

위암의 진행 및 전이와 관련된 유전자 - CD44H, CD44v6, erbB-2, p53 - 단백질의 발현에 관한 연구

동아대학교 의과대학 마취과학교실 및 병리학교실*

주성우 · 진영준 · 김대철* · 허기영* · 홍숙희*

Expression Pattern of Tumor Progression and Metastasis-related Gene Proteins - CD44H, CD44v6, erbB-2, and p53 - in Gastric Carcinoma

Sung Woo Joo, M.D., Young Jhoon Chin, M.D., Dae Cheol Kim, M.D.
Gi Yeoung Huh, M.D. and Sook Hee Hong, M.D.

Department of Anesthesiology and Pathology, Dong-A University Medical Collage

Immunohistochemical studies of the molecules associated with gastric tumor progression and metastasis were done to evaluate their relationship with known prognostic factors and their usefulness in assessment of the progression of gastric carcinoma in 127 gastric carcinoma tissues. The 4 antibodies used in this study were CD44H, CD44v6, erbB-2, and p53.

The CD44H expression was detected in 76 (59.8%), CD44v6 in 63 (49.6%), erbB-2 in 18 (14.2%), and mutant p53 in 98 (77.2%) out of 127 cases of gastric carcinomas. There was no significant correlation between the expression rates of each four proteins. The expression rates of all 4 proteins were not significantly correlated with age and sex of the patients and lymph node metastasis, but the correlation between CD44v6 expression and the depth of tumor invasion and tumor stage was significant ($p < 0.05$).

These results suggest that CD44v6 is closely associated with tumor invasion, and high levels of CD44H, erbB-2 and p53 are associated with tumorigenesis of the stomach as they are highly expressed in early as well as in advanced gastric carcinomas. The findings also support the conclusion that the loss of control of alternative CD44 mRNA splicing resulted in production of CD44v6 splicing variant in tumor cell facilitates tissue invasion by increased adherence of the tumor cell to an extracellular matrix or by tumor cell migration. It can be expected that CD44v6 overexpression in tumor cells appears to be an important prognostic indicator for gastric tumor progression. (Korean J Pathol 1996; 30: 751~763)

Key Words: CD44, Cell adhesion molecule, Stomach cancer, Metastasis, Prognosis

접 수 : 1996년 1월 3일, 게재승인 : 1996년 3월 23일

주 소 : 부산시 서구 동대신동 3가 1, 우편번호 602-103

동아대학교 의과대학 병리학교실, 홍숙희

*이 논문은 1996년도 동아대학교 학술연구조성비(일반과제)에 의하여 연구되었음.

서 론

암환자의 일차치료의 실패와 이에 따른 주 사망 원인은 종양의 전이성 과종 때문이다¹. 따라서 종양의 전이능력을 포함하여 종양의 생물학적 특성과 악성도를 예측할 수 있는 지표를 찾아내는 것이 종양 연구의 중요한 목적 중의 하나이며 환자 관리에 있어서도 매우 중요한 사항이다.

전이는 원발성 종양이 성장하는 초기부터 연속적 단계를 밟아 종양세포와 숙주의 여러 인자가 관여하는 매우 복잡한 과정을 거쳐 일어난다. 최근에는 조직의 구조와 분화를 정착시키는데 중요한 열쇠가 되는 세포 부착분자들이 전이와 연관이 있다고 알려지고² 이들의 역할에 대한 연구 결과를 종합하여 몇 가지의 전이 기전이 제시되고 있지만, 종양이 발생하였을 때 전이의 형을 조정하고 결정하는 근본적인 과정은 아직 확실히 밝혀져 있지 않다. 하지만 종양 성장과 전이에 integrin², CD44³⁻⁵, ICAM-1⁶이 상관관계가 있고 또 전이병소 형성과 환자의 생존을 등과 같은 종양의 최종 결과와 연관성이 있다는 것이 보고되면서, 몇 종양에서는 이 유전자들의 발현 유무가 예후 추정 인자로서의 이용 가능성에 대해 논란이 되고 있다.

저자들은 특히 우리나라에서 전체 악성 종양 중 가장 빈번한 발생빈도를 보이고 암사망의 수위를 차지하고 있는 위암에서⁷ 세포표면 부착분자들 중에서 lymphocytes homing receptor인 CD44 (HCAM, homing cellular adhesion molecule)^{3,4}와 그 이형인 CD44v6⁵ 유전자 산물이 위암의 진행과 전이에 어떠한 영향을 주는지를 알아보고자 위암조직에서 이 두 물질을 면역조직화학적 방법으로 검출하여, 이들의 발현이 위암의 예후와 관련있는 것으로 알려져 있는 종양유전자 중 성장인자 수용체인 erbB-2⁸⁻¹²와 또 종양억제유전자인 p53¹³⁻²⁰ 단백질 발현과 상관관계를 살펴보고, 또 임상 병리학적 소견과 비교하여 이들이 위암의 예후 추정인자로서의 가치가 있는지를 알고자 본 연구를 시도하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

본 실험에 사용된 연구 대상은 1993년 1월부터 1994년 12월까지 2년간 동아대학교병원에서 전위절제술 및 아전위절제술로 얻어진 위장 조직 중 선암종으로 진단된 127예를 택하였다. 모든 예의 hema-

toxylin-eosin 염색표본을 재검색하고 종양을 대변할 수 있는 대표적인 파라핀 포매 블럭을 선택하여 면역조직화학적 염색을 시행하였다.

2. 연구 방법

1) **임상 기록:** 환자의 임상기록지로부터 나이, 성별, 병기, 림프절 전이 및 원격 전이 유무를 조사하였다. 임상 병기는 AJCC²¹에 기준하여 분류하였다.

국소 림프절은 각 군 별로 분리하여 보내진 예는 별로 없어 N1, N2, N3 로 구분하기 곤란하여 림프절 전이가 없는 n(-)는 52예 (40.9%), 림프절 전이가 있는 n(+)는 75예 (59.1%)이었다. 원격전이는 19예 (15%)로서 복막, 횡장, 간, 장간막, 대동맥, 난소 등으로 전이를 일으켰고, 모두에서 림프절 전이를 동반하고 있었다.

2) **병리조직학적 검색:** 병리조직 검사를 위해 의뢰되었던 조직의 육안 및 현미경 소견을 기록하였다. 위암종의 조직학적 분류는 WHO 분류를 기준으로 하여 대한병리학회에서 마련한 위암의 병리학적 취급규정시안에 따라 분류하였다²².

3) **면역조직화학적 염색방법:** CD44 단백질 검출을 위해서 mouse monoclonal antibody NCL-CD44 (Novocastra Laboratories Ltd, UK)를 40배 희석하고, CD44 이형 검출을 위해서는 anti-human CD44 variant 6 monoclonal antibody (R&D Systems, U.S.A)를 500배 희석하여 사용하였다. c-erbB-2 단백질은 mouse monoclonal antibody NCL- CB11 (Novocastra Laboratories Ltd, UK)를 80배 희석하여 사용하였고, p53 단백질은 monoclonal mouse anti-human p53 protein (DAKO-p53, DO-7) (DAKO, Denmark)를 50배 희석하여 사용하였다.

이들 단백질에 대한 면역조직화학적 염색 방법은 다음과 같다.

파라핀 포매 조직을 4 μ m 두께로 잘라 Probe-on 슬라이드에 부착하여 파라핀을 제거한 후 여러단계의 알코올을 거쳐 합수시킨다. 전처리과정으로 0.01 M sodium citrate buffer(pH 6.0)가 담긴 스텐레스 압력솥안에서 슬라이드를 2~3분 정도 짧은 시간에 고온처리하였다. PBS 완충액으로 씻은 후 3% H₂O₂를 떨어뜨려 5분간 두어 내인성 peroxidase 활동을 저지시키고 면양 혈청에 5분간 접촉시켜 비특이적 항체 결합을 억제시켰다. 희석한 일차 항체를 떨어뜨려 습윤 상태에서 4°C 냉장고 안에서 밤새 두어 반응시킨 후 PBS 완충액으로 5분간 2번 씻는다. 2차 항체인 biotinylated polyvalent antibody로 30분간 반응시켜 PBS완충액으로 씻은 후 streptavidine per-

oxidase로 30분간 염색하였다. 다시 PBS완충액으로 씻고 발색시약(AEC)으로 10분간 염색한 후 물로 세척하고 hematoxylin으로 3분간 대조염색을 한 후 다시 물로 씻고 crystal mount로 봉입하여 현미경으로 검정하였다.

3. 면역조직화학적 염색의 판독 및 등급 판정

종양조직에서 양성으로 염색되는 종양세포 수를 반정량적인 방법으로 네 등급으로 나누었는데, 종양세포 전부가 염색이 안되거나 종양세포의 5% 미만에서 염색된 경우는 음성으로 판독하였고, 종양세포 중 5%부터 33%에서 양성반응을 보이면 1점, 34%부터 66%까지 염색되면 2점, 67%이상의 종양세포가 염색되면 3점으로 하였다. 또 양성 반응의 강도는 1, 2, 3점으로 나누었다.

각 예의 종양조직에서 반정량적 점수와 양성 강도를 곱하여 나오는 1부터 9점까지 수치를 다시 세 등급으로 나누어 1, 2점은 +(약양성), 3, 4점은 ++(중등도 양성), 6, 9점은 +++(강양성)으로 하여 최종 등급을 정하였다.

CD44H는 세포질내 과립으로 혹은 세포막을 따라 적갈색으로 염색되었는데 양성 종양세포들은 대부분 강양성 반응을 보였다. CD44v6는 세포막을 따라 적갈색으로 염색되었는데 양성 반응의 강도는 다양하였다. 대부분의 erbB-2 양성세포는 약양성 반응을 보였다. p53은 핵에서 적갈색으로 염색되었는데 강양성 반응을 보이는 예가 많았다(Table 1) (Fig. 1-4).

각 염색에서 양성반응의 빈도의 비교 분석은 IBM-PC의 SAS system을 이용하여 Spearman상관계수를 구하여 상관관계를 알아보고, chi-square 혹은 Mantel-Haenszel chi-square test를 이용하여 검토하여 p 값이 0.05 이하일 때 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

연구 결과

1. 환자의 임상적 특성 (Table 2)

총 127예의 위암 환자의 연령 분포는 27세부터 82세까지이었으며 평균 연령은 54.6세이었다. 그중 50대군이 46명 (36.2%), 60대군이 32명 (25.2%)으로 50~60대군이 약 삼분의 이를 차지하여 가장 많았다. 남자는 87예 (68.5%)이었고 여자는 40예 (31.5%)로 남녀 비는 약 2.2:1 이었다. 나이와 성별에 따른 CD44H, CD44v6, erbB-2, p53 단백질의 발현빈도의 차이는 통계적 유의성이 없었다(p>0.05).

Table 1. The immunohistochemical staining pattern

Grade of immunoreactivity	CD44H No.(%)	CD44v6 No.(%)	erbB-2 No.(%)	p53 No.(%)
Negative	51 (40.2)	64 (50.4)	109 (85.8)	29 (22.8)
Positive	76 (59.8)	63 (49.4)	18 (14.2)	98 (77.2)
+	6 (4.7)	18 (14.2)	15 (11.8)	33 (23)
++	10 (7.9)	16 (12.6)	1 (0.8)	16 (12.6)
+++	60 (47.2)	29 (22.8)	2 (1.6)	49 (38.6)

2. 단백질 발현과 임상병리학적 소견과의 상관관계 (Table 2, 3)

1) **CD44H:** CD44H 단백질은 전체 위암 127예 중 76예(59.8%)에서 발현을 보였고, 31예의 조기 위암 중 24예 (77.4%), 96예의 진행성 위암 중 52예 (54.2%)에서 발현을 보여 진행성 위암보다 조기 위암에서 발현율이 증가하였다. 특히 조기 위암에서 점막층만 침범한 17예 중에서 14예 (82.4%)가 발현을 보여 위암 발생 시작 시기에 아주 높은 빈도를 보였다. 림프절 전이가 있는 예에서는 60%, 림프절 전이가 없는 예에서는 59.6%에서, 또한 위암의 병기가 1기와 2기에서는 59.7%, 3기와 4기에서는 60%에서 CD44H의 발현을 보였고, Lauren분류에 의한 65예의 미만형 중에서 39예 (60%), 54예의 장형 중 30예 (55.6%)에서 CD44H 과발현을 보여 위암의 형, 림프절 전이 및 병기에 따른 CD44H 발현율은 유의한 차이를 보이지 않았다.

2) **CD44v6:** CD44v6 단백질은 전체 127예 중 63예 (49.6%)에서 발현을 보였다. 조기 위암에서 38.7%, 진행성 위암에서 53.1%의 발현을 보여 조기위암보다 진행성 위암에서 발현빈도가 증가하였고, 종양의 침윤 깊이에 따라 통계학적으로 유의한 발현율의 증가를 보여 31예의 조기 위암 중에서 12예 (38.7%)에서, 근육층을 침윤한 19예 중에서는 7예 (36.8%), 장막과 그 주위조직을 침윤한 73예에서는 41예 (56.2%)에서 발현을 보였다(p=0.04). 림프절 전이가 없는 예(44.2%)보다 있는 예(53.3%)에서 약간 높았으나 유의한 차이는 아니었다. 한편 병기가 높을수록 CD44v6의 발현율이 증가하여 1기와 2기의 병기에서는 40.3%, 3기와 4기의 병기에서는 58.5%로 나타나 위암의 병기에 따른 CD44v6의 발현은 통계학적으로 유의한 차이가 있음을 나타내었다(p=0.01). 장형 (42.6%)보다 미만형 (49.2%)에서 약간 높았으

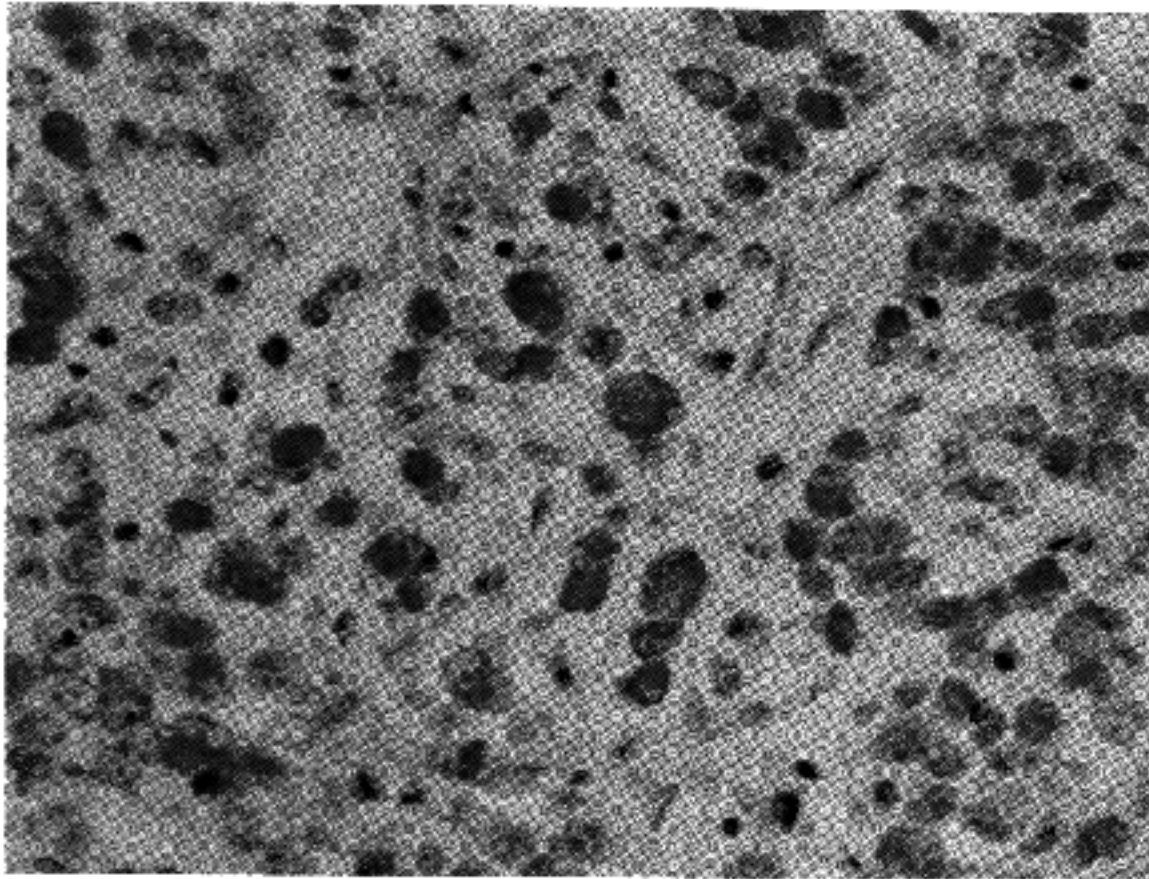


Fig. 1. Strong cytoplasmic staining of CD44H in a signet ring cell type, ABC stain.

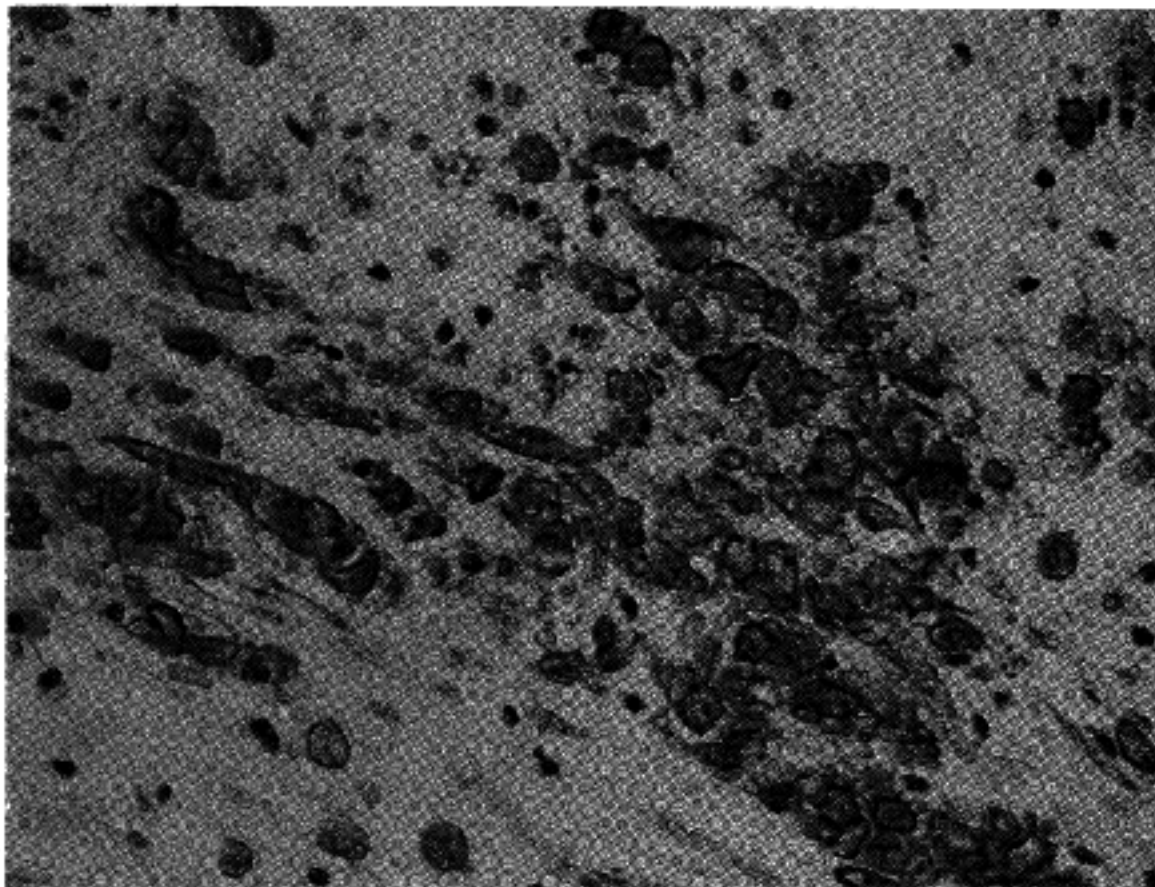


Fig. 2. Strong membranous staining of CD44v6 in a poorly differentiated type, ABC stain.

나 유의한 차이는 아니었다.

3) **erbB-2**: erbB-2 단백질은 전 위암조직의 14.2%에서 발현을 보였고, 조기 위암의 29%, 진행성 위암의 9.4%에서 발현을 보여, 진행성 위암보다 조기 위암에서 발현율이 증가하는 경향을 보였다 ($p=0.07$). 림프절 전이가 없는 예에서 15.4%, 림프절 전이가 있

는 예에서 13.3%로 나타났고, 위암의 병기가 1기와 2기인 예에서 16.1%, 3기와 4기에서 12.3%로 나타나 erbB-2의 과발현은 위암이 진행된 후기보다 초기에 발현빈도가 약간 높은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다($p>0.05$). 조직형 중 분화도가 좋은 고, 중분화형 관상형에서 각각 30.4%와 28%, 분화가 안



Fig. 3. Membranous staining of erbB-2 in a well differentiated type, ABC stain.

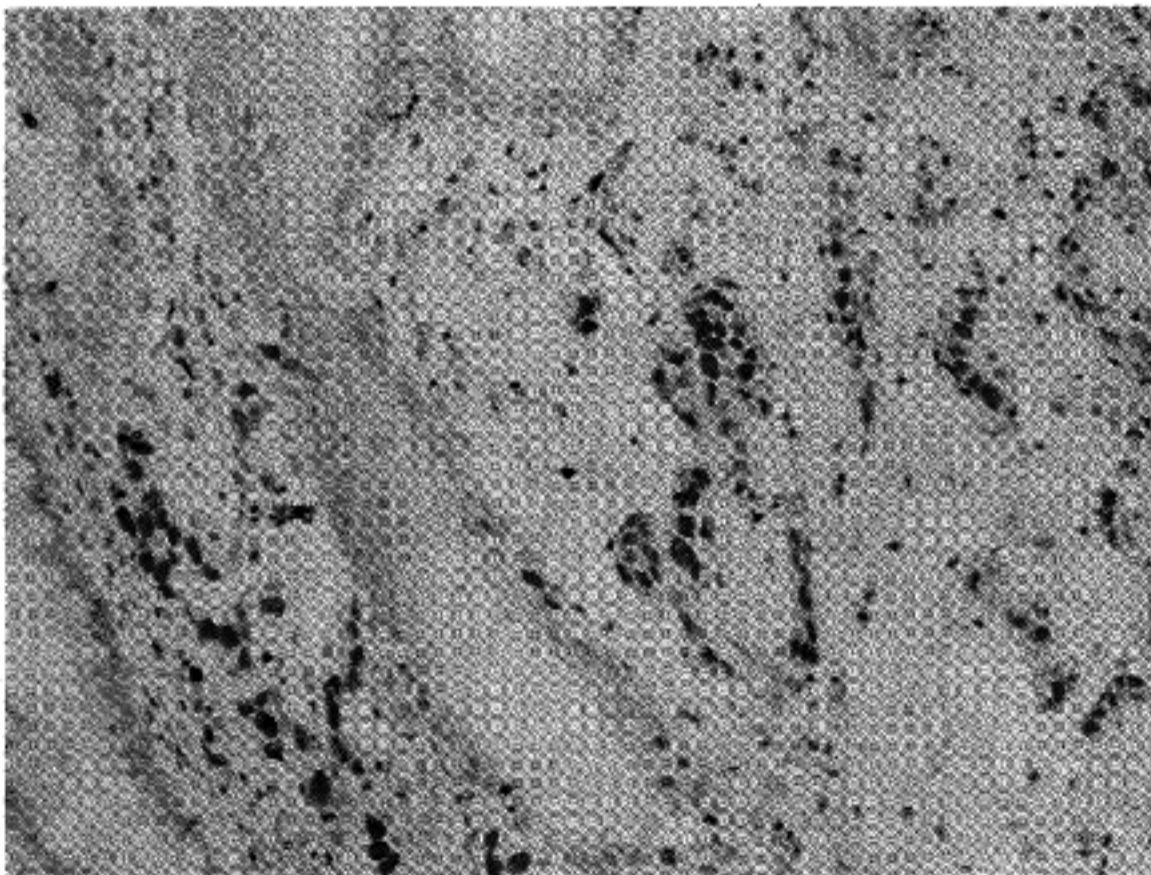


Fig. 4. Strong nuclear staining of p53 in neoplastic glands and negative reaction in normal glands, ABC stain.

좋은 형에서는 10%이하의 발현을 보였으며, 또한 상형에서는 25.9%, 미만형에서 4.6%로 나타나 분화가 비교적 좋은 형에서 발현이 훨씬 높았는데 이 차이는 통계학적으로도 유의하였다($p=0.01$).

4) p53: 변이 p53 단백질은 전체 127예의 위암조직 중 98예 (77.2%)에서 발현을 보였고, 조기 위암에서

74.2%, 진행성 위암에서 78.1%의 발현을 보여 진행성 위암에서 약간 높았다. 이 단백질의 발현빈도는 환자의 나이, 성별, 종양의 크기, 위벽 침윤 깊이에 따른 유의한 차이는 없었다. 림프절 전이가 있는 예 (80%)에서 없는 예(73.1%)보다 p53의 발현이 약간 높았으며, 또 위암의 병기가 1기와 2기인 예에서는

Table 2. Incidence of CD44H, CD44v6, erbB-2, p53 protein expression in gastric carcinoma

Variables	Total no. of cases	Positive immunoreactivity (%)			
		CD44H	CD44v6	erbB-2	p53
(+) cases(%)	127 (100)	76 (59.8)	63 (49.6)	18 (14.2)	98 (77.2)
Age (year)					
20~29	2 (1.6)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	2 (100)
30~39	15 (11.8)	11 (73.3)	5 (33.3)	2 (13.3)	12 (80.0)
40~49	19 (15.0)	13 (68.4)	8 (42.1)	3 (15.8)	14 (73.7)
50~59	46 (36.2)	23 (50)	27 (58.7)	7 (15.2)	34 (73.9)
60~69	32 (25.2)	21 (63.6)	16 (48.5)	4 (12.1)	25 (75.6)
70~	13 (10.2)	7 (53.8)	6 (46.2)	2 (15.4)	11 (84.6)
p value		0.47	0.28	0.59	0.50
Sex					
Male	87 (68.5)	53 (60.9)	42 (48.3)	13 (14.9)	68 (78.2)
Female	40 (31.5)	23 (57.5)	21 (52.5)	5 (12.5)	30 (75)
p value		0.31	0.43	0.70	0.13
Depth of invasion**					
Mucosa	17 (13.4)	14 (82.4)	5 (29.4)	5 (29.4)	11 (64.7)
Submucosa	14 (11.0)	10 (31.4)	7 (50)	4 (28.6)	12 (85.7)
Muscle	19 (15.0)	6 (31.6)	7 (36.8)	1 (5.3)	14 (73.7)
Subserosa	4 (3.1)	4 (100)	3 (75)	0 (0)	4 (100)
Serosa	73 (57.5)	42 (57.5)	41 (56.2)	8 (10.6)	57 (78.1)
p value		0.33	0.04*	0.07	0.13
Stage					
I	40 (31.5)	25 (62.5)	17 (42.5)	9 (22.5)	29 (72.5)
II	22 (17.3)	12 (54.5)	8 (36.4)	1 (4.5)	19 (86.4)
III	42 (33.1)	22 (52.4)	20 (47.6)	5 (11.9)	32 (76.2)
IV	23 (18.1)	17 (73.9)	18 (78.3)	3 (13)	18 (78.3)
I and II	62 (48.8)	37 (59.7)	25 (40.3)	10 (16.1)	48 (77.4)
III and IV	65 (51.1)	39 (60)	38 (58.5)	8 (12.3)	50 (76.9)
p value		0.70	0.01*	0.31	0.26
Lymph node metastasis					
n (-)	52 (40.9)	31 (59.6)	23 (44.2)	8 (15.4)	38 (73.1)
n (+)	75 (59.0)	45 (60)	40 (53.3)	10 (13.3)	60 (80)
p value		0.97	0.18	0.77	0.15

* p<0.05. ** Serosa : exposed to the serosa and involving neighboring organs

77.4%, 3기와 4기에서는 76.9%의 발현율을 보여 림프절 전이 유무와 병기에 따른 p53 발현은 유의한 차이를 보이지 않았다. 미만형에서 83.1%, 장형에서는 72.2%로 나타나 분화가 안좋은 형에서 변이 p53의 발현율이 약간 더 높았으나 유의한 차이는 아니었다.

이상의 네가지 단백질의 발현빈도를 여러가지의 임

상병리학적 소견과 비교해 보았을 때 모두가 환자의 나이, 성별, 림프절 전이 유무와 통계학적으로 유의한 상관관계를 보이지 않았다(p>0.05). 그러나 CD44v6는 위암의 침윤이 깊어지고 또 위암의 병기가 진행되면서 발현율이 의의있게 증가하였다. 또 erbB-2는 분화가 좋은 조직형과 장형에서 발현율이 높아 위암의 조직형에 따라 유의한 차이가 있음을

Table 3. Incidence of CD44H, CD44v6, erbB-2, p53 protein expression according to histologic type of gastric carcinoma

Histologic type	Total no. of cases	Positive immunoreactivity (%)			
		CD44H	CD44v6	erbB-2	p53
(+) cases(%)	127 (100)	76 (59.8)	63 (49.6)	18 (14.2)	98 (77.2)
WHO**					
Papillary	1 (0.8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
W.D	23 (18.1)	14 (60.7)	5 (21.7)	7 (30.4)	15 (65.2)
Mod.D	25 (19.7)	13 (52)	16 (64)	7 (28)	17 (68)
P.D	50 (39.4)	35 (70)	29 (58)	3 (6)	44 (88)
Signet	18 (14.2)	9 (50)	7 (38.9)	0 (0)	12 (66.7)
Mucinous	10 (7.9)	5 (50)	6 (60)	1 (10)	9 (90)
p value		0.64	0.34	0.01*	0.47
Lauren's classification					
Diffuse	65 (51.2)	39 (60)	32 (49.2)	3 (4.6)	54 (83.1)
Intestinal	54 (42.5)	30 (55.6)	23 (42.6)	14 (25.9)	39 (72.2)
Mixed	8 (6.3)	7 (87.5)	8 (100)	1 (12.5)	5 (62.5)
p value		0.90	0.40	0.01*	0.81

* p < 0.05 ** W.D : Well differentiated tubular carcinoma. Mod.D : Moderately differentiated tubular carcinoma
P.D : Poorly differentiated tubular carcinoma. Signet : Signet ring cell type

보여주었다.

네가지 단백질 상호간의 발현양상을 비교한 바에 의하면 이들 상호간에 통계적으로 유의한 상관관계를 보이지는 않았지만, 그 중에서 CD44v6와 p53 사이에 p값이 가장 낮아(p=0.08) 종양이 진행하면서 CD44v6의 발현이 증가할 때 p53도 같이 증가하는 경향을 보였다(Table 4).

위암의 진행에 따른 CD44H와 그 이형인 CD44v6 발현양상과의 상관관계를 살펴보면, 두 단백질 동시에 발현을 보이는 예는 35예(27.6%), CD44H만 발현을 보이는 예는 41예(32.3), CD44v6만 발현을 보이는 예는 28예(22%), 두 단백질 모두 음성인 예는 23예(18.1%)이었다. 조기위암에서는 CD44H 발현율이 높아 31예중 24예(77.4%)에서 양성을 보였고, CD44v6는 진행성 위암에서 높아 96예 중 51예(53.1%)에서 발현을 보였는데, 특히 CD44H 음성이지만 CD44v6 양성인 28예의 중 27예(96.4%)는 진행성 위암인 것으로 나타나 CD44v6가 위암의 진행과 상당히 관련이 있음을 시사하였다(Table 5).

고 찰

위암은 특히 우리나라에서 전체 악성종양 중 가

Table 4. Correlation between the expression rate of CD44H, CD44v6, erbB-2, and p53 in gastric carcinoma

	CD44H	CD44v6	erbB-2	p53
CD44H	1			
p value	0			
CD44v6	-0.8302	1		
p value	0.35	0		
erbB-2	0.04411	-0.03903	1	
p value	0.62	0.66	0	
p53	0.07311	0.15518	-0.03485	1
p value	0.42	0.08*	0.70	0

* p < 0.1

장 빈번한 발생빈도를 보이고 또 남여에서 암사망 제 1위를 차지하는 종양이다⁷. 이 종양은 진행되면서 여러 상이한 클론의 종양세포로 분지되어 다양한 형태학적 소견을 보이며^{23,24}, 또한 세포분화에 따라 분자유전학적 분석 결과도 다른 소견을 보일 뿐 아니라 기능적인 면에서도 다양성을 나타내므로 개개 환자에서 위암의 생물학적 양상을 예측하기는

Table 5. Expression pattern of CD44H and CD44v6 according to progression of gastric carcinoma

	No. of cases (n=127)	CD44H (+) CD44v6(+) (n=35)	CD44H (+) CD44v6(-) (n=41)	CD44H (-) CD44v6(+) (n=28)	CD44H (-) CD44v6(-) (n=23)
Early ca.	31(24.4)	11 (31.4)	13 (31.7)	1 (3.6)	6 (26.1)
Advanced ca.	96(75.6)	24 (68.6)	28 (68.3)	27 (96.4)	17 (73.9)

매우 어렵다. 위암의 예후는 종양의 위장벽 침범 정도, 국소 림프절 전이, 복막 및 간 등으로의 원격전이 등에 근거한 병기에 크게 좌우되며²¹, 근치 수술을 받은 사람에서는 림프절 전이가 가장 중요한 예후인자이다¹. 위장에서는 선종이나 이형성 장화생 부위에서부터 일련의 조직학적 단계를 밟아 발생한 침윤성 위암을 미만형(diffuse type)과 장형(intestinal type)으로 나누고, 이들 각각에서 ras 종양유전자의 돌연변이²⁴, c-erbB-2 유전자 증폭⁸⁻¹¹, p53 대립유전자 소실과¹⁴ 돌연변이¹⁵⁻¹⁸ 등이 종양의 시작과 진행에 어떤 영향을 미치는지에 대한 연구는 있지만 아직 대장암에서처럼 뚜렷히 밝혀져 있지 않고 또 이들의 변화 빈도도 대장암에서처럼 그리 높지 않다고 한다^{12,13}.

다세포로 구성된 개체에서는 세포와 세포 그리고 세포와 기질간의 상호작용이 세포의 조직적인 성장, 분화, 세포이동을 조정하는데 매우 중요하다. 이러한 점에서 최근 종양세포의 침윤과 전이에 관련된 세포표면의 부착 단백질이 세포 이동에 중요한 역할을 할 것으로 추측되므로² 이 단백질들의 발현 양상의 변화와 이를 부호화하는 유전자 이상이 종양의 전이와 어떠한 상관관계가 있는지를 규명할 필요가 있다.

혈관내의 순환 림프구가 발현하는 특이 부착분자 즉 lymphocyte homing receptors는 혈관 내피세포 표면의 ligand와 특이한 결합을 하여 림프구가 혈관 밖으로 이동하여 되돌아가는데 기여하는 것으로 알려져 있다²³. 이와 유사한 기전에 의해 종양세포와 숙주의 인자가 연속적으로 상호작용하여 종양세포 자신이 능동적으로 혹은 주위조직의 구조변화를 매개하는 단백 분자에 의해 단계적으로 주위를 침윤하고 또 전이성 확산을 할 것으로 생각된다^{4,5}. 이리하여 종양의 침윤능력은 종양세포의 성장에 의한 압박 뿐 아니라 여러가지의 세포표면 분자들의 변화, 즉 기질과 기저판에 대한 세포외 수용체, 세포표면에 결합된 단백 분해 효소, 세포부착분자, 성장인자, 성장인자 수용체 등의 단백질분자와 유전자의

변조와 관련이 있다²⁻⁶. 특히 세포외기질은 종양이 성장해 가는데 있어서 골격이 될 뿐 아니라 악성세포의 성장에 도움이 되는 성장인자의 저장소 역할을 하며, 또한 세포외기질에 있는 hyaluronate는 hyaluronate-수용체를 가진 종양세포와 세포외기질 성분사이의 부착을 용이하게 하는 다리 분자를 만들어줌으로써, hyaluronate에 대한 세포의 부착능력이 종양의 침윤성에 영향을 주고 또한 종양성장을 촉진시킬 것으로 생각된다²⁵.

세포표면 부착수용체로 알려져 있는 integrin, cadherin, immunoglobulin superfamily, selectin, CD44 다섯 군은 생화학적으로나 유전학적으로 각각 독특하나 이들의 기능은 서로 연관되어 있다². 종양의 분화, 침윤 및 전이에 있어서 이들 분자의 발현의 증가 혹은 감소에 따른 기능의 변화가 연구되고 있는데, 특히 다른 종류의 세포나 기저막 혹은 세포외기질에 있는 ligand와 결합하여 세포 및 기질 부착분자로 작용하는 Integrin 발현의 양적 변화 혹은 화학적 구조의 변형에 의한 질적 변화, 세포와 세포간의 부착을 유지시키는 ICAM-1 (Immunoglobulin superfamily)의 발현양상의 변화⁶, 그리고 lymphocyte homing receptor인 CD44의 발현과^{3,4} 이형의 생성^{5,26-28} 등이 종양의 성장과 전이와 상관관계가 있다는 보고가 있다.

본 연구에서 사용된 CD44는 세포표면 부착분자 중의 하나인 막통과 당단백으로서 hyaluronate에 대한 주 세포표면 수용체이다^{24,25,27}. 유전자는 11번 염색체 단원에 위치하며 20개로 구성된 exon중 exon 6 부터 15 사이의 10개 exon (v1-v10)의 교대성 접합(alternative splicing)에 의해 exon의 수와 조합이 다양하게 재조합되면서 이들의 mRNA가 추가로 세포외 영역에 삽입되면 분자량이 120 kD에서 250 kD정도의 구조가 다양하고 또 기능이 다양한 여러종류의 이형(CD44 variant, CD44v)이 만들어진다^{5,26-29}. CD44의 역할은 다양하여 아직 완전히 밝혀져 있지 않은데 세포-세포 부착, 세포-기질 부착, 림프구 활성화 등에 매우 중요하고 폭넓은 역할을 하는 것으로 알

려져 있으며, 세포의 종류에 따라 한가지 혹은 그 이상의 CD44 이형이 발현된다^{26,28}. 그 중 풍부한 형은 10개 exon이 모두 없고 분자량이 80~90 kD 정도되는 CD44H (hematopoietic CD44) 혹은 CD44s (standard CD44)로서 lymphocyte homing receptor, extracellular matrix receptor III (ECM-III), phagocytic glycoprotein (Pgp-1), hyaluronate receptor, p80, Hermes-1 등의 이름으로도 불리며, 상피세포를 포함한 여러 정상 세포와 조직에서 약하게 발현되고 있으며 조혈세포에서 가장 흔히 발견되는 형이다². 림프구 뿐 아니라 대장이나 유방같은 세포분열이 왕성한 부위의 상피에서는 자주 발현되고 있는 것을 볼 수 있으나²⁶, 상피세포에 대한 이 분자의 역할은 아직 잘 모른다. 정상조직에서 CD44 유전자의 교대성 재조합의 과정은 철저히 조절되고 있고 각 조직의 생리적 상태에 따라 이들의 분포와 기능도 다른 것으로 알려져 있는데^{25,29}, 현재 CD44는 15가지 이상의 이형이 있는 것으로 알려져 있으며, 이형들은 CD44H 보다 매우 제한되어 조직에 분포하고 있다^{26,28}. CD44H 유전자가 림프구 뿐 아니라 여러가지의 암 세포주와 인체에서 발생한 몇 고형성 종양조직에서도 존재하는 것이 Stamenkovic등³에 의해 발견되었다. 1991년 Gunthert등⁵은 CD44v 중 세포외 부위에 162개 이미노산이 추가된 160 kD의 고분자 CD44 이형(CD44v6)을 부호화하는 DNA 조각을 쥐의 비전 이성 체장 선암세포에 주입시켰을 때 이 세포가 전이능력을 나타냄을 관찰하고, 비전 이성 암세포주와 정상조직에는 발현되지 않았던 이 exon이 전이능력과 직접 관련이 있는 이형을 만든다는 것을 증명하였다. 또 Birch등³⁰은 사람의 흑색종암 세포계에서 CD44 발현이 낮은 클론과 높은 클론을 분리하고, 이 두가지는 세포의 이동력, 집합, hyaluronate와의 부착력, 그리고 전이병소 형성 능력에 차이가 있음을 발견하고, CD44가 종양의 진행과 전이에 직접적인 원인일 것으로 추정하였다. 악성세포에서 교대성 접합을 조절하는 기전에 이상이 오거나 CD44 유전자 돌연변이가 생기면 CD44 전사에 이상이 초래되어 CD44 과발현이 일어나거나 이형을 만드는 것으로 생각된다. 최근에도 새로운 이형이 발견되어 이들 각각은 종양의 성장과 전파 및 세포 이동에 중요한 조절작용을 할 것으로 생각된다. 아직까지 종양발생 때 CD44 유전자에서 어떠한 변화가 일어나는지 또 이들 각각이 종양의 성장에 어떤 기전으로 관여하는지 확실히 모르고 있지만, CD44가 종양세포와 세포외기질의 proteoglycan 사이에 분자다리를 만들어 연결시켜줌으로써 세포외기질에 저장되어

있는 성장인자와 접근할 수 있게 되고 또 숙주 기질세포와 상호작용으로 혈관 생성인자의 분비와 hyaluronate 생성이 촉진되어 CD44와 hyaluronate와의 부착은 종양의 악성도를 결정하는 인자 중의 하나인 것으로 추측된다²⁵. 한편 세포질내 부분의 CD44는 신호전달에 관계하고 있는 세포골격 단백질과 관련이 있는데 CD44를 세포골격 분자와 분리시키면 세포이동력의 감소 내지 소실을 가져오므로 이 부분은 기질과의 결합보다는 세포이동에 필요한 성분인 것으로 알려져 있다.

인체에 발생한 종양에서 CD44 발현과 예후에 관한 연구에 의하면 여러가지의 종양세포에서 여러형의 CD44 이형이 발현되며 몇 연구에서 종양의 형에 따라 발현되는 CD44 이형도 일정함을 발견하고, 특히 CD44v3, v6, v9, v8-10 같은 이형이 과발현되는 유방암³¹, 대장암³², 악성 림프종³³ 등 각종 종양에서 전이와 재발이 빈번하고, 이에 대한 단클론 항체를 함께 주입하면 전이가 방지되는 것이 여러 연구를 통해 보고되면서³⁴ 몇 종양에서 이 물질의 발현 유무가 예후 추정에 가치가 있을 것으로 기대하고 있다. 그러나 이러한 소견과는 달리 연구대상의 종, 종양의 종류 그리고 숙주의 환경에 따라 동일한 CD44 이형이라도 발현 양상이 다르고 예후도 다른 결과를 보이기도 한다.

위암조직에서 CD44 발현 빈도는 종양세포의 분화나 조직형에 따라 약간의 차이를 보이기는 하나 49%³⁵~100%²³로 보고되었다. Heider등²³과 Ham등²⁶의 보고에서 공통적으로 분화가 나쁜 인환세포형에서는 거의 모든 예에서 CD44v5가 양성되었고 CD44v6는 검출이 잘 되지 않았으나, 장형에서는 상당수에서 CD44v5 외에 CD44v6 형이 발현되는 것으로 보아 CD44v6 발현이 위암의 분화와 상관관계가 있고 조직형에 따라 다르게 발현됨이 관찰되었다. 또한 장화생을 보이는 전암 병소에서는 장형의 위암과 유사하게 CD44v5와 CD44v6 형이 발현이 있음을 보고하여 위암은 조직형에 따라 기원세포가 다르므로 다른 과정을 밟아 종양으로 진행된다는 가설을 지지하는 소견이 관찰되었다. Mayer등³⁵은 미분화형보다 선구조를 보이는 분화형에서 CD44 발현이 빈번하고, 또 CD44 발현을 보이는 종양은 수술 당시 원격 전이도 빈번하였고 생존기간도 짧아 병기와도 상관관계가 있다고 하였다. 그러나 Washington 등³⁶은 CD44 발현 강도와 위암의 조직형이나 분화도와는 상관이 없다고 하였다.

본 연구에서 CD44의 기본형인 CD44H는 많은 예에서 종양 주위의 정상점막에서 약한 발현을 보였

으며, 전 위암조직의 59.8%에서 과발현을 보였고, 조기 위암의 77.4%, 진행성 위암의 54.2%에서 발현을 보여, 진행성 위암보다 조기 위암에서 발현율이 높았다. 이 단백질은 종양조직의 분화도, 림프절 전이 유무, 병기에 따른 발현율의 차이는 통계학적으로 유의하지는 않았지만, 정상 위점막조직에서 소량으로 있던 이 물질이 어떤 발암원에 의해 초래된 유전자 이상으로 인해 과발현되면 종양 발생에 관여하여 조기 위암에서 높은 빈도의 발현을 보이는 것으로 추측된다. 나아가서 CD44H의 지속적인 발현은 종양의 진행에도 어느정도 관여할 것으로 생각된다.

또한 본 연구에서 CD44 이형 중 CD44v6는 소수에서 정상 점막에서 약한 발현을 보였으나, 전 위암조직의 49.6%에서 발현을 보였고 조기 위암에서 38.7%, 진행성 위암에서 53.1%의 발현을 보여 조기 위암보다 진행성 위암에서 발현율이 증가하였으며 또한 종양의 침윤이 깊어질수록 발현율이 의의있게 증가하였다. 또 위암의 병기가 높을수록 CD44v6의 발현율도 의의있게 증가하였으므로, CD44 유전자의 이상이 CD44H의 과발현과 함께 CD44 유전자의 교대성 재조합 과정의 조절에 이상이 초래됨으로써 정상조직에서 거의 발현이 안되던 CD44 이형이 만들어지는데 그 중에서 CD44v6는 조기 위암 뿐 아니라 종양이 진행하면서 더욱더 과발현되어 위암의 발생과 진행에 깊히 관여하여 좋지 않은 경과와 예후를 보이는 인자인 것으로 추측된다. CD44v6 외에 CD44 이형 중 어느 형이 예후와 더 관계가 있는지는 추후 여러 종류의 이형에 대한 항체를 사용하여 연구해 보아야 하겠지만 본 연구 결과에서는 CD44v6가 위암의 예후와 관련이 있다는 것은 거의 확실한 것 같다.

위암에서 CD44의 발현빈도와 발현양상에 관한 연구 결과들이 약간의 차이를 보이고 있는데 그 이유는 CD44 검출을 위해 사용된 방법이 면역조직화학적 방법, Northern blot, RT-PCR 등 방법이 다양하고, 또 각 연구자마다 각기 다른 종류의 CD44 이형 검출을 시도하였기 때문으로 추측된다²⁸. 또 종양의 기원세포에 따라서 이 물질의 역할이 각각 다를 수 있기 때문에 다양한 소견을 보일 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 여러가지 사실을 종합해 보면 CD44 유전자 활동이 악성 종양에서는 변조되어 있는 것은 거의 확실한 것 같다.

erbB-2 유전자의 점돌연변이와 재배열에 의한 활성화가 유방암을 비롯한 여러 장기의 선상피에서 기원한 암종에서 보고되어 있으며, DNA 증폭이나 mRNA 과발현과 비슷한 빈도로 면역조직화학적 방

법에 의하여 erbB-2 단백질 검출되고 있으므로 이 유전자의 변화가 종양발생에 어떤 역할을 하고 있을 것으로 생각된다⁸. 원발성 위암조직에서 erbB-2는 면역조직화학적 방법으로 10~55%에서 과발현을 보이는 것으로 보고되어 있는데, 본 연구에서 erbB-2 단백질은 전 위암조직의 14.2%에서 과발현을 보였고, 조기 위암에서 29%, 진행성 위암에서 9.4%로 나타나 오히려 조기 위암에서 발현율이 높았다. Yonemura 등¹²은 조기 위암에서 erbB-2 발현이 없었다고 하였으나, Mizutani 등⁹은 발현이 있음을 보고하였고, erbB-2 양성인 조기위암은 림프절 전이 빈도가 높고 생존율도 낮았다고 하였다. Tsujino 등¹²은 위암의 진행중 후반기에 유전자 증폭이 일어나고 전이가 있을 때는 더 빈번하게 나타남을 관찰하였다. 대체로 erbB-2의 과발현이 있으면 더 공격적 양상을 취하며, 위암의 진행과 림프절 전이 수와 비례하고 조기에 사망 위험도 높아 예후가 좋지 않은 경향을 보이는 것으로 추측하고 있다⁹. 한편 Ohguri 등¹⁰은 이들의 소견과는 다르게 erbB-2의 발현과 생존율에 있어서 상관관계가 없었으나, 림프절 전이가 있을 때 erbB-2의 발현 강도가 강하였음을 보고하여 아직 erbB-2의 과발현이 예후와 연관이 있다고 단정하기는 곤란할 것으로 생각된다. 본 연구에서 erbB-2는 종양의 진행과 전이와는 깊은 연관을 보이지 않았다. 위암의 조직형에 따른 erbB-2 발현율에 대한 보고도 다소 차이를 보이는데 본 연구에서 관찰된 것처럼 Mizutani 등⁹은 저분화형보다 고분화형에서 erbB-2 발현 빈도가 높다고 하였다. 이러한 소견은 erbB-2 유전자의 증폭이 단백질의 과발현을 일으키고 이로 인한 세포증식이 위암을 발생시키고, 조기위암과 진행성 위암의 초기에 주로 존재하면서 종양세포의 분화를 유도하는 것으로 추측된다.

종양억제유전자 중의 하나인 p53 유전자의 이상은 여러 종양에서 50~80%의 다양한 빈도로 일어나며 인체에서 발생한 종양 중에서 가장 흔한 유전자 변화이며 또한 가장 중요한 종양-관련 유전자인 것으로 알려져 있다. 위암에서 발견되는 p53 이상은 점돌연변이에 의한 missense mutation, single base defect에 의한 frame shift와 같은 돌연변이, 그리고 대립유전자 소실 등이며^{14,16,18}, 위암에서 p53 발현빈도는 지역인구의 환경이나 유전적 배경에 따라 다르고 또 검출방법에 따라 다양하나, 면역조직화학적 방법으로 다른 종양에서와 비슷한 빈도로 발현이 높다. 본 연구에서 p53은 전 위암조직의 77.2%에서 상당히 높은 빈도로 변이 단백질이 나타났는데 이는 아마 항원을 검출하는 과정에 최근에 개발된 방법

으로 압력술을 이용한 새로운 방법³⁷을 사용하였기 때문에 숨겨졌던 항원이 충분히 노출되어 많은 예에서 p53 단백질이 검출되었을 것으로 생각된다. 면역조직화학적 방법에 의해 검출된 p53 핵단백은 p53 단백질의 축적을 의미하는데, 이것은 p53 유전자 변이에 의하거나, 비정상 변이 p53 단백질에 의해서, 혹은 생리학적 과정에서 나타날 수 있다. 그러나 본 연구에서는 종양주위의 정상 점막에서는 p53 단백질이 검출된 예는 없었으므로 본 방법에서 양성 반응을 보였던 p53 단백질은 모두 변이형으로 생각된다. 변이 p53 단백질은 조기 위암에서 74.2%, 진행성 위암에서 78.1%에서 양성 반응을 보여 조기 위암과 진행성 위암에서 모두 비슷한 빈도로 높게 나타났다.

p53 유전자 변화가 위암 발생 과정의 어느 시기에 일어나는지 이것이 위암의 예후와 어떤 상관관계가 있는가에 대한 연구가 있지만 대장암에서 만큼 뚜렷한 결정적인 의견은 없다. 몇 연구에서 위암의 전암 단계인 이형성의 정도가 심할수록 p53 이상의 빈도도 함께 증가하였고 위암으로 진행되면 그 빈도가 더 증가함을 보고하였다^{19,20}. Uchino 등¹³은 조기 위암의 37%에서 또 진행성 위암에서는 그보다 약간 높은 42%에서 p53 돌연변이가 관찰되었으므로 이미 조기위암 시기부터 p53 돌연변이가 발생하였고 조기 위암이 침윤성 위암으로 진행되는 동안에는 p53은 종양성장에 크게 영향을 주는 것 같지 않다고 하였다. 그러나 이런 의견과는 달리 Kim 등¹⁶과 Yamada 등¹⁷은 원발성 위암에서는 p53 돌연변이나 대립유전자 소실이 없거나 낮았으며, 전이암이나 전이 세포주에서 더 높게 나타나 위암이 진행하는 후기에 p53 유전자 돌연변이가 생기며, p53 유전자 이상은 위암의 진행과 전이에 중요한 작용을 한다고 주장하였다. 또 Starzynski 등¹⁵은 림프절 전이가 있는 경우에 없는 경우보다 p53 과발현 빈도가 높아 위암의 병기와 상관관계가 있고, 이런 경우에는 예후는 좋지 않아 조기에 재발하여 사망하였다고 하면서 위암 수술 후 예후 추정과 적절한 치료의 결정에 p53을 사용할 것을 제안하였다. p53 돌연변이나 대립유전자 소실이 위암의 조직형, 침윤정도, 림프절 전이와 상관관계를 보이지 않았다고 하는 보고도 다수 있다^{13,14,18}. 본 연구에서 변이 p53 발현빈도는 위암의 조직형, 위벽의 침윤 깊이, 림프절 전이, 병기에 따라 의의있는 차이를 보이지 않았다. 이러한 소견은 변이 p53 단백질의 과발현은 위암 발생의 시작부터 종양세포에서 만들어져 야생형 p53 단백질의 기능을 비활성화시킴으로써 위암의 발생에 관여하는 것으로 생각되며, 또 조기 위암 뿐 아니라 진

행성 위암에서도 높은 빈도로 발현하고 있으므로 변이 p53은 종양의 진행 및 전이에 다소 관여하는 것으로 추측된다.

이상과 같이 위암의 진행과 전이와 관련이 있는 것으로 알려진 유전자 가운데 특히 세포표면 부착 분자에 속하는 CD44H와 CD44v6, 종양유전자인 erbB-2, 그리고 종양억제유전자인 p53 단백질의 발현 양상을 위암조직에서 검출하고 그 발현양상을 관찰한 바 이들끼리는 통계적으로 유의한 상관관계를 보이지 않았으나 CD44v6가 위암의 침윤 및 진행과 깊은 연관을 가지는 인자임을 시사하는 소견이 관찰되어 이것이 위암의 예후인자로써의 가능성이 있음을 시사하였다. 위암은 다양한 종양세포로 구성되어 있어 한가지 혹은 불과 몇 가지의 세포표면 분자의 변화만으로 종양의 전이능력과 예후를 평가하고 결정하는 것은 매우 어렵고 위험한 일이지만 앞으로 CD44v6를 포함한 각종 CD44 이형 등 세포표면 부착분자의 발현양상에 대한 연구가 더 진행되어 현재 알려진 위암 예후 관련인자들과 상관관계를 분석하면 종양의 진행과정과 전이 기전을 이해하는데 도움이 되고 또한 위암의 예후 추정 및 환자 관리에 도움이 될 중요한 소견을 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

결 론

위암조직에서 세포표면 부착분자의 발현이 위암 예후 인자들로 알려져 있는 기존의 인자들과 어떤 상관관계가 있는지 또 이들이 새로운 위암의 예후 추정인자로써의 가치가 있는지를 알아보기 위하여 1993년 1월부터 1994년 12월까지 24개월 동안 동아시아 의료원에서 위암으로 위절제술을 시행받은 127명의 위암조직을 대상으로 세포표면 부착분자 중 lymphocyte homing receptor인 CD44와 그 이형 중에서는 CD44v6, erbB-2, 그리고 p53 단백질에 대한 네가지 항체를 사용하여 면역조직화학적 염색을 검색한 결과 다음과 같은 연구 결과를 얻었다.

1) CD44H 단백질은 총 127명의 조기 및 진행성 위암조직 중에서 76예(59.8%)에서, CD44v6는 63예(49.6%)에서, erbB-2는 18예(14.2%)에서, 그리고 변이 p53은 98예(77.2%)에서 양성반응을 보였다.

2) 네가지 단백질은 모두 환자의 나이, 성별 및 림프절 전이 유무에 따른 발현빈도의 차이는 보이지 않았다.

3) CD44v6 발현빈도는 종양의 침윤이 깊을수록 또 병기가 진행될수록 통계학적으로 유의하게 증가

하였다($p < 0.05$).

4) *erbB-2* 발현빈도는 분화가 좋은 조직형에서 또 장형에서 유의하게 높았다($p < 0.05$).

이상의 결과를 종합하면 위암의 발생, 진행 및 전이와 관련이 있는 것으로 알려진 유전자들 중에서 *CD44v6* 발현이 위암의 침윤이 깊을수록 또 병기가 높을수록 통계학적으로 유의하게 증가하여 이 물질이 종양의 침윤 및 진행과 깊은 관계가 있음을 시사하였다. 이러한 소견은 위암이 진행하면서 *CD44*의 교대성 재접합의 조절의 통제가 풀려 *CD44v6*를 생성하고 이로 인해 종양세포와 세포 혹은 기질 사이의 부착에 변화가 오고 또 종양세포의 이동에 영향을 줌으로써 위암의 침윤과 진행을 조장하여 나쁜 예후를 보이는 인자로 작용하는 것으로 추측된다.

추후 *CD44v6*를 포함한 각종 *CD44*의 이형 등 세포표면 부착분자로 알려진 분자들의 변화에 대한 연구가 많아지면 위암 뿐 아니라 여러 종양의 진행과 전이 기전을 이해하게 되고 또한 종양의 예후 추정 및 환자 관리에 도움이 되는 중요한 인자를 찾을 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Maruyama K. Result of surgery correlated with staging. In: Cancer of the stomach. London: Grune & Stratton, Ltd, 1986: 145
2. Pignatelli M, Vessey CJ. Adhesion molecules: Novel molecular tools in tumor pathology. *Hum Pathol* 1994; 25: 849-56.
3. Stamenkovic I, Amopt M, Pesando JM, Seed B. A lymphocyte molecule implicated in lymph node homing is a member of the cartilate link protein family. *Cell* 1989; 56: 1057-62.
4. Tanabe KK, Saya H. The *CD44* adhesion molecule and metastasis. *Crit Rev Oncog* 1994; 5: 201-12.
5. Gunthert U, Hofmann M, Rudy W, Reber S, Zoller M, Haussmann I, Matzku S, Wenzel A, Ponta H, Herrlich P. A new variant of glycoprotein *CD44* confers metastatic potential to rat carcinoma cells. *Cell* 1991; 65: 13-24.
6. Natali P, Nicotra MR, Cavaliere R, Bigotti A, Romano G, Temponi M, Ferrone S. Differential expression of intercellular adhesion molecule 1 in primary and metastatic melanoma lesions. *Cancer Res* 1990; 50: 1271-8.
7. 통계청. 1993년 사인통계 결과 분석. 사인 원인 통계 연보. 1994; 14: 34-35.
8. Park JB, Rhim JS, Park SC, Kimm SW, Kraus MH. Amplification, overexpression, and rearrangement of the *erbB-2* protooncogene in primary human stomach carcinomas. *Cancer Res* 1989; 49: 6605-9.
9. Mizutani T, Onda M, Tokunaga A, Yamanaka N, Sugisaki Y. Relationship of C-*erbB-2* protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. *Cancer* 1993; 72: 2083-88.
10. Ohguri T, Sato Y, Koizumi W, Saigenji K, Kameya T. An immunohistochemical study of c-*erbB-2* protein in gastric carcinomas and lymph-node metastases: Is the c-*erbB-2* protein really a prognostic indicator? *Int J Cancer* 1993; 53: 75-79.
11. Yomemura Y, Ninomiya I, Ohoyama S, Kimura H, Yamaguchi A, Fushida S, Kosaka T, Miwa K, Miyazaki I, Endou Y, Tanaka M, Sasaki T. Expression of c-*erbB-2* oncoprotein in gastric carcinoma. Immunoreactivity for c-*erbB-2* protein is an independent indicator of poor short-term prognosis in patient with gastric carcinoma. *Cancer* 1991; 67: 2914-8.
12. Tsujino T, Yoshida K, Nakayama H, Ito H, Shimosato T, Tahara E. Alterations of oncogenes in metastatic tumours of human gastric carcinomas. *Br J Cancer* 1990; 62: 226-30.
13. 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.
14. Kim DJ, Kim WH, Kim CW, Lee JB, Lee CK, Kim YL. Detection of 17p loss in gastric carcinoma using polymerase chain reaction. *Lab Invest* 1995; 72: 232-6.
15. Starzynski T, Bromley M, Chosh A, Stern PL. Prognostic significance of p53 overexpression in gastric and colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 1992; 66: 558-62.
16. Kim JH, Takahashi T, Chiba I, Park JG, Birrer MJ, Roh JK, Lee HD, Kim JP, Minna JD, Dazdar AF. Occurrence of p53 gene abnormalities in gastric carcinoma tumors and cell lines. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 938-943.
17. Yamada Y, Yoshida T, Hayashi K, Sekiya T, Yokota J, Hirohashi S, Nakatani K, Nakano H, Sugimura T, Terada M. p53 gene mutations in gastric cancer metastases and in gastric cancer cell lines derived from metastases. *Cancer Res* 1991; 51: 5800-5
18. Seruca R, David L, Holm R, Nesland JM, Fangan BM,

- Castedo S, Sobrinho-Simoes M, Borresen AL. p53 mutations in gastric carcinomas. *Br J Cancer* 1992; 65: 708-10.
19. Joypaul BV, Newman EL, Hopwood D, Grant A, Qureshi S, Lane DP, Cuscheieri A. Expression of p53 protein in normal, dysplastic, and malignant gastric mucosa: An immunohistochemical study. *J Pathol* 1993; 170: 279-83
 20. Rugge M, Shiao YH, Correa P, Baffa R, DiMario F. Immunohistochemical evidence of p53 overexpression in gastric epithelial dysplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent* 1992; 1: 551-4.
 21. Beahrs OH, Henson DE, Hutter RVP, Kennedy BJ. American Joint Committee on Cancer. Manual for staging of cancer. 4th ed., Philadelphia: J.B. Lippincott Co., 1992, 63-65.
 22. 대한병리학회 소화기병 연구회. 위암의 병리학적 취급 규정 시안. *대한병리학회* 1992; 26: 154-163.
 23. Heider KH, Dammrich J, Skroch-Angle P, Muller-Hermelink HK, Vollmers HP, Herrlich P, Ponta H. Differential expression of CD44 splice variants in intestinal- and diffuse-type human gastric carcinomas and normal gastric mucosa. *Cancer Res* 1993; 53: 4197-203.
 24. Czerniak B, Herz F, Gorczyca W, Loss L. Expression of ras oncogene p21 protein in early gastric carcinoma and adjacent gastric epithelia. *Cancer* 1989; 64: 1467-73.
 25. Bartolazzi A, Peach R, Aruffo A, Stamenkovic I. Interaction between CD44 and hyaluronate is directly implicated in the regulation of tumor development. *J Exp Med* 1994; 180: 53-66.
 26. Harn HJ, Ho LI, Chang JY, Wu CW, Jiang SY, Lee HS, Lee WH. Differential expression of the human metastasis adhesion molecule CD44V in normal and carcinomatous stomach mucosa of Chinese subjects. *Cancer* 1995; 75: 1065-71.
 27. Pure E, Camp RL, Peritt D, Panettieri RA, Lazaar AL, Nayak S. Defective phosphorylation and hyaluronate binding of CD44 with point mutations in the cytoplasmic domain. *J Exp Med* 1995; 181: 55-62.
 28. Fox SB, Fawcett J, Jackson DG, Collins I, Gatter KC, Harris AL, Gearing A, Simmons DL. Normal human tissues, in addition to some tumors, express multiple different CD44 isoforms. *Cancer Res* 1994; 54: 4539-46.
 29. Finn L, Dougherty G, Finley G, Meisler A, Becich M, Cooper DL. Alternative splicing of CD44 pre-mRNA in human colorectal tumors. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200: 1015-22.
 30. Birch M, Mitchell S, Hart IR. Isolation and characterization of human melanoma cell variants expressing high and low levels of CD44. *Cancer Res* 1991; 51: 6660-7.
 31. Kaufmann M, Heider KH, Sinn HP, von Minckwitz G, Ponta H, Herrlich P. CD44 variant exon epitopes in primary breast cancer and length of survival. *Lancet* 1995; 345: 615-9.
 32. Wielenga VJM, Heider KH, Offerhaus JA, Adolf GR, van den Berg FM, Ponta H, Herrlich P, Pals ST. Expression of CD44 Variant proteins in human colorectal cancer is related tumor progression. *Cancer Res* 1993; 53: 4754-6.
 33. Horst E, Meijer CJLM, Radaszkiewicz T, Ossekoppele GJ, Van Keieken JHJM, Pals ST. Adhesion molecules in the prognosis of diffuse large-cell lymphoma: Expression of a lymphocyte homing receptor (CD44), LFA-1 (CD11a/18), and ICAM-1 (CD54). *Leukemia* 1990; 4: 595-9.
 34. Guo Y, Ma J, Wang J, Che X, Narula J, Bigby M, Wu M, Sy M. Inhibition of human melanoma growth and metastasis in vivo by anti-CD44 monoclonal antibody. *Cancer Res* 1994; 54: 1561-5.
 35. Mayer B, Jauch KW, Gunthert U, Figdor CG, Schildberg FW, Funke I, Johnson J. De-novo expression of CD44 and survival in gastric cancer. *Lancet* 1993; 342: 1019-22.
 36. Washington K, Gottfried MR, Telen MJ. Expression of the cell adhesion molecule CD44 in gastric adenocarcinomas. *Hum Pathol* 1994; 25: 1043-9.
 37. Miller A, Auld J, Jessup E, Rhodes A, Ashton-Key M. Antigen unmasking in formalin-fixed routinely processed paraffin wax-embedded sections by pressure cooking: A comparison with microwave oven heating and traditional methods. *Advances in Anat Pathol* 1995; 2: 60-64.