



### 저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



**저작자표시.** 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



**비영리.** 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



**동일조건변경허락.** 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

**저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.**

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2008년 2월  
박사학위논문

후두 편평세포암종에서  
*Galectin-3*과 *Pim-1*의 발현

조선대학교 대학원

의 학 과

조 성 일

후두 편평세포암종에서  
*Galectin-3*과 *Pim-1*의 발현

*The expression of Galectin-3 and Pim-1  
in laryngeal squamous cell carcinoma*

2008년 2월 25일

조선대학교 대학원

의학과

조성일

후두 편평세포암종에서  
*Galectin-3*과 *Pim-1*의 발현

지도교수 : 도 남 용

이 논문을 의학 박사학위신청 논문으로 제출함.

2007년 10월

조선대학교 대학원

의학과

조 성 일

# 조 성 일 의 박사 학 위 논 문 을 인 준 함

위원장      전남대학교 교수 박 창수      인

위    원      조선대학교 교수 김 상훈      인

위    원      조선대학교 교수 민 영돈      인

위    원      조선대학교 교수 임 성철      인

위    원      조선대학교 교수 도 남용      인

2007년 12월

조 선 대 학 교 대 학 원

# 목 차

표목차	_____	i
도목차	_____	ii
영문초록	_____	1
I. 서론	_____	3
II. 연구대상 및 방법	_____	5
III. 결과	_____	7
IV. 고찰	_____	10
V. 결론	_____	14
VI. 참고문헌	_____	15
VII. 표	_____	19
VIII. 사진부도	_____	26

# 표 목 차

Table 1. Clinical, epidemiologic, and histologic characteristics of 77 patients with laryngeal squamous cell carcinoma -----	19
Table 2. The immunohistochemical staining results for Galectin-3 and Pim-1 in laryngeal squamous cell carcinoma. -----	20
Table 3. The statistical analysis of immunohistochemical Galectin-3 and Pim-1 expression according to the clinical stage. -----	21
Table 4. The statistical analysis of immunohistochemical Galectin-3 and Pim-1 expression according to the nodal status. -----	22
Table 5. The statistical analysis of immunohistochemical Galectin-3 and Pim-1 expression according to the histologic differentiation. -----	23
Table 6. The statistical analysis of immunohistochemical Galectin-3 and Pim-1 expression according to the tumor stage. -----	24
Table 7. Relationships of Galectin-3 and Pim-1 coexpression. -----	25

# 도 목 차

- Fig. 1. Immunohistochemical staining for Galectin-3 in poorly differentiated laryngeal squamous cell carcinoma. ----- 26
- Fig. 2. Immunohistochemical staining for Galectin-3 in well differentiated laryngeal squamous cell carcinoma.----- 27
- Fig. 3. Weak immunoexpression for Pim-1 in the squamous cell carcinoma of the larynx.----- 28
- Fig. 4. Strong immunoexpression for Pim-1 in the squamous cell carcinoma of the larynx.----- 29



# *ABSTRACT*

## *The expression of Galectin-3 and Pim-1 in laryngeal squamous cell carcinoma*

Cho Sung-il

Advisor : Prof. Do Nam-yong, Ph.D.

Department of Medicine,

Graduate School of Chosun University

Because of squamous cell carcinoma of the larynx undergoes a generally poor hospital course, the prognostic significance of the squamous cell carcinomas in larynx have been evaluated to identify those features associated with aggressive biologic behavior according to the immunologic and histopathologic characteristics. Molecular prognostic and predictive factors have extensively been studied in different cancers during the past decades, some of which were found to be useful in diagnosis, follow up or even treatment of some malignant tumors. To assess the significance of Galectins and Pim-1 protein in larynx tumors and their correlation with prognostic factors, samples from 77 patients with squamous cell carcinomas of larynx were studied immunohistochemically. In the present study, the author examined the correlations of Galectin-3 and Pim-1 protein expression according to tumor stages, nodal status, clinical stages and histologic differentiation to investigate the clinical significance. Squamous cell carcinoma showed increased Galectin-3 and Pim-1 expression in more advanced stage, tumor stage, and nodal status. So it was suspected that the pathogenetic role of Galectin-3 and Pim-1

expression in laryngeal squamous cell carcinoma. And it indicates that Galectin-3 and Pim-1 can be used as a possible prognostic factor.

---

*Key Words : Galectin-3, Pim-1, Larynx, Squamous cell carcinoma*

# I. 서론

암이 발생하는 기전은 세포의 성장과 분화, 증식 및 억제에 관여하는 여러 성장인자와 수용체들 상호간의 불균형으로 인해 세포의 형질변환이 일어나, 종양세포가 비가역적으로 증식하여 발생한다고 알려져 있으며, 또 다른 기전으로는 종양세포를 억제시키는 유전자가 비 활성화되거나 또는 암유전자가 활성화되어 발생한다고 알려져 있다(Tahara, 1990). 두경부 암종은 대부분 편평세포암종으로서 주로 종양의 크기, 침범부위 및 전이여부 등의 임상적 인자들에 의해 예후가 좌우된다고 알려져 왔으나, 최근에는 이러한 인자들 외에 좀 더 객관적인 종양세포의 생물학적 표지자가 요구되고 있다. 현재 연구되고 있는 세포성장 억제인자들에 대한 여러 연구 방법중 면역조직화학적 연구가 비교적 믿을만한 검사법의 하나로 많이 이용되고 있지만, 각각 개별적으로 연구되어진 종양 억제유전자들의 발현양상이 갖는 상호연관성이나 그 의미에 대한 연구는 아직 논란이 많은 상태이다.

Galectin은  $\beta$ -galactoside binding protein으로서 여러 아형이 존재하는데 이중 Galectin-1, -3, 그리고 -7의 종양학적인 역할이 최근에 연구되어지고 있다(Danguy et al., 2002; Liu et al., 2005). 특히 두경부 편평세포암에서도 Galectin-1, -3, 그리고 -7의 역할이 보고되어지고 있고 Galectin-8, -9의 역할도 최근에 연구되어지고 있다(Danguy et al., 2001; Kasamatsu et al., 2005). 이중 Galectin-3은 세포의 증식, 부착, 분화, 혈관생성, 그리고 자멸사에 관계하며 특히 자멸사의 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며(Krzeslak et al., 2004) 정상적으로 호중구, 호산구, 대식세포, 비만세포 외에도 호흡기, 소화기 및 신장의 상피세포에서도 발현된다(Hughes, 1994). 최근 인체 종양들의 발암과정이나 진행과정에서의 역할이 새롭게 규명됨으로써 Galectin-3에 대한 관심이 높아지고 있다.

Pim-1은 염색체 6p21.2에 위치한 전암유전자로서 세포증식, 자멸사 억제, 분화, 유전자 안정성에 관여한다(Wang et al., 2001). 이 단백질은 주로 전립선암에서 연구되었는데 대다수의 악성 전립선 조직에서는 Pim-1 표현이 증가되었지만, 생존율에서는 Pim-1 표현이 감소된 군에서 좋지않은 결과를 보였다(Dhanasekaran et al., 2001).

이에 저자는 후두 악성종양에서 종양의 발생과 성장 및 전이, 악성도 등과 관련이 있지만 아직 명확히 밝혀지지 않은 Galectin-3과 Pim-1의 면역조직화학적 발현양상을 임상 및 병리학적 특성과 비교 검토하고, 이들 유전자간의 상호작용 및 관련성을 분석하여 후두 악성종양의 발병학을 구체화하고, 악성도와 관련한 예후 인자로서의 가능성을 알아보하고자 본 연구를 시행하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 연구재료

1993년부터 2007년까지 조선대학교병원 이비인후과에서 조직검사로 확진된 후두의 편평세포암종(squamous cell carcinoma) 77예를 대상으로 하였다. 환자의 연령 분포는 29세에서 81세까지로 평균 연령은 63세였고, 성별 분포는 남자가 72예(93.5%), 여자가 5예(6.5%)였다. TNM 병기 및 조직학적 분화도는 환자의 조직 검사 보고서와 의무기록지를 후향적으로 분석하였다.

### 2. 연구방법

#### 가. 면역조직화학적 검사

병리과 조직 슬라이드 파일을 대상으로 후두의 병변을 재검토하여 종양의 침습여부 등을 재확인하고, 연구목적에 부합되는 대표적인 부위를 선택하여 면역조직화학적 검사를 위한 슬라이드를 제작하였다.

10% 완충 중성 포르말린에 고정 후 제작한 파라핀 포매 조직을 4 $\mu$ m 두께로 박절하여 X-tra™슬라이드(Surgipath, Richmond, USA)에 부착하여 xylene으로 탈 파라핀한 뒤 무수 알코올, 90%, 75% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 처리하여 함수시킨 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 Galectin-3(dilution-

1:400)과 Pim-1(dilution- 1:600)을 1시간 반응시켰다. 일차 항체는 Santa Cruz Biotechnology사 (Santa Cruz, CA, USA)의 Galectin-3(H-160, SC-20157)과 Pim-1(SC-13513)을 이용하였다. Tris 완충액으로 세척하고 LSAB kit을 이용하여 비오틴이 함유된 이차 항체를 실온에서 10분간 반응시킨 후 Tris 완충액으로 수세하고, peroxidase가 결합된 streptavidin용액을 10분간 반응시켰다. 이차 항체 및 발색제는 Dako사 (Glostrup, Denmark)의 LSAB kit와 DAB(Diaminobenzidine) kit를 이용하였다. Tris완충액으로 세척 후 DAB(Diaminobenzidine)로 발색하였다. Mayer's hematoxylin으로 대조염색을 시행하고, Research Genetics사(Huntsville, AL, USA)의 universal mount로 봉입하였다.

음성 대조군으로는 일차항체 대신 Tris 완충액을 사용하였다.

#### **나. 면역조직화학적 염색의 판정**

면역화학염색 결과, Galectin-3과 Pim-1이 종양세포의 세포질에 갈색 과립상으로 염색될 때를 양성으로 판정하였다. 100배 시야에서 1% 이하의 종양세포가 염색되는 경우 0점, 10% 이하 1점, 11-50% 2점, 51% 이상을 3점으로 하였다. 그리고 염색 강도에 따라 음성(0), 약양성(1), 중등도 양성(2), 강양성(3)으로 분류하였다. 염색 강도에 따른 점수와 분포 점수를 합하여 0-2점이면 category I, 3-4점이면 category II, 5-6점이면 category III으로 분류하였다. 이 중 category I을 음성, category II와 III을 양성으로 판정하였다(Shin et al., 2006).

#### **다. 통계학적 분석**

후두 편평세포병변에 따른 Galectin-3과 Pim-1의 발현 정도와의 관련성을 Chi-Square test를 이용하여 검정하였고,  $p < 0.05$ 인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

# Ⅲ. 결 과

## 1. 임상 및 조직학적 소견

임상병기에 따른 분류는 조기 암(병기 I, II) 30예(39.0%), 진행암(병기 III, IV) 47예(61.0%)였고, 이들 중 22예(28.6%)는 림프절 전이군, 55예(71.4%)는 림프절 비전이군이였다. 연령분포는 29~81세(평균연령; 63세)였으며, 남녀 성비는 9.35:0.65(72:5)이였다. 조직학적 분화도에 따른 종양등급은 고분화암 23예(51.1%), 중등도 분화암 17예(37.8%), 저분화암 5예(11.1%)였다(표 1).

## 2. Galectin-3과 Pim-1의 면역조직화학적 발현

Galectin-3은 4예(5.2%)가 category I, 30예(39.0%)가 category II의 발현을 보였고, 43예(55.8%)에서 category III의 발현을 보였으며 category II,III를 양성으로 판정하였을때 음성발현 4예(5.2%), 양성발현 73예(94.8%)였다(표 2).

Pim-1은 10예(13.0%)가 category I, 31예(40.2%)가 category II의 발현을 보였고, 36예(46.8%)에서 category III의 발현을 보였으며 category II,III를 양성으로 판정하였을때 음성발현 10예(13.0%), 양성발현 67예(87.0%)였다(표 2).

## 3. 임상병기와 임상·병리학적 지표와의 상관 관계

임상병기와 Galectin-3과 Pim-1의 발현정도를 살펴보면 Galectin-3은 임상병기 I, II의 조기암군에서 93.3%의 양성발현을 보였고, III, IV의 진행암군에서 95.7%의 양성발현을 보여서, 임상병기가 진행할수록 양성발현이 증가하는 소견을 보였으며 이는 통계학적으로 유의한 상관관계가 있었다( $p=0.000$ ). Pim-1의 경우에서도 임상병기 I, II의 조기암군에서 80.0%의 양성발현을 보

였고, III, IV의 진행암군에서 91.5%의 양성발현을 보여, 병기가 진행할수록 양성발현이 증가하는 소견을 보였으며 이는 통계학적으로 유의한 상관관계가 있었다( $p=0.000$ )(표 3).

#### 4. 림프절 전이유무와 임상·병리학적 지표와의 상관 관계

림프절 전이유무와 Galectin-3과 Pim-1의 발현정도를 살펴보면 Galectin-3의 경우 림프절 전이군에서 양성발현이 더 강하게 나타났으나 통계학적으로 유의한 상관관계는 없었다. 하지만 Pim-1의 경우 림프절 비전이군에서 83.6%의 양성발현을 보였고, 림프절 전이군에서 95.5%의 양성발현을 보여, 림프절 전이가 일어난 경우 양성발현이 증가하는 소견을 보였으며 이는 통계학적으로 유의한 상관관계가 있었다( $p=0.014$ )(표 4).

#### 5. 병리조직학적 등급과 임상·병리학적 지표와의 상관 관계

종양의 병리조직학적 등급과 Galectin-3과 Pim-1의 발현정도를 살펴보면 Galectin-3은 분화도가 높을 수록 양성발현이 증가하는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 상관관계는 없었다(표 5). 즉, 분화가 좋지 않은 경우 Galectin-3의 양성발현이 감소하는(그림 1) 반면, 분화가 잘 된 종양의 경우 양성발현이 증가하는(그림 2) 경향을 보였다. 또한 종양주변에 침윤된 염증세포(주로 림프구)에서도 Galectin-3의 면역발현이 강하게 관찰되었다. 종양 주변의 정상 상피층을 대상으로 Galectin-3의 발현양상을 분석하면 기저세포층을 제외하고 방기저세포층 이상에서 약한 양성반응을 확인할 수 있었다. 또한 일부 종양에서 Galectin-3의 핵내발현이나 세포막 염색을 관찰할 수 있었으나(그림 2) 다른 인자들과의 유의한 관련성은 관찰할 수 없었다.

Pim-1의 경우는 분화도가 좋지 않을수록 양성발현이 증가하는 소견을 보였으나 통계학적으로 유의한 상관관계는 없었다(표 5). Pim-1은 세포질 염색이 관찰되는 경우 양성으로 판정하였는데, 미만성으로 약한 면역발현을 보이



거나(그림 3), 미만성 면역발현을 보이는 배경하에 강한 세포질내 면역발현을 보이는 양상을 관찰할 수 있었다(그림 4).

## 6. 원발종양병기와 임상·병리학적 지표와의 상관 관계

원발종양병기와 Galectin-3과 Pim-1의 발현정도를 살펴보면 Galectin-3은 조기병기인 T1, 2에서 91.7%의 양성발현을 보였고, 진행된 병기인 T3, 4에서 97.6%의 양성발현을 보여서, 원발종양병기가 진행할수록 양성발현이 증가하는 소견을 보였으며 이는 통계학적으로 유의한 상관관계가 있었다( $p=0.000$ ). Pim-1의 경우에서도 T1, 2에서 80.6%의 양성발현을 보였고, T3, 4에서 92.7%의 양성발현을 보여, 원발종양병기가 진행할수록 양성발현이 증가하는 소견을 보였으며 통계학적으로 유의한 상관관계가 있었다( $p=0.007$ )(표 6).

## 7. Galectin-3과 Pim-1 발현의 상호 상관관계

Galectin-3과 Pim-1사이에는 Galectin-3의 양성발현율이 증가할수록 Pim-1의 양성발현율이 증가하였으며 이는 통계학적으로 유의한 상관관계가 있었다( $p=0.000$ )(표 7).

## IV. 고찰

두경부 편평세포암종은 다른 암종에 비하여 보다 빈번한 재발로 치료에 곤란을 겪는 경우가 많다. 일반적으로 종양의 특성은 악성도에 의해 결정되지만 동일한 종양이라 할지라도 진단과 치료 및 예후 등이 다르므로, 각각의 종양세포에서 성장인자와 그 수용체들, 변형된 암유전자, 그리고 종양 단백을 검색하여 서로 다른 종양에서의 악성도 및 예후와의 관계를 규명하여 임상적 예후판단 및 치료선택에 있어서 좀 더 다양하게 접근하려는 노력이 행하여지고 있다. 특히 후두암의 발생 및 경과에 대한 특성을 결정 지을 수 있는 인자들을 찾기 위한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 최근에는 암의 발생에 대한 분자유전학적 연구가 다양하게 진행되고 있다. 그 가운데 면역조직화학적 염색법을 이용한 종양 단백질의 검색은 악성병변, 전암병변 및 양성병변을 동일 조건하에서 관찰하여 암소 주위의 정상적인 비종양 병변부의 조직상 변화와 비교 검색할 수 있고 특히, 동일한 환자의 전암 병변이 악성으로 전환하였을 경우, 동일 세포 주위에서 암 유전자 산물의 관찰이 가능하기 때문에 암의 발생에 관여하는 기전을 예측할 수 있는 인자로서 주목 받고 있다. 두경부 편평세포암을 포함한 고형 종양에서는 정상 조직에서는 보이지 않는 저산소 영역을 가지고 있고 이 저산소 환경은 항암화학요법이나 방사선치료에 저항을 나타내며 악성종양의 진행을 유발하는 것으로 알려져 있다. 이러한 저산소 환경에서 Galectin-1을 포함한 단백질의 분비가 이루어진다는 것이 밝혀지고 있으며(Le et al., 2005) 저산소 환경에서 분비되어질 수 있는 다른 단백질에 대한 연구도 필요한 것으로 보인다. Galectin은 두경부 편평세포암의 분화에 관계하는 것으로 알려져 있으며 몇몇 연구에서 두경부 편평세포암의 생물학적 공격성이 Galectin-3의 발현과 밀접한 관계가 있음이 보여지고 있다. Honjo 등(2000)은 설암을 대상으로 정상에서 악성종양으로 진행되는 동안

Galectin-3의 핵 발현은 감소하였으며 세포질의 발현은 증가하였다고 하였고 세포질의 증가된 발현은 설암환자들의 생존율과 관계있다고 하였다. Wu 등(2005)은 정상 비인두 조직과 비인두암의 조직을 비교하여 Galectin-3의 발현이 종양세포에서 더 높음을 보고 하였다. Coli 등(2002)은 여포성 갑상선 암종과 양성 갑상선종, 정상 갑상선 조직을 비교한 연구에서 Galectin-3의 표현이 악성 종양에서 증가하는 소견을 보인다고 보고하였으나 Mehrotra 등(2004)은 Galectin-3이 양성 및 악성 갑상선 종양의 감별에 유의하지 않다고 보고하였다. 또한 구강암을 대상으로한 연구에서는 종양의 진행과 관련하여 표현이 감소하였다고 보고가 있고(Honjo et al., 2000), 최근에 Teymoortash 등(2006)은 선양낭성암종의 전이를 예측하는데 유용한 인자라고 보고하였다. Piantelli 등(2002)은 후두편평세포암종에서 Galectin-3의 발현이 예후인자로서의 가치가 있는지 연구하였는데 Galectin-3의 발현이 많을수록 생존율이 높다고 하였으며 악성도가 고도인 종양, 비각화 편평상피암종, Galectin-3 음성인 종양들에서는 재발 및 사망 위험율이 높았다고 하였다. Plzak 등(2004)은 구인두 및 후두 편평세포암종을 대상으로 Galectin-3의 낮은 발현율이 나쁜 예후와 연관이 있다고 하였으며 높은 병기의 하인두 편평세포암종에서는 예후와 관련이 없다고 보고하였다. 정상 조직에서 Galectin-3은 더 표면층에서 보이는 경향이 강하고 종양 조직에서는 Galectin-3이 더욱 분화도가 좋은 종양에서 보이는 경향이 강하다(Gillenwater et al., 1996). 따라서 두경부 세포암의 분화가 낮은 부위에서 Galectin-3의 발현이 감소하는 것으로 보인다는 것이 최근 연구의 공통점이다(Choufani et al., 1999; Delorge et al., 2000; Plzak et al., 2001; Holikova et al., 2002; Betka et al., 2003). 이와 같이 여러 연구에서 대조적인 결과를 보이는 것은 Galectin-3 단백질이 실험적으로 세포의 자멸사를 억제하기는 하지만 생체 내에서는 다양한 기전으로 종양의 진행에 영향을 미치고 세포의 종류에 따라 Galectin-3 단백질의 활성이 다양하게 나타날 수 있음을 시사한다. Galectin-3이 결합하는 부위는 2개의 desmosomal proteins(desmoplakin-1, desmoglein)이며 두경부 편평세포암종

의 desmosome 형의 세포간 결합에 중요한 역할을 하는 것으로 보이고(Plzak et al., 2001; Betka et al., 2003), 세포 표면에서 laminin,  $\beta$ 1-integrin, cadherin 같은 당단백과의 결합을 조절하는 것으로 보인다(Andre et al., 1999). 본 연구에서는 세포질의 염색상을 기준으로 발현정도를 결정하였고 Honjo 등(2000)의 연구에서와 같이 임상병기 및 원발종양의 병기가 진행할수록 양성발현율이 증가하는 것으로 나타났다. 이는 핵의 염색상과는 반대의 소견을 보이며 예후인자로서의 가치가 있을 것으로 생각된다. 분화도와 관련해서 최근 연구들과 같이 분화도가 낮을수록 Galectin-3의 발현이 떨어졌으나 통계학적으로 유의한 결과를 보여주지는 못했다. 이것은 본 연구의 저분화도의 예가 5예로 적어 그러한 것으로 생각된다.

Pim-1은 세포 자멸사를 억제하여 종양생성에 관여하는 것으로 알려져 있으며 주로 전립선암과 악성 림프종에서 연구되어졌다. Pim-1은 tyrosine kinase와 직접 결합하여 종양 억제인자인 p53과 경쟁하는 tyrosine kinase의 활성도를 조절한다. Wang 등(2001)은 Pim-1이 tyrosine phosphatase를 불활성화시켜 골수 세포 분화에서 자멸사를 억제한다고 하였고 Pircher 등(2000)은 쥐의 조혈 세포에서 Co60과 adriamycin에 의해 야기된 자멸사를 억제한다고 하였다. Rahman 등(2001)은 Pim-1의 발현은 IL-6에 의존하며 IL-6이 감소하는 경우 발현이 감소하여 자멸사가 증가된다고 하였다. 종양의 침습 및 전이와 관련해서는 전립선암의 경우 관련성이 보고되고 있지만(Cibull et al., 2006) 아직까지 두경부 편평세포암을 대상으로 한 연구에서는 두가지의 결과만이 보고되어 있다. Chiang 등(2006)은 36예의 구강 편평세포암종과 정상 조직을 대상으로 연구한 결과 구강 편평세포암종군에서 Pim-1의 양성발현율이 더 높게 나타났으며 이것은 정상조직이 구강 편평세포암으로 이행하는데 Pim-1의 역할이 있을 것으로 생각된다고 하였다. Beier 등(2007)도 두경부 편평세포암종을 대상으로 면역조직화학적 염색의 발현이 침습성 두경부 편평세포암에서 더욱 증가된다는 것을 보고하였으나 임상병기와 조직학적 분화도와의 상관관계는 없었다고 하였다. 본 연구에서도 임상병기 및 원발종양

병기가 진행할수록 양성발현율이 증가하는 것으로 나타났으며 이는 예후인자로서의 가치가 있을 것으로 생각된다. 분화도와 관련해서 Beier 등(2007)의 연구에서와는 달리 조직학적 분화도가 좋지 않을수록 Pim-1의 발현이 증가하였으나 통계학적으로 유의하지는 않았다. 이는 Galectin-3의 경우에서와 같이 본 연구의 저분화도 예가 5예로 적어 그러한 것으로 생각된다.. 이와같이 임상병기 및 원발종양 병기, 림프절 전이가 진행할수록 더욱 과발현되는 것으로 보아 Pim-1이 후두 편평세포암종에서 자멸사 감소, 성장 촉진 등을 일으켜 암의 진행에 관여할 것으로 보인다. 본 연구에서 Galectin-3 단백질과 Pim-1 단백질의 상호 발현 관계를 분석한 결과 양의 상관관계가 있었지만 두 단백질간의 상호 작용을 알수는 없었다. 하지만 이들 단백질이 세포자멸사를 억제하고 종양의 진행에 영향을 미치는 것으로 보이며 다른 종양억제 유전자 혹은 세포자멸사와 관련한 다른 인자들과의 상호작용에 관한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

후두 편평세포암종 77예의 파라핀 포매조직을 대상으로 Galectin-3과 Pim-1의 면역조직화학적 염색을 시행하여 그 발현율과 임상병기, 림프절 전이 유무, 조직학적 등급 및 원발종양병기와의 상관관계를 살펴보고 통계학적 분석을 통하여 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

Galectin-3과 Pim-1은 세포자멸사를 억제하여 후두 편평세포암종의 증식, 침습 및 전이에 관여함을 알 수 있었고, Galectin-3과 Pim-1의 발현은 후두 편평세포암종의 악성도나 종양병기, 조직학적분화도와의 관련성을 결정하는데 제한적으로나마 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 본 연구의 결과를 토대로 Galectin-3과 Pim-1에 대한 분석을 더욱 심층화하여 두경부암의 발암 기전과 생물학적 특성을 밝힐 수 있을 것으로 생각된다. 하지만 Galectin-3과 Pim-1의 발현이 후두 편평세포암종의 악성도나 구체적인 예후와의 관련성을 결정하는데 보조적인 방법으로 사용되기 위해서는 보다 많은 증례를 이용한 객관적인 검토가 필요하리라 여겨진다.

## VI. 참고 문헌

- Andre S, Frisch B, Kaltner H, et al.. "Galectins-1 and -3 and their ligands in tumor biology." *J Cancer Res Clin Oncol* **125**:461-474, 1999.
- Beier UH, Weise JB, Laudien M, et al.. "Overexpression of Pim-1 in head and neck squamous cell carcinomas." *Int J Oncol* **30**:1381-1387, 2007.
- Betka J, Plzak J, Smetana K Jr, Gabius HJ. "Galectin-3, an endogenous lectin, as a tool for monitoring cell differentiation in head and neck carcinomas with implications for lectin-glycan functionality." *Acta Otolaryngol* **123**:261-263, 2003.
- Chiang WF, Yen CY, Lin CN, et al.. "Up-regulation of a serine-threonine kinase proto-oncogene Pim-1 in oral squamous cell carcinoma." *Int J Oral Maxillofac Surg* **35**:740-745, 2006.
- Choufani G, Nagy N, Saussez S, et al.. "The levels of expression of galectin-1, galectin-3, and the Thomsen Friedenreich antigen and their binding sites decrease as clinical aggressiveness increases in head and neck cancers." *Cancer* **86**:2353-2363, 1999.
- Cibull TL, Jones TD, Li L, et al.. "Overexpression of Pim-1 during progression of prostatic adenocarcinoma." *J Clin Pathol* **59**:285-288, 2006.
- Coli A, Bigotti G, Zucchetti F, et al.. "Galectin-3, a marker of well-differentiated thyroid carcinoma, is expressed in thyroid nodules with cytological atypia." *Histopathology* **40**:80-87, 2002.
- Danguy A, Camby I, Kiss R. "Galectins and Cancer." *Biochem Biophys Acta* **19**:285-293, 2002.

- Danguy A, Rorive S, Decaestecker C, et al.. "Immunohistochemical profile of galectin-8 expression in benign and malignant tumors of epithelial, mesenchymatous and adipous origins, and of the nervous system." *Histol Histopathol* **16**:861-868, 2001.
- Delorge S, Saussez S, Pelc P, et al.. "Correlation of galectin-3/galectin-3 binding sites with low differentiation status in head and neck squamous cell carcinomas." *Otolaryngol Head Neck Surg* **122**:834-841, 2000.
- Dhanasekaran SM, Barrette TR, Ghosh D, et al.. "Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer." *Nature* **412**:822-826, 2001.
- Gillenwater A, Xu XC, el-Naggar AK, et al.. "Expression of galectins in head and neck squamous cell carcinoma." *Head Neck* **18**:422-432, 1996.
- Holikova Z, Hrdlickova-Cela E, Plzak J, et al.. "Defining the glyco phenotype of squamous epithelia using plant and mammalian lectins. Differentiation dependent expression of  $\alpha$ 2,6- and  $\alpha$ 2,3-linked N-acetylneuraminic acid in squamous epithelia and carcinomas, and its differential effect on binding of the endogenous lectins galectins-1 and -3." *APMIS* **110**:845-856, 2002.
- Honjo Y, Inohara H, Akahani S, et al.. "Expression of cytoplasmic galectin-3 as a prognostic marker in tongue carcinoma." *Clin Cancer Res* **6**:4635-4640, 2000.
- Hughes RC. "Mac-2: a versatile galactose-binding protein of mammalian tissues." *Glycobiology* **4**:5-12, 1994.
- Kasamatsu A, Uzawa K, Nakashima D, et al.. "Galectin-9 as a regulator of cellular adhesion in human oral squamous cell lines." *Int J Mol Med* **16**:269-273, 2005.
- Krzyslak A, Lipinska A. "Galectin-3 as a multifunctional protein." *Cell Mol*



*Biol Lett* **9**:305–328, 2004.

Le QT, Shi G, Cao H, et al.. "Galectin-1: a link between tumor hypoxia and tumor immune privilege." *J Clin Oncol* **23**:8932–8941, 2005.

Liu FT, Rabinovich GA. "Galectins as modulators of Tumour progression." *Nat Rev Cancer* **5**:29–41, 2005.

Mehrotra P, Okpokam A, Bouhaidar R, et al.. "Galectin-3 does not reliably distinguish benign from malignant thyroid neoplasms." *Histopathology* **45**:493–500, 2004.

Piantelli M, Iacobelli S, Almadori G, et al.. "Lack of expression of galectin-3 is associated with a poor outcome in node-negative patients with laryngeal squamous cell carcinoma." *J Clin Oncol* **20**:3850–3856, 2002.

Pircher TJ, Zhao S, Geiger JN, et al.. "Pim-1 kinase protects hematopoietic FDC cells from genotoxin induced death." *Oncogene* **19**:3684–3692, 2000.

Plzak J, Betka J, Smetana K Jr, et al.. "Galectin-3—an emerging prognostic indicator in advanced head and neck carcinoma." *Eur J Cancer* **40**:2324–2330, 2004.

Plzak J, Smetana K Jr, Hrdlickova E, et al.. "Expression of galectin-3 reactive ligands in squamous cancer and normal epithelial cells as a marker of differentiation." *Int J Oncol* **19**:59–64, 2001.

Rahman Z, Yoshikawa H, Nakajima Y, Tasaka K. "Downregulation of Pim-1 and Bcl-2 is accompanied with apoptosis of interleukin-6-depleted mouse B-cell hybridoma 7TD1 cells." *Immunol Lett* **75**:199–208, 2001.

Shin DH, Lee CH, Kang HJ, et al.. "Significance of Galectin-3 expression in pulmonary non-small cell carcinoma" *Kor J Patho* **40**:326–332, 2006.

- Tahara, E.. "Growth Factors and Oncogenes in Human Gastric Carcinoma." *J Cancer Res* **116**:121-128, 1990.
- Teymoortash A, Pientka A, Schrader C, et al.. "Expression of galectin-3 in adenoid cystic carcinoma of the head and neck and its relationship with distant metastasis." *J Cancer Res Clin Oncol* **132**:51-56, 2006.
- Wang Z, Bhattacharya N, Meyer MK, et al.. "Pim-1 negatively regulates the activity of PTP-U2S phosphatase and influences terminal differentiation and apoptosis of monoblastoid leukemia cells." *Arch Biochem Biophys* **390**:9-18, 2001.
- Wang Z, Bhattacharya N, Weaver M, et al.. "Pim-1: a serine/threonine kinase with a role in cell survival, proliferation, differentiation and tumorigenesis." *J Vet Sci* **2**:167-179, 2001.
- Wu CC, Chien KY, Tsang NM, et al.. "Cancer cell secreted proteomes as a basis for searching potential tumor markers: nasopharyngeal carcinoma as a model." *Proteomics* **5**:3173-3182, 2005.

*Table 1. Clinical, epidemiologic, and histologic characteristics of 77 patients with laryngeal squamous cell carcinoma*

Characteristics	No. (%)
No. of patients	77(100)
Age(yrs.)	
Mean	63
Range	29-81
Gender	
Male	72(93.5)
Female	5(6.5)
Clinical stage	
Early(I,II)	30(39.0)
I	14
II	16
Advanced(III,IV)	47(61.0)
III	22
IV	25
Lymph node metastasis	
Yes	22(28.6)
No	55(71.4)
Histologic grade	
Well differentiated	23(51.1)
Moderately differentiated	17(37.8)
Poorly differentiated	5(11.1)
Tumor stage	
Early(1,2)	36(46.8)
1	16
2	20
Advanced(3,4)	41(53.2)
3	25
4	16

*Table 2. The immunohistochemical results for Galectin-3 and Pim-1 in laryngeal squamous cell carcinoma*

	No. of cases (%)			
	Category I	Category II	Category III	total
Galectin-3	4(5.2)	30(39.0)	43(55.8)	77(100.0)
Pim-1	10(13.0)	31(40.2)	36(46.8)	77(100.0)

*Table 3. The statistical analysis of immunohistochemical Galectin-3 and Pim-1 expression according to the clinical stage (%)*

		Clinical stage		Total
		early (I, II) (n=30)	advanced (III, IV) (n=47)	
Galectin-3*	negative	2(6.7)	2(4.3)	4
	positive	28(93.3)	45(95.7)	73
Pim-1*	negative	6(20.0)	4(8.5)	10
	positive	24(80.0)	43(91.5)	67

\* : Statistically significant, p value<0.05

*Table 4. The statistical analysis of immunohistochemical Galectin-3 and Pim-1 expression according to the nodal status (%)*

		Nodal status		Total
		negative (n=55)	positive (n=22)	
Galectin-3	negative	3(5.5)	1(4.5)	4
	positive	52(94.5)	21(95.5)	73
Pim-1*	negative	9(16.4)	1(4.5)	10
	positive	46(83.6)	21(95.5)	67

\* : Statistically significant, p value<0.05

*Table 5. The statistical analysis of immunohistochemical Galectin-3 and Pim-1 expression according to the histologic differentiation (%)*

		Histologic differentiation			Total
		WD (n=23)	MD (n=17)	PD (n=5)	
Galectin-3	negative	0	2(11.8)	1(20.0)	3
	positive	23(100.0)	15(88.2)	4(80.0)	42
Pim-1	negative	3(13.0)	2(11.8)	0	5
	positive	20(87.0)	15(88.2)	5(100.0)	40

WD : well differentiated

MD : moderately differentiated

PD : poorly differentiated

*Table 6. The statistical analysis of immunohistochemical Galectin-3 and Pim-1 expression according to the tumor stage (%)*

		Tumor stage		Total
		early (T1,2)	advanced (T3,4)	
Galectin-3*	negative	3(8.3)	1(2.4)	4
	positive	33(91.7)	40(97.6)	73
Pim-1*	negative	7(19.4)	3(7.3)	10
	positive	29(80.6)	38(92.7)	67

\* : Statistically significant, p value<0.05



*Table 7. Relationships of immunohistochemical Galectin-3 and Pim-1 coexpression*

	Galectin-3	Pim-1
Galectin-3	NA	0.544*
Pim-1	0.544*	NA

NA: Not applicable

\* : Statistically significant, p value<0.05

## 논문 사진부도 I

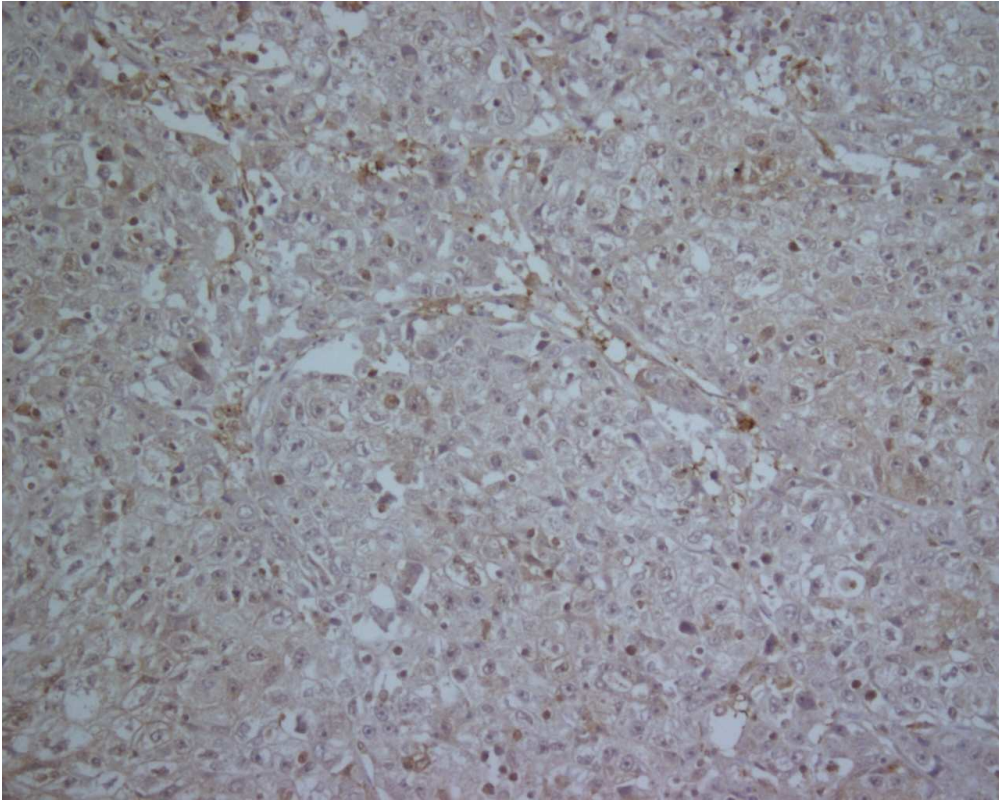


Fig. 1. Immunohistochemical staining for Galectin-3 in poorly differentiated laryngeal squamous cell carcinoma. Alternating pattern of strong and weak immunoreactivity was observed. (LSAB method, counterstained by hematoxylin,  $\times 200$ )

## 논문 사진부도 II

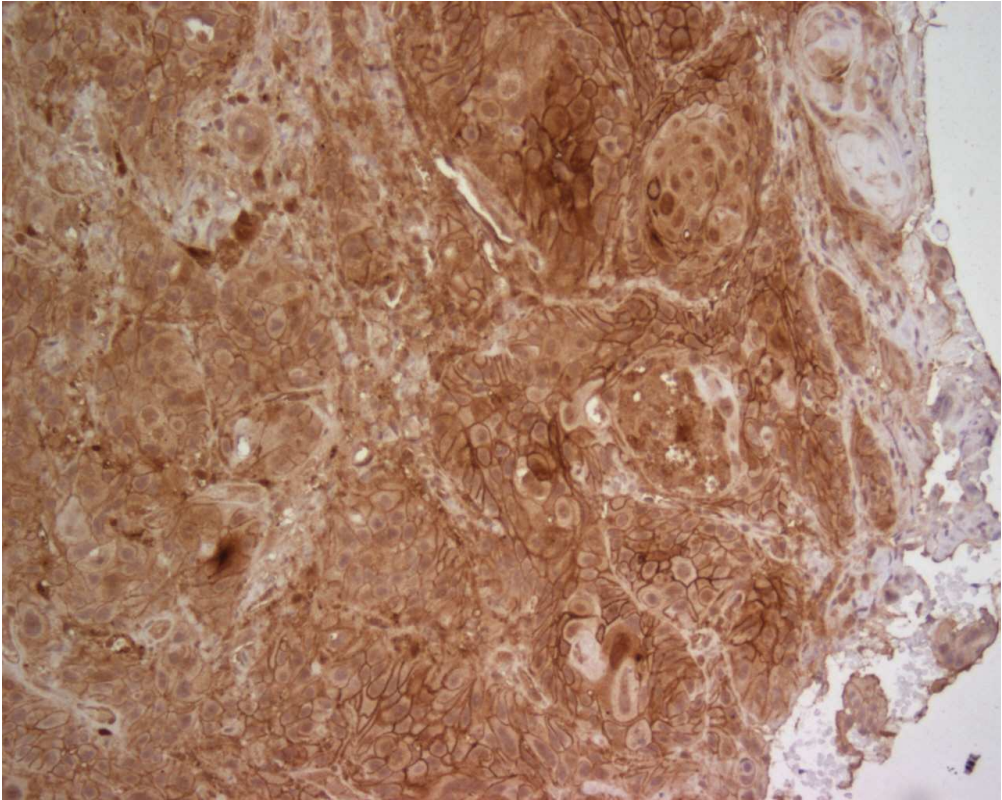


Fig. 2. Immunohistochemical staining for Galectin-3 in well differentiated laryngeal squamous cell carcinoma. Intense immunoreactivity was noted in nuclei, cytoplasm, and cell membranes of tumor cells. Nuclear and membranous cytoplasmic stainings were identified, too.

(LSAB method, counterstained by hematoxylin,  $\times 200$ )

### 논문 사진부도 Ⅲ

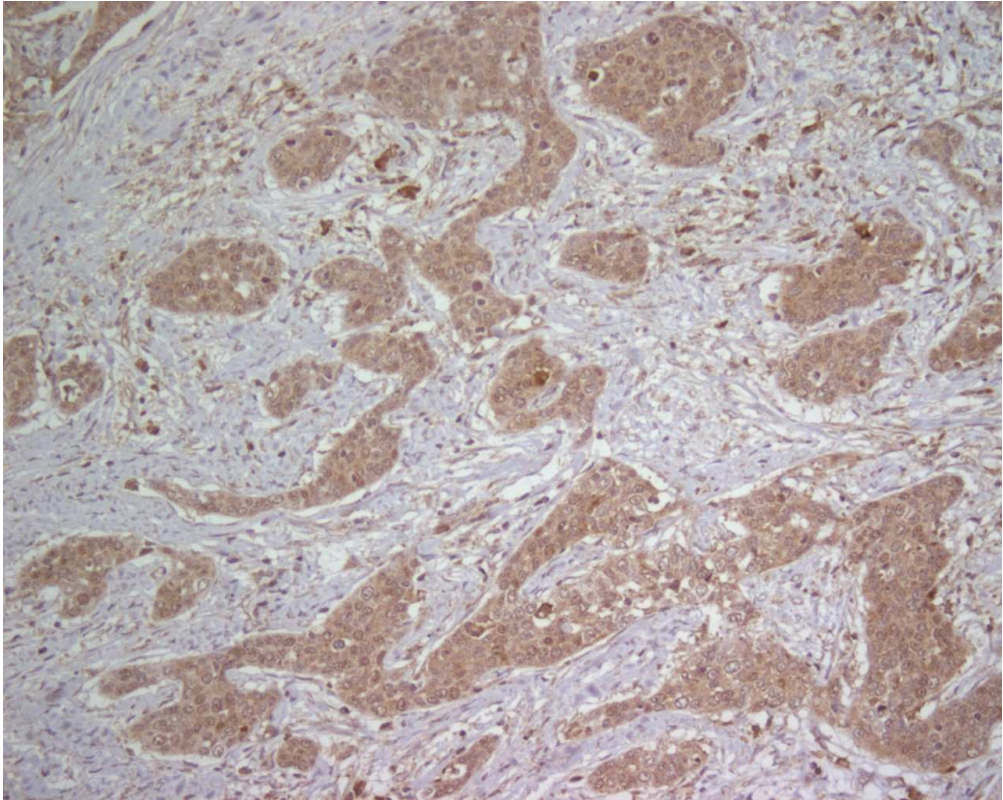


Fig. 3. Weak immunoexpression for Pim-1 in the squamous cell carcinoma of the larynx. Weak cytoplasmic immunohistochemical staining was demonstrated diffusely in the malignant tumor cells. (LSAB method, counterstained by hematoxylin,  $\times 200$ )

## 논문 사진부도 IV

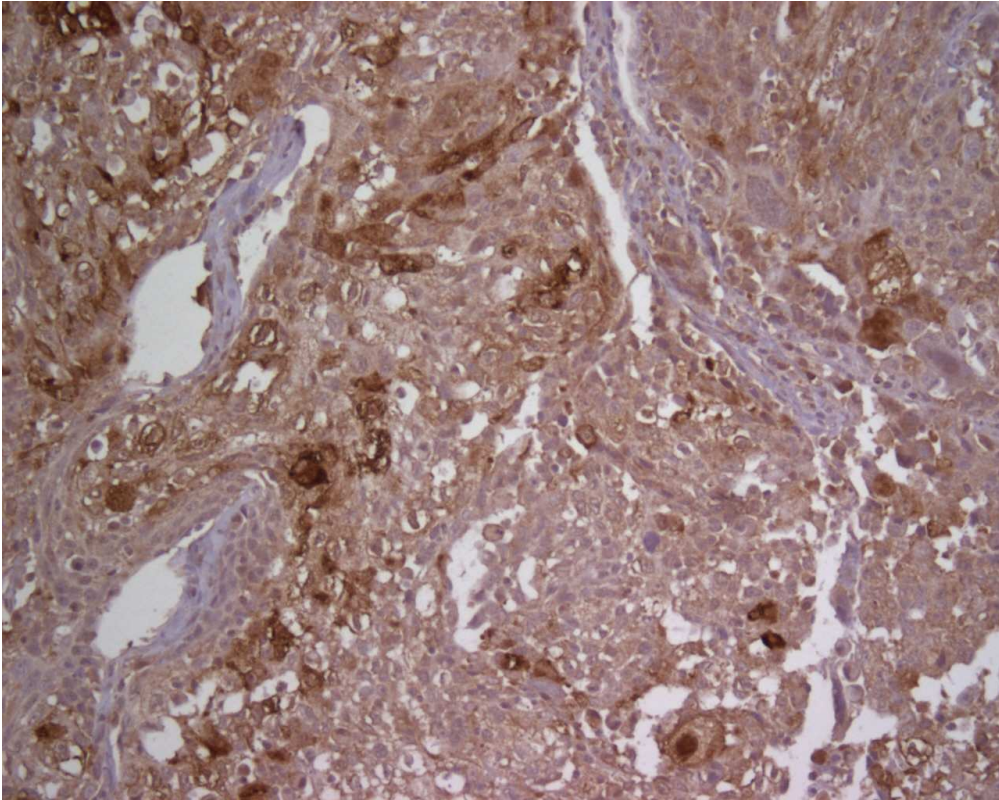


Fig. 4. Strong immunorexpression for Pim-1 in the squamous cell carcinoma of the larynx. Strong cytoplasmic immunohistochemical staining was observed in the background of weak cytoplasmic immunorexpression of malignant tumor cells.  
(LSAB method, counterstained by hematoxylin,  $\times 200$ )

## 저작물 이용 허락서

학 과	의학과	학 번	20067365	과 정	박 사
성 명	한글 : 조 성일      한문 : 趙 成一      영문 : Cho Sung-il				
주 소	광주광역시 북구 임동 한국아텔리움 201동 1402호				
연락처	E-MAIL : chosi@chosun.ac.kr				
논문 제목	한글 : 후두 편평세포암종에서 Galectin-3과 Pim-1의 발현				
	영문 : The expression of Galectin-3 and Pim-1 in laryngeal squamous cell carcinoma				

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

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 작품의 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 허락 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( ○ )    반대(    )

2008년    2월    일

저작자 : 조 성일 (서명 또는 인)

## 조선대학교 총장 귀하