

2009년 2월

박사학위논문

표피종양에서 Cathepsin 계열의  
면역조직화학적 발현 양상

조선대학교 대학원

의 학 과

조 도 연

표피종양에서 Cathepsin 계열의  
면역조직화학적 발현 양상

Immunohistochemical Expression of Cathepsin Series  
in Epidermal Tumors

2009 年 2 月 日

조선대학교 대학원

의 학 과

조 도 연

# 표피종양에서 Cathepsin 계열의 면역조직화학적 발현 양상

지도교수 : 최 규 철

이 논문을 의학박사학위 신청 논문으로 제출함.

2008 年 10 月 日

조선대학교 대학원

의 학 과

조 도 연

# 조도연의 박사학위 논문을 인준함

위원장 : 조선대학교 교수 정병수 인

위원 : 전북대학교 교수 임철완 인

위원 : 전남대학교 교수 원영호 인

위원 : 조선대학교 교수 기근홍 인

위원 : 조선대학교 교수 최규철 인

2008 년 12 월 일

조선대학교 대학원

## 목 차

표목차	i
도목차	ii
영문초록	iii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	3
III. 결과	6
IV. 고찰	9
V. 결론	12
참고문헌	14
표 및 사진부도	17

## 표 목 차

Table 1. General characteristic of choose cases for this study.

Table 2. Used primary antibody in this study.

Table 3. Positive cell rates in seborrheic keratosis, Bowen's disease, verrucous carcinoma, basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma

## 도 목 차

Figure 1. Diagram of positive cell rates in seborrheic keratosis, Bowen's disease, verrucous carcinoma, basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma

Figure 2. Expression patterns of cathepsin B (left upper: Bowen's disease, right upper: basal cell carcinoma, left lower: verrucous carcinoma, right lower: squamous cell carcinoma). Higher positive cells in squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma and verrucous carcinoma rather than Bowen's disease.

Figure 2. Expression patterns of cathepsin D (left upper: Bowen's disease, right upper: basal cell carcinoma, left lower: verrucous carcinoma, right lower: squamous cell carcinoma). Higher positive cells in squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma and verrucous carcinoma rather than Bowen's disease.

Figure 3. Expression patterns of cathepsin L (left upper: Bowen's disease, right upper: basal cell carcinoma, left lower: verrucous carcinoma, right lower: squamous cell carcinoma). Low positive cells in all epidermal tumors.

Figure 4. Expression patterns of cathepsin S (left upper: Bowen's disease, right upper: basal cell carcinoma, left lower: verrucous carcinoma, right lower: squamous cell carcinoma). Higher positive cells in basal cell carcinoma, verrucous carcinoma and squamous cell carcinoma rather than Bowen's disease .

# ABSTRACT

## Immunohistochemical Expression of Cathepsin Series in Epidermal Tumors

Cho Do-Youn

Advisor : Prof. Choi, Kyu-Chul, M.D.,Ph.D.

Department of Medicine,

Graduate School of Chosun University

**Background:** Premalignant and malignant epithelial tumor of the skin is common in clinical field. Premalignant tumors progress to invasive carcinoma later several years. So, diagnosis of premalignant tumor is important to treatment and prognosis of patients. The cathepsins are associated with invasion and metastasis of malignant tumor cells via the degradation of extracellular matrix components.

**Purpose:** To investigate expression pattern of cathepsin series between premalignant lesion and malignant tumor of skin, immunohistochemical staining was done based on the percentages of positive neoplastic cells.

**Materials and Method: Method :** Immunohistochemical staining for cathepsins B, D, E, G, L and S were performed for seborrheic keratosis, Bowen's disease, basal cell carcinoma, verrucous carcinoma, and squamous cell carcinoma of the skin. The evaluation of positive cell rates for cathepsin B, D, E, G, L and S was based on percentages of positive neoplastic cells.



**Result:** The average proportion of positive cells for cathepsin B was higher in squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma and verrucous carcinoma rather than seborrheic keratosis and Bowen's disease. Cathepsin D showed similar pattern with cathepsin B. Cathepsin E showed higher positive cell rates in all squamous cell tumors, and there was no correlation between each others. Cathepsin G showed higher in Bowen's disease, squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma and verrucous carcinoma than benign seborrheic keratosis. Cathepsin L showed low positive cell rates in all squamous cell tumors with no statistical significance. Cathepsin S showed higher positive cell rates in seborrheic keratosis, basal cell carcinoma, verrucous carcinoma and squamous cell carcinoma rather than Bowen's disease .

**Conclusion:** These results suggest that cathepsin B and D are correlated with tumor invasion of skin tumor. Cathepsin G showed significant change in transformation of malignant tumor cells from benign squamous epithelium. Cathepsin E, L and S showed no correlation with tumor progression or invasion. Cathepsin S may be correlate with degree of squamous differentiation.

Key words : Cathepsin, Epidermal tumor

# I. 서 론

피부에 발생하는 종양은 표피세포와 피부 부속기에서 발생하는 종양이 대부분을 이루고 있다. 표피세포에서 발생하는 전암성 병변은 일부에서 침윤암으로 진행하므로 이에 대한 조기 진단은 환자 예후를 결정하는데 중요하다. 피부의 표피세포에서 발생하는 피부암은 기저세포암(basal cell carcinoma)이 가장 흔히 발생하지만 전이를 일으키는 암종으로는 편평세포암(squamous cell carcinoma)이 가장 많이 발생한다. 표피층에서 발생된 종양은 진피층과 피하지방으로 진행하며, 주변 장기로 침투하거나, 주변 림프절로 전이를 일으키는 것이 대부분의 진행 경과이다. 이러한 암종의 진행에 관여하는 물질들에 대한 분자생물학적 연구가 활발하게 이루어지고 있다. Frohlich 등(2004)의 연구에 의하면 기저세포암에서 cathepsin 일부가 침윤과 관련이 있다고 보고하였다.

Cathepsin은 단백질해 효소로 여러 유형이 발견되었고, 세포외 기질을 파괴하여 암종의 침습이나 전이과정에 관여하는 것으로 알려져 있다(Jedeszko & Sloane, 2004). Cathepsin은 caspase-비의존성 세포 고사를 매개하는 기능이 있는 세포내 단백질해효소로 간주되고 있다(Lockshin & Zakeri, 2004). Cysteine 계열 단백질해효소 유형으로 B, C, F, L, H, K, S, O, V, X, W 계열이 있고(Puzer et al., 2008; Abisi et al, 2007), aspartyl 계열에는 D와 E, Serine 계열로 A, G가 있다. 이들은 종류에 따라 서로 다른 성분의 단백 분해효소로 이루어져 있으므로 인체에 발생하는 암종의 종류에 따라 서로 다른 cathepsin이 작용할 것으로 여겨진다.

본 연구는 피부에 발생하는 여러 종양의 유형에 따라 여러 가지 cathepsin 계열에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하고, 이들에서의 발현 양상을 광학현미경하에서 관찰하여 양성세포율을 각 분류형과 통계학적으로 비교한다. 이를 바탕으로 표피내암종이 침윤암종으로 진행하는 경우

cathepsin 유형별 발현 양상의 변화를 관찰하고, 생검조직으로 채취되어 진단되는 표피종양이 침습되어 있을 가능성이 높은 경우를 유추하는 지표로 삼고자 한다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

#### 가. 증례 선정

조선대학교 부속병원에서 피부에 발생한 종양으로 절제되거나 생검된 환자 중 양성 종양으로 지루각화증 (seborrheic keratosis) 10예, 전구암병변으로 보웬병(Bowen's disease)으로 진단된 10예, 그리고 악성 종양으로 기저세포암 20예, 사마귀모양암(verrucous carcinoma) 5예, 그리고 편평세포암 20예를 연구 대상으로 하였다(Table 1). 지루각화증 10예는 남자 5예, 여자 5예였고 발생 연령은 평균 52.6세였다. 보웬병은 남자 7예, 여자 3예였고 발생 연령은 평균 57.1세였다. 사마귀모양암은 남자 4예, 여자 1예였고 발생 연령은 평균 62.4세였다. 기저세포암은 남자 7예, 여자 13예였고, 발생연령은 평균 65.8세였다. 편평세포암은 남자 12예, 여자 8예였고 발생 연령은 평균 72.0세였다.

#### 나. 실험시약

면역조직화학적 검사에 사용된 1차 항체는 polyclonal rabbit anti-cathepsin B, E, G, 그리고 polyclonal goat anti-cathepsin D, L, S 항체를 이용하였으며(Table 2), 염색은 rabbit antibody를 사용한 경우 streptavidin-biotin universal detection system (Immunotech Co, CA, USA)을 goat antibody를 시용한 경우는 ABC staining system (Santa Cruz Biotech., CA, USA)를 이용하였다. 발색은 3-amino-9-ethyl carbazole (AEC, Immunotech Co., CA, USA)을 이용하였다.

## 2. 연구방법

### 가. 광학현미경적 검사

절제된 조직들은 10% 중성 포르말린에 24시간 고정된 다음, 통상의 방법에 의해 파라핀에 포매하였다. 포매된 조직을 4  $\mu\text{m}$  두께로 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색을 실시하였다.

### 나. 면역조직화학적 검사

일반 광학현미경 검경 후 선택된 증례를 4  $\mu\text{m}$ 로 박절한 절편을 취하여 Probe on plus slide (Dako Co., CA, USA)에 얹어 탈파라핀과 합수 과정을 거친 후 saline sodium citrate 용액에 담가 Pueblo™ laboratory microwave oven (Ted Pella Inc, CA, USA)에 5분씩 3회 가열하였다. 그 후 PBS로 세척하고, 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ -methanol 용액으로 조직내 내인성 과산화 효소의 활성을 저지시킨다. 단백질과의 비특이성 결합을 억제시키기 위하여 정상 혈청을 실온에서 10분간 가하였다. 혈청을 털어서 제거하고, 본 연구에 사용된 일차항체들을 실온에서 1시간 반응시켰다. 이를 PBS로 세척하고 이차항체에 10분간 반응시키고, PBS 세척 후 streptavidin-biotin conjugate에 10분간 처리하였다. 다시 PBS로 세척하고 AEC를 반응시키며, hematoxylin으로 대조 염색을 실시한 후 crystal mount (Biomedica Corp., CA, USA)로 봉입하여 관찰하였다.

### 다. 면역조직화학적 염색결과 판정 및 통계학적 처리

양성(陽性)세포에 대한 판정 기준으로 일차항체의 종류에 따라 세포질이나 핵에 염색된 경우를 양성으로 하였다. 각각의 증례는 광학현미경

400배 시야에서 200~600개의 종양세포의 수를 세고 이들 중 양성으로 판정되는 세포의 수를 세어 백분율로 나타내었다. 1% 미만의 세포에 염색된 경우는 음성으로 판정하였다. 통계학적 처리는 마이크로소프트사의 엑셀 프로그램을 이용하여 평균값과 표준편차를 구하였고, Student *t*-test를 시행하였으며, 유의 수준은  $p < 0.05$ 로 하였다.

### III. 결 과

#### 1. Cathepsin B 발현 양상

Cathepsin B는 세포질에 발현되었다(Fig. 1). 지루각화증은 양성세포율이  $10.5 \pm 4.4\%$ 로 나타나 비교적 낮게 나타났으며, 주로 기저세포 부분에서 양성으로 관찰되었다. 보웬병에서는  $18.4 \pm 17.7\%$ 에서 발현을 보였으며 지루각화증에 비하여 높은 양성세포율을 보였으나 통계학적으로 유의 있는 차이는 보이지 않았다. 사마귀모양암에서는  $32.0 \pm 7.9\%$ 였으며 지루각화증이나 보웬병에 비하여 유의 있게 높았다. 기저세포암은  $33.9 \pm 14.3\%$ 의 양성세포율을 보였으며 지루각화증이나 보웬병에 비하여 높은 양성세포율을 보이고 통계학적으로 유의 있는 차이를 보였으나, 편평세포암에 비해 양성세포율은 조금 낮은 경향이 있으나 통계학적으로 유의 있는 차이는 아니었고 사마귀모양암과도 유의 있는 차이를 보이지 않았다. 편평세포암은  $52.9 \pm 12.4\%$ 를 보여 지루각화증이나 보웬병에 비하여 높은 양성세포율을 보이고 통계학적으로 유의 있는 차이를 보였다.

#### 2. Cathepsin D 발현 양상

Cathepsin D는 세포질에 발현되었다(Fig. 2). 지루각화증은 양성세포율이  $8.5 \pm 3.4\%$ 로 나타나 비교적 낮게 나타났으며 주로 기저세포 부분에서 양성으로 관찰되었다. 보웬병에서는  $19.4 \pm 14.7\%$ 에서 발현을 보였으며 지루각화증에 비하여 높은 양성세포율을 보였으나 통계학적으로 유의 있는 차이는 보이지 않았다. 사마귀모양암에서는  $38.0 \pm 7.5\%$  이었으며 지루각화증이나 보웬병에 비하여 유의 있게 높았다. 기저세포암은  $43.9 \pm 16.1\%$ 의 양성세포율을 보였으며 지루각화증이나 보웬병에 비하여 높은 양성세포율을 보이고 통계학적으로 유의 있는 차이를 보였으나, 사마귀모양암과도 유의

있는 차이를 보이지 않았다. 편평세포암은  $72.9 \pm 16.4\%$ 를 보여 지루각화증, 보웬병, 사마귀모양암, 기저세포암에 비하여 높은 양성세포율을 보이고 모든 병변과 통계학적으로 유의 있는 차이를 보였다.

### 3. Cathepsin E 발현 양상

Cathepsin E는 핵에 발현되었다. 지루각화증은 양성세포율이  $35.0 \pm 27.1\%$ 로 나타나 비교적 높게 나타났으며, 보웬병에서는  $50.6 \pm 27.0\%$ 에서 발현을 보였으며, 지루각화증에 비하여 보웬병에서 높은 양성세포율을 보였으나 통계학적으로 유의는 없었다. 사마귀모양암에서는  $33.0 \pm 18.9\%$ 이었으며 지루각화증이나 보웬병, 편평세포암과 모두 유의 있는 차이를 보이지 않았다. 기저세포암은  $36.1 \pm 22.5\%$ 의 양성세포율을 보였으며 지루각화증이나 보웬병, 사마귀모양암, 그리고 편평세포암 모두에서 유의 있는 차이를 보이지 않았다. 편평세포암은  $39.4 \pm 27.3\%$ 를 보여 지루각화증이나 보웬병과 비교하면 통계학적으로 유의는 보이지 않았다.

### 4. Cathepsin G 발현 양상

Cathepsin G는 핵에 발현되었다. 지루각화증은 양성세포율이  $22.0 \pm 9.2\%$ , 보웬병에서는  $80.0 \pm 13.1\%$ 에서 발현을 보였다. 지루각화증에 비하여 보웬병에서 높은 양성세포율을 보였으며 통계학적으로 유의 있는 차이를 보였다. 사마귀모양암에서는  $74.0 \pm 8.0\%$ 이었으며 지루각화증과는 유의 있는 차이를 보였으나, 보웬병과 편평세포암과 모두 유의 있는 차이를 보이지 않았다. 기저세포암은  $74.4 \pm 13.8\%$ 의 양성세포율을 보였으며 지루각화증과는 유의 있는 차이를 보였으나, 보웬병, 사마귀모양암, 편평세포암과 모두 유의 있는 차이를 보이지 않았다. 편평세포암은  $78.2 \pm 9.8\%$ 를 보여 지루각화증과는 차이가 있었으나 보웬병과 비교하면 통계학적으로 유의 있는 차이는 보이지 않았다.



## 5. Cathepsin L 발현 양상

Cathepsin L은 세포질에 발현되었다(Fig. 3). 지루각화증은 2예가 음성이며 양성세포율이  $9.0 \pm 6.1\%$ , 보웬병에서는 4예가 음성이며  $6.3 \pm 13.8\%$ 로 발현을 보여 발현율이 모두 낮게 나타났다. 지루각화증과 보웬병은 서로 통계학적으로 의의 있는 차이는 없었다. 사마귀모양암에서는  $2.0 \pm 2.4\%$ 였으며 2예에서 음성으로 관찰되어 낮은 양성세포율을 보이고 있고, 지루각화증이나 편평세포암과는 의의 있는 차이를 보였으나 보웬병과는 의의 있는 차이를 보이지 않았다. 기저세포암에서는  $13.6 \pm 11.7\%$ 로 낮은 양성세포율을 보이고 있고, 지루각화증, 보웬병, 사마귀모양암, 편평세포암 모두 의의 있는 차이를 보이지 않았다. 편평세포암은  $18.5 \pm 18.1\%$ 를 보여 지루각화증에 비하여 약간 높은 양성세포율을 보였으나 통계학적으로 의의는 없었고 보웬병과도 통계학적으로 의의 있는 차이는 보이지 않았다.

## 6. Cathepsin S 발현 양상

Cathepsin S는 세포질에 발현되었다(Fig. 4). 지루각화증은 양성세포율이  $40.0 \pm 10.5\%$ , 보웬병에서는  $8.1 \pm 5.9\%$ 로 발현을 보여 지루각화증과 보웬병은 서로 통계학적으로 의의 있는 차이를 나타냈고, 양성세포율이 오히려 낮아졌다. 사마귀모양암에서는  $26.0 \pm 4.9\%$ 였으며 지루각화증에 비해 낮게 나타났으며 보웬병 보다 높게 나타났고, 통계학적으로 의의 있는 차이를 보였으나 편평세포암과는 의의 있는 차이를 보이지 않았다. 기저세포암에서는  $38.6 \pm 29.7\%$ 의 양성세포율을 보이고 있고, 지루각화증, 보웬병, 사마귀모양암, 편평세포암 모두 의의 있는 차이를 보이지 않았다. 편평세포암에서  $30.6 \pm 20.4\%$ 를 보여 지루각화증에 비하여 약간 낮은 양성세포율을 보였으나 통계학적으로 의의는 없었다. 그러나 보웬병과는 통계학적으로 의의 있는 차이를 보여 특이한 양상으로 관찰되었다.

## IV. 고 찰

피부의 표피에서 발생하는 악성종양은 대부분 광선각화증(actinic keratosis)나 보웬병이 진행되어 침윤성 편평세포암종으로 이행하는 형태를 주로 취한다. 그러므로 전구암병변을 조기에 진단하는 것이 환자의 예후에 중요하다. 진행성 병변으로 전환되는 기전에 대한 많은 연구가 이루어지고 있으며 본 연구는 종양의 진행과 침습, 그리고 전이에 관여한다고 알려져 있는 cathepsin을 이용하여 종양성 변화에서의 발현 양상을 비교함으로써 표피내암의 침윤 가능성 판단 시 도움을 줄 수 있을 것이다. 대부분의 cathepsin은 리소솜에 존재하며 세포 대사에 관여하는 물질로 세포 내에서 펩타이드 합성이나 단백질 분해에 관여한다. 또한 세포고사 조절과도 관련이 있는 것으로 알려져 있다 (Chwieralski et al., 2006; Lockshin & Zakeri, 2004; Foghsgaard et al., 2001). Cathepsin은 종류에 따라 다른 성분을 가진 단백질 분해효소로서 기질 단백을 파괴하는 특성을 가지고 있다.

Cathepsin B는 리소솜에 존재하는 cysteine protease의 일종으로 많은 세포들에서 발견되고 있으며 가장 안정적으로 존재하는 것으로 알려져 있다 (Guenette et al., 1994). 본 연구에서 cathepsin B는 지루각화증에 비해 보웬병에서 발현이 증가되는 경향을 보이고, 사마귀모양암, 기저세포암, 그리고 편평세포암으로 진행한 경우 많은 세포에서 양성 반응을 보이고 있으며, 양성 병변이나 보웬병과 유의 있는 차이를 보이고 있었다. 이는 악성도가 증가하고 침윤을 시작하면 발현율이 증가하는 점으로 종양의 진행이나 침윤과 관련이 있을 것으로 여겨진다. 일부 연구자에 의하면 기저세포암이나 악성흑색종에서도 침윤시 발현이 증가된다고 한다(Fröhlich et al., 2004, Fröhlich et al., 2001). 이러한 점으로 대부분의 피부 종양에서

침윤형 암종에서는 발현이 증가하는 것으로 판단된다. 그러므로 cathepsin B의 발현 증가가 나타나는 경우 종양세포의 침윤 가능성이 높을 것으로 생각되어 환자 예후가 불량할 것으로 생각된다. 그러나 사마귀모양암, 기저세포암, 그리고 편평세포암 상호간에는 유의 있는 차이를 보이지 않았다. 이러한 점은 암종으로 이미 진행한 경우에는 서로 유사한 양상을 보이는 것으로 여겨지며, 종양의 악성화에 따라 증가하는 cathepsin으로 판단된다.

Cathepsin D는 인체 장기에 널리 산재해 있으며 aspartate protease로서 세포내 단백질의 파괴에 관여하고 있다고 알려져 있으나, 세포외 기질(extracellular matrix)도 파괴할 수 있어 종양의 진행에도 관여한다(Redecker et al., 1991). 본 연구에서 피부종양에 따라 보이는 양상은 cathepsin B와 유사한 양상으로 나타나고 있다. 즉 지루각화증에 비해 Bowen병이 높은 경향이 있고, 사마귀모양암, 기저세포암, 그리고 편평세포암에서 유의 있게 차이를 보이고 있다. Goldmann 등(2001)의 연구에서도 피부의 편평세포암종에서 침윤 깊이에 따라서도 발현이 차이가 있어 환자의 예후와 관련이 있다고 한다. 그러므로 cathepsin B와 D를 연계하여 발현율을 관찰하면 환자 예후판단에 많은 도움이 될 것 같다. 편평세포암은 사마귀모양암이나 기저세포암과 달리 림프절 전이가 흔하게 발생한다. 본 연구에서 편평세포암이 사마귀모양암이나 기저세포암 간에 유의 있는 차이를 보이는 점은 전이능에 따른 차이가 있을 것을 유추해 볼 수 있다. Goishi 등(2000)의 연구에서 위암종에서 림프절 전이와 cathepsin D가 연관이 있다고 한다. 그러나 본 연구에서는 림프절 전이 여부와의 관련성에 대한 연구를 시행하지 못했다. 그러므로 림프절 전이군과 비전이군의 차이를 추가적으로 시행하면 보다 더 구체적인 예후 차이를 판단하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

Cathepsin E는 펩신계의 세포내 aspartic protease로 분포 장소가 림프

계, 위장관계, 혈구세포, 미세아교세포(microglia) 등에 제한적으로 존재한다(Zaidi & Kalbacher, 2008). 대부분 면역 작용에 관여하며 항체 단백질 합성 과정에 작용하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 피부에 발현하는 양상을 보면 모두에서 비교적 높은 양성세포율을 보이며 각 종양군간의 차이가 관찰되지 않았다. Igarashi 등(2004)의 연구에서도 정상 표피의 편평세포에서 많은 발현이 나타난다고 하였다. 그러므로 정상 및 종양세포 내에 모두 존재하는 것으로 판단되며, 종양 진행과도 무관한 것으로 여겨진다. 아마도 이러한 점 때문에 cathepsin E와 피부종양과의 연관성에 대한 연구도 거의 없는 것 같다. 피부와 관련된 cathepsin E에 대한 연구는 주로 아토피 피부염과 연관 지어 연구되고 있다(Igarashi et al, 2004; Tsukuba et al, 2003).

Cathepsin G는 serine protease로서 대부분 중성구에서 발견되고 염증에서 중요한 기능을 차지하고 있다(Maryanoff, 2004; Breuckmann et al, 2002). 본 연구에서 cathepsin G의 발현율은 양성종양인 지루각화증에 비해 보웬병이나 기저세포암, 사마귀모양암, 편평세포암에서 유의 있는 차이를 보이고 있었다. 그러나 침윤 여부에 따른 차이는 보이지 않았다. 이러한 점으로 종양의 악성화와 관련이 있을 것으로 여겨지나 종양이 침윤을 일으키기 전 병변인 보웬병이나 침윤을 일으킨 암종 사이에 유의 있는 차이가 관찰되지 않는 점은 종양의 침윤과정과의 관련성은 낮을 것으로 판단된다. Wilson 등(2008)의 연구에 의하면 유방암에서 뼈로 전이하는 경우 cathepsin G가 골파괴세포 전구세포를 활성화하여 뼈 파괴를 유도한다고 한다. 피부종양의 뼈 전이는 드물게 발생하므로 이에 대한 연구는 미진한 상태에 있다. 그러나 뼈로 전이한 피부 기원의 편평세포암에서 cathepsin G의 역할에 대한 연구가 이루어지면 전이와의 관련성을 유추할 수 있을 것으로 생각된다.

Cathepsin L은 cysteine protease 계열로 아교질분해효소(collagenase)와

탄력소분해효소(elastinase)로서의 기능을 가지고 성숙된 elastin을 분해하고 cathepsin H와 유사한 기능을 가지고 있다(Turk et al, 2000; Spira et al, 2007). 종양과 관련된 기능으로 알려진 바에 의하면 cathepsin L에 의해 heparanase의 전구물질이 단백분해 과정이 일어나고 이로 인해 형성된 heparanase에 의해 기질의 조직이 파괴되어 종양의 침윤이 일어난다고 한다(Vlodavsky et al, 2008). 본 연구에서는 피부 종양에서 발현이 낮게 나타나고 양성종양과 악성종양간의 유의 있는 차이를 발견하지 못하였다. 그리고 일부 사마귀모양암이나 기저세포암, 편평세포암에서 음성으로 나타나는 예도 관찰되어 피부에서 발생하는 종양에서는 관련이 없는 것으로 여겨진다.

Cathepsin S는 대부분 폐포 내에 존재하는 대식구에 탄력섬유용해 cystein protease로 나타나고 있다(Shi et al, 1992). 피부의 각화세포에서 활성도가 관찰되고 있어 정상 피부상피에서 인지되는 것으로 여겨진다(Schwarz et al, 2002). 본 연구에서도 정상 상피에 발현이 나타나고 있었다. 종양과의 관련성을 비교하면 양성종양인 지루각화증이 보웬병에 비해 오히려 높게 나타나고 있어 역비례관계로 나타나고 있었다. 그러나 사마귀모양암, 기저세포암, 그리고 편평세포암에서 다시 발현이 증가되어 나타났다. 지루각화증이나 사마귀모양암이 보웬병이나 편평세포암에 비해 높게 나타나는 경향이 있었다. 그러나 본 연구에서는 기저세포암의 조직학적 유형에 따른 차이나 편평세포암의 분화도에 따른 차이를 관찰하지 않았다. 그러므로 이에 대한 연구는 추가되어야 할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

피부에 발생하는 표피 종양의 유형에 따라 여러 가지 cathepsin 계열에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 발현 양상을 통계학적으로 비교하여 서로 다른 종양에서의 cathepsin 발현 양상을 비교하여 보았다. 이를 이용하여 표피내암종이 침윤암종으로 진행할 때 변환되는 cathepsin의 종류를 알아내서 생검조직에서 종양의 침습 가능성을 유추하는 지표로 삼고자 시행한 연구의 결과는 다음과 같다.

Cathepsin B와 D는 유사한 양상을 보였으며 편평세포암, 기저세포암, 그리고 사마귀모양암에서 지루각화증이나 보웬병에 비해 높은 양성세포율을 보였다. Cathepsin E는 모든 편평세포 종양에서 높은 양성세포율을 보이고 있어 차이를 보이지 않았다. Cathepsin G는 지루각화증에 비해 보웬병, 사마귀모양암, 기저세포암, 편평세포암에서 의의 있게 높은 양상을 보였다. Cathepsin L은 전반적으로 낮은 양성세포율을 보이고 있으며 각 병변 간에 차이를 보이지 않았다. Cathepsin S는 지루각화증과 사마귀모양암에서 보웬병과 편평세포암종에 비해 높은 양성세포율을 나타냈다.

이러한 결과로 cathepsin B와 D는 종양의 침윤에, cathepsin G는 악성세포로의 진행에 관련이 있는 것으로 여겨지며, cathepsin S는 종양세포의 분화도와 관련이 있는 것으로 생각된다. cathepsin E와 L은 표피종양의 진행과 관련이 없는 것 같다. 그러나 cathepsin E가 cathepsin L에 비해서는 높은 발현율을 보이고 있었다. 그러므로 이들 cathepsin 계열에 대한 연구를 이용하면 편평세포의 악성종양으로의 변환 여부나 침윤성 증식유무를 감별하는데 도움을 줄 것으로 여겨진다. 추가적으로 본 연구에서 다루어지지 않은 종양의 전이와의 관련성에 대한 연구가 시행된다면 환자 예후 판정에도 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

## 참고문헌

- Abisi S, Burnand KG, Waltham M, Humphries J, Taylor PR, Smith A. Cysteine protease activity in the wall of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 46:1260-1266, 2007.
- Breuckmann F, von Kobyletzki G, Avermaete A, Kreuter A, Altmeyer P, Gambichler T. Modulation of cathepsin G expression in severe atopic dermatitis following medium-dose UVA1 phototherapy. *BMC Dermatol.* 2:12-1, 2002.
- Chwieralski CE, Welte T, Bühling F. Cathepsin-regulated apoptosis. *Apoptosis.* 11:143-149, 2006.
- Foghsgaard L, Wissing D, Mauch D, Lademann U, Bastholm L, Boes M. Cathepsin B acts as a dominant execution protease in tumor cell apoptosis induced by tumor necrosis factor. *J Cell Biol.* 153:999-1009, 2001.
- Frohlich E, Mohrle M, Klessen C. Cathepsins in basal cell carcinomas: activity, immunoreactivity and mRNA staining of cathepsins B, D, H and L. *Arch Dermatol Res.* 295:411-421, 2004.
- Fröhlich E, Schlagenhauff B, Möhrle M, Weber E, Klessen C, Rassner G. Activity, expression, and transcription rate of the cathepsins B, D, H, and L in cutaneous malignant melanoma. *Cancer.* 91:972-982, 2001.
- Goishi H, Tanaka S, Haruma K, Yoshihara M, Sumii K, Kajiyama G, Shimamoto F. Predictive value of cathepsin D and Ki-67 expression at the deepest penetration site for lymph node metastases in gastric cancer. *Oncol Rep.* 7:713-718, 2000.

- Goldmann T, Moorkamp A, Wiedorn KH, Suter L, Otto F. The prognostic value of the expression of collagenase IV, cathepsin D and metallothionein in squamous cell carcinomas of the skin determined by immunohistochemistry. *Arch Dermatol Res.* 293:115–120, 2001.
- Guenette RS, Mooibroek M, Wong K, Wong P, Tenniswood M. Cathepsin B, a cysteine protease implicated in metastatic progression, is also expressed during regression of the rat prostate and mammary glands. *Eur J Biochem.* 226:311–321, 1994.
- Igarashi S, Takizawa T, Takizawa T, Yasuda Y, Uchiwa H, Hayashi S, Brysk H, Robinson JM, Yamamoto K, Brysk MM, Horikoshi T. Cathepsin D, but not cathepsin E, degrades desmosomes during epidermal desquamation. *Br J Dermatol.* 151:355–361, 2004.
- Jedezsko C, Sloane BF. Cysteine cathepsins in human cancer. *Biol Chem.* 385:1017–1027, 2008.
- Lockshin RA, Zakeri Z. Caspase-independent cell death? *Oncogene.* 23:2766–2773, 2004.
- Maryanoff BE. Inhibitors of serine proteases as potential therapeutic agents: the road from thrombin to tryptase to cathepsin G. *J Med Chem.* 47:769–787, 2004.
- Puzer L, Barros NM, Paschoalin T, Hirata IY, Tanaka AS, Oliveira MC, Brömme D, Carmona AK. Cathepsin V, but not cathepsins L, B and K, may release angiostatin-like fragments from plasminogen. *Biol Chem.* 389:195–200, 2008.
- Redecker B, Heckendorf B, Grosch HW, Mersmann G, Hasilik A. Molecular organization of the human cathepsin D gene. *DNA Cell Biol.* 10:423–431, 1991.



- Schwarz G, Boehncke WH, Braun M, Schröter CJ, Burster T, Flad T, Dressel D, Weber E, Schmid H, Kalbacher H. Cathepsin S activity is detectable in human keratinocytes and is selectively upregulated upon stimulation with interferon-gamma. *J Invest Dermatol.* 119:44-49, 2002.
- Shi GP, Munger JS, Meara JP, Rich DH, Chapman HA. Molecular cloning and expression of human alveolar macrophage cathepsin S, an elastinolytic cysteine protease. *J Biol Chem.* 267:7258-7262, 1992.
- Spira D, Stypmann J, Tobin DJ, Petermann I, Mayer C, Hagemann S, Vasiljeva O, Günther T, Schüle R, Peters C, Reinheckel T. Cell type-specific functions of the lysosomal protease cathepsin L in the heart. *J Biol Chem.* 282:37045-37052, 2007.
- Tsukuba T, Okamoto K, Okamoto Y, Yanagawa M, Kohmura K, Yasuda Y, Uchi H, Nakahara T, Furue M, Nakayama K, Kadowaki T, Yamamoto K, Nakayama KI. Association of cathepsin E deficiency with development of atopic dermatitis. *J Biochem.* 134:893-902, 2003.
- Turk B, Turk D, Turk V. Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers, *Biochim Biophys Acta.* 1477:98 - 111, 2000.
- Vlodavsky I, Elkin M, Abboud-Jarrous G, Levi-Adam F, Fuks L, Shafat I, Ilan N. Heparanase: one molecule with multiple functions in cancer progression. *Connect Tissue Res.* 49:207-210, 2008.
- Wilson TJ, Nannuru KC, Futakuchi M, Sadanandam A, Singh RK. Cathepsin G enhances mammary tumor-induced osteolysis by generating soluble receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand. *Cancer Res.* 68:5803-5811, 2008.
- Zaidi N, Kalbacher H. Cathepsin E: a mini review. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 367:517-522, 2008.

Table 1. General characteristic of choose cases for this study.

	SK	BD	BCC	VC	SCC
Case No.	10	10	20	5	20
Age	52.6	57.1	65.8	62.4	72.0
Sex					
M	5	7	7	4	12
F	5	3	13	1	8

\*Abbreviation, SK; Seborrheic keratosis, BD; Bowen's disease, VC; Verrucous carcinoma, BCC; Basal cell carcinoma SCC; Squamous cell carcinoma

Table 2. Used primary antibody in this study

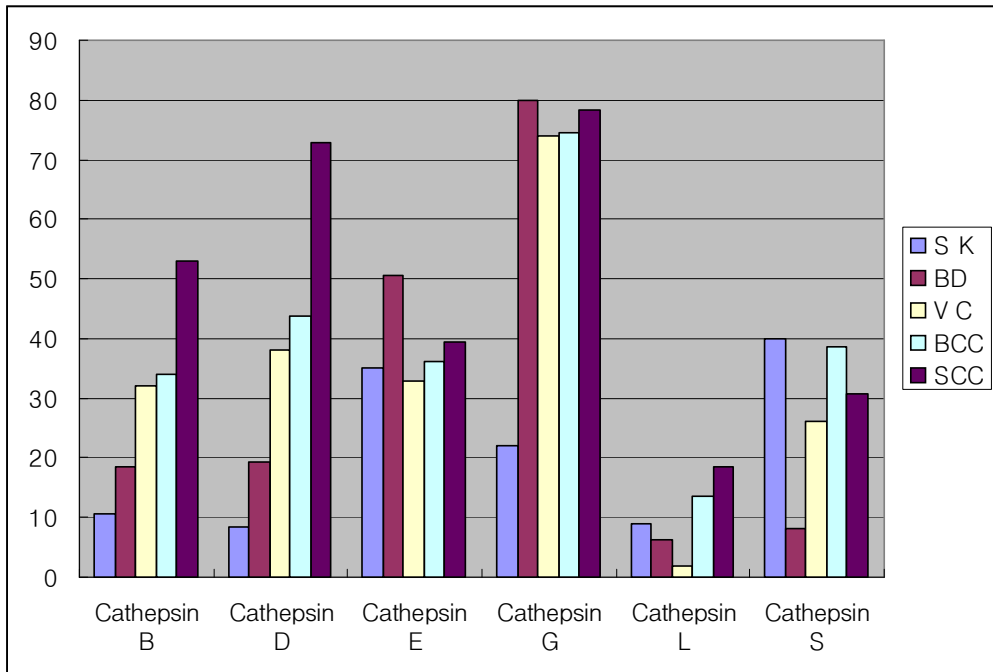
	Company	Dilution	Control
Cathepsin B	Oncogene Research Products (MA, USA)	1:50	Breast
Cathepsin D	Santa Cruz Biotechnology (CA, USA)	1:100	Breast
Cathepsin E	Abcam (Cambridge, UK)	1:200	Lymph node
Cathepsin G	Biomol International (PA, USA )	1:100	Lymph node
Cathepsin L	Santa Cruz Biotechnology (CA, USA)	1:100	Liver
Cathepsin S	Santa Cruz Biotechnology (CA, USA)	1:100	Lung

Table 3. Positive cell rates in seborrheic keratosis, Bowen's disease, verrucous carcinoma, basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma.

Cathepsin	Positive cell rate(%)				
	SK (n=10)	BD (n=10)	VC (n=5)	BCC (n=20)	SCC (n=20)
Cathepsin B	10.5±4.4	18.4±17.7	32.0±7.9	33.9±14.3	52.9±12.4
Cathepsin D	8.5±3.4	19.4±14.7	38.0±7.5	43.9±16.1	72.9±16.4
Cathepsin E	35.0±27.1	50.6±27.0	33.0±18.9	36.1±22.5	39.4±27.3
Cathepsin G	22.0±9.2	80.0±13.1	74.0±8.0	74.4±13.80	78.2±9.8
Cathepsin L	9.0±6.1	6.3±13.8	2.0±2.4	13.6±11.7	18.5±18.1
Cathepsin S	40.0±10.5	8.1±5.9	26.0±4.9	38.6±29.7	30.6±20.4

\*Abbreviation, SK; Seborrheic keratosis, BD; Bowen's disease, VC; Verrucous carcinoma, BCC; Basal cell carcinoma  
SCC; Squamous cell carcinoma

Figure 1.



\*Abbreviation, SK; Seborrheic keratosis, BD; Bowen's disease, VC; Verrucous carcinoma, BCC; Basal cell carcinoma SCC; Squamous cell carcinoma

조도연 논문 사진부도 (II)

Figure 2

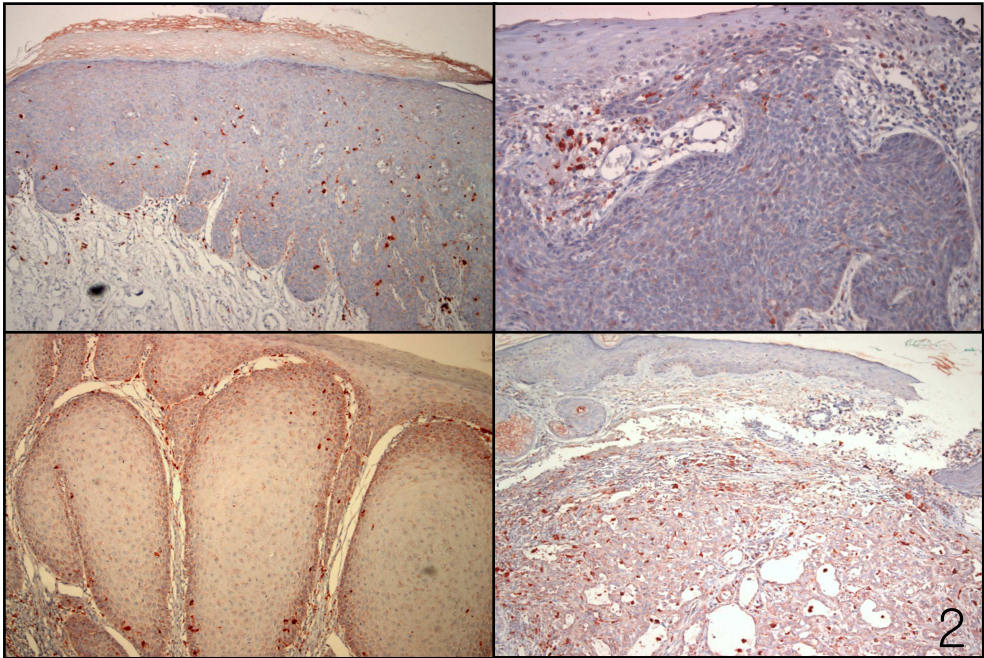
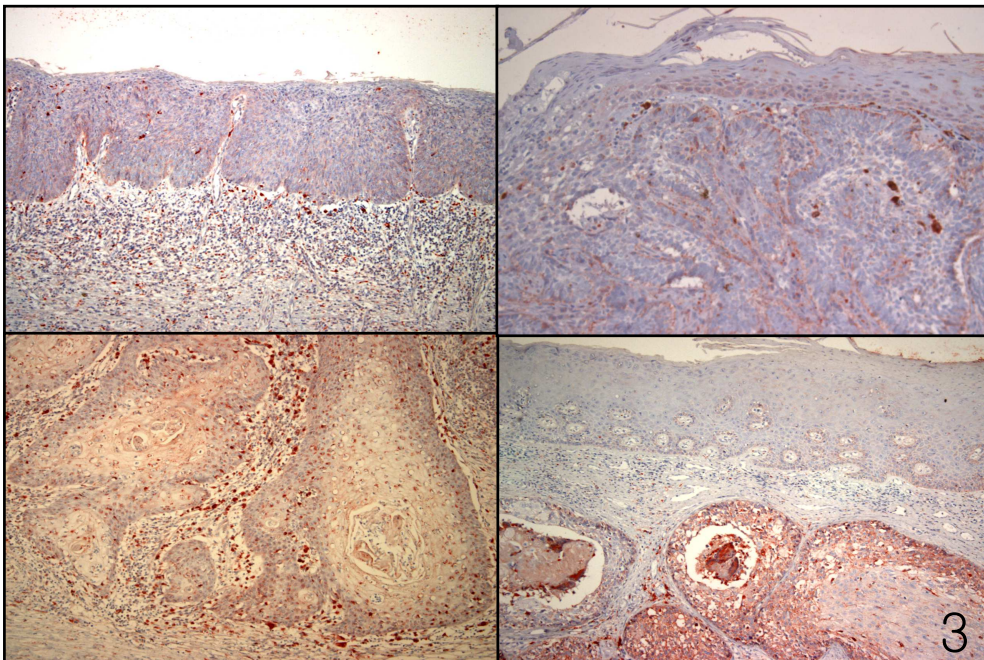


Figure 3



조도연 논문 사진부도 (III)

Figure 4

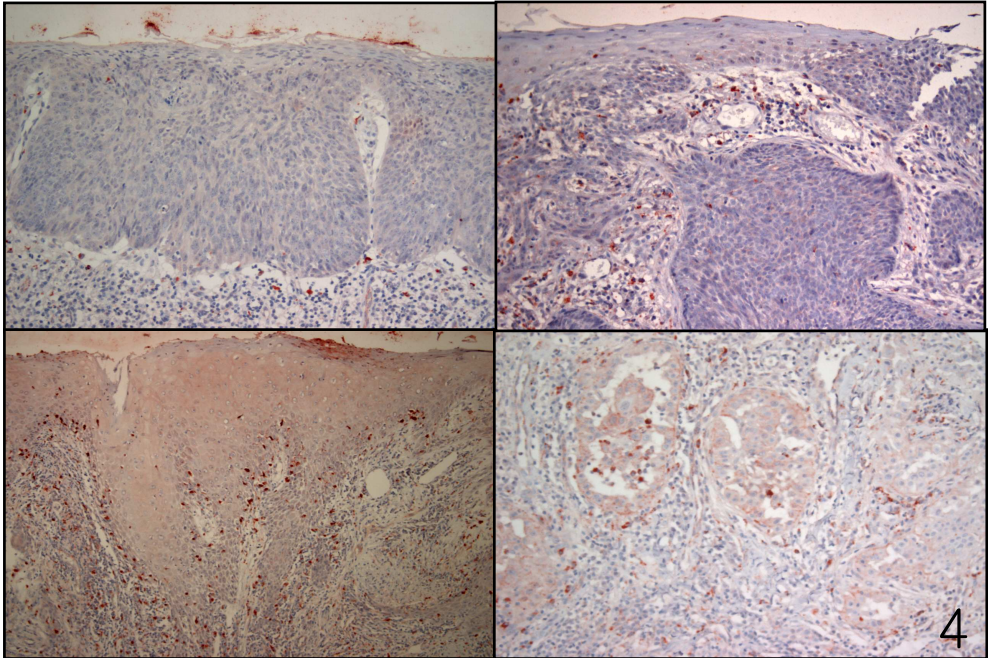
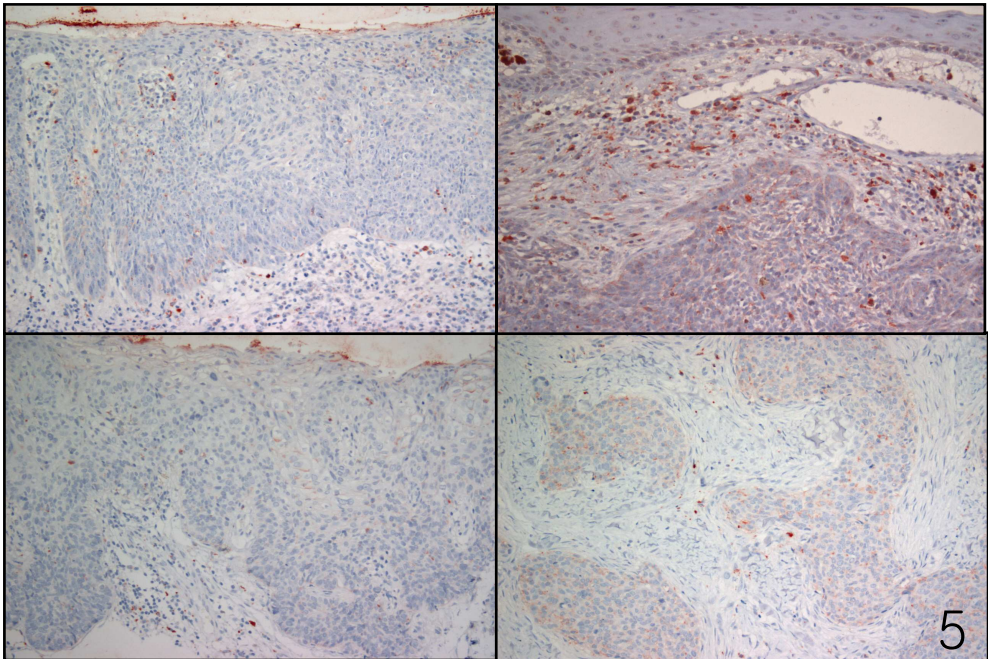


Figure 5



# 저작물 이용 허락서

학 과	의학과	학 번		과 정	석사, 박사
성 명	한글 조도연	한문 趙度延		영문 Cho Do-Youn	
주 소	광주광역시 방림동 라인호친 207-202				
연락처	E-mail :				
논문제목	한글: 표피종양에서 Cathepsin 계열의 면역조직화학적 발현 양상				
	영문: Immunohistochemical Expression of Cathepsin Series in Epidermal Tumors				

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

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에서의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 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 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

**동의여부 : 동의( 0 ) 반대( )**

2009년 2월

저작자: 조 도 연 (인)

**조선대학교 총장 귀하**