

## 대장 직장암에서 p53과 bcl-2 발현에 있어서 그들의 예후적 가치와 상관관계

조선대학교 의과대학 외과학교실, <sup>1</sup>병리학교실

박 상 현 · 민 영 돈 · 김 정 용  
김 권 천 · 김 성 환 · 임 성 철<sup>1</sup>

= Abstract =

### The Prognostic Value and Reciprocity of p53 and bcl-2 Expression in Colorectal Carcinoma

Sang Heon Park, M.D., Young Don Min, M.D., Jeong Yong Kim, M.D.  
Kweon Cheon Kim, M.D., Seong Hwan Kim, M.D.  
and Seong Cheol Lim, M.D.<sup>1</sup>

*Department of Surgery and <sup>1</sup>Pathology, Chosun University Hospital,  
Kwangju, Korea*

p53 is a tumor suppressor gene product identified in a wide range of tumor including colorectal carcinoma. Genetic alterations in the p53 tumor suppressor gene are common in human colorectal carcinoma. bcl-2 is a protooncogene that inhibits apoptosis. The products of mutant p53 gene and bcl-2 have been associated with prognosis in several malignancies including colorectal carcinomas. This study was undertaken to evaluate values of p53 and bcl-2 oncoproteins as prognostic factors relative to clinicopathological factors and correlation of their expression. Analyses were made on archival pathologic tissues of 80 patients with colorectal carcinomas including 34 patients able to follow-up over 5 years. The oncoproteins were localized using commercially available monoclonal antibodies: DO-7 for p53, clone124 for bcl-2. Expression of bcl-2 was cytoplasmic, whereas nuclear p53 expression was localized in carcinoma cells. The patients were 17 to 83 years of age. The expression of p53 and bcl-2 was determined respectively in 30 (37.5%) and 21 (26.3%) cases. The expression of p53 nuclear expression was not correlated with tumor location, size, histologic grade, Duke's classification, regional lymph node metastasis and tumor recurrence. The cytoplasmic expression of bcl-2 was not correlated with tumor location, size, histologic grade, Duke's classification, regional lymph node metastasis and recurrence. Univariate analysis showed that patients with p53 nuclear expression were not associated with poorer overall survival than patients with p53

negative, and also showed in patients with bcl-2 expression. The expression of p53 did not affect to that of bcl-2. We concluded that the p53 nuclear and bcl-2 cytoplasmic expression were not independent prognostic factors in colorectal carcinomas. Evidence of reciprocity of bcl-2 and p53 expression was not found.

**Key Words:** p53, bcl-2, Prognosis, Reciprocity, Colorectal carcinoma

## 서 론

서구 산업 사회에서 대장 직장암은 가장 흔한 악성종양이 되었다.<sup>1</sup> 또한 암 사망 원인의 두 번째를 차지하고 있다. 우리 사회도 점차 서구화되어 가면서 대장 직장암의 발생이 증가되는 추세이다. 최근, 대장 암 발생은 특이 유전자의 유전적 변형(genetic alteration)으로 생각되는데 원 종양 유전자(protooncogene)의 활성화 또는 종양 억제 유전자의 비활성화 등이 있다.<sup>2</sup> 대표적인 종양 억제 유전자의 하나인, p53은 17번 염색체의 단완에 위치하는 다양한 종류의 종양에서 동정되어지는 종양 억제 유전자의 산물인데,<sup>3</sup> 자연형(wild type)은 세포 증식 및 전환(transformation)에 억제 효과를 지니고 있음이 밝혀져 있으나,<sup>4,6</sup> 그 양이 매우 적고, 반감기가 짧아 면역조직학적 염색으로는 일반적으로 잘 증명되지 않는다.<sup>7</sup> 그러나, 점 돌연변이형(point mutation)이 초래한 돌연변이형(mutant type)은 구조적 변화 뿐 아니라 반감기가 증가되어, 악성 종양 세포 내에 과량으로 축적되므로 면역조직화학적 염색으로도 쉽게 증명할 수 있다.<sup>8-10</sup> 종양 세포 내에서 돌연변이형 p53의 농도가 증가되는 이유로 SV 40 T antigen, adenovirus E1B 및 heat shock protein70과 같은 단백질과 복합체를 형성하여 결과적으로 유전암호 해독 후(post-translational)안정을 유지하기 때문으로 보고 있다.<sup>8</sup> 돌연변이형 p53 농도 증가는 신경 아세포종, 악성 흑색종, 임파종, 전립선암, 유방암, 대장 직장암 등에서 관찰되고 있다.<sup>9-12</sup> 최근 논문들에 의하면 대장 직장암에서 돌연 변이형 p53 단백질 증가는 예후와 관련하여 상반되는 결과를 보고하

고 있다.<sup>10</sup>

종양의 발달과 성장은 세포사(cell death)를 억제하는 인자들에 의해 야기되거나 조장될 수 있다. 고사(apoptosis)는 괴사(necrosis)와는 달리 계획된 세포사(programmed cell death)를 의미한다.<sup>13</sup> 고사 조절이 일부 조직의 종양성 전환에 있어서 중요하리라 생각된다.

bcl-2는 정상 또는 종양 세포 내에서 고사를 억제함으로써 세포사를 조절하는 원 종양 유전자(protooncogene)이다.<sup>14-16</sup> 계획된 세포사(programmed cell death)를 억제함으로써 종양 세포의 성장에 관여하는 일종의 새로운 종양 유전자(oncogene)의 역할은 처음에 follicular B cell lymphoma에서 관찰되었다.<sup>17-19</sup> 또한 bcl-2발현은 상피 세포암인 폐암,<sup>20,21</sup> 갑상선암,<sup>22</sup> 유암,<sup>23</sup> 위암,<sup>24</sup> 난소암<sup>25</sup>에 관찰된다. 일부 연구 보고에 의하면 bcl-2발현이 대장 직장암에서 보다 예후가 나은 것으로 보고하기도 한다.<sup>26</sup> 또한, 선종에서 암으로 전환 시 bcl-2 발현의 상실이 나타남으로 인해 bcl-2발현과 p53의 발현 사이에 역관계가 있다고 한다.<sup>27</sup> 이에 저자들은 대장 직장암에서 p53과 bcl-2발현과 여러 임상 병리학적 기준들과의 연관 관계를 통해서 예후 인자로써의 의의를 판단하고, p53과 bcl-2 발현 사이의 상호관계를 알아보하고자 본 연구를 시행하였다.

## 연구 재료 및 방법

### 1) 연구 재료

(1) 증례 선정: 1990년에서 1995년까지 조선대학교 부속병원 외과학교실에서 수술적 절제를 시행한 대장 직장암 환자 중에서 조직의 보관 상태

가 양호하고 기록이 잘 보관되며, 추적 가능한 80예를 선택하였다. 이 중에서 5년 이상 추적 가능한 예는 34예였다.

80예 중 남자와 여자는 각각 37예와 43예였다. Duke씨 병기에 의하면 A는 없고 B는 35예, C는 39예, D는 6예였다. 환자의 평균 연령은 58세이었으며, 호발 연령은 50대이었고 연령 범위는 17세에서 83세였다. 생존 상태는 임상 기록과 전화와 엽서 응답에 의한 병력 청취를 통해 얻었고, 생존 기간은 술 후에서부터 사망까지의 기간으로 정하였다.

5년 이상 추적 가능한 34예 중 남자와 여자는 각각 13예와 21예였다. 평균 연령은 57세였고, 50대에서 가장 많았다.

(2) 실험 시약: 면역 조직학적 검사에 이용된 1차 항체는 p53 단백질에 대한 항체는 monoclonal mouse anti-human p53 protein (DO-7, DAKO)이며 bcl-2 단백질에 대한 항체는 monoclonal mouse anti-human antibody (clone124, DAKO)이고, 2차 항체는 LSAB Kit (DAKO)를, 발색제는 AEC Kit (DAKO)를 이용하였다.

## 2) 연구 방법

관찰 대상이 된 조직들은 10% 중성 포르말린에 충분히 고정된 다음, 파라핀 포매를 하여 4  $\mu$ m 두께의 절편으로 제작하였다. 일반적인 조직학적 소견을 관찰하기 위하여 H-E이중 염색을 실시하였고, 면역조직화학적으로 p53과 bcl-2에 대한 염색을 실시하여 p53과 bcl-2 발현 양상을 평가하였다.

(1) 광학 현미경적 검사: 해부병리과 조직 슬라이드 파일을 대상으로 대장 직장암을 종양의 크기, 위치, Duke씨 병기와, 임파절 전이 상태에 따라 TNM병기로 분류하고 조직의 분화도에 따라 구분한 후 면역조직화학적 검사를 시행할 파라핀을 제작하였다.

(2) 면역조직화학적 검사: 일반 광학현미경 검경 후 선택된 파라핀괴를 찾아, p53과 bcl-2에 대한 면역조직화학적 염색을 DAKO사의 LSAB Kit와 AEC Kit를 이용하여 ABC법으로 시행하였다. 항

원성을 살리기 위해 염색 시약 48시간 전에 파라핀 포매 조직을 4  $\mu$ m로 박절하여 온수조에서 DAKOPATTS에서 제작된 pre-cleaned silanized slides에 올려 실온에서 48시간 방치 시켜 건조시킨 다음, xylene으로 탈파라핀 시키고, 수세 후 탈수 과정을 거쳐 microwave oven을 이용한 일련의 과정을 거쳤다.

Microwave oven을 이용한 과정은 10 mM, pH 6.0 citrate buffer(stock solutions; A: 0.1M solution of citrate, B: 0.1M solution of sodium citrate, Working solution; 9 ml of A+ 41 ml of B, diluted to a total of 500 ml)가 담긴 비커에 탈수 과정을 거친 유리 슬라이드를 넣고, 이를 microwave oven에 넣어 750W로 조절 후 매 5분씩 5회 반복 가열하였다. 이때 microwave oven내에서 incubation하는 동안 슬라이드가 건조되지 않게 가열을 멈추고, 증발된 양만큼 증류수를 보충해 주었다. 그 후 슬라이드는 incubation하던 비커에 담긴 채 20분 가량 실온 하에서 방치시켜 냉각 시켰고, 그 후 PBS로 세척한 후 일상적인 ABC 염색법을 이용하였다.

(3) p53 단백질의 염색도 판정 기준: p53 염색에 사용된 시약은 monoclonal mouse antihuman p53 protein(DO-7,DAKO)으로써 이는 자연형 및 돌연변이형 p53 모두를 인지해 낸다. 자연형은 겨우 수분에 달하는 짧은 반감기로 인해 일상적인 면역조직화학적 염색 방법으로는 증명할 수 없기 때문에 본 실험에서 얻어진 양성 반응은 모두 돌연변이형 p53의 발현으로 간주함을 전제로 하였다. p53에 대한 확실한 핵 내 염색을 양성 염색 소견으로 판정하였으며, 염색된 세포의 백분율에 따라 1% 이하일 때(-), 25% 미만일 때(1+), 50% 미만일 때(2+), 75% 미만일 때(3+) 그리고 75% 이상으로 염색되는 경우(4+)로 판정하였다(Fig. 1).

(4) bcl-2 염색도 판정 기준: 세포질 내 염색이 확실히 인지되는 경우 그 정도에 관계없이 양성으로 단순 판정하고, 세포질 내 염색이 없는 경우 음성으로 판정하였다(Fig. 2).

(5) 통계학적 분석: p53과 bcl-2발현 양상과 임



Fig. 1. Intranuclear immunostain for mutant p53 gene product in colorectal adenocarcinoma. ABC method counter-stained by hematoxylin( $\times 100$ ).



Fig. 2. Intracytoplasmic immunostain for bcl-2 gene product in colorectal adenocarcinoma. ABC method counter-stained by hematoxylin( $\times 100$ ).

상 병리학적 예후 예측 인자들과의 관계를 파악  
키 위해 교차 분석(cross tablation)과 Chi-square  
test를 시행하였다. 또한 bcl-2발현과 p53발현 정도  
사이의 상관관계도 교차 분석을 이용하였다. p53  
과 bcl-2 발현 양상에 따른 생존율의 비교는 Ka-  
plan-Meier method으로 시행하였고, log-rank test로

검증하였다.

## 결 과

### 1) p53과 bcl-2의 발현

대장 직장암의 남자와 여자의 발생 분포는 각

각 37명과 43명이었다. 연령 분포를 보면 50대와 60대에서 가장 많은 발생 빈도를 보였으며 평균 연령은 58세였다(Table 1). 전 80예 중 p53 양성 발현은 30명(37.5%)이었다. bcl-2의 양성 발현은 21명(26.3%)이었다. 또한 80예 중 5년 생존 추적 검사가 가능한 예는 34예였다. 이 중 p53 양성 발현은 34예 중 17예(50%)였고, bcl-2 양성 발현은 8예(23.5%)이었다. 남자와 여자의 구성은 각각 13명과 21명이었으며, 평균 연령은 57세였다.

## 2) p53 양성 발현과 대장 직장암의 임상 병리 적 예후 예측 인자와의 상관관계

p53양성 발현과 종양의 Duke씨 병기, 조직의 분화도, 종양의 발생 위치, 종양의 크기, 임파절 전이 상태, 재발과 원격 전이와의 상관 관계를 분석하였다(Table 2). Duke 씨 병기에 따른 p53 양성 발현은 C 병기에서 19명(47.5%)으로 가장 높았으며, B병기와 D병기는 각각 9명(27.3%), 2명(28.6%)이었다. 그러나, 각 병기에 따른 통계학적 유의한 차이는 없었다( $p > 0.05$ ). 조직학적 분화도에 따른 p53양성 발현은 중등도 분화형에서 19명(46.3%)으로 가장 높았으며 저 분화형에서 2명(22.2%)으로 나타났으며, mucinous type은 0명(0%)으로 가장 낮게 나타났다. 저 분화형과 mucinous type이 그 수가 적어서 통계학적으로 유의한 차이는 없었다( $P > 0.05$ ). 종양의 위치에 따른 p53양성 발현은 상행성 결장은 7예(33.3%), 횡행결장은 1예

(16.7%), 하행 결장은 없었고, S상 및 직장암은 22예(44.9%)로 나타났다. 통계학적 유의한 차이는 없었다( $P > 0.05$ ). 종양 크기에 따른 p53 양성 발현은, 이때 종양의 최대 직경을 5 cm으로 하였을 때, 5 cm 이하와 이상은 각각 6예(20.0%), 9예(31.0%)이었으며, 통계학적 유의성은 없었다( $P > 0.05$ ). 임파절 전이 유무에 따른 p53양성 발현은 각각 16예(45.5%), 13예(29.5%)이었는데, 통계학적으로 유의한 차이가 없었다( $P > 0.05$ ). 또한 종양 재발과 원격 전이에 여부에 따른 p53양성 발현은 각각 10예(62.5%), 20예(36.4%)로 통계학적으로 유의한 차이가 없었다( $P > 0.05$ ).

Table 2. 대장 직장암의 임상병리학적 지표와 p53 발현과의 관계

임상병리학적지표	증례수	p53 발현(%)		
		음성	양성	P value
증례 총수	50	30	(37.5)	
Duke씨 병기				
A				
B	24	9	(27.3)	
C	21	19	(47.5)	
D	5	2	(28.6)	$P > 0.05$
분화도				
고	11	7	(38.9)	
중	22	19	(46.3)	
저	7	2	(22.2)	
점액성	10	0		$P > 0.05$
종양의 위치				
상행결장	14	7	(33.3)	
횡행결장	5	1	(16.7)	
하행결장	4	0		
직장 및 S상결장	7	22	(44.9)	$P > 0.05$
종양의 크기				
5×5 cm 이하	24	6	(20.0)	
5×5 cm 이상	20	9	(31.0)	$P > 0.05$
임파절 전이유무				
임파절 전이 양성	17	16	(48.5)	
임파절 전이 음성	31	13	(29.5)	$P > 0.05$
재발과 원격전이와의 관계				
재발/전이 양성	6	10	(62.5)	
재발/전이 음성	35	20	(36.4)	$P > 0.05$

Table 1. 전 대상 환자 군에서의 연령과 성별 분포

연령	성별			계
	남자	여자	계	
20세 이하	1	1	2	
21~30	1	0	1	
31~40	2	1	3	
41~50	4	6	10	
51~60	13	17	30	
61~70	14	9	23	
71세 이상	2	9	11	
계	37	43	80	

### 3) bcl-2 양성 발현과 대장 직장암의 임상 병리적 예후 예측 인자와의 상관관계

bcl-2 양성 발현에 따른 대장 직장암의 Duke씨 병기, 종양의 분화도, 종양의 위치 및 크기, 임파절 전이 유무와 종양의 재발 및 원격 전이와의 상관관계를 분석하였다(Table 3).

Duke씨 병기에 따른 bcl-2 양성 발현은 B, C, D 기 각각 8예(24.2%), 11예(27.5%), 2예(28.6%)로 이들 사이의 통계학적 유의한 차이는 없었다( $P > 0.05$ ). 종양의 분화도, 위치 및 크기에 따른 bcl-2의 양성 발현 빈도는 통계학적 유의한 차이는 없었다( $P > 0.05$ ). 임파절 전이 유무에 따른 bcl-2 양성

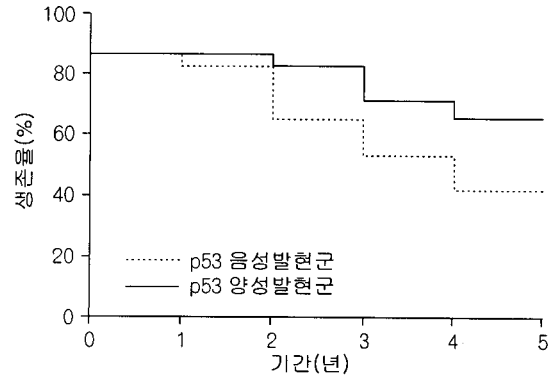
**Table 3.** 대장 직장암의 임상병리학적 지표와 bcl-2 발현과의 관계

임상병리학적지표	증례수	Bcl-2 발현(%)		
		음성	양성	P value
증례 총수	59	21	(26.3)	
Duke씨 병기				
A				
B	25	8	(24.2)	
C	29	11	(27.5)	
D	5	2	(28.6)	$P > 0.05$
분화도				
고	13	5	(27.8)	
중	34	7	(17.1)	
저	7	2	(22.2)	
점액성	7	3	(30.0)	$P > 0.05$
종양위치				
상행결장	16	6	(27.3)	
횡행결장	5	1	(16.7)	
하행결장	3	1	(25.0)	
직장 및 S상결장	37	12	(24.5)	$P > 0.05$
종양의 크기				
5×5 cm 이하	24	6	(20.0)	
5×5 cm 이상	22	7	(24.1)	$P > 0.05$
임파절 전이유무				
임파절 전이 양성	25	8	(24.2)	
임파절 전이 음성	33	11	(25.0)	$P > 0.05$
재발과 원격전이와의 관계				
재발/전이 양성	11	5	(31.3)	
재발/전이 음성	37	18	(32.7)	$P > 0.05$

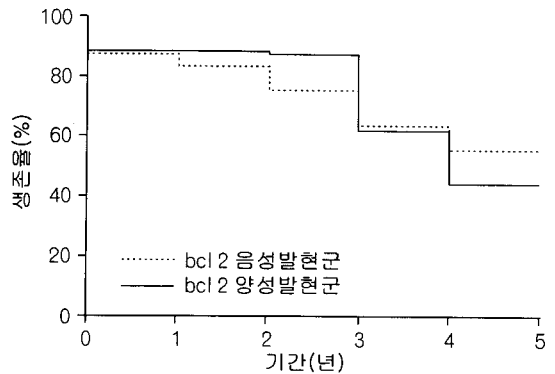
발현은 각각 8예(24.2%), 11예(25.0%)로 통계학적 유의한 차이는 없었다( $P > 0.05$ ). 종양의 재발과 원격 전이 유무에 따른 bcl-2 양성 발현은 각각 5예(33.3%), 19예(33.3%)로 통계학적 유의한 차이는 없었다( $P > 0.05$ ).

### 4) p53 발현 양상에 따른 5년 생존율의 비교 분석

술 후 5년 이상 동안 추적 가능했던 34예에서 p53 발현 양상에 따른 생존율을 비교 분석하였다. p53 양성 발현의 경우 음성 발현 보다 생존율이 높았으나, 통계학적 유의한 차이는 없었다(Fig. 3).



**Fig. 3.** p53 발현 양상에 따른 생존율 비교. 두 군 사이의 생존율의 통계학적 유의한 차이는 없었다( $p > 0.05$ ).



**Fig. 4.** bcl-2 발현 양상에 따른 생존율 비교. 두 군 사이의 생존율의 통계학적 유의한 차이는 없었다( $p > 0.05$ ).

Table 4. p53 발현과 bcl-2 발현과의 상관관계 .

bcl-2 발현	p53발현					p value
	(-)	(+)	(++)	(+++)	(++++)	
음성	36 (72.0%)	9 (75.0%)	8 (88.9%)	5 (71.4%)	1 (50.0%)	P>0.05
양성	14 (28.0%)	3 (25.0%)	1 (11.1%)	2 (28.6%)	1 (50.0%)	P>0.05

### 5) bcl-2발현 양상에 따른 5년 생존율의 비교 분석

술 후 5년 이상 동안 추적 가능했던 34예에서 bcl-2발현 양상에 따른 생존율을 비교 분석하였다. bcl-2발현 양상에 따른 생존율 변화에는 통계학적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 4).

### 6) p53발현 정도와 bcl-2 발현 양상과의 상관관계

bcl-2양성 발현에 따라 p53발현 정도를 음성(-), 약 양성(+), 중 양성(++), 강 양성(+++), 초강 양성(++++)으로 분류하여 분석하였다(Table 4). bcl-2양성 발현에 따라 p53발현인 음성, 약 양성 중 양성, 강 양성, 초강 양성은 각각 14예(28.8%), 3예(25.0%), 1예(11.1%), 2예(28.6%), 1예(50.0%)로 이들 사이의 통계학적 유의한 차이는 없었다(P>0.05).

## 고 찰

대장 직장암의 수술적 절제 후 환자의 생존에 미치는 가장 중요한 예후 예측 인자는 임파절 전이 유무로 알려져 왔다. 또한, Duke씨 또는 TNM 병기 이 외에 종양의 진행 방향 및 예후와 관련된 병리학적 기준은 거의 없다. 이로 인하여 종양의 진행, 재발 및 예후를 정확히 예측할 수 있는 특이한 생물학적 표식자(biologic marker)를 입증하는 중요성이 대두되고 있다. 최근, 종양의 면역조직화학적 연구는 종양의 생물학적 특성에 관한 중요한 정보를 제시하고 있다. 다른 유전자 변이(alteration)와 동반된 p53발현은 환자의 예후와 관

련되어 있다고 여러 논문에서 보고되고 있다.<sup>28,32</sup> 한편 Matsuhei 등<sup>29</sup>에 의하면, 비록 p53발현이 임상적으로 가치 있다 할지라도, 독립된 예후 인자로서의 그 가치는 불분명하다고 하였다. 이에 저자들은 p53 양성 발현이 갖는 대장 직장암에서의 예후적 진단 가치를 평가하고자 하였다. 본 연구에서, 대장 직장암으로 수술적 치료를 받은 80예의 p53 양성 발현 빈도는 30예로 37.5%이었다. 이전의 여러 보고에 의하면, 그 빈도는 40~70%이었는데<sup>10,30,33,34</sup> 본 연구에서 이와 같이 발현 빈도가 낮은 이유는 염색상의 양성 판단 기준의 엄격성의 차이 또는 연구 대상 수가 적어서 오는 차이라고 생각한다. 본 연구 결과 p53의 양성 발현과 종양의 위치, 분화도, 크기 및 Duke씨 병기와는 상관관계가 없는 것으로 나타났으며, 임파절 전이 및 재발과도 상관관계가 없었다. 위암의 경우, 조직학적 아형에 따라 p53 발현율에 차이가 있다고 한다. 즉, 위암 중 장형에서만 주로 종양 형성에 관여된다고 한다.<sup>35</sup> G. Flamini 등<sup>36</sup>에 의하면, Duke씨 병기가 C 또는 D이면서 암 발생 위치가 우측인 경우에 양성 발현 빈도가 높은 것으로 보고되고 있다. 그러나, 다른 여러 보고 등에 의하면 p53 양성 발현은 환자의 연령과 성별 및 종양의 위치, 분화 정도, 크기 등과 상관관계가 없는 것으로 보고하고 있다.<sup>29,32,34</sup> Matsuhei. T. 등<sup>29</sup>에 의하면, 임파절 전이 및 재발과 p53발현과 상관관계가 있다고 하였는데, 이러한 임파절 전이와의 상관관계는 p53양성 발현이 종양의 진행(tumor aggressiveness)과 연관성이 있을 것으로 사료되기도 하나, 본 결과에서는 이와는 달리 임파절 전이와 상관관계가 없었다. 본 연구의 경우 p53양성 발현에 따른 5년 생존율을 비교 분석한 결과, 양성 발현과 음성 사

이에 유의한 차이가 없었다. Zhao-shi zeng<sup>32</sup>에 의하면 p53 양성 발현이 음성 보다 2배 정도의 생존율이 높은 것으로 보고하고 있다. Scott<sup>28</sup>은 p53과 생존율과의 상관관계는 없다고 하였다. 이와 같은 p53의 상반된 의미는, 예후 인자 혹은 종양 유전자로서의 기타의 분자들과의 상관관계 하에서 임상 발현될 가능성이 높기 때문에, 이들과의 상관관계에 관한 명확한 연구가 뒤따라야 할 것으로 사료된다.

최근에 bcl-2는 세포사(cell death)를 조절하는 원 종양 유전자(protooncogene)이라고 인식되고 있다. Lu<sup>37</sup>에 의하면, 바이러스 감염 등에 의한 bcl-2 발현 야기(up-regulation)가 세포 내에서 발생하면 세포 수명의 연장을 초래하게 되고 이러한 결과는 c-myc 증가, p53돌연 변이 등 다른 유전적 변형이 동반되어 종양이 발생된다고 한다.<sup>38</sup> bcl-2 발현은 대장 직장암을 포함해서 follicular B-cell lymphoma와 상피 세포 암에서 관찰된다.<sup>26</sup>

본 연구 결과에서는 bcl-2발현 빈도는 80예 중 21예로 25%로 나타났다. 이전의 보고에 의하면 그 발현은 36.5~90%로 다양한 범위를 보였는데,<sup>26,27,38-40</sup> 이와 같은 차이는 연구 대상 수와 염색상의 양성 판정 기준의 차이에서 기인되리라고 사료된다. 또한, 본 연구 결과에서는 대장 직장암의 임상병리학적 예후 예측 기준들인, 종양의 위치, 크기, 분화 정도, Duke씨 병기 및 임파절 전이와 재발에 있어서 bcl-2 양성 발현과의 상관관계가 없는 것으로 관찰되고 있다. 또한 5년 이상 추적 가능한 34예에서의 bcl-2 발현 양상에 따른 생존율을 비교하였을 때, 양성과 음성 그 둘 사이의 차이가 존재하지 않았다. 다시 말해서, 본 결과에 의하면 bcl-2 발현 양상에 따른 대장 직장암의 예후와의 연관성이 없는 것으로 나타나고 있다. 그런데 Makato, O.<sup>47</sup>에 의하면 bcl-2발현이 조직 분화도가 높은 군에서 낮은 군보다 그 빈도가 높았으며, 임파절 전이를 감소시킨다고 하였다. 또한 Barretton<sup>26</sup>에 의하면 bcl-2발현이 임상병리학적 기준들(종양의 위치, 크기, 분화 정도, Duke 씨 병기)과의 연관성은 없었으나, 원격 전이가 없는

대장 직장암에서 bcl-2의 양성 발현이 음성 발현 보다 예후가 나은 것으로 보고하고 있다. 이와 같이 앞서의 보고 등에 의하면 bcl-2발현이 종양의 진행(tumor aggressiveness)과 상관관계가 있다고 하나, 대장 직장암의 여러 임상 병리학적 기준들과의 다각적인 관계에서 bcl-2발현이 독립적인 예후 인자로서의 가치가 있다고 볼 수 없었다. Wild형 p53과 일부 변이형 p53(mutant p53)이 bcl-2 promotor 내에 있는 transcriptional silence element에 결합함으로써 bcl-2을 하향 조절(down-regulation) 하는 것으로 되어 있다.<sup>42,44,45</sup> Miyashita<sup>42</sup>에 의하면 wild형 p53 oncoprotein이 bcl-2발현을 하향 조절한다고 한다. Watson<sup>27,43</sup>의 보고에 의하면 대장 직장암 및 선종에서 p53 및 bcl-2의 발현에 있어서 역관계가 있다고 한다. 본 연구 결과에 의하면 p53양성 발현 정도에 따른 bcl-2양성 발현 사이의 차이가 없었다. 즉, p53과 bcl-2발현과의 역관계가 존재하지 않았다. 이는 p53발현이 bcl-2 발현 사이에 직접적으로 관여하지 않거나, 다른 여러 인자와의 공동 관여가 있으리라 추측케 한다. 그리고 여기에 대한 보다 명확한 관계 규명이 필요하리라 사료된다.

## 결 론

현대 사회에서 인간 수명의 증가와 산업화로 인해 각종 암의 발생률이 증가 추세 상황에서 암의 생물학적 특성 및 진행을 예견할 수 있는 지표(marker)의 발견은 환자에 대한 적합한 치료 방향과 예후를 예측하는데 매우 중요하리라 생각된다. 이에 저자들은 우리 사회에서 증가하고 있는 대장 직장암에서 p53, bcl-2발현과 여러 임상병리학적 예후 예측 인자들과의 상관관계를 통해 그들의 예후적 가치를 판단하고, p53과 bcl-2 발현 사이의 관계를 알아보려고 하였다.

1) p53발현은 종양의 위치, 크기 및 조직의 분화도와 Duke씨 병기와 상관관계가 없었으며, 임파절 전이, 종양의 재발 그리고 원격 전이 등도 없었다.



2) bcl-2발현은 종양의 위치, 크기, 조직의 분화도, Duke씨 병기, 임파절 전이, 종양의 재발과 원격 전이 등과 상관관계가 없었다.

3) 5년 생존율을 p53과 bcl-2발현 양상에 따라 비교 분석하였을 때, p53과 bcl-2 둘 다 양성과 음성 발현군 사이에 생존율의 차이가 없었다.

4) p53발현과 bcl-2발현과는 상관관계는 없었다. 이상의 결과를 종합해 보면, bcl-2발현과 p53발현 사이의 상호 연관성은 없으며, 변이형 p53양성 발현과 bcl-2양성 발현이 대장 직장암에서 독립된 예후 인자로써의 가치가 없는 것으로 사료된다.

## REFERENCES

1. Thomas RM, Sobin LH. Gastrointestinal cancer. *Cancer* 1995; 75(suppl): 154-179.
2. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Neoplasia. In: *Pathologic basis of disease*. Philadelphia: Saunders; 1994. p280.
3. Mc bride OW, Merry D, Girol D. The gene for human p53 cellular tumor antigen is located on 13 chromosome 17 short arm(17p13). *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 130.
4. Eliyabu D, Michalovitz D, Eliyabu S, Pinhasikimhi O, Oren M. Wild type p53 can inhibit oncogene mediated focus formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 8763.
5. Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The p53 oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 1989; 57: 1083.
6. Mercer WF, Amin M, Sauve GJ, Appella E, et al. Wild type human p53 is antiproliferative in SV 40-transformed hamster cells. *Oncogene* 1990; 5: 975.
7. Rogel A, Poploker M, Webb CG, Oren M. p53 cellular tumor antigen; analysis of mRNA levels is normal adult tissues, embryos and tumors. *Mol Cell Biol* 1985; 5: 2851.
8. Gannon GV, Greaves R, Iggo R, Lann DP. Activating mutations in p53 produce a common conformational effect. A monoclonal antibody specific for the mutant form. *EMBO J* 1990; 9: 1595.
9. Bartek J, Iggo R, Gannon JV, Lane DP. Genetic and immunochemical analysis of mutant p53 in human breast cancer cell lines. *Oncogene* 1990; 5: 893.
10. Rodrigues NR, Rowan A, Smith MEF, et al. p53 mutations in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7555.
11. Iggo R, Gatter K, Bartek J. Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335: 675.
12. Bartek J, Bartkova J, Vojtesek B. Aberrant expression of the p53 oncoprotein is a common feature of a wide spectrum of human malignancies. *Oncogene* 1991; 6: 1699.
13. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis; A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-257.
14. Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 1984; 124: 1-6.
15. Korsmeyer SJ. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes; Regulators of cell death. *Blood* 1992; 80: 879-876.
16. Oren M. The interaction of oncogenes and tumor suppressor genes in control of apoptosis. *Cancer Metastasis Rev* 1992; 11: 141-148.
17. Tsujimoto Y, Croce CM. Analysis of structure, transcripts and protein products of bcl-2, the gene involved in human follicular Lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 5214-5218.
18. Tsujimoto Y, Ikegaki N, Croce CM. Characterization of the protein product of bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma. *Oncogene* 1987; 2: 3-7.
19. McDonnell TJ, Nunez G, Platt FM, et al. Deregulated bcl-2 immunoglobulin transgene expands a resting but responsive immunoglobulin M and D expression B-cell population. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 1901-1907.
20. Pezzella F, Turley H, Kuzu I, et al. Bcl-2 protein in non small cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 690-694.
21. Ben Ezra JM, Kornstein MJ, Grimes MM, Krystal G. Small cell carcinoma of the lung express the bcl-2 protein. *Am J Patho* 1994; 145: 1036-1040.
22. Pilotti S, Collini P, Del Bo R, Cattoretti G, et al. A novel panel of antibodies that segregates immunocytochemically poorly differentiated carcinoma of the thyroid gland. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 1054-1064.
23. Doglioni C, Deitos AP, Laurino L, Chiarelli C, et al. The prevalence of bcl-2 immunoreactivity in breast carcinomas and its clinicopathological correlates, with particular reference to estrogen receptor status. *Virchows Arch* 1994; 424: 45-51.
24. Lauwers GY, Scott GV, Karpen MS. Immunohistochemical evaluation of bcl-2 protein expression in

- gastric adenocarcinomas. *Cancer* 1995; 75: 2209-2213.
25. Kuwashima Y, Uehara T, Kishi K, et al. Immunohistochemical characterization of undifferentiated carcinomas of the ovary. *J Cancer Res Clin Oncol* 1994; 124: 672-677.
  26. Barretton GB, Diebold J, Christoforis G, et al. Apoptosis and immunohistochemical bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. Aspects of carcinogenesis and prognostic significance. *Cancer* 1996; 77(2): 255-264.
  27. Watson AJM, Merritt AJ, Jones LS, et al. Evidence for reciprocity bcl-2 and p53 expression in human colorectal adenomas and carcinomas. *Brit J Cancer* 1996; 73: 889-895.
  28. Scott N, Sagar P, Stewart J, et al. p53 in colorectal cancer; clinicopathological correlation and prognostic significances. *Br J Cancer* 1991; 63: 310-317.
  29. Matsuei T, Kenzi O, Yoh W. Prognostic factors of colorectal cancers; K-ras mutation, overexpression of the p53 protein and cell proliferative activity. *J Surg Oncol* 1994; 57: 57-64.
  30. Bell SN, Scott N, Cross D, et al. Prognostic value of p53 overexpression and c-k1 ras gene mutations in colorectal cancer. *Gastroenterology* 1993; 104: 57-64.
  31. Sun XF, Carstensen JM, Zhang H. Prognostic significance of cytoplasmic p53 oncoprotein in colorectal adenocarcinomas. *Cancer* 1993; 340: 57-64.
  32. Zhao-shi zeng, Alvaro SS, Zuo-feng Zhang. p53 nuclear overexpression: An independent predictor of survival in Lymph node-positive colorectal cancer patients. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2043-2050.
  33. Purdie CA, O'Grady J, Paris J. p53 overexpression in colorectal tumors. *Am J Patho* 1991; 138: 807-813.
  34. Yamaguchi A, Kurosaka Y, Fushida S. Expression of p53 protein in colorectal cancer and its relationship to short-term prognosis. *Cancer* 1992; 70: 2778-2784.
  35. Hurlimann J, Saraga EP. Expression of the p53 protein in gastric carcinomas. Association with histologic type and prognosis. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 1247.
  36. Flamini G, Curgliano G, Ratto C, Astone A. Prognostic significance of cytoplasmic p53 overexpression in Colorectal cancer. An immunohistochemical analysis. *Eur J Cancer* 1996; 32A(5): 802-806.
  37. Lu QL, Abel P, Foster CS. Bcl-2: role in epithelial differentiation and oncogenesis. *Hum Pathol* 1995; 27: 102-110.
  38. LeBrun DP, Warnke RA. Expression of bcl-2 in fetal tissues suggests a role in morphogenesis. *Am J Pathol* 1993; 142: 743-753.
  39. Lauwers GY, Scott GV, Hendricks J. Immunohistochemical evidence of a berrant bcl-2 protein expression in gastric epithelial dysplasia. *Cancer* 1994; 73: 2900-2904.
  40. Diebold J, Barretton GB, Felchner M. Bcl-2 expression und apoptose in ovarialtumoren. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1994; 78: 641.
  41. Joensuu H, Pylkkanen L, Toikkanen S. Bcl-2 protein expression and long term survival in breast cancer. *Am J Pathol* 1994; 145: 1991-1998.
  42. Miyashita T, Harigai M, Hanada M, Reed JC. Identification of a p53-dependent negative response element in the bcl-2 gene. *Cancer Res* 1994; 54: 3131-3135.
  43. Merritt AJ, Potten CS, Watson AJM. The role of p53 in spontaneous and radiation-induced apoptosis in the gastrointestinal tract of normal and p53 deficient mice. *Cancer Res* 1994; 54: 614-617.
  45. Selvakumaran M, Lin HK, Miyashita T. Immediate early up-regulation of Bax expression by p53 but not TGF-beta 1: a paradigm for distinct apoptotic pathways. *Oncogene* 1994; 9: 1791-1798.
  46. Haldar S, Negrini M, Monne M. Down-regulation of bcl-2 and p53 in breast cancer cells. *Cancer Res* 1994; 54: 2095-2097.
  47. Makoto O, Makoto S, Nobuyuki K. Expression of bcl-2 protein in Esophageal squamous cell carcinomas and its association with lymph node metastasis. *Cancer* 1997; 79: 1287-1293.