

### 3기 결장암 조직에서 hMLH1과 hMSH2 단백질발현의 의의

한일병원 외과, <sup>1</sup>울산대학교 의과대학 외과학교실, <sup>2</sup>병리학교실, <sup>3</sup>내과학교실 및 서울아산병원 대장항문클리닉

조영규 · 유창식<sup>1</sup> · 남궁환<sup>1</sup> · 김희철<sup>1</sup> · 김정선<sup>2</sup> · 이제환<sup>3</sup> · 김태원<sup>3</sup> · 김진천<sup>1</sup>

#### Clinicopathological Correlation of hMLH1 and hMSH2 Protein Expressions in Stage III Colon Cancer

Young Kyu Cho, M.D., Chang Sik Yu, M.D.<sup>1</sup>, Hwan Namgung, M.D.<sup>1</sup>, Hee Chul Kim, M.D.<sup>1</sup>, Jung Seon Kim, M.D.<sup>2</sup>, Je Hwan Lee, M.D.<sup>3</sup>, Tae Won Kim, M.D.<sup>3</sup>, Jin C. Kim, M.D.<sup>1</sup>

Department of Surgery, Hanil General Hospital, Seoul, Korea, and Departments of <sup>1</sup>Surgery, <sup>2</sup>Pathology, and <sup>3</sup>Oncology, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, Seoul, Korea

**Purpose:** Functional loss of mismatch repair has been reported to be the reason for resistance to several chemotherapeutic drugs. The expressions of hMLH1 and hMSH2 were examined to assess whether they correlated with the biological behavior and the chemotherapeutic responsiveness in patients with sporadic colon cancers.

**Methods:** Ninety-one patients with stage III primary colon cancer were included from the tumor registry of the Asan Medical Center, Seoul, Korea. All patients underwent a curative operation and postoperative chemotherapy with 5-fluorouracil and leucovorin for 6 cycles between 1993 and 1997. Immunohistochemical staining for hMLH1 and hMSH2 was performed using archival paraffin blocks. A positive expression was determined when unequivocal nuclear staining was identified in more than 10% of the cancer cells. The survival and the clinicopathologic variables regarding hMLH1 and hMSH2 expressions were assessed using the log-rank test and the Cox proportional regression method.

**Results:** Either hMLH1 or hMSH2 expression was lost in nine cases (9.9%). hMLH1 and hMSH2 expressions were significantly correlated with tumor invasion (P=0.012) and tumor differentiation (P=0.017). The disease-free survival did not differ with respect to hMLH1 and hMSH2 expressions. The number of metastatic lymph nodes and the

preoperative serum CEA level were independent predictors of disease-free survival on a multivariate analysis.

**Conclusions:** The loss of hMLH1 or hMSH2 expression appears to be involved in the differentiation of and the invasion by colon cancer. However, neither hMLH1 nor hMSH2 expression was correlated with the 5-fluorouracil responsiveness. *J Korean Soc Coloproctol* 2004;20: 218-224

**Key Words:** Colonic neoplasms, Microsatellite instability, Prognostic factor, Chemotherapy  
결장종양, 과오수정유전자, 예후인자, 화학요법

#### 서 론

우리나라에서 대장암의 빈도는 지난 10년간 2배 이상 증가하여 전체 암 중 네번째로 많으며 앞으로도 계속 증가할 것으로 여겨진다. 대장암의 발생과정은 여러 종류의 암 유전자, 종양억제 유전자, 그리고 과오수정 유전자 등 다양한 유전자가 관여하는 것으로 알려져 있지만 이러한 분자유전학적 연구 성과들은 임상에서 치료나 진단 상 결정적인 자료로는 미흡하며 아직도 조직병리학적 결과에 근거한 종양 병기가 가장 유용하게 여겨지고 있다.

유전성 비용종증 대장암(HNPCC)에서 처음 발견된 과오수정유전자(mismatch repair gene)는 DNA 복제과정에서 일어나는 과오를 수정하는 데 중요한 기능을 하는 것으로 알려져 있다. 정상적으로 DNA 중합효소(polymerase)가 새로 합성되는 DNA에 잘못된 염기를 삽입할 때 일어

접수: 2004년 4월 16일, 승인: 2004년 7월 27일  
책임저자: 유창식, 138-736, 서울시 송파구 풍납동 388-1  
서울아산병원 외과  
Tel: 02-3010-3480, Fax 02-474-9027  
E-mail: csyu@amc.seoul.kr

본 논문의 내용은 2003년 미국대장항문학회 학술대회에서 포스터 발표되었음.

본 연구는 아산생명과학연구소의 연구비(2002-240) 지원으로 수행되었음.

Received April 16, 2004, Accepted July 27, 2004  
Correspondence to: Chang Sik Yu, Department of Surgery, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, 388-1, Pungnap-dong, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea.  
Tel: +82-2-3010-3480, Fax: +82-2-474-9027  
E-mail: csyu@amc.seoul.kr

나는 핵산의 불일치는 과오수정유전자 효소에 의해 수정된다.<sup>1</sup> 과오수정은 세포증식 시 세포가 유전체를 정확하게 복제하기 위해 필요한데 이러한 체계에 결함이 있으면 정상세포보다 돌연변이 확률이 100배 정도 높다고 보고된다.<sup>2</sup> 따라서 DNA 과오수정 유전자의 소실은 유전자의 불안정성을 초래하며 특히 DNA sequence 내 microsatellite에서 돌연변이가 쉽게 일어나게 되고 암발생을 유발하게 된다.<sup>3</sup> 따라서 과오수정유전자의 결핍이 있어 PCR상 microsatellite 부위에 bandshift를 보이는 경우 microsatellite instability (MSI)라 한다.

과오수정유전자의 결핍은 DNA에 손상을 주는 약제인 염기유사체인 6-thioguanine, 알킬화약제인 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine 및 첨가생성물형성약제인 cisplatin 등에 내성을 보이는 것으로 알려져 있다.<sup>4</sup> 항대사물질인 5-fluorouracil은 진행성 대장암에서 가장 많이 사용되는 약제로 여러 실험실 연구에서는 내성이 있다는 주장이 많지만<sup>5</sup> 실제 임상에서는 약제 내성에 대해 아직은 논란이 많다.<sup>6</sup>

본 연구의 목적은 산발성 대장암에서 과오수정 유전자인 hMLH1과 hMSH2의 단백질발현 정도를 비교적 간단하게 확인할 수 있는 면역조직화학검사를 통해 알아보고 이들 유전자 둘 중 하나라도 발현이 안되는 것을 MSI 양성, 둘 다 발현이 되는 경우를 MSI 음성으로 나누어 과오수정유전자의 결핍이 있는 MSI 양성인 예후인자로서 의미가 있는지 알아보기 위해 기존의 예후 인자들과 비교하였다. 또한 여러 항암제에서 치료내성을 보이는 것으로 알려진<sup>1</sup> MSI 양성 군과 MSI 음성 군에서 대장암 근치수술 후 5-fluorouracil 보조화학요법 치료 시 재발과의 상관관계를 알아보았다.

## 방 법

### 1) 대상군

1993년부터 1997년까지 서울아산병원 대장항문 클리닉에서 대장암으로 수술받은 환자들 중 AJCC 3병기(5판, 1997)에 해당되고 근치적 수술 후 보조적 화학요법 6주기를 모두 받은 환자를 대상으로 하였다. 이들 중 유전성 비용종 대장암과 가족성 용종증 환자는 제외하였으며 직장암 환자의 경우 술 후 방사선치료를 병행한 예가 많아 제외하였다.

보조적 화학요법은 수술 후 4주째 시행하였으며 약제로는 5-fluorouracil과 leucovorin을 사용하였다. 약제의 용량은 5-fluorouracil의 경우 체표면적당 425 mg, leucovorin은 체표면적당 20 mg으로 하였으며 leucovorin을 먼저 정

맥주사한 후 5-fluorouracil을 24시간 정주하는 것을 5일간 반복한 후 3주간은 쉬는 것을 1주기로 하여 6주기를 시행하였다.

대상 환자는 총 91명이었으며 이 중 남자가 49명, 여자가 42명이었다. 이들의 평균연령은 55.5세(29~89세), 추적기간의 중앙값은 49.5개월(7.1~85.5개월)이었다.

### 2) 면역조직화학적 염색

hMLH1과 hMSH2 단백질의 대장암 세포 내 발현을 알아보기 위하여 면역조직화학 염색을 시행하였다. 개별조직에서 보존 상태가 양호한 원발성 종양의 파라핀 포매 조직을 선택하여 5 $\mu$ m 두께로 절편하여 슬라이드에 얹어 60°C에서 20~30분 동안 방치한 후 100% 자일렌으로 파라핀을 제거하고 100%, 95%, 80%, 70% 알코올로 처리한 다음 증류수로 함수시켰다. 파라핀 고정으로 조직 내 감추어진 항원을 노출(antigen retrieval)시키기 위해 100 ml sodium citrate buffer (pH 6.0) 용액에 넣고 스티머(steamer)에서 1시간 동안 증탕한 후 증류수로 수세하였다(heat-induced antigen retrieval method). 내인성 과산화 효소를 억제시키기 위해 0.1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-methanol 용액으로 10분간 처리한 후 증류수로 수세한 다음 조직을 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 7.0)에 5분간 수세하였다. 이후의 과정은 LSAB (labeled streptavidin biotin) kit (DAKO, Glostrup, Denmark)를 이용하여 시행하였다. 조직절편을 4% skimmed milk에 10분간 반응시킨 후 hMLH1 (clone G168-15, Pharmingen, San Diego, CA, USA), hMSH2 (clone G219-1129, Pharmingen, San Diego, CA, USA)에 반응하는 일차 항체 (mouse monoclonal antibody)로 실온에서 1시간 동안 반응시킨 다음, 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 7.6)로 수세한 후 Peroxidase-labeled streptavidin (DAKO)을 실온에서 10분간 반응시킨 후 0.05 M Tris-HCl (pH 7.6)로 수세하였다. DAB (diaminobenzidine hydrochloride)를 chromogen으로 이용하여 5분 정도 실온에서 발색시키고 증류수로 수세하였다. Harris Hematoxylin으로 3분간 대조 염색시킨 후 탈수하고 Canada balsam으로 봉입하였다.<sup>7,8</sup>

hMLH1과 hMSH2 단백질의 면역조직화학적 판독은 현미경을 사용하여 진단병리 전문의에 의해 판독되었으며, 세포내 핵이 갈색(brown color)으로 염색된 것이 10% 이상이면 양성발현으로 판독하였다.

### 3) 통계학적 분석

임상자료는 서울아산병원 대장항문 클리닉의 암환자 등록 데이터베이스를 기초로 후향적으로 의무기록을 이용하여 조사하였고, 여러 인자들에 따른 hMLH1과 hMSH2 단

백발현의 차이는 Chi-square test와 Fischer's exact test를 이용하였다. 생존율 그래프는 Kaplan-Meier법으로 작성하였으며, *hMLH1*과 *hMSH2* 단백발현 및 병리 조직학적 인자들에 따른 생존율 비교는 log-rank test로 검증하였고, Cox-proportional regression 분석을 통하여 생존율에 영향을 미치는 예후 인자들에 대한 다변량 분석을 시행하였으며 변수투입방법은 backward stepwise method를 사용하였다. 통계는 SPSS (Chicago, IL, USA)를 사용하였으며 P값이 0.05 미만일 경우 통계적으로 의미 있다고 판정하였다.

결 과

1) 대장암 조직에서 *hMLH1*과 *hMSH2* 단백질의 면역조직화학적 발현

대장암 조직에서 *hMLH1*의 양성 발현은 83예(91.2%), 발현이 안된 경우는 8예(8.8%)였으며, *hMSH2*는 양성발현이 90예(98.9%), 발현이 안된 경우는 1예(1.1%)로 총 91

예 중 *hMLH1* 또는 *hMSH2* 중 하나라도 발현이 안된 경우인 MSI 양성은 9예(9.9%)였고, *hMLH1*과 *hMSH2* 모두 발현이 된 경우인 MSI 음성은 82예(90.1%)였으며, *hMLH1*과 *hMSH2* 모두 발현이 안된 경우는 없었다(Table 1)(Fig. 1).

종양의 장벽침범 정도와 분화도에 따라 MSI 발현의 차이를 보였는데 T3에서는 85예 중 6예(7.1%), T4에서는 6예 중 3예(50%)로 T3보다 T4에서 MSI 양성인 예가 많았다(P=0.012). 종양의 분화도에 따라서는 고분화암과 중분화암에서는 68예 중 4예(5.6%), 저분화암, 점액암 및 인환세포암에서는 14예 중 5예(26.3%)로 세포의 분화도가

Table 1. The immunohistochemical expression of *hMLH1* and *hMSH2* in colon cancers (n=91)

Stain	<i>hMLH1</i>	<i>hMSH2</i>
Positive	83 (91.2%)	90 (98.9%)
Negative	8 (8.8%)	1 (1.1%)

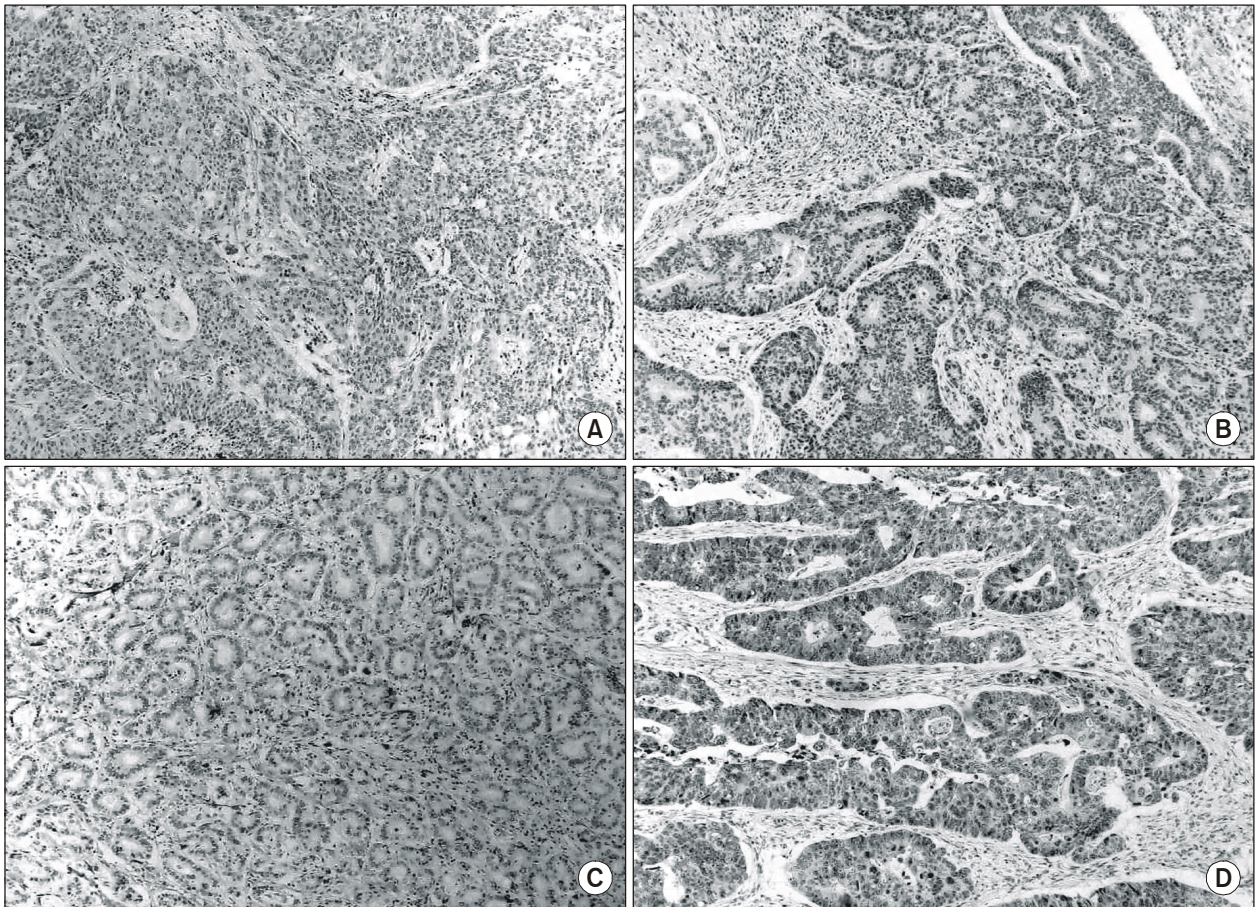


Fig. 1. *hMLH1* and *hMSH2* immunohistochemical stain in colon cancer. (A) negative for *hMLH1*. (B) positive for *hMLH1*. (C) negative for *hMSH2*. (D) positive for *hMSH2* (×40).

나쁠수록 MSI 양성인 예가 많았다(P=0.017). 그러나 나이, 성별, 술 전 혈청 암태아성 항원(CEA)치, 암종의 위치, 육안소견, 림프절 침범정도 및 재발유무에 따른 MSI의 발현은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2).

2) hMLH1과 hMSH2 단백질발현에 따른 생존분석

MSI 발현에 따른 5년 무병 생존율은 MSI 양성군이 69.5%로 MSI 음성군 77.9%보다 낮았지만 통계적 의미는 없었다(Fig. 2). 다른 병리조직학적 인자로는 술 전 혈청 암태아성 항원의 수치가 낮은 군이 높은 군보다 5년 무병 생존율이 높았으며(P=0.0132) 종양의 림프절 침범이 적은 N1군이 N2군보다 5년 무병 생존율이 높았다(P=0.0148) (Fig. 3). 그 외 연령, 성별, 종양의 장벽침범 정도, 분화도,

대장에서의 위치 등의 인자는 5년 무병 생존율의 차이가 없었다.

MSI 발현의 예후인자로서의 가치를 평가하기 위하여 hMLH1이나 hMSH2 단백질발현을 포함하여 연령, 성별, 술 전 혈청 암태아성 항원치, 종양의 장벽침범 정도, 림프절 침범 정도, 분화도, 위치 등 기존의 예후인자들과 함께 다변량 분석을 실시하였다. 5년 무병 생존율에 영향을 미치는 인자로는 종양의 림프절 침범 정도(P=0.0019) 와 술 전 혈청

Table 2. Clinicopathological characteristics of colon cancers according to the expression of hMLH1 and hMSH2 (n=91)

Variables	MSI -	MSI +	P-value
Sex			ns
Male	44 (53.7%)	5 (55.6%)	
Female	38 (46.3%)	4 (44.4%)	
Age (years)			ns
<40	11 (13.4%)	3 (33.3%)	
≥40	71 (86.6%)	6 (66.7%)	
CEA (ng/ml)			ns
<5	58 (70.7%)	6 (66.7%)	
≥5	24 (29.3%)	3 (33.3%)	
Tumor location			ns
Rt. Colon*	42 (51.2%)	4 (44.4%)	
Lt. Colon†	40 (48.8%)	5 (55.6%)	
T stage			0.012
T3	79 (96.3%)	6 (66.7%)	
T4	3 (3.7%)	3 (33.3%)	
N stage			ns
N1	54 (65.9%)	5 (55.6%)	
N2	28 (34.1%)	4 (44.4%)	
Cell differentiation			0.017
WD+MD	68 (82.9%)	4 (44.4%)	
PD+MUC+SRC	14 (17.1%)	5 (55.6%)	
Recurrence			ns
Yes	25 (30.5%)	2 (22.2%)	
No	57 (69.5%)	7 (77.8%)	

ns = not significant; CEA = preoperative serum carcinoembryonic antigen level; \*Rt. Colon = splenic flexure proximal colon; † Lt. colon = splenic flexure distal colon except rectum; WD = well differentiated; MD = moderately differentiated; PD = poorly differentiated; MUC = mucinous adenocarcinoma; SRC = signet ring cell carcinoma.

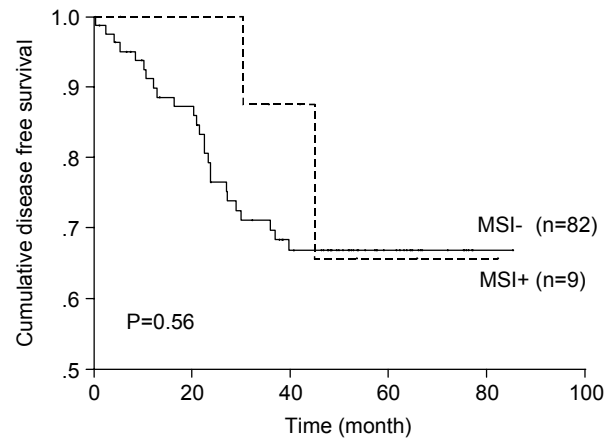


Fig. 2. Disease-free survival according to MSI status (n=91).

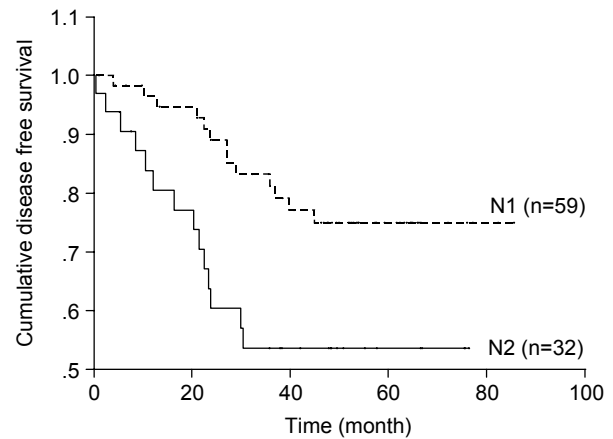


Fig. 3. Disease-free survival according to lymph node stage (n=91).

Table 3. Cox regression analysis as prognostic factors of disease-free survival in colon cancer

Variables	Odd ratio	95% CI	P value
CEA level	3.3317	1.3046~8.5082	0.0217
Lymph node status	3.1714	1.4197~7.0843	0.0049

암 태아성 항원치(P=0.0247)가 통계적으로 의미 있는 인자였고, 나머지 인자들은 통계적 의미가 없었다(Table 3).

## 고 찰

본 연구는 3기 결장암 환자에 국한하여 시행하였다. 3기 결장암의 경우 진행성 암인 동시에 치료적 수술이 가능하기 때문에 수술 후 보조화학요법의 효과를 예측하기 위한 가장 좋은 모형이라고 판단하였다. 또한 직장암의 경우 본원에서는 수술 후 보조화학요법뿐만 아니라 대부분 방사선 치료도 병행하기 때문에 보조화학요법의 효과를 정확히 입증할 수 없어 제외하였다.

유전체가 안정성을 유지하기 위해서는 DNA의 복제, 수정 및 재조합과정의 고유한 기능이 요구되며 여기에 과오수정유전자가 DNA 중합효소교정을 벗어나는 복제실수의 교정에 중요한 역할을 한다.<sup>7</sup> 복제 후 과오수정유전자의 첫번째 역할은 새로이 합성된 DNA 가닥의 microsatellite 같이 단순히 반복되는 구조에서 주로 일어나는, 염기/염기 불일치, 삽입/결손 같은 중합효소실수를 제거하는 것이다. 이 과정은 복제실수가 포함된 DNA 가닥의 분해, 수정 그리고 합성의 세 단계로 이루어진다. 염기/염기 불일치와 삽입/결손의 인식은 우선적으로 hMutSa (hMSH2 and hMSH6)에 의해 이루어지면 다음으로 hMutSβ (hMSH2 and hMSH3)가 복구과정을 시작하게 된다.<sup>8</sup> 이와 같이 DNA의 복제실수를 교정하는 유전자에 이상이 초래되면 비정상적인 세포성장과 종양이 발생하게 된다.<sup>9</sup>

과오수정유전자 돌연변이는 종양에서 microsatellite instability (MSI)로 표현되므로 현재 과오수정유전자의 돌연변이를 확인하는 가장 일반적인 방법은 분자생물학적인 MSI 검사이나<sup>2</sup> 이 방법은 비용과 시간이 많이 소요되어 실제 임상에서 이용하기에 약간의 제한이 있다. 과오수정유전자 돌연변이 중에는 hMLH1과 hMSH2의 gene mutation이나 promoter methylation에 의한 expression의 결핍이 가장 흔하며 타 유전자는 상대적으로 아주 드물게 나타난다.<sup>10</sup> 최근 hMLH1과 hMSH2의 단백질 생성물에 대한 항체가 개발되어 상업적으로 사용 가능하게 되면서 상대적으로 시간과 비용이 저렴한 면역조직화학적 방법이 도입되었다.<sup>11</sup> Lindor 등<sup>12</sup>은 종양의 MSI 상태와 hMLH1과 hMSH2의 단백질 생성물에 대한 면역조직화학적 염색법을 비교하여 면역조직화학적 방법이 100%의 특이도와 92.3%의 민감도를 보여 과오수정유전자의 선별검사로 임상적으로 유용한 방법이라고 보고하였다. 다른 연구에서는 민감도가 75~100%로 다양하게 보고되기도 하지만<sup>13-15</sup> 임상적으로 쉽게 적용할 수 있고 비교적 정확한 방법이

라 판단되어 본 연구에서도 과오수정유전자의 결핍을 확인하는 방법으로 hMLH1과 hMSH2의 단백질 생성물에 대한 면역조직화학적 염색법을 시행하였다. 결과적으로 MSI 양성인 예는 9예(9.9%)로 타 연구들의 10% 내외와 큰 차이는 없었다.<sup>16</sup>

MSI 양성 종양의 경우 주로 우측 대장에 잘 발생하고 상대적으로 젊은 연령에서 그리고 여자에게서 더 많이 발생하는 것으로 보고되고 있으며 예후도 더 좋은 것으로 보고되고 있다.<sup>17,18</sup> 본 연구에서는 종양의 위치나 연령, 성별에 따른 차이는 없었으며 예후도 MSI 상태와는 관련이 없는 것으로 나타났다. 그러나 본 연구에서는 대장암에서 상대적으로 높은 빈도를 보이는 직장암을 제외하였기 때문에 타 연구들과 단순비교는 무리가 있을 것으로 보인다. MSI 양성 종양의 병리학적 특징은 유전성 비용종증 대장암의 특징과 유사하게 나타나는데, 종양이 주로 바깥으로 자라고 크기가 크며, 분화도가 나쁘고, 세포외로 점액을 분비하는 경향이 많으며, 크론씨병에서와 같은 림프모양의 반응을 보이는 것으로 알려져 있다.<sup>17,19</sup> 그러나 가족력을 완전히 제외한 한 연구에서는 MSI 상태에 따른 병리학적 차이는 없다는 보고도 있다.<sup>10</sup> 본 연구에서는 가족력을 배제하였어도 MSI 양성인 경우 분화도가 나쁜 예가 많은 것으로 나타났다.

MSI 양성 종양의 경우 종양의 크기가 더 크고 분화도도 더 나쁜 경향이 있지만 예후는 더 좋은 것으로 보고되고 있는데<sup>18,20</sup> 이는 정확한 기전은 잘 모르지만 세포 유전체 내에 축적된 여러 돌연변이의 자가파괴효과(self-destructive effect)로 설명하고 있다. 즉 돌연변이 단백질이 세포막으로 전달되어 종양에 대한 면역반응을 촉발시킨다고 한다.<sup>7</sup> 그러나 일부 보고에서는 종양의 MSI 상태에 따른 생존율의 차이는 없다고 한다.<sup>10</sup> 본 연구에서도 5년 무병생존율에는 MSI 상태에 따른 차이는 없었다.

항암제 감수성에 관련된 과오수정 유전자의 주된 작용은 아직 확실히 밝혀지진 않았지만 복제실수뿐만 아니라 DNA 내 여러 종류의 adducts를 인식하여 결합함으로써 DNA 손상을 찾아내는 것으로 알려져 있다.<sup>1</sup> 과오수정 유전자 단백질 MutSa가 O<sup>6</sup>-methylguanine과 1,2-cisplatin intrastrand crosslinks와 같은 DNA 손상부위를 인식하여 결합하게 되고, 이 부위에 MutLa가 결합하여 복합체를 이루게 된다.<sup>21,22</sup> 이 과정은 결국 손상된 DNA를 수정하거나 더 이상 복제를 못하고 세포사멸 과정으로 진행하게 된다.<sup>23</sup> Doxorubicin (adriamycin)과 같은 topoisomerase II 길항제의 경우 과오수정 유전자가 항암제와 topoisomerase II가 결합하여 형성된 cleavable complex를 인식하는 역할을 한다.<sup>24</sup> MNU, MNNG, procarbazine, temozolomide

등과 같은 methylating agents는 DNA 내에서 다양한 adducts를 형성하는데, 과오수정 유전자가 alkylated guanine을 직접적으로 인식하지는 못하지만, 다음 DNA 복제 과정 동안 0<sup>6</sup>-methylguanine에 cytosine이 아닌 thymine이 잘못 결합하여 발생하는 0<sup>6</sup>-methylguanine-thymine mispair를 인식하게 된다. 과오수정 유전자는 thymine-containing strand를 절단하고 thymine과 주위 염기들을 제거한 다음 과오수정 합성을 통해 제거된 부분을 채우게 된다.<sup>25</sup> 과오수정 유전자의 소실은 이러한 DNA 수정과정을 수행하지 못함으로 인해 MNU와 MNNG와 같은 methylating agents들에 대해서도 내성을 나타내게 된다.<sup>21</sup>

*In vitro* 연구에서 5-fluorouracil이 과오수정 유전자의 발현이 잘 안 되는(MMR-deficient) 암 세포주보다 발현이 잘 되는(MMR-proficient) 암 세포주에서 세포독성이 더 강하다고 하며 이들은 타 약제에서와 같은 세포주기의 변화는(G2/M cell cycle arrest) 관찰하지 못하였지만 다른 어떤 기전에 의해 내성을 갖는다고 주장하였다.<sup>45</sup> 그러나 수술 후 보조화학요법으로 5-fluorouracil을 사용한 경우 MSI 양성인 군이 MSI 음성인 군보다 예후가 더 좋다는 보고도 있다.<sup>6</sup> 본 연구에서는 양 군 사이에 생존율의 차이가 없어 MSI 양성인 군이 예후가 더 좋은 것은 아니며 약제에 대한 반응의 차이도 없는 것으로 보았다.

## 결 론

본 연구는 임상에서 종양의 절제수술 후 비교적 간단한 검사로 항암치료에 대한 반응과 예후를 예측하기 위해 대장암에서 hMLH1과 hMSH2 단백질발현 여부를 면역조직화학적 검사로 알아보고 항암치료 후 치료 결과를 비교하고 다른 예후인자들과의 상관관계를 알아보았다. 결장암에서 hMLH1과 hMSH2 단백질발현(MSI 음성)은 90.1%였고 발현되지 않은 예(MSI 양성)는 9.9%였다. hMLH1과 hMSH2 단백질발현 여부와 항암치료 후 재발과의 차이는 없어 대장암의 수술 후 보조치료로서 5-fluorouracil과 leucovorin의 사용은 과오수정 유전자 결함의 영향을 받지 않을 것으로 보이며, 종양의 장벽침범 정도와 분화도와는 관계가 있는 것으로 나타나 과오수정 유전자가 대장암의 전체 진행과정에 관여하여 증식과 탈분화에는 영향을 미치는 것으로 여겨진다.

## REFERENCES

1. Fink D, Aebi S, Howell SB. The role of DNA mismatch repair in drug resistance. *Clin Cancer Res* 1998;4:1-6.
2. Thomas DC, Umar A, Kunkel TA. Microsatellite instability and mismatch repair defects in cancer. *Mutat Res* 1996;350:201-5.
3. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993;260:816-9.
4. Meyers M, Wagner MW, Hwang HS, Kinsella TJ, Boothman DA. Role of the hMLH1 DNA mismatch repair protein in fluoropyrimidine-mediated cell death and cell cycle responses. *Cancer Res* 2001;61:5193-201.
5. Carethers JM, Chauhan DP, Fink D, Nebel S, Bresalier RS, Howell SB, et al. Mismatch repair proficient and vitro response to 5-fluorouracil. *Gastroenterology* 1999;117:123-31.
6. Elsaleh H, Joseph D, Grieu F, Zeps N, Spry N, Iacopetta B. Association of tumour site and sex with survival benefit from adjuvant chemotherapy in colorectal cancer. *Lancet* 2000;355:1745-50.
7. Hemminki A, Mecklin JP, Jarvinen H, Aaltonen LA, Joensuu H. Microsatellite instability is a favorable prognostic indicator in patients with colorectal cancer receiving chemotherapy. *Gastroenterology* 2000;119:921-8.
8. Jiricny J. Replication errors: cha(lle)nging the genome. *EMBO J* 1998;17:6427-36.
9. Boland CR. Roles of the DNA mismatch repair genes in colorectal tumorigenesis. *Int J Cancer* 1996;69:47-9.
10. Senba S, Konishi F, Okamoto T, Kashiwagi H, Kanazawa K, Miyaki M, et al. Clinicopathologic and genetic features of nonfamilial colorectal carcinomas with DNA replication errors. *Cancer* 1998;82:279-85.
11. Chaves P, Cruz C, Lage P, Claro I, Cravo M, Leitao CN, et al. Immunohistochemical detection of mismatch repair gene proteins as a useful tool for the identification of colorectal carcinoma with the mutator phenotype. *J Pathol* 2000;191:355-60.
12. Lindor NM, Burgart LJ, Leontovich O, Goldberg RM, Cunningham JM, Sargent DJ, et al. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors. *J Clin Oncol* 2002;20:1043-8.
13. Dieumegard B, Grandjouan S, Sabourin JC, Le Bihan ML, Lefrere I, Bellefqih, et al. Extensive molecular screening for hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000;82:871-80.
14. Cawkwell L, Gray S, Murgatroyd H, Sutherland F, Haine L, Longfellow M, et al. Choice of management strategy for colorectal cancer based on a diagnostic immunohistochemical test for defective mismatch repair. *Gut* 1999;45:409-15.
15. 강재희, 이길연, 이기형, 윤 충, 오수명, 이주희. 산발성 대장암에서 hMLH1/hMSH2의 발현 양상과 임상적 의의. *대한대장항문학회지* 2001;17:38-46.
16. Bubb VJ, Curtis LJ, Cunningham C, Dunlop MG, Carothers AD, Morris RG, et al. Microsatellite instability and the role of hMSH2 in sporadic colorectal cancer. *Oncogene* 1996;12:2641-9.

17. Kim H, Jen J, Vogelstein B, Hamilton SR. Clinical and pathological characteristics of sporadic colorectal carcinomas with DNA replication errors in microsatellite sequences. *Am J Pathol* 1994;145:148-56.
  18. Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000;342:69-77.
  19. Mecklin JP, Sipponen P, Jarvinen HJ. Histopathology of colorectal carcinomas and adenomas in cancer family syndrome. *Dis Colon Rectum* 1986;29:849-53.
  20. 정재영, 박동국, 신지현. 산발성 대장암 조직에서의 hMSH2, hMLH1 단백질발현. *대한대장항문학회지* 1998;14:709-18
  21. Duckett DR, Drummond JT, Murchie AI, Reardon JT, Sancar A, Lilley DM, et al. Human MutSalpha recognizes damaged DNA base pairs containing O6-methylguanine, O4-methylthymine, or the cisplatin-d (GpG) adduct. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:6443-7.
  22. Yamada M, O'Regan E, Brown R, Karran P. Selective recognition of a cisplatin-DNA adduct by human mismatch repair proteins. *Nucleic Acids Res* 1997;25:491-6.
  23. Brown R, Hirst GL, Gallagher WM, McIlwrath AJ, Margison GP, van der Zee AG, et al. hMLH1 expression and cellular responses of ovarian tumour cells to treatment with cytotoxic anticancer agents. *Oncogene* 1997;15:45-52.
  24. Chen AY, Liu LF. DNA topoisomerases: essential enzymes and lethal targets. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1994;34:191-218.
  25. Griffin S, Branch P, Xu YZ, Karran P. DNA mismatch binding and incision at modified guanine bases by extracts of mammalian cells: implications for tolerance to DNA methylation damage. *Biochemistry* 1994;33:4787-93.
-