

## 상피성 난소 종양의 p53, c-myc, TGF- $\alpha$ 와 TGF- $\beta$ 의 발현

고신대학교 의학부 병리학교실

이 재 화 · 김 영 옥 · 허 만 하

### Expression of p53, c-myc, Transforming Growth Factor- $\alpha$ and - $\beta$ in Human Epithelial Ovarian Tumors

Jae Hwa Lee, M.D., Young Ok Kim, M.D. and Man-Ha Huh, M.D.

Department of Pathology, Kosin University Medical College, Korea

The author examined expression of tumor-related antigens, such as p53 tumor suppressor protein, c-myc, TGF- $\alpha$ , and TGF- $\beta$  proteins in 75 cases of surgically resected epithelial ovarian tumors. Peroxidase immunohistochemistry was used to determine the frequency of expression, the relationship among expression of these antigens and histopathological spectrums, and clinical stage, and their potential prognostic significance. The results are summarized as follows.

A positive correlation was found between expression of p53(P=0.02), c-myc(P=0.03), and TGF- $\alpha$ (P=0.001) and histological degrees of malignancy(benign, borderline, or malignant) in epithelial ovarian tumors. A significant correlation was found between expression of p53 and histological degrees of malignancy in serous ovarian tumors(P=0.003) and mucinous tumors (P=0.049). A significant correlation was also found between expression of c-myc and the histological grade of serous carcinomas(P=0.02). A correlation between expression of these antigenic proteins and clinical stage of epithelial ovarian tumors was not demonstrated. Expression of p53 and c-myc was closely correlated with expression of TGF- $\alpha$  irrespective of the histological degrees of malignancy and type of epithelial ovarian tumors( $0.4 \leq K \leq 0.7$ ).

The results of this study support the ideas that expression of c-myc and TGF- $\alpha$  might be a useful prognostic indicator in human ovarian carcinomas, and expression of p53 could be another indicator of prognosis, as the expression of p53 is characteristic in that the expression is mostly seen in invasive ovarian carcinomas. (*Korean J Pathol* 1996; 30: 23~31)

**Key Words:** Epithelial ovarian tumor, p53, c-myc, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , Immunohistochemistry

서 론

난소의 상피성 종양은 자궁경부암, 자궁내막암과 함께 부인과 영역의 3대 암종의 하나로서, 이 종양의 생물학적인 동태를 밝히기 위한 임상-병리학적인 검색 및 분자생물학적인 측면에서의 연구가 이루어지고 있다<sup>1,2</sup>. 난소종양의 예후를 결정하는데에는 나이, 병기, 치료반응등의 임상적 인자뿐만 아니라 조직학적 유형, 악성도, 분화도 및 임상병기에 따른 통계학적 유의성을 분석함으로써 이들 항원의 발현이 예후인자로서 가치가 있는지를 검증하고, 아울러 상피성 난소 종양의 병리학적 성격의 일면을 이해하는데 도움을 얻고자 본 연구를 시행하였다.

최근 악성 종양의 발생과 종양억제 유전자인 p53의 돌연변이 유전자의 표현과의 관계가 검토되고 있으며, 실제로 대장암, 유방암, 폐암 및 자궁내막암 등의 악성 종양에서 발현되는 것으로 보고되어 있다<sup>3-9</sup>. 난소암종에 대한 p53의 조사는 몇몇 연구자에 의해 보고된 바 있으나<sup>10</sup>, 양성 및 경계영역을 포함한 상피성 난소 종양 전반에 대한 면역조직화학적 연구는 접하기 힘들며 이에 대한 연구와 검증이 요구되고 있다.

이에 본 저자들은 종양억제 유전자 p53과 원암유전자의 일종인 c-myc 및 TGF- $\alpha$ (Transforming Growth Factor- $\alpha$ , 형질전환 성장인자- $\alpha$ ), TGF- $\beta$ (Transforming

Growth Factor- $\beta$ , 형질전환 성장인자- $\beta$ )의 상피성 난소종양 세포내 발현 빈도와 이들 유전자 발현의 상호 관련성을 조사하고, 상피성 난소 종양의 병리 조직학적 유형, 악성도, 분화도 및 임상병기에 따른 통계학적 유의성을 분석함으로써 이들 항원의 발현이 예후인자로서 가치가 있는지를 검증하고, 아울러 상피성 난소 종양의 병리학적 성격의 일면을 이해하는데 도움을 얻고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1988년 1월부터 1993년 3월까지 고신의료원 및 세강병원 해부병리과에서 외과적으로 절제된 상피성 난소종양 조직 중 대표적인 75예의 파라핀 포매 조직을 연구재료로 선정하였다. 악성종양의 임상적 병기는 FIGO(International Federation of Gynecology and Obstetrics)분류법<sup>11</sup>에 따라 4기로 분류하였으며, 병기별 분포는 1기 11예(34.4%), 2기 5예(15.6%), 3기 12예(37.5%), 4기가 4예(12.5%)였다. 환자의 연령은 17세부터 72세(평균 49세)였다.

2. 병리조직학적 검색

외과적으로 절제된 상피성 난소종양 조직을 10% 중성포르말린 용액에 24시간 고정한 후 동상의 조직표본 제작법에 따라 탈수, 투명, 침투의 과정을 거친후, 파라핀에 포매하고 4~5  $\mu$ m의 두께로 마절

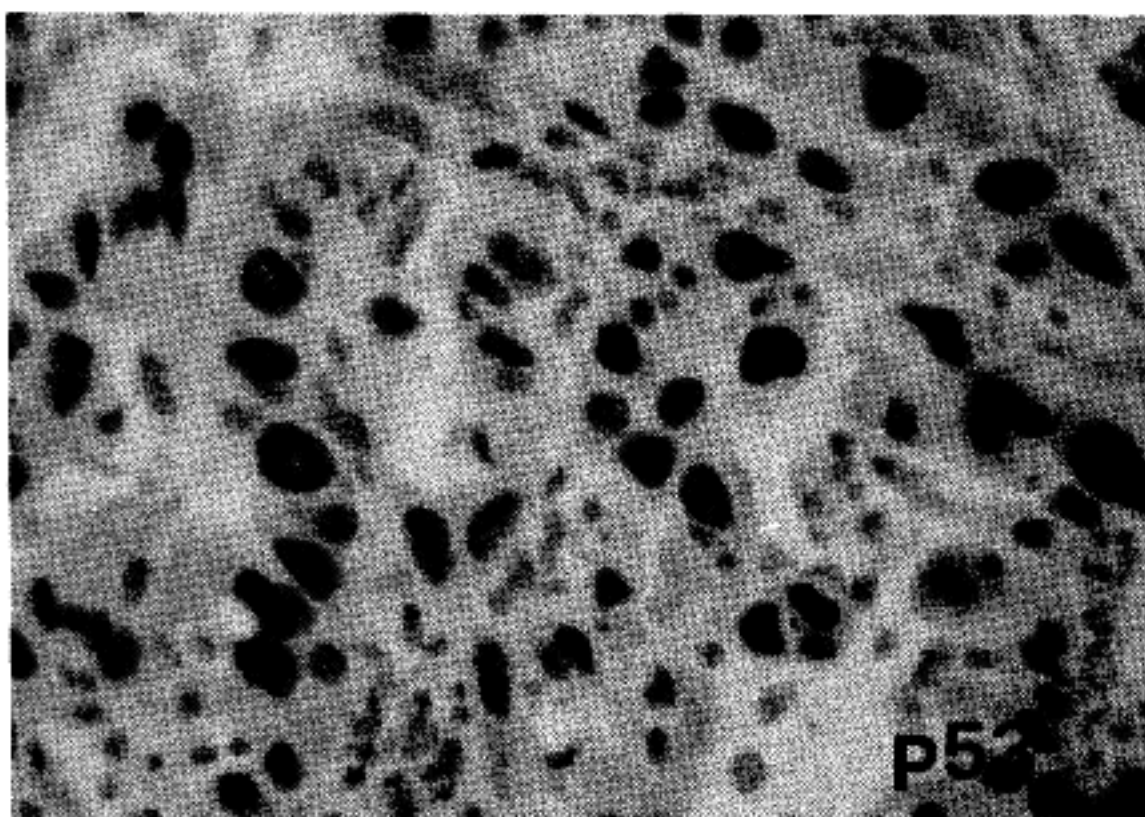


Fig. 1. Intense nuclear reactivity for p53 is seen in tumor cells of grade III serous carcinoma.

한 후 hematoxylin-eosin염색을 시행하였고 광학현미경 하에서 검경하였다. 각 증례는 WHO 분류법<sup>12</sup>에 의하여 크게 장액성 종양, 점액성 종양으로 구분하고, 다시 양성 종양, 경계성 종양, 악성 종양으로 분류 하였다. 악성 종양의 분화도는 Hains and Taylor<sup>13</sup>의 기준에 따라, 1등급, 2등급, 3등급으로 분류 하였다. 상피성 난소 종양으로 진단되었던 75예의 재검 색결과 장액성 종양이 45예(60%), 점액성 종양이 30예(40%)였다. 장액성 종양중 양성 21예(46.6%), 경계

성 3예(6.7%), 악성종양은 21예(46.6%)이었으며, 점액성 종양 중 양성 12예(40.0%), 경계성 7예(23.3%), 악성 종양은 11예(36.6%)였다. 악성 종양의 분화도는 고분화 10예 (31.3%), 중분화 10예(31.3%), 저분화 12예(37.5%)였다.

### 3. 면역조직화학적 염색

1) 면역조직화학적 염색: 포르말린 고정과 파라핀 포매 블록을 4~5  $\mu$ m의 두께로 박절하고 60 $^{\circ}$ C 이하

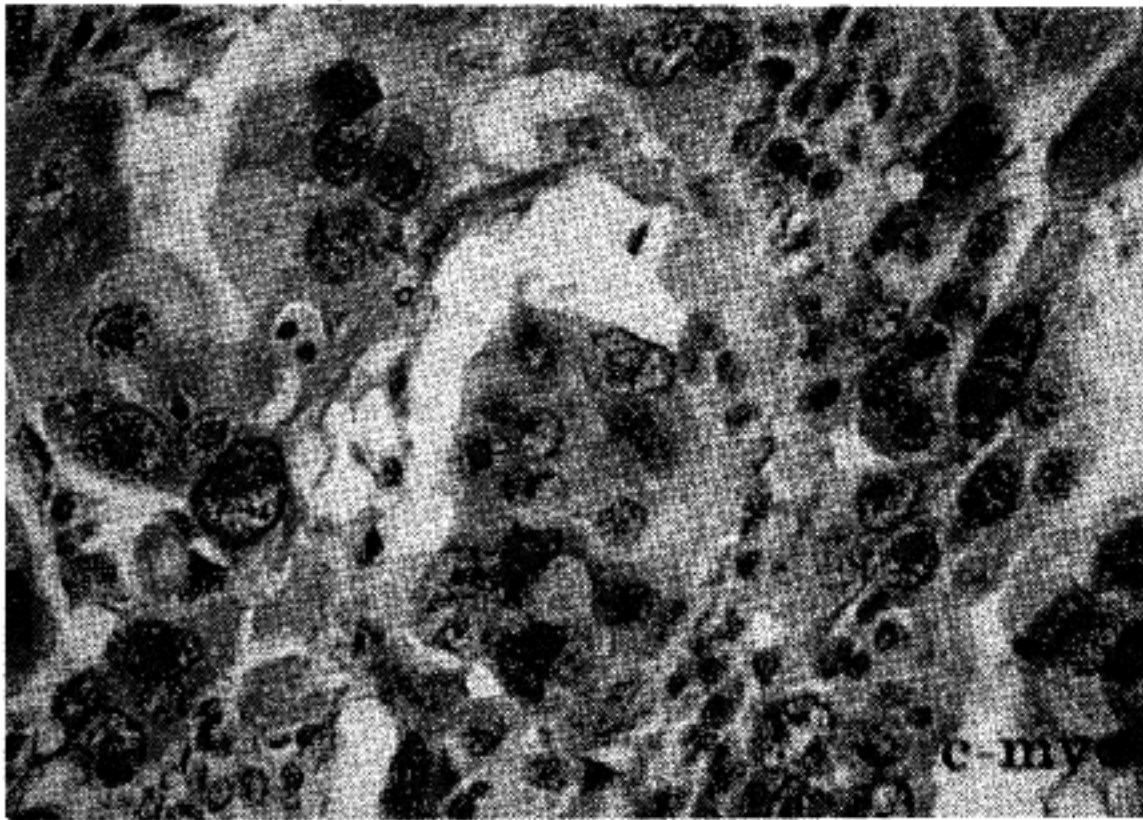


Fig. 2. Granular cytoplasmic reaction for c-myc is noted in grade III serous carcinoma.

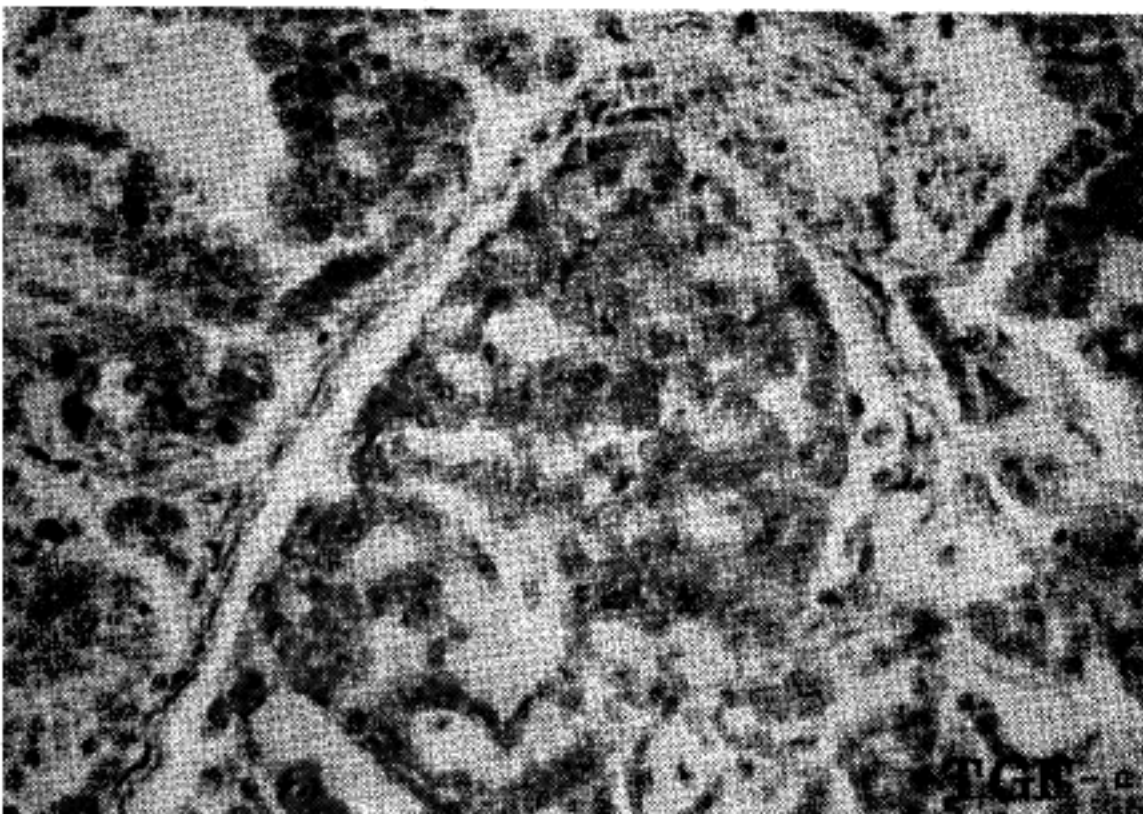


Fig. 3. In grade II mucinous carcinoma, granular cytoplasmic reaction of tumor cells for TGF- $\alpha$  is noted.



의 온도에서 건조 시키후 xylene에서 탈파라핀 과정을 거친 다음, 알코올에서 단계적으로 흡수한 후 각 항원에 대한 단일 클론 항체[ p53(clone DO7, Novocastra, Newcastle, UK), c-myc(Ab-1, clone 9E10, Oncogene Sciences, Manhasset, NY), TGF- $\alpha$ (Ab-2, clone 213-4.4, Oncogene Sciences, Manhasset, NY), TGF- $\beta$  (anti-TGF- $\beta$  1,2,3, Genzyme)]를 이용하여 avidin-biotin peroxidase complex(ABC)<sup>14</sup>법으로 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 각 단클론 항체의 양성대조군은 자궁근종 환자에서 적출된 정상 난소 조직을 이용하였으며, 음성대조군은 anti-mouse IgG(Bector)를 사용하였다.

2) 면역조직화학적 염색의 결과판정: 종양조직에서의 각 항원에 대한 양성반응의 유무는 대조군과 비교하여 검색하였으며 전 시야의 검경 범위에서의 5%이내의 국소적인 반응은 양성 반응에서 제외하였다. p53은 종양세포의 핵에서 분명한 갈색의 과립성 반응을 보일때(Fig. 1), 그리고 c-myc(Fig. 2), TGF- $\alpha$ (Fig. 3), 및 TGF- $\beta$ 은 종양세포의 세포질에서 미만성의 갈색과립을 보일 때를 양성으로 판독하였다.

#### 4. 통계학적 분석

본 연구에서는 SAS program으로  $\chi^2$  test를 실시하여 값이 0.05 이하인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 정하였다. 각 항원의 일치도는 kappa(K)값으로 제시하였으며,  $K > 0.7$ 인 경우는 상관성이 높은 것으로,  $0.4 \leq K \leq 0.7$ 인 경우 상관성이 있는 것으로,  $K < 0.4$ 인 경우 상관성이 없는 것으로 정하였다.

## 결 과

### 1. p53의 발현

45예의 장액성 난소 종양에서 p53은 양성 종양에서는 발현되지 않았으며, 경계성 종양 1예(33.3%), 악성 종양 8예(38.0%)에서 양성 반응을 보였고 악성도에 따른 장액성 난소 종양의 p53 발현은 통계학적으로 유의한 차이가 있었다( $P=0.003$ ). 30예의 점액성 난소 종양에서 양성 및 경계성 종양에서는 발현되지 않았으며 악성 종양 27.2%(3/11예)에서만 p53이 발현되어 장액성 난소 종양에서와 같이 유의성이 인정되었다( $P=0.049$ )(Table 2). 임상병기에 따른 p53의 발현은 1기 18.1%(2/11예), 2기 20.0%(1/5예), 3기 58.3%(7/12예), 4기 25.0%(1/4예)에서 관찰되었고, 통계학적 유의성은 없었다( $P=0.628$ )(Table 3).

### 2. c-myc의 발현

c-myc은 75예의 난소 종양중 양성 종양 39.3%(13/33예), 경계성 종양 90.0%(9/10예), 악성 종양 62.5%(20/32예)에서 양성 반응을 보여(Table 1), 종양의 악성도에 따른 c-myc의 표현은 통계학적 유의성이 있었다( $P=0.03$ ). 악성 장액성 종양에서는 고분화 20.0%(1/5예), 중분화 50.0%(3/6예), 저분화 80.0%(8/10예)에서 양성반응을 보여, 조직학적 분화도에 따른 c-myc 표현의 통계학적 유의성이 인정되었다( $P=0.02$ )(Table 2). 임상병기에 따른 c-myc의 발현은 1기 81.8%(9/11예), 2기 80.0%(4/5예), 3기 66.6%(8/12예), 4기 0%(0/4예)에서 관찰되었고, 통계학적 유의성은 없었다( $P=0.906$ )(Table 3).

Table 1. Relationship between histopathologic degree of malignancy and immunohistochemical reactivity of p53, c-myc, TGF- $\alpha$ , and TGF- $\beta$  in epithelial ovarian tumors

Antigen Diagnosis	p53 Reactivity	c-myc Reactivity	TGF- $\alpha$ Reactivity	TGF- $\beta$ Reactivity
Serous tumor				
Benign	0/21( 0 %)	11/21( 52.3%)	7/21( 33.3%)	6/21( 28.5%)
Borderline	1/ 3( 33.3%)	3/ 3(100 %)	3/ 3(100 %)	1/ 3( 33.3%)
Malignancy	8/21( 38.0%)	12/21( 57.1%)	16/21( 76.1%)	5/21( 23.8%)
Mucinous tumor				
Benign	0/21( 0 %)	2/12( 16.6%)	4/12( 33.3%)	3/12( 25.0%)
Borderline	0/ 7( 0 %)	6/ 7( 85.7%)	4/ 7( 57.1%)	1/ 7( 14.2%)
Malignancy	3/11( 27.2%)	8/11( 72.7%)	9/11( 81.8%)	5/11( 45.4%)

**Table 2.** Relationship between histopathologic grade and immunohistochemical reactivity of p53, c-myc, TGF- $\alpha$ , and TGF- $\beta$  in malignant ovarian epithelial tumors

Antigen Histopathologic grade	p53 Reactivity	c-myc Reactivity	TGF- $\alpha$ Reactivity	TGF- $\beta$ Reactivity
<b>Serous carcinoma</b>				
Grade I	1/ 5( 20.0%)	1/ 5( 20.0%)	3/ 5(60.0%)	1/ 5(20.0%)
Grade II	2/ 6( 33.3%)	3/ 6( 50.0%)	4/ 6(66.6%)	2/ 6(33.3%)
Grade III	5/10( 50.0%)	8/10( 80.0%)	8/10(80.0%)	2/10(20.0%)
<b>Mucinous carcinoma</b>				
Grade I	1/ 5( 20.0%)	4/ 5( 80.0%)	5/ 5(100 %)	2/ 5( 40.0%)
Grade II	2/ 4( 50.0%)	2/ 4( 50.0%)	2/ 4( 50.0%)	3/ 4( 75.0%)
Grade III	0/ 2( 0 %)	2/ 2(100 %)	2/ 2(100 %)	0/ 2( 0 %)

**Table 3.** Relationship between clinical stage and immunohistochemical reactivity of p53, c-myc, TGF- $\alpha$ , and TGF- $\beta$  in malignant epithelial ovarian tumors

Antigen	Stage			
	I Reactivity	II Reactivity	III Reactivity	IV Reactivity
p53	2/11(18.1%)	1/5(20.0%)	7/12(58.3%)	1/4( 25.0%)
c-myc	9/11(81.8%)	4/5(80.0%)	8/12(66.6%)	0/4( 0 %)
TGF- $\alpha$	9/11(81.8%)	2/5(40.0%)	10/12(83.3%)	4/4(100 %)
TGF- $\beta$	3/11(18.1%)	2/5(40.0%)	3/12(25.0%)	2/4( 50.0%)

**3. TGF- $\alpha$ 의 발현**

75예중 양성 종양 33.3%(11/33예), 경계성 종양 70.0%(7/10예), 악성 종양 78.0%(25/32예)에서 양성반응을 보여(Table 1), 상피성 난소 종양의 악성도에 따른 TGF- $\alpha$ 의 발현은 통계학적으로 의미있는 차이를 보였다(P=0.001). 장액성 및 점액성 난소 암종의 분화도에 따른 TGF- $\alpha$  발현의 의미있는 차이는 없었다(P=0.97, P=0.588)(Table 2). 임상병기에 따른 TGF- $\alpha$ 의 발현은 1기 81.8%(9/11예), 2기 40.0%(2/5예), 3기 83.3%(10/12예), 4기 100%(4/4예)에서 관찰되었고, 통계학적 유의성은 없었다(P=0.867).

**4. TGF- $\beta$ 의 발현**

75예 중 양성 종양 27.3%(9/33예), 경계성 종양 20.0%(2/10예), 악성 종양 31.3%(10/32예)에서 양성 반응을 보였고(Table 1), TGF- $\beta$ 의 발현과 상피성 난소 종양의 악성도와는 통계학적으로 유의성이 없었다

**Table 4.** Correlaiton between expression of p53, c-myc, TGF- $\alpha$ , and TGF- $\beta$  (kappa value<sup>†</sup>)

	p53	c-myc	TGF- $\alpha$
c-myc	0.14		
TGF- $\alpha$	0.42	0.43	
TGF- $\beta$	0.33	0.38	0.05

† kappa value(K), K>0.7: excellent correlation  
0.4≤K≤0.7: good correlation, K<0.4: poor correlation

(P=0.725). 아울러 장액성 및 점액성 악성종양에 있어서 분화도에 따른 의미있는 차이도 없었다(P=0.907, P=0.624)(Table 2). 임상병기에 따른 TGF- $\beta$ 의 발현은 1기 27.2%(3/11예), 2기 40.0%(2/5예), 3기 25.0%(3/12예), 4기 50.0%(2/4예)에서 관찰되었고, 통계학적 유의성은 없었다(P=0.733).

### 5. 각 항원간의 상관 관계

상피성 난소 종양에서 조직학적 악성도 및 분화도에 상관없이 각 항원 간의 K 값은 c-myc와 TGF- $\alpha$ 는 0.43, p53와 TGF- $\alpha$ 는 0.42로서 의미있는 일치도를 보였다.

## 고 찰

난소 상피성 종양의 예후에는 병리조직학적 유형, 악성도 및 임상병기등이 중요한 요소로서 인정되고 있으며<sup>3~5</sup> 대장암, 유방암등을 비롯한 인체의 다른 몇몇 악성 종양에서와 같이 c-myc등의 원암유전자 또는 p53 종양억제 유전자, 그리고 여러가지의 성장인자등이 예후추정의 보조 수단으로 사용하려는 시도가 있다<sup>15~17</sup>. 그러나 난소 상피성 종양에서 이들 유전자 산물 및 성장인자의 표현에 관한 국내연구는 접하기 어렵다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하는 53-kd nuclear phosphoprotein으로 세포주기의 S-phase 동안에 핵내에 축적되며, DNA 손상이 있을 경우 세포분열을 정지시키고 유전자의 손상이 있는 유전자 복제를 차단시킨다고 알려져 있다<sup>19</sup>. 난소 암종에서의 면역조직화학적 염색에 의한 p53 발현 빈도에 관한 연구는 최근에 많이 진행되고 있으며, 보고자에 따라 36~92%까지 다양하게 기술되고 있다<sup>20,21</sup>. 본 검색에서는 34.2%(11예/32예)로서 Porter등<sup>20</sup>을 비롯한 몇몇 연구자들<sup>22,23</sup>의 보고(71%, 80%)에 비해 상대적으로 낮은 빈도를 보였으나, Mazars등<sup>21</sup>(36%)의 보고와 유사하였다. 이러한 결과는 조직의 고정 방법, 보존상태, 항체의 희석농도 및 연구자의 판독 기준에 따른 차이일 것으로 생각된다.

조직학적 유형에 따른 p53의 발현은 점액성 종양보다 장액성 종양에서 보다 흔히 발현된다고 하나<sup>17</sup>, 이는 아마도 장액성 종양이 비교적 악성도가 높은 점에 기인하는 것으로 추정된다. 본 검색에서는 통계학적인 유의성은 없었으나 점액성 난소 암종에서 27.2%(3/11예), 장액성 난소 암종에서 38.0%(8/21예)로서 장액성 암종에서 다소 높게 나타났다.

난소 암종에 있어서의 p53 유전자의 돌연변이는 임상병기에 관계없이 관찰되기 때문에 종양발생의 초기단계의 유전자 변화의 표현으로서 중요성이 강조되었으며<sup>15,24</sup>, 이러한 점은 Marks등<sup>25</sup>에 의해서 재확인된 바 있다. 특히 Marks등<sup>25</sup>은 조직학적 분화도와도 관련이 없으며 단지 말기 병변 종양세포의 비배수체(aneploidy)와 관련이 있는 것으로 주장하였

다. 그러나 Teneriello등<sup>26</sup>에 의하면 p53의 발현은 말기의 난소암종과 관련이 있을 뿐만 아니라 저악성도의 난소암종과 침습성 악성 난소암종과 구별될 수 있는 표지자로서의 p53의 역할을 제시한 바 있다. 본 검색에서 임상병기에 따라 p53의 발현에 있어 의미있는 증가가 없는 점은 Teneriello등<sup>26</sup>의 보고와는 상반된 결과이지만 양성과 경계성 종양에서는 p53이 거의 발현되지 않고 악성 종양세포에서 발현되는 점은 일치되었다. 하지만 난소암의 악성종양 세포에서만 p53이 발현된다는 것에 대한 보고된 문헌이 드물고 연구자들에 따라 상반된 견해가 있기 때문에 아직까지는 p53이 저악성과 침습성 악성종양을 구별할 수 있는 완전한 표지자라고 단정할 수는 없으며, 이에 대한 추가적인 연구와 검증이 있어야 할 것으로 생각된다. 또한 Porter등<sup>20</sup>은 극히 일부이기는 하나 난소의 양성 종양에서도 p53의 발현을 관찰하고, 이를 양성병변내에 잠재된 악성 세포군이라는 점을 주장한 바 있다. 본 검색에서는 33예의 양성 종양에서는 p53이 발현되지 않았지만, 10예의 경계성 종양 중 1예(10%)에서 양성 반응을 보여 Porter등<sup>20</sup>의 결과와 일치되는 소견을 보였다. 또한 임상병기 및 조직학적 분화도와 상관성은 통계학적으로 유의성이 없었다(Table 1).

c-myc유전자는 20~30분 정도의 매우 짧은 반감기를 가진 62 kd의 핵단백으로서 세포주기의 G<sub>1</sub> phase 진입에 중요한 역할을 하는 인자로 알려져 있다<sup>28,29</sup>. 이 유전자는 간의 재생성 병변등의 양성 증식뿐만 아니라 Burkitt 림프종 및 위암종을 비롯한 몇몇 암종에서 과표현되는 것으로 기술되어 있으며<sup>12,18,30</sup>, 특히 Park등<sup>18</sup>은 immunoblotting에 의해 뒷받침된 면역조직화학적 검색으로 위암조직에서 c-myc의 발현을 종양의 전이와 침습과 관련시켜, 임상 병기와는 관련이 없다는 것으로 보고한 바 있다. 본 연구에서도 상피성 난소종양의 c-myc표현과 임상 병기와는 관계가 없었다. 상피성 난소 종양에서 면역조직화학적 검색에 의한 c-myc의 발현빈도에 관한 문헌은 참고할 수 없었으며, 단지 분자생물학적 연구기법에 의한 c-myc 유전자 증폭은 보고자에 따라 25%, 33%, 50%로 다양하게 보고되고 있다<sup>31,32,33</sup>. 특히 Sasano등<sup>32</sup>은 난소암종의 악성도 및 핵의 유사분열상은 이 유전자의 증폭과 밀접히 관련되며, Watson등<sup>34</sup>도 점액성 암종보다 장액성 난소암종에서 보다 높게 증폭된다고 보고한 바 있다. 본 검색에서 악성 난소종양의 c-myc 발현 빈도는 66.7%로서 난소종양의 악성도에 따른 발현빈도의 통계학적인 유의성이 있었으며(p=0.03), 특히 경계영역의 난소종양을 포함할 경

우 발현 빈도가 감소하는 점은 Sasano 등<sup>32</sup>의 결과와 일치하였다. 그리고 Watson 등<sup>34</sup>과 Sasano 등<sup>32</sup>의 보고와는 달리 조직학적 유형에 따른 발현의 차이는 인정되지 않았으나, 악성 장액성 종양에서는 저분화형일수록 의미있게 높게 발현되는 점은 주목할만 하였다. c-myc의 표현과 임상적 병기사이의 관련성을 검색한 문헌은 거의 접할 수 없었으나 Bauknecht 등<sup>2</sup>은 항암제 치료후에도 지속되는 난소 암종에서 EGFR(Epidermal Growth Factor Receptor, 상피 성장인자 수용체)의 높은 표현과 함께 c-myc의 발현이 높다는 점에 착안하여 이 유전자의 표현이 임상적 악성도의 한 요소일 수 있다는 가정을 제시한 바 있다. 하지만 본 검색에서 병기와 상관성을 조사한 바 의미있는 차이는 없었다.

TGF- $\alpha$ 는 자가분비형 기전에 의해 분비되는 50여 개의 아미노산으로 구성된 세포분열 유도인자로서<sup>35</sup>, 정상 조직뿐만 아니라 간암등을 비롯한 여러가지의 종양성 병변에서도 관찰되는 것으로 알려져 있다<sup>27</sup>. 이 유전자 단백질은 주변 세포들의 성장을 자극하는 효과가 있으며<sup>36</sup>, 특히 종양 전환 과정에서의 TGF- $\alpha$ 의 기능은 분명하게 밝혀져 있지 않지만, 발암유전자의 활성화에 의한 이차적인 결과라는 견해도 있다<sup>29</sup>. Bauknecht 등<sup>37</sup>이 최초로 EGF(Epidermal Growth Factor, 상피성장인자)와 유사한 물질이 난소 암종의 37% 정도에서 발현되는 것으로 보고한 이래, Morishige 등<sup>36</sup>은 TGF- $\alpha$ 는 자가분비형 기전에 의해 난소의 모든 악성 종양에서 EGFR과 동시에 발현된다고 하였다. Owens<sup>38</sup>에 의하면 난소 여포상피세포 및 간질 세포등의 정상 난소 조직 및 경계성 병변의 상피성 종양에서 EGFR의 발현율은 각각 84.5% 및 84.1%, 악성 난소 종양에서는 88.5%에서 발현된다고 하여 악성도의 차이에 따른 의미있는 차이는 보인다고 하였다. 또한 TGF- $\alpha$ 의 발현과 종양의 분화도 및 TGF- $\alpha$  mRNA의 농도와 임상적 병기사이에는 의미있는 상관성은 없다고 하였다. 그러나 본 검색에서는 악성종양은 78.1%(25/32예)에서 양성반응을 보여 33.3%(11/33예)의 빈도를 보인 양성 종양에 비해 의미있는 차이를 보였으며, 조직학적 유형에 관계없이 난소 암종의 분화도와는 관련성이 없는 점은 Owens 등<sup>38</sup>의 결과와 일치하였다. Kommos 등<sup>39</sup>은 정상 조직에서의 TGF- $\alpha$  mRNA는 거의 없거나 낮은 반면에 약 20%의 악성 난소종양에서 높은 율로 발현된다고 하였으며, 아울러 임상경과와 비교하여 항암제에 잘 반응하지 않는 예에 비해서는 반응을 보이는 예가 보다 높은 mRNA 수치를 보인다고 하였다. 본 검색에서는 임상 병기에 따른 TGF- $\alpha$  발현의

의미있는 차이는 없었다.

Bauknecht 등<sup>37</sup>은 TGF- $\alpha$ 의 표현은 EGFR과는 달리 c-myc의 표현과 깊이 연관되어 있다고 하였으며, 동시에 임상적으로 진행성인 병변에서 c-myc의 과표현이 있다고 한다. 이와는 반대로 Kommos 등<sup>39</sup>은 TGF- $\alpha$ /EGFR과 c-myc/c-jun의 표현에는 상호 관련성이 없으며, 항암치료에 잘 반응하는 예에서 오히려 TGF- $\alpha$ 나 c-myc의 높은 표현을 보인다고 하였다. 이와 같이 TGF- $\alpha$ 와 c-myc의 발현사이에 일관된 일치성을 보이지 않는점은 TGF- $\alpha$ /c-myc 신호전달 체계 외의 또 다른 신호전달체계의 존재가 강하게 시사되고 있다. 본 검색에서는 TGF- $\alpha$ 와 c-myc의 상호 관련성은 kappa값 0.43으로서 상호 연관성이 있는 것으로 인정되었다.

종양에 있어서의 TGF- $\beta$ 의 기능은 아직까지도 잘 이해되어 있지 않다. 종양조직에서의 TGF- $\beta$ 의 표현은 주변 기질 조직의 파괴와 이에 따른 종양세포의 용이한 침습성과 자연살해세포의 기능억제에 따른 면역상태의 저하등과 관련되어 있다고 한다<sup>40,41,42</sup>. Berchuck 등<sup>31</sup>은 상피성 난소 종양의 발생을 TGF- $\beta$ 에 의한 상피 성장인자 억제기능으로 부터 벗어남으로 인해 상피세포가 종양화 된다고 주장하고 있다. Boente 등<sup>43</sup>은 난소암세포가 난소 간질 조직의 세포외 기질로의 침습과 주위 조직의 파괴등의 종양의 공격적 성향은 TGF- $\beta$ 뿐만 아니라 HER2/neu, c-myc 및 p53등의 암유전자등도 같이 관여 할 것이라고 한다. 그러나 본 검색에서 TGF- $\beta$ 의 표현은 난소 종양의 조직학적 악성도 및 분화도, 임상병기에 따른 의미 있는 차이나, c-myc 및 p53과의 상호관련성은 인정되지 않았다. 이러한 점은 다른 장기의 종양 즉, 위암과 유방암과는 달리 난소 종양에는 간질에서 결합조직형성(desmoplasia)에 관여하는 TGF- $\beta$ 의 역할이 상대적으로 미약한 결과로 해석된다.

결론적으로, 난소종양에서 p53, TGF- $\alpha$ 와 c-myc의 발현은 종양의 악성도가 증가할수록 높게 발현되었으며, 특히 p53의 경우 양성과 경계성에서는 거의 발현되지 않고 악성종양에서만 의미있게 높게 발현되었다. 장액성 악성 종양에서 조직학적 분화도에 따라 c-myc의 발현은 차이를 보였다. 이러한 점은 이들 종양관련 항원들이 단독 혹은 공동으로 작용하여 난소암의 예후에 영향을 미칠 수 있는 인자라고 생각된다.

## 결 론

본 연구는 상피성 난소 종양을 대상으로 p53, c-



myc, TGF- $\alpha$  및 TGF- $\beta$  등 유전자 단백질의 발현 빈도와 이제까지 알려진 예후인자 즉, 병리조직학적 유형, 악성도, 분화도 및 임상병기와와의 상관성을 규명하고 예후인자로서의 이들 유전자 단백질의 가치를 검증함과 동시에 난소암의 병리학적 성격의 일면을 이해하고자 시행하였다. 총 75예의 상피성 난소 종양에 대한 면역조직화학적 염색을 실시하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) p53의 발현은 악성종양에서 높아 종양의 악성도에 따른 의미있는 차이를 보였으며( $P=0.02$ ), 장액성 및 점액성 종양에서도 악성도에 따른 통계학적 유의성이 있었다( $P=0.003$ ,  $P=0.049$ ).

2) c-myc은 종양의 악성도에 따라 높은 발현빈도를 보였으며( $P=0.03$ ), 악성 장액성 종양에서 조직학적 분화도에 따라 유의한 차이를 보였다( $P=0.02$ ).

3) TGF- $\alpha$ 의 발현은 종양의 악성도에 따라 의미있는 차이를 보였다( $P=0.001$ ).

4) TGF- $\beta$ 의 발현은 종양의 악성도, 분화도, 임상병기에 따라 의미있는 차이를 보이지 않았다.

5) p53과 TGF- $\alpha$ , c-myc과 TGF- $\alpha$ 의 발현은 상피성 난소 종양의 조직학적 유형, 악성도 및 분화도에 관계없이 통계학적으로 유의한 상관성이 있었다( $K=0.42$ ,  $K=0.43$ ).

6) p53, c-myc, TGF- $\alpha$  및 - $\beta$ 의 발현과 임상적 병기 사이의 상호 연관성은 없었다.

이상의 성적으로서 p53, c-myc 및 TGF- $\alpha$ 의 발현은 상피성 난소종양에 있어서 구성세포의 증식 및 분화등의 세포활동도와 밀접히 관련되어 있음이 확인되었으며, 아울러 난소종양의 분화도 및 악성도에 비추어 이들 유전단백의 세포내 발현은 예후인자로서의 가치가 있을 것으로 생각된다. 특히 p53은 양성 종양에서 발현되지 않고 난소암종에서 발현되는 점에 비추어 상피성 난소 종양에서의 이 유전자단백의 발현은 종양 생물학적인 중요성을 암시한다고 생각되었다.

## 참 고 문 헌

- Bauknecht T, Michael R, Michael S, Albrecht P. Occurrence of epidermal growth factor receptors in human adnexal tumors and their prognostic value in advanced ovarian carcinomas. *Gynecol Oncol* 1988; 29: 147-57.
- Bauknecht T, Peter A, Manuela K, et al. Gene structure and expression analysis of the epidermal growth factor receptor, transforming growth factor-Alpha, myc, jun, and metallothionein in human ovarian carcinoma. *Cancer* 1993; 171(2): 467-75.
- Sorbe B, Frankendal B, Veress B. Importance of histologic grade in the prognosis of epithelial ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol* 1982; 59: 576-82.
- Swenerton KD, Hislop TG, Spinelli J, et al. Ovarian carcinoma: A multivariate analysis of prognostic factors. *Obstet Gynecol* 1985; 65: 264-70.
- Kohler M, Janz I, Wintzer H, Wagner E, Bauknecht T. The expression of EGF Receptor, EGF-like factors and c-myc in ovarian and cervical carcinomas and their potential clinical significance. *Anticancer Res* 1989; 9: 1537-48.
- Kohler MF, Berchuck A, Davidoff AM, et al. Overexpression and mutation of p53 in endometrial carcinoma. *Cancer Res* 1992; 52: 1622-31.
- DiMarco E, Pierce JH, Fleming TP, et al. Autocrine interaction between TGF- $\alpha$  and the EGF-receptor: quantitative requirements for induction of the malignant phenotype. *Oncogene* 1989; 4: 831-8.
- Takahashi T, Nau MM, Chiba I, et al. p53: a frequent target for genetic abnormalities in lung cancer. *Science* 1989; 246: 491-504.
- Davidoff AM, Kerns BJ, Iglehart JD, et al. Maintenance of p53 alteration throughout stages of breast cancer progression. *Cancer Res* 1991; 51: 2605-12.
- Marks JR, Davidoff AM, Kerns BF, et al. Overexpression and mutation of p53 in epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 2979-84.
- International Federation of Gynecology and Obstetrics Cancer Committee: stage announcements. *Gynecol Oncol* 1986; 25: 383.
- Serov SF, Scully RE, Sobin LH. 1973 Histologic typing of ovarian tumors, No 9. World Health Organization, Geneva.
- Fox H, Taylor HC. *Obstetrical and gynecological pathology*. 3rd. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1987; 2: 556-86.
- Hsu SM. The use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 553-60.
- Friedrich K, Thomas B, Albrecht P, et al. Oncogene and growth factor expression in ovarian cancer. *Acta Obstet Gynecol* 1991; 21: 1643-52.
- Thomas B, Gerlinde B, Friedrich K. Clinical significance of oncogenes and growth factors in ovarian carcinomas. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1990; 37(6): 855-62.



17. Marks JR, Davidoff AM, Kerns BJ, et al. Overexpression and mutation of p53 in epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 2979-84.
18. Park BC, Seo JH, Kang KI, et al. Expression in primary gastric adenocarcinomas of c-myc, c-H-ras, c-fos product,  $\beta$ 2-microglobulin, and laminin receptor; Correlation with invasiveness and metastasis. *The Korean Journal of Gastroenterology* 1991; 23(2): 408-22.
19. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989; 342: 705-12.
20. Porter L, Gown AM, Kramp SG, Coltrera MD. Wide spread p53 overexpression in human malignant tumors. *Am J Pathol* 1992; 140: 145-53.
21. Mazars R, Pujol P, Maudelonde T, Jeanteur P, Theillet C. p53 mutations in ovarian cancer: a late event? *Oncogene* 1991; 6: 1685-90.
22. Okamoto A, Sameshima Y, Yokoyama S, et al. Frequent allelic losses and mutations of the p53 gene in human ovarian cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 5171-6.
23. Eccles DM, Cranston G, Steel CM, Nakamura Y, Leonard R. Allele loss on chromosome 17 in human epithelial ovarian carcinoma. *Oncogene* 1990; 5: 1599-601.
24. Ben J, Milner L, Allan A, et al. p53 mutation is common genetic event in ovarian carcinoma. *Cancer Res* 1993; 53: 2128-32.
25. Marks JR, Davidoff AM, Kerns BJ, et al. Overexpression and mutation of p53 in epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 2979-84.
26. Teneriello MG, Hollstein M, Sirdransky D, Vogetstein B, Harris CC. p53 mutation in human cancer. *Cancer Res* 1993; 53: 3103-8.
27. Obmura E, Odada M, Onda N, Kamiya Y, et al. Insulin-like growth factor I and transforming growth factor- $\alpha$  as autocrine growth factors in human pancreatic cancer cell growth. *Cancer Res* 1990; 50: 103-7.
28. Evan GI, Hancock DC. Studies on the interaction of the human c-myc protein with cell nuclei: p62c-myc as a member of a discrete subset of nuclear proteins. *Cell* 1985; 43: 253-61.
29. Samnules V, Barrett JM, Bockman S, et al. Immunohistochemical study of transforming growth factor- $\alpha$  expression in benign and malignant gliomas. *Am J Pathol* 1985; 134: 895-902.
30. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease. 5th. ed. Philadelphia: WB Saunders 1994; 264-5.
31. Berchuck A, Kamel A, Whitaker R, et al. Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1990; 50: 4087-91.
32. Sasano H, Garrett CT, Wilkinson DS, et al. Protooncogene amplification and tumor ploidy in human ovarian neoplasms. *Hum Pathol* 1990; 21: 382-91.
33. Zohow DJ, Cadavid-Gonzales N, Ahuja H, et al. A unique pattern of protooncogene abnormalities in ovarian adenocarcinomas. *Cancer* 1988; 62: 1573-6.
34. Watson JU, Curling OM, Munn CF, et al. Oncogene expression in ovarian cancer: A pilot study to c-myc oncoprotein in serous papillary ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1987; 28: 137-50.
35. Driman DK, Kobrin MS, Kudlow JE, Asa SC. Transforming growth factor- $\alpha$  in normal and neoplastic human endocrine tissues. *Human Pathol* 1992; 23: 1360-5.
36. Morishige K, Kurachi H, Amemiya K, et al. Evidence of the involvement of transforming growth factor- $\alpha$  and epidermal growth factor receptor autocrine growth mechanism in primary human ovarian cancers in vitro. *Cancer Res* 1991; 51: 5322-8.
37. Bauknecht T, Janz I, Kohler M, Pfeleiderer A. Human ovarian carcinomas: correlations of malignancy and survival with the expression of epidermal growth factor receptor and EGF like factor. *Med Oncol Tumor Pharmacother* 1989; 6: 121-7.
38. Owens OJ, Leake RE. Growth factor content in normal and benign ovarian tumours. *Eur J Obst Gynecol Repro Bio* 1992; 47: 223-8.
39. Kommos F, Wintzer HO, von kleis A S, et al. In situ distribution of transforming growth factor alpha(TGF- $\alpha$ ) in normal human tissues and in malignant tumors of the ovary. *J Pathol* 1990; 162: 223-30.
40. Jasani B, Wyllie FS, Wright PA, Lemonie NR, Williams ED, Waynford DT. Immunocytochemically detectable TGF- $\beta$  associated with malignancy in thyroid epithelial neoplasia. *Growth Factors* 1990; 2: 149-55.
41. Ode K, Hori S, Itoh H, et al. Immunohistochemical study of TGF- $\beta$ , fibronectin, and fibronectin receptor in invasive mammary carcinomas. *Acta Pathol Jpn* 1992; 42: 645-50.
42. Yoshida K, Yokozaki H, Nimoto M, Ito M, Tahara E. Expression of TGF- $\beta$  and procollagen type I and type II in human gastric carcinomas. *Int J Cancer* 1989; 44: 394-8.
43. Boente MP, Hurteau T, Rodriguez GC, Bast RC, Berchuck A. The biology of ovarian cancer *Curr Opin Oncol* 1993; 5: 900-7.