

대장직장암에서 bcl-2와 p53단백발현의 의의

조선대학교 의과대학 외과학교실 및 병리학교실*

장정환 · 정기환 · 김권천 · 김정용 · 민영돈
김성환 · 조현진 · 전홍준 · 김종안 · 임성철*

= Abstract =

The Value of the Expression of bcl-2 and p53 in Colorectal Carcinomas

Jeong Hwan Chang, M.D., Ki Hwan Jung, M.D., Kweon Chun Kim, M.D.
Cheong Yong Kim, M.D., Young Don Min, M.D., Seong Hwan Kim, M.D.
Hyun Jin Cho, M.D., Hong Joon Cheon, M.D., Jong An Kim, M.D.
and Sung Chul Lim, M.D.*

Department of Surgery and Pathology,
Chosun University Medical College, Kwangju, Korea*

There are a lots of evidences that colorectal cancer arise as a result of multiple alterations of genes. Many attempts were made to understand the role of oncogenes and suppressor genes as a prognostic indicator, recently. Although histopathologic staging of tumor is the most important prognostic factor up to now, it is not enough to be used with full confidence. Apoptosis or programmed cell death represents a deletion of damaged or natural cell mechanism. The bcl-2 proto-oncogene is known as a inhibitor of apoptosis that may allow accumulation and propagation of cells containing genetic alterations. Overexpression of bcl-2 probably plays a role in colorectal carcinogenesis. The aim of this study was to determine bcl-2 and p53 expression in colorectal carcinoma in correlation with apoptosis, clinical parameters, and histopathology, and to test their prognostic significance in patient with colorectal carcinoma. The bcl-2 and p53 protein were identified by immunohistochemical staining using monoclonal and polyclonal antibody. The apoptotic index was determined by microscopic examination of hematoxylin and eosin-stained sections at x400. The materials subjected to this study were 54 paraffin-embedded colorectal carcinomas, which were collected randomly from January of 1992 to December of 1994 at Department of Surgery, Chosun University Hospital. Of 54 cases, 21(38.9%) and 22(40.7%) showed positive expression of bcl-2 and p53 protein respectively. Mean apoptotic index(AI) was 2.99% in colorectal carcinoma. Bcl-2 expression did not correlated with p53 expression or apoptotic index. Positive expression of p53 or AI was not correlate with any other clinical and pathologic parameters. An inverse correlation was found between bcl-2 expression and increased tumor stage or lymph node metastasis ($P < 0.05$). In conclusion, these results suggest that bcl-2 expression is significant associated with early stage in colorectal car-

* 이 논문은 1996년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

* 본 논문의 요지는 1996년 대한외과학회 추계학술대회에서 구연되었음.

cinoma. But bcl-2, p53 and AI can't be a independent prognostic factor in colorectal carcinoma. Further investigations to clarify its possible role in controlling the tumor development and growth of colorectal carcinoma are needed.

Key Words: bcl-2, p53, Apoptosis, Colorectal carcinoma

서 론

현재까지 대장직장암의 수술후 치료방침을 정하거나 예후를 예측하는데는 광학현미경에 의한 조직병리학적 소견에 의존하여 왔으나, 같은 병기의 암이라도 재발률 및 생존률에 차이가 있는 경우가 많이 있어 기존의 방법을 보완하거나 새로운 예측인자의 발견이 필요하였다.

분자생물학과 유전공학의 발전으로 암의 원인이 되는 많은 유전자가 발견되었고, 이들은 세포증식과 분화에 필요한 정보전달계 및 유전자 발현 조절에 관여하는 단백을 합성하고 이들의 활성화에 의해서 정상적 증식과 분화가 저해되어서 암이 발생하는 것으로 믿어지고 있다.

최근에는 발암과정이 있어서 암억제 유전자의 변화가 중요시 되고 있는데, 이것의 변이와 염색체의 결실에 의해서 정상적 유전자산물의 기능이 소실되고 이로 인해서 암전환이 일어나는 것으로 생각되고 있다. 그러므로 암은 암유전자와 암억제 유전자의 변이가 축적되어서 발생하고 침윤과 전이가 일어나기 위해서는 세포증식 및 간질과 상호작용을 하는 각종 유전자의 협동이 필요할 것으로 생각된다.

Bcl-2 발암유전자는 14:18(q32:q21)염색체 전위의 결과로 나타난 follicular lymphoma¹⁾에서 처음으로 기술된 이래 조혈세포계와 상피세포계에서 bcl-2에 의한 세포수명의 연장이 증명되었고, apoptosis를 억제하여 유전자 변화가 있는 세포의 축적과 증식에 관여하는 것으로 알려져 왔다. 이러한 apoptosis의 조절유전자는 여러가지가 알려져 있는데, 그 중 하나로 널리 알려진 p53 유전자는 Bax 발현을 증가시키고 상대적으로 bcl-2 발현을 억제시켜 apoptosis를 촉진하는 것으로 알려져 있다.

Non-Hodgkin's lymphoma에서 bcl-2와 p53의 동시 발현은 각각의 단독 발현에 비해 불량한 예후와

관련이 있었고, 유방암에서 bcl-2와 p53의 역상관 관계가 보고되고 있는데, 이는 이러한 암유전자들이 apoptosis의 조절에 상호작용하여 암발생에 관여하리라 생각된다.

이에 저자들은 대장직장암에서 bcl-2와 p53 유전자를 면역조직화학적으로 염색하여 임상 및 병리학적 소견과 이들 유전자와의 상관관계를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1) 대상

1992년 1월부터 1994년 12월까지 조선대학교 부속 병원 외과학교실에서 대장직장암으로 수술을 시행받은 환자중 임상기록 및 조직표본의 보존이 양호하고 추적 조사가 가능하였던 54명을 무작위로 추출하였으며, 1996년 8월까지 생존여부를 확인하였다.

2) 방법

면역조직학적 검사에 사용된 1차 항체는 p53 suppressor gene product에 대한 단클론항체(monoclonal mouse anti-human p53 protien, DAKO-p53, DO-7)와 bcl-2 단백질에 대한 단클론 항체(monoclonal mouse anti-human bcl-2 oncoprotien, clone 124, DAKO)를 이용하였으며, 2차 항체는 LSAB kit(DAKO)를, 발색제는 AEC kit (DAKO)를 이용하였다. 관찰대상이 된 조직들은 10%중성 포르말린에 충분히 고정된 다음, 파라핀 포매에 의해 4~5 μm 두께의 절편으로 제작하였다. 일반적인 조직학적 소견을 관찰하기 위하여 hematoxylin-eosin 이중염색을 실시하였고, 면역조직화학적으로 p53과 bcl-2 단백질에 대한 염색을 실시하여 p53과 bcl-2의 발현정도를 평가하였다.

(1) 면역조직화학적 검사: 일반 광학현미경 검경후 선택된 파라핀 포매괴를 찾아, 이를 각각 4 μm로 박절

하여 탈파라핀과 염수과정을 거친후 p53과 bcl-2 단백질에 대한 면역조직화학적 염색을 DAKO사의 LSAB kit와 AEC kit를 이용하여 ABC 법으로 시행하였다. p53은 희석제로 1:100 희석하였고, bcl-2는 1:50으로 희석하여 사용하였다. 그리고, p53의 경우는 항원성을 살리기 위해 염색시작 48시간전에 파라핀 포매조직을 4 μ m로 박절하여 온수조에서 DAKOPATTS에서 제작된 precleaned silanized slides에 올려 실온에서 48시간 방치시켜 건조시킨다음, xylene으로 탈파라핀 시키고, 수세후 탈수과정을 거쳐, microwave oven을 이용한 일련의 과정을 거쳤다. Microwave oven을 이용한 과정은 10 mM, pH 6.0 citrate buffer가 담긴 비이커에 탈수과정을 거친 유리 슬라이드를 넣고, 이를 microwave oven에 넣어 750 W로 조절후 매 5분씩 4회 반복 가열하였다. 이때 microwave oven내에서 incubation하는 동안 슬라이드가 건조되지 않게 가열을 멈추고, 증발된 양만큼 증류수를 보충해 주었다. 그후 슬라이드는 incubation하던 비이커에 담긴채 20분가량 실온하에서 방치시켜 냉각시켰고, 그후 PBS로 세척한후 일상적인 ABC 염색법을 이용하였다. 면역조직화학적 염색에 대한 양성대조군으로 p53의 경우는 DNA염기 서열 확인 결과 p53유전자의 돌연변이가 있는 것으로 확인된 암세포주를 in vivo (nude mice)에 이식하여 발생된 KUPL40 (Shirasawa 등)⁹⁾과 같은 검체가 사용되어져야 하나, 유용치 못하였다. 그러나, 염색을 시행해본 결과 정상 장관 점막과 암조직간에 염색상이 극명한 대조를 보여 자체 대조군이 설정된 것으로 보아도 무난할 듯 하였다. 또한, bcl-2의 경우는 면역조직화학적 염색방법에 의해 악성 B-세포 림프종으로 확진된 증례를 이용하였다.

(2) bcl-2와 p53 단백질의 염색도 판정기준: bcl-2의 경우는 뚜렷한 세포질내의 양성반응이 확인되면 그 강도나 분포정도에 관계없이 양성으로 판정하였고, p53염색에 사용된 시약은 monoclonal mouse anti-human p53 protein (DAKO-p53, DO-7)으로서 이는 자연형 및 돌연변이형 모두를 인지해 낸다. 그러나, 자연형은 겨우 수분에 달하는 짧은 반감기로 인해 일상적인 면역조직화학적 염색방법으로는 증명할 수 없기 때문에 본 실험에서 얻어진 양성반응은 모두 돌연변이형 p53의 발현으로 간주함을 전제로 하였다. p53

에 대한 확실한 핵내 염색을 양성 염색소견으로 판정하였으며, 염색된 세포의 백분율에 따라 전혀 염색이 안되는 경우는 0,1%이하일 때 \pm , 25% 미만일 때 1+, 50% 미만일 때 2+, 75% 미만일 때 3+, 그리고 75% 이상으로 염색되는 경우 4+로 판정하였다.

(3) Apoptotic index: Hematoxylin-eosin 염색 조직슬라이드를 저배율 시야에서 관찰하여, 피사가 없는 부위를 대상으로 Axiolab(Zeiss, Germany) 현미경을 이용하여 Objective lense $\times 400$ 배 시야상 종양조직으로만 구성된 부위에 시야를 고정한 후, 4시야에서 관찰되는 apoptotic cell을 모두 세어 세포 100개당 관찰되는 apoptotic cell의 수로 환산하였다.

(4) 통계학적 분석: 환자의 나이 및 성별, 종양의 위치 및 크기, Dukes 병기, 조직분화도, 침윤도, 림프절 전이, 생존여부 등의 임상 및 병리학적 소견과 유전자 단백질발현 및 apoptosis와의 상관관계를 분석하였으며, 통계학적 검증은 chi-square 검증을 이용하였고, p value가 0.05 미만일 때 통계학적 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

1) 임상 및 조직소견

대상환자 54예중 남자는 25예, 여자는 29예 (평균 나이: 57.9 ± 12.7)였고 대장암이 20예, 직장암이 34예였다. 조직학적 분화면에서는 고분화암 16예(29.6%), 중분화암 26예(48.1%), 미분화암 8예(14.8%), mucinous cell이 4예(7.4%)였고, 병기별 분포는 병기 B₁ 7예(13.0%), 병기 B₂ 27예(50.0%), 병기 C₁ 5예(9.3%), 병기 C₂ 14예(25.9%), 병기 D는 1예(1.9%)였다 (Table 1).

2) 임상 및 조직소견과 bcl-2 및 p53 단백질, apoptotic index

총 54예중 p53은 22예(40.7%)에서 양성하였고, 32예(59.3%)에서 음성이었으며, bcl-2는 21예(38.9%)에서 양성하였고, 33예(61.1%)에서 음성이었다 (Table 1). 평균 apoptotic index는 2.99였으며, 평균치 이하인 경우가 25예였고 평균치 이상인 경우가 29예를 차지하였다. bcl-2 발현과 p53발현 및 apoptotic

Table 1. Association of bcl-2 & p53 expression with clinicopathologic findings in colorectal cancer

(n = 54)

	No. of case	No of expression(%)		
		bcl-2	p53	Coexpression
Age				
≤ 30	2	0	2(100)	0
31~50	11	7(63.6)	4(36.4)	2(18.2)
> 50	41	14(34.1)	16(39.0)	3(7.3)
Sex				
Male	25	10(40.0)	9(36.0)	0
Female	29	11(37.9)	13(44.8)	5(17.2)
Histology				
Well	16	9(56.3)	5(31.3)	0
Moderate	26	9(34.6)	12(46.2)	5(19.2)
Poor	8	2(25.0)	5(62.5)	0
Mucinous	5	1(25.0)	0	0
Depth of invasion				
Muscularis	11	3(27.3)	5(45.5)	0
Subserosa	10	7(70.0)	4(40.0)	3(30.0)
Pericolic	33	11(33.3)	13(39.4)	2(6.1)
LN meta				
0	34	18(52.9)	11(32.4)	3(8.8)
1~4	12	2(16.7)	7(58.3)	1(8.3)
≥ 5	8	1(12.5)	4(50.0)	1(12.5)
Tumor size				
≤ 4 cm	19	5(26.3)	8(42.1)	2(10.5)
> 4	35	16(45.7)	14(40.0)	3(8.6)
Location				
Colon	20	9(45.0)	9(45.0)	2(10.0)
Rectosigmoid	34	12(35.3)	13(38.2)	3(8.8)
Stage				
B1	7	3(42.9)	4(57.1)	1(14.3)
B2	27	15(55.6)	7(25.9)	2(7.4)
C1	5	1(20.0)	2(40.0)	0
C2	14	1(7.1)	8(57.1)	1(7.1)
D	1	1(100)	1(100)	1(100)
Apoptotic index				
≤ 2.99	25	12(48.0)	7(28.0)	2(8.0)
> 2.99	29	9(31.0)	15(51.7)	3(10.3)

index와의 상관관계에 있어서 통계적 유의성은 관찰되지 않았고, bcl-2와 p53의 동시발현은 5예(9.3%)로 낮게 발현되었으며 통계적으로 유의치 못하였다(Table 1).

환자의 나이 및 성별, 종양의 위치 및 크기, Dukes 병기, 조직적분화도, 침윤도, 림프절전이, 생존 및 apoptotic index 등과 p53의 발현은 각각의 비교군에서 통계학적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1).



Fig. 1. Intranuclear immunostain for p53 gene product in well differentiated adenocarcinoma. ABC method counter-stained by hematoxylin($\times 100$). Negatively stained adjacent normal mucosa discloses in the right.

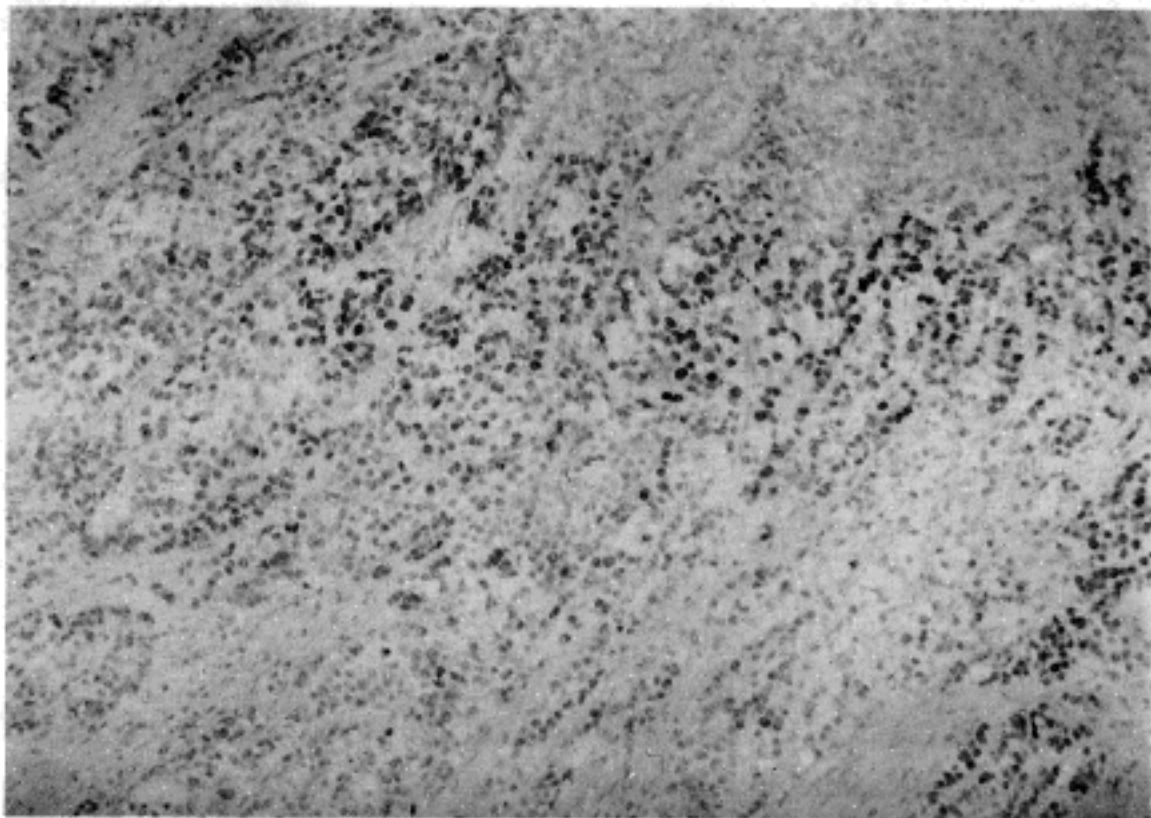


Fig. 2. Diffuse intranuclear immunostain for p53 gene product in poorly differentiated adenocarcinoma. ABC method counter-stained by hematoxylin($\times 100$).

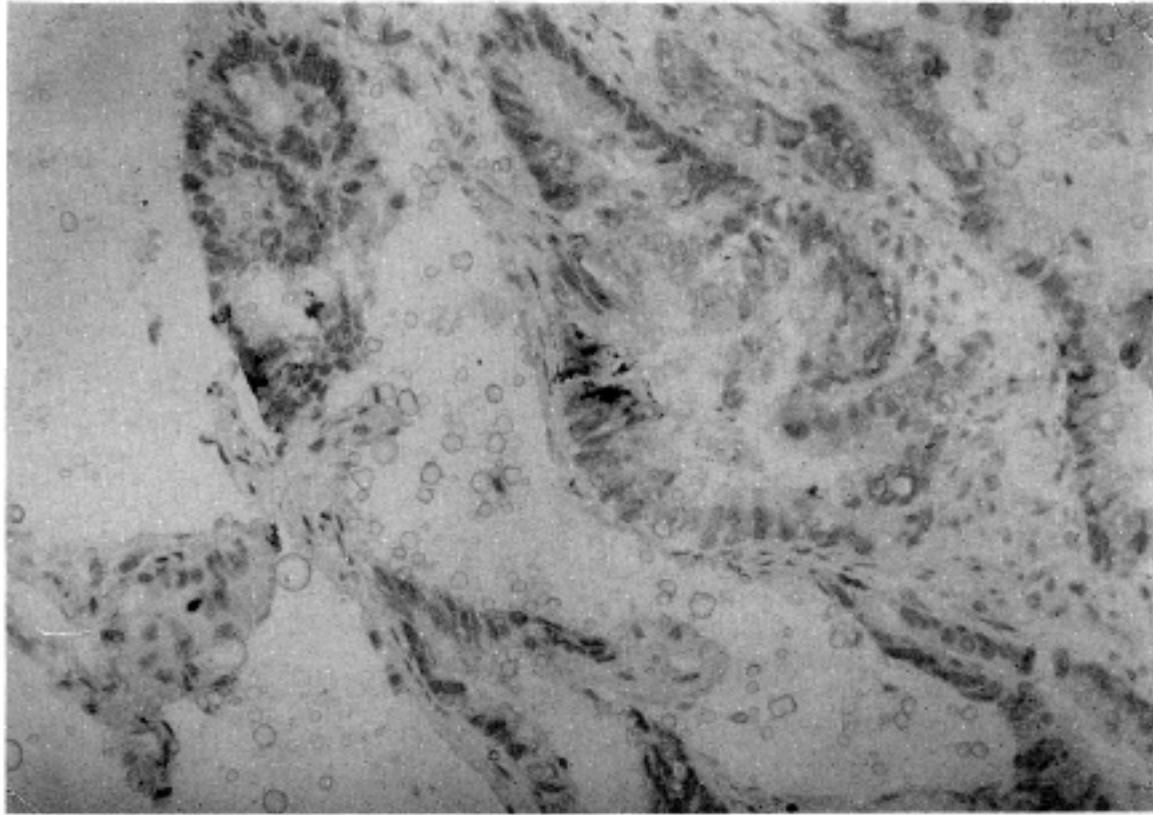


Fig. 3. Focal intracytoplasmic immunostain for bcl-2 in well differentiated adenocarcinoma. ABC method counter-stained by hematoxylin($\times 200$).

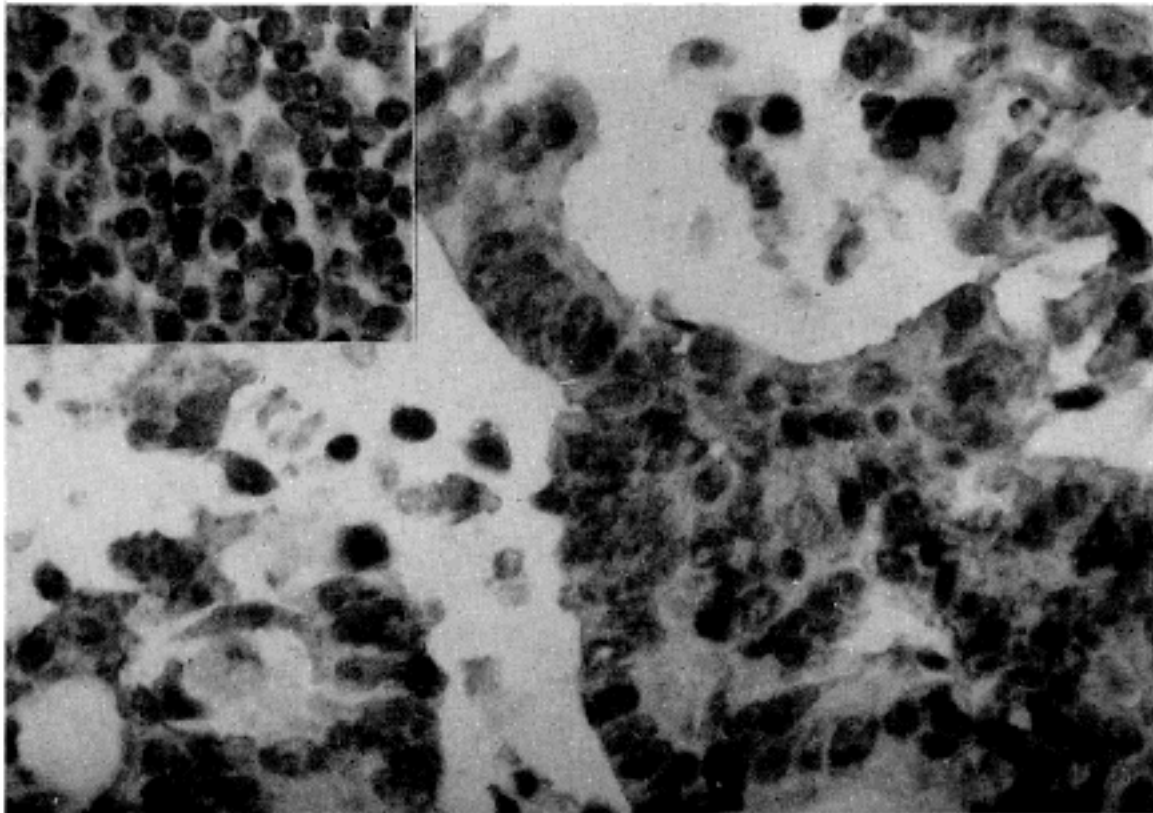


Fig. 4. Diffuse intracytoplasmic immunostain for bcl-2 in poorly differentiated adenocarcinoma. ABC method counter-stained by hematoxylin($\times 200$).
Inset; Positive control for bcl-2, diffuse intracytoplasmic immunostain in malignant B-cell lymphoma.

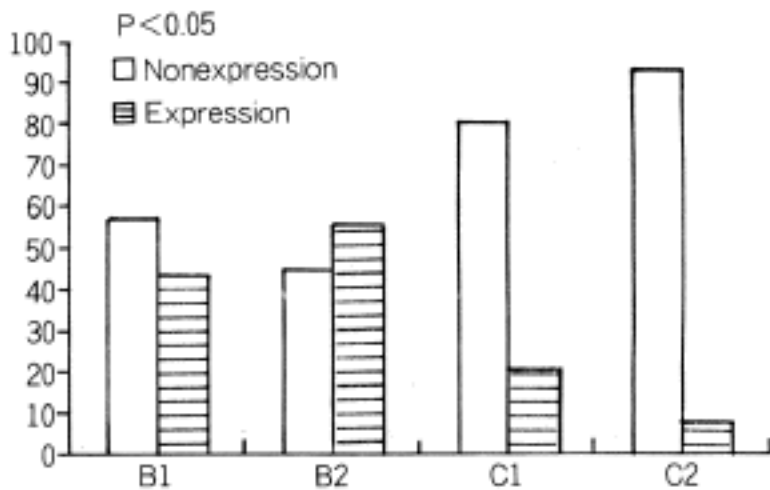


Fig. 5. Correlation of stage with bcl-2 expression (n=54).

bcl-2 발현은 **Dukes** 병기와 림프절 전이를 제외한 여러 임상 병리학적 소견과 통계적 유의성은 없었으나, **Dukes** 병기가 진행되고 림프절 전이가 증가할수록 bcl-2 발현이 통계적으로 유의하게 감소하였다 (Table 1, Fig. 5, 6) ($P < 0.05$).

고 찰

종양의 형성 과정에는 수많은 인자들이 관련되어 있으며, 이들 인자중 일부 규명된 것으로는 크게 바이러스, 방사선 및 화학물질등이 있으며 이들에 의한 직·간접적인 종양 유전자(oncogene)나 종양억제 유전자(tumor suppressor gene)의 돌연변이에 의해 이들 유전자가 활성화 또는 억제 되어 종양이 발생하는 것으로 밝혀져 있다³⁾.

정상적으로 분열하여 성장한 세포는 일정한 시기에 예정된 프로그램에 의해 사멸(apoptosis, programmed cell death)하여 일정한 세포밀도를 유지하게 되는데, 어떤 원인으로든 이러한 과정의 장애로 인해 세포가 지속적으로 성장하게 되면 다른 여러 요인들과 복합적으로 작용하여 유발 및 촉진의 다단계 과정을 거쳐 종양이 발생하는 것으로 이해되기도 한다.

대장암은 소화기계 암 중에서는 비교적 예후가 좋아, 근치적 절제후 5년 생존율이 50~60%로 보고되고 있다⁴⁻⁷⁾. 그러나 아직도 환자의 절반이상이 재발하

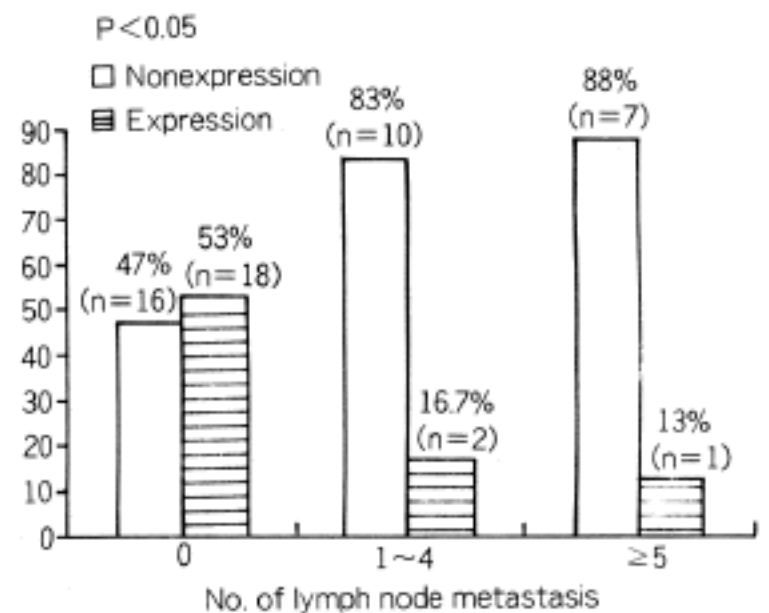


Fig. 6. Correlation of LN metastasis with bcl-2 expression (n=54).

고⁸⁾, 재발의 80% 이상이 3년내에 발생하여⁹⁾ 결국에는 대부분의 환자들이 원격전이로 인해 사망하게 된다.

현재까지 대장직장암의 수술후 치료방침을 정하거나 예후를 예측하는데는 **Dukes**씨 분류법, 세포의 분화도, 선암의 점액분비상태, 혈관 및 신경의 침윤정도, 암종의 크기, 환자의 연령 및 발생부위 등을 측정지표로 이용하여 왔다. 이중 임파절 전이 및 대장벽의 침윤정도에 근거를 두어 분류한 **Dukes** 분류법이 예후와 가장 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 왔으나, **Dukes C**군에 속하는 암종을 가진 환자들 중에서도 1/3가량이 장기간 생존하는가 하면, **Dukes B**군 환자의 1/3이 조기 사망하는 등 재발 및 예후 측정 지표로서의 부족함이 많았다. 이러한 이유로 최근에는 새로운 예후인자를 찾고자 하는 노력들이 활발하게 전개되고 있으며, 분자생물학의 발달에 힘입어 정상세포가 암세포로 형질 전환을 하는 여러단계 및 이에 관여하는 물질들이 밝혀지고 있다.

대장암은 선종에서 선암으로 진행되는 과정이 비교적 자세하게 알려져 있는데¹⁰⁾, 우성 암유전자(dominant acting oncogene)로는 k-ras, c-src, c-myc 등이 잘 알려져 있고¹¹⁻¹⁴⁾, 억제 유전자로는 DCC(deleted in colorectal carcinoma gene)^{12,15)}, APC(adenomatous polyposis coli gene)^{12,16,17)}, p53 gene^{16,18,19,20,21)} 등이 알려져 있다.

이들중 p53유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하

고 있는 종양 억제 유전자로, 인체에 발생하는 각종암 종에서 가장 흔히 초래되는 유전자 변화 대상이다^{22,23)}. p53의 자연형(wild type)은 세포증식 및 전환에 억제 효과를 지니고 있으나, 그 양이 매우 적고, 짧은 반감기로 인하여 일반적으로 면역조직화학적 염색으로는 증명하기 어렵다²⁴⁾. 그러나, 점 돌연변이가 초래된 돌연변이형(mutant type)은 구조의 변화 및 반감기의 증가로 악성 종양 세포내에 과량축적 되므로 일반적인 면역조직화학적 염색으로도 쉽게 증명할 수가 있다^{25~27)}.

Davidoff 등²⁸⁾은 유방암에서 p53 단백질과 다 발현은 말기암, 전이암 및 프로세스테론 수용체 발현이 없는 경우와 연관되어 있어 독립된 예후인자로서 가치가 있다고 주장하였고, Hamilton 등¹⁶⁾은 p53 단백질 발현 정도와 대장암의 원격전이 재발 및 예후와도 관계가 깊어 발현정도가 높을수록 전이가 많고 예후가 좋지 않다고 하였다.

그러나 Purie 등²⁹⁾, Rodrigue 등³⁰⁾은 암종에서 p53 단백질 과다발현은 나타나지만 환자의 나이, 종양의 위치, 조직 분화도, 병기 및 DNA ploidy 등과 무관하다고 보고하였다. 본 연구에서는 40.7%에서 p53 단백질 양성을 보였으며, 병기 및 림프절 전이 등과 무관하고 여러 임상병리학적 속도들과도 무관하였다. 이와 같이 p53의 상반된 의미는 예후인자 혹은 종양유전자로서의 p53 단백질에 의한 역할보다, 다른 종양유전자나 기타의 분자들과의 상관관계하에서 임상 발현될 가능성이 있기 때문에, 이들과의 상관관계에 관한 연구가 뒤따라야 할 것으로 사료된다.

그러나, 이러한 면역조직화학적 염색에 의한 p53 단백질 발현의 한계점은 사용한 항체의 종류와 검체의 유전자 산물이 보존상태에 따라 결과에 차이가 있을수 있다는 점인데, 돌연변이형 p53을 검출하기 위해 사용한 단클론항체 자연형 및 돌연변이형 p53 모두에 대해 양성반응을 보이나, 자연형 p53은 반감기가 짧고, 극히 소량만이 존재한다는 사실에 토대를 두어, 이의 면역조직화학적 염색 소견상의 양성발현 가능성은 무시하였다는 점이다^{24,31)}. 따라서, 이때 초래될 수 있는 오류를 방지하기 위해서는 PCR-SSCP(polymerase chain reaction single strand conformation polymorphism)를 이용한 p53 유전자 검색이 필요하리라 여겨지나, PCR-SSCP의 이용에도 모든 exon에 대한 검색을 해야만 위음성을 막을 수 있다는 한계

점이 남아있다.

bcl-2 유전자의 과표현은 14:18(q32;q21)염색체 전위의 결과로 나타난 follicular lymphoma¹⁾에서 처음으로 기술된 이래 조혈세포계와 상피세포계에서 bcl-2에 의한 세포수명의 연장이 증명되었고, apoptosis를 억제하여 유전자 변화가 있는 세포의 축적과 증식에 관여하는 것으로 알려져 있으며, bcl-2 발현의 증가는 최근 상피세포종양, 예로 폐암^{32,33)}, 갑상선³⁴⁾, 유방³⁵⁾, 위장³⁶⁾과 난소³⁷⁾에서 보고되고 있다.

대장직장 종양형성에서 Sinicrope 등³⁸⁾이 bcl-2와 apoptosis에 관한 연구를 처음으로 보고하였는데, 그들의 연구에 따르면 대장선종에서는 71% 선암에서는 67%의 bcl-2 면역반응을 나타냈다. 그러나 대장직장암에 있어서 bcl-2 발현이 예후에 미치는 영향에 대해서는 연구가 되지 않았다.

Baretton 등³⁹⁾은 선종에서 85%, 선암에서 67%의 발현을 보고하였고, 대장직장암의 발생에 있어서 bcl-2 발현이 조기현상임을 암시하였고, 좀더 좋은 예후와 관련이 있음을 시사하였다.

정상 점막에서 bcl-2의 염색은 기저 상피세포 즉, stem cell compartment, 대장소낭선(hyperplastic colonic crypt)에 제한되어 나타나는데, 선종과 선암에서는 topographic change가 나타나게 된다. 71%의 이형성세포(dysplastic cell)와 67%의 암세포에서 bcl-2 발암유전자가 기저주변부와 표층점막층(parabasal and superficial mucosal layers)에 비정상적으로 발현되며, premalignant polyp으로부터 암세포에서 미만성으로 bcl-2가 높은 수준을 나타내는 소견은 비정상 bcl-2 유전자 활성이 암의 발전과 진행의 조기 현상임을 암시한다 하겠다. Sinicrope 등³⁸⁾에 의하면, bcl-2와 p53은 대장선종에서는 서로 역상관관계가 관찰되었으나 대장암에서는 유의치 못하였고, bcl-2 발현과 apoptotic index간의 유의한 역상관관계가 있다고 보고하였으나 본 연구에서는 이들의 상관관계에 있어서 통계적 유의성은 관찰되지 않았다. 그러나 유방암⁴⁰⁾에서는 bcl-2와 p53의 역상관계가 보고되었고, 돌연변이형 p53이 bcl-2 발현을 down regulation할 수 있음을 나타내었다^{41,42)}.

bcl-2와 p53의 동시발현은 Sinicrope 등이 선종에서는 29%, 선암에서는 38%로 보고하였고, Non-Hodgkin's lymphoma⁴³⁾에서 bcl-2와 p53의 동시존

제는 이들 유전자의 단독발현때보다 불량한 예후와 관련이 있었고, 또한 bcl-2에 의한 apoptosis의 억제는 p53에서 새로운 돌연변이가 생긴 세포나 대장직장의 선종이나 선암에서 자주 발현되는 c-myc, ras를 포함한 다른 발암유전자를 증가시킬 수 있다고 보고하였다^{44, 45}).

본연구에는 bcl-2와 p53의 동시발현은 9.3%로 낮게 나타났으며, 기존의 예후인자들과 apoptotic index 및 생존 여부와의 상관관계는 관찰되지 않았다.

결론적으로 대장직장암에서 bcl-2발현과 p53발현 및 apoptotic index와 유의한 상관관계는 관찰되지 않았고, p53의 발현은 나이 및 성별, 종양의 위치 및 크기, Dukes 병기, 조직 분화도, 침윤도, 림프절 전이 apoptotic index, 생존 등과 통계적 유의성은 없었으나, Dukes 병기가 진행되고 림프절 전이가 증가할수록 bcl-2 발현이 통계적으로 유의하게 감소되어($P < 0.05$), bcl-2 발현은 multistaging oncogene processing을 하는 대장직장암의 early stage에 주로 발현되는 것으로 사료되며, 부가적인 예후인자로서의 사용여부는 향후 좀 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

결 론

저자들은 1992년 1월부터 1994년 12월까지 조선대학교 부속병원 외과학교실에서 대장직장암으로 수술을 시행받은 환자들은 1996년 8월까지 추적조사하여 조직표본의 보존이 양호하고 임상기록 및 추적조사가 가능하였던 54명을 대상으로, 면역조직화학염색법을 통해 bcl-2 및 p53 발현 양상을 관찰하여, 기존의 예후 지표와 apoptotic index 및 생존과의 상관관계를 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) bcl-2는 38.9%, p53은 40.7%에서 발현되었고 apoptotic index는 평균 2.99였다.

2) bcl-2 발현과 p53 발현 및 apoptotic index와의 서로간의 유의한 상관관계는 없었다.

3) bcl-2와 p53의 동시 발현은 9.3%로 나타났으며, 이들 및 p53 발현은 환자의 나이 및 성별, 종양의 위치 및 크기, Dukes 병기, 조직분화도, 침윤도, 림프절 전이, apoptotic index, 생존 등과 각각의 비교군에서 유의한 상관관계는 없었다.

4) Dukes 병기가 진행되거나 림프절 전이가 증가함에 따라 bcl-2 발현이 통계적으로 유의하게 감소되었다($P < 0.05$).

이상과 같은 결과로 볼 때, 대장직장암에서 현재까지는 조직 병기가 재발 및 예후 추정에 있어서 가장 중요한 예측지표임에는 논란의 여지가 없으나, bcl-2 발현은 대장직장암에서 흔히 early stage에 주로 발현되는 것으로 사료되었고, 부가적인 예후인자로서의 사용여부는 향후 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

REFERENCES

- 1) Tsujimoto Y, Croce CM: Analysis of the structure, transcripts and protein products of bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma. *proc Natl Acad Sci U.S.A* 83: 5214, 1986
- 2) Suiasawa S, Urabe K, Yanagawa Y, Toshitani K, Iwama T, Sasazuki T: p53 gene mutations in colorectal tumors from patients with familial polyposis coli. *Cancer Res* 51: 2874, 1991
- 3) Cotran RS, Kumar V, Robbins SL: Neoplasia. In *Pathologic basis of disease*. 5th edit, Philadelphia: Saunders. 1994: 280
- 4) Dukes CE: Cancer of the rectum: an analysis of 1000 cases. *J Pathol Bacteriol* 50: 527, 1940
- 5) Whittaker M, Goligher JC: The prognosis after surgical treatment for carcinoma of the rectum. *Br J Surg* 63: 384, 1976
- 6) Corman ML, Veidenheimer MC, Collier JA: Colorectal carcinoma: a decade of experience at the Lathey Clinic. *Dis Colon Rectum* 22: 477, 1979
- 7) Dixon AR, Maxwell wa, Holmes J, et al: Carcinoma of the return: a 10-year experiance. *Br J Surg* 77: 510, 1990
- 8) Neville R, Fielding LP, Amendola C: Local tumor recurrence after curative resection for rectal cancer. A ten-hospital review. *Dis Colon Rectum* 30: 12, 1987
- 9) Carlsson U, Lason, Ekelund G: Recurrence rates after curative surgery for rectal carcinoma, with special reference to their accuracy. *Dis Colon Rectum* 30: 431, 1987
- 10) Fearon ER, Vogelstein B: A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61: 759, 1990
- 11) Land H, Parada LF, Weinberh RA: cellular oncogenes and multistep carcinogenesis. *Science* 222:

- 771, 1983
- 12) Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR: *Genetic alterations during colorectal tumor development. N Engl J Med* 319: 525, 1988
 - 13) Bos JK, Fearon ER, Hamilton SR: *Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers. Nature* 327: 293, 1987
 - 14) Boss JL: *Ras oncogenes in human cancer: A review. Cancer Res* 49: 4682, 1989
 - 15) Baker SL, Preisinger AC, Jessup JM, et al: *p53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. Cancer Res* 50: 7717, 1990
 - 16) Stanley R, Hamilton SR: *Molecular genetic alteration as potential prognostic indicators in colorectal carcinoma. Cancer Suppl* 69: 1589, 1992
 - 17) Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, et al: *Identification of a chromosome 18q gene which is altered in colorectal cancer. Science* 247: 49, 1990
 - 18) Ostrowski JL, Sawan A, Henry L, et al: *p53 expression in human breast cancer related to survival and prognostic factors: an immunohistochemical study. J Pathol* 164: 75, 1991
 - 19) Baker SJ, Markowitz S, Fearon ER, et al: *Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild type p53. Science* 249: 912, 1990
 - 20) Iggo R, Gatter K, Bartek J, et al: *Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. Lancet* 335: 675, 1990
 - 21) Nigro JM, Baker SJ, Hostetter R, et al: *Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. Nature* 342: 705, 1989
 - 22) Zambetti GP, Levine AJ: *A comparison of the biologic activities of wild type and mutant p53. FASEB J* 7: 855, 1993
 - 23) Chang F: *The p53 tumor suppressor gene as a common cellular target in human carcinogenesis. Am J Gastroenterol* 88: 174, 1993
 - 24) Rogel A, Poplock M, Webb CG, et al: *p53 cellular tumor antigen; analysis of mRNA levels in normal adult tissues, embryos and tumors. Mol Cell Biol* 5: 2851, 1985
 - 25) Bartek J, Iggo R, Gannon J, et al: *Genetic and immunohistochemical analysis of mutant p53 in human breast cancer cell lines. Oncogene* 5: 893, 1990
 - 26) Gannon JV, Graves R, Iggo R, et al: *Activating mutations in p53 produce a common conformational effect. A monoclonal antibody specific for the mutant form. EMBO J* 9: 1595, 1990
 - 27) Rodrigues NR, Rowan A, Smith MEF, et al: *p53 mutations in colorectal cancer. Proc Natl Acad Sci U.S.A* 87: 7555, 1990
 - 28) Davidoff AM, Herndon II JE, Glover NS, et al: *Relation between p53 overexpression and established prognostic factors in breast cancer. Surgery* 110: 259, 1991
 - 29) Purdie CA, Gardy JO, Piris J, Wyllie AH, Bird CC: *p53 expression in colorectal tumors. Am J Pathol* 138: 807, 1991
 - 30) Rodrigues NR, Powan A, Smith MEF, et al: *p53 mutations in colorectal cancer. Proc Natl Acad Sci* 87: 755, 1990
 - 31) Bartek J, Bartkova J, Vojtesek B, et al: *Aberrant expression of the p53 oncoprotein is a common feature of a wide spectrum of human malignancies. Oncogene* 6: 1699, 1991
 - 32) Pezella F, Turley H, Kuzu I, Tunjekar MF, Dunnhill MS, Pierce CB: *bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. N Engl J Med* 329: 690, 1993
 - 33) Ben Ezra JM, Kornstien MJ, Grimes MM, et al: *Small cell carcinomas of the lung express the bcl-2 protein. Am J Pathol* 145: 1036, 1994
 - 34) Pilotti S, Collini P, Del Bo R, et al: *A novel panel of antibodies that segregates immunocytochemically poorly differentiated carcinoma from undifferentiated carcinoma of the thyroid gland. Am J Surg Pathol* 18: 1054, 1994
 - 35) Doglioni C, Deitos AP, Laurino L, et al: *The prevalence of bcl-2 immunoreactivity in breast carcinomas and its clinicopathological correlates, with particular reference to estrogen to estrogen receptor status. Virchows Arch* 424: 45, 1994
 - 36) Lauwers GY, Scott GV, Karpeh MS: *Immunohistochemical evaluation of bcl-2 protein expression in gastric adenocarcinomas. Cancer* 75: 2209, 1995
 - 37) Kuwashima Y, Uehara T, Kishi K, et al: *Immunohistochemical characterization of undifferentiated carcinomas of the ovary. J Cancer Res Clin Oncol* 120: 672, 1994
 - 38) Sinicrope FA, Ruan SA, Cleary KR, Stephens C, Lee JJ, Levin B: *bcl-2 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis. Cancer Res* 55: 237, 1995
 - 39) Barrett GB, Diebold J, Christoforis G, et al:

- Apoptosis and immunohistochemical bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. Cancer 77: 255, 1996*
- 40) Silivestri R, Veneroni S, Daidone M, et al: *The bcl-2 protein: a prognostic indicator strongly related to p53 protein in lymph node negative breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 86: 499, 1994*
- 41) Miyashita T, Krajewski S, Krajewski M, et al: *Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. Oncogene 9: 1799, 1994*
- 42) Haldar S, Negrini M, Monna M, et al: *Down regulation of bcl-2 by p53 in breast cancer cells. Cancer Res 54: 2095, 1994*
- 43) Piris MA, Pezella F, Martinez-Montero JC, et al: *P53 and bcl-2 expression in high grade B-cell lymphoma; correlation with survival time. Br J Cancer 69: 337, 1994*
- 44) Bell SM, Scott N, Cross D, et al: *Prognostic value of p53 overexpression and c-k-ras gene mutations in colorectal cancer. Gastroenterology 104: 57, 1993*
- 45) Stewart J, Evans G, Watson J, et al: *Detection of the c-myc oncogene Product in colonic polyps and carcinomas. Br J Cancer 53: 1, 1986*
-