

결직장암에서 p53 단백질 발현과 임상 및 병리학적 관계 및 예후와의 상관관계에 대한 연구

동아대학교 의과대학 외과학교실

김민찬·최홍조·김상순

= Abstract =

A Study on Expression Pattern of p53 Protein in Colorectal Cancer — Its clinicopathologic correlation and prognostic significance —

Min Chan Kim, M.D., Hong Jo Choi, M.D. and Sang Soon Kim, M.D.

Department of Surgery, Dong-A University, College of Medicine

The p53 tumor suppressor gene regulates progression of cell cycle at G1-S transition and inhibits the growth of tumor. The wild-type p53 protein is not detected in normal cells by low level and a short half-life. However, the increased level of immunohistochemically detectable p53 protein provides a marker for mutation of p53 gene, which is the most frequently affected gene detected in many types of human cancers. Mutation of p53 involves not only a loss of function of wild-type p53 activity but also a gain of function as an oncogene.

Colorectal cancer is characterized by frequent deletion of chromosome 17p close to the p53 locus and by point mutation of p53 locus, and then hemizygous loss of normal p53 allele. There is little information regarding the relationship of p53 expression to clinicopathological variables of colon cancer. In this study, the intracellular content of p53 protein was determined immunohistochemically to study the relation between p53 expression and clinicopathological variables. In addition, the value of p53 as a prognostic indicator of colon cancer was also investigated.

Paraffin-embedded tissue specimens from 61 patients who underwent resection for primary untreated colorectal carcinoma were examined for the incidence, pattern and intensity of p53 protein by immunohistochemical method using monoclonal antibody(Ab-6). p53 protein was detected in 36 out of 61(59.0%) adenocarcinomas of the colorectal cancer and the most frequently expressed patterns of immunoreactivity of p53 were moderate in intensity in 17 cases(47.2%) and were diffuse in pattern in 25 cases(69.4%).

There is no correlation between p53 expression and sex, age, Dukes' stage and histologic grade of the tumor. A trend was seen towards a high rate of p53 expression in left sided cancers as compared to right sided ones(62.5% vs. 46.2%), however, it was not statistically significant($p > 0.05$). Among the patients with radical resection of the tumor, 9(28.1%) of 32 patients with p53-positive tumors and 4(19.0%) of 21 patients with p53-negative ones had recurrences, which might imply that the patients with p53-positive tumors had a greater relative risk of death compared to those with p53-negative tumors, although statistically insignificant. Two-year survival of p53 positive and p53 negative patients were 63.5% and 70.3% respectively, but

there was no difference in survival between them.

p53 mutation is a frequent event in human colorectal carcinoma as shown in this study, but it is not yet clear whether p53 protein is a significant independent predictor of aggressiveness and progression of colorectal cancers. The results suggest the necessity for further study of analysis of p53 gene and protein molecules in attempting to determine whether assessment of the status of p53 in tumor will become a part of potential prognostic marker.

Key Words: p53, Colorectal cancer, Prognostic significance

서 론

결직장암은 소화기계 악성 종양 중 위암 다음으로 두번째 발생 빈도를 차지하고 있으며 현재 우리나라에서 증가 추세에 있는 종양이다¹⁾. 각 종 암의 발생 및 진행 과정에 유전자의 이상이 관련되어 있다는 사실을 널리 알려져 있으며, 결직장암도 유전자 손상에 의하여 세포의 성장, 침습 그리고 전이가 일어나는 것으로 밝혀졌다²⁾. 이러한 사실을 토대로 어떤 특정한 부류의 결직장암이 다른 부류에 비하여 종양이 침습과 전이를 잘할 수 있는 성향을 가지는 이유를 규명할 수 있다면 이를 통하여 결직장암 환자의 경과와 예후를 보다 정확히 판정하는데 도움이 될 수 있을 것으로 사료된다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하고 있으며, 인체에서 악성종양과 연관된 유전자 이상 중 가장 흔히 발견되는 유전자이다³⁾. p53 단백질은 simian virus 40(SV 40)의 large T 항원과 결합하고 있는 형태로 발견되어 처음에는 종양 항원으로 분류되었으나⁴⁾ 현재는 종양억제유전자로 알려져 있다⁵⁾. 정상 세포의 p53 유전자가 만들어 낸 야생형 p53 단백질은 반감기가 30분 이하로 짧기 때문에 그 양이 매우 적어 정상 세포내에서는 거의 검출이 안되나, p53 돌연변이 유전자에 의해 만들어진 변이형 p53 단백질은 정상 p53 유전자의 종양 억제기능을 억제시키므로서 발암 능력을 획득하게 된다. 이 변이형의 단백질은 구조의 변화에 의해 안정되어 반감기가 수시간으로 길어지기 때문에 세포내에 양이 축적되므로 면역조직화학적 방법으로 검출이 가능하다^{6,7)}. 그러므로 과발현된 p53 단백질의 검출은 p53 돌연변이의 간접적 지표로 이용될 수 있다. p53 단백질 양성을 보이는 결직장암 환자의 75~80%에서 p53 유전자의 결실 또는 점 돌연변

이가 일어나 두 대립인자의 기능이 모두 소실되는 것으로 보고되고 있다^{8~10)}.

결직장암 환자의 예후 및 생존은 장막 침범, 임파절 전이, 간 전이 및 복막 전이 등의 유무를 나타낸 병기와 밀접한 관계를 가지나, 이들의 특이도와 민감도는 각각 91.8%와 40%에 불과하다¹¹⁾. 그리고 최근에는 결직장암 세포의 DNA 함량과 증식능이 예후와 밀접한 관계를 가진다고 보고되고 있으나^{12~15)}, p53 유전자와 결직장암의 전이 및 환자의 예후와의 관계는 보고에 따라 서로 상이하며^{16,17)}, 아직도 논란의 여지가 많다. 그럼에도 불구하고 결직장암 조직의 상당한 예에서 p53 유전자의 이상과 과발현이 관찰되고 있으므로 여러 다양한 각도에서 p53 발현 양상에 대한 임상 연구 및 이들과의 비교 연구가 필요할 것으로 생각된다.

저자들은 61예의 결직장암 환자의 종양 조직에서 대상으로 p53 단백질에 대한 단클론 항체로 면역조직화학적 염색을 시행하여 변이 p53 단백질의 발현 빈도와 양상을 관찰하고, 이와 더불어 기존 임상 및 병리학적 예후 변수들과의 상관관계를 관찰하여 p53 과발현이 결직장암의 예후인자 지표로서의 가치에 대한 평가를 시행하고자 본 연구를 시행하였다.

연구 대상 및 방법

1) 연구 대상

1990년 3월부터 1993년 12월까지 약 4년 동안 술전 조직 생검으로 확진되어 동아대학교 병원 일반외과에서 수술을 받은 61예의 결직장암 환자를 대상으로 하였으며, 타 부위에 악성종양이 동반된 환자, 술전 화학 요법 또는 방사선 요법을 받은 환자 그리고 술후 결직장암 이외의 원인으로 사망한 환자는 연구대상에

서 제외시켰다.

2) 면역조직화학적 염색방법

포르말린으로 고정하고 파라핀으로 포매된 결직장암 조직절편의 hematoxyline-eosin 염색 표본을 WHO 분류에 따른 조직학적 진단을 검색하였고, 종양조직에서 p53 단백질의 발현정도를 알아보기 위하여 조직절편을 avidin과 biotin사이의 강한 결합력을 이용한 ABC방법(avidin-biotinyl peroxidase complex method)으로 면역조직화학적 염색을 실시하였다. p53 단백질에 대한 항체로는 야생형과 변이형 모두에 반응하는 단클론 항체(Ab-6) (Oncogene Science Inc, USA)를 사용하였다.

염색 방법은 우선 파라핀 조직절편을 4 μ m 두께로 잘라서 크실렌에서 파라핀을 제거한 후 100%, 90%, 80% 및 70% 알코올에 1분씩 담구어 합수시키고 증류수로 씻어 내었다. 3% 과산화수소를 조직절편 위에 떨어뜨려 30분간 실온에 방치하여 내인성 peroxidase를 제거하고 phosphatase buffered saline (PBS)으로 세척한 후, 0.05%의 saponin을 넣어 30분간 실온에 둔 후 PBS로 세척하였다. 1:100으로 희석된 단클론 1차 항체와 실온에서 하루밤 정도 반응시킨 후 PBS로 세척한 뒤, 다시 1:100으로 희석된 biotin과 결합된 2차 항체(Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG)를 실온에서 45분간 반응시키고 난 후 PBS로 씻었다. 1:100으로 희석된 avidin-biotinyl peroxidase complex를 실온에서 30분간 반응시키고 PBS로 씻은 후 발색제인 AEC를 첨가하였다. Mayer hematoxylin으로 3분간 대조염색후 crystal mount로 봉입하여 현미경으로 검경하였다.

3) 분석 및 통계학적 처리

Avidin-Biotinyl complex(ABC)를 이용한 면역조직화학적 염색에서 종양세포의 핵내에 갈색으로 염색되는 변이 p53 단백질의 발현 빈도와 발현 강도 및 양상을 관찰하고, 여러 임상 및 병리학적 인자, 즉 연령 및 성별, 조직학적 분화도, Dukes씨 병기, 육안형태 그리고 종양의 해부학적 위치에 따른 변이 p53 단백질의 발현 빈도의 차이를 분석하였으며, p53 단백질의 발현 유무에 따른 재발율과 생존율과의 상관관계를 조사하였다. p53 단백질의 핵염색의 정도를 정상적 및

정량적으로 분석하였으며, 강도는 음성(-), 약양성(+), 중등도양성(++) 또는 강양성(+++)으로 등급을 정하였고, 정량적으로는 종양세포 중 10% 미만이 양성 반응을 보일 경우는 focal, 10%에서 50% 사이는 regional, 그리고 50% 이상은 diffuse 양상을 보이는 범주에 포함시켰다. 통계학적 분석은 SAS/STAT 6.08을 이용하여, student t-test와 chi-square test 등으로써 유의성을 검정하였다. 2년 생존율은 생명표(life table)를 이용한 actuarial method로 산출하였다.

결 과

1) 환자의 성상(Table 1)

결직장암 환자 61명의 임상 및 병리학적 성상을 살펴보면, 환자의 연령은 24세에서 77세(평균 55.4세)이었으며 그중 남자가 32명, 여자가 29명으로 남녀비는 1.1:1 이었다. 결직장암의 Dukes씨 분류법에 의한 병기 분포는 B가 24명(39.3%), C가 29명(47.5%)이었으며, 이미 수술시 복강내 원격 전이 또는 복막 파종이 확인되어 D로 분류된 환자는 8명(31.1%)이었다.

Table 1. Patient profile of 61 colorectal cancer

Age (mean)(year)	24~77(55.4)
Sex	
Male	32
Female	29
M:F	1.1:1
Dukes' stage	
B	24(39.3%)
C	29(47.5%)
D	8(13.1%)
Gross configuration	
Fungation	18(29.5%)
Ulceroinfiltrative	39(63.9%)
Ulcerative	4(6.6%)
Anatomic location	
Right	13(21.3%)
Left	48(78.7%)
Histologic grade	
Well diff.	42(68.9%)
Poor diff.	19(31.1%)

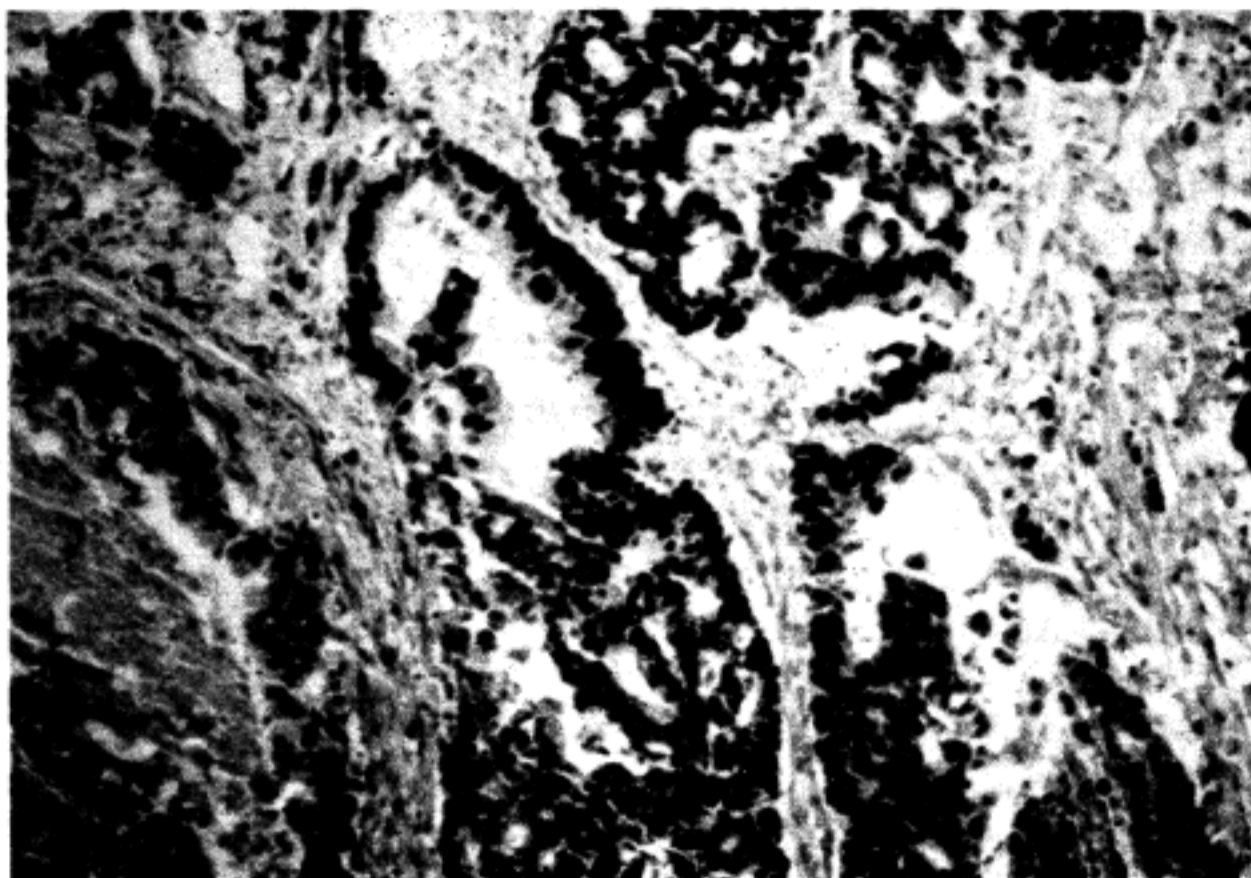


Fig. 1. The tumor nest shows moderately intense and diffuse p53 nuclear staining ($\times 100$, ABC method).

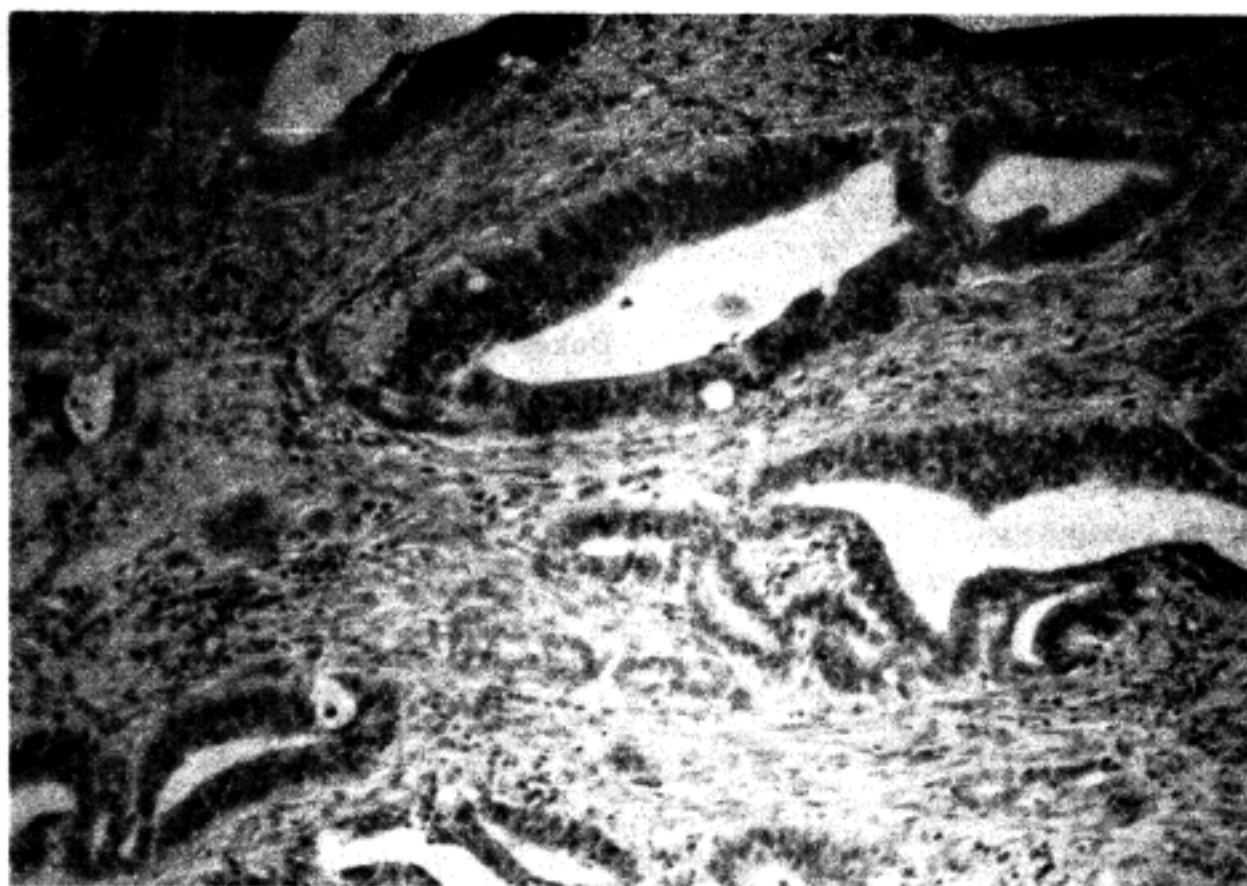


Fig. 2. The nuclei of the tumor cells are diffusely but weakly stained for p53 protein ($\times 100$, ABC method).

종양의 육안적 형태는 용기형이 18예(29.5%), 케양성 침윤형이 39예(63.9%) 그리고 케양형이 4예(6.6%)이었다. 종양의 해부학적 부위별 분포는 우측 결장이 13예(21.3%) 그리고 좌측 결장이 48예(78.7%)이었다. 종양조직의 분화도는 고분화형이 42예(68.9%) 그리고 중등도 및 미분화형이 포함된 저분화형이 19예(31.3%)이었다.

2) p53 단백질 발현 빈도 및 발현 양상

p53 단백질의 양성반응은 총 61예 중 36예(59.0%)에서 관찰되었으며(Table 2), 핵염색의 강도는 다양하였으나 중등도가 17예(47.2%)로 가장 많았으며(Fig. 1, 2), 발현 양상은 종양세포 중 50% 이상 양성을 보이는 미만형이 25예(69.4%)로 가장 많았다. 10%미만의 종양세포에 국소적으로 양성으로 나타나는 5예 모두에서 p53 염색 강도는 약했고, regional 혹은 diffuse하게 존재하는 종양 세포들의 염색강도는 대체로 중등도 혹은 강양성을 보이는 예가 많았다(Table 3).

3) p53 단백질 발현과 임상 및 병리학적 인자와의 상관관계(Table 4)

여러 임상 및 병리학적 인자와 p53 단백질 발현과의 상관관계를 분석해 본 결과 p53 단백질 발현은

Table 2. Incidence of p53 protein expression

p53 protein	No. of cases(%)
Positive	36(59.0%)
Negative	25(41.0%)
Total	61(100%)

Table 3. Patterns and intensities of p53 protein expression

Nuclear intensity	Pattern of p53 protein			Total
	Focal	Regional	Diffuse	
Strong	0	0	7	7(19.4%)
Moderate	0	5	12	17(47.2%)
Weak	5	1	6	12(33.3%)
Total	5(13.8%)	6(16.7%)	25(69.4%)	61(100%)

Dukes씨 병기 B에서 62.5%, C에서 58.6%, D에서 50.0%에서 양성을 보여 병기가 높을수록 p53 단백질 발현빈도는 감소하는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$). 종양의 해부학적 발생 부위별로 보면 우측 대장에서 46.2% 그리고 좌측 대장에서는 62.5%에서 p53 단백질 발현빈도를 보여 좌측 대장에서 높게 나타났으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$). 조직 분화도에 따른 p53 단백질 발현빈도는 고분화형에서 52.4% 그리고 저분화형에서 73.7%로 저분화형에서 양성 발현율이 높았으

Table 4. Relationship between p53 expression and clinicopathological parameters

Parameter	p53 protein		p value
	Positive	Negative	
Sex			
Male	20(62.5%)	12(37.5%)	0.56
Female	16(55.2%)	13(44.8%)	
Mean age(yr)	55.2	55.6	
Dukes' stage			0.82
B	15(62.5%)	9(37.5%)	0.28
C	17(58.6%)	12(41.4%)	
D	4(50.0%)	4(50.0%)	
Anatomic location			
Right	6(46.2%)	7(53.8%)	0.12
Left	30(62.5%)	18(37.5%)	
Histologic grade			
Well diff.	22(52.4%)	20(47.6%)	
Poor diff.	14(73.7%)	5(26.3%)	

Table 5. Correlation between p53 expression and recurrence after curative resection(n=53)

p53 protein	No. of recurrence(%)*	Location	No. of cases
Positive	9/32(28.1%)	pelvic cavity	4
		lung	3
		liver	2
Negative	4/21(19.0%)	lung	2
		pelvic cavity	1
		liver	1

* p=0.45

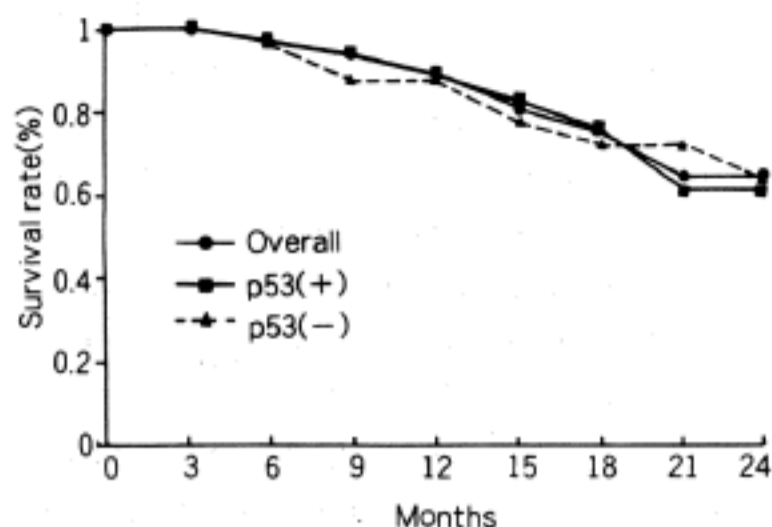


Fig. 3. Overall survival rate of 61 colorectal cancer.

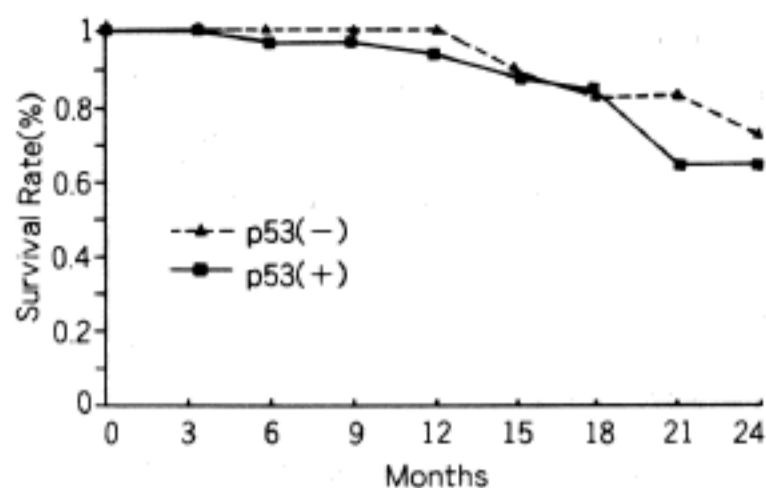


Fig. 4. Survival rate of 53 colorectal cancers after curative resection.

나 역시 통계학적으로 두 군사이에는 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$).

4) p53 단백질 발현과 재발율과의 상관관계 (Table 5)

Dukes씨 병기 분류학상 D로 진단된 8예를 제외한 53예에서는 근치적 목적하에 수술이 시행되었는데 이 들에서 p53 단백질 발현과 재발율과의 상관관계를 분석한 결과 32예의 p53 단백질 양성군 중 9예(28.1%) -골반강 4예, 간 2예, 폐 2예-에서 재발의 소견이 확인되었고 21예의 p53 단백질 음성군 중 4예(19.0%) -폐 2예, 골반강과 간 각각 1예-에서 재발 소견이 관찰되어 p53 단백질 양성군에서 재발율이 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$).

5) p53 단백질 발현과 생존율과의 상관관계

p53 단백질 발현 양성군과 음성군에서의 생존율의 차이를 생존표를 이용하여 actuarial survival curve로 그려본 바 전체적 2년 생존율은 64.4%이며, p53 단백질 발현 양성군에서는 2년 생존율이 61.7%, 음성군에서는 63.3%로서 별 차이를 보이지 않았는데, p53 단백질 발현 여부에 따른 생존율의 차이는 통계학적으로도 유의성이 없었다($p > 0.05$)(Fig. 3). 근치적 절제술을 시행한 53예의 생존율을 p53 단백질 발현 양성군과 음성군에서 비교한 바 log rank test상 통계학적 유의성은 없었다(Fig. 4).

고 찰

국내에서도 빈도가 증가하고 있는 결직장암은 다양한 발암인자에 의한 일련의 유전자의 변환이 축적됨으로써 암이 발생하는 것으로 밝혀졌다¹⁸⁾. 즉 결직장암의 발암과정 동안에 일어나는 일련의 유전자의 변화 모형이 Vogelstein 등¹⁹⁾에 의해 밝혀졌는데, 종양유전자인 ras 유전자의 변이에 의한 활성화 그리고 염색체 5, 17 및 18번의 대립 유전자 결손에 의한 종양억제유전자의 비활성화로 인하여 결직장암의 정상 점막이 점막 증식 및 선종의 단계를 거쳐 암종으로 이행된다고 한다. 특히 17번 염색체에 위치하고 있는 p53 종양억제유전자의 변이는 결직장암의 발암 과정중 후기인 선종에서 암종으로 이행되는 과정에서 일어나는 것으로 알려져 있으며⁵⁾, 현재 p53 유전자의 변이는 인체에서 발생하는 악성종양에서 가장 흔히 발견되는 유전자 이상이다²¹⁾. p53 유전자는 결직장암^{5, 17)}, 유방암^{19, 20)}, 난소암^{21, 22)}, 폐암²³⁾, 그리고 위암^{24, 25)} 등의 다양한 악성 종양에서 발견된다고 보고되고 있다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하며, 세포 증식을 조절하는 53 kd의 핵 인단백으로서 393개의 아미노산을 갖는 물질을 부호화(encode)하며²⁶⁾, 세포주기 중 특히 G1기에서 S기로의 이행에 관여하는데, DNA 손상이 있을 때는 S기로 진입을 지연시키는 기능을 가지고 있어 손상된 DNA가 repair gene에 의해 복구가 되지 않을 때는 programmed

cell death를 유발하는 것으로 알려져 있다²⁷⁾. p53 유전자의 단백질은 SV40바이러스에 의해 형질전환된 세포내에서 SV40의 암유전자 생산물인 large T 항원과 복합체를 형성하며, 형질전환이 일어난 이 세포의 표현형을 계속 지속시키기 위해서는 large T 항원과 p53 단백질의 결합이 필요하기 때문에 p53 유전자는 처음에는 종양 항원으로 분류되었다⁴⁾. 그러나 p53 유전자는 *ras* 유전자와 함께 배양한 primary rat embryo fibroblast들의 표현형을 전환시킨다는 사실이 밝혀져서 현재는 종양 억제 유전자로 분류되고 있다²⁸⁾. 대개의 정상세포들은 p53의 반감기가 짧기 때문에 세포내에서 검출이 되지 않으며³⁴⁾, 이러한 야생형 p53 유전자는 세포증식을 억제시키는 역할이 있어 종양억제 유전자로 작용하며^{5, 35)}, 형질전환 세포들과 종양내에서 p53 유전자의 돌연변이가 생기면 정상 p53 유전자의 기능이 비활성화되거나 종양 유전자로 활성화되어 악성종양의 발생을 촉진시키는 것으로 알려져 있다^{5, 36, 37, 38)}. p53 유전자의 변이로 생성된 변이형 p53 단백질은 구조적인 변화로 인하여 야생형의 유전자 산물과는 달리 세포내에서 안정되어 있으므로 야생형에 비하여 반감기가 더 길어져서 p53 항체를 이용한 면역조직화학적 염색으로 검출될 정도로 세포내에 축적되어 있다²³⁾. 한편 결직장암 환자의 수술 예후와 생존율을 결정하기 위한 병기 평가에는 장막 침범, 임파절 전이, 간 및 복막 전이등의 인자를 기준으로 결정되며 이중 대표적인 것으로서 본질적으로는 50년이상 크게 수정되지 않고 이용되고 있는 Dukes씨 병기분류법이 보편적으로 이용되고 있다³⁸⁾. 여기에 최근에는 DNA 배수성 상태, 증식능, 그리고 원종양유전자(protooncogene)등과 같은 악성도 인자들과 예후와의 관계에 대해 연구되고 있다. 즉 비배수성 종양과 증식능이 증가된 종양은 일반적으로 이배수성 및 낮은 증식능을 나타내는 종양에 비해 일반적으로 예후가 불량한 것으로 보고되고 있다¹²⁻¹⁵⁾. *Ki-ras*, *C-myc*, 그리고 *c-erbB2*와 같은 종양유전자와 예후와의 관계에 대한 연구도 아직은 결론적이지는 못하지만 활발히 시행되고 있다³⁹⁻⁴¹⁾. p53 단백질의 발현과 임상 병리학적 예후인자들 간의 관계에 대해서도 아직은 논란의 여지가 많은 것으로 보인다.

최근의 여러 문헌을 보면 결직장암에서 p53 유전자의 양성 발현율은 42~62%로 보고되고 있으며^{16, 42, 43)}

저자들의 연구에서는 59%빈도로 p53 단백질 발현이 관찰되었다. p53 단백질의 발현과 임상 및 병리학적 예후인자들 간의 관계에 대해서 Scott등¹⁶⁾은 종양의 분화도, Dukes씨 병기, DNA ploidy 등과는 상관관계가 없다고 하였으며, Yamaguchi등¹⁷⁾도 조직학적 분화도, 종양의 크기, 장벽의 침습도, 임파선 침범, 혈관 침범, 임파절 또는 간으로의 전이와 p53 발현율은 유의한 관계가 없다고 보고하였다. 국내의 이등⁴³⁾도 p53 단백질의 발현과 임상병리학적 인자들과의 유의한 상관성은 없었다고 하였다. 그러나 종양의 위치별 p53 단백질의 발현 빈도는 Scott등¹⁶⁾에 의하면 좌측 결장암에서 더 높았으며 고도의 세포 증식을 나타내었다고 하였으며, Kern등⁴⁴⁾, Delatter등⁴⁵⁾ 그리고 Rothberg등⁴⁶⁾도 우측 및 좌측 결장암 간의 생물학적 차이 즉 17, 18번 염색체의 대립유전자의 소실과 *C-myc* 유전자 발현의 증가 등이 좌측 결장암에서 높았다고 하여 좌측 및 우측 결장암의 발생과 진행에는 서로 다른 유전적 기작이 관계한다고 주장하였다. 본 연구에서는 우측 대장에서는 13명 중 6명(46.2%)이 좌측 대장에 48명 중 30명(62.5%)이 p53 양성 반응을 보여 좌측대장에서 발현율이 높아 이들의 결과와 유사하였으나 통계학적 유의한 차이는 없었으며 또 다른 발암 유전자의 발현 여부는 검사를 하지 않았으므로 알 수 없다. Hanski등⁴⁷⁾은 결직장암 76예를 선종에서 유래한 점액성 암(mucinous carcinoma)와 비점액성 암으로 분류한 뒤 후자를 다시 선종-선암 연속(adenoma-carcinoma sequence)성 암과 원발성 암(de novo carcinoma)로 나누어 p53 단백질의 발현율을 조사한 결과 비점액성 암에서는 그 빈도가 40% 이상인 것에 비해 점액성 암에서는 9%에 불과하여 점액성 암은 비점액성 암과 비교할때 그 유전적 병소가 상이하여 p53 유전자 변이는 점액성암의 발생에서는 중요하지 않으며 오히려 *Ki-ras*와 *C-myc* 종양유전자의 변이가 중요한 역할을 한다고 하였다.

결직장암 환자에서 p53 단백질의 발현 여부가 예후 평가인자로 이용될 수 있는지에 대해서는 논란의 대상이 되고 있다. 유방암에서는 p53 유전자의 발현이 병기의 진행, 전이 또는 호르몬 수용체의 저농도들과 같은 불량 예후인자와 유의한 관계가 있으며 낮은 생존율과 높은 생물학적 공격도(biologic aggressiveness)를 암시한다고 보고하고 있다²⁰⁾. Kerns등⁴⁴⁾은

Ki-ras 유전자 변이와 5번 염색체 결손보다는 17, 18번 염색체의 결손이 결직장암에서 원격 전이 및 생존율 감소와 유의한 관계가 있다고 하여 p53 유전자 변이가 예후와 밀접한 관계를 가진다고 주장하였으나, Scott등¹⁶⁾과 이등¹²⁾은 p53 단백질은 결직장암의 발암 과정에는 중요한 역할을 하지만 예후와는 무관하다고 하였다. 한편 Yamaguchi등¹⁷⁾은 p53 단백질 양성 발현의 환자에서는 음성군에 비해 재발율과 3년 생존율이 유의한 차이를 나타내어 p53 발현이 불량 예후인자로 이용될 수 있음을 암시하였으며, Nathanson등¹⁸⁾은 p53 단백질의 발현 강도에 따라 강한 발현의 예에서 약한 발현의 경우보다 일찍 사망하였을 뿐만 아니라, 음성 발현도 생존율이 떨어지는 경향을 나타내어 음성 발현이란 인자도 불량한 예후를 암시하는 지표일지도 모른다고 하였다. 저자들의 연구대상이 된 결직장암 환자에서는 p53 단백질 발현 유무에 따라 재발율 및 생존율에 약간의 차이가 있었으나 이들의 상관관계는 통계학적으로 유의성이 없는 것으로 나타났다.

이 이외에도 세포질내 p53 유전자의 발현빈도가 Duke씨 병기에 따라 증가하여 세포질내 p53 단백질 발현이 예후와 유의하다는 보고도 있으며¹⁹⁾, p53 유전자 변이보다는 남아있는 야생형 대립유전자의 소실이 오히려 대장암 발생에 더 중요한 요소라는 보고도 있다²⁰⁾.

이상과 같은 저자들의 연구결과에서 p53 유전자 변이는 결직장암 환자에서 흔하게 관찰된다는 사실을 확인할 수 있었지만, 이 p53 유전자 변이가 종양의 진행 및 예후에 대한 독립적인 유의한 변수로 작용하는지는 명확하게 규명할 수는 없었다.

그러므로 결직장암 환자에서 면역조직화학적 방법에 의한 p53 단백질 발현자체만으로써 환자의 예후를 평가하는 것은 아직은 무리로 생각되며, 앞으로 *Ki-ras*, *C-myc* 등의 종양유전자의 변이 유무와 이들과의 관계 등에 대한 연구를 광범위하게 시도하면 결직장암의 발생과 진행에 관계하는 종양유전자들의 역할이 보다 명확히 밝혀질 것으로 사료된다.

결 론

저자들은 1990년부터 1993년까지 약 4년동안 동아대학교 병원 일반외과에서 수술을 받은 61예 결직장

암 환자의 수술 종양조직을 대상으로 p53 단백질에 대한 단클론 항체를 이용하여 면역조직화학적 염색을 시행하여 그 발현 양상과 빈도를 조사하여 여러 임상 및 병리학적 인자 그리고 예후와의 상관관계를 분석하여 다음의 결론을 얻었다.

1) p53 단백질의 발현은 61예중 36예(59.0%)에서 관찰되었으며, 발현양상은 다양하였으나 47.2%에서 중등도의 핵 염색 강도로 또 69.4%에서 종양병소에 미만형으로 관찰되었다.

2) 여러 임상 및 병리학적 인자와 p53 단백질 발현과의 상관관계는 Duke씨 병기, 종양의 해부학적 위치, 조직 분화도 등과 p53 발현은 통계학적으로 유의한 상관관계를 찾을 수 없었으며, p53 단백질 발현 양성군과 음성군에서의 재발율도 각각 28.1% 및 19.0%로서 통계학적으로 유의한 차이는 관찰할 수 없었다.

3) p53 단백질 발현유무와 2년 생존율을 기준으로 한 예후와는 전체군과 근치 절제군 모두에서 통계적 유의성을 찾을 수는 없었다.

이상의 결과로서 저자들은 p53 유전자 변이가 결직장암 환자에게 비교적 흔히 관찰되는 사실을 알 수 있었지만 종양의 진행 및 예후에 대한 독립적인 변수로 작용하는지는 명확하게 규명할 수 없었으며, p53 단백질 발현이 암의 예후에 어떠한 영향을 주는지에 대해서는 DNA 유전자 분석과 함께 분자수준에서의 분석을 포함한 보다 예민하고 광범위한 연구가 진행되어야 할 수 있을 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) 김광연, 이성모, 허영수: 직장암의 임상적 고찰. 외과적 치료 및 원격 조사 중심으로. 대한외과학회지 22: 689, 1980
- 2) Jessup JM, Gallick GE: *The biology of colorectal carcinoma. Curr Probl Cancer* 16: 263, 1992
- 3) Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B: *p53 mutations in human cancer. Science* 243: 9, 1991
- 4) Lane DP, Crawford LN: *T antigen is bound to a host protein in SV 40-transformed cells. Nature* 278: 261, 1979
- 5) Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM: *Chromosome 17 deletions and p53 gene mutation in colorectal carcinoma. Science* 244: 217, 1989
- 6) Oren M, Maltzman W, Levine AJ: *Post-transla-*

- tional regulation of the 54K cellular tumor antigen in normal and transformed cells. *Mol Cell Biol* 1: 101, 1981
- 7) Reich NC, Oren M, Levine AJ: Two distinct mechanisms regulate the levels of a cellular tumor antigen p53. *Mol Cell Biol* 3: 2143, 1983
 - 8) Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR: Genetic alteration during colorectal tumor development. *N Engl J Med* 319: 525, 1988
 - 9) Vogelstein B, Fearon RT, Ken SE: Allotype of colorectal carcinoma. *Science* 244: 207, 1989
 - 10) Campo E, Calle-Martin O, Miquel R: Loss of heterozygosity of p53 gene and p53 protein expression in human colorectal carcinoma. *Cancer Res* 51: 4436, 1991
 - 11) Nathanson SD, Schultz L, Tilley B: Carcinomas of the colon and rectum: a comparison of staging. *Am J Surg* 52: 428, 1986
 - 12) Armitage NC, Robins RA, Evans DF: The influence of tumour cell DNA abnormalities on survival in colorectal cancer. *Br J Surg* 72: 828, 1985
 - 13) Kokal WA, Duda RB, Azumi N: Tumor content in primary and metastatic colorectal carcinoma. *Arch Surg* 121: 1434, 1986
 - 14) Yonemura Y, Ohoyama S, Kimura H: Assessment of tumor cell kinetics by monoclonal antibody Ki-67. *Eur Surg Res* 22: 365, 1990
 - 15) Al-Sheneber IF, Shibata HR, Sampalis J: Prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen expression in colorectal cancer. *Cancer* 71: 1954, 1993
 - 16) Scott N, Segar P, Stewart J: p53 in colorectal cancer: clinicopathological correlation and prognostic significance. *Br J Cancer* 63: 317, 1991
 - 17) Yamaguchi A, Kurosaka Y, Fushida S: Expression of p53 protein in colorectal cancer and its relationship to short-term prognosis. *Cancer* 70: 2778, 1992
 - 18) Fearon ER, Vogelstein B: A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61: 759, 1990
 - 19) Prosser J, Tompson AM, Cranston GL: Evidence that p53 behaves as a tumor suppressor gene in sporadic breast tumors. *Oncogene* 5: 1573, 1990
 - 20) Davidoff AM, Herndon JE, Glover NS: Relation between p53 overexpression and established prognostic factors in breast cancer. *Surgery* 110: 259, 1991
 - 21) Marzars R, Maudelonde T, Jeanteur P: p53 mutation in ovarian cancer: a late event. *Oncogene* 6: 1685, 1991
 - 22) Marks JR, Davidoff AM, Kerns BJM: Overexpression and mutation of p53 in epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 51: 2979, 1991
 - 23) Iggo R, Gatter K, Barket J: Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 335: 675, 1990
 - 24) Kim JH, Takahashi T, Chiba I: Occurrence of p53 gene abnormalities in gastric carcinoma tumors and cell lines. *J Natl Cancer Inst* 83: 938, 1991
 - 25) 김우호, 송상요, 김진복: 위암종에서 p53 단백질 과발현과 환자의 예후와의 관계에 대한 연구. *대한암학회지* 26: 702, 1994
 - 26) Lane DP: p53, guardian of gene. *Nature* 358: 15, 1992
 - 27) Kuerbitz SJ, Plunkett BS, Walsh WV: Wild-type p53 is cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 7491, 1992
 - 28) Eliyahu D, Rat A, Gruss P: Participation of p53 cellular tumor antigen in transformation of normal embryonic cells. *Nature* 312: 646, 1984
 - 29) Oliner JD, Pietenpol JA, Thiugalingsam S: Oncoprotein MDM2 conceals the activation domain of tumor suppressor p53. *Nature* 362: 857, 1993
 - 30) Momand J, Zambetti GP, Olson DC: The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53 mediated transactivation. *Cell* 69: 1237, 1992
 - 31) Culotta E, Koshland DE: p53 sweeps through cancer research. *Science* 262: 1958, 1993
 - 32) Wagar S, Hannon GJ, Beach D: The p21 inhibitor of cyclin-dependent kinase controls DNA replication by interaction with PCNA. *Nature* 369: 574, 1994
 - 33) El-Deiry W, Tokino T, Velculescu V: a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* 75: 817, 1993
 - 34) Oren M: The p53 cellular tumor antigen: gene structure, expression and protein properties. *Biochem Biophys Acta* 823: 67, 1985
 - 35) Marshall CJ: Tumor suppressor genes. *Cell* 64: 313, 1991
 - 36) Weinberg RA: Tumor suppressor genes. *Science* 254: 1138, 1991
 - 37) Lane DP, Benchimol S: p53 oncogene or anti-oncogene? *Genes and Development*. 4: 1, 1990
 - 38) Dukes CE: The classification of cancer of the rec-

- tum. *J Pathol Bacteriol* 35: 323, 1932
- 39) Erisman MD, Litwins S, Keidan RD: *Noncorrelation of the expression of the c-myc oncogene in colorectal carcinoma with recurrence of disease or patient survival. Cancer Res* 48: 1350, 1988
- 40) Gallick GE, Kurzrock R, Kloetzer WS: *Expression of p21 in fresh primary and metastatic human colorectal tumors. Proc Natl Acad Sci USA* 82: 1795, 1985
- 41) Thor A, Hand PH, Underlich D: *Monoclonal antibodies define differential ras gene expression in malignant and benign colonic disease. Nature* 311: 562, 1984
- 42) 이강춘, 최동욱, 김용규: 직장대장암에서 p53 단백질의 발현이 예후에 미치는 영향. *대한암학회지* 26: 878, 1994
- 43) Nathanson SD, Linden MD, Tender P: *Relationship among p53, stage and prognosis of large bowel cancer. Dis Colon Rectum* 37: 527, 1994
- 44) Kern SE, Fearon ER, Tersmette WF: *Allelic loss in colorectal carcinoma. JAMA* 261: 3099, 1989
- 45) Delatter O, Law DJ, Remvikos Y: *Multiple genetic alterations in distal and proximal colorectal cancer. Lancet* 2: 353, 1989
- 46) Rothberg PG, Spandorfer JM, Rrisman: *Evidence that c-myc expression defines two genetically distinct forms of colorectal adenocarcinoma. Br J Cancer* 52: 629, 1985
- 47) Hanski C, Bornhoeft G, Shimoda T: *Expression of p53 protein in invasive colorectal carcinomas of different histologic types. Cancer* 70: 2772, 1992
- 48) Sun XF, Carstenisen JM, Stal O: *Prognostic significance of cytoplasmic p53 oncoprotein in colorectal adenocarcinoma. Lancet* 340: 1369, 1992
- 49) Bell SM, Scott N, Cross D: *Prognostic value of p53 overexpression and c-ki-ras gene mutation in colorectal cancer. Gastroenterology* 104: 57, 1993
- 50) Baker SJ, Markowitz S, Fearon ER: *Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild-type p53. Science* 249: 912, 1990