

자궁내막암종에서의 Bcl-2 종양단백의 발현과 호르몬 수용체와의 상관성에 관한 연구

부산대학교 의과대학 병리학교실

한영임 · 이혜진 · 김지연 · 이선경

A Study of Bcl-2 Oncoprotein Expression in Endometrial Carcinoma Correlated with Hormone Receptor Status

Young Im Han, M.D., Hye Jin Lee, M.D.
Ji Yeon Kim, M.D. and Sun Kyung Lee, M.D.

Department of Pathology, Pusan National University, College of Medicine

Bcl-2 is a proto-oncogene initially described in follicular lymphoma, associated with chromosomal translocation(14;18). Recent studies have shown the presence of Bcl-2 in nonhematolymphoid tissue, especially in hormonally responsive tissue. The endometrium is an attractive model for studying the hormone dependent regulation of Bcl-2 expression. We have studied the immunoreactivity of Bcl-2 oncoprotein in relation to the immunoreactivity of estrogen receptors(ER) and progesterone receptors(PR) by immunohistochemistry in 52 human endometrial carcinomas, according to nuclear grade.

The results obtained are summarized as followings,

- 1) Immunohistochemical grade of Bcl-2 showed a significant inverse correlation with nuclear grade.
- 2) Immunohistochemical grades of ER and PR also showed a significant inverse correlation with nuclear grade, and were well correlated with each other.
- 3) Immunohistochemical grades of Bcl-2 and hormone receptors showed a strongly significant correlation.

On the basis of the above results, we suggest that Bcl-2 expression may be under hormone dependent control and that it can be used in prognosis and choice of hormonal therapy in the presence of hormone receptor. (Korean J Pathol 1996; 30: 408~416)

Key Words: Bcl-2, Hormone receptor, Endometrial carcinoma, Immunocytochemistry

서 론

종양의 발생과정에 있어서 종양유전자의 활성화 혹은 종양억제유전자의 비활성은 유전자의 점상 돌연

접 수 : 1995년 6월 7일, 게재승인 : 1995년 7월 20일
주 소 : 부산시 서구 아미동 1가 10, 우편번호 602-739
부산대학교 의과대학 해부병리과, 한영임

변이, 분자구조의 결손, 염색체의 재배열에 의한 압호 단백질 구조의 변화, 또는 전사에 의한 유전자 단백질의 양적 변동등에 의해서 이루어진다. 따라서 세포내 종양유전자 발현의 변화는 종양의 발생과정에서 종양 세포의 생물학적 습성 및 치료와 예후 추측에 대한 정보를 제공할 수 있을 것이다.

Bcl-2(B cell lymphoma/leukemia 2)는 원종양유전자로 미토콘드리아의 내막에서 종양단백을 합성하여

계획되어진 세포사멸 즉 apoptosis를 방해함으로써 세포의 생존기간을 연장시키는데 기여한다^{1,2}. 이것은 t(14:18) 염색체 전좌에 의해서 18번 염색체에 위치한 Bcl-2 유전자가 14번 염색체의 immunoglobulin heavy-chain(IGH) 유전자에 병치되어 Bcl-2-IGH 융합 유전자가 형성된 후, 탈조절화되어 Bcl-2 단백질의 과발현을 유발시킨다^{3-6,8-10}. 최초에 여포성 B 세포 림프종에서 기술된 이래⁷로 주로 조혈림프계의 악성 종양에서 보고되었으며^{4,6,8,9,11}, 그 후 폐¹⁵, 전립선^{16,17}, 비인두¹⁸, 신경계¹⁹, 갑상선²⁰, 유방^{21,22} 등의 비조혈림프계 종양에서도 Bcl-2의 발현이 의의있게 보고되고 있다.

최근의 연구에 의하면 종양조직뿐 아니라 정상 조직에서의 Bcl-2 발현에 대한 많은 보고가 이루어졌는데 LeBrun등²³은 Bcl-2는 성인 조직보다는 태아 조직에서 더 광범위하게 분포하며 이런 사실로 미루어 태아 조직에서 항상성과 형태형성의 조절에 Bcl-2 유전자가 관여할 것이라고 추측하였다. 또한 정상적인 비조혈림프계 조직에서의 Bcl-2는 외분비선의 도관세포, 기저층의 각화세포, 대장 crypt의 저부, 선상피, 피부나 장관의 상피, 신경원과 같은 수명이 길거나 증식능력이 강한 세포집단에서 발현되며, 여기서의 Bcl-2 유전자가 세포의 성장과 성숙 그리고 최종적인 분화경로에 중요한 역할을 할 것이라고 생각되어진다^{24,25}.

많은 연구를 통해 Bcl-2 유전자가 세포의 증식과 생존에 밀접한 관련이 있을 것으로 믿어지지만, 아직까지 그 정확한 생물학적 기능과 조절 양식에 대해서는 명확히 밝혀져 있지 않다. 최근의 보고들에서 Bcl-2의 호르몬 조절가능성이 제시되어지고 있다. Hockenbey등²⁴은 apoptosis가 일어나는 조직중 선상피에서는 Bcl-2의 발현이 호르몬과 성장인자에 의해 조절받는다고 주장하였고, Lu등²⁵은 Bcl-2가 세포 영양막세포가 아닌 최종적인 분화단계의 합포영양막세포나 자궁내막 그리고 자궁근층과 같은 호르몬 반응성인 세포들에서 발현되는 것으로 미루어 Bcl-2와 호르몬의 연관성을 높게 시사하였다. 따라서 호르몬 반응성 조직들에서 Bcl-2 발현에 관한 연구가 활발히 시도되어지고 있다.

자궁내막은 세포의 성장, 분화, 그리고 사멸에 이르는 일련의 세포생활사가 매우 빠르게 진행되며 이런 과정은 estrogen과 progesterone에 의해 조절된다. 따라서 자궁내막은 Bcl-2 유전자의 기능과 호르몬 의존성 조절 기전에 관한 연구를 위한 매우 좋은 실험 모델이라고 할수 있다. 더욱이 Hopwood등²⁹이 자궁내막에서 apoptosis를 보고한 바 있어 Bcl-2

와의 작용 기전에 비추어 볼때 더욱 더 흥미로움을 유발한다. 근래 정상 자궁내막에서 월경주기에 따른 Bcl-2의 발현과 호르몬과의 상관성이 드물게 보고된 바 있으나^{27,28} 자궁내막암종에 있어서의 연구는 아직까지 보고된 바가 없다. 이런 점에 착안하여 저자들은 자궁내막 암종에서 Bcl-2의 발현이 큰 의의가 있을 것으로 기대하고 Bcl-2의 발현과 호르몬 수용체 사이의 관련성 및 조직학적 핵등급과의 상관관계를 알아 보기 위하여 본 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

본 연구는 병리학적으로 자궁내막암종이라고 진단된 52예를 실험 대상으로 선정하였다. 이들 중 자궁전적출술에 의한 것이 23예, 아전자궁절제술에 의한 것이 1예였으며 나머지 28예는 자궁 소파술에 의하여 얻어졌다. 환자의 연령 분포는 24세에서 71세로서 평균 연령은 50.4세였다.

2. 연구 방법

1) 병리조직학적 검색: 10% 포르말린에 고정시켜 파라핀에 포매된 조직 절편을 통상적인 염색을 시행하며 광학 현미경으로 검색하였다. International Society of Gynecological Pathologist에 따른 조직학적 분류는 선암종(adenocarcinoma)이 46예, 편평상피화생이 동반된 선암종(adenocanthoma)이 2예, 분비성암종(secretory carcinoma)이 2예, 선편평세포암종(adenosquamous carcinoma)이 1예, 투명세포암종(clear cell carcinoma)이 1예였다. 종양은 핵의 이형성과 유사분열의 정도에 따라 1등급(고분화군), 2등급(중분화군), 3등급(저분화군)으로 나누었다.

1등급 : 핵은 규칙적이고 난원형이고 핵내 염색질은 미세하며 유사분열상은 드물다

2등급 : 핵이 다양한 모양과 크기이고 분명한 핵인을 가지며, 유사분열상이 자주 발견된다.

3등급 : 핵/세포질 비가 높고, 세포의 이형성이 아주 심하며 많은 유사 분열상이 발견된다. 선편평세포암종과 분비성 암종의 특징을 가지는 경우는 3등급으로 분류하였다.

2) 면역조직화학적 검색: 포르말린에 고정되어 파라핀에 포매된 조직을 4 μ m두께의 연속절편으로 만들어 다음과 같은 염색을 시행하였다.

(1) Bcl-2 측정: 단클론성 일차 항체(Bcl-2 Onco-protein, DAKO사)를 이용하여 Bcl-2 종양단백의 발

현 여부를 관찰하였다. 조직화학적 염색은 Streptavidin-Biotin Peroxidase Complex(ABC) 방법으로 Micro Probe™ system을 이용하여 염색하였다. 항원의 표출을 증가시키기 위하여 30분간 50~56°C의 항온기에서 가온시켜 xylene으로 탈파라핀한 조직절편을 점차로 희석한 알코올로 함수시켰다. 함수시킨 조직절편은 Auto Blocker(Research Genetics)에 2분간 반응시켜 내인성 과산화수소를 억제시킨 다음, 10배로 희석한 IMMUNO/DNA 완충액(Research Genetics)으로 수세하고 비특이적 결합을 억제하기 위해 Protein Blocker(Research Genetics)를 가하여 40°C에서 20분간 반응시켰다. 다시 10배로 희석한 IMMUNO/DNA 완충액으로 수세하고 희석한 일차항체(1:50로 희석)를 첨가하여 40°C에서 20분간 반응시켰다. 수세후 biotin과 결합한 이차항체(Universal Secondary Antibody, Research Genetics)를 4분간 40°C에서 반응시켰다. 수세후 Streptavidin HRP Detection System(Research Genetics)를 이용하여 40°C에서 5분간 반응시킨 후 diaminobenzidine(1mg/ml)으로 40°C에서 15분간 발색시킨 다음 Mayer's hematoxylin으로 대조염색하고 Universal Mount(Research Genetics)으로 봉입하였다.

(2) ER과 PR의 측정: 단클론성 일차 항체(estrogen receptor: DAKO, progesterone receptor: DAKO)를 이용하여 estrogen수용체와 progesterone수용체의 발현 여부를 관찰하였다. 면역조직화학적 염색은 labelled streptavidin biotin(LSAB) 방법으로 시행하였다. 항원의 표출을 증가시키기 위해 30분간 50~56°C의 항온기에 가온하여 xylene으로 탈파라핀한 후 함수시킨 절편을 전자렌지에서 5분간 미리 끓인 후 실온에서 약 20분간 식혔다. 표본을 Tris 완충액(0.05M, pH 7.6)에 10분간 담근 후 0.3% 과산화수소로 5분간 반응시켜 내인성 과산화수소를 억제시킨 다음, Tris 완충액으로 10분간 수세하고 정상 면양 혈청을 가하여 20분간 반응시켰다. 정상혈청을 제거한 다음 희석한 일차 항체들(estrogen 수용체, 1:50; progesterone 수용체, 1:10 희석)을 첨가하여 4°C의 항온기에 하룻밤 두었다. 다음날 Tris 완충액으로 수세하고 biotin과 결합한 항 새양귀 면양 혈청인 2차 항체로 20분간 반응시켰다. 수세후 avidin과 결합한 과산화효소 복합체를 가하여 20분간 반응시킨 후 diaminobenzidine(1mg/ml)으로 양성세포가 갈색으로 염색될 때까지 발색시켰다. Mayer's Hematoxylin으로 대조염색을 시행한 후 balsam으로 봉입하였다.

3) 면역조직화학적 염색의 판정: 시행한 면역조직화학적 염색의 판정은 염색된 세포의 백분율과 염

색의 강도를 이용하는 이중 등급계열로 평가하였다. Bcl-2는 세포질에 그리고 ER과 PR은 세포핵에 뚜렷히 갈색으로 염색되는 세포의 백분율이 5%이상일 때를 양성으로 간주하였다. 양성세포의 백분율이 5~30%일 때 1, 30~70%일 때 2, 그리고 70%이상일 때를 3으로 등급을 정하였다. 염색의 강도는 염색정도가 희미하면 1, 보통이면 2, 그리고 강할 때는 3으로 등급을 정하였다. 음성인 경우 염색된 세포의 백분율과 염색의 강도 모두 0점으로 계산하였다. 이러한 면역 조직화학적 결과 판정에 의한 양 등급의 점수의 합에 따라 3가지 군으로 나누었는데, I군은 점수의 합이 0~2점, II는 3~4점, 그리고 III군은 5~6점인 예들이다.

4) 통계학적 분석: Bcl-2 protein과 ER, PR 수용체의 발현상의 관계, 그리고 면역조직화학적 등급과 핵등급 및 임상 소견과의 관계를 비모수적 Spearman 서열 상관관계수 검정법으로 분석하였고, 유의 수준은 p-value 0.05 이하로 하였다.

성 적

환자의 연령 분포는 23세에서 71세로 평균 50.4세였고, 50대가 20예(38.5%)로 가장 많았다. 그 다음으로 60대가 12예(23.0%), 40대가 9예(17.3%)순으로 많은 빈도를 나타내었다(표 1). 연령별 분포와 이에 해당하는 증례들의 병리조직학적 핵등급, Bcl-2 종양단백, estrogen 그리고 progesterone 수용체의 면역조직화학적 등급사이에는 통계학적으로 유의한 상관성이 인정되지 아니하였다(p>0.05).

Bcl-2 종양단백과 estrogen 및 progesterone 수용체는 자궁내막 선상피 세포, 간질세포 그리고 평활근세포

Table 1. Relationship of age to nuclear grade

Age(Yr)	No.(%)	Nuclear grade		
		I	II	III
20~29	4(7.7)	2	0	2
30~39	6(11.5)	4	1	1
40~49	9(17.3)	4	3	2
50~59	20(38.5)	13	3	4
60~69	12(23.0)	5	5	2
70~79	9(1.9)	1	0	0
Total	52	29	12	11

p>0.05

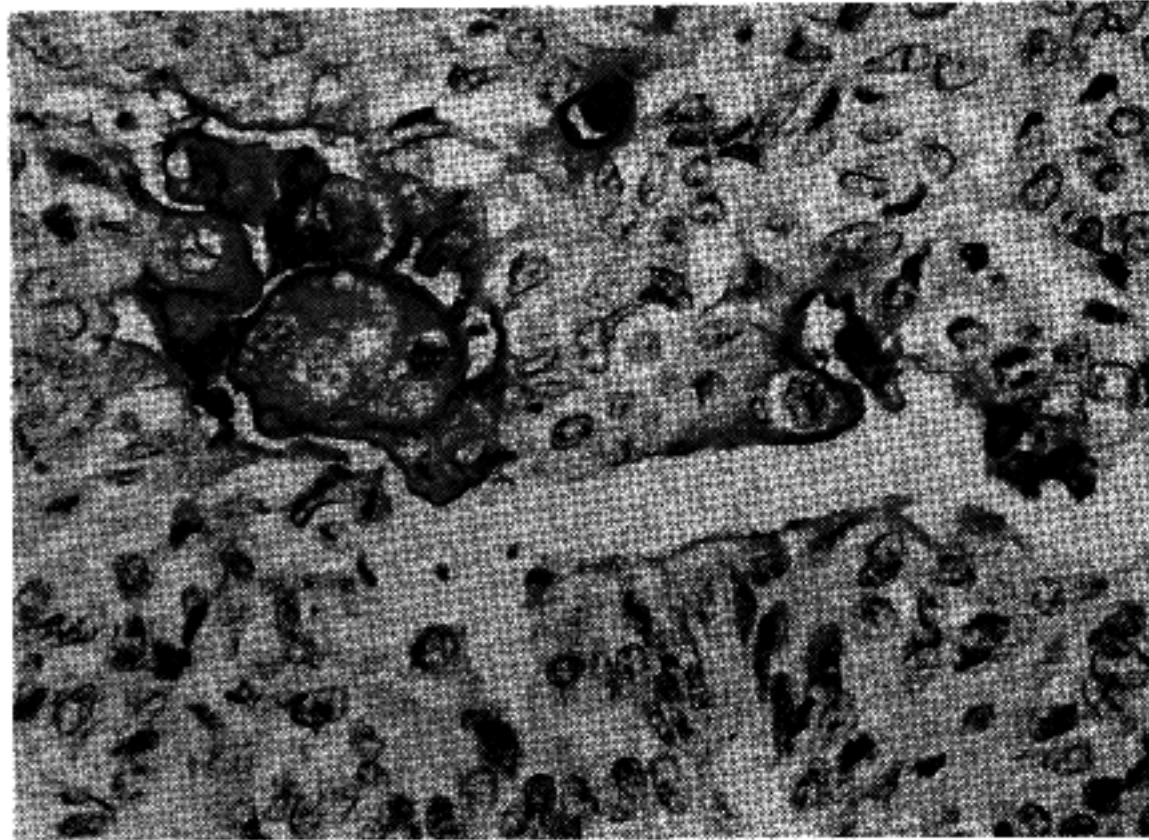


Fig. 1. Category II of cytoplasmic immunostaining for Bcl-2 (intensity of stained cells +3, percentage of stained cells +1) in nuclear grade II of endometrial carcinoma.

Table 2. Relationship between Bcl-2 categories and nuclear grade

Bcl-2 Category	Nuclear grade			Total
	I	II	III	
I	5(17.9%)	5(38.5%)	8(72.8%)	18
II	9(32.1%)	6(46.2%)	3(27.3%)	18
III	14(50.0%)	2(15.4%)	0(0%)	16
Total	28	13	11	52

$r_s = -0.521(p=0.00008)$

에서 표출되었다. 본 연구에서는 종양성 상피세포에서의 면역반응성에 관해서만 분석하였다.

Bcl-2에 대한 면역반응성은 자궁내막암종의 신상피세포의 세포질에서 미만성 혹은 과립상으로 염색되었다. 병리조직학적 핵등급이 낮은 종양일수록 Bcl-2 양성 세포의 수가 많이 관찰되었고 염색의 강도도 대체적으로 강하였다(그림 1). Bcl-2 면역조직화학적 등급과 병리조직학적 핵등급사이를 통계적으로 비교한 성적을 표2에서 보면 Bcl-2 등급별 빈도는 각각 18예, 18예 및 16예였고, 핵등급별 빈도는 28예, 13예 및 11예로서 양등급별 빈도사이에 Spearman 서열 상관계수 r_s 가 $-0.521(p=0.00008)$ 로서 매우 유의한 부의 상관성이 인정되었다. 이들 중 28예(53.9%)는 양 등급별 성적이 부의 상관관계에 잘

부합되었고, 19예(36.5%)는 Bcl-2 등급이 핵등급보다 낮았으며, 5예(9.6%)는 Bcl-2 등급이 핵등급보다 높았다. Bcl-2 등급이 높은 종례들은 핵등급이 낮아서 양자의 부의 상관성이 유의적이라는 성적을 더욱 뒷받침하였다.

Estrogen 및 progesterone 수용체에 대한 면역반응성은 핵내에서 미만성 혹은 과립상으로 염색되었다. 병리조직학적 핵등급이 낮은 종양일수록 이들 호르몬 수용체에 대한 양성세포의 수와 염색강도가 더 증가하는 경향이였다(그림 2, 3). Estrogen 및 progesterone 수용체의 면역조직화학적 등급과 병리조직학적 핵등급사이를 비교한 성적은 표3에 제시하였다. 이 표를 보면 estrogen I등급은 20예, II 등급은 15예, III 등급은 17예로 estrogen 수용체 등급과 핵등급사이의 Spearman 서열 상관계수 r_s 는 $-0.707(p=0.00000)$ 이었다. 따라서 양 등급별 빈도 사이에는 유의적인 부의 상관관계가 있다고 할 수 있다. 이들 중 31예(59.6%)는 양 등급별 성적이 부의 상관관계에 부합되었고, 19예(36.5%)는 estrogen 수용체 등급이 핵등급보다 낮았으며, 2예(3.9%)는 estrogen 등급이 핵등급보다 높았다. Progesterone 수용체 등급을 표3에서 살펴보면 I등급은 13예, II등급은 17예, III등급은 22예로 progesterone 수용체 등급과 핵등급 사이의 Spearman 서열 상관계수 r_s 는 $-0.629(p=0.00000)$ 로 유의한 부의 상관관계가 인정되었다. 33예(63.5%)는 양등급별 빈도가 부의 상관관계에 잘 부합되었고, 13예(26.0%)는 progesterone 수용체 등급이 핵등급보

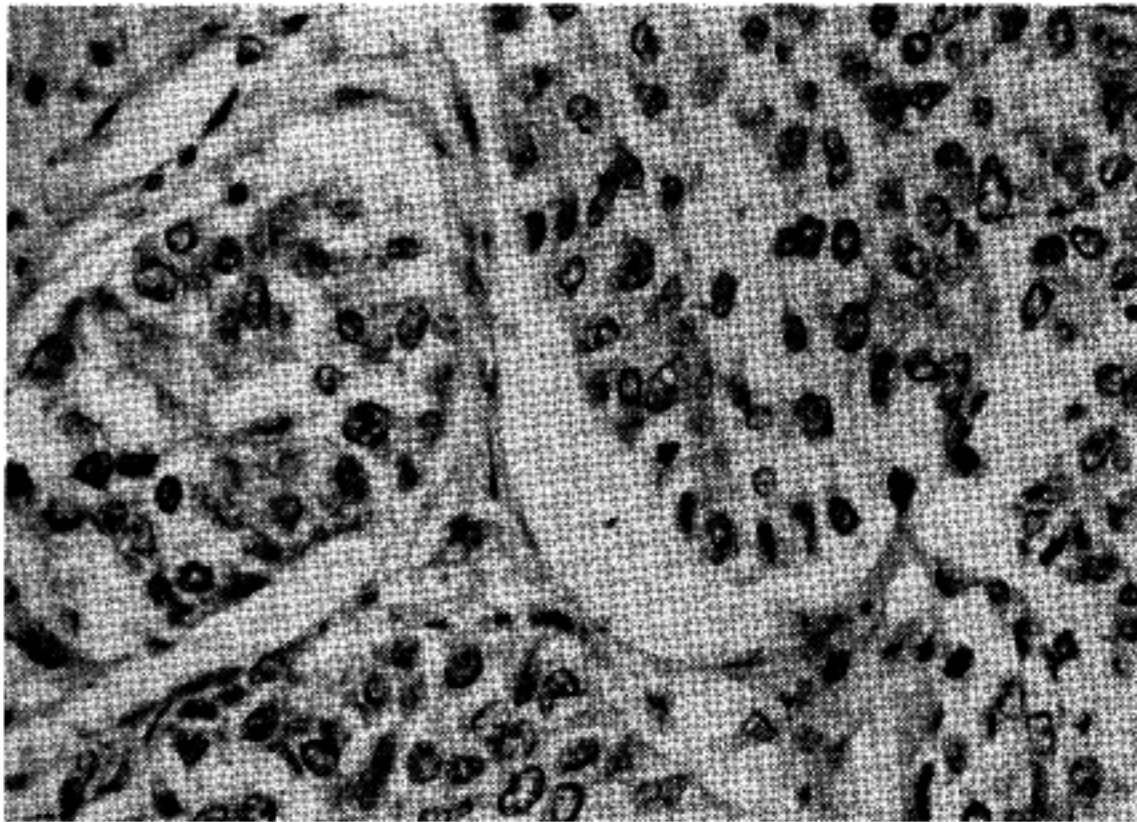


Fig. 2. Category II of nuclear immunostaining for estrogen receptor(intensity of stained cells +2, percentage of stained cells +2) in nuclear grade II of endometrial carcinoma.

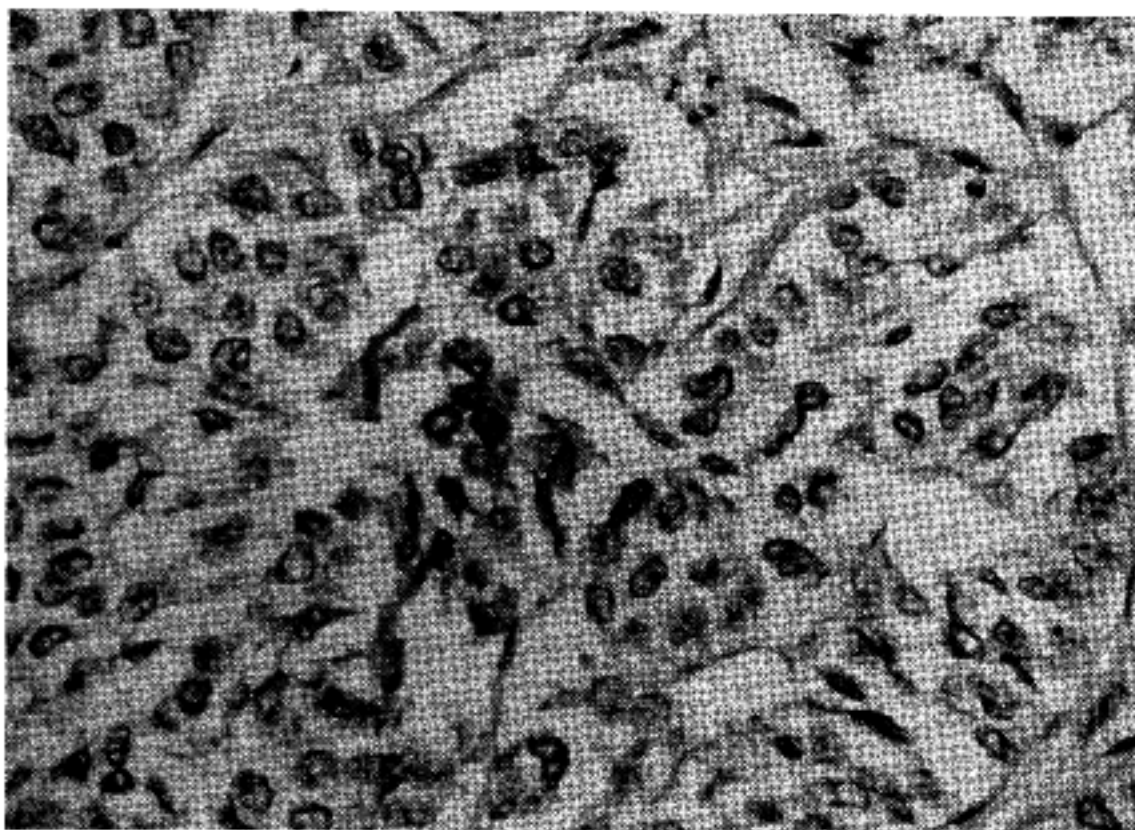


Fig. 3. Category II of nuclear immunostaining for progesterone receptor(intensity of stained cells -2, percentage of stained cells -1) in nuclear grade II of endometrial carcinoma.

다 낮았으며, 6예(1.5%)는 progesterone 수용체 등급이 색등급보다 높았다. 이들 호르몬 수용체의 등급이 높은 종례들은 대체적으로 색등급이 낮은 종례들과 전 대응하이 양 등급들 사이에 좋은 부의 상관성이 있음을 알 수 있었다.

Bcl-2 등급과 estrogen 및 progesterone 수용체 등급간의 상지를 비교한 성적은 표4에서 보는 바와 같

다. Bcl-2 등급과 estrogen 수용체 등급사이의 Spearman 서열 상관계수 r_s 는 0.525($p=0.00006$)로서 유의적인 정의 상관성이 있고, 양자의 등급이 일치하는 것은 28예(53.8%)로 과반수 이상을 차지하였다. 또한 Bcl-2 등급과 progesterone 수용체 등급사이의 Spearman서열 상관계수 r_s 는 0.519($p=0.00008$)로서 역시 유의적인 정의 상관성이 인정되었다. 그중 29예

Table 3. Relationship between ER/PR categories and nuclear grade

ER/PR category	Nuclear grade					
	I		II		III	
	ER(%)	PR(%)	ER(%)	PR(%)	ER(%)	PR(%)
I	3(10.7)	2(7.1)	8(61.5)	5(38.5)	9(81.8)	6(54.5)
II	8(8.6)	6(21.4)	5(38.5)	7(53.8)	2(18.2)	4(36.4)
III	17(60.7)	20(71.4)	0(0)	1(7.7)	0(0)	1(9.1)
Total	29	28	13	13	11	11

Nuclear Grade : Estrogen Category

$r_s = -0.707(p=0.00000)$

Nuclear Grade : Progesterone Category

$r_s = -0.629(p=0.00000)$

Table 4. Relationship between Bcl-2 and ER/PR categories

ER/PR category	Bcl-2 category					
	I		II		III	
	ER	PR	ER	PR	ER	PR
I	10	7	8	6	2	0
II	7	7	6	8	2	2
III	1	4	4	4	12	14
Total	18	18	18	18	16	16

Bcl-2 Category : Estrogen Category

$r_s = 0.525(p=0.00006)$

Bcl-2 Category : Progesterone Category

$r_s = 0.519(p=0.00008)$

(55.8%)에서 양자의 등급이 일치하였다. Bcl-2 등급과 estrogen 그리고 progesterone 수용체 등급이 일치하지 않는 예들에서도 Bcl-2 높은 등급의 예들은 estrogen과 progesterone 높은 등급과 비교적 잘 대응되었다.

고 찰

Bcl-2 유전자는 bcl-2 α (26kd)와 bcl-2 β (21kd) 단백을 암호화하는 두개의 axon들로 구성되어 있다⁴. 이것은 염색체의 전좌 t(14:18)와 연관되어 있고, Epstein-Barr virus BHRF 1 유전자와 동종 관계¹¹라는 것이

알려져 원종양유전자로 인식된다^{3,4}. Bcl-2는 다른 원종양유전자와는 다른 독특한 특징을 가지는데, 첫째, 세포 표면이 아닌 세포내 즉, 미토콘드리아의 내막에 주로위치하는 membrane-spanning protein이며, 둘째, apoptosis를 억제함으로써 세포의 생존을 연장시킨다¹².

Bcl-2의 작용에 염색체의 전좌 t(14:18)에 특이성이 있다고 제시되었으나¹² 최근에는 이외에 다른 여러 인자들의 상호 작용에 의하여 Bcl-2 단백질 과생성 되는 것으로 알려져있다^{13,14}. 그 중에서 근래에 Bcl-2의 호르몬 의존성 조절 가능성에 대한 관심이 고조되면서 호르몬 반응성인 종양에서의 Bcl-2발현에 대한 보고들이 증가하고 있다. 전립선암에서의 Bcl-2의 발현은 Colomhel등¹⁶에 의하면 호르몬 치료에 저항성인 경우에 보다 더 높은 비율로 발현되었으며 따라서 Bcl-2는 종양 세포들이 androgen이 결핍된 환경에서 생존할 수 있는 능력을 길러 줄 것이라고 추측하였다. 또한 McDonnell등¹⁷의 보고를 보면 정상과 비후된 비종양성 전립선에서의 Bcl-2 발현은 기저층에 국한하여 나타나는 반면 전립선 암에서는 전상피층에서 관찰할 수 있었다. 이 중에서 호르몬 치료에 반응하지 않는 증례, 즉, androgen 비의존성 전립선 암에서는 Bcl-2가 모두 양성으로 나타났고, 따라서 Bcl-2의 발현은 호르몬 치료에 저항성을 나타내는 표지자로 이해되었다. 한편 유방암에서도 이와 유사한 연구들이 이루어졌는데 Bhargava등²¹은 유방암에서 Bcl-2의 면역반응성은 분화가 좋은 암종일수록 높은 빈도로 나타나며, 이는 ER과 PR의 존재와 정의 관계가 있다고 하였다. Leek등²²은 Bcl-2 발현 빈도는 ER 발현빈도와는 정의 관계가 있으며,

EGFR, p53 그리고 C-erb B-2 발현빈도들과는 부의 관계가 있다고 하였다. 즉, 유방암에서의 Bcl-2 발현의 상실은 예후가 불량한 표지자의 하나로 추측되며 estrogen 음성 그리고 EGFR 양성 표현군과 연관성이 높다. 따라서 근래의 이 방면의 보고들을 종합해보면 Bcl-2 발현은 전립선과 같은 androgen 반응성 조직에서는 부의 상관관계를, 그리고 유방과 같은 estrogen 반응성인 조직에서는 정의 상관 관계를 갖는 것으로 이해되어진다.

저자들의 연구에서 보면 자궁내막암종에서 Bcl-2의 면역조직화학적 등급은 핵등급과 좋은 부의 상관관계를 나타내었으며 이러한 Bcl-2의 면역 반응성은 ER과 PR과는 좋은 정의 상관관계가 있었다. 즉, 핵등급이 낮은 분화가 좋은 암종에서 Bcl-2와 ER, PR의 면역 조직화학적 등급이 높게 나타났는데 이러한 결과는 이 방면의 연구가 보고된 바 없어 명확한 비교는 어렵지만 비교적 유사한 성상을 가지는 유방암에서의 보고^{21,22}와는 잘 부합되었다. Bcl-2는 태아와 성인의 자궁내막과 자궁근층에서는 비슷한 정도로 발현되어지지만²⁵, 간질조직에서는 태아 조직이 성인 조직보다 훨씬 강하게 염색된다. 이것은 아마도 Bcl-2가 자궁내막의 세포 수명에 관계하며 이러한 조직에서의 항상성과 형태발생에 중요한 역할을 하는 것으로 믿어진다²⁸. Otsuki등²⁷은 정상 월경 주기 동안 Bcl-2의 발현은 증식기부터 초기 분비기까지 나타나며 후기 분비기에 이르러 사라지고 또 Bcl-2 발현이 소실되는 후기 분비기때 선상피에서 apoptotic cell이 관찰되었다고 하였다. 따라서 이들은 Bcl-2가 estrogen 및 progesterone과 유사하게 순환성을 가지며 그 발현에 있어 난소 호르몬의 영향을 받는다고 주장하였다. 또한, Gompel등²⁸은 자궁내막선의 분비 기능이 시작될 때 Bcl-2 발현이 소실되는 것으로 보아 Bcl-2의 발현이 호르몬 의존성 조절에 영향을 받는다고 하였다. 본 연구의 성적을 보면 정상 자궁내막에서와 마찬가지로 자궁내막암에서의 Bcl-2는 그 발현에 있어 estrogen과 progesterone 의존성 조절을 받는다고 믿어진다.

Estrogen과 progesterone은 다른 steroid 호르몬들과 같이 세포내에 들어가서 거기의 특수 수용체 단백질과 결합한다. 그 결과 형성된 estrogen 수용체 복합체는 여러가지 유전자의 전사가 시작되는 regulatory DNA regions와 연결되고 여기서 일어나는 여러 단백질의 생성은 DNA합성과 세포성장을 조절하는데 관여한다. Estrogen은 2차 전령으로서 성장인자들을 통해 종양 증식을 자극한다. Progesterone은 세포의 분화에 관여한다. Progesterone 합성은 estrogen의

자극에 의존하며 progesterone 측정은 표적세포에 대한 estrogen 기능의 한 표식자로 사용할 수 있다. 이제까지 많은 학자들에 의하여 자궁내막암의 발생과 치료 및 예후 추정 인자로서의 ER과 PR에 관한 보고들이 이루어졌다³¹⁻⁴⁶. 이들은 ER과 PR이 조직학적 등급과 부의 관계가 있다고 하였고 저자들의 연구내용도 여기에 부합되었다. 본 연구에서 estrogen과 progesterone의 면역반응성은 핵등급이 낮은 분화가 좋은 종양에서 염색의 정도가 강하였으며 ER과 PR등급들 상호간에도 좋은 정의 상관관계가 있었다. 그러나 예외적으로 몇몇 보고들에서는 조직학적 등급과 호르몬 수용체 사이에는 아무런 상관성이 없다고 하였다³⁶. 대체적으로 ER/PR 양성 종양은 음성 종양보다 재발이 적고 예후가 좋으나 환자의 나이나 종양의 침습성 정도와는 상관성이 없는 것으로 보고되어지고 있다³¹⁻³⁵.

저자들의 성적과 문헌고찰을 종합해 보면 자궁내막에서 Bcl-2는 apoptosis를 억제하여 세포 수명을 연장시킬 뿐 아니라 항상성과 형태 발생에 중요한 역할을 담당할 것이며, 그 조절에 호르몬과 밀접한 관련이 있는 것으로 이해된다. 즉 Bcl-2의 면역반응성은 estrogen과 progesterone과는 정의 상관관계를 보여 자궁내막암에서의 호르몬에 의한 조절 가능성을 시사하는 바가 매우 크며 Bcl-2와 ER 및 PR 모두가 핵등급과는 부의 상관관계를 보여 종양의 분화도에 따른 유의적인 차이를 나타내었다. 따라서 Bcl-2는 ER 및 PR과 더불어 자궁내막암의 발생과 치료 및 예후의 추정 인자로서 의의가 있을 것으로 믿어진다.

결 론

자궁내막암종에서 Bcl-2의 발현과 호르몬 의존성 조절 및 핵등급과의 상관성을 알아보기 위하여 본 연구를 시도하였다. 면역조직화화학염색법을 이용하여 52예의 자궁내막암종에서 Bcl-2와 estrogen 수용체(ER) 및 progesterone 수용체(PR)의 면역반응성을 조사한 후, Bcl-2와 호르몬 수용체와의 상관성을 핵등급에 따라 조사하여서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Bcl-2의 면역조직화학적 등급은 핵등급이 낮은 분화도가 좋은 증례일수록 높게 발현되어 두 등급들 사이에는 통계학적으로 유의한 부의 상관 관계를 보였다.

2) ER 및 PR의 면역조직화학적 등급과 핵등급 사이에도 역시 통계학적으로 유의한 부의 상관관계를 보였고, ER과 PR 등급들 상호간에도 유의있는 상관

성이 인정되었다.

3) Bcl-2와 호르몬 수용체의 면역조직화학적 등급들 사이에는 통계학적 으로 매우 유의한 상관관계를 보였다.

위에 기술한 성적에 의거하여 자궁내막암종에서 Bcl-2 발현은 호르몬 의존성 조절을 받으며, 호르몬 수용체와 더불어 예후 판정 및 치료 대상 선별에 사용되어 질 수 있음을 시사하였다.

참 고 문 헌

- Hockenbery D, Nunez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990; 348: 334-6.
- Vaux DL, Cory S, Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature* 1988; 335: 440-2.
- Bakhshi A, Jensen JP, Goldman P, et al. Closing the chromosomal breakpoint of t(14;18). human lymphomas: clustering around J_H on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18. *Cell* 1985; 41: 899-906.
- Cleary ML, Smith SD, Sklar J. Cloning and structural analysis of cDNAs for bcl-2 and a hybrid bcl-2 immunoglobulin transcript resulting from the t(14;18) translocation. *Cell* 1986; 47: 19-28.
- Graninger WB, Seto M, Boutain B, Goldman P, Korsmeyer SJ. Expression of bcl-2 and bcl-2 fusion transcripts in normal and neoplastic cells. *J Clin Invest* 1987; 80: 1512-5.
- Chen-Leavy Z, Nourse J, Cleary ML. The bcl-2 candidate proto-oncogene product is a 24-kilodalton integral-membrane protein highly expressed in lymphoid cell lines and lymphomas carrying the t(14;18) translocation. *Mol Cell Biol* 1989; 9: 701-10.
- Tsujimoto Y, Gorham J, Cossman J, Jaffe E, Croce CM. The t(14;18) chromosome translocations involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining. *Science* 1985; 229: 1390-3.
- 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 USA* 1986; 83: 5214-8.
- Cleary ML, Sklar J. Nucleotide sequence of a t(14;18) chromosomal breakpoint in follicular lymphomas and demonstration of a breakpoint-cluster region near a transcriptionally active locus on chromosome 18. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 7439-43.
- Bakhshi A, Wright JJ, Graninger WB, et al. Mechanism of the t(14;18) translocation: structural analysis of both derivative 14 and 18 reciprocal partners. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 2396-2400.
- 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.
- Ngan BY, Chen-Levy Z, Weiss LM, Waenke RA, Cleary ML. Expression in non-Hodgkin lymphoma of the bcl-2 protein associated with the t(14;18) translocation. *N Engl J Med* 1988; 318: 1638-44.
- Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL, Dulford KAF, Gatter KC, Mason DY. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *Am J Pathol* 1990; 137: 225-32.
- Nunez G, London L, Hockenbery D, Alexander M, Mckearn JP, Korsmeyer SJ. Deregulated Bcl-2 gene expression selectively prolongs survival of growth factor-deprived hemopoietic cell lines. *J Immunol* 1990; 144: 3602-10.
- Pezzella F, Turley H, Kuzu L, et al. Bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 690-4.
- Colombel M, Symmans F, Gil S, et al. Detection of the apoptosis-suppressing oncoprotein Bcl-2 in hormone refractory human prostate cancers. *Am J Pathol* 1993; 143: 390-400.
- McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM, et al. Expression of the emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 6940-4.
- Lu QL, Elia G, Lucas S, Thomas JA. Bcl-2 proto-oncogene expression in Epstein-Barr-virus-associated nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer* 1993; 53: 29-35.
- Reed JC, Meister L, Tanaka S, et al. Differential expression of bcl-2 protooncogene in neuroblastoma and other human tumor cell lines of neural origin. *Cancer Res* 1991; 51: 6529-38.
- Pilotti S, Collini P, Rilke F, Cattoretti G, Del Bo R, Pierotti MA. Bcl-2 protein expression in carcinomas originating from the follicular epithelium of the thyroid gland. *J Pathol* 1994; 172: 337-42.
- Bhargava V, Kell DL, Rijn M, Warnke RA. Bcl-2 immunoreactivity in breast carcinoma correlates with hormone receptor positivity. *Am J Pathol* 1994; 145: 535-40.
- Leek RD, Kaklamanis L, Pezzella F, Gatter KC, Harris AL. Bcl-2 in normal breast and carcinoma, association with oestrogen receptor -positive, epidermal growth factor receptor-negative tumours and in situ cancer. *Br*

- J Cancer 1994; 69: 135-9.
23. Lebrun DP, Warnke RA, Cleary ML. Expression of Bcl-2 in fetal t tissue suggests a role in morphogenesis. *Am J Pathol* 1993; 143: 390-400.
 24. Hockenbery DM, Zutter M, Hickey W, Nahm M, Korsmeyer SJ. Bcl-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 6961-5.
 25. Lu QL, Poulson R, Wong L, Hanby AM. Bcl-2 expression in adult and embryonic nonhematopoietic tissues. *Am J Pathol* 1993; 169: 431-7.
 26. Monaghan P, Robertson D, Amos TAS, Dyer MJS, Mason DY, Greaves MF. Ultrastructural localization of BCL-2 protein. *J Histochem Cytochem* 1992; 40: 1819-25.
 27. Otsuki Y, Misaki O, Sugimoto O, Ito Y, Tsujimoto Y, Akao Y. Cyclic bcl-2 gene expression in human uterine endometrium during menstrual cycle. *Lancet* 1994; 344: 28-9.
 28. Gompel A, Sabourin JC, Martin A, et al. Bcl-2 expression in normal endometrium during the menstrual cycle. *Am J Pathol* 1994; 144: 1105-12.
 29. Hoopwood D, Levison DA. Atrophy and apoptosis in the cyclical human endometrium. *J Pathol* 1975; 119: 159-66.
 30. Vihko R, Janne O, Kauppila A. Steroid receptors in normal, hyperplastic and malignant human endometrium. *Ann Clin Res* 1980; 12: 208-15.
 31. Kauppila A, Isotalo HE, Kivinen ST, Vihko R. Prediction of clinical outcome with estrogen and progesterone receptor concentration and their relationships to clinical and histopathological variables in endometrial cancer. *Cancer Res* 1986; 46: 5380-4.
 32. Creasman WT, Soper JT, McCarty K Jr, McCarty K Sr, Hinshaw W, Clarke-Pearson DL. Influence of cytoplasmic steroid receptor content on prognosis of early stage endometrial cancer. *AM J OBSTET GYNECOL* 1985; 151: 922-32.
 33. Ehrlich CE, Young PCM, Stehman FB, Sutton GP, Alford WM. Steroid receptors and clinical outcome in patients with adenocarcinoma of the endometrium. *AM J OBSTET GYNECOL* 1988; 158: 796-807.
 34. Palmer DC, Muir IM, Alexander AI, Cauchi M, Bennett RC, Quinn MA. The prognostic importance of steroid receptors in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1988; 72: 388-93.
 35. Liao BS, Twiggs LB, Leung BS, Yu WCY, Porish RA, Prem KA. Cytoplasmic estrogen and progesterone receptors as prognostic parameters in primary endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 1986; 67: 463-7.
 36. Chambers JT, MacLusky N, Eisenfield A, Kohorn EI, Lawrence R, Schwartz PE. Estrogen and progesterone receptor levels as prognosticators for survival in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1988; 31: 65-77.
 37. Utaaker E, Iversen OE, Skaarland E. The distribution and prognostic implications of steroid receptors in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol* 1987; 28: 89-100.
 38. Carcangiu ML, Chambers JT, Voynik IM, et al. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 247-54.
 39. Cahmbers JT, Carcangiu ML, Voynik IM, Schwartz PE. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 255-60.
 40. Ehrlich CE, Young PCM, Cleary RE. Cytoplasmic progesterone and estradiol receptors in normal, hyperplastic, and carcinomaous endometria: therapeutic implications. *AM J OBSTET GYNECOL* 1981; 141: 539-46.
 41. Bergeron C, Ferenczy A, Shyamala G. Distribution of estrogen receptors in various cell types of normal, hyperplastic, and neoplastic human endometrial tissue. *Lab Invest* 1988; 58: 338-45.
 42. Thornton JG, Wells M. Oestrogen receptor in glands and stroma of normal and neoplastic human endometrium: a combined biochemical, immunohistochemical and morphometric study. *J Clin Pathol* 1987; 40: 1437-42.
 43. Press MF, Udove JA, Greeme GL. Progesterone receptor distribution in the human endometrium. *Am J Pathol* 1988; 131: 112-24.
 44. Soper JT, Segreti EM, Novotny DB, Much D, Creasman WT, McCarty KS Jr. Estrogen and progesterone receptor content of endometrial carcinoma: comparison of total tissue versus cancer component analysis. *Gynecol Oncol* 1990; 36: 363-8.
 45. Kleine W, Maier T, Geyer H, Pfeleiderer A. Estrogen and progesterone receptors in endometrial cancer and their prognostic relevance. *Gynecol Oncol* 1990; 38: 59-65.
 46. Nyholm HCJ, Nielsel AL, Lyndrup J, Norup P, Thorpe SM. Biochemical and immunohistochemical estrogen and progesterone receptors in adenomatous hyperplasia and endometrial carcinoma; Correlations with stage and other clinicopathologic features. *AM J OBSTET GYNECOL* 1992; 167: 1334-42.