (58.8)	33 (41.3)	
	poorly	10	4 (40.0)	6 (60.0)	
	mucinous	13	6 (46.2)	7 (53.8)	
Tumor size (cm)	< 5.0	59	41 (69.5)	18 (30.5)	***0.001***
	≥ 5.0	66	26 (39.4)	40 (60.6)	
Tumor depth	T1	2	2 (100.0)	0 (0.0)	***0.007***
	T2	25	19 (76.0)	6 (24.0)	
	T3	94	46 (48.9)	48 (51.1)	
	T4	4	0 (0.0)	4 (100.0)	
Node metastasis	N0	84	47 (56.0)	37 (44.0)	0.63
	N1	29	15 (51.7)	14 (48.3)	
	N2	12	5 (41.7)	7 (58.3)	
Distant metastasis	M0	122	65 (53.3)	57 (46.7)	0.55
	M1	3	2 (66.7)	1 (33.3)	
Stage	I	24	19 (79.2)	5 (20.8)	***0.03***
	II	59	27 (45.8)	32 (54.2)	
	III	39	19 (48.7)	20 (51.3)	
	IV	3	2 (66.7)	1 (33.3)	

Table 2. Correlation between galectin-3 positivity and clinicopathologic factors in colorectal adenocarcinoma

		Total	Galectin-3 expression		p value
			positive (%)	negative (%)	
Number of cases		125	82 (65.6)	43 (34.4)	
Age (yr)	Mean		61.3±11.5	61.5±11.1	0.55
	Range		33～84	22～79	
Sex	Male	62	41 (66.1)	21 (33.9)	0.39
	Female	63	41 (65.1)	22 (34.9)	
Location	Right	33	21 (63.6)	12 (36.4)	0.50
	Left	31	23 (74.2)	8 (25.8)	
	Rectum	61	38 (62.3)	23 (37.7)	
Histologic grade	well	22	15 (68.2)	7 (31.8)	0.96
	moderately	80	52 (65.0)	28 (35.0)	
	poorly	10	7 (70.0)	3 (30.0)	
	mucinous	13	8 (61.5)	5 (38.5)	
Tumor size (cm)	< 5.0	59	37 (62.7)	22 (37.3)	0.32
	≥ 5.0	66	45 (68.2)	21 (31.8)	
Tumor depth	T1	2	1 (50.0)	1 (50.0)	***0.000***
	T2	25	7 (28.0)	18 (72.0)	
	T3	94	70 (74.5)	24 (25.5)	
	T4	4	4 (100.0)	0 (0.0)	
Node metastasis	N0	84	46 (54.8)	38 (45.2)	***0.001***
	N1	29	24 (82.8)	5 (17.2)	
	N2	12	12 (100.0)	0 (0.0)	
Distant metastasis	M0	122	80 (65.6	42 (34.4)	0.72
	M1	3	2 (66.7)	1 (33.3)	
Stage	I	24	6 (25.0)	18 (75.0)	***0.000***
	II	59	39 (66.1)	20 (33.9)	
	III	39	35 (89.7)	4 (10.3)	
	IV	3	2 (66.7)	1 (33.3)	

Table 3. Correlation between paxillin and galectin-3 expression in colorectal adenocarcinoma

		Total	Galectin-3	
			positive	negative
Paxillin	positive (%)	67	41 (61.2)	26 (38.8)
	negative (%)	59	41 (70.7)	17 (29.3)
Total		125	82	43

p=0.17

Table 4. Univariate analysis of overall survival rate and months according to clinicopathologic factors in colorectal adenocarcinoma

		Total	Survival rate(%)	Survival months	p value
Number of cases		125	76.0		
Sex	Male	62	75.8	108	0.93
	Female	63	76.1	115	
Location	Right	33	87.8	138	0.16
	Left	31	70.9	86	
	Rectum	61	72.1	97	
Histologic grade	well	22	72.7	114	0.49
	moderately	80	75.0	105	
	poorly	10	70.0	65	
	mucinous	13	92.3	143	
Tumor size (cm)	< 5.0	59	74.5	100	0.48
	≥ 5.0	66	77.2	117	
Tumor depth	T1	2	100.0	-	0.29
	T2	25	84.0	118	
	T3	94	74.4	116	
	T4	4	50.0	48	
Node metastasis	N0	84	83.3	124	***0.005***
	N1	29	62.0	74	
	N2	12	58.3	46	
Distant metastasis	M0	122	77.8	117	***0.000***
	M1	3	0.0	19	
Stage	I	24	87.5	123	***0.000***
	II	59	83.0	128	
	III	39	64.1	75	
	IV	3	0.0	19	
Paxillin	negative	58	72.4	110	0.57
	positive	67	79.1	105	
Galectin-3	negative	43	86.0	133	***0.04***
	positive	82	70.7	99	

Table 5. Cox multivariate analysis of overall survival in colorectal adenocarcinoma

Variables	p value	RR	95% CI
Positive nodes	0.71	0.6	0.05～7.30
Distant metastasis	***0.01***	20.6	1.85～229.59
Stage	0.27	4.8	0.28～81.93
galectin-3	0.31	1.6	0.62～4.46

RR, relative risk; 95% CI, 95% confidence interval

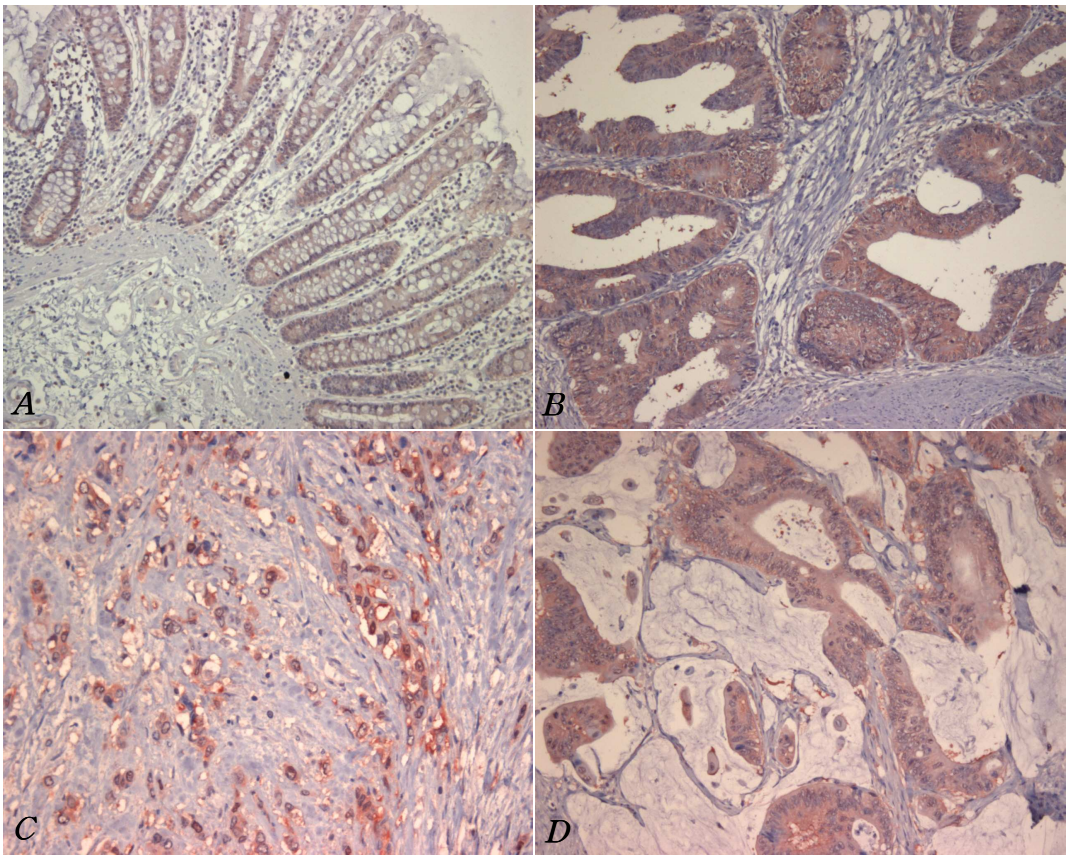

Fig. 1. Immunohistochemical stains for paxillin in colorectal adenocarcinoma. Immunoreactivity of paxillin shows diffuse cytoplasmic positivity in the epithelium of non-neoplastic gland of colon (A). The paxillin is expressed in the diffuse cytoplasmic reactivity in moderately differentiated (B), poorly differentiated (C) and mucinous (D) adenocarcinoma of colorectum. Some cells shows nuclear staining that accompanied the cytoplasmic staining.

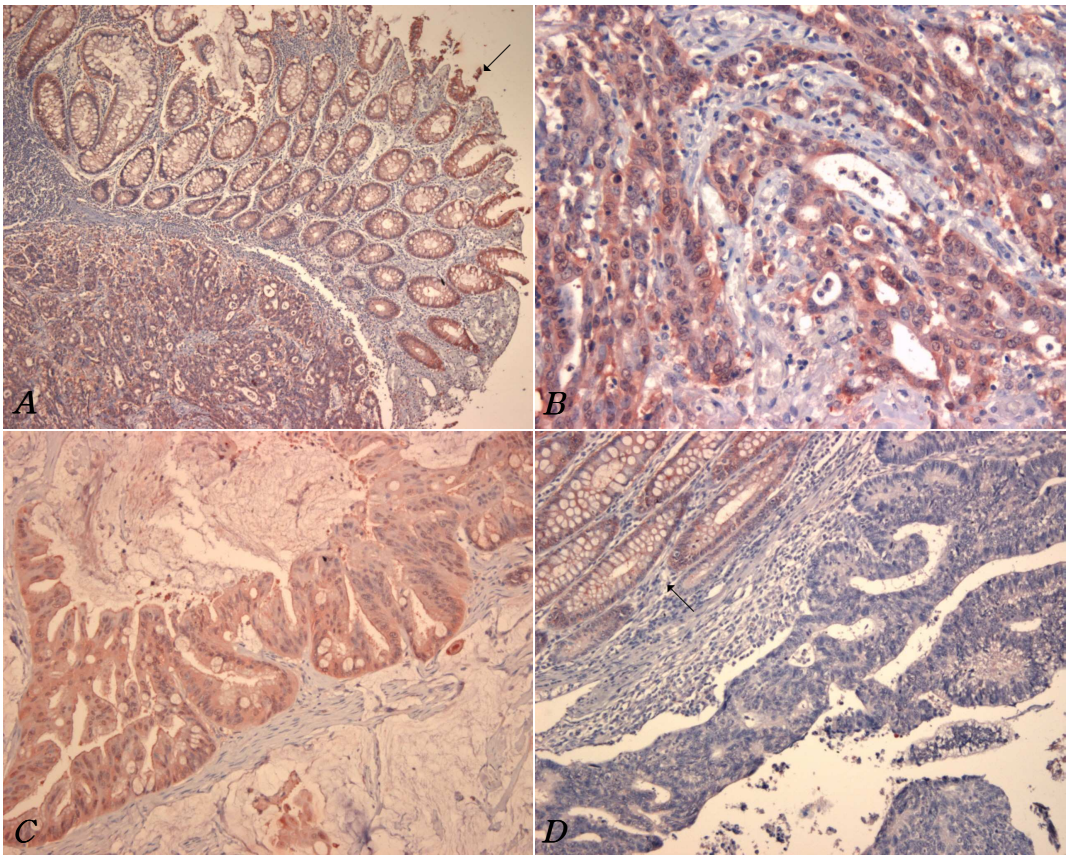

Fig. 2. Immunohistochemical stains for galectin-3 in colorectal adenocarcinoma. Immunoreactivity of galectin-3 shows diffuse cytoplasmic and nuclear positivity in the epithelium of non-neoplastic gland (arrow) adjacent to adenocarcinoma (A). The galectin-3 is expressed in the diffuse cytoplasmic and nuclear reactivity in moderately differentiated (B) and mucinous (C) adenocarcinoma. The contiguous normal mucosa (arrow) shows positivity, but negativity in adenocarcinoma (D).

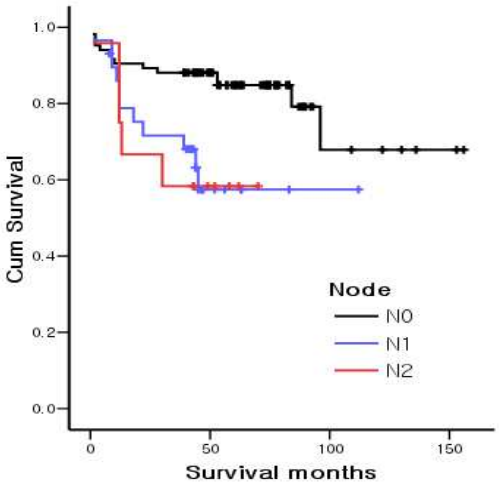

Fig. 3. Univariate analysis of 125 patients of colorectal adenocarcinoma shows a significant difference in the overall survival according to the node metastasis (p=0.005).

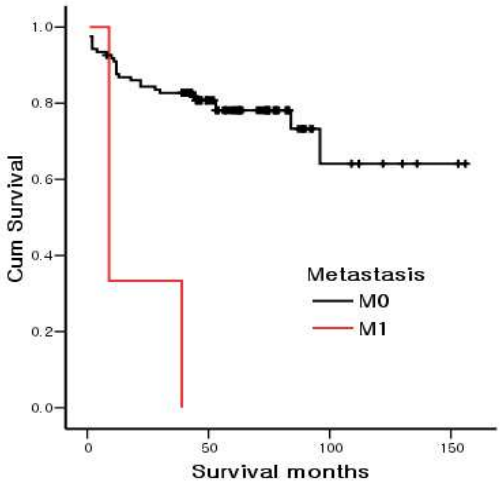

Fig. 4. Univariate analysis of 125 patients of colorectal adenocarcinoma shows a significant difference in the overall survival according to the distant metastasis (p=0.000).

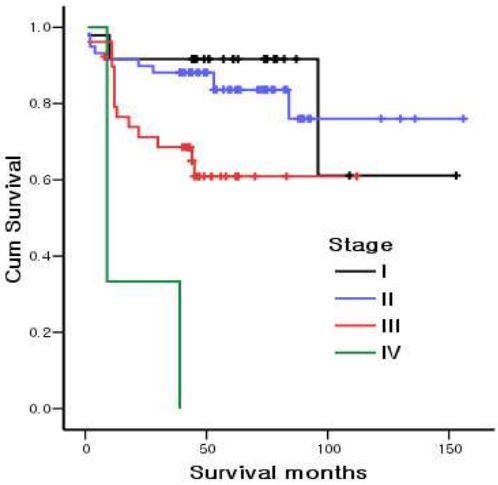

Fig. 5. Univariate analysis of 125 patients of colorectal adenocarcinoma shows a significant difference in the overall survival according to the stage (p=0.000).

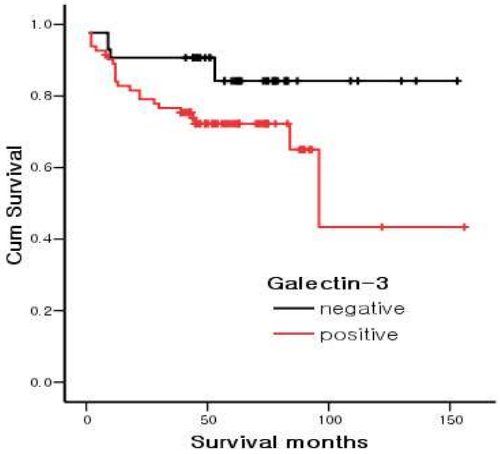

Fig. 6. Univariate analysis of 125 patients of colorectal adenocarcinoma shows a significant difference in the overall survival according to the galectin-3 expression (p=0.04).

저작물 이용 허락서

학 과	의학과	학 번	20057439	과 정	박사
성 명	한글: 김선표 한문: 영문: Kim, Sun-Pyo				
주 소	광주 북구 용봉동 현대아파트 102-1406				
연락처	e-mail :				
논문제목	한글: 대장의 샘암종에서 paxillin과 galectin-3 발현 영문: Expression of Paxillin and Galectin-3 in Colorectal Adenocarcinoma				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집・형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포・전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송・출력을 허락함.

동의여부 : 동의 (0) 반대 ( )

2007년 2월

저작자: 김 선 표 (인)

조선대학교 총장 귀하