

비용조직에서 Galectin-3 발현에 대한 면역조직학적 연구

원광대학교 의과대학 이비인후과학교실,¹ 병리학교실²
이재훈¹ · 이상현¹ · 정정래¹ · 이정현¹ · 윤기중²

A Immunohistochemical Study of Expression of Galectin-3 on Human Nasal Polyps

Jae Hoon Lee, MD¹, Sang Heon Lee, MD¹, Jung Rae Jeong, MD¹,
Jung Hun Lee, MD¹ and Ki Jung Yun, MD²

¹Department of Otolaryngology, ²Pathology, Institute of Wonkwang Medical Science, College of Medicine,
Wonkwang University, Iksan, Korea

-ABSTRACT -

Background and Objectives : Nasal polyp is benign growth processes in the nasal and sinus mucosa. Galectin-3 is a beta-galactoside binding protein, of which the major function is not fully elucidated. Galectin-3 expression can be linked to the benign growth activity of nasal polyps due to an anti-apoptotic effector activity. To illustrate the role of the galectin-3 in the nasal polyp, we investigated the expressive pattern of the galectin-3 in nasal polyp and the influence of corticosteroid on its expression. **Materials and Methods** : The study materials were 30 specimens of nasal polyp (steroid user : 14 cases, steroid non-user : 16 cases) taken from 30 patients during endoscopic sinus surgery and 10 cases of normal nasal mucosa of the inferior turbinate as control. The galectin-3 expression was assessed by immunohistochemical staining. **Results** : The galectin-3 expression in the surface epithelium, lamina propria and glands was markedly higher in nasal polyps than in turbinates. There was significantly different in the expression of galectin-3 between the steroid user group and the non-user group of nasal polyps. The galectin-3 expression in the surface epithelium and glands was markedly lower in steroid user group than in non-user group. **Conclusion** : Galectin-3 may be associated with growth of nasal polyp. Oral corticosteroids may exert a beneficial effect by significantly reducing the levels of galectin-3 in nasal polyp. (J Clinical Otolaryngol 2007;18:190-194)

KEY WORDS : Nasal polyp · Galectin-3.

서 론

비강 및 부비동에 생기는 비용은 흔한 질환으로 중양이
라기보다는 부종이 동반된 일종의 국소적 염증반응으로 표

논문접수일 : 2007년 8월 15일
심사완료일 : 2007년 9월 28일
교신저자 : 이재훈, 570-711 전북 익산시 신용동 344-2
원광대학교 의과대학 이비인후과학교실
전화 : (063) 850-1310 · 전송 : (063) 841-6556
E-mail : coolnose@wonkms.wonkwang.ac.kr

면이 매끄러운 유동성 종괴 형태로 나타난다. 비용의 정
확한 병태생리는 알려져 있지 않으나 고유층(lamina pro-
pria)에서 일어나는 염증과 세포증식이라 할 수 있다.¹⁾
또한 비용에서 종종 편평상피로의 화생(metaplasia)과 분
비선의 과형성과 같은 형태학적 변화를 동반한 상피세포
의 증식 소견도 보인다.¹⁾

비용조직의 형성과 성장에 Tumor necrosis factor-
 α (TNF- α), Transforming growth factor- β 1 (TGF-
 β 1), basic fibroblast growth factor(bFGF), Platelet-
derived endothelial cell growth factor(PDEC GF)가 관

련이 있는 것으로 알려져 있다.²⁾

Galectin-3는 31 Kda의 분자량을 갖는 β -galactoside binding protein 계열의 하나로 세포성장, 세포유착, 발암성 형질전환, 전이, 세포고사(apoptosis) 등에 관여한다.³⁾ Galectin-3이 세포고사를 억제함으로써 항세포고사작용을 하는 것으로 알려져 있다.^{4,5)} 이에 저자들은 galectin-3이 비용조직의 성장에 관계할 수 있다는 가정하에 비용에서 정상 하비갑개 조직과 비용조직에서 galectin-3의 발현 양상을 면역조직학적 염색법으로 비교 연구하였다. 비용의 약물치료로 흔히 사용되는 스테로이드가 비용에서 galectin-3 발현에 어떤 영향을 미치는지를 알기 위해 수술 전 스테로이드 사용 군과 사용하지 않은 군에서 galectin-3 발현을 비교하였다.

대상 및 방법

대 상

2004년 1월부터 2005년 12월까지 2년 간 본 병원 이비인후과에서 임상 및 조직검사로 진단된 비용을 동반한 만성부비동염 환자 30명으로부터 수술시 채취한 30개의 비용을 대상으로 하였다. 비용군은 알레르기 비염이 동반되지 않고, 수술 전 4주 이상 항생제, 항히스타민제, 국소 혹은 경구용 스테로이드제 등의 약물 치료를 시행하지 않은 16예를 스테로이드 비사용군으로 하였고, 다른 약물은 사용하지 않고 경구용 스테로이드제만을 사용한 14예를 스테로이드 사용군으로 하였다. 경구용 스테로이드는 수술 전 1주일 전부터 prednisolone (Nisolone[®]) 30 mg을 시작으로 5일 사용한 후 20 mg 1일, 10 mg 1일로 용량을 감소시키면서 복용하였다. 실험군의 연령분포는 19~67세로 평균 연령은 40.3세였고 남자 19명, 여자 11명이었다. 대조군으로 알레르기비염, 천식, 그리고 비질환의 과거력이 없는 10명의 비중격만곡증 환자에서 비중격 성형술시 대상성 비후성비염이 없는 하비갑개의 점막을 사용하였다. 대조군의 연령분포는 20~55세로 평균 연령은 33.5세였고 남자 7명, 여자 3명이었다.

면역조직화학적 염색 및 판독

Galectin-3의 면역 조직화학적 염색

조직편을 상용화된 ProbeOn-plus slide (Fisher Scientific,

Pittsburg, PA, USA)에 부착하여 고정한 후 xylene으로 파라핀을 제거하고 알콜 및 증류수로 함수했다. Citrate buffer (pH 6.0)에 조직이 부착된 슬라이드를 넣고 17분간 microwave로 처리한 후 Immuno/DNA 완충액 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)으로 세척했다. 조직의 내부에 있는 과산화효소를 제거하기 위해 Autoblocker (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)로 실온에서 30분간 처리하고 완충액으로 수세하였다. 그 다음에 Galectin-3 (Zymed, San Francisco, USA) 1차 항체로 4°C에서 하룻밤 반응시켰다. 그 후 2차 항체에 HRP-polymer가 접합된 Superpicture-plus kits (Zymed, San Francisco, CA, USA)로 실온에서 25분 처리하였다. 그리고 완충액으로 수세한 다음 AEC (Zymed, San Francisco, CA, USA)로 발색시켰다. Hematoxylin으로 대조염색을 하고 Universal mount (Research Genetics, Huntsville, AL, USA)로 봉입한 후 관찰하였다.

염색에 대한 음성 대조군은 염색과정에서 1차 항체를 처리하지 않은 것을 각각 사용하였으며, 비강 조직을 표면 상피세포 부위, 선 부위, 고유층 (lamina propria) 부위로 분류하여 판독하였다. 비용환자에 대한 임상적인 정보가 주어지지 않은 상태로 두 명의 병리 의사가 동시에 양성으로 판정한 것을 기준으로 하였는데 염색된 세포의 밀도가 높은 부분을 광학현미경으로 400배 시야에서 10개를 관찰하였으며, 세포질에 붉은 색으로 염색되는 세포를 양성세포로 판정하였다. 양성 판독 기준은 붉은 색으로 세포질에 염색되는 것이 5% 이상인 것으로 하였고, 50% 이하인 것은 약 양성 (+), 50% 이상인 것은 강 양성 (++)으로 하였다. 음성 판독 기준은 5% 미만으로 매우 미미하게 염색된 경우와 전혀 염색이 안된 경우로 하였다.

통계처리

통계 처리는 SPSS program version 10 (SPSS Inc. Chicago, IL, U.S.A.)을 이용하여 Fisher's exact test를 실시하였으며 통계학적 유의성은 p값이 0.05미만인 경우로 하였다.

결 과

Galectin-3의 면역조직화학적 염색 결과

연구대상 40예의 염색의 발현정도는 음성(-)으로부터

양성(1+ 혹은 2+)까지 다양하게 관찰되었고 각군에 따라 발현정도의 분포에 차이가 있었다(Table 1)(Fig. 1).

비용군(스테로이드 비사용군)과 하비갑개군의 Galectin-3 발현정도 비교

고유층, 표면상피 및 선 세포에서 비용군에 비해 하비갑

Table 1. Summary of immunohistochemical expression of galectin-3 in group 1 (nasal polyps : steroid non-user), group 2 (nasal polyps : steroid user) and group 3 (normal inferior turbinates)

	No. of cases	Galectin-3		
		-	1+	2+
Group 1	16			
Gland		0	8	8
Lamina propria		2	13	1
Surface		1	6	9
Group 2	14			
Gland		8	6	
Lamina propria		4	8	2
Surface		4	8	2
Group 3	10			
Gland		5	5	0
Lamina propria		8	2	0
Surface		8	0	2

개군에서 유의하게 낮은 발현을 보였다(Figs. 2, 3 and 4).

비용군내의 스테로이드 비사용군과 스테로이드 사용군간의 galectin-3 발현정도 비교

선 세포와 표면상피에서 스테로이드 비사용군에 비해 스테로이드 사용군에서 유의하게 낮은 발현을 보였다(Figs. 2 and 4). 고유층에서는 두 군간에 유의한 차이

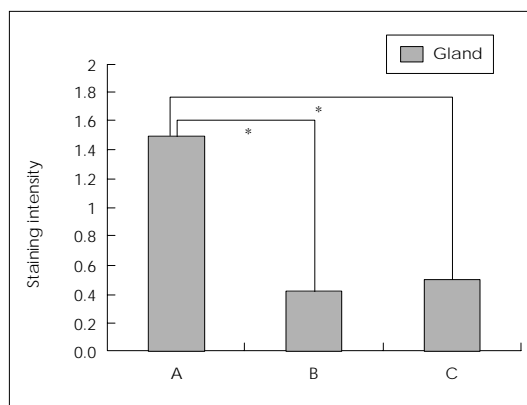


Fig. 2. Statistic comparisons of galectin-3 expression in the glands among the normal inferior turbinates, nasal polyps (steroid user) and nasal polyps (steroid non-user). A : nasal polyps (steroid non-user). B : nasal polyps (steroid user). C : normal inferior turbinates. * : significant difference in statistics ($p < 0.05$).

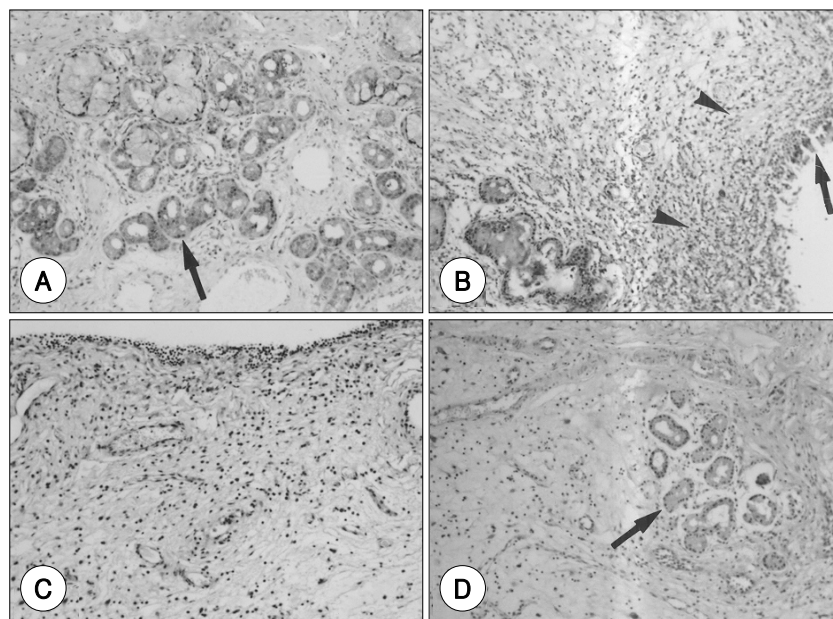


Fig. 1. Expression of galectin-3 in normal inferior turbinates and nasal polyps (H & E, $\times 200$). A : In the nasal polyp (steroid non-user), the galectin-3 is strongly expressed (2+) in the glands. B : In the polyp (steroid non-user), the galectin-3 is strongly expressed (2+) in the surface epithelium and lamina propria. C : In the normal inferior turbinate, the galectin-3 is not nearly expressed in the glands, surface epithelium and lamina propria. D : In the nasal polyp (steroid user), the galectin-3 are weakly expressed (1+) in the glands.

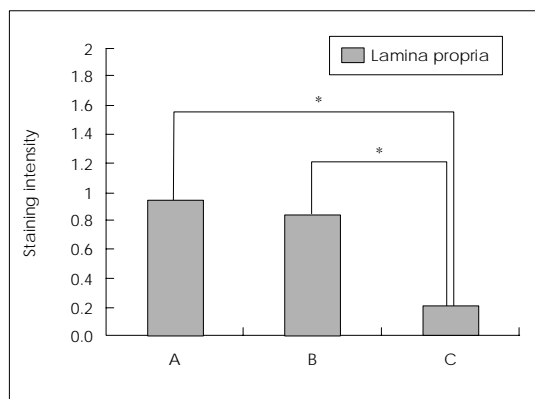


Fig. 3. Statistic comparisons of galectin-3 expression in the lamina propria among the normal inferior turbinates, nasal polyps (steroid user) and nasal polyps (steroid non-user). A : nasal polyps (steroid non-user), B : nasal polyps (steroid user), C : normal inferior turbinates. * : significant difference in statistics ($p < 0.05$).

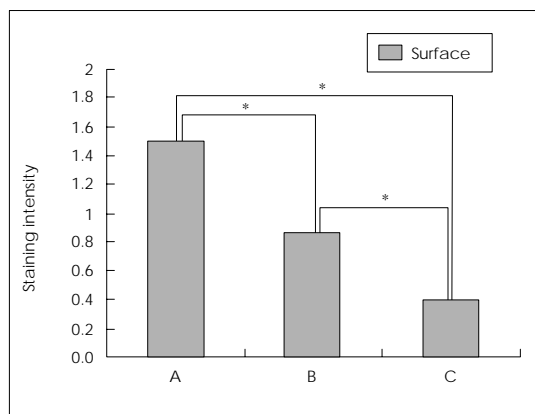


Fig. 4. Statistic comparisons of galectin-3 expression in the surface epithelium among the normal inferior turbinates, nasal polyps (steroid user) and nasal polyps (steroid non-user). A : nasal polyps (steroid non-user), B : nasal polyps (steroid user), C : normal inferior turbinates. * : significant difference in statistics ($p < 0.05$).

를 보이지 않았다(Fig. 3).

고 찰

비용은 조직형태학적으로 비 점막의 만성 염증성 질환으로 염증 세포 침윤과 구조적인 변형을 동반한다. 구조적인 변형은 상피세포층과 고유층에서 일어나는데, 상피세포에서는 분비성 증식과 편평상피세포성 이형성을 그리

고 고유층에서는 세포의 기질의 축적 및 섬유화가 일어난다.⁶⁾

비용의 증식에 여러 가지 성장인자가 관여할 수 있는데 상피세포의 증식에 관여하는 성장 인자는 TGF- α 와 bFGF가 있고, 고유층의 세포와 기질의 생산과 섬유모세포의 증식에 관여하는 성장 인자는 PDGF와 TGF- β 가 있다.⁷⁾ 성장 인자는 상피세포의 분화, 섬유모세포의 분화와 증식 및 섬유 조직의 생성 그리고 신생혈관 생성에 관여하는데, 성장 인자의 종류에 따라 관여하는 부분이 다르며, 성장 인자는 염증 세포뿐만 아니라 섬유세포 및 상피세포에서도 일부 생성되고 있다.⁸⁾

Galectin-3은 β -galactoside binding protein으로 두 개의 functional domain을 가지고 있는데 그 중 하나인 C-terminus는 carbohydrate binding domain이고, 다른 하나인 N-terminus는 9개 아미노산서열의 일렬 반복 구조이다. Galectin-3은 단량체(monomer)로 발견되지만 당질리간드(glycoprotein ligand)에 결합되었을 때는 세포형질막에 있는 glycoprotein counter receptor의 교차결합을 매개할 수 있다. 그리고 이를 통하여 세포표면 당질의 재조직 또는 결합을 유발하고 신호전달개시를 일으키며 이런 과정을 통하여 세포의 유착, 세포의 성장, 세포 고사의 억제에 관여한다고 알려져 있다.³⁾ Galectin-3의 종양발생 및 전이과정에서의 정확한 역할은 아직 밝혀지지 않았지만, 이미 역형성 대세포 림프종, 유방암, 직장암, 흑색종, 갑상선암에서 galectin-3의 발현이 보고되었다.³⁾⁴⁾⁹⁾ Galectin-3이 세포고사에 대한 방어역할을 하여 재발성 진주종에서 발현이 증가된다고 보고되었다.¹⁰⁾

Delbrouck 등⁵⁾은 비용조직, 중비갑개, 그리고 하비갑개조직에서 galectin-3 발현을 비교한 연구를 통해 비용조직의 표면상피, 고유층, 선 세포에서 중비갑개 및 하비갑개조직보다 유의하게 발현이 증가 된다고 보고하였다. 본 연구에서도 비용조직과 하비갑개조직의 galectin-3 발현을 비교하였는데 하비갑개조직에서는 표면상피, 고유층 및 선 세포에서 거의 발현되지 않은 반면, 비용조직에서 유의하게 발현이 증가되었다. 이런 결과는 galectin-3이 비용의 증식 혹은 성장에 관여할 수 있음을 의미할 수 있다.

본 연구는 Delbrouck 등⁵⁾의 연구와 달리 스테로이드가 비용군에서 galectin-3 발현에 어떤 영향을 미치는지를 알

기 위해 스테로이드 사용군과 스테로이드 비사용군에서 galectin-3 발현을 비교하였다. 일반적으로 스테로이드는 비용에서 상피세포 증식과 분화를 방해함으로써 결체조직 재건에 영향을 주어 비용에서 특징인 부종과 지나친 상피 성장을 억제한다고 알려져 있다.²⁾ 비용의 성장인자에 대해 스테로이드가 미치는 영향을 알기 위해 박 등²⁾은 비용조직에서 경구용 스테로이드를 사용한 군과 사용하지 않은 군으로 나누어 TNF- α , TGF- β 1, PD-ECGF의 발현을 비교하였다. 그 결과 경구용 스테로이드는 TNF- α 와 PD-ECGF의 발현을 감소시켰으나 TGF- β 1은 감소시키지 못하다고 보고하였다. 본 연구결과 선 조직과 표면상피에서 스테로이드 사용군이 스테로이드 비사용군에 비해 galectin-3 발현의 유의한 감소를 보였다. 이런 결과는 스테로이드가 비용조직의 고유층에서 보다는 선 조직과 표면상피에서의 galectin-3 발현을 억제하여 비용 성장을 억제함을 의미한다.

본 연구는 면역조직학적 검사를 통해 galectin-3이 비용에서 발현함을 알 수 있었으며, 이런 결과를 통해 galectin-3이 비용의 형성과 성장에 관여할 것으로 추정할 수 있었으나 앞으로의 추가적인 연구에서 발현 정도를 측정할 수 있는 분자생물학적인 정량적 검사가 필요할 것으로 사료된다. 또한 앞으로 비용의 형성과 성장에 관여하는 다양한 인자들에 대한 많은 연구를 통해 비용의 새로운 약물치료개발에 도움이 될 수 있으리라 생각된다.

결론

Galectin-3이 비용 성장에 관여할 수 있으며 비용의 치료에 사용되는 경구용 스테로이드에 의한 galectin-3의 감소가 치료효과의 한 기전으로 생각된다.

중심 단어 : 비용 · Galectin-3.

이 논문은 2006년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 수행됨.

REFERENCES

- 1) Coste A, Wang QP, Roudot-Thoraval F, Poron F, Peynegre R, Escudier E, et al. *Epithelial cell proliferation in nasal polyps could be up-regulated by platelet-derived growth factor.* *Laryngoscope* 1996;106:578-83.
- 2) Park SK, Choo YG, Park SG, Je YE, Yang YI. *The effect of oral steroid for expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), platelet-derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF) in nasal polyp.* *Korean J Otolaryngol* 2001;44:1283-9.
- 3) Yoo CK, Lee CH, Jang SG, Woo JS, Jung KY, Kim SI, et al. *Immunohistochemical expression of galectin-3 in thyroid tumors.* *Korean J Otolaryngol* 2005;48:760-4.
- 4) Perillo NL, Marcus ME, Baum LG. *Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation and cell death.* *J Mol Med* 1998;76:402-12.
- 5) Delbrouck C, Gabius HJ, Kaltner H, Decaestecker C, Kiss R, Hassid S. *Expression patterns of galectin-1 and galectin-3 in nasal polyps and middle and inferior turbinates in relation to growth regulation and immunosuppression.* *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129:665-9.
- 6) Kakoi H, Horaide F. *A histologic study of formation and growth of nasal polyps.* *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1987;103:137-44.
- 7) Pierce GF. *Macrophage: Important physiologic and pathologic sources of polypeptide growth factors.* *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990;2:233-4.
- 8) Jetten AM. *Growth and differentiation factors in tracheobronchial epithelium.* *Am J Physiol* 1991;260:L361-73.
- 9) Kawachi K, Matsushita Y, Yonezawa S, Nakano S, Shirao K, Natsugoe S, et al. *Galectin-3 expression in various thyroid neoplasms and its possible role in metastasis formation.* *Hum Pathol* 2000;31:328-33.
- 10) Sheikholeslam-Zadeh R, Decaestecker C, Delbrouck C, Danguy A, Salmon I, Zick Y, et al. *The levels of expression of galectin-3, but not of galectin-1 and galectin-8, correlate with apoptosis in human cholesteatomas.* *Laryngoscope* 2001;111:1042-7.