

방광 이행세포암종의 악성도 지표로서 Epidermal Growth Factor Receptor, c-erbB-2, p53 단백질의 면역조직화학적 발현양상에 관한 연구

한양대학교 의과대학 병리학교실 및 비뇨기과학교실*
삼성서울병원 진단병리과**

공 구 · 신기용* · 김선진* · 고영혜**
박해영* · 우영남* · 이종달

Expressions of Epidermal Growth Factor Receptor, c-erbB-2 and p53 Protein as Useful Markers of Malignant Potential in a Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder

Gu Kong, M.D., Ki Yong Shin, M.D.*, Sun Jin Kim, M.D.*, Young Hye Ko, M.D.**
Hae Young Park, M.D.*, Young Nam Woo, M.D.* and Jung Dal Lee, M.D.

Departments of Pathology and Urology*, College of Medicine, Hanyang University
Department of Diagnostic Pathology, Samsung Seoul Hospital**

Transitional cell carcinoma(TCC) of the urinary bladder shows marked heterogeneity in biological behaviors. Evidence has accumulated that biological markers may provide significant information to predict the potential aggressiveness of TCC. We have assessed the expression of the epidermal growth factor receptor (EGF-R), c-erbB-2 and p53 proteins in 56 cases of TCC to investigate the prognostic significance of differential expression of these oncoproteins using an immunohistochemical method. We analysed the expression patterns of these oncoproteins according to tumor stage and grade. And we assessed the probability of progression-free survival in stage T1 tumors according to their expressions. Positive rates of EGF-R (>+3 staining intensity), c-erbB-2 (intense membrane staining) and p53 proteins (>20% positive cells) were 73.2%, 37.5% and 42.9%, respectively. Invasive tumors had significantly higher positive rates of all three factors than did superficial tumors ($p < 0.005$ for EGF-R and c-erbB-2, $p < 0.05$ for p53). High grade tumors had significantly higher positive rates of c-erbB-2 and p53 proteins ($p < 0.005$). In superficial tumors, T1 tumors had higher positive rate of p53 protein compared with Ta tumors ($p < 0.05$). Twelve cases of superficial tumors (34.3%) were positive for EGF-R and negative for c-erbB-2 and p53 proteins. Nine cases of superficial tumors(25.7%) were negative for all three factors. In invasive tumors, however, 42.5% of the cases were positive for all three factors. The overexpression of p53 protein was the only useful marker to predict the rapid progression in stage T1 tumors ($p < 0.05$, log-rank test). These results suggest that the differential overexpression of EGF-R, c-erbB-2 and p53 proteins could be useful to depict tumor

접 수: 1996년 8월 5일, 게재승인: 1996년 9월 25일

주 소: 서울시 성동구 행당동 17, 우편번호 133-791
한양대학교 의과대학 병리학교실, 공 구

aggressiveness of TCC of the urinary bladder. And, the overexpression of a p53 protein may be a useful marker to predict the possibility of rapid progression in stage T1 tumors. (**Korean J Pathol 1997; 31: 51~58**)

Key Words: Transitional cell carcinoma, Malignant potential marker, EGF-R c-erbB-2 p53, Immunohistochemistry

서 론

암의 발생은 여러가지 성장인자와 종양유전자, 종양억제유전자의 다양한 유전적 변이의 축적된 결과라고 여겨지고 있다¹. 다른 암에서와 마찬가지로 방광 이행세포암종(이하 방광암)에서는 이와같은 유전적 변이에 대한 광범위한 검색이 이루어져 왔으며², 임상에서는 이들 유전적 변이가 암의 자연경과와 함께 환자의 예후를 예측할 수 있는 지표가 될 수 있는지에 대한 검증이 꾸준히 진행되고 있다.

이제까지의 연구결과를 종합해 보면, 방광암의 약 10%에서는 ras 종양유전자의 활성화가 관찰되었고^{3,4}, epidermal growth factor receptor (EGF-R)의 발현양상은 종양의 악성도와 밀접한 관계가 있다고 알려져 있고^{5,6}, p53 종양억제 유전자의 변이는 종양발생의 후기에 일어나서 침윤성암으로의 진행에 중요한 역할을 하리라 여겨지고 있다^{7,8}. 또한 최근 논란이 있기는 하지만 EGF-R과 구조적으로 유사한 c-erbB-2 종양유전자가 방광암 환자의 예후를 예측할 수 있는 한가지 인자가 될 수 있다는 보고⁹가 있어 이에 대한 관심이 높아지고 있다. 방광암의 발생에 있어서 이와같은 유전적 변이가 암의 특성을 결정하는 직접적인 원인이 되는지 아니면 단지 암의 특성에 따른 표현형의 차이인지는 확실하지 않으나 이들의 발현양상을 총체적으로 분석할 경우 종양의 세분화된 분류가 가능하리라 여겨지고, 이와같은 분석은 기존의 조직병리학적 특성에 근간을 두고 있는 현재의 임상적 예후판단 및 치료선택에 있어서 좀 더 다양한 접근방법을 제시해줄 수 있을 것으로 생각된다. 이에 저자들은 방광암에서 악성도와 밀접한 관계가 있으리라 여겨지는 EGF-R와 c-erbB-2 및 p53 단백질의 면역조직화학적 검색을 시행하여 이들의 발현양상이 암종의 악성도에 따라 어떻게 달리 나타나는지를 분석해 보고, 이들의 임상 적용가능성 여부를 알아보고자 이 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1984년부터 1991년까지 한양대학병원 조직 병리과에서 방광암으로 진단을 받은 환자중에서 조직검체의 보관이 양호하고 12개월이상 추적관찰이 가능하였던 56예를 대상으로 하였다. 대상환자의 연령은 35세부터 82세로 평균 63세이었고 남자가 49예, 여자가 7예이었다. 대상환자의 조직표본과 임상기록을 재검토하여 임상 병기, 암의 분화도 및 침윤여부를 재확인하였다. 임상적 병기는 UICC (International Union Against Cancer, 1978)에 의한 TNM 분류법을 이용하였는데 Ta가 7예, T1이 28예, T2가 6예, T3가 5예, T4 이상이 10예이었다. 암의 분화도는 Ash 분류법¹⁰에 따라 분류하였으며, Grade I이 1예, II가 27예, III가 22예, IV가 6예였다. 환자의 추적 관찰기간은 최하 12개월에서 최고 117개월로 평균 34개월이었다.

2. 연구방법

1) EGF-R, c-erbB-2의 면역조직화학적 염색: 생검으로 얻어진 조직을 10% 중성 포르말린으로 고정하여 파라핀에 포매하고 4 μ m 두께로 박절한 후 xylene으로 파라핀을 제거하였다. 100%에서 50%까지의 알코올에 연속적으로 처리한 후 증류수로 재함수화 시켰다. 1% 과산화수소(H₂O₂) 용액에 20분간 처리하여 내인성 페록시다제를 제거하고 37°C 0.1% trypsin 용액(pH 7.0)에서 20분간 부화시키고 마혈청을 도포하여 다시 20분간 부화시킨후 EGF-R, c-erbB-2에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하였다. EGF-R는 단클론성 rabbit anti-human antibody 528 (1:10, Oncogene science, NY, U.S.A.)을, c-erbB-2는 단클론성 c-erbB-2 rabbit anti-human antibody (1:40, Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK)를 도포하여 1시간 동안 부화시킨 후 바이오틴이 부착된 horse anti-rabbit IgG (Vector Lab., Burlingame, CA, U.S.A)를 도포하여 30분간 부화시켰다. 그후 avidin-biotin-peroxidase complex

(Vector Lab., Burlingame, CA, U.S.A.)를 도포하여 30 분간 처리하고 diaminobenzidine (Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.) 용액에 발색한 후 Meyer's hematoxyline 에 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

2) p53 단백질의 면역조직화학적 염색: 생검 조직을 10% 포르말린 고정후 파라핀 포매를 거친후 4 μ m 두께로 박절하였다. 이전의 방법대로 탄파라핀 및 함유시키고 이를 pH 7.0의 구연산 완충액에 담그어 마이크로 오븐에서 5분간 열처리를 하였다. 희석된 염소 현청을 가하고 15분간 반응시킨후 p53에 대한 단클론성 항체 DO-7 (Novocastra, Newcastle upon Tyne, U.K.)을 도포하여 40분간 부화시킨 후 tris 완충액으로 세척하였다. 이어 바이오틴이 부착된 goat anti-mouse IgG(DAKO, Carpinteria, U.S.A.)에 20분간 반응시킨 후 avidin-alkaline phosphatase를 가한 후 다시 20분간 반응시켰다. New fuchsin으로 발색시킨 다음 Meyer's hematoxylin으로 대조염색하고 광학현미경으로 관찰하였다.

3. 결과 분석 및 통계학적 검정

조직검체의 EGF-R 발현은 세포질에 대한 염색 강도에 따라 4등급(1+~4+)으로 구분하였고 이 가운데 통계분석은 3+와 4+를 양성으로 판정하였다. c-erbB-2는 종양세포의 세포막에 염색된 종양세포가 5% 미만일때 -, 5~50%일때 +, 50% 이상이거나 5~50% 중에 세포 염색이 강하면 ++으로 나누었고,

통계분석은 ++을 양성으로, 나머지를 음성으로 결정하였다. p53 단백질은 고배율 시야에서 200개의 종양 세포에 대해 핵이 붉게 염색되는 종양세포의 배분율을 구한뒤 20%이상인 경우를 양성으로 판정하였다. 이는 20%를 기준으로 하였을때 가장 의미있는 예후인자로시의 가치를 갖는다는 Sakis등⁸의 보고에 근거하였다(Fig. 1, A-C).

종양의 병기와 분화도에 따른 EGF-R, c-erbB-2, p53의 양성 발현율의 비교분석은 교차분할표 분석을 이용하였으며 통계학적 유의성 검정은 chi-square test로 시행하였다. 또한 T1 병기암에서 EGF-R, c-erbB-2, p53의 발현이 암의 진행에 영향을 미치는지의 여부를 Kaplan-Meier의 product-limit 분석법을 이용하여 검정하였고 이의 유의성은 Log-rank test를 이용하였다. 이상의 결과에 대한 통계학적 유의 수준은 5%로 하였다.

결 과

1. 암의 병기와 분화도에 따른 EGF-R, c-erbB-2, 및 p53의 발현

암의 병기와 분화도에 따른 EGF-R, c-erbB-2 및 p53의 발현 판세는 Table 1 과 2에 요약되어 있다(Table 1, 2).

1) EGF-R의 발현양상: 전체 56예중 41예(73.2%)에

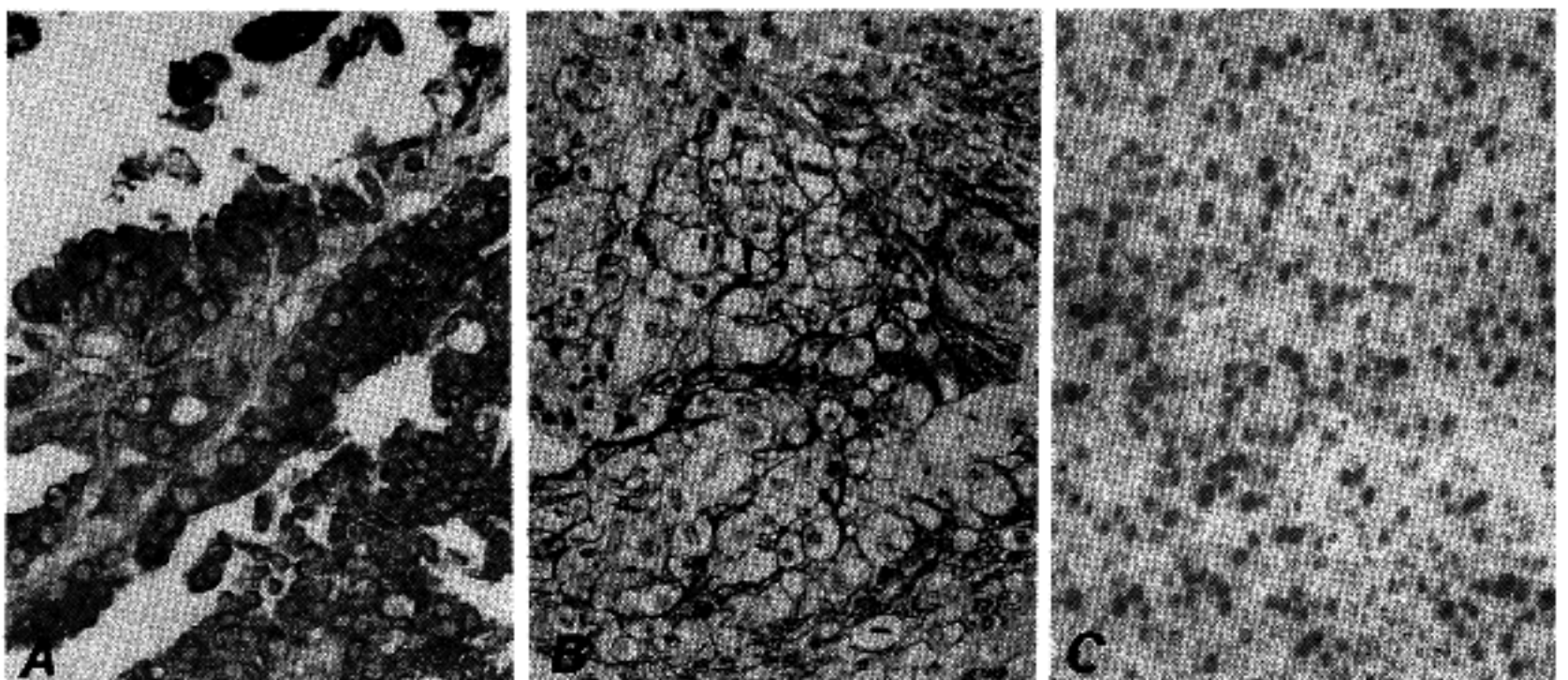


Fig. 1. Transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Many tumor cells are strong positive for EGF-R protein with cytoplasm staining(A), c-erbB-2 oncoprotein with surface membrane staining(B), and p53 oncoprotein with nuclear staining(C).

Table 1. Expression of EGF-R, c-erbB-2 and mutant p53 proteins related to stages of bladder cancer

Expression	Stages							Total No. Pts(%)	
	Superficial			Invasive*					
	Ta	T1	Subtotal (%)	T2	T3	T4	Subtotal (%)		
EGF-R	+	2	19	21(60)	6	5	9	20(95.2)	41(73.2)
	-	5	9	14(40)	0	0	1	1(4.8)	15(26.8)
c-erbB-2	+	0	8	8(22.9)	5	3	5	13(61.9)	21(37.5)
	-	7	20	27(77.1)	1	2	5	8(38.1)	35(62.5)
p53**	+	0	11	11(31.4)	3	4	6	13(61.9)	24(42.9)
	-	7	17	24(68.6)	3	1	4	8(38.1)	32(57.1)
Total		7	28	35	6	5	10	21	56

* Invasive tumors had significantly higher positive rates of EGF-R, c-erbB-2 and p53 proteins than superficial tumors ($p < 0.005$, $p < 0.005$ and $p < 0.05$, respectively).

** There was a significant difference in positive rates of p53 protein between Ta and T1 tumors ($p < 0.05$).

Table 2. Expression of EGF-R, c-erbB-2 and mutant p53 proteins related to grades of bladder cancer

Expression	Histopathologic grade						Total no. Pts(%)	
	Low			High				
	I	II	Subtotal (%)	III	IV	Subtotal (%)		
EGF-R**	+	0	18	18(64.3)	18	5	23(82.1)	41(73.2)
	-	1	9	10(35.7)	4	1	5(17.9)	15(26.8)
c-erbB-2*	+	0	3	3(10.7)	12	6	18(64.3)	21(37.5)
	-	1	24	25(89.3)	10	0	10(35.7)	35(62.5)
p53*	+	0	5	5(17.9)	13	6	19(67.9)	24(42.9)
	-	1	22	23(82.1)	9	0	9(32.1)	32(57.1)

* High grade tumors had significantly higher positive rates of c-erbB-2 and p53 proteins than low grade tumors ($p < 0.005$ and $p < 0.005$ respectively).

** There was no significant difference in the positive rates of EGF-R between high and low grade tumors ($p > 0.1$).

서 양성반응을 보였다. 표재성암과 침윤성암에서 EGF-R의 양성율은 각각 60%, 95.2%로 침윤성암에서 현저하게 높았다($p < 0.005$). 그러나, 표재성암중에서 Ta와 T1간의 EGF-R 양성율은 T1에서 다소 높았으나 통계학적 유의성은 없었다($p > 0.05$). 분화도가 양호한 군과 불량한 군에서 EGF-R의 양성율은 각각 64.3%, 82.1%를 보여 상호간에 유의한 통계학적 차

이는 없었다($p < 0.1$).

2) **c-erbB-2의 발현양상:** 대상 조직검체중 21예(37.5%)에서 세포막에 강하게 염색되는 양성반응을 보였다. 표재성암과 침윤성암에서 c-erbB-2 양성율은 각각 22.9%, 61.9%로 나타나 상호간에 유의한 차이를 보였다($p < 0.005$). Ta와 T1 병기암 사이에서 c-erbB-2 발현율은 T1에서만 28.9%를 보였고 Ta에서는 모두

Table 3. Relationship of EGF-R, c-erbB-2 and mutant p53 protein in superficial bladder cancers

p53 Status	EGF-R Positive		EGF-R Negative	
	c-erbB-2 Positive	c-erbB-2 Negative	c-erbB-2 Positive	c-erbB-2 Negative
Positive	3(9)	3(9)	2(6)	3(9)
Negative	3(9)	12(34)	0(0)	9(26)

The numbers in parentheses represent percentages in each category.

Of seven cases of stage Ta tumors, 4 cases were categorized in all negative group and 3 cases in group with positive EGF-R, negative c-erbB-2 and negative p53.

Table 4. Relationship of EGF-R, c-erbB-2 and mutant p53 protein in invasive bladder cancers

p53 Status	EGF-R Positive		EGF-R Negative	
	c-erbB-2 Positive(%)	c-erbB-2 Negative(%)	c-erbB-2 Positive(%)	c-erbB-2 Negative(%)
Positive	9(43)	3(14)	1(5)	0(0)
Negative	3(14)	5(24)	0(0)	0(0)

The numbers in parentheses represent percentages in each category.

음성으로 나타나 T1 병기암에서 높았으나 통계학적 유의성은 없었다($p > 0.005$). 분화가 양호한 군과 불량한 군에서 c-erbB-2 양성율은 각각 10.7%, 64.3%로 나타나 분화가 불량한 군에서 현저하게 높았다($p < 0.005$).

3) p53의 발현양상: p53 단백질에 대한 양성반응은 24예(42.9%)에서 관찰되었다. 표재성암과 침윤성암에서의 양성율은 각각 31.4%와 61.9%로 나타나 침윤성암에서 유의하게 높았다($p < 0.05$). 또한 표재성암 내에서도 T1 병기암에서는 39.3%의 양성율을 보여 Ta 보다는 T1 병기암에서 유의하게 p53 양성율이 높았다($p < 0.05$). 분화가 양호한군과 불량한 군에서 p53 양성율은 각각 17.9%, 67.9%를 보여 두 군사이의 p53 발현율도 유의한 차이를 보였다($p < 0.005$).

2. 표재성암과 침윤성암에서 EGF-R, c-erbB-2 및 p53의 발현

35예의 표재성 암 가운데 가장 많은 형은 EGF-R 양성, c-erbB-2 음성, p53 음성을 보인 군으로 총 12예(34.3%)가 이에 해당하였으며 세가지 모두 음성을 보인다는 9예 (25.7%)이었다. 특히 7예의 Ta 병기암 가운데 4예에서는 세가지 모두 음성을 보였으며 나

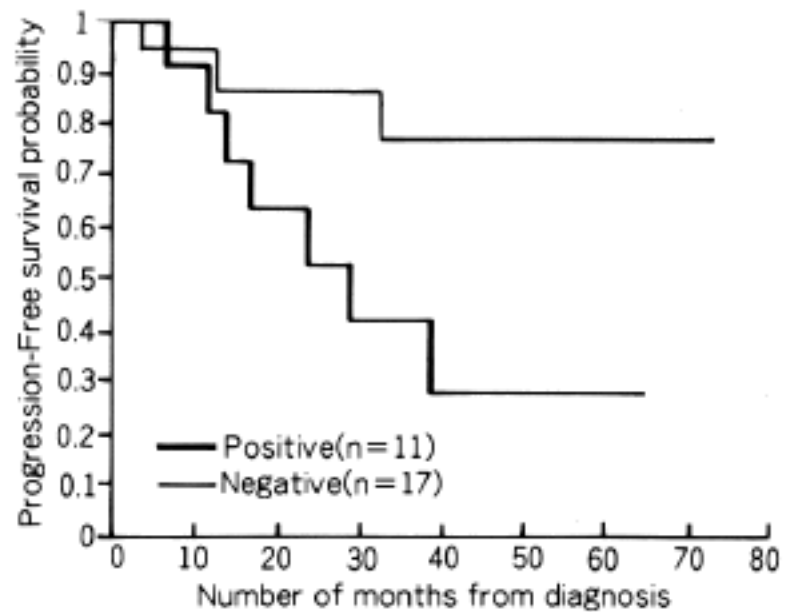


Fig. 2. Kaplan-Meier curves showing the probability of progression-free interval depending on overexpression of p53 (positive vs. negative) in patients with T1 bladder cancer. There was significant difference between p53 positive and negative group ($p < 0.05$, log-rank test).

머지 3예에서는 EGF-R 양성, c-erbB-2와 p53에서는 음성을 보였다. 반면에 21예의 침윤성암에서 가장 흔한 발현 양상은 세가지 모두 양성인 군으로 총 9

예(42.9%)가 이에 속했으며 EGF-R가 음성인 경우에는 c-erbB-2와 p53 모두 양성인 1예만이 침윤성암이었고 세가지 모두 음성인 군은 한 예도 없었다 (Table 3, 4).

3. T1 병기암에서 EGF-R, c-erbB-2, p53 단백질 발현과 암의 진행

T1 병기암 28예중 추적관찰 기간중에 침윤성암으로 진행된 경우는 10예였다. EGF-R, c-erbB-2, p53 단백질 각각의 양성군과 음성군에서 progression-free survival probability를(Fig. 2) 추정해 본 결과 T1 병기의 진행에 영향을 미치는 인자는 p53 단백질의 발현양상이었다($p < 0.05$, log-rank test).

고 찰

암의 가장 중요한 특성은 침윤성과 전이성이며, 방광암에서도 이러한 암의 특성을 극복하지 못하기 때문에 치료가 실패로 끝나게 된다. 방광암은 조직병리학적으로 표재성과 침윤성으로 분류되는데, 일반적으로 표재성암일 경우는 내시경을 이용한 암의 완전절제와 함께 추가적인 방광내 항암성 약물요법으로 어느정도 조절될 수 있어서 예후는 비교적 좋은 편이다. 침윤성암인 경우에는 적극적인 치료에도 불구하고 예후는 대체로 불량하다. 또한 표재성암이라 할지라도 재발이 흔하며, 환자의 10~30%에서는 침윤성암으로의 진행한다¹¹. 이는 표재성암과 침윤성암 간의 생물학적 특성이 매우 다르며, 표재성암 중 결국 침윤성암으로 진행될 운명에 있는 고위험군이 있다는 것을 의미한다. 이러한 관점에서 방광암의 특성 및 자연경과를 예측할 수 있는 다양한 인자를 찾고자 하는 많은 연구가 이루어지고 있으며, 최근에는 암의 분자유전학적 측면에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나 아직까지 뚜렷한 결론을 얻지 못하고 있는 실정이다.

방광암의 특성을 결정지을 수 있는 많은 인자들에 대한 검증이 있어 왔으며 그 가운데 EGF-R와 c-erbB-2 종양 유전자 산물, p53 단백질 등이 임상적으로 유용한 인자가 될 수 있는 가능성이 비교적 높은 것으로 알려져 있다. EGF-R는 요로상피를 포함한 여러 인체조직 세포에 분포하고 있으며 이 수용체의 과다발현과 비정상적 활성화가 세포증식 및 세포변형을 유발하는 것으로 알려져 있고, 이러한 사실은 부인암¹², 유방암^{13,14}, 및 폐의 편평세포암종¹⁵ 등 다양한 암에서 관찰되고 있다. 방광암 환자의 소변내에는 강력한 세포분열 촉진인자로 알려진 EGF

가 고농도로 존재하며¹⁶, 따라서 EGF와 반응하는 EGF-R가 방광암의 발생과정에서 매우 중요한 역할을 할 것이라고 예견할 수 있다. 실제로 방광암에서 EGF-R의 면역조직화학적 발현양상에 대한 일부 연구에 의하면 방광암이나 전암병변이 있는 요로상피는 정상 요로상피와 비교하여 EGF-R의 분포가 다르고¹⁷, EGF와 수용체의 결합양이 암의 악성도에 비례하며⁵, EGF-R의 염색강도는 암세포의 악성도에 비례하여 증가한다고 알려져 있다^{6,18}. 저자의 연구결과에 의하면 대상 암조직의 73.2%에서 EGF-R이 중등도 이상의 염색강도로 발현되었고, 또한 침윤성암에서의 발현정도가 표재성암보다 높아 요로상피의 EGF-R 상태가 방광암의 발생과정에서 중요한 역할을 한다는 기존의 연구결과와 큰 차이가 없었다. 그러나 EGF-R의 발현정도가 암의 분화도에 따라서는 큰 차이가 없었으며, 표재성 암에서도 60%정도의 높은 발현율을 보이고 있고 표재성암 내에서도 Ta 병기암과 T1 병기암 사이에 큰 차이가 없는 것으로 분석되었다. 또한 표재성암중에서 침윤성암으로의 진행가능성이 높은 T1 병기암에서 EGF-R의 발현양상에 따른 progression free 생존율은 상호간에 큰 차이가 없었다. 이는 EGF-R가 방광암의 발생초기 단계에서 주로 암의 발생에 관여하며 암의 악성도와도 일부 연관관계가 있으나 암의 진행 가능성을 예측할 수 있는 결정인자는 될 수 없음을 의미한다.

c-erbB-2 종양유전자는 쥐에서 신경아세포종의 발생과 연관된 종양유전자로 발견되었으며¹⁹, 아직까지 배우자 결합부위(ligand)가 밝혀지지 않았으나 EGF-R와 구조적으로 유사하여²⁰ 일종의 growth factor receptor로 여겨지고 있다. 이 종양 유전자의 증폭이나 과발현이 여러 인체 종양에서 발견되었으며²¹, 유방암이나 난소암에서 환자의 예후와 밀접한 연관관계가 있다고 알려져 있다²². 방광암에서도 c-erbB-2 종양유전자의 발현에 대한 연구가 일부 있어 왔는데, 특히 Moriyama등⁹은 방광암에서 이의 발현양상이 암의 악성도와 침윤성 및 전이성을 평가할 수 있는 중요한 표식자로 이용될 수 있다고 보고하였으나 이에 대해서는 아직까지 논란이 있다. 저자의 연구결과에 의하면 c-erbB-2 종양유전자 산물의 면역조직화학적 양성발현율은 표재성보다는 침윤성암에서, 분화가 양호한 암보다는 불량한 암에서 유의하게 높아 암의 악성도 및 침윤도와 밀접한 연관관계가 있었다. 그러나 EGF-R와 마찬가지로 Ta와 T1간에서 이의 양성발현율은 유의한 차이를 보이지 않았으며, 이의 발현유무에 따른 T1 병기암의 progression-free 생존율도 큰 차이가 없었다. 이러한 연구결과는 방

방광암의 발생과 진행과정에서 c-erbB-2 종양유전자가 어떤 형태로든 관여하고 있음을 말해주며 특히 표재성 암에서의 양성율이 22.9% 밖에 되지 않는 것으로 미루어 EGF-R 보다는 암의 침윤도를 좀더 확실하게 구분해주는 한가지 인자가 될 수 있다고 여겨진다. 그러나 c-erbB-2 종양유전자 산물의 면역조직화학적 발현양상이 기존의 조직병리학적 소견이 상으로 방광암 환자의 예후를 정확히 예측할 수 있다는 기존의 일부 연구결과는 본 연구에서는 확실하지 않으며 좀더 많은 환자를 대상으로 한 전향적인 연구가 필요하리라 사료된다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치한 종양억제 유전자로써 이 부위의 돌연변이와 대립유전자 소실은 방광암을 비롯한 여러 인체종양의 발생 및 진행에 있어서 매우 중요한 역할을 하리라 생각되고 있다. p53 종양 억제 유전자의 돌연변이에 관한 연구가 많이 이루어진 바^{7,8,24} 대체로 표재성암에서는 그 빈도가 현저하게 낮은 반면 침윤성암에서는 높은 빈도로 관찰되고, 분화가 양호한 암에서 보다는 불량한 암에서 현저하게 돌연변이율이 높다고 알려져 있다. 또한 p53 유전자의 돌연변이율은 방광암 환자의 예후와 밀접한 관계가 있는 것으로 생각되고 있다^{8,25}. 저자의 연구결과를 보아도 표재성 암 보다는 침윤성 암에서, 분화가 양호한 암에서 보다는 불량한 암에서 p53 단백질의 면역조직화학적 발현율이 유의하게 높았으며, 표재성암 내에서 Ta 암과 T1 암 사이의 p53 발현율도 유의있는 차이를 보이고 있다. 또한 T1 병기암에서 p53 단백질의 발현양상에 따른 progression-free 생존율도 p53 음성군에서 보다 양성군에서 유의하게 높았다. 이는 p53 종양억제 유전자의 변이가 방광암의 발생과정 보다는 진행과정에서 암의 악성도와 침윤성을 획득하는데 중요한 역할을 한다는 것을 강력하게 시사해주며, 임상적으로 환자의 치료선택과 예후판단에 있어서 매우 유용한 지표가 될 수 있을 것으로 생각된다.

대장암과 직장암을 모델로 한 종양발생의 기전에 관한 연구결과²⁶에 의하면 암의 발생과 진행과정에서 다양한 유전적 변이의 축적이 일어나며 이러한 유전적 변이의 축적된 정도가 암의 특성을 결정짓는 중요한 요소라고 이해되고 있다. 방광암에 있어서도 표재성암과 침윤성암의 생물학적 특성은 판이하게 다르며, 따라서 방광암의 발생에 관여하리라 생각되는 여러 유전자의 발현양상을 분석해 보는 것은 매우 의미있는 일로 생각된다. 본 연구에서는 표재성암과 침윤성암에서 EGF-R와 c-erbB-2 및 p53 단백질의 발현양상을 총체적으로 분석해 보았는데 그

결과 표재성암에서는 EGF-R 양성, c-erbB-2 음성, p53 음성군이 대상 조직의 34.3%로 가장 많았고 세가지 모두 음성인 경우는 25.7%에 이르렀다. 반면에 침윤성암에서는 세가지 모두 양성인 군이 42.9%로 가장 많았으며 세가지 모두 음성인 경우는 한예도 없었다. 이러한 결과로 방광암에서 EGF-R, c-erbB-2, p53의 유의한 동시 양성 발현은 치료에 앞서 종양의 악성도를 예견할 수 있는 지표로 유용할 것으로 생각된다. 그리고 방광암에서 표재성암과 침윤성암의 생물학적 특성은 분자수준에서 다양한 유전적 변이의 총체적 결과에 따라 결정되는 것으로 생각되며, 향후 좀 더 많은 수의 방광암을 대상으로 한 이와같은 암 유전자의 면역조직화학적 분석이 다양하게 이루어질 경우 기존의 조직병리학적 특성에 따른 암의 분류보다도 암의 자연경과 및 환자의 예후를 좀더 정확히 예측할 수 있는 분류가 가능하리라 생각된다.

결론적으로 방광암 조직에서 EGF-R, c-erbB-2 종양유전자산물 및 p53 단백질의 면역 조직화학적 발현양상은 암의 악성도와 밀접한 관계가 있으며, 특히 p53 단백질의 발현양상은 표재성 방광암에서 Ta와 T1 병기암의 특성을 구분지을 수 있는 인자가 될 수 있고 T1 병기암에서 진행가능성을 예측할 수 있는 중요한 표식자가 될 수 있으리라 생각된다. 또한 상기 세가지 인자에 대한 발현 양상을 총체적으로 분석해 본 결과 표재성암과 침윤성암은 뚜렷한 차이를 보였으며, 특히 위의 세가지 인자가 동시에 양성인 경우가 침윤성에 유의있게 높은것으로 나타나 향후 이와같은 방법이 기존의 조직병리학적 소견에 부가해서 방광암 환자의 예후에 관한 좀 더 자세한 정보를 제공해 줄 수 있으리라 생각된다.

참 고 문 헌

1. Farber E. The multistep nature of cancer development. *Cancer Res* 1984; 44: 4217-23.
2. Russell PJ, Brown JL, Grimmond SM, Raghavan D. Review. Molecular biology of urological tumours. *Br J Urol* 1990; 65: 121-30.
3. Fujita J, Yoshida O, Yuasa Y, Rhim JS, Hatanaka M, Aaronson SA. H-ras oncogenes are activated by somatic alterations in human urinary tract tumours. *Nature* 1984; 309: 464-6
4. Malone PR, Visvanathan KV, Ponder BAJ, Shearer RJ, Summerhayes IC. Oncogenes and bladder cancer. *Br J Urol* 1985; 57: 664-7.
5. Berger MS, Greenfield C, Gullick WJ, et al. Evalua-

- tion of epidermal growth factor receptors in bladder tumours. *Br J Cancer* 1987; 56: 533-7.
6. Neal DE, Sharples L, Smith K, Fennelly J, Hall RR, Harris AL. The epidermal growth factor receptor and the prognosis of bladder cancer. *Cancer* 1990; 65: 1619-25.
 7. Fujimoto K, Yamada Y, Okajima E, et al. Frequent association of p53 gene mutation in invasive bladder cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 1393-8.
 8. Sarkis AD, Dalbagnia G, Cordon-Cardo C, et al. Nuclear expression of p53 protein in transitional cell bladder carcinoma: a marker for disease progression. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 53-9.
 9. Moriyama M, Akiyama T, Yamamoto T, et al. Expression of c-erbB-2 gene product in urinary bladder cancer. *J Urol* 1991; 145: 423-7.
 10. Ash JE. Epithelial tumors of the bladder. *J Urol* 1940; 44: 135-45.
 11. Lum BL, Torti FM. Adjuvant intravesicular chemotherapy for superficial bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 682-94.
 12. Gullick WJ, Marsden JJ, Whittle N, Ward B, Bobrow L, Waterfield MD. Expression of epidermal growth factor receptors on human cervical, ovarian and vulval carcinomas. *Cancer Res* 1986; 46: 285-92.
 13. Sainsbury JRC, Farndon JR, Sherbet GV, Harris AL. Epidermal growth factor receptors and estrogen receptors in human breast cancer. *Lancet* 1985; 1: 364-6.
 14. Rios MA, Marcias A, Perez R, Lage A, Skoog L. Receptors for epidermal growth factor and estrogen as predictors of relapse in patients with mammary carcinoma. *Anticancer Res* 1988; 8: 173-6.
 15. Hendler F, Ozame B. Human squamous cell lung cancers express increased epidermal growth factor receptors. *J Clin Invest* 1984; 74: 647-51.
 16. Cohen S. The epidermal growth factor (EGF). *Cancer* 1983; 51: 1787-91.
 17. Messing EM, Hanson P, Ulrich P, Erturk E. Epidermal growth factor-interactions with normal and malignant urothelium: in vivo and in situ studies. *J Urol* 1987; 138: 1329.
 18. Harris AL, Smith K, Neal D, Fennelly J, Hall RR. Epidermal growth factor receptors (EGFr) expression correlates with tumor recurrence, stage, progression and overall survival in human bladder cancer. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1988; 29: 453.
 19. Shih C, Padhy LC, Murray M, Weinberg RA. Transforming genes of carcinomas and neuroblastomas introduced into mouse fibroblasts. *Nature* 1981; 290: 261-4.
 20. Schecter AL, Hung MC, Vaidyanathan L, Weinberg RA, Yang-Feng TL, Francke U. The neu gene: An erbB-homologous gene distinct from and unlinked to the gene encoding the EGF receptor. *Science* 1985; 229: 976-8.
 21. Gullick WJ, Venter DJ. The c-erbB-2 gene and its expression in human tumors. In: Waxman J, Sikora K, eds. *The Molecular Biology of Cancer*. Oxford: Blackwell. 1989; 38
 22. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707-12.
 23. Miller C, Mohandas T, Wolf D, Prokocimer M, Rotter V, Koeffler HP. Human p53 gene localized to short arm of chromosome 17. *Nature* 1986; 319: 783-4.
 24. Sidransky D, Eschenbach AV, Tsai YC, et al. Identification of p53 gene mutations in bladder cancers and urine samples. *Science* 1991; 252: 706-9.
 25. Wright C, Mellon K, Johnston P, et al. Expression of mutant p53, c-erbB-2 and the epidermal growth factor receptor in transitional cell carcinoma of the human urinary bladder. *Br J Cancer* 1991; 63: 967-70.
 26. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 759-67.
-