

구강 편평세포암종에서 조직학적 침습양상과 분화도에 따른 Matrix Metalloproteinase-2와 -9의 발현

서울대학교 치과대학 구강병리학교실 및 치학연구소 구강악안면암 연구부

홍성두 · 홍삼표 · 김용식 · 이재일 · 임창윤

Expression of Matrix Metalloproteinase-2 and -9 in Oral Squamous Cell Carcinomas in Relation to the Histologic Invasiveness and Cellular Differentiation

Seong-Doo Hong, Sam-Pyo Hong, Yong-Sik Kim, Jae-Il Lee, and Chang-Yun Lim

Department of Oral Pathology, College of Dentistry and Dental Research Institute,
Seoul National University, Seoul 110-749, Korea

A poor prognosis of oral squamous cell carcinoma (SCC) is partly due to the invasiveness and metastasis of the tumor. A key element in tumor invasion and metastasis in the degradation of extracellular matrix is matrix metalloproteinases (MMPs). This study was performed to determine the expression of MMP-2 and MMP-9 of oral SCCs with regard to the histologic invasiveness and differentiation in 5 normal oral mucosa and 36 oral SCCs. The histologic invasiveness of oral SCCs were classified into 4 grades. The differentiation of oral SCCs was divided into 3 grades. The streptavidin-biotin immunohistochemical staining, using MMP-2 and MMP-9 monoclonal antibodies, was performed to determine the expression of MMP-2 and MMP-9. The expression of MMP-2 was positive in 6 of 17 oral SCCs with weak invasiveness and was positive in 7 of 19 oral SCCs with strong invasiveness. The MMP-2 expression did not increase significantly with respect to the invasiveness of oral SCCs ($P > 0.05$). The expression of MMP-9 was strongly positive in 6 out of 17 SCCs with weak invasiveness and was strongly positive in 14 of 19 SCCs with strong invasiveness. The MMP-9 expression increased significantly with respect to the invasiveness of oral SCCs; the stronger the expression, the stronger the invasiveness ($P < 0.05$). The expression of MMP-9 was in 57.9% of well differentiated SCCs, 57.1% of moderately differentiated ones, and 33.3% of poorly differentiated SCCs. The expression of MMP-2 and MMP-9 did not increase significantly with respect to the histologic differentiation. We conclude that with respect to the invasiveness, the MMP-9 expression increases significantly in oral SCCs but the MMP-2 expression does not; and that with respect to the histologic differentiation, their expressions do not increase significantly. These results suggest that MMP-9 can be used as a tool to evaluate the invasiveness of oral SCCs. (Korean J Pathol 1999; 33: 243~250)

Key Words: Squamous cell carcinoma, Invasiveness, Differentiation, MMP-2, MMP-9

접수: 1999년 1월 11일, 개재승인: 1999년 2월 26일

주 소: 서울시 종로구 연건동 28-2, 우편번호 110-749, 서울대학교 치과대학 구강병리학교실, 홍삼표

E-mail: sphong@plaza.snu.ac.kr

* 본 연구는 1997년도 교육부 지원 기초의학 학술연구조성비의 지원으로 수행되었으며 지원에 감사합니다.

ISSN : 0379-1149

서 론

편평세포암종은 구강암 중 가장 흔한 것으로 예후가 불량하다. 편평세포암종의 불량한 예후는 암세포의 침습성과 관련 있으며, 이러한 침습성은 인접 림프절이나 다른 장기로의 전이의 양상으로 표현된다.¹ 따라서 구강 편평세포암종 환자의 예후를 향상시키기 위해서는 암세포의 침습성을 정확하게 평가하여 침습성에 관한 정확한 정보를 줄 필요가 있다. 이러한 정보는 구강 편평세포암종의 수술시 침습성에 따라 절제 범위의 정도를 결정하는 데, 그리고 술후 추가적인 치료의 필요성 및 술후 치료 방법의 결정에도 도움을 줄 수 있다.

종양세포의 침습성을 평가하는 방법에는 세포간 부착 물질들의 발현양상 평가 방법,² 종양세포의 라미닌 수용기 발현 평가 방법,³ 기저막의 제 4형 교원질과 라미닌의 파괴양상 평가 방법,⁴ 그리고 세포외기질 분해 효소들의 활성을 평가하는 방법들이 개발되어 있다.

종양의 침습에는 종양세포들과 기저막과의 상호작용이 매우 중요하다.⁵ 기저막은 제 4형 교원질, 라미닌, 프로테오글라이칸(proteoglycan) 등으로 구성되어 있으며 정상적으로는 종양의 침습에 대한 장벽으로 작용하여 종양세포의 침습을 막는 역할을 한다. 기저막을 통한 침습은 수용기-리간드 결합에 의한 종양 세포들의 기저막 부착, 종양 세포에 의해 유리된 효소들에 의한 기저막의 단백 분해, 기저막의 소공을 통한 인접 결합 조직으로의 이동 등의 3단계를 통해 이루어지는 것으로 알려져 있다.⁶ 또한 이러한 침습에는 단백분해효소들에 의한 세포외기질의 분해가 필수적이며, 이 효소들은 대부분 침습성의 종양 세포들에서 생산된다. 단백분해효소들은 작용 대상에 따라 세린 단백분해효소(serine proteinases), 시스테인 단백분해효소(cysteine proteinases), 세포외기질 금속함유 단백분해효소(matrix metalloproteinases, MMPs) 등의 3 가지로 나누어진다.⁷ 이 중에 MMPs는 아연 의존성 단백분해효소로서, 대부분이 전구효소의 형태로 분비된 후 부가적인 분해에 의하여 활성화된다. MMPs는 interstitial collagenase (MMP-1), neutrophil collagenase (MMP-8), stromelysin-1 (MMP-3), stromelysin-2 (MMP-10), stromelysin-3 (MMP-11), matrilysin (MMP-7), gelatinase A (MMP-2), gelatinase B (MMP-9) 등으로 구성되어 있고, 최근에는 막형(membrane-type) MMPs도 밝혀졌다.⁸ 이 중에서 특히 72 kD MMP-2와 92 kD MMP-9은 종양 세포의 악성도와 밀접한 관련이 있다고 알려져 왔다.^{9~12} 또한 이 효소들은 금속함유 단백분해효소의 조직억제자들(tissue inhibitors of metalloproteinase, TIMPs)이라는 길항효소들에 의해서 억제된다. 그 중에서 TIMP-1은 MMP-9과 잘 결합하고, TIMP-2는 MMP-2와 잘 결합한다.¹³

본 연구에서는 구강 편평세포암종에서 암세포의 침습성이나 분화도에 따른 MMP-2와 MMP-9의 발현양상의 유의성을 검증하고자, 조직학적인 침습성을 4단계로, 분화도를 3단계로 구분한 뒤 MMP-2와 MMP-9의 면역조

직화학적 발현을 검색하여 점수화한 후 구강 편평세포암종의 조직학적 침습성이나 분화도에 따른 MMP-2와 MMP-9의 발현양상이 통계학적으로 유의성이 있는지를 검증하였다.

재료 및 방법

1. 연구 대상

본 연구에서는 서울대학교병원 치과진료부 구강병리과에서 편평세포암종으로 확진된 87예를 재검색하였다. 이 중에서 전반적인 침습양상을 잘 관찰할 수 있으며, 암세포의 세포학적 분화도를 구분하는데 연구자들간의 의견의 차이를 보이지 않는 36예를 최종적으로 연구대상으로 선정하였다. 편평세포암종의 분화도는 양호한 경우가 19예, 중등도의 경우가 14예, 나쁜 경우가 3예이었다. 대조군으로는 5예의 정상 구강점막 조직을 선정하였다.

2. 구강 편평세포암종의 침습성 및 조직분화도의 구분

구강 편평세포암종 조직의 침습성의 정도를 Yamamoto 등¹⁴의 기준에 따라 4가지로 구분하였다.

A 형은 결절성의 성장을 보이며, 주위 조직과 명확한 경계를 보이는 경우, B형은 코드상의 침습 양상을 보이며, 주위 조직과 어느 정도 명확한 경계를 보이는 경우, C형은 코드상의 침습 양상을 보이며, 주위 조직과 경계가 불명확한 경우, D형은 미만성의 침습 양상을 보이며, 주위 조직과 경계가 불명확한 경우로 하였다.

구강 편평세포암종의 조직학적 분화도는 Arthur 등¹⁵의 기준에 의해 고분화형, 중등도 분화형, 저분화형으로 구분하였다.

3. 면역조직화학 염색

본 연구에서는 MMP-2, MMP-9 (Calbiochem, San-Diego, California, U.S.A.)에 대한 마우스 단클론 항체들을 사용하였다. MMP-2와 MMP-9에 대한 항체들은 각각 524에서 539번, 626에서 644에 해당하는 웹타이드로 면역시킨 마우스로부터 제조업자에 의해 생산된 것이다.

MMP-2, MMP-9에 대한 면역조직화학 염색과정은 다음과 같다. 각 항체는 LSAB kit (Dako, Copenhagen, Denmark)를 사용하여 표지, 발색시켰다. 4 μm 두께로 박절한 조직 편은 Silane이 피막이 된 유리 슬라이드 상에 부착한 다음 통상적인 방법에 따라 탈 파라핀 처리를 하고, 3% H₂O₂로 10분간 전 처리하여 조직에 내재된 과산화효소 활성을 차단시켰다. 그리고 0.01% citric buffer (pH 6.0)를 사용하여 microwave 법으로 10분간 처리하고, 다시 0.01 M 인산완충생리식염수(PBS, pH 7.4)로 각 5분씩 3회 수세하였다. 비특이적 항체 결합을 방지하기 위해 차단혈청으로 30분간 부란하였다. 이때 사용된 혈청은 2차 항체와 동일한 종의 것을 사용하였다. 부란이 끝난 후 여분의 차단혈청을 흡수지로 제거한 후 각각의

일차항체로 45분간 부란하고 PBS로 수세하였다. 이어서, biotin이 표지된 2차 항체로 30분간 부란하고 PBS로 수세하고, peroxidase가 표지된 streptavidin으로 30분간 부란하고 PBS로 수세하였다. 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride로 발색시킨 후, Mayer's hematoxyline으로 대조 염색하고 Permount로 봉입하여 관찰하였다. 음성 대조군으로는 일차항체 대신 PBS를 반응시켰다.

4. 면역조직화학 염색의 평가

MMP-2와 MMP-9에 대한 염색의 정도는 정상 구강점막 상피와 비교하여 4가지로 나누었다.

(-) 군은 정상 구강점막 상피와 같은 정도의 염색상을 보인 경우, (\pm) 군은 정상 구강점막 상피보다 미약하게 증가한 염색상을 보인 경우, (+) 군은 정상 구강점막 상피보다 중등도로 증가한 염색상을 보인 경우, (++) 군은 정상 구강점막 상피보다 현저하게 증가한 염색상을 보인 경우로 하였다.

(-) 군과 (\pm) 군은 MMPs에 대한 음성 반응으로, (+) 군과 (++) 군은 양성 반응으로 평가하였다.

5. 통계 분석

결과값의 통계학적 유의성은 chi-square test에 의하여 검증하였다 (유의 수준: 0.05).

결 과

36예의 편평세포암종에 대한 성별, 연령, 발생 부위,

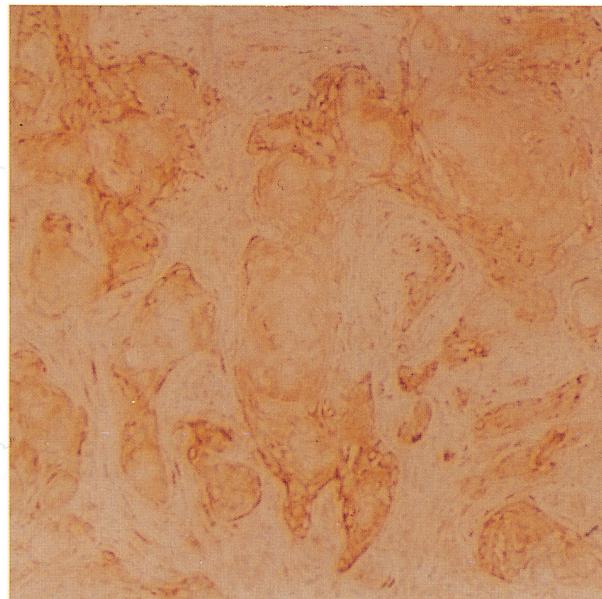


Fig. 1. Immunoreactivity for MMP-2 in well differentiated squamous cell carcinoma. Tumor cells, in the peripheral portion of small cancer cell nests, exhibit strong positive reaction in their cytoplasm.

조직학적 침습 양상, 분화도 등의 임상 및 병리학적 양태와 MMP-2, MMP-9 면역조직화학 염색의 결과는 Table 1에 요약되어 있다.

1. 조직학적 침습양상과 분화도의 분류

36예의 편평세포암종의 조직학적 침습 양상과 분화도를 분류한 바 다음과 같은 결과를 얻었다. 조직학적 침습양상의 분류에서는 A급 4예, B급 13예, C급 13예, D급 6예이었다. 본 연구에서는 A급과 B급 침습성은 침습성이 약한 것으로 해석하였으며, C급과 D급 침습성은 침습성이 강한 것으로 해석하여 통계처리하였다.

분화도를 분류한 결과, 분화도가 양호한 편평세포암종이 19예, 분화도가 중등도인 암종이 14예, 그리고 분화도가 나쁜 암종이 3예이었다.

2. 편평세포암종에서 MMP-2와 MMP-9의 발현

구강 편평세포암종에서의 MMP-2의 발현은 주로 진행 선단부의 작은 종양도에서 관찰된 반면에, 정상 구강점막 상피에서는 거의 관찰되지 않았다. 종양도 주위의 간질 세포들은 부분적으로 MMP-2의 발현이 관찰되었다. MMP-9의 발현은 MMP-2의 발현과 유사하게 주로 진행 선단부의 작은 종양도나 암종 종양도의 변연부 세포들에서 관찰되었고, 정상 구강점막 상피에서는 거의 관찰되지 않았다. MMP-9의 발현 양상이 MMP-2의 경우보다 상대적으로 강하고 빈도가 높았다. MMP-2의 발현은 전체 36예의 암종 중 13예 (36.1%)에서, MMP-9의 발현은 20예 (55.6%)에서 관찰되었다 (Table 2).

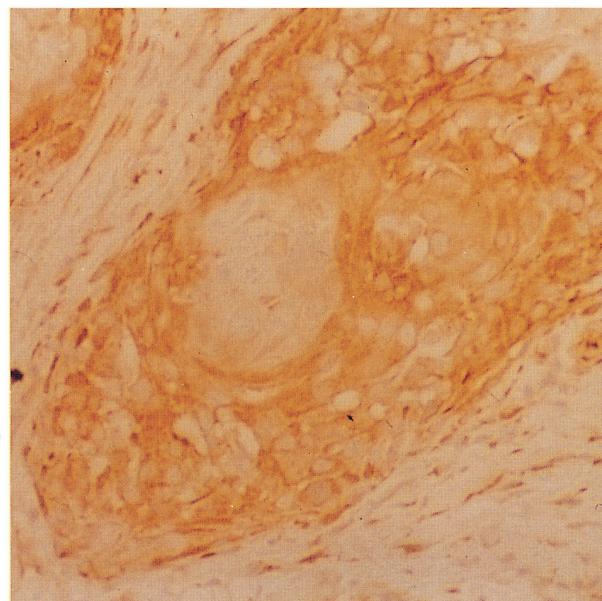


Fig. 2. Immunoreactivity for MMP-9 in moderately differentiated squamous cell carcinoma. Tumor cells exhibit strong positive reaction in their cytoplasm.

Table 1. Clinicopathological profiles and immunohistochemical expressions of MMP-2 and MMP-9 in 36 oral squamous cell carcinomas

Case	Age/Sex	Site	Differentiation	Histologic Invasiveness	MMP-2	MMP-9
1	54/M	Retromolar area	Well	D	-	+
2	53/M	Gingiva	Well	D	-	-
3	51/M	Gingiva	Well	C	-	+
4	42/M	Floor of mouth	Well	C	±	-
5	48/M	Gingiva	Well	C	+	+
6	60/F	Floor of mouth	Well	C	-	-
7	53/M	Buccal mucosa	Well	C	±	±
8	53/M	Buccal mucosa	Well	C	-	+
9	77/M	Retromolar area	Well	C	±	+
10	49/F	Gingiva	Well	C	-	+
11	55/M	Tongue	Well	C	+	+
12	34/M	Tongue	Well	C	±	+
13	53/M	Floor of mouth	Well	B	+	+
14	60/M	Gingiva	Well	B	-	-
15	75/F	Gingiva	Well	B	±	++
16	62/F	Gingiva	Well	B	++	+
17	66/F	Tongue	Well	B	+	±
18	41/M	Gingiva	Well	B	-	-
19	60/F	Gingiva	Well	A	++	++
20	36/M	Retromolar area	Moderately	D	±	+
21	53/F	Tongue	Moderately	D	++	+
22	58/F	Palate	Moderately	D	+	+
23	53/F	Retromolar area	Moderately	C	+	+
24	68/M	Floor of mouth	Moderately	C	+	++
25	72/M	Tongue	Moderately	B	±	-
26	47/M	Gingiva	Moderately	B	-	-
27	81/M	Gingiva	Moderately	B	++	++
28	41/M	Gingiva	Moderately	B	-	-
29	55/M	Gingiva	Moderately	B	+	+
30	69/M	Buccal mucosa	Moderately	B	±	±
31	54/M	Gingiva	Moderately	A	±	±
32	69/F	Palate	Moderately	A	-	-
33	62/M	Floor of mouth	Moderately	A	-	-
34	56/M	Tongue	Poorly	D	+	++
35	40/M	Tongue	Poorly	C	-	-
36	65/M	Gingiva	Poorly	B	-	-

Well: well differentiated SCC; Moderately: moderately differentiated SCC; Poorly: poorly differentiated SCC; -: the same intensity as normal oral epithelium; ±: slightly stronger intensity than normal epithelium; +: moderately stronger intensity than normal epithelium; ++: markedly stronger intensity than normal epithelium. -, ±: interpreted as negative; +, ++: interpreted as positive

3. 조직학적 침습양상에 따른 MMP-2와 MMP-9의 발현

조직학적 침습양상에 따른 MMP-2의 발현은 A급인 경우 4예 중 1예에서 양성반응을 보여 25.0%에서, B급

인 경우 13예 중 5예에서 양성반응을 보여 38.5%에서, C급인 경우 13예 중 4예에서 양성반응을 보여 30.8%에서, D급인 경우 6예 중 3예에서 양성반응을 보여 50.0%에서 발현되었다. 조직학적 침습양상이 강해질수록 MMP-2 발현이 증가하는지에 대한 통계학적 유의성은

Table 2. Immunoreactivity for MMP-2 and MMP-9 in 36 oral squamous cell carcinomas

Reactivity	MMP-2	MMP-9
-	14 (38.9%)	12 (33.3%)
+/-	9 (25.0%)	4 (11.1%)
+	9 (25.0%)	15 (41.7%)
++	4 (11.1%)	5 (13.9%)
Total	36 (100.0%)	36 (100.0%)

Table 3. Expression of MMP-2 and MMP-9 in oral squamous cell carcinoma with regard to the histologic invasiveness

H.I.	No. of cases	No. of MMP-2 positive cases (%)	No. of MMP-9 positive cases (%)
Grade A	4	1 (25.0)	1 (25.0)
Grade B	13	5 (38.5)	5 (38.5)
Grade C	13	4 (30.8)	10 (76.9)
Grade D	6	3 (50.0)	4 (66.7)
Total	36	13 (36.1)	20 (55.6)

H.I.: Histologic Invasiveness

없었다.

반면에 조직학적 침습양상에 따른 MMP-9의 발현은 A급인 경우 4예 중 1예에서 양성반응을 보여 25.0%에서, B급인 경우 13예 중 5예에서 양성반응을 보여 38.5%에서, C급인 경우 13예 중 10예에서 양성반응을 보여 76.9%에서, D급인 경우 6예 중 4예에서 양성반응을 보여 66.7%에서 발현되었다. 조직학적 침습양상이 강해질수록 MMP-9 발현이 유의하게 증가하였다 (Table 3).

4. 분화도에 따른 MMP-2와 MMP-9의 발현

분화도에 따른 MMP-2의 발현은 분화도가 좋은 경우 19예 중 6예에서 양성반응을 보여 31.6%에서, 분화도가 중등도인 경우 14예 중 6예에서 양성반응을 보여 42.9%에서, 분화도가 나쁜 경우 3예 중 1예에서 양성반응을 보여 33.3%에서 발현되었다. 분화도가 나빠질수록 MMP-2 발현이 증가하는지에 대한 통계적인 유의성은 없었다.

반면에 분화도에 따른 MMP-9의 발현은 분화도가 좋은 경우 19예 중 11예에서 양성반응을 보여 57.9%에서, 분화도가 중등도인 경우 14예 중 8예에서 양성반응을 보여 57.1%에서, 분화도가 나쁜 경우 3예 중 1예에서 양성반응을 보여 33.3%에서 발현되었다. 분화도가 나빠질수록 MMP-9 발현이 증가하는지에 대한 통계학적 유의성은 없었다 (Table 4).

Table 4. Expression of MMP-2 and MMP-9 in oral squamous cell carcinoma with regard to the cellular differentiation

G.D.	No. of cases	No. of MMP-2 positive cases (%)	No. of MMP-9 positive cases (%)
Well	19	6 (31.6)	11 (57.9)
Moderately	14	6 (42.9)	8 (57.1)
Poorly	3	1 (33.3)	1 (33.3)
Total	36	13 (36.1)	20 (55.6)

G.D.: Grade of differentiation

고 찰

암세포의 침습과 전이에는 세포외기질의 분해가 선행되어야 한다. 암세포들에 의하여 생산되는 세포외기질 분해 효소들 중에 MMPs는 종양의 침습성을 결정하는데 중요한 역할을 하는 것은 잘 알려진 사실이다. MMP-2와 MMP-9은 제 4형 교원질을 분해하여 기저막을 파괴하면서 침습을 유도하게 된다. 그래서 MMP-2와 MMP-9를 생산하는 암세포들은 침습성을 띠게 되어 악성 행태를 보인다. MMP-2와 MMP-9의 작용이 특히 암세포의 전이능과 상관관계가 있다고 보고되어 있다.^{9~12} 구강 편평세포암종의 세포주들도 세포외기질을 구성하는 거대분자들을 파괴할 수 있는 능력을 갖고 있다.^{12,16} 이러한 점으로 구강 편평세포암종에서 MMP-2와 MMP-9의 발현을 평가하는 것은 암세포의 침습능과 전이능을 평가하는 방법 중의 하나일 것이다.

MMP-2와 MMP-9은 유사한 기질 친화성을 보이지만, 그 발현 양상은 상당한 차이점을 보인다. MMP-2는 시험관 내에서 피부 섬유모세포, 각화세포, 연골세포, 내피세포, 단핵구세포, 골모세포 등을 포함한 대부분의 정상 세포에서 일정하게 발현되고, 정상 혈청 내에서도 존재한다.¹⁷ MMP-9은 다형핵 백혈구에서 일정하게 발현되고,¹⁸ 정상 각화세포에서 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA), 성장 인자, 싸이토카인 등에 의해 발현이 유도된다.¹⁹ 즉, MMP-2는 대부분의 정상 세포에서 다른 세포외 유도 물질이 없어도 일정하게 발현되지만, MMP-9의 발현은 다형핵 백혈구를 제외한 대부분의 정상 세포에서 특정 화합물이나 성장 인자와 같은 세포외 유도 없이는 거의 발현되지 않는다. 대장, 췌장, 위, 유방, 폐 등에서 발생한 악성 종양 조직에서 MMP-2와 MMP-9의 발현이 증가하며,^{20~23} 구강 편평세포암종 조직에서도 MMP-2와 MMP-9의 발현이 증가하였음을 보여주는 다수의 보고들이 있다.^{24~27} 본 연구에서도 구강 편평세포암종에서의 MMP-2와 MMP-9의 발현이 각각 36.1%, 55.6%에서 관찰된 반면에, 정상 구강점막 상피에서는 거의 관찰되지 않았다. 이것은 구강 편평세포암종

조직에서의 MMP-2와 MMP-9의 발현이 증가하였음을 보여주는 다수의 보고들과 일치하는 결과이고, 정상 구강점막 상피에서는 MMP-2와 MMP-9의 발현이 되지 않거나 극히 미약하여 본 연구에서 사용한 면역조직화학적 방법으로 검출되지 않았음을 의미한다. 또한 MMP-9의 발현이 MMP-2보다 상대적으로 높은 빈도로 관찰되었는데, 이것이 구강 편평세포암종에서의 특이한 성질인지는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

악성 종양 조직에서 MMP-2와 MMP-9의 발현이 종양 세포 기원인지, 혹은 인접 간엽 세포 기원인지는 정확하게 확립되어 있지 않다. Pyke 등²⁸과 Poulson 등²⁹은 *in situ* 보합결합법을 사용한 연구에서 인접 섬유모세포에서 주로 MMP-2 mRNA가 검출됨을 보고한 반면에, Levy 등³⁰과 Polette 등³¹은 MMP-2 단백질이 주로 종양 상피세포에서 관찰되었다고 하였다. 또한, Gress 등³²은 MMP-2 mRNA와 MMP-2 단백질이 종양 세포와 인접 간엽 세포 모두에서 검출되었다고 보고하였다. 본 연구에서는 MMP-2와 MMP-9의 발현이 주로 종양 세포에서 관찰되었고, 간혹 인접 섬유모세포에서도 관찰되었다. 이것은 MMPs에 의한 세포외기질의 분해 기전이 종양 세포 자신의 MMPs 발현과 종양 세포에 의해 유도된 인접 간엽 세포의 발현, 두 가지 모두 관여함을 시사하고 아마도 종양 세포 자신의 MMPs 발현이 보다 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

과거에는 암종의 조직학적 분화도는 환자의 임상적 예후를 가늠하는 하나의 중요한 기준으로 평가했었다. 즉, 구강 편평세포암종의 분화가 나쁠수록 환자의 예후가 좋지 않을 것으로 보았다. 최근들어 암종의 증식능, 전이능, 침습능을 평가할 수 있는 표지자들이 개발되면서, 암종의 조직학적 분화도는 환자의 임상적 예후를 예측하는 데 있어서 점차 그 중요성을 상실해가는 추세이다. Kusukawa 등²⁵은 MMP-2의 발현과 구강 편평세포암종의 조직학적 분화도는 뚜렷한 관련성이 없다고 보고하였고, 또한, Miyajima 등²⁶은 MMP-9의 발현과 구강 편평세포암종의 조직학적 분화도는 뚜렷한 관련성이 없다고 보고하였다. 본 연구에서도, MMP-2와 MMP-9의 발현과 분화도 간에 유의성 있는 상관관계가 나타나지 않아, 선학들의 보고와 일치하는 결과를 보였다.

MMP-2와 MMP-9의 발현은 암종의 침습성이나 전이성과 밀접한 관련이 있다.^{33~35} 그러나 시험판 실험에서, 젤라틴 분해효소들이 수용성의 제 4형 교원질은 쉽게 분해하지만, 손상 없는 온전한 제 4형 교원질에 대한 분해능은 상당히 감소하는 것으로 알려져 있다.³⁶ 이러한 사실은 종양의 발생에 중요한 역할을 하는 제 4형 교원질의 붕괴 과정에는 다른 분해효소가 관여할 가능성을 시사하고, 또한 암종 세포에 의한 혹은 암종 세포에 의해 유도된 젤라틴 분해효소들의 발현 증가가 종양의 발생에 중요한 역할을 할 수 있다는 것을 의미한다고 볼 수 있다. 이러한 사실과 부합되게, MMP 억제자들은 종양세포의 침습성과 전이능을 조절한다고 알려져 있

다.^{37~42} 교원질 분해효소, 섬유소 용해효소(plasmin), 유로키나제형 플라스미노겐 활성체(urokinase-type plasminogen activator) 등에 대한 억제자들에 의해 B16 흑색종 세포주들에 의한 양막의 침습이 억제되었고,³⁷ 고전 이성 암종 세포들에서는 비전이성 세포에 비해 TIMP의 발현이 감소되었다.³⁸ 또한, 재조합 TIMP^{39~41}나 MMP-2에 대한 항체⁴²를 사용한 연구에서도 암종의 침습력의 감소가 관찰된 바 있다.

종양 세포들의 행태, 특히 재구성된 막을 통한 침습 혹은 전이 등은 비교적 흔하게 MMP-2나 MMP-9의 발현 증가와 연관되어 있다는 많은 실험적 증거가 있다. 하지만, MMPs의 발현은 암종의 악성 행태에 필요 조건이지 충분 조건은 아니다. 암종 세포들이 팽창하고 침습하고 전이 병소를 유발하는 일련의 과정에, MMPs는 세포외기질을 재구성시키는 데 참여하는 다수의 구성원 중 하나로 보인다. 최근에는 구강 편평세포암종에서의 MMPs 발현과 임상적 예후와의 상관관계에 관한 보고들이 있어 왔다.^{24~27} 이들 중 대부분^{24~26}은 구강 편평세포암종에서의 MMPs의 발현이 종양 세포들의 악성도와 임상적 예후와 밀접한 관련이 있다고 보고하였다. Shima 등²⁴은 구강 편평세포암종에서의 MMP-2와 MMP-3의 발현이 림프절 전이와 혈관 침습의 정도와 밀접한 관련을 보인다고 하였고, Kusukawa 등²⁵은 MMP-2를 발현하는 구강 편평세포암종은 그렇지 않은 경우보다 림프절 전이를 잘 일으킨다고 보고하였다. 또한, Miyajima 등²⁶은 MMP-9의 발현과 림프절 전이 및 다른 임상적 예후와의 관련성을 보고한 바 있다. 하지만, Charous 등²⁷은 MMP-2와 MMP-9의 발현과 림프절 전이 및 침습 정도와 관련성이 없다고 보고한 바 있다. 본 연구에서는 구강 편평세포암종에서의 조직학적 침습양상과 MMP-2 발현과는 뚜렷한 상관관계를 보이지 않은 반면에, MMP-9 발현과는 유의성 있는 상관관계를 나타냈다. 이것은 구강 편평세포암종 환자에서의 MMP-9의 발현을 평가함으로써 환자의 임상적 예후와 밀접한 암종의 침습능에 대한 정보를 얻을 수 있는 가능성을 시사한다. 보다 임상적 예후와의 관련성을 구하기 위해서는 구강 편평세포암종 환자에 대한 지속적이고 장기적인 추적 조사가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결 론

MMP-2와 MMP-9은 근래에 알려진 단백분해효소로서 암종의 침습과 전이에 중요한 역할을 한다. 저자들은 구강 편평세포암종에서 MMP-2와 MMP-9의 역할을 알아보기 위해 본 연구를 시행하였다. 구강 편평세포암종 36 예를 대상으로 암종의 조직학적 분화도와 침습 정도에 따른 MMP-2와 MMP-9의 발현 정도를 분석하고 통계학적 유의성을 평가하였다.

1. 36예의 편평세포암종의 조직학적 침습양상의 분류에서는 A급 4예, B급 13예, C급 13예, D급 6예이었다.

분화도를 분류한 결과, 분화도가 양호한 편평세포암종이 19예, 분화도가 중등도인 암종이 14예, 그리고 분화도가 나쁜 암종이 3예이었다.

2. 구강 편평세포암종에서의 MMP-2의 발현은 전체 36예의 암종 중 13예 (36.1%)에서, MMP-9의 발현은 20 예 (55.6 %)에서 관찰된 반면에, 정상 구강점막 상피에서는 거의 관찰되지 않았다.

3. 구강 편평세포암종에서의 MMP-2의 발현과 조직학적 침습 정도 사이에는 뚜렷한 상관관계가 없었고 ($p > 0.05$), 반면에 조직학적 침습 정도가 강해질수록 MMP-9 발현이 유의하게 증가하였다 ($p < 0.05$).

4. 구강 편평세포암종에서의 MMP-2와 MMP-9의 발현과 조직학적 분화도 사이에는 뚜렷한 상관관계가 없었다 ($p > 0.05$).

이상의 결과들에 의하면 구강 편평세포암종에서의 조직학적 침습 정도가 강해질수록 MMP-9의 발현이 증가한다고 볼 수 있으며, 이 암종의 침습 과정에는 MMP-9이 중요한 역할을 할 것으로 추정된다.

참 고 문 헌

1. Spiro RH, Alfonso AE, Farr FW. Cervical lymph node metastasis from epidermoid carcinoma of oral cavity and oropharynx. Am J Surg 1974; 128: 562-7.
2. Carter WG, Wayner EA, Bouchard TS, Kaur P. The role of integrins $\alpha_2\beta_1$ and $\alpha_3\beta_1$ in cell-cell and cell-substrate adhesion of human epidermal cells. J Cell Biol 1990; 110: 1387-404.
3. Meyer J. Distribution of fibronectin and laminin in oral leukoplakia and carcinoma. J Oral Pathol 1985; 14: 247-55.
4. Junker J. Effect of adhesion factors fibronectin, laminin, type IV collagen on spreading and growth of transformed and control rat liver epithelial cells. Cancer Res 1987; 47: 3802-7.
5. Fidler IJ, Radinsky R. Genetic control of cancer metastasis. J Natl Cancer Inst 1990; 82: 166-8.
6. Liotta LA. Tumor invasion and metastases -- Role of extracellular matrix. Cancer Res 1986; 46: 1-7.
7. Birkel-Hansen H, Moore WGI, Bodden MK, et al. Matrix metalloproteinases. A review. Crit Rev Oral Biol Med 1993; 4: 197-250.
8. Sato H, Seiki M. Membrane-type matrix metalloproteinases (MT-MMPs) in tumor metastasis. J Biochem 1996; 119: 209-15.
9. Brown PD, Levy AT, Margulies IM, Liotta LA, Stetler-Stevenson WG. Independent expression and cellular processing of Mr 72,000 Type IV collagenase and interstitial collagenase in human tumorigenic cell lines. Cancer Res 1990; 50: 6184-91.
10. Corcoran ML, Hewitt RE, Kleiner DE, Stetler-Stevenson WG. MMP-2: Expression, activation and inhibition. Enzyme Protein 1996; 49: 7-19.
11. Khokha R, Waterhouse P. The role of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in specific aspects of cancer progression and reproduction. J Neuro-Oncol 1994; 18: 123-7.
12. Lengyel E, Gum R, Juarez J, et al. Induction of Mr 92,000 type IV collagenase expression in a squamous cell carcinoma cell line by fibroblasts. Cancer Res 1995; 55: 963-7.
13. Reynolds JJ. Collagenases and tissue inhibitors of metalloproteinases; a functional balance tissue degradation. Oral Diseases 1996; 2: 70-6.
14. Yamamoto E, Miyakawa A, Kohama G. Mode of invasion and lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. Head Neck Surg 1984; 6: 938-47.
15. Arthur K, Farr HW. Prognostic significance of histologic grade in epidermoid carcinoma of the mouth and pharynx. Am J Surg 1972; 124: 489-92.
16. Juarez J, Clayman G, Nakajima M, et al. Role and regulation of expression of 92-kDa type-IV collagenase (MMP-9) in 2 invasive squamous-cell-carcinoma cell lines of the oral cavity. Int J Cancer 1993; 55: 10-8.
17. Zucker S, Lysik RM, Gurkinkel M, et al. Immunoassay of type IV collagenase/gelatinase (MMP-2) in human plasma. J Immunol Methods 1992; 148: 189-98.
18. Bergmann U, Michaelis J, Oberhoff R, Knauper V, Beckmann R, Tschesche H. Enzyme linked immunosorbent assays (ELISA) for the quantitative determination of human leukocyte collagenase and gelatinase. J Clin Chem Clin Biochem 1989; 27: 351-9.
19. Salo T, Lyons G, Rahemtulla F, Birkedal-Hansen H, Larjava H. Transforming growth factor- β 1 upregulates type IV collagenase expression in cultures human keratinocytes. J Biol Chem 1991; 266: 11436-41.
20. Hewitt RE, Leach IH, Powe DG, Clark IM, Cawston TE, Turner DR. Distribution of collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinase in colorectal tumors. Int J Cancer 1991; 49: 666-72.
21. Clavel C, Polette M, Doco M, Binninger I, Birembaut P. Immunolocalization of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitor in human mammary pathology. Bull Cancer 1992; 79: 261-70.
22. Koshiba T, Hosotani R, Wada M, et al. Involvement of matrix metalloproteinase-2 activity in invasion and metastasis of pancreatic carcinoma. Cancer 1998; 82: 642-50.
23. Nawrocki B, Polette M, Marchand V, et al. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human bronchopulmonary carcinomas: quantificative and morphological analyses. Int J Cancer 1997; 72: 556-64.
24. Shima I, Sasaguri Y, Kusukawa J, et al. Production of matrix metalloproteinase-2 and metalloproteinase-3 related to malignant behavior of esophageal carcinoma. Cancer 1992; 70: 2747-53.

25. Kusugawa J, Sasakuri Y, Shima I, Kameyama T. Expression of matrix metalloproteinase-2 related to lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. Am J Clin Pathol 1993; 99: 18-23.
26. Miyajima Y, Nakano R, Morimatsu M. Analysis of expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 in hypopharyngeal squamous cell carcinoma by *in situ* hybridization. Ann Otol Rhinol Laryngol 1995; 104: 678-84.
27. Charous SJ, Stricklin GP, Nanney LB, Burkay BB. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in head and neck squamous cell carcinoma. Ann Otol Rhinol 1997; 106: 271-8.
28. Pyke C, Ralfkiaer E, Huhtala P, Hurskainen T, Dano K, Tryggvason K. Localization of messenger RNA for Mr 72,000 and 92,000 type IV collagenases in human skin cancers by *in situ* hybridization. Cancer Res 1992; 52: 1336-41.
29. Poulson R, Hanby AM, Pignatelli M, et al. Expression of gelatinase A and TIMP-2 mRNAs in desmoplastic fibroblasts in both mammary carcinomas and basal cell carcinomas of the skin. J Clin Pathol 1993; 46: 429-36.
30. Levy AT, Cioce V, Sobel ME, et al. Increased expression of the Mr 72,000 type IV collagenase in human colonic adenocarcinoma. Cancer Res 1991; 51: 439-44.
31. Polette M, Nawrocki B, Pintiaux A, et al. Expression of gelatinases A and B and their tissue inhibitors by cells of early and term human placenta and gestational endometrium. Lab Invest 1994; 71: 838-46.
32. Gress TM, Muller-Pillasch F, Lerch MM, Friess H, Buchler M, Adler G. Expression and in-situ localization of genes coding for extracellular matrix proteins and extracellular matrix degrading proteases in pancreatic cancer. Int J Cancer 1995; 62: 407-13.
33. Garbisa S, Pozzati R, Muschel RJ, et al. Secretion of type IV collagenolytic protease and metastatic phenotype: Induction by transfection with c-Ha-ras but not c-Ha-ras plus Ad2-E1a. Cancer Res 1987; 47: 1523-8.
34. Nakajima M, Welch DR, Belloni PN, Nicholson GL. Degradation of basement membrane type IV collagen and lung subendothelial matrix by rat mammary adenocarcinoma cell clones of differing metastatic potentials. Cancer Res 1987; 47: 4869-76.
35. Bernhard EJ, Muschel RJ, Hughes EN. Mr 92,000 gelatinase release correlates with the metastatic phenotype in transformed rat embryo cells. Cancer Res 1990; 50: 3872-7.
36. Mackay AR, Hartzler JL, Pelina MD, Thorgerisson UP. Studies on the ability of 65-kDa and 92-kDa tumor cell gelatinases to degrade type IV collagen. J Biol Chem 1990; 265: 21929-34.
37. Mignatti P, Robbins E, Rifkin DB. Tumor invasion through the human amniotic membrane: Requirement for a proteinase cascade. Cell 1986; 47: 487-98.
38. Ponton A, Coulombe B, Skup D. Decreased expression of tissue inhibitor of metalloproteinases in metastatic tumor cells leading to increased levels of collagenase activity. Cancer Res 1991; 51: 2138-43.
39. Schultz RM, Silberman S, Persky B, Bajkowsky AS, Carmichael DF. Inhibition by human recombinant tissue inhibitor of metalloproteinases of human amnion invasion and lung colonization by murine B16-F10 melanoma cells. Cancer Res 1988; 48: 5539-45.
40. Alvarez OA, Carmichael DF, DeClerk YA. Inhibition of collagenolytic activity and metastasis of tumor cells by a recombinant human tissue inhibitor of metalloproteinase. J Natl Cancer Inst 1990; 82: 589-95.
41. Albin A, Melchiori A, Santi L, Liotta LA, Brown PD, Stetler-Stevenson WG. Tumor cell invasion inhibited by TIMP-2. J Natl Cancer Inst 1991; 83: 775-9.
42. Hoyhtya M, Hujanen E, Turpeenniemi-Hujanen T, Thorgerisson U, Liotta LA, Tryggvason K. Modulation of type-IV collagenase activity and invasive behavior of metastatic human melanoma (A2058) cells in vitro by monoclonal antibodies to type-IV collagenase. Int J Cancer 1990; 46: 282-6.