

유방의 양성병변 및 침윤성 관암종에서 Claudin-1 및 -4 단백질의 발현

최현주 · 정지한 · 유진영 · 강석진
이교영

가톨릭대학교 의과대학 병원병리학교실

Expression of Claudin-1 and -4 in Benign Lesions and Invasive Ductal Carcinomas of the Breast

Hyun Joo Choi, Ji Han Jung, Jinyoung Yoo, Seok Jin Kang and Kyo Young Lee

Department of Hospital Pathology, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Background : The claudins are a family of transmembrane proteins associated with tight junctions and they are critical for maintaining cell-to-cell adhesion in sheets of epithelial cells. However, their role in the progression of cancer remains largely unexplored. The aims of this study were to evaluate the expression patterns of claudin-1 and -4 in benign lesions and invasive ductal carcinomas (IDC) of the breast, and relationships between the expression of these markers and the clinicopathological characteristics in IDC patients. **Methods :** We examined the claudin-1 and -4 protein expressions by performing immunohistochemical stainings in 54 benign lesions and 120 IDCs via the tissue microarray method. We evaluated the correlation between the expression of these markers and the clinicopathological characteristics of IDC. **Results :** The expressions of claudin-1 ($p=0.099$) and -4 ($p=0.000$) were up-regulated in IDCs as compared with benign lesions. The claudin-1 expression correlated with the loss of estrogen receptor ($p=0.036$) and progesterone receptor ($p=0.011$). The claudin-4 expression correlated with lymph node metastasis ($p=0.043$), the nuclear grade ($p=0.030$), the histologic grade ($p=0.007$), and the loss of estrogen receptor ($p=0.001$) and progesterone receptor ($p=0.029$). **Conclusions :** These results suggest that claudin-1 and -4 may play a significant role in the carcinogenesis of IDC of the breast and these may represent novel markers for this disease.

Key Words : Breast; Claudin-1; Claudin-4; Immunohistochemistry

접 수 : 2007년 3월 5일
게재승인 : 2007년 5월 7일

책임저자 : 유진영
우 442-723 경기도 수원시 팔달구 지동 93
성빈센트병원 병리과
전화: 031-249-7593
Fax: 031-244-6786
E-mail: jinyyoo@vincent.cuk.ac.kr

악성종양의 발생과 진행 및 전이에는 많은 요소들이 작용한다. 그중 전이는 암종의 예후를 결정하는 데 매우 중요하며 암 환자를 사망에 이르게 하는 주요 원인이다. 암세포의 침습과 전이 과정은 아직까지 임상적으로 이해하기 어려운 많은 문제들이 있기 때문에, 암세포와 인접한 정상세포 사이의 전이과정에서 일어나는 상호작용에 관심이 집중되고 있다. 종양상피에서 세포 대 세포 유착의 소실은 종양세포가 주변 기질로 침습, 전이하는 데 중요한 과정이라고 알려져 있다.¹

세포결합은 세포들을 서로 연결하고 안정적인 상호관계를 갖도록 유도하는데 이에 관여하는 것으로는 띠부착판(zonula adherens), 결합체(desmosomes), 띠폐쇄판(zonula occludens) 또는 치밀이음부(tight junction) 등이 있다.²

치밀이음부는 세포의 가장 침부에 위치하며 상피 및 내피의 출입구와 장벽 역할을 하여 체내의 내강이나 선 조직을 외부와 구별하고 유지해 준다. 그 결과로 세포 주위의 물과 이온 및 체

내 거대물질들이 확산되지 않도록 억제하고,³ 삼투력을 조절하고 세포의 이동에 영향을 미치며,⁴ 항상성과 세포의 극성을 유지한다.⁵ 치밀이음부는 또한 세포의 증식, 분화 및 다른 세포 기능의 조절에도 관여하는 것으로 알려져 있다. 치밀이음부는 세 종류의 통합 막단백(integral transmembrane proteins), 즉 occludins, claudins 및 접합유착분자(junctional adhesion molecules)로 구성되어 있다.^{2,5,6}

Claudin은 1998년에 처음 발견되었는데, 24개 이상의 새로이 발견된 유형들을 가지고 있으며, 상호간은 액틴세포골격으로 연결되어 있고, 세포 내 신호전달에도 참여하는 것으로 알려져 있다.⁷ 치밀이음부에서 claudin이 하는 상호작용들은 태아 발생과 분화에서도 일어나고,⁵ claudin 발현의 상승 또는 감소가 유방,⁸⁻¹⁰ 대장,¹¹ 난소 등¹²에서 암이 발생하는 데 영향을 미친다는 보고가 있다.

본 연구에서는 유방의 양성병변 및 침윤성 관암종을 대상으로

claudin-1 및 -4의 발현 양상을 비교 분석하여 이들 단백질 유방병변의 악성화에 관여하는지를 규명하고자 하였다. 또한 침윤성 관암증의 기존의 다른 예후인자들과의 상관관계를 비교분석하여 종양의 생물학적 성상과 예후인자로서 유용성이 있는지 알아보려고 하였다.

재료와 방법

연구 재료

1999년 1월부터 2002년 12월까지 가톨릭대학교 의과대학 부속병원에서 외과적으로 적출한 유방 조직 중 수술 전 방사선 요법이나 약물 요법 등의 보조적 치료를 받지 않았고, 파라핀 포매 조직 중 블록 보존 상태가 양호하고 정상 조직을 포함하고 있으며, 환자의 임상 자료를 검색할 수 있는 양성병변 54예(섬유낭성질환 26예, 섬유선종 28예)와 침윤성 관암증 120예를 연구 대상으로 하였다.

연구 방법

임상 및 병리학적 분류

환자의 임상 기록과 병리 검사 결과를 재검토하여 나이, 종양 크기, 림프절 전이 수, 핵 등급, 조직학적 등급, 임상 병기 및 에스트로겐 수용체(ER), 프로게스테론 수용체(PR), p53과 c-erbB-2 발현 등을 조사하였다. 조직학적 등급은 Bloom과 Richardson의 분류 방법에 근거한 Elston-Ellis의 변형적 방법¹³을 사용하여 분류하였고, 핵 등급은 Black과 Speer가 제안한 내용을 Fisher 등¹⁴이 수정한 분류법을 이용하여 분류하였다. 임상 병기는 AJCC (American Joint Committee on Cancer)의 TNM 병기에 따라 분류하였다.

조직집적 블록(Tissue Microarray Block) 제작

대상 증례의 헤마톡실린-에오신 염색 슬라이드를 재검하여 각 증례의 조직학적 소견을 대표할 수 있는 부위를 표시하고, 각 증례의 파라핀 블록에서 그에 해당하는 부위 세 곳을 직경 3 mm 크기의 펀치를 이용하여 채취하였다. 그런 다음 하나의 블록당 30개의 조직 조각을 질서정연하게 배열하여 조직집적 블록을 제작하였다.

면역조직화학 염색

파라핀에 포매한 조직집적 블록을 4 μ m 두께로 박절하여 슬라이드(Snowcoat X-tra, Surgipath, Richmond)에 부착하고 80°C 오븐에 15분간 넣은 후 자일렌으로 실온에서 2분간 4회 반복 처리하여 파라핀을 제거하였다. 100% 알코올로 10초간 3회 처리하여 자일렌을 완전히 제거한 후, 95%, 80%, 70% 알코

올에 순서대로 각각 2회씩 처리한 다음 1차 증류수로 함수했다. 항원을 회복시키기 위해 10 mM의 citrate 완충용액(pH 6.0)에 슬라이드를 넣고 마이크로파 전자렌지 90°C에서 20분 동안 처리하여 실온에서 식힌 후 phosphate-buffered saline (PBS)으로 5분씩 3회 세척하였다. 조직 내의 내인성 과산화효소가 활성화되지 않도록 3% 과산화수소수를 이용하여 45°C에서 5분 동안 처리한 후 PBS로 2-3회 세척하였다. 비특이 항체의 결합을 방지하기 위해 1:100으로 희석한 비면역 염소혈청(Zymed, South San Francisco, CA, USA)에 45°C에서 60분간 반응시켰다. 일차 항체로 1:200 희석한 claudin-1 및 -4 (Neomarkers, Fremont, CA, USA)를 실온에서 각각 30분간 반응시킨 후 PBS로 다시 3회 세척하였다. 이후 이차항체(biotinylated anti-mouse immunoglobulin antibody, Zymed)를 30분간 반응시킨 후 PBS로 3분씩 3회 세척하였다. 그런 다음 과산화효소가 결합된 streptavidin 용액으로 실온에서 30분간 처리하여 biotin-avidin 특이 결합을 유도하였다. 다시 수세 후 발색제 diaminobenzidine (DAB)을 5-10분간 발색시켜 흐르는 물에 씻어내고, Mayer 헤마톡실린으로 대조 염색하여 비수용성 봉입제로 봉입한 다음 광학현미경으로 관찰하였다.

염색 결과 판독

Claudin-1 및 -4 발현 정도의 차이는 광학현미경으로 살펴볼 때 보이는 종양세포 세포질 및 세포막의 염색 강도에 따라 4단계로 나누어 음성을 0, 약양성을 1+, 중간양성을 2+, 강양성을 3+로 점수화하여 판독하였다. 그런 다음 0 및 1+인 경우를 합쳐서 음성(-)으로, 2+ 및 3+인 경우를 합쳐서 양성(+)으로 재구성하였다. 이때 양성 대조군으로는 claudin-1은 유방암 조직을, claudin-4는 편도조직을 이용하였고, 음성 대조군으로는 기질세포를 이용하였다.

ER, PR 및 p53 발현은 10%가 넘는 종양세포의 핵에서 발현을 보이면 양성으로 판독하였다. c-erbB-2 발현 정도에 대해서는 종양세포의 세포막에 염색되는 정도에 따라 다음과 같이 점수를 주었다. 음성 반응을 나타내거나 10% 미만의 암세포에서 약하게 염색되는 경우 0, 암세포의 10% 이상에서 염색은 되었으나 세포막의 일부가 약하게 염색된 경우 1+, 암세포의 10% 이상에서 전체 세포막이 중등도로 염색된 경우 2+, 암세포의 10% 이상에서 전체 세포막이 강하게 염색된 경우 3+로 판독하였다. 그중 염색 점수가 0 및 1+인 경우를 합쳐서 음성(-)으로, 염색 점수가 2+ 및 3+인 경우를 합쳐서 양성(+)으로 재구성하였다.

통계학적 분석

유방의 양성병변 및 침윤성 관암증에서 claudin-1 및 -4가 발현하는 각각의 양상과 침윤성 관암증에서 예후인자와의 상관관계를 윈도우용 SPSS (version 11.5) 통계 프로그램의 카이제곱

검정 방법을 이용하여 분석하였고, p값이 0.05 이하인 경우에 통계학적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

임상 및 병리조직학적 소견

유방에 양성병변이 발생한 환자의 나이는 16세에서 61세로 평균 34.1세였고, 침윤성 관암종이 발생한 환자의 나이는 33세에서 82세로 평균 50.2세였다. 또 침윤성 관암종 환자의 종양 크기는 0.7 cm에서 11.5 cm로 평균 3.9 cm였다.

침윤성 관암종 120예 중, 50세 미만의 환자가 67예(55.8%), 50세 이상의 환자가 53예(44.2%)였다. 종양의 크기로 구분하면 2 cm 미만인 31예(25.8%), 2-5 cm가 71예(59.2%), 5.1 cm 이상이 18예(15.0%)였다. 림프절 전이 유무에 따라 구분하면 림프절 전이가 없는 군이 64예(53.4%), 1-3개의 전이를 보이는

군이 28예(23.3%), 4개 이상의 전이를 보이는 군이 28예(23.3%)였다. 핵 등급에 따라 구분하면 I등급이 23예(19.2%), II등급이 67예(55.8%), III등급이 30예(25.0%)였다. 조직학적 등급에 따라 구분하면 I등급이 39예(32.5%), II등급이 39예(32.5%), III등급이 42예(35.0%)였다. 임상 병기에 따라 구분하면 병기 I이 23예(19.2%), 병기 II가 70예(58.3%), 병기 III이 25예(20.8%), 병기 IV가 2예(1.7%)였다. ER 양성인 경우는 32예(26.7%), PR 양성인 경우는 39예(32.5%), c-erbB-2 양성인 경우는 20예(16.6%)였다.

유방의 양성병변 및 침윤성 관암종에서 claudin-1 및 -4의 발현 양상

Claudin-1 및 -4의 발현은 주로 세포막 염색으로 관찰되었다 (Fig. 1). Claudin-1은 유방의 양성병변 환자 3예(5.6%), 침윤성 관암종 환자 17예(14.2%)에서 양성반응을 보여 침윤성 관암종 환자에게서 좀 더 높은 발현율을 보였지만 통계학적으로 유

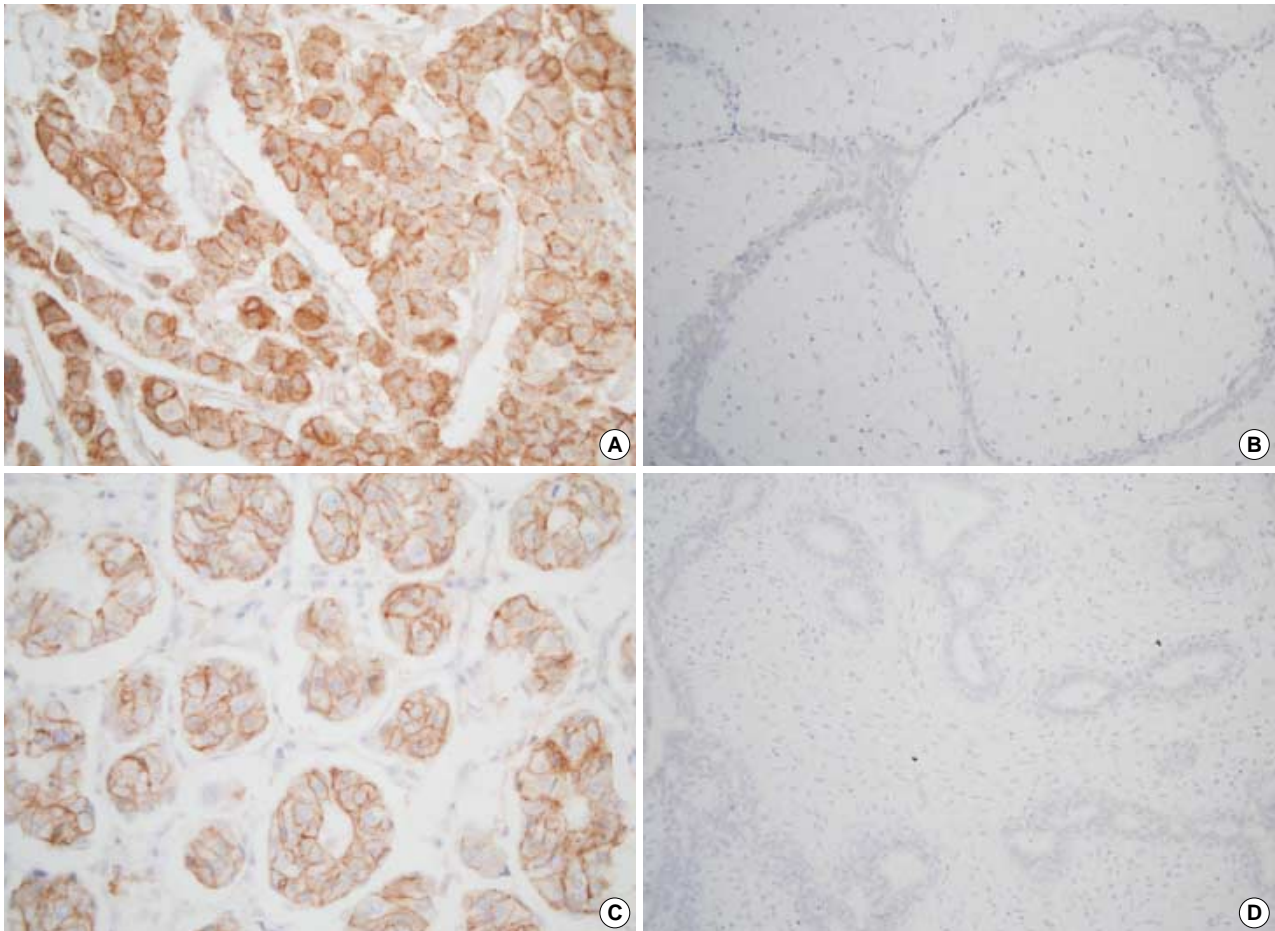


Fig. 1. Immunohistochemical stainings of claudin-1 and -4 in breast lesions. Claudin-1 shows positive membranous staining in invasive ductal carcinoma (A) and negative reaction in fibroadenoma (B). Claudin-4 shows positive membranous staining in invasive ductal carcinoma (C) and negative reaction in fibroadenoma (D).

Table 1. The expression of claudin-1 and -4 between the benign lesions and invasive ductal carcinomas of breast

| Breast lesions | No. of cases (%) | No. of positive cases (%) | | | |
|----------------|------------------|---------------------------|---------|-----------|---------|
| | | Claudin-1 | p-value | Claudin-4 | p-value |
| Benign | 54 (31.0) | 3 (5.6) | 0.099 | 2 (3.7) | 0.000* |
| IDC | 120 (69.0) | 17 (14.2) | | 41 (34.2) | |

*, p<0.05. IDC, invasive ductal carcinoma.

Table 2. Relationship between expression of claudin-1 and -4 and clinical factors in invasive ductal carcinomas of breast

| Clinical factors | No. of cases (%) | No. of positive cases (%) | | | |
|------------------|------------------|---------------------------|---------|-----------|---------|
| | | Claudin-1 | p-value | Claudin-4 | p-value |
| Age (years) | | | 0.432 | | 0.463 |
| <50 | 67 (55.8) | 8 (11.9) | | 21 (31.3) | |
| ≥50 | 53 (44.2) | 9 (17.0) | | 20 (37.7) | |
| Size (cm) | | | 0.852 | | 0.956 |
| <2 | 31 (25.8) | 5 (16.1) | | 10 (32.3) | |
| 2-5 | 71 (59.2) | 9 (12.7) | | 25 (35.2) | |
| >5 | 18 (15.0) | 3 (16.7) | | 6 (33.3) | |
| Node metastasis | | | 0.442 | | 0.043* |
| 0 | 64 (53.4) | 8 (12.5) | | 19 (29.7) | |
| 1-3 | 28 (23.3) | 3 (10.7) | | 7 (25.0) | |
| ≥4 | 28 (23.3) | 6 (21.4) | | 15 (53.6) | |
| Stage | | | 0.899 | | 0.850 |
| I | 23 (19.2) | 3 (13.0) | | 7 (30.4) | |
| II | 70 (58.3) | 11 (15.7) | | 23 (32.9) | |
| III | 25 (20.8) | 3 (12.0) | | 10 (40.0) | |
| IV | 2 (1.7) | 0 (0.0) | | 1 (50.0) | |

*, p<0.05.

의하지는 않았다(p=0.099). Claudin-4는 유방의 양성병변 환자 2예(3.7%), 침윤성 관암중 환자 41예(34.2%)에서 양성반응을 보여 침윤성 관암중 환자에게서 더 높은 발현율을 보였고 이는 통계학적으로 유의하였다(p=0.000)(Table 1). 그 밖에 유방의 양성병변 중 섬유낭성질환과 섬유선종 사이에 claudin-1 및 -4의 발현의 차이는 없었다.

유방의 침윤성 관암중에서 claudin-1 및 -4 발현과 임상병리학적 인자들 간의 상관관계(Table 2, 3)

Claudin-1 발현 양상과 임상병리학적 인자들 간의 상관관계를 살펴보면, ER 발현소실이 16예(18.2%), ER 발현이 1예(3.1%)에서 나타나 claudin-1의 발현은 ER 발현소실과 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다(p=0.036). 한편 PR 발현소실은 16예(19.8%), PR 발현은 1예(2.6%)에서 나타나 claudin-1의 발현은 PR의 발현소실과도 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다(p=0.011). 그 외의 임상병리학적 인자들인 환자의 나이(p=0.432), 종양 크기(p=0.852), 림프절 전이 수(p=0.442), 핵 등급(p=0.650), 조직학적 등급(p=0.686), 임상 병기(p=

Table 3. Relationship between expression of claudin-1 and -4 and pathologic factors in invasive ductal carcinomas of breast

| Pathologic factors | No. of cases (%) | No. of positive cases (%) | | | |
|--------------------|------------------|---------------------------|---------|-----------|---------|
| | | Claudin-1 | p-value | Claudin-4 | p-value |
| Nuclear grade | | | 0.650 | | 0.030* |
| I | 23 (19.2) | 2 (8.7) | | 5 (21.7) | |
| II | 67 (55.8) | 11 (16.4) | | 20 (29.9) | |
| III | 30 (25.0) | 4 (13.3) | | 16 (53.3) | |
| Histologic grade | | | 0.686 | | 0.007* |
| I | 39 (32.5) | 4 (10.3) | | 8 (20.5) | |
| II | 39 (32.5) | 6 (15.4) | | 11 (28.2) | |
| III | 42 (35.0) | 7 (16.7) | | 22 (52.4) | |
| ER | | | 0.036* | | 0.001* |
| - | 88 (73.3) | 16 (18.2) | | 38 (43.2) | |
| + | 32 (26.7) | 1 (3.1) | | 3 (9.4) | |
| PR | | | 0.011* | | 0.029* |
| - | 81 (67.5) | 16 (19.8) | | 33 (40.7) | |
| + | 39 (32.5) | 1 (2.6) | | 8 (20.5) | |
| p53 | | | 0.278 | | 0.900 |
| - | 100 (83.3) | 10 (11.9) | | 29 (34.5) | |
| + | 20 (16.6) | 7 (19.4) | | 12 (33.3) | |
| c-erbB-2 | | | 0.907 | | 0.931 |
| - | 100 (83.3) | 14 (14.0) | | 34 (34.0) | |
| + | 20 (16.6) | 3 (15.0) | | 7 (35.0) | |

*, p<0.05.

Table 4. Summary of the reported and present studies about claudin expression in breast carcinoma

| Sources | Claudin gene | Expression |
|--------------------------------------|--|--|
| Tokes <i>et al.</i> ¹⁰ | Claudin-1 Claudin-3 Claudin-4 | Down No correlation ^a Variable ^b |
| Soini ²⁶ | Claudin-2, -5 Claudin-1, -3, -4, -7 | Down Up |
| Kramer <i>et al.</i> ⁹ | Claudin-1 | Down |
| Kominsky <i>et al.</i> ²¹ | Claudin-3, -4 | Up |
| Kominsky <i>et al.</i> ⁸ | Claudin-7 | Down |
| Hewitt <i>et al.</i> ²⁶ | Claudin-3, -4, -7 | Up |
| Present study | Claudin-4 | Up |

^a, between normal and tumor components; ^b, Intense positivity was observed in normal epithelial cells and in ductal carcinomas of grade 2 and grade 3, and was greatly reduced in the majority of ductal carcinomas of grade 1 and apocrine metaplasia.

0.899), p53 (p=0.278) 및 c-erbB-2 (p=0.907) 발현과는 통계학적 상관관계를 보이지 않았다.

Claudin-4 발현 양상과 임상병리학적 인자들 간의 상관관계를 살펴보면, 림프절 전이가 없는 경우가 19예(29.7%), 1-3개의 림프절 전이가 있는 경우가 7예(25.0%), 4개 이상의 림프절 전이가 있는 경우가 15예(53.6%)로 나타나 림프절 전이와 claudin-4 발현은 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다(p=0.043). 핵 등급과의 상관관계를 분석해 보면, I등급이 5예(21.7%), II등급이 20예(29.9%), III등급이 16예(53.3%)로 나타나 claudin-4의 발현은 핵 등급의 증가와 통계학적으로 유의한 상관관계를

보였다($p=0.030$). 조직학적 등급과의 상관관계 분석에서도 I등급이 8예(20.5%), II등급이 11예(28.2%), III등급이 22예(52.4%)로 나타나 claudin-4의 발현은 조직학적 등급의 증가와 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다($p=0.007$). ER 및 PR 발현과의 상관관계를 분석해 보면, ER 발현소실이 38예(43.2%), ER 발현이 3예(9.4%)에서 나타나 claudin-4의 발현은 ER 발현소실과 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였고($p=0.001$), PR 발현소실이 33예(40.7%), PR 발현이 8예(20.5%)에서 나타나 claudin-4의 발현은 PR의 발현소실과도 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다($p=0.029$). 그 외의 임상병리학적 인자들인 환자의 나이($p=0.463$), 종양 크기($p=0.956$), 임상 병기($p=0.850$), p53 ($p=0.900$) 및 c-erbB-2 ($p=0.931$) 발현과 claudin-4 발현 사이에는 통계학적 상관관계를 보이지 않았다.

고 찰

치밀이음부는 세포의 극성 유지, 세포 주위 수송운반 조절 및 장벽 기능에 중요한 역할을 한다. 그러나 일반적으로 종양 형성 과정 중에 악성세포들은 흔히 치밀이음부 부분에서 구조적 또는 기능적 이상을 보인다.¹⁵ 이는 세포응집력 소실, 침윤 및 분화의 감소를 유발하여 종양세포가 주변 기질로 침습, 전이하는데 영향을 미칠 것으로 생각되며, 암종에서 치밀이음부 단백질의 발현 소실이 나타난다는 여러 연구 결과들이 이를 뒷받침하고 있다. 세포 사이의 치밀이음부에 존재하여 그 형성에 기여하는 claudin은 세포층의 투과력을 조절하는 유착분자로서 적어도 20가지가 넘는 아형이 있다.¹⁶ 정상세포는 특징적으로 다양한 claudin 단백을 발현하지만 어떤 아형의 claudin은 조직특이분포를 보인다. 예를 들면, claudin-2는 폐에서는 발현되지 않고 간 및 신장에서는 발현되는 반면, claudin-4는 폐 및 신장에서는 발현되고 간에서는 발현되지 않는다.¹⁷ 또 claudin은 아형과 암종에 따라 다르게 발현되기도 한다.^{8-10,18-24} 이는 claudin이 암종에 따른 고도의 조직특이분포를 보이며 세포의 정확한 분자회로에 의존할 것으로 생각된다. 따라서 이들 단백질이 종양 발생에 어떠한 역할 및 기능을 하는지는 정확하게 밝혀지지 않았지만, claudin 단독 또는 다른 단백질들과 상호작용을 하여 치밀이음부와 관련된 기능 외에도 다양한 역할을 보일 것으로 생각한다. 따라서 claudin은 암종에서 생물학적 지표와 치료의 표적이 될 수 있을 것으로 생각한다.

유방암종에서 claudin 발현을 조사한 연구에 따르면 여러 아형이 각각 특이하게 발현된다고 한다. 유방의 양성 및 악성병변을 대상으로 RT-PCR을 통하여 claudin mRNA 분석을 한 Tokes 등¹⁰은 유방암세포에서 claudin-1 단백질이 소실되는 것을 관찰하고 claudin-1이 유방의 침윤과 전이 과정에 관여할 것이라고 주장하였다. Soini²⁵는 다양한 암종에서 claudin-1, -2, -3, -4, -5, -7의 발현 양상을 조사하였는데 종양에 따라 차이를 보

였고, 이 중 유방암종에서는 claudin-2, -5는 발현이 감소했지만, claudin-1, -3, -4, -7은 발현이 증가했다. 그 밖에 유방암종에서 claudin-1은 발현 감소,⁹ claudin-3, -4는 발현 증가,^{21,26} claudin-7은 연구자들마다 상이한 결과를 보였다.^{8,26} 본 연구에서는 면역조직화학염색을 이용하여 유방의 양성병변과 침윤성 관암종을 비교하였을 때 claudin-1은 통계학적으로 발현의 차이가 없었으나 claudin-4는 침윤성 관암종에서 발현이 증가하였다. Claudin-4의 경우 다른 연구들과 비슷한 소견을 보였지만 claudin-1은 연구자에 따라 그 결과가 달라서(Table 4) 좀 더 많은 검체를 대상으로 연구해봐야 할 것이다.

한편 claudin은 세포 사이의 치밀이음부에 존재하여 세포의 극성 유지 및 장벽 기능을 하기 때문에 종양이 악성화, 특히 침윤성 암종으로 진행할수록 claudin의 발현은 감소할 것으로 예측할 수 있다. 그러나 일반적인 작용에 따른 위와 같은 예상에도 불구하고, 본 연구를 포함한 실제 여러 연구 결과에 따르면 claudin 아형과 암종에 따라 발현이 증가하는 상반된 결과를 보였다. 이러한 결과가 나타난 몇 가지 원인을 생각해 보면, 첫째로 악성화 진행 과정에서 세포응집력이 소실되어 이에 대한 반응성으로 이들 단백질이 증가했을 수 있다. 둘째로 claudin 유전자 변이에 의해 증폭 과정이 일어나 이들 단백질의 발현이 증가했을 수도 있다. 따라서 한두 가지 인자를 개별적으로 측정 비교하여 이들 단백질의 역할을 예견하기란 매우 어려우며, 다양한 인자들의 복합적인 상호작용에 따른 종합적인 결과일 것이라고 생각한다.

결론적으로 본 연구에서는 claudin-4가 유방의 양성병변과 비교했을 때 침윤성 관암종에서 통계학적으로 유의한 발현의 증가를 보였다. 또 침윤성 관암종에서 claudin-1의 발현은 ER 및 PR의 발현소실과 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였고, claudin-4는 림프절 전이 수, 핵 등급, 조직학적 등급, ER 및 PR의 발현소실과 유의한 상관관계를 보였다. 이러한 결과는 claudin-1 및 -4의 발현 증가가 침윤성 암종의 나쁜 예후인자와 관련 있음을 보여주는 것이다. 따라서 claudin-1 및 -4는 유방의 발암과정에 관여할 것으로 생각되며 유방암종의 생물학적 성질 및 예후를 예측하고 적절한 치료 계획을 수립하는 데 중요한 참고 지표로 활용될 수 있으리라 기대한다.

참고문헌

- Jiang WG, Puntis MC, Hallett MB. Molecular and cellular basis of cancer invasion and metastasis: implications for treatment. *Br J Surg* 1994; 81: 1576-90.
- Gumbiner BM. Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell* 1996; 84: 345-57.
- Langbein L, Grud C, Kuhn C, et al. Tight junction and compositionally related junctional structures in mammalian stratified epithelia

- and cell cultures derived therefrom. *Eur J Cell Biol* 2002; 81: 419-35.
4. Tsukita S, Furuse M. Pores in the wall: claudins constitute tight junction strands containing aqueous pores. *J Cell Biol* 2000; 149: 13-6.
 5. Gonzalez-Mariscal L, Betanzos A, Nava P, Jaramillo BE. Tight junction proteins. *Prog Biophys Mol Biol* 2003; 81: 1-44.
 6. Matsuda M, Kubo A, Furuse M, Tsukita S. A peculiar internalization of claudins, tight junction-specific adhesion molecules, during the intercellular movement of epithelial cells. *J Cell Sci* 2004; 117: 1247-57.
 7. Fursue M, Fujita K, Hiiragi T, Fujimoto K, Tsukita S. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J Cell Biol* 1998; 141: 1539-50.
 8. Kominsky SL, Argani P, Korz D, *et al.* Loss of the tight junction protein claudin-7 correlates with histological grade in both ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncogene* 2003; 22: 2021-33.
 9. Kramer F, White K, Kubbies M, Swisshelm K, Weber BH. Genomic organization of claudin-1 and its assessment in hereditary and sporadic breast cancer. *Hum Genet* 2000; 107: 249-56.
 10. Tokes AM, Kulka J, Paku S, *et al.* Claudin-1, -3 and -4 proteins and mRNA expression in benign and malignant breast lesions: a research study. *Breast Cancer Res* 2005; 7: 248-55.
 11. Miwa N, Furuse M, Tsukita S, Niikawa N, Nakamura Y, Furukawa Y. Involvement of claudin-1 in the beta-catenin/Tcf signaling pathway and its frequent upregulation in human colorectal cancers. *Oncol Res* 2000; 12: 469-76.
 12. Hough CD, Sherman-Baust CA, Pizer ES, *et al.* Large-scale serial analysis of gene expression reveals genes differentially expressed in ovarian cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 6281-7.
 13. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; 19: 403-10.
 14. Fisher ER, Gregorio RM, Fisher B, Redmond C, Vellios F, Sommers SC. The pathology of invasive breast cancer. A Syllabus derived from findings of the National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol No. 4). *Cancer* 1975; 36: 1-85.
 15. Solar AP, Miller RD, Laughlin KV, *et al.* Increased tight junction permeability is associated with the development of colon cancer. *Carcinogenesis (Lond)* 1999; 20: 1425-31.
 16. Tsukita S, Furuse M. Claudin-based barrier in simple and stratified cellular sheets. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14: 531-6.
 17. Mitic LL, van Itallie CM, Anderson JM. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions I. Tight junctions structure and function: lesions from mutant animals and proteins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: 250-4.
 18. Al Moustafa AE, Alaoui-Jamali MA, Batist G, *et al.* Identification of genes associated with head and neck carcinogenesis by cDNA microarray comparison between matched primary normal epithelial and squamous carcinoma cells. *Oncogene* 2002; 21: 2634-40.
 19. Sobel G, Paska C, Szabo I, Kiss A, Kadar A, Schaff Z. Increased expression of claudins in cervical squamous intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma. *Hum Pathol* 2005; 36: 162-9.
 20. Hibbs K, Skubitz KM, Pambuccina SE, *et al.* Differential gene expression in ovarian carcinoma: identification of potential biomarkers. *Am J Pathol* 2004; 165: 397-414.
 21. Kominsky SL, Vali M, Korz D, *et al.* Clostridium perfringens enterotoxin elicits rapid and specific cytolysis of breast carcinoma cells mediated through tight junction proteins claudin 3 and 4. *Am J Pathol* 2004; 164: 1627-33.
 22. Long H, Crean CD, Lee WH, Cummings OW, Gabig TG. Expression of Clostridium perfringens enterotoxin receptors claudin 3 and claudin 4 in prostate cancer epithelium. *Cancer Res* 2001; 61: 7878-81.
 23. Cheung ST, Leung KL, Ip YC, *et al.* Claudin-10 expression level is associated with recurrence of primary hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 551-6.
 24. Aldred MA, Huang Y, Liyanarachchi S, *et al.* Papillary and follicular thyroid carcinomas show distinctly different microarray expression profiles and can be distinguished by a minimum of five genes. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3531-9.
 25. Soini Y. Expression of claudins 1, 2, 3, 4, 5 and 7 in various types of tumours. *Histopathology* 2005; 46: 551-60.
 26. Hewitt KJ, Agarwal R, Morin PJ. The claudin gene family: expression in normal and neoplastic tissues. *BMC Cancer* 2006; 6: 186.