

위선종 및 위암종에서 p53단백 발현에 관한 연구

전북대학교 의과대학 병리학교실

오소영 · 강명재 · 이동근 · 최호열 · 김상호

Expression of p53 Protein in Gastric Adenoma and Carcinoma

So Yeong Oh, M.D., Myoung Jae Kang, M.D., Dong Geun Lee, M.D.
Ho Youl Choi, M.D. and Sang Ho Kim, M.D.

Department of Pathology, Chonbuk National University Medical School, Chonju, Korea

In the present study, immunohistochemical detection of p53 oncoprotein was performed to determine whether the grade of differentiation and the histologic type of gastric adenocarcinoma, and the degree of atypia accompanied with adenoma can be related to p53 mutation. Paraffin sections of 22 gastric adenomas and 56 gastric adenocarcinomas were examined for the overexpression of p53 oncoprotein with the avidin-biotin peroxidase complex staining procedure. The obtained results were as follows; 1. All the 22 cases of adenomas and 16 cases of well differentiated adenocarcinomas showed uniformly negative staining. 2. Seven of 18 cases of moderately differentiated adenocarcinomas(39%), and five of 30 cases of poorly differentiated adenocarcinomas(17%) exhibited p53 protein expression. 3. Three of 29 cases of diffuse type (10%) and 9 of 19 cases of intestinal type(47%) exhibited p53 protein expression. These results suggest that p53 mutation is important in carcinogenesis of the intestinal type of gastric adenocarcinoma, and there is no correlation between the differentiation of gastric adenocarcinoma and the degree of p53 oncoprotein overexpression. (*Korean J Pathol* 1996; 30: 886~892)

Key Words: p53, Gastric adenoma, Adenocarcinoma

서 론

p53유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하는 종양 억제유전자로 p53유전자의 돌연변이는 위암종을

비롯한 인체암에서 보이는 가장 흔한 유전적 이상으로 알려져 있다^{1,2}. 대부분의 정상세포는 p53단백의 짧은 반감기 때문에³ 면역조직화학적 방법으로 p53단백을 검색할 수 없으나⁴ p53유전자의 돌연변이로 반감기가 긴 p53단백을 형성하게 되면 핵내에 과량 축적되어 면역조직화학적으로 검색이 가능하게 된다⁵. 위암에서 p53단백 발현은 보고자에 따라 다양하여 4%에서 64%까지 보고되어 있다⁶⁻¹⁰. 위암을 Lauren의 분류법¹¹에 따라 장형과 미만형으로 분류하였을 때 장형은 장상피화생-이형성-암종의 연쇄를 거쳐 기원하는 것으로 제안되고 있는데¹² 이형을

접 수: 1996년 4월 20일, 게재승인: 1996년 9월 20일
주 소: 전주시 덕진구 금암2동 634-18, 우편번호 560-182
전북대학교병원 해부병리과, 오소영

*본 논문은 1995년도말 전북대학교병원 특수목적연구비로 이루어졌음.

보이는 선종은 종양 구성세포의 이형 정도와 구조적 변화의 양태에 따라 경도, 중등도, 심한 이형을 지닌 선종으로 구분하여 심한 이형을 보일수록 암종으로 진행할 가능성이 높은 것으로 알려져 있다. 그러나 이들 이형 정도의 판정은 매우 주관적이어서 심한 이형을 보이는 선종과 분화도가 좋은 암종과의 감별이 문제가 된다. 따라서 저자는 위의 선암종과 이의 전구병변이라 할 수 있는 선종에서 분화도와 이형의 정도에 따른 p53단백 발현정도를 검색하여 이들 질환간의 관련성을 확인할 목적으로, Lauren의 분류법에 따라 선암종을 장형과 미만형으로 분류하여 p53단백 발현정도를 검색하여 p53유전자의 돌연변이와 조직형의 연관성을 알아보고, 심한 이형을 보이는 선종과 암종을 구분하는 감별인자로서 p53유전자 돌연변이단백의 유용성을 검색하고자 본 연구를 계획하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

연구재료로서 1992년 10월부터 1995년 10월까지 전북대학교병원에서 외과적으로 절제되었거나, 내시경적 생검을 시행하여 진단되었던 위의 병변을 대상으로 하였다. 10% 중성 포르말린 고상, 파라핀포매 후 hematoxylin-eosin(H-E)염색을 시행하였던 조직

표본을 재검토하여 선종 22예, 선암종 64예를 병변으로 선택하였고, 생검조직내에 포함된 정상집락조직을 대조군으로 하였다.

2. 방 법

1) 선종과 암종의 이형분류: 선종은 상피세포 이형성과 구조적 변화의 양태에 따라 경도의 이형을 지닌 선종, 중등도의 이형성을 지닌 선종, 심한 이형성을 지닌 선종으로 세분하였고, 암종은 종양세포의 분화도에 따라 고분화 선암종, 중등도분화 선암종, 저분화 선암종으로 구분하였으며, 64예의 선암종중 외과적으로 절제된 48예를 대하여 Lauren의 분류법에 따라 상형과 미만형으로 분류하였다.

2) 면역조직화학적 염색: 항p53단백항체(DAKO, Denmark)를 면역염색용 일차항체로 사용하였으며, Hsu¹¹의 방법에 따라 avidin-biotin peroxidase complex(ABC)에 의한 immunoperoxidase 염색법을 microprobe-detection system(Biomedex Corp, Foster city, LA)을 이용하여 시행하였다.

성 적

p53단백에 대한 염색결과의 판정은 세포의 핵이 염색이 되었을 때를 양성반응으로 평가하였으며 1에서 3등급까지로 나누어, 종양세포의 1~25%까지

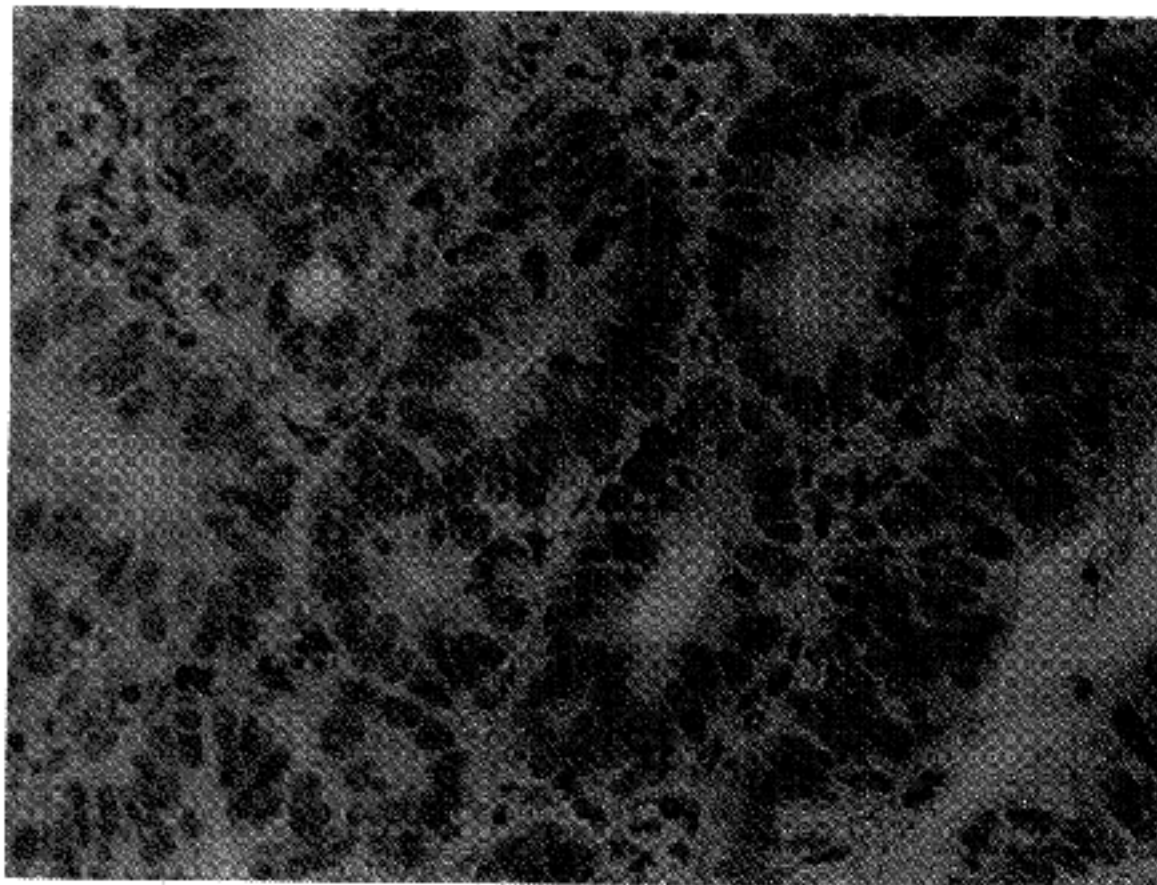


Fig. 1. Immunohistochemical staining for p53 in adenoma with severe atypia showing negative reactivity ($\times 400$).

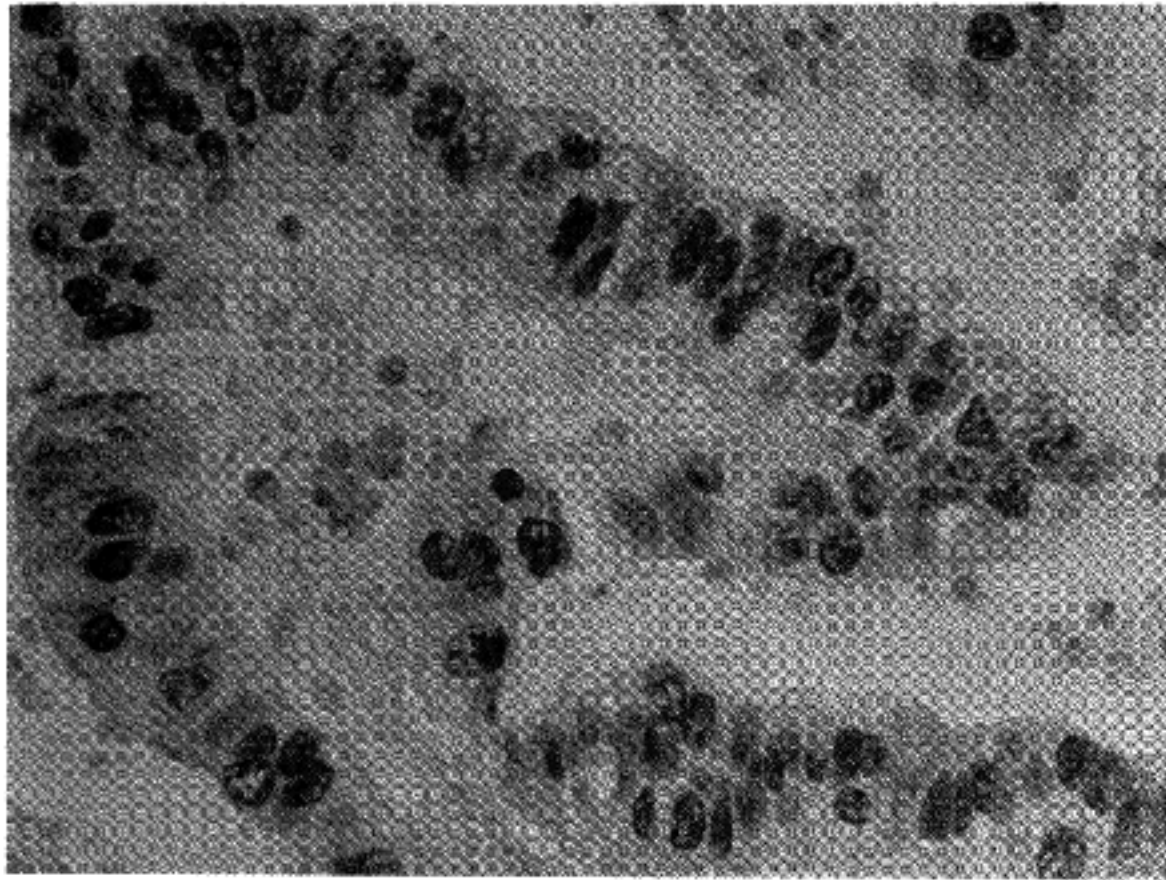


Fig. 2. Immunohistochemical staining for p53 in moderately differentiated adenocarcinoma (intestinal type) showing strongly stained carcinoma nuclei ($\times 400$).

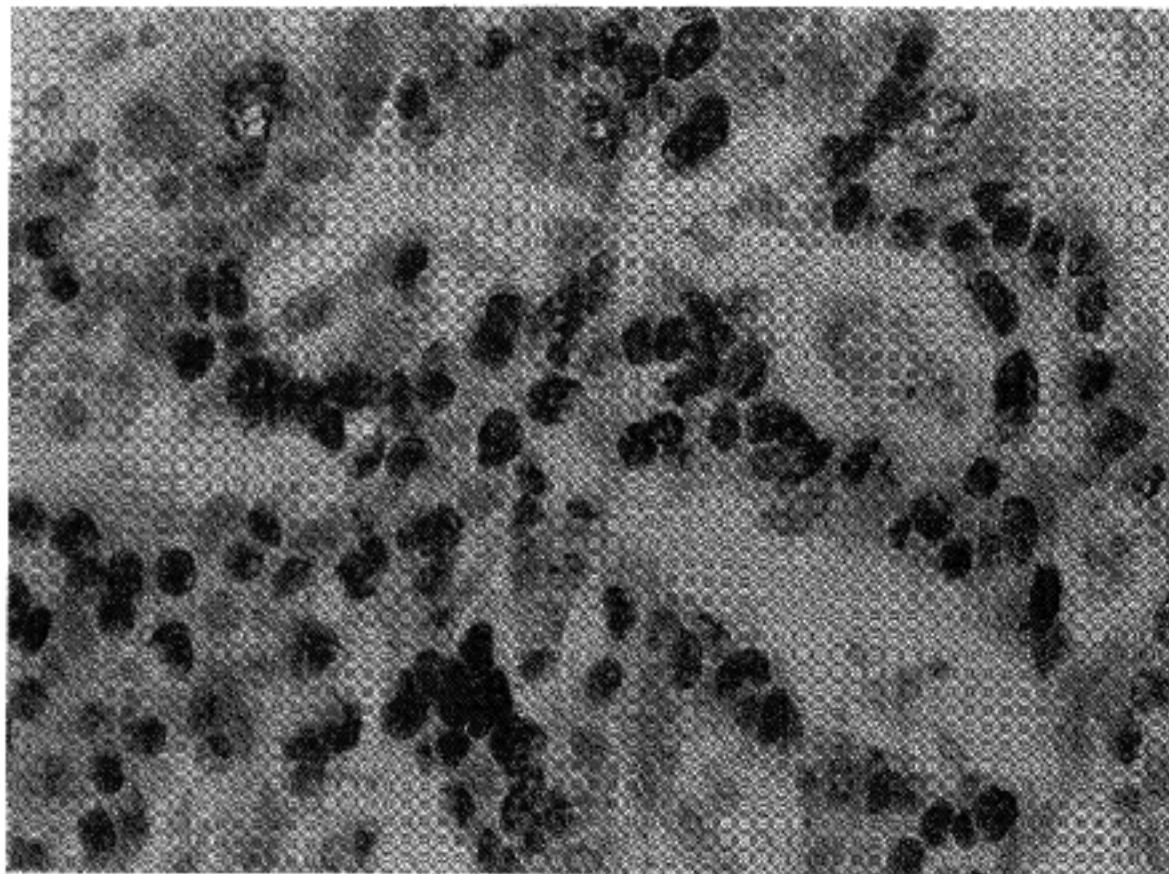


Fig. 3. Immunohistochemical staining for p53 in poorly differentiated adenocarcinoma (intestinal type) showing positively stained carcinoma nuclei ($\times 400$).

양성인 경우는 1등급, 양성인 세포가 26~75%인 경우는 2등급, 종양세포의 76% 이상 염색된 경우를 3등급으로 하였다. p53단백이 발현되지 않는 경우를 편의상 0등급으로 하였다. p53단백의 면역염색결과는 표 1과 2 및 그림에 제시한 바와 같다.

선종의 경우 선정된 22예 모두 이형의 정도에 관

계없이 항p53단백항체 염색에서 음성반응을 보였으며(Fig 1), 선암종의 경우 전체 64예중 12예에서 p53 단백질 발현이 관찰되어 약 19%의 양성율을 나타내었으며 분화가 잘된 선암종에서는 16예 모두 음성반응을 보였고 중등도의 분화를 보이는 선암종에서는 18예중 7예로 39%의 양성율을(Fig. 2), 그리고 서분

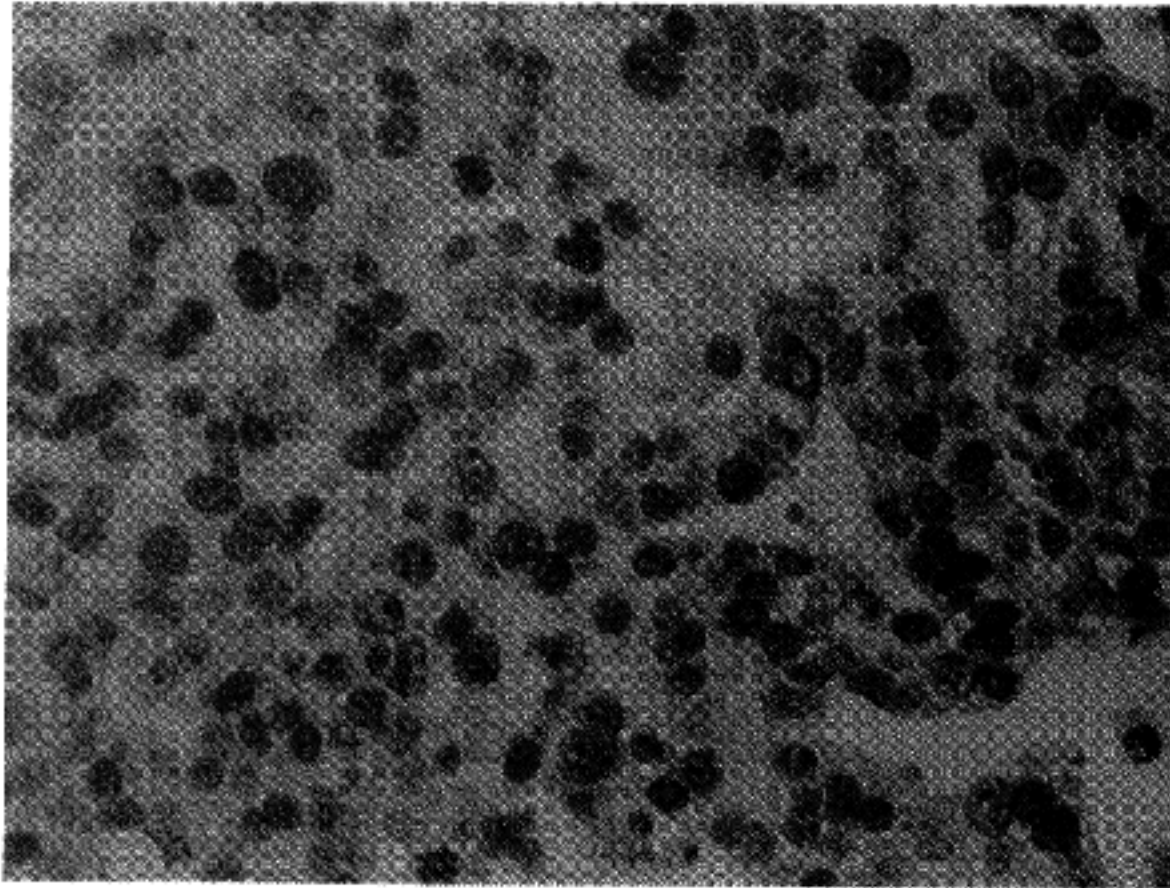


Fig. 4. Immunohistochemical staining for p53 in poorly differentiated adenocarcinoma (diffuse type) showing diffusely positive reactivity ($\times 400$).

화 암종에서는 30예중 5예가 양성반응을 보어 17%의 양성율을 보였다. 선암종은 Lauren의 분류법에 따라 분류하였을 때 19예의 장형 선암종중 9예에서 양성반응을 보어 47%의 양성율을 보였으며(Fig. 3), 29예의 미만형 선암종중 3예에서 양성반응을 보어 약 10%의 양성율을 보였다(Fig. 4). 양성반응을 보인 종양에서도 염색되는 양상은 거의 모든 종양세포의 핵이 염색되는 예로부터 산재된 소수의 종양세포만이 염색되는 예까지 매우 다양하였다. 중등도의 분획률 보이는 선암종에서는 7예중 1~25%의 종양세포가 양성반응을 보이는 1등급이 1예, 26~75%의 양성반응을 보이는 2등급이 1예, 그리고 76%이상 염색된 3등급이 5예였고, 저분화 암종의 경우 1등급이 3예, 2등급이 2예, 3등급이 1예를 차지하였다. 또한 미만형 선암종에서는 1예에서 1등급, 2예에서 3등급의 양성반응을 보였고, 장형 선암종에서는 3예에서 1등급, 2예에서 2등급, 4예에서 3등급의 양성반응을 보였다.

종양에 동반된 이형 및 분화도, 그리고 조직형에 따른 p53단백 발현의 차이를 알아 보고자 각각의 양성율을 비교한 결과, 검색한 모든 예의 선종과 고분화 암종에서 p53단백의 과발현을 관찰할 수 없어 심한 이형성을 보이는 선종과 고분화 암종을 간별하는 객관적 구분방법으로서 p53단백의 면역화학적 검색의 유용성을 인정할 수 없었고, 분화도에 따른 p53단백 발현의 상관성은 없는 것으로 보이며 미만

형의 선암종보다는 상형의 선암종에서 P53단백 발현이 유의하게 우세함을 알 수 있었다($p < 0.01$).

고 찰

위상관계의 암종중 상당수의 대장암종이 선종-암종 연쇄를 거쳐 선종으로부터 기원함을 확립된 사실이며¹⁴ 위암종에서도 일부 선종-암종 연쇄를 거쳐 선암종이 발생한다는 설이 제시되고 있지만¹⁵ 아직 확립되지는 않은 상태이다. 최근 위암의 발생에 있어 다양한 유전적 변화가 관련되며 두가지의 유전적 경로가 있다고 제시되었다. 즉 분화가 잘된 위암종은 분화도가 낮은 위암종과 다른 경로로 발생하는데 장상피화생과 선종은 분화가 잘된 위암종의 선구형번이라고 하였다.¹⁶ 또한 장상피화생 및 이형성을 동반한 선종들이 장형 선암종의 전암상 명번으로 작용하며 미만형과는 무관하다¹⁶.

정상세포로부터 암의 발생까지 연속적인 조직학적 변화의 전개시 일어나는 분자유전적 사건에 대한 연구를 통하여 종양유전자의 돌연변이성 활성화와 종양 억제유전자의 돌연변이성 비활성화를 포함하는 다수의 유전적 변화가 일어남이 밝혀졌다. p53은 종양 억제유전자로 p53유전자의 산물인 p53단백은 393개의 아미노산으로 구성되어 있다. p53단백은 정상적으로 존재하는 wild형의 p53은 세포주기 G1에서 S기로 넘어가는 세포의 수를 조절함으로써

세포성장을 중지시킨다¹⁷. 그러나 p53 돌연변이형은 wild형과 결합하여 정상기능이 비활성화되어 세포의 이상증식을 일으키며 다른 종양유전자의 활성을 유발할 수 있다고 하였다¹⁸.

Wild형의 p53단백은 짧은 반감기 때문에 정상적으로 면역화학적방법에 의해 검출되지 않으나 p53 돌연변이단백은 구조적으로 안정되어 핵내에 과량 축적되고 이는 면역화학적방법으로 검출이 가능하며 p53유전자의 돌연변이를 반영한다⁵. p53유전자의 돌연변이는 인체의 종양에서 발견되는 가장 흔한 유전자적 이상이며 p53단백 발현은 유방암^{5,9}을 비롯하여 대장암¹⁷, 폐암⁴ 및 위암⁶⁻¹⁰등에서 보고되어 있다. 특히 유방암의 경우 p53단백의 과발현여부는 예후불량을 예시하는 여러가지 임상적 및 병리조직학적 표지들과 밀접한 연관성을 보이기 때문에 치료 방침을 결정하는데 유용하게 이용될 수 있다 하였다¹⁹. 또한 p53단백의 과발현은 악성종양에서 뿐만 아니라 Barrett식도점막²⁰, 이형성을 보이는 구강점막²¹ 및 방광의 이형성점막²²에서도 관찰된다는 보고들이 있어 p53 유전자의 돌연변이가 일부 양성종양의 악성전환에 기여할 것이라고 하였다.

검색한 모든 예의 선종과 고분화 암종에서 p53단백의 과발현을 관찰할 수 없어 심한 이형성을 보이는 선종과 고분화 암종을 감별하는 객관적 구분방법으로서 p53단백의 면역화학적 검색의 유용성을 인정할 수 없었고, 종양세포의 분화도에 따른 p53단백 발현정도를 검색한 결과, 고분화형의 선암종에서는 p53단백의 발현이 관찰되지 않았고 중등도분화형의 선암종과 저분화형 선암종에서 각각 39%와 17%의 양성율을 보여 분화도에 따른 p53단백 발현의 연관성은 인정할 수 없었다. 또한 미만형의 선암종보다는 장형의 선암종에서 p53단백 발현이 우세함을 알 수 있었다.

위장의 선종에서 p53단백 발현여부는 연구자에 따라 결과가 다양한데, Hurlimann등²³에 따르면 본 실험결과와 같이 이형성을 보이는 위점막세포에서 p53발현을 관찰할 수 없다고 보고하였고, 15%에서 38%에 이르는 양성율을 보고한 연구자들도 있었다²⁴⁻²⁶. 초기의 일부 연구보고에 의하면 위암종과 p53 과발현은 무관하다는 보고가 있었지만 최근에는 4~64%까지 보고자에 따라 다양한 양성율을 보이고있다⁶⁻¹⁰. 전립선암, 폐암, 그리고 유방암등에서는 종양세포의 분화도와 p53단백 과발현 사이에 밀접한 상관관계가 관찰된다고 하였으나²⁷ 본 실험대상인 위암종에서는 이를 관찰할 수 없었다. Tahara 등²⁸도 본 연구와 같이 위암종의 분화도와 p53단백의

발현정도는 무관하다고 하였다. Hurlimann등²³과 Lee 등²⁹은 Lauren의 분류법에 따라 위암종을 미만형과 장형으로 분류하였을 때, 장형에서 유의하게 우세한 p53단백의 과발현을 보고하였다. 또한 Uchino등³⁰과 Matozaki등³¹은 위암을 조직학적으로 응집형과 비응집형 또는 미만형으로 분류하고 p53단백의 발현은 응집형에서 선택적으로 나타난다고 하였다. 응집형(cohesive type)이란 WHO의 분류법에 따른 유두상 선암종, 고분화 내지 중등도분화도를 보이는 관상 선암종, 그리고 고형성 소(nest)나 초점성 관상구조를 형성하는 저분화형의 선암종을 포함하며, 비응집형(noncohesive type)은 인환세포암과 산재성으로 증식하는 저분화 선암종을 포함한다고 하였다. 본 연구에서 선암종을 Lauren의 분류법에 의해 분류하였을 때 19예의 장형 선암종중 9예에서 양성반응을 보여 47%의 양성율을 보였으며, 29예의 미만형 선암종중 3예에서 양성반응을 보여 약 10%의 양성율을 보였다. 이러한 결과를 종합해 보면 p53단백의 과발현 정도는 선암종의 분화도와는 무관한 것으로 생각되며 p53유전자의 돌연변이는 장형 선암종의 발암 과정에 중요한 역할을 하고 미만형 선암종의 발생에 있어서는 다른 기전이 작용할 가능성을 시사하는 소견이라 사료된다.

결 론

위암종과 선종에서 분화도와 동반되는 이형성의 차이에 따른 p53단백의 과발현 정도를 면역조직화학적 방법으로 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 선종의 경우, 동반되는 이형성의 정도와 관계 없이 모든 예에서 p53단백의 과발현을 관찰할 수 없었다.
- 2) 선암종의 경우, 고분화형에서는 16예 모두에서 음성소견을 보였으며, 중등도 분화형에서는 18예중 7예(39%), 저분화형에서는 30예중 5예(17%)에서 p53단백 과발현을 보였다.
- 3) 선암종을 Lauren의 분류법에 의해 재분류하였을 때 19예의 장형 선암종중 9예(47%), 29예의 미만형 선암종중 3예(10%)에서 p53단백 과발현을 보였다.

이상의 결과는 p53유전자의 돌연변이는 장형 선암종의 발암과정에 중요한 역할을 하며 선암종의 분화도와 p53단백 발현 정도 사이에는 연관성이 없음을 시사하는 소견이라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Crawford LV, Pim DC, Lamb P. The cellular protein p53 in human tumors. *Nol Biol Med* 1984; 2: 261-72.
2. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989; 342: 705-8.
3. Oren M. The p53 cellular tumor antigen: gene structure, expression and protein properties. *Biochim Biophys Acta* 1985; 823: 67-78.
4. Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harris AL. Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335: 675-9.
5. Hurlimann J, Chaubert P, Benhattar J. p53 gene alterations and p53 protein accumulation in infiltrating ductal breast carcinomas. Correlation between immunohistochemical and molecular biology techniques. *Mod Pathol* 1994; 7: 423-8.
6. Martin HM, Filipe MI, Morris RW, Lane DP, Silvestre F. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1992; 50: 859-62.
7. Tamura G, Kihana T, Nomura K, Terada M, Sugimura T, Hirohashi S. Detection of frequent p53 gene mutations in primary gastric cancer cell sorting and polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism analysis. *Cancer Res* 1991; 51: 3056-8.
8. Uchino S, Noguchi M, Ochiai A, Saito T, Kobayashi M, Hirohashi S. p53 mutation in gastric cancer: a genetic model for carcinogenesis is common to gastric and colorectal cancer. *Int J Cancer* 1993; 54: 759-64.
9. Yasui W, Nakayama H, Duniyasu H, et al. New prognostic factors in human gastric carcinomas. *Gan To Kajaku Ryoho* 1992; 19: 26-33.
10. 김종재, 김철우, 김용일등. 위암종에서의 p53 유전자와 pYNZ22 유전좌의 대립인자소실과 p53 발현양상. 대한 병리학회지 1993; 27(Suppl.): A43.
11. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinomas: an attempt at a histoclinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; 64: 31-49.
12. Whitehead R. Gastrointestinal and esophageal pathology. 1st ed. New York: Churchill Livingstone, 1989: 714.
13. Hus SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody(PA) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 577-79
14. Day DW, Morson BC. Pathology in adenoma. In: Morson BC, ed. Pathogenesis of Colorectal Cancer. Philadelphia: WB Saunders, 1978: 43-57.
15. Tahara E. Molecular mechanism of stomach carcinogenesis. *J Cancer Res Clin Oncol* 1993; 119: 265-272.
16. Grundmann E, Schlake W. Histology of possible precancerous stages in the stomach. In Herfarth Ch, Schlag P (des): Gastric cancer. Berlin: Springer-Verlag, 1979: 72-82.
17. Baker SJ, Mardowitz S, Fearon ER, Wilson JKV, Vogelstein B. Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild-type p53. *Science* 1990; 249: 912-5.
18. Livingstone LR, White A, Sprouse J, Livanos E, Jacds T, Tlsty TD. Altered cell cycle arrest and gene amplification potential accompan loss of wild-type p53. *Cell* 1992; 70: 937-48.
19. Friedrichs K, Gulba S, Editmann H, Jonat W. Overexpression of p53 and prognosis in breast cancer. *Cancer* 1993; 72: 3641-7.
20. Casson AG, Mukhopadhyay T, Cleary KR, Ro JY, Levin B, Roth JA. p53 gene mutations in Barrett's epithelium and esophageal cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 4495-9.
21. Gusterson BA, Anbazhagan R, Warren W, Midgely C, Lane DP, O'Hare michael, stamps A, Carter R, Jayatilake H. Expression of p53 in premalignant and malignant squamous epithelium. *Oncogene* 1991; 6: 1785-9.
22. Soini Y, Paakko P, Nuorva K, Kamel D, Autio-Harmanin H, Risteli J, Risteli L, Vahadangas D. p53 immunohistochemistry transional cell carcinoma of the urinary bladder and in carcinma in situ following treatment of carcinoma.(Submitted for publication)
23. Hurlimann J, Saraga EP. Expression of p53 protein in gastric carcinomas; association with histologic type and prognosis. *Am J Surg Pathol* 1994; 18(12): 1247-53.
24. Joypaul BV, Newman EL, Hopwood D, Grant A, Qureshi S, Lane DP, Cuschieri A. Expression of p53 protein in normal, dysplastic, and malignant gastric mucosa: an immunohistochemical study. *J Pathol* 1993; 170: 279-83.
25. Brito MJ, Williams GT, Thompson H, Filipe MI. Expression of p53 in early (T1) gastric carcinoma and precancerous adjacent mucosa. *Gut* 1994; 35: 1697-1700.

26. Sakurai S, Sano T, Nakajima T. Clinicopathological and molecular biological studies of gastric adenomas with special reference to p53 abnormality. *Int Pathol* 1995; 45: 51-7.
 27. Soini Y, Paakko P, Nuorva K, Kamel D, Lane DP, Vanakangas K. Comparative analysis of p53 protein immunoreactivity in prostatic, lung and breast carcinomas. *Virchows Arch(A)* 1992; 421: 223-8.
 28. Tahara E, Kuniyasu H, yasui W, Yokizaki H. Gene alterations in intestinal metaplasia and gastric cancer. *European J Gastroenterology and hepatology* 1994; 1: 97-102.
 29. Lee SS, Kim SP, Sohn SS. Overexpression of p53 protein in 'intestinal-type' early gastric carcinoma (EGC). *Korean K Patyol* 1993; 27(Suppl.): A35.
 30. Uchino S, Noguchi M, Ochiai A, et al. p53 mutation in gastric cancer: a genetic model for carcinogenesis is common to gastric and colorectal cancer. *Int J Cancer* 1993; 54: 759-64.
 31. Matozaki T, Sakamoto C, Matsuda K, et al. Missense mutations and a deletion of the p53 gene in human gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 182: 215-23.
-