

피부 표피 및 멜라닌 세포성 종양에서 *bcl-2* 및 *c-myc* 단백질 발현

한양대학교 의과대학 병리학교실

오영하·박찬금·이중달

Expression of *bcl-2* and *c-myc* Proteins in Epidermal and Melanocytic Tumors

Young Ha Oh, M.D., Chan Kum Park, M.D. and Jung Dal Lee, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine, Hanyang University

bcl-2 and *c-myc* protein expression were studied in 44 epidermal (8 seborrheic keratoses, 21 squamous cell carcinomas, and 15 basal cell carcinomas), and 26 melanocytic tumors(8 nevi, and malignant melanomas) by immunohistochemistry using the specific anti-*bcl-2* and anti-*c-myc* monoclonal antibodies. 14 out of 15 basal cell carcinomas(BCC) (93.3%) showed expression of *bcl-2* protein, 12 of which (85.7%) showed coexpression of *c-myc* protein. In the melanocytic tumors, 7 out of 8 nevi showed *bcl-2* expression (87.5%). Five of these 7 cases (62.5%) also showed *c-myc* protein expression. Eight of 18 malignant melanomas(MM) (44.4%) showed expression of *bcl-2* protein and 7 of these 8 cases (38.9%) also showed *c-myc* protein expression. All seborrheic keratoses and squamous cell carcinoma(SCC) were negative for *bcl-2* proteins. 12 of 15 SCCs(80%) were positive for *c-myc* protein. In conclusion, *bcl-2* and *c-myc* proteins were coexpressed in BCCs, nevi, and MMs. Coexpression of *bcl-2* and *c-myc* proteins in these tumors was statistically significant($p<0.01$), while no considerable differences of *bcl-2* and *c-myc* expression were found between nevi and MMs. These results suggests that *bcl-2* may cooperate with *c-myc* to promote tumorigenesis of BCCs, nevi, and MMs($p<0.01$). (Korean J Pathol 1996; 30: 810~818)

Key Words: *bcl-2*, *c-myc*, Basal cell carcinoma, Nevus, Malignant melanoma

*bcl-2*는 18번 염색체에 위치하는 종양원성 유전자로 세포의 증식보다는 세포의 사멸을 조절함으로써 조직세포의 항상성(tissue homeostasis)에 영향을 주고 있다^{1,2}. *bcl-2* 유전자 산물인 *bcl-2* 단백질은 미토콘드리아, 내형질 세망, 핵막에 존재하며² 성장인자가 존

재하지 않더라도 세포가 계속 G₀ 상태에서 생존하게 함으로써 아포프토시스 (apoptosis)를 억제하는 것으로 알려져 있다³. *bcl-2* 단백질은 여포성 림프종의 약 85%에서 염색체의 전좌 t(14;18)(q32;q21)에 의해 과발현되며 따라서 *bcl-2* 유전자가 여포성 림프종의 발생과 연관이 있음이 최초로 보고되었다⁴⁻⁶. 이후 *bcl-2* 단백질이 B 세포 림프종의 약 25%에서도 강하게 발현되며⁷ 폐의 비소세포 암종⁸, 전립선 암종⁹ 및 비인두의 미분화 대세포 암종¹⁰과 같은 고형성 종양

접 수 : 1996년 1월 17일, 게재승인 : 1996년 5월 27일
주 소 : 서울시 성동구 행당동 17, 우편번호 133-792
한양대학교 의과대학 병리학교실, 오영하

에서도 발현됨이 보고된 바 있다. 최근 이러한 *bcl-2* 단백질이 피부에 발생하는 상피세포 기원의 악성 종양에서도 부분적으로 발현되며¹¹ 또한 양성 모반 및 악성 흑색종의 90% 이상에서 발현된다고 보고되어 있어¹ *bcl-2* 단백질의 이상 발현이 대다수의 양성 및 악성 멜라닌 세포성 종양발생에도 관여할 것으로 추정되고 있다.

c-myc 유전자는 8번 염색체에 존재하며 종양발생에 가장 흔하게 관여하는 유전자로 알려져 있다¹². *c-myc* 유전자는 세포 성장신호가 전달되면 가장 먼저 활성화되어 *c-myc* 단백을 생산하고 이는 *max* 단백질과 결합하여 *c-myc/max* 복합체를 형성하여 *c-sis* 등과 같은 성장관여 유전자(*growth-related gene*)를 활성화시켜 세포의 성장과 증식을 유도한다. 그러나 성장인자(*growth factor*)가 소실되면 *c-myc* 단백질은 빠르게 감소하여 세포의 성장을 멈추게 하며 이상과 같은 기전으로 세포의 성장과 증식을 유도하고 조절한다¹³. 이와는 반대로, 염색체의 전좌 혹은 유전자의 증폭과 같은 유전자의 변화에 의해 *c-myc* 단백질이 지속적으로 발현되거나 과발현되는 경우 *c-myc* 단백질로부터의 성장신호와 성장인자 소실로 인한 성장억제 신호의 불일치로 인하여 아포토시스가 유도될 수 있다¹⁴. 그러나 *c-myc* 단백질은 *bcl-2*와 같은 다른 생존신호가 존재할 경우에는 오히려 세포 증식을 촉진하는 것으로 알려져 있다¹⁵. 또한 *bcl-2*는 *c-myc*와 상호 작용하여 액체 세포 배양에서 pre-B

세포의 증식을 촉진하는 것으로 알려져 있다¹⁶. 따라서 *bcl-2*와 *c-myc* 유전자의 상호작용이 이러한 이유 때문에 종양발생 과정에 관여하는 것으로 보고되고 있다^{15,16}.

저자는 피부의 양성 및 악성 표피세포 종양과 멜라닌 세포성 종양에서 *bcl-2*와 *c-myc* 종양단백의 발현 및 분포 상태를 관찰하고 종양발생 과정에서 *bcl-2*와 *c-myc* 종양 단백질의 상호작용 여부를 알아보기 위하여 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구 재료

1985년 9월부터 1995년 6월까지 한양대학병원 조직병리과에서 진단된 피부에 발생한 표피 및 멜라닌세포 기원의 양성 및 악성 종양을 대상으로 헤마톡실린-에오진 염색 슬라이드를 재검토 하였다. 이 중에서 파라핀 블록의 이용이 가능하고 고정 및 조직상태가 비교적 양호한 70예를 선택하였다(Table 1). 이를 분류하여 보면 표피에서 기원한 양성 종양으로 지루 각화증 8예, 악성 종양으로는 보웬병 6예, 편평세포암종 15예 및 기저세포암종 15예였다. 멜라닌 세포 기원종양으로는 양성 모반 8예와 악성 흑색종 18예를 대상으로 하였다. 대조군으로는 피부의 염증성 질환으로 심상성 건선 5예와 다형성 홍반 5예 그리고 반응성 증식을 보인 림프절 2예를

Table 1. Expression of *bcl-2* protein in epidermal and melanocytic tumors

Skin Diseases (cases)	Expression				Total(%)*
	+++	++	+	-	
Epidermal tumors(44)					
Seborrheic keratosis(8)	0	0	0	8	0/8(0)
Bowen's disease(6)	0	0	1(15)	5	1/6(12.5)
Squamous cell carcinoma(15)	0	0	0	15	0/15(0)
Basal cell carcinoma(15)	6(40)	6(40)	2(13.3)	1	14/15(93.3)
Melanocytic tumors(26)					
Nevus(8)	3(37.5)	3(37.5)	1(12.5)	1	7/8(87.5)
Malignant melanoma(18)	1(5.6)	3(16.7)	4(22.2)	10	8/18(44.4)

+++ : Strong reactive.

++ : Moderately reactive

+ : Weakly reactive

- : Negative

* : Number of positive cases / number of cases studied

사용하였다. 종양의 주변이나 진피에 반응성으로 침윤한 림프구를 내부 양성 대조군으로 하였다.

2. 연구 방법

1) *bcl-2* 단백질의 면역조직화학적 염색: Anti-human *bcl-2* 단클론성 항체(Dako, Carpinteria, CA, U.S.A.)를 이용하여 avidin-biotin immunoperoxidase complex(ABC) 염색법으로 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 파라핀에 포매된 조직을 5 um 두께로 박절하여 poly-L-lysine으로 피복된 슬라이드에 부착시킨 후 60°C 부란기 안에서 1시간 반응시킨 후 xylene과 alcohol을 이용하여 탈파라핀 후 수세하였다. pH 6.0의 구연산 완충액(citric acid buffer)에 슬라이드를 잠기게 한 후 전자 렌지에서 5분간 2회 끓였다. 이후 증류수에 2회 세척 후 pH 7.6 Tris 완충액에 약 10분간 중화시켰다. 3% 과산화수소수에 5분간 작용시켜 내인성 페록시다제(endogenous peroxidase)의 작용을 차단시킨 후 물로 5분간 세척하였다. 이후 다시 pH 7.6 Tris 완충액에 10분간 중화시킨 후 차단 혈청(blocking serum)에 10분간 작용시켜 비특이성 단백질 염색을 차단하였다. *bcl-2*에 대한 일차 항체는 1:80 배로 희석하여 사용하였고 약 1시간 실온에서 반응시켰다. 다시 pH 7.6 Tris 완충액에 약 5분간 2회 중화시켰다. 이차 항체로 biotinylated rabbit anti-mouse IgG link antibody를 떨어 뜨린 후 실온에서 20분간 배양하였다. 다시 Tris 완충액에 10분간 2회 세척한 후 streptavidin-biotin complex (Dako, LSAB Kit, Carpinteria, CA, U.S.A.)에 약 20분간 작용시킨 후 다시 Tris 완충액으로 10분간 2회 세척하였다. AEC chromogen에 5~10분간 발색시키고 흐르는 물에 수세한 후 crystal 봉입제로 봉입하였다.

2) *c-myc* 단백질의 면역조직화학적 염색: *c-myc* 단백질의 발현양상을 관찰하기 위해 *c-myc* 단백질에 대한 mouse 단 클론성 항체(Novocastra, Newcastle, United Kingdom)로 *bcl-2* 단백질에 대한 면역조직화학적 염색과 같은 방법으로 시행하였다. *c-myc*에 대한 일차 항체는 1:150로 희석하여 사용하였다.

3) *bcl-2* 발현의 판정: *bcl-2* 단백질의 면역조직화학적 염색은 종양세포의 세포질에 염색된 경우를 양성으로 판정하였다. 각 병변을 광학현미경하에서 저배율로 관찰하여 양성으로 염색된 부분이 전 병변에서 몇 %가 염색되었는지를 관찰하고 전 병변의 5% 이하에서 염색반응을 보이는 예는 음성으로 판정하였고, 5~25%에서 염색반응을 보이면서 고배율하에서 염색정도가 약 양성인 예를 1+, 25~50%에서 염색반응을 보이면서 염색정도가 중등도인 예를

2+, 50% 이상에서 염색반응을 보이면서 염색정도가 강 양성인 예를 3+로 구분하였다.

4) *c-myc* 발현의 판정: *c-myc* 단백질의 면역조직화학적 염색은 종양세포의 세포질이나 핵막 주위에 염색된 경우를 양성으로 판정하였다. 각 병변을 관찰하여 전 병변의 10% 이하에서 염색반응을 보이는 예를 음성으로 판정하였고 10% 이상에서 염색반응을 보이는 예를 양성으로 판정하였다.

결 과

1. *bcl-2* 단백질

bcl-2 단백질에 대한 면역조직화학적 염색의 결과를 Table 1에 요약하였다. *bcl-2* 단백질은 표피의 기저세포와 진피내 반응성으로 침윤한 림프구에서 발현되었다. 표피 종양에서 기저세포암종은 15예 중 14예(93.3%)에서 양성으로 발현되었으나 그외는 Bowen병 6예중 1예에서만 양성으로 발현된 이외에 8예의 지루 각화증과 15예의 편평세포암종은 모두 음성이었다. 멜라닌 세포성 종양 중 양성 모반은 8예 중 7예(87.5%)에서 강하게 혹은 중등도로 발현되었고 악성 흑색종은 18예 중 8예(44.4%)에서 양성으로 발현되었으며 악성 흑색종의 발현 강도는 양성 모반에 비해 약하게 발현되었다. 피부의 염증성 질환인 심상성 건선 5예 및 다형성 홍반 5예에서는 모두 음성이었다(Table 1). 양성 대조군으로 사용한 반응성 증식을 보인 림프절 2예에서는 림프 여포의 외투층

Table 2. Expression of *c-myc* protein in skin tumors

Skin Diseases (cases)	Expression		Total(%)*
	+	-	
Epidermal tumors(44)			
Seborrheic keratosis(8)	0	8	0/8(0)
Bowen's disease(6)	3(50)	3	3/6(50)
Squamous cell carcinoma(15)	12(13.3)	3	12/15(80)
Basal cell carcinoma(15)	12(80)	3	12/15(80)
Melanocytic tumors(26)			
Nevus(8)	5(62.5)	3	5/8(62.5)
Malignant melanoma(18)	11(61.1)	7	11/18(61.1)

+ : Positive

- : Negative

* : Number of positive cases / number of cases studied

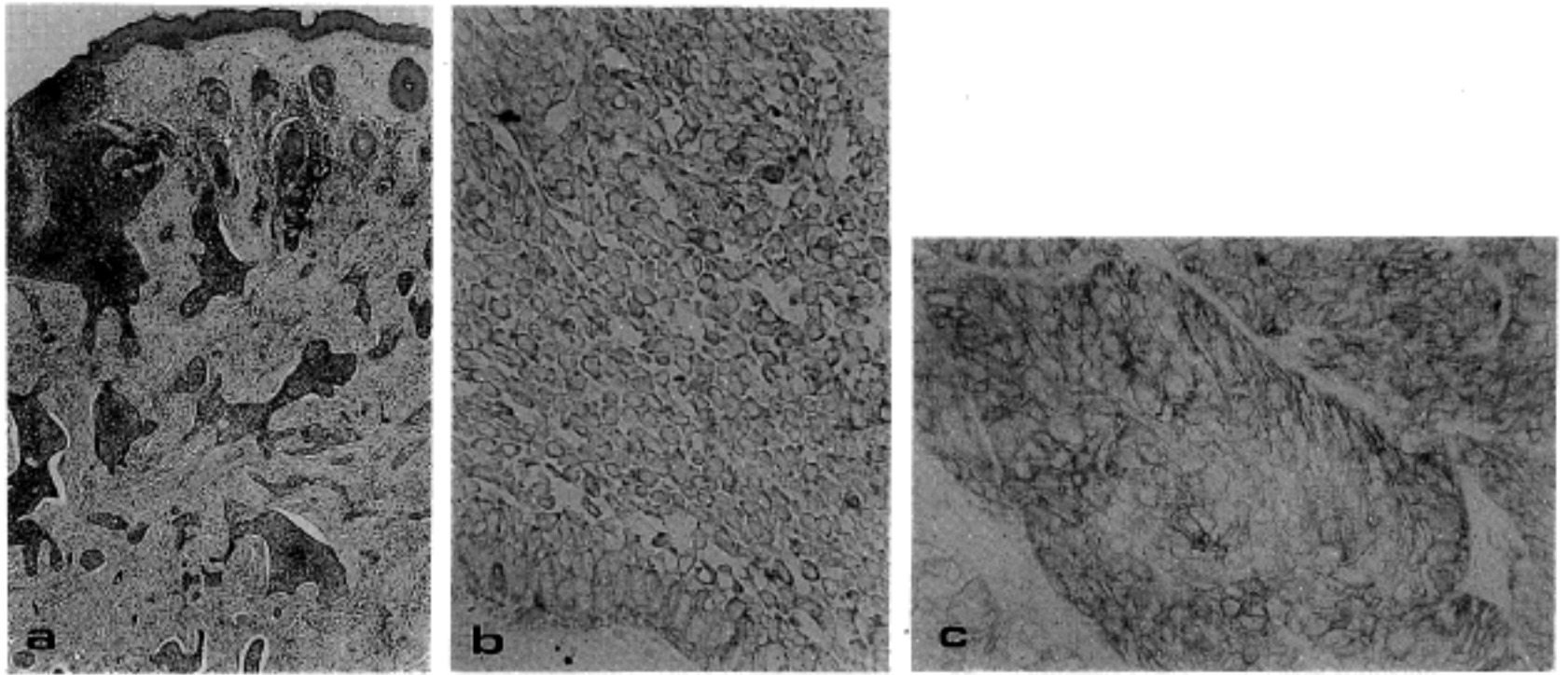


Fig. 1 a: Light microscopic finding of basal cell carcinoma (H-E, $\times 20$).
b: A thin rim of cytoplasmic staining with *bcl-2* is seen in tumor cells (ABC, $\times 200$).
c: Moderately positive immunoreactivity for *c-myc* protein is seen in tumor cells (ABC, $\times 200$).

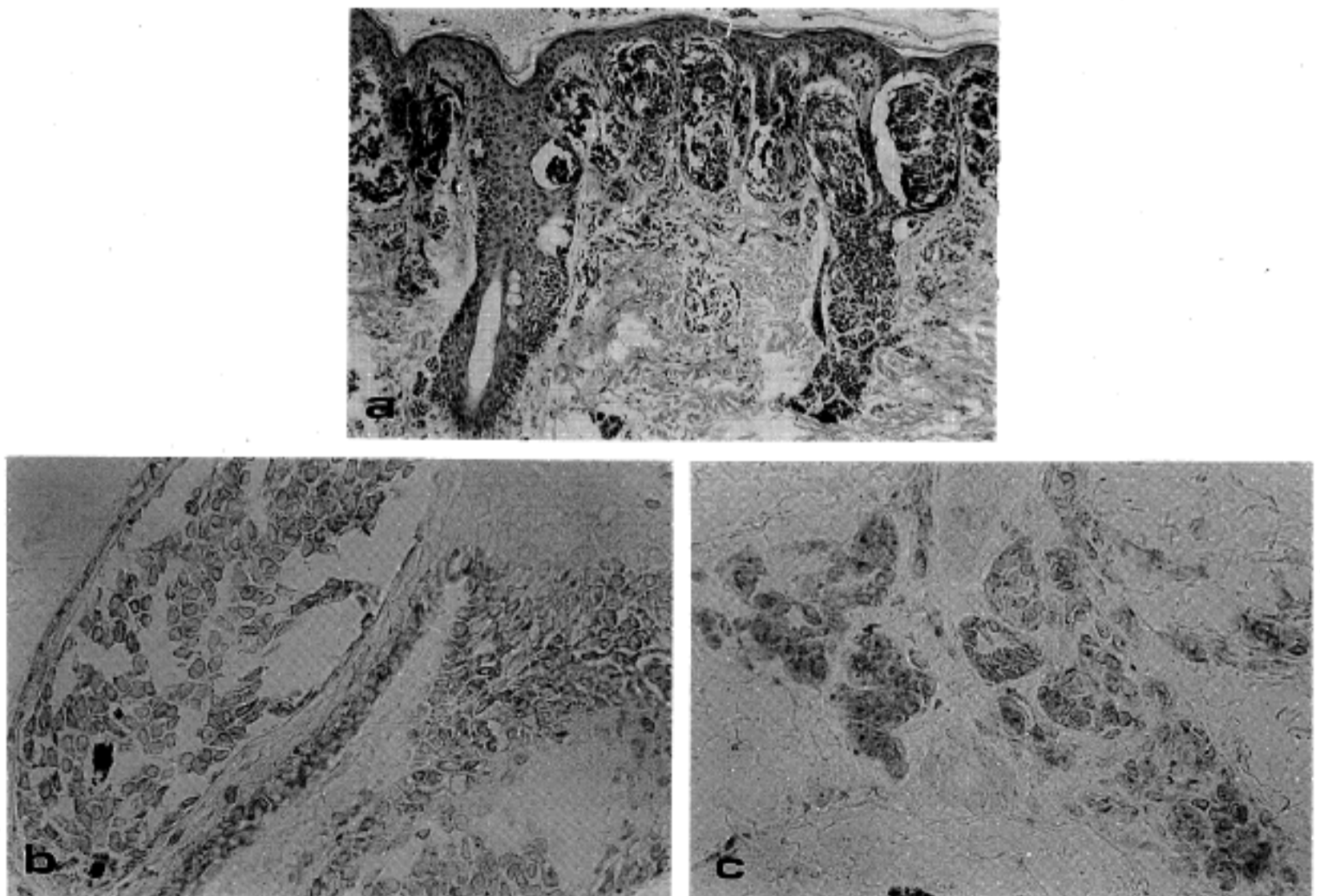


Fig. 2 a: Light microscopic finding of compound nevus (H-E, $\times 20$).
b: Nevus cell nests in the epidermis showing strong positivity for *bcl-2* protein. Also showed a *bcl-2* immunoreactivity in basal cell layer (ABC, $\times 200$).
c: Nevus cells in reticular dermis showing strong positivity for *c-myc* protein (ABC, $\times 200$).

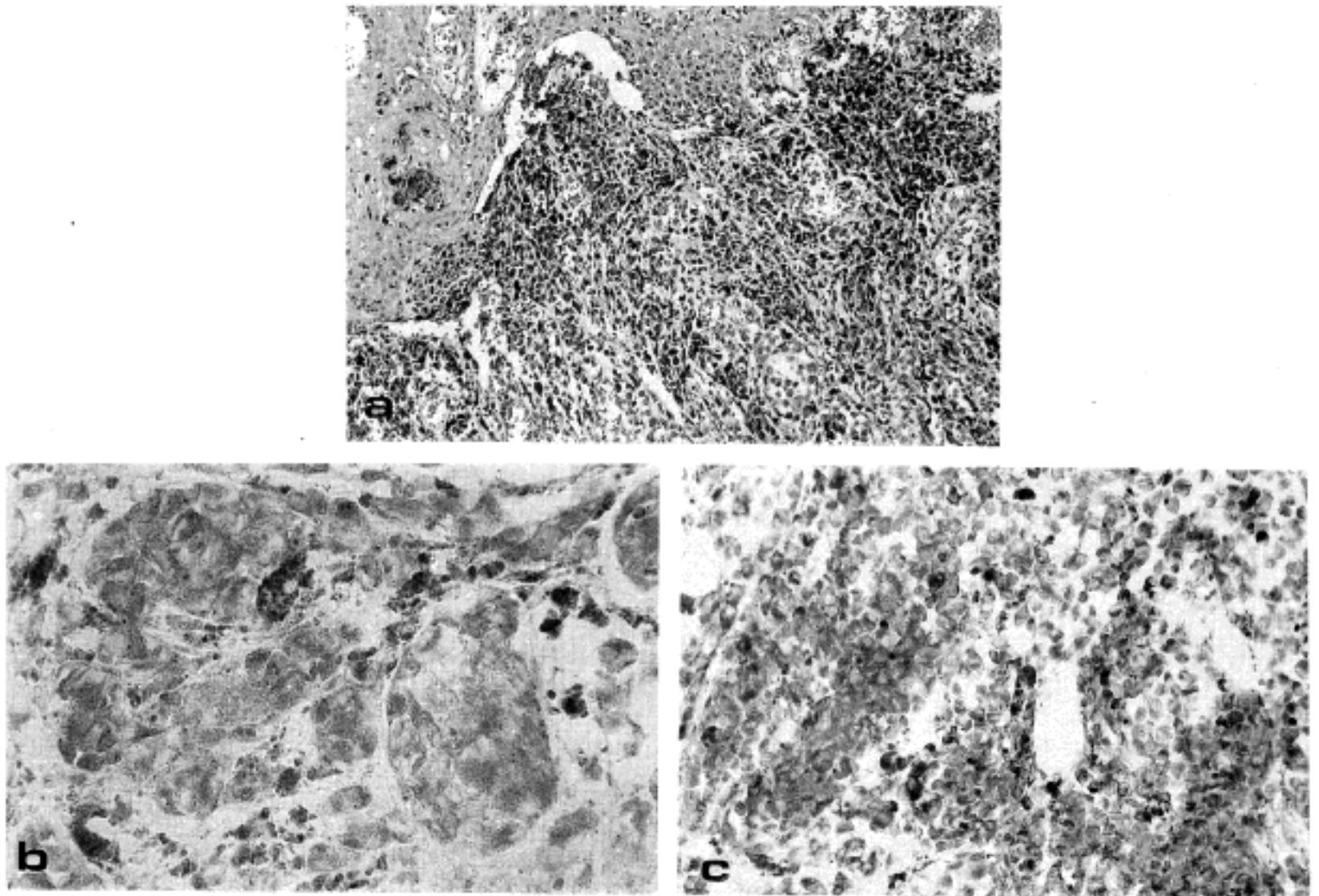


Fig. 3 a: Light microscopic finding of nodular malignant melanoma (H-E, ×100).
 b: Tumor cells show strong intracytoplasmic *bcl-2* expression (ABC, ×400).
 c: Coexpression of *c-myc* in tumor cells (ABC, ×200).

(mantle zone) 림프구에 양성이었으며 배중심(germinal center)에는 음성이었다.

2. *c-myc* 단백질

c-myc 단백질의 면역조직화학적 염색 결과를 Table 2에 요약하였다. *c-myc* 단백질은 표피의 기저세포와 진피내 반응성으로 침윤한 림프구에 발현되었다.

표피 종양에서 기저세포암종은 15예 중 12예(80%)에서 발현되었다. 보웬병에서는 6예 중 3예(50%)에서 국소적으로 발현되었고 편평세포암종은 15예 중 12예(80%)에서 발현되었다. 지루 각화증 8예는 모두 음성이었다. 멜라닌 세포성 종양 중 양성 모반은 8예 중 5예(62.5%)에서 양성이었고 악성 흑색종은 18예 중 11예(61.1%)에서 양성이었다. 피부의 염증성 질환인 심상성 건선 5예 및 다형성 홍반 5예에서는 모두 음성이었다(Table 2). 양성 대조군으로 사용한 반응성 증식을 보인 림프절 2예에서는 림프 여포 외두층의 림프구 및 배중심 림프구에 양성 반응을

나타내었다.

3. *bcl-2* 단백질과 *c-myc* 단백질의 상관 관계

bcl-2 단백질과 *c-myc* 단백질에 대한 면역조직화학적 염색 결과의 상관 관계를 Table 3에 요약하였다. 15예의 기저세포암종(Fig. 1a)에서 *bcl-2*에 양성이었던 14예 중(Fig. 1b) 12예에서 *c-myc*에 양성으로 발현되었으며(Fig. 1c) *bcl-2*에 음성이었던 1예는 *c-myc*에 음성이어서 80%의 양성 일치율을 보였다. 보웬병 6예에서는 *bcl-2*에 양성이었던 1예가 *c-myc*에도 양성으로 발현되었고 음성이었던 나머지 5예에서는 2예가 *c-myc*에 국소적으로 양성으로 발현되었다. 편평세포암종 15예 모두가 *bcl-2*에는 음성이었으나 *c-myc*에는 15예중 12예에서 발현되었다. 멜라닌 세포성 종양 중 양성 모반은(Fig. 2a) *bcl-2*에 양성이었던 7예 중(Fig. 2b) 5예가 *c-myc*에 양성이고(Fig. 2c) *bcl-2*에 음성이었던 1예는 *c-myc*에도 발현되지 않아 62.5%의 양성 일치율을 보였다. 또한 악성 흑색종

Table 3. Correlation between *bcl-2* and *c-myc* protein expression in epidermal and melanocytic tumors

Type of Skin Disease (cases)	<i>bcl-2</i> / <i>c-myc</i> (%)			
	+ / +	+ / -	- / +	- / -
Epidermal tumors(44)				
Seborrheic Keratosis(8)	0	0	0	8(100)
Bowen's disease(6)	1(16.7)	0	2(33.3)	3(50)
Squamous cell carcinoma(15)	0	0	12(80)	3(20)
Basal cell carcinoma(15)	12(80)	2(13.3)	0	1(6.7)
Melanocytic tumors(26)				
Nevus(8)	5(62.5)	2(25)	0	1(12.5)
Malignant melanoma(18)	7(38.9)	1(5.6)	4(22.2)	6(33.3)

+ : Positive
- : Negative

18예에서(Fig. 3a) *bcl-2*에 양성이었다던 8예 중(Fig. 3b) *c-myc*에 양성을 보인 예는 7예였고(Fig. 3c) *bcl-2*에 음성이었던 10예 중 4예에서 *c-myc*에 양성으로 발현되어 38.9%의 양성 일치율을 보였다. 지루 각화증 8예, 그리고 염증성 질환인 심상성 건선 5예 및 다형성 홍반 5예 모두에서 *bcl-2*와 *c-myc* 단백질의 발현이 관찰되지 않았다. 따라서 전체적인 *bcl-2* 발현양상과 *c-myc*의 발현사이의 상관관계를 보면 총 70예 중 57예(81.4%)에서 일치하였다($p < 0.01$).

고 찰

계획된 정상세포의 사멸 즉, 아포프토시스(apoptosis)는 glucocorticoid나 자외선과 같은 여러가지 자극에 의해 유도된다¹¹. 이에 반해 종양 조직의 아포프토시스는 항암 요법¹⁷, 고온 요법¹⁸, 방사선 조사¹⁹ 등에 의해 조장된다. 이외에도 p53²⁰, *c-myc*²¹, *bcl-2*²²와 같은 유전자가 아포프토시스의 조절에 관여한다고 보고되어 있다.

*bcl-2*는 계획된 세포의 사멸을 방해하여 세포의 생존을 연장시키는 단백을 유도하는 종양원성 유전자이다². 이는 세포의 증식에는 관여하지 않으나 세포의 사멸을 조절함으로써 조직의 항상성 유지에 기여하는 종양 유전자의 새로운 유형에 포함된다¹². *bcl-2* 유전자의 산물인 *bcl-2* 단백질은 세포에 꼭 필요한 성장 인자가 없는 상태에서도 G₀ 상태로 세포를 생존하게 한다³. 이 단백질은 정상적으로 전립선, 유방, 갑상선, 췌장, 림프조직, 위장관계, 신경계 및 피부조직에서 발현된다고 알려져 있다²². 피부에서는

저자들의 연구에 의하면 표피의 기저세포와 정상 멜라닌 세포에서 발현됨을 관찰할 수 있었다. *bcl-2* 유전자가 종양발생에 관여한다고 처음 보고된 것은 여포성 림프종으로⁴⁻⁶ 이 종양의 대부분에서 *bcl-2* 단백질의 발현이 관찰된 이래 고등급의 비호지킨 림프종⁷에 이어 최근에는 폐장의 비 소세포 암종⁸, 전립선에 발생한 androgen-independent carcinoma⁹, 비인두의 미분화 대세포 암종¹⁰과 같은 고형성 종양에서도 발현됨이 보고된 바 있다. 또한 피부에 발생하는 각종 종양¹¹과 멜라닌 세포성 종양¹에서도 부분적으로 발현됨이 보고되어 *bcl-2* 종양 유전자가 피부 종양 발생에도 관여하는 것으로 보고되고 있다.

*c-myc*은 8번 염색체의 장지(long arm)에 존재하며, 정상적으로 세포 성장신호가 전달될때 가장 먼저 활성화되어 세포의 증식을 유도하거나 또는 이를 조절하는 유전자군에 속한다¹³. *c-myc*은 Burkitt 림프종 등 많은 종양의 발생과정에 가장 흔하게 관여하는 유전자로 알려져 있다¹². *c-myc* 유전자는 세포 성장신호가 전달되면 가장 먼저 활성화되어 *c-myc* 단백질의 생산을 유도하고 이는 *max*라는 다른 단백질과 결합하여 *c-myc/max* 복합체를 형성하여 염색체에 부착하고 *c-sis* 등의 인접한 성장 관여 유전자를 활성화시켜 세포의 성장과 증식을 유도한다¹³. 그러나 성장인자가 소실되면 *c-myc* 단백질은 빠르게 감소하여 세포의 성장을 멈추게 하며 이상과 같은 기전으로 세포의 성장과 증식을 유도하고 조절한다¹³. 이와는 반대로, 염색체의 전좌 혹은 유전자의 증폭과 같은 유전자의 변화에 의해 *c-myc* 단백질이 지속적으로 발현되거나 과발현되는 경우 *c-myc* 단백질로 부터의

성장신호와 성장인자 소실로 인한 성장억제 신호의 불일치로 인하여 아포프토시스가 유도될 수 있다¹⁴. 그러나 *c-myc* 단백질은 *bcl-2*와 같은 다른 생존신호가 존재할 경우에는 오히려 세포 증식을 촉진하는 것으로 알려져 있다¹⁵. 또한 *bcl-2*는 *c-myc*과 상호 작용하여 액체 세포 배양에서 pre-B 세포의 증식을 촉진하는 것으로 알려져 있다¹⁶. 따라서 *bcl-2*와 *c-myc* 유전자의 상호작용이 이러한 이유때문에 종양발생 과정에 연관되어 있는 것으로 보고되고 있다^{15,16}.

본 연구에서는 *bcl-2*와 *c-myc*의 발현이 일치하여 발현되는 경우가 81.4%로서 두 단백질의 발현이 매우 밀접한 상관관계가 있음이 관찰되었다($p < 0.01$). 피부 질환 및 지루 각화증과 같은 양성 병변에는 *bcl-2*와 *c-myc* 단백질의 발현이 모두 음성으로 나타났고 편평 세포암종에서는 *c-myc* 단백질은 15예중 12예(80%)에서 발현되었으나 *bcl-2* 단백질은 모두 음성이었다. 국소적으로 발현된 외에 대부분 음성이었다. 반면 기저세포암종은 12예가 *bcl-2*와 *c-myc*에 모두 양성하였고 2예는 *bcl-2*에만 양성으로 발현되었으며 모두 음성인 경우는 단 한예에 불과하였다. 이와 같은 결과를 종합하여 볼때 표피 질환 및 지루 각화증 그리고 보웬병을 포함한 편평세포암종의 발생과정에는 *bcl-2*와 *c-myc*의 상호작용에 의한 아포프토시스의 억제보다는 다른 기전이 작용했을 것으로 생각된다. 이에 반해 기저세포암종에서는 *bcl-2*와 *c-myc*이 대부분 동시에 그리고 강하게 발현되고 있기 때문에 *bcl-2*와 *c-myc* 유전자의 상호작용에 의한 아포프토시스의 억제 기전이 종양 발생에 깊이 관여했을 가능성을 강력히 시사하고있다($p < 0.01$).

1994년 Nakagawa등¹¹은 피부의 염증성 병변 및 피부 암종을 대상으로 *bcl-2*에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 본 연구와 유사한 연구 결과를 보고하였다. 그들의 연구에서도 염증성 병변, 보웬병 및 편평세포암종에는 대부분 음성이었으나 기저세포암종에서는 모두 강하게 발현되어 기저세포암종의 경우 *bcl-2*에 의한 아포프토시스의 억제가 종양 발생에 관여한다고 보고하였다. 최근 Cerroni등¹은 멜라닌 세포성 종양 중 악성 흑색종의 93.5%와 양성 모반의 94.3%에서 *bcl-2* 단백질이 발현된다고 보고하였으며, 따라서 *bcl-2* 단백질의 이상발현이 대다수의 양성 및 악성 피부 멜라닌 세포 병변 발생에 관여할 것으로 추정되고 있다. 본 연구에 의하면 양성 모반의 7예(87.5%)와 악성 흑색종 8예(44.4%)에서 *bcl-2*에 양성으로 발현되었고 이 중 양성 모반 5예와 악성 흑색종 7예는 *c-myc*에도 양성이었다. 또한 *bcl-2*와 *c-myc*이 모두 음성인 경우는 양성 모반 1예

(12.5%)와 악성 흑색종 6예(33.3%)였다. 이 두 군에 대한 *bcl-2*와 *c-myc* 단백질의 발현사이의 상관관계 분석은 모두 $p > 0.05$ 로 유의할 만한 차이가 없었다. 본 연구에서는 Cerroni등¹의 보고에 비해 멜라닌 세포성 종양에서 *bcl-2*의 발현율이 낮았으며 특히 악성 흑색종에서 발현율이 더욱 낮았다. 또한 발현 강도도 양성 모반은 대부분 강양성 혹은 중등도 양성이었으나 악성 흑색종은 대부분이 중등도 혹은 약한 양성 반응을 보였다. 이와 같은 결과는 본 연구에서 다음과 같은 가능성을 시사하고 있다. 즉, 양성 모반에서 *bcl-2*와 *c-myc* 단백질의 발현이 동시에 매우 강하게 발현되어 두 단백질의 상호 작용에 의한 아포프토시스의 억제가 멜라닌 세포성 종양의 발생 과정의 초기에 관여하나 이것이 점차 진행되거나 또는 악성으로 진행된 뒤에는 이들의 기능이 거의 관여하지 않고 다른 기전이 활성화 되면서 이들 단백질의 발현이 점차 약해지거나 사라지는 것이 아닌가 생각된다. 본 연구의 결과는 Cerroni등¹의 연구에 비해 *bcl-2*의 발현율이 다소 떨어지나 두 군에서 유의할 만한 차이가 없었던 점 등은 그들의 결과와 비슷하였다. 따라서 *bcl-2* 단백질과 *c-myc* 단백질의 발현이 대부분의 양성 및 악성 멜라닌 세포성 종양에서 종양발생에 관여하는 하나의 기전일 것으로 생각된다. 그러나 악성 종양의 발생과정에 여러 단계의 유전적인 변화와 많은 요인들이 관여하기 때문에 *bcl-2*와 *c-myc*의 상호작용에 의한 아포프토시스의 억제가 종양의 초기 발생과정에 관여할 것이라고 생각되며 그 이후 악성으로 진행되거나 변형되는 과정은 그 이후의 유전적인 변화 혹은 그 이외의 다른 기전이 작용할 것이라고 생각된다. 이와 유사한 발생기전이 *bcl-2* immunoglobulin transgenic mice에서 발생한 고등급의 악성 림프종에서 이미 기술되었다¹⁵. 또한 18번 염색체를 침범하는 유전적 이상이 양성 모반 및 악성 흑색종에서 보고된 바 있어^{23,24} 본 연구의 결과 및 저자들의 가설을 뒷받침하고 있다.

결 론

피부에 발생한 표피 및 멜라닌 세포성 종양에서 *bcl-2* 및 *c-myc* 단백질의 발현과 이들 종양 단백질의 상호 작용 관계를 규명하고자 *bcl-2*와 *c-myc* 단백질에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 기저세포암종과 양성 및 악성 멜라닌 세포성 종양에서 *bcl-2* 단백질의 과발현이 있었고 이때 *c-myc*

단백도 발현되었다.

2) 표피 기원의 종양 중 지루 각화증에서는 두 단백질의 발현이 거의 관찰되지 않았으나 편평세포 암종에서는 *bcl-2* 단백질은 전예에서 음성이었으나 *c-myc* 단백질은 15예중 12예(80%)에서 발현되었다.

3) 양성 모반과 악성 흑색종에서는 *bcl-2*와 *c-myc* 단백질의 발현에 유의할 만한 차이가 없었으나 악성 흑색종에 비해 양성 모반에서 더 많이 발현되었으며 염색강도도 양성 모반에서 다소 강하게 발현되었다.

이상의 결과를 종합하여 볼때 첫째, 기저세포암종에서는 아포프토시스의 억제에 의한 종양발생 과정에 *bcl-2*와 *c-myc*이 상호 작용하였으리라 생각되며 둘째, 편평세포암종의 발생과정에는 *bcl-2*와 *c-myc* 유전자의 상호 작용에 의한 아포프토시스의 억제보다는 다른 기전이 작용할 것으로 생각된다. 셋째, 양성과 악성 멜라닌 세포성 종양에서 *bcl-2*와 *c-myc* 단백질의 상호작용에 의한 아포프토시스의 억제가 발생과정의 초기에 관여하는 것으로 추정되나 악성으로 진행된 후에는 상호작용이 관여하지 않는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Cerroni L, Soyer HP, Kerl H. *bcl-2* protein expression in cutaneous malignant melanoma and benign melanocytic nevi. *Am J Dermatopathol* 1995; 17: 17-21.
2. Hockenbery DM, 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.
3. Korsmeyer SJ. *Bcl-2* initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood* 1992; 80: 879-86.
4. Bakhshi A, Jensen JP, Goldman P, Wright JJ, McBride OW, Epstein AL, Korsmeyer SJ. Cloning the chromosomal breakpoint of t(14;18) human lymphomas: Clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18. *Cell* 1985; 41: 889-906.
5. Cleary ML, Sklar J. Nucleotide sequence of a t(14;18) chromosomal breakpoint in follicular lymphoma and demonstration of a breakpoint cluster region near a transcriptionally active locus on chromosome 18. *Proc Nat Acad Sci USA* 1985; 82: 7439-43.
6. 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.
7. Yunis JJ, Oken MM, Kaplan ME, Ensrud KM, Howe RR, Theologides A. A distinctive chromosomal abnormalities in histologic subtypes of non-Hodgkin,s lymphomas. *N Engl J Med* 1982; 307: 1231-6.
8. Pezzella F, Turley H, Kuzu I, et al. *bcl-2* protein in non-small-cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 690-4.
9. McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM, et al. Expression of the protooncogene *bcl-2* in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 6940-4.
10. 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.
11. Nakagawa K, Yamamura K, Maeda S, Ichihashi M. *bcl-2* expression in epidermal keratinocytic diseases. *Cancer* 1994; 74: 1720-4.
12. Kato GJ, Barrett J, Villa-Garcia M, Dang CV. An amino-terminal *c-myc* domain required for neoplastic transformation activates transcription. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 5914-20.
13. Koskinen PJ, Alitalo K. Role of myc amplification and overexpression in cell growth, differentiation, and death *Semin Cancer Biol* 1993; 4: 3-11.
14. Klefstrom J, Vastrik I, Saksela E, Valle J, Eilers M, Alitalo K. *c-myc* induces cellular susceptibility to the cytotoxic action of TNF- α *EMBO J* 1994; 13: 5442-50.
15. Strasser A, Harris AW, Bath ML, Cory S. Novel primitive lymphoid tumours induced in transgenic mice by cooperation between myc and *bcl-2*. *Nature* 1991; 348: 331-3.
16. Vaux DL, Cory S, Adams JM. *Bcl-2* gene promotes haematopoietic cell survival and cooperates with *c-myc* to immortalize pre-B cells. *Nature* 1990; 335: 440-2.
17. Kaufmann SH. Induction of endonucleolytic DNA cleavage in human acute myelogenous leukemia cells by etoposide, camptothecin, and other cytotoxic anticancer drugs : a cautionary note. *Cancer Res* 1989; 49: 5870-8.
18. Lotem J, Sachs L. Regulation by *bcl-2*, *c-myc*, and p53 of susceptibility to induction of apoptosis by heat shock and cancer chemotherapy compounds in

- differentiation- competent and defective myeloid leukemic cells. *Cell Growth & Differ* 1993; 4: 41-7.
19. Yamada T, Ohyama H. Radiation-induced interphase death of rat thymocytes is internally programmed (apoptosis). *Int J Radiat Biol* 1988; 53: 65-75.
 20. Yonish-Rouach E, Resnitzky D, Lotem J, Sachs L, Kimchi A, Oren M. Wild-type p53 induces apoptosis of myeloid leukemic cells that is inhibited by interleukin-6. *Nature* 1991; 352: 345-7.
 21. Evan GI, Wyllie AH, Gilbert CS, et al. Induction of apoptosis in fibroblasts by *c-myc* protein. *Cell* 1992; 69: 119-28.
 22. Bellamy C, Malcomson R, Harrison D, Wyllie AH. Cell death in health and disease : the biology and regulation of apoptosis. *Semin Cancer Biol* 1994; 6: 154-67.
 23. Cowan JM, Halaban R, Francke U. Cytogenetic analysis of melanocytes from premalignant nevi and melanomas. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 1159-64.
 24. Pedersen MI, Bennett JW, Wang N. Nonrandom chromosome structural aberrations and oncogene loci in human malignant melanomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 20: 11-27.
-