

위선암종에서 Bcl-2와 p53 단백 발현에 관한 면역조직화학적 연구

영남대학교 의과대학 병리학교실

최 준 혁 · 최 원 희

Immunohistochemical Study on the Expression of Bcl-2 and p53 Protein in Gastric Adenocarcinoma

Joon Hyuk Choi, M.D. and Won Hee Choi, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine, Yeungnam University, Taegu, Korea

This study was carried out to investigate the immunohistochemical expression of bcl-2 and p53 protein in the intestinal type and the diffuse type of gastric adenocarcinoma by Lauren's classification. A total of 100 cases, including 50 cases of the intestinal type and 50 cases of the diffuse type from paraffin embedded gastrectomy specimens, were immunohistochemically stained for bcl-2 and p53 protein.

Bcl-2 protein was expressed in 38% (19/50) of intestinal type and 30% (15/50) of diffuse type. The incidence of bcl-2 protein expression was higher in the intestinal type than in the diffuse type, but no significant correlation was present ($p>0.05$). p53 protein was expressed in 68% (34/50) of the intestinal type and 60% (30/50) of the diffuse type. The incidence of p53 protein expression was higher in the intestinal type than in the diffuse type, but no significant correlation was present ($p>0.05$). And an expression of bcl-2 and p53 protein did not correlate with depth of invasion, lymph node metastasis and TNM stage, respectively ($p>0.05$).

These results suggest that bcl-2 and p53 gene alteration appear to play a more important role in the carcinogenesis of the intestinal type than the diffuse type. However, there is no significant difference between the intestinal type and the diffuse type in bcl-2 and p53 protein expression. (Korean J Pathol 1997; 31: 1282~1290)

Key Words: Gastric adenocarcinoma, Lauren's classification, Apoptosis, Bcl-2, p53

접 수: 1997년 7월 22일, 게재승인: 1997년 9월 6일

주 소: 대구광역시 남구 대명동 317-1, 우편번호 705-035

영남대학교 의과대학 병리학교실, 최준혁

ISSN : 0379-1149

이 논문은 1996학년도 영남대학교 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

서 론

위암은 우리나라에서 가장 발생 빈도가 높은 암으로서 발암기전에 대한 연구가 절실히 요구되고 있으나, 위암의 분자유전학적 발암기전에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 최근에 위암의 발생과 진행에 따라 종양세포의 유전자이상, 종양 유전자와 종양억제 유전자의 역할에 대해 관심이 모아지고 있다.

위암은 Lauren의 분류에 따르면 크게 장형 선암종과 미만형 선암종으로 대별된다.¹ 이 두 유형은 형태학적으로 다를 뿐만 아니라 임상 및 역학적으로도 차이가 있다.^{2,3} 장형 선암종은 만성 위염, 장화생, 이형성을 통한 다단계의 과정을 거쳐 암종으로 진행되며 대부분 분화가 좋은 반면에, 미만형 선암종은 전구병변이 알려져 있지 않고, 고유 위점막 상피에서 유래하며 침윤성 성장을 하는 저분화암종이기에 속한다.^{4,5}

Bcl-2 (B-cell leukemia/lymphoma-2) 유전자는 염색체 18번에 위치하는 원종양 유전자로서 B-세포 여포상 림프종에서 처음으로 발견되었으며, apoptosis를 억제함으로써 세포사를 조절하는데 중요한 역할을 한다.⁶ Bcl-2 유전자의 산물인 bcl-2 단백질은 분자량이 26 kD 정도이며 미토콘드리아 막, 핵막, 내형질세망에 존재한다.⁷ Bcl-2 단백질의 발현은 여포상 림프종을 비롯하여 폐암종,⁸ 갑상선 암종,⁹ 유방암종¹⁰ 등에서 보고되고 있다. 위암에서의 bcl-2 단백질 발현에 대한 연구로 Lauwers등¹¹에 의하면 bcl-2 단백질의 발현율은 장형 선암종에서 88%, 미만형 선암종에서는 7%로 각각 나타나 장형 선암종의 양성률이 높았으며, bcl-2가 장형 선암종의 발암기전과 밀접한 관계가 있음을 시사하였다. 이에반해 Saegusa등¹²에 의하면 bcl-2 단백질발현은 장형 선암종에서 17.3%, 미만형 위선암종에서 10.0%를 각각 나타내어 조직학적 유형에 따라 뚜렷한 차이가 없어 학자들마다 bcl-2 단백질 발현에 있어서 연구 결과가 다르다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 존재하는 종양억제유전자이며 p53 유전자의 산물인 p53 단백질은 sv 바이러스에 의해 변형된 세포에서 처음으로 발견되었으며 정상형과 돌연변이형이 있다.¹³ 정상형은 분자량이 53kD이며 세포핵내에서 그 농도가 낮아 면역조직화학적으로 쉽게 검출되지 않으나 p53 유전자의 돌연변이형은 핵내에서 대사적으로 안정화되어 쉽게 검출될 수 있다.¹⁴ p53 유전자의 돌연변이는 식도암종,¹⁵ 전립선암종,¹⁶ 대장암종¹⁷ 및 폐암종¹⁸

등의 인체에서 발생하는 많은 암종에서 보고되고 있다. 위선암종에서의 p53 단백질의 발현에 관한 연구로서 Brito등¹⁹은 p53 단백질이 장형 선암종에서 43%, 미만형 선암종에서 12%의 발현율을 각각 보고하였다. 그리고 Fukunaga등²⁰에 따르면 p53 단백질 발현율이 장형 선암종에서 56%, 미만형 선암종에서 27%로 각각 나타나 장형 선암종에서 좀더 높았으며, Martin등²¹은 장형 선암종에서 52%, 미만형 선암종에서 48%의 양성 발현을 각각 보고하였다.

Bcl-2 유전자와 p53 유전자가 위암의 발암 기전에 중요할 것으로 생각되나 이에 대하여 확실히 밝혀진 것은 없으며, 조직학적 유형에 따른 분자유전학적 발암 기전에도 차이가 있을 것으로 생각되나 이에 대한 정확한 기전은 알려져 있지 않다.

이에 본 연구는 위선암종을 Lauren의 분류법에 따라 장형과 미만형으로 나누어 조직학적 유형에 따른 bcl-2 단백질과 p53 단백질의 발현차이와 그 상관관계를 알아보고 아울러 위선암종의 진행과, 림프절 전이, TNM 기에 따른 발현의 차이를 비교 검토하기 위하여 파라핀에 포매된 위선암종 조직을 대상으로 bcl-2 단백질과 p53 단백질에 대한 면역조직화학적 염색을 하였다.

재료 및 방법

1. 연구 대상

연구대상은 1993년 1월 부터 1993년 12월 까지 영남대학병원에서 아전위절제술 및 전위절제술로 얻어진 위암 중 선암종으로 진단된 예 중 슬라이드와 파라핀 포매조직이 잘 보존된 50예의 장형 선암종과 50예의 미만형 선암종을 포함하여 총 100예를 대상으로 하였다. 총 100예 가운데 조기위암은 40예, 림프절 전이가 없는 진행성 위암이 30예 및 림프절 전이가 있는 진행성 위암이 30예이었다. 위선암종의 조직학적 분류는 Lauren의 분류법¹에 따라 종양세포가 소장의 상피세포를 닮은 선 구조로 주로 구성되어 있는 장형과 종양세포가 작고 둥근 모양이며 날개로 흩어져 침윤하여 경계가 불분명한 미만형으로 분류하였다. 종양의 TNM기는 AJCC (American Joint Committee on Cancer)²²에 의거하여 I, II, III 및 IV 기로 하였다.

2. 면역조직화학적 염색

Bcl-2 단백질과 p53 단백질의 염색은 각 증례 당 파라핀 포매조직에서 얻은 4 μ m 두께의 절편을 만들어

100% xylene에 방치하여 파라핀을 제거한 후, 100%, 90%, 75% 알콜로 단계적으로 함수화하였다. 30% 과산화수소에서 30분간 처리하여 내인성 과산화 효소의 작용을 억제시킨 뒤 Tris 완충 용액으로 3회 세척하고 citric acid 용액에 슬라이드를 넣고 5분간 극초단파(microwave) 처리하였다.

일차 항체로 bcl-2 (124 Monoclonal antibody, Dako Co., Denmark)는 1 : 50, p53 (DO7 Monoclonal antibody, Novocastra Lab., U.K.)은 1 : 150으로 희석하여 사용하였으며, 37°C에서 2시간 동안 배양한 후 Tris 완충용액으로 3회 세척하였다. 그리고 이차항체인 Link antibody (Dako Co., Denmark)를 37°C에서 30분간 도포한 다음 Tris 완충용액으로 3회 세척하였다. 그리고 Streptavidin (Zymed Co., USA)로 30분간 도포한 후 Tris 완충용액으로 3회 세척하고 AEC (3-amino-9-ethylcarbazole)를 10분간 도포하여 발색한 다음 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하였다. 배 염색 시마다 p53 단백질과 bcl-2 단백질에 대한 양성 및 음성 대조염색을 같이 시행하였다. bcl-2 단백질은 위암조직 주변에 있는 림프구를 양성 대조군으로 사용하였고 p53 단백질에 양성인 유방암종 조직을 각각 양성 대조군으로 사용하였다. 음성 대조군에서는 일차항체를 제외하고 실험 예들과 동일하게 염색을 시행하였다.

3. 면역조직화학적 염색의 판독 및 통계적 분석

Bcl-2 단백질은 종양세포의 세포질에 분명히 적갈색으로 염색된 것을 양성 반응으로 판정하였고 p53 단백질은 종양세포의 핵에 분명히 적갈색으로 염색된 경우를 양성 반응으로 판정하였고, 불확실하고 애매 모호하게 염색된 것은 음성으로 판정하였다. Bcl-2 단백질과 p53 단백질 발현의 유의성은 chi-square test 로 검정하였다. 통계적으로 유의한 것은 p값이 0.05 보다 작은 것으로 하였다.

결 과

1. Bcl-2 단백질 발현

Bcl-2 단백질은 Lauren 분류법에 의한 50예의 장형 선암종 중 38.0% (19예)에서 양성반응이었고 (Fig. 1A), 미만형 선암종은 50예 중 30.0% (15예)에서 양성반응을 보이며 (Fig. 1B) 장형 선암종의 발현이 미만형 선암종보다 약간 높았다 (Table 1). 장형과 미만형 사이에 bcl-2 단백질발현은 통계적인 유의적 차이가 없었다 ($p > 0.05$). 암의 진행에 따라 분류하면 40예의 조기 위암종 30.0% (12예), 60예 진행성 위암종 36.7% (22예)에서 각각 양성 반응을 보여 진행성 위암이 조기위암보다 발현이 약간 높았다. 조기 위암과 진행성 위암사이에도 통계적인 유의적 차이는

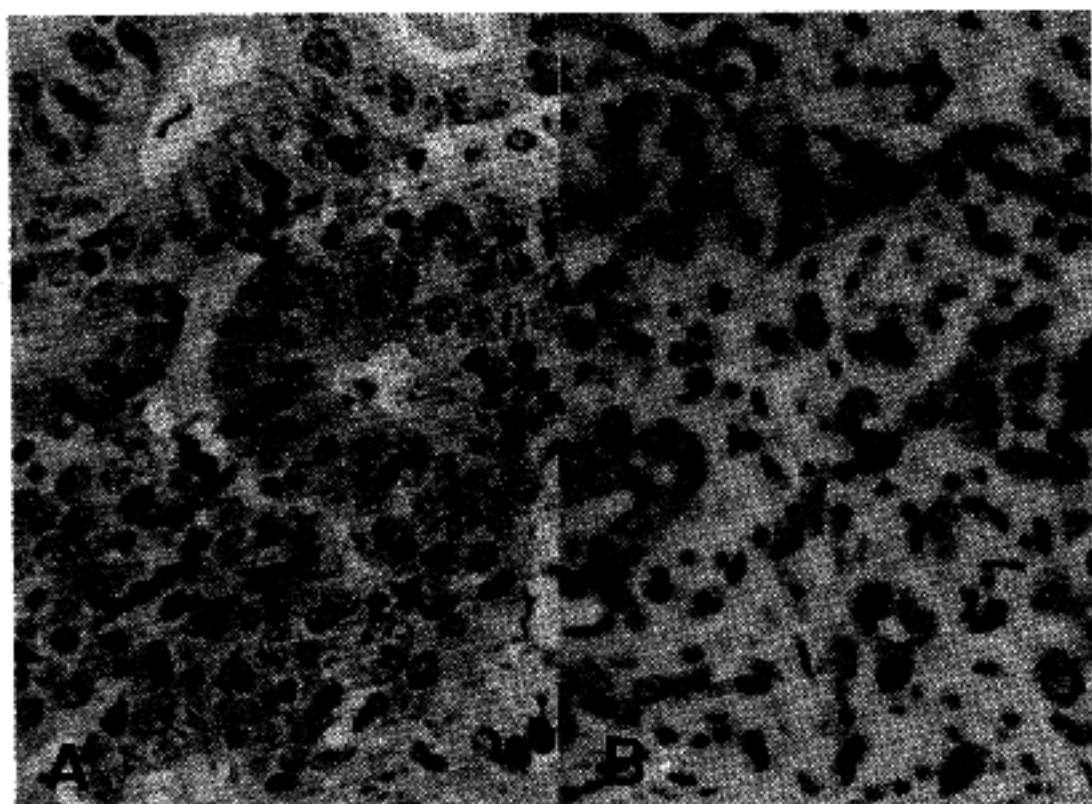


Fig. 1. Tumor cells show positive immunoreactivity of bcl-2 protein in the intestinal(A) and diffuse type(B) of gastric adenocarcinoma.

Table 1. Frequency of Bcl-2 and p53 expression in gastric adenocarcinoma

	Total	No. of bcl-2(+)	p value	No. of p53(+)	p value
Lauren's classification					
Intestinal	50	19(38.0%)	NS	34(68.0%)	NS
Diffuse	50	15(30.0%)		30(60.0%)	
Depth of invasion					
Early ca	40	12(30.0%)	NS	24(60.0%)	NS
Advanced ca	60	22(36.7%)		40(66.7%)	
LN metastasis					
Negative	70	24(34.3%)	NS	44(62.9%)	NS
Positive	30	10(33.3%)		20(66.7%)	
TNM stage					
I	58	17(29.3%)	NS	36(62.1%)	NS
II	12	7(58.3%)		8(66.7%)	
III	15	5(33.3%)		10(66.7%)	
IV	15	5(33.3%)		10(66.7%)	

NS: not significant.

없었다 ($p>0.05$). 림프절에 전이가 없는 70예중 34.3% (24예), 림프절 전이가 있는 30예 중 33.3% (10예)에서 발현하여 림프절 전이 유무에 따른 차이는 거의 없었다. TNM기에 따른 양성률은 I기가 29.3% (17예)이고 II기가 58.3% (7예)로서 II기가 높게 발현되었고, III기는 33.3% (5예)이고 IV기는 33.3% (5예)로서 발현율이 같았다. 림프절 전이 유무와 TNM병기에 따른 bcl-2 단백질 발현의 통계적으로 유의한 차이는 없었다 ($p>0.05$).

2. p53 단백질 발현

p53 단백질은 Lauren 분류법에 의한 50예의 장형 선암종 중 68.0% (34예)에서 양성 반응을 보였고 (Fig. 2A), 미만형 선암종은 50예 중 60.0% (30예)에서 양성 반응을 보여 (Fig. 2B) 장형 선암종의 발현이 미만형 선암종 보다 약간 높았다 (Table 1). p53 단백질 발현은 장형과 미만형 사이에 통계적으로 유의적 차이가 없었다 ($p>0.05$). 암의 진행에 따라 40예의 조기 위암 중 60.0% (24예), 60예의 진행성 위암 중 66.7% (40예)에서 양성 반응을 보여 진행성 위암이 조기 위암보다 발현이 약간 높았다. 조기 위암과 진행성 위암 사이에도 통계적으로 유의한 차이는 없었다 ($p>0.05$). 림프절에 전이가 없는 70예중 62.9% (44예), 림프절에 전이가 있는 30예 중 66.7% (20예)에

서 양성 반응을 보여 림프절 전이가 있는 경우가 림프절 전이가 없는 경우보다 양성률이 약간 높았다. TNM기에 따른 발현률은 I기, II기, III기, IV기가 각각 62.1% (36예), 66.7% (8예), 66.7% (10예), 66.7% (10예)로서 병기에 따른 차이는 거의 없었다. 림프절 전이 유무와 TNM기에 따른 p53 단백질의 양성 반응의 통계적으로 유의적 차이는 없었다 ($p>0.05$).

3. Bcl-2 단백질과 p53 단백질 발현의 비교

위선암종에서 장형과 미만형의 bcl-2 단백질과 p53 단백질의 발현을 비교하면 Table 2와 같다. Bcl-2 단백질에 양성인 장형 19예 중 p53 단백질에 양성인 14예, 음성은 5예 였다. Bcl-2 단백질에 양성인 미만형 15예 중 p53 단백질에 양성인 9예, 음성은 6예 였다. 장형과 미만형 선암종에 각각에 있어 bcl-2 단백질과 p53 단백질의 발현 사이에 상관관계는 없었다 ($p>0.05$).

Table 3은 조기 위암과 진행성 위암의 bcl-2 단백질과 p53 단백질의 발현을 나타내었다. Bcl-2 단백질에 양성인 조기 위암 12예 중 p53 단백질에 양성인 8예, 음성은 4예 였다. Bcl-2 단백질에 양성인 진행성 위암 22예중 p53 단백질에 양성인 16예, 음성은 6예 였으며 조기 위암과 진행성 위암에 각각에 있어 bcl-2 단백질과 p53 단백질의 발현 사이에 상관관계는 없었다 ($p>0.05$).

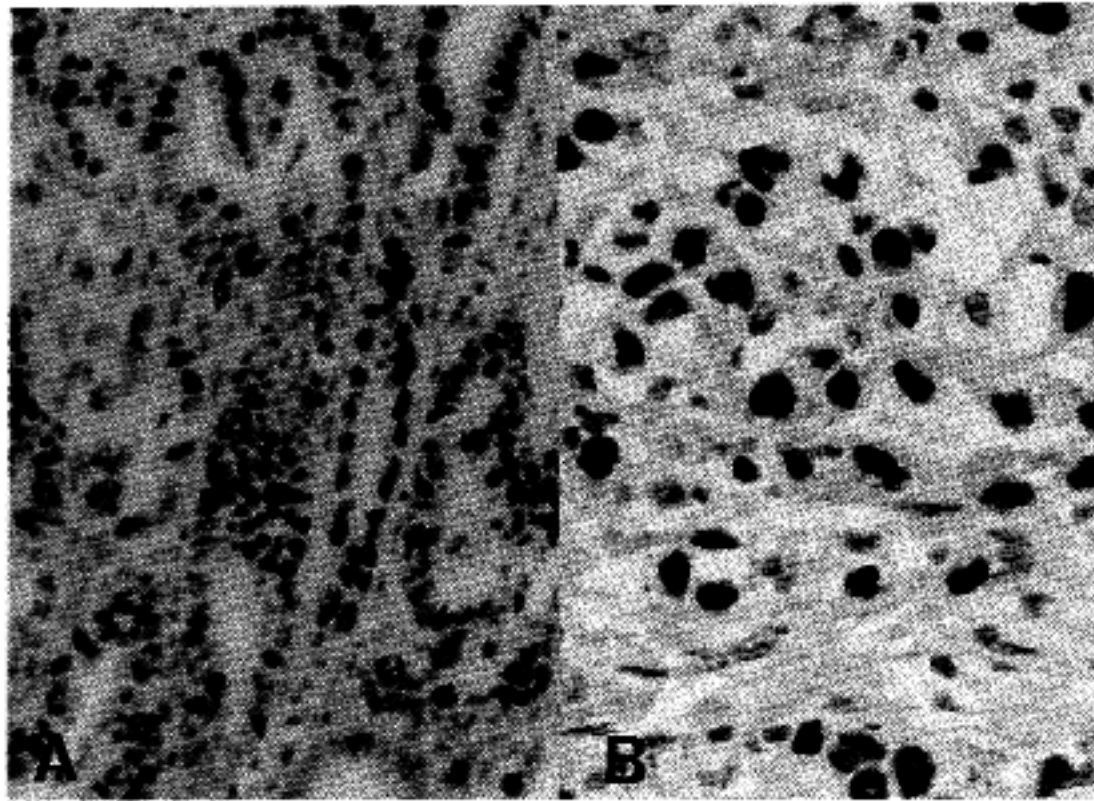


Fig. 2. Tumor cells show positive immunoreactivity of p53 protein in the intestinal(A) and diffuse type(B) of gastric adenocarcinoma.

Table 2. The relationship between bcl-2 and p53 expression in intestinal and diffuse type of gastric adenocarcinoma

	Total	bcl-2 positive		p value	bcl-2 negative		p value
		p53(+)	p53(-)		p53(+)	p53(-)	
Intestinal	50	14(73.7%)	5(26.3%)	NS	20(64.5%)	11(35.5%)	NS
Diffuse	50	9(60.0%)	6(40.0%)		21(60.0%)	14(40.0%)	

NS: not significant.

Table 3. The relationship between bcl-2 and p53 expression in early and advanced gastric adenocarcinoma

	Total	bcl-2 positive		p value	bcl-2 negative		p value
		p53(+)	p53(-)		p53(+)	p53(-)	
Early Ca.	40	8(66.7%)	4(33.3%)	NS	16(57.1%)	12(42.9%)	NS
Advanced Ca.	60	16(72.7%)	6(27.3%)		24(63.1%)	14(36.9%)	

NS: not significant.

고 찰

Bcl-2 유전자는 18번 염색체에 존재하는 원종양유전자로서 apoptosis를 억제하여 세포의 수명을 연장

하는 역할을 한다.⁶ Bcl-2 유전자가 만들어낸 bcl-2 단백질은 위장관에서는 음와 (crypt)의 기저세포와 증식대 (proliferative zone)에서 정상적으로 발현되어 이들 세포들의 정상적인 증식과 분화를 조절하여 항상성을 유지하는 역할을 한다.²³ 위장관에서의

bcl-2 단백질의 과발현이 대장 선종과 대장 선암종²⁴ 그리고 위 이형성증²⁵서 보고되고 있어 apoptosis와 관련된 bcl-2 유전자가 발암기전에 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있다.

위암에서의 bcl-2 단백질의 연구로서 Lauwers등¹¹의 보고에 따르면 위선암종 중 72%가 bcl-2 단백질에 양성발현을 보였고, 이 중에 장형이 88%, 미만형이 7%의 양성률을 보여 bcl-2 단백질이 장형과 밀접한 관련이 있다고 시사하였고, 장형 선암종에서는 분화도가 높을수록 분화가 낮은 것 보다 bcl-2 단백질 발현이 높은 경향이였다. 그리고 Saegusa등¹²은 장형 선암종의 17.3%, 미만형 선암종의 10%가 bcl-2 단백질 발현을 보여 조직학적 분화도에 따른 큰 차이는 없었다고 보고하였다. 본 연구에서 장형 선암종에서의 bcl-2 단백질 양성률은 38.0%였고 미만형 선암종이 30.0%로서 장형 선암종의 발현이 다소 높았으나 통계적인 유의한 차이는 없었다 ($p>0.05$). 이러한 각 조직학적 유형에서 보고되고 있는 bcl-2 단백질 발현에서의 차이는 조직학적 유형에 따른 발암기전, 유전 및 지역인구의 환경적 인자 그리고 bcl-2 단백질에 대한 양성 판정 기준의 차이 등에 기인한 것으로 생각된다.²⁶ 위암에서의 bcl-2 단백질 발현은 apoptosis를 억제하여 세포의 수명을 연장시켜 결과적으로 미성숙 종양세포가 성장을 지속적으로 할 수 있게 도와줌으로 종양 세포증식을 유도할 것으로 추측된다.²⁷ 본 연구에서 미만형 보다 장형의 bcl-2 단백질 발현이 다소 높은 점은 bcl-2 단백질이 장형 선암종의 발생과 관련이 있을 것으로 생각된다.

한편, bcl-2 mRNA의 발현이 장형 선암종에서는 정상 위점막 보다 낮게 나타나는 반면, 미만형 위선암종에서는 정상 위점막보다 높게 나타나는 것으로 보고되도 있는데 이는 미만형에서는 bcl-2 단백질의 과발현이 일어나며, 이와반대로 장형에서는 bcl-2의 대립유전자의 소실이 일어나 장형과 미만형의 발생간에 bcl-2 유전자의 활성화 차이가 있음을 시사한다.²⁷ 조직학적 유형에 따른 bcl-2 유전자의 역할에 대한 더 많은 연구가 앞으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

본 연구에서 암의 진행에 따른 bcl-2 단백질의 발현은 조기위암은 30%이고 진행성 위암은 36.7%로 각각 나타나 진행성 위암이 다소 높았으나 통계적으로 유의적인 차이는 없었다 ($p>0.05$). Saegusa등²⁶은 bcl-2가 조기 위암에서 20.6% 발현되는데 반해 진행성 위암에서는 7.7%로서 조기위암에서 오히려 발현이 높게 나타났다고 보고하여 본 연구의 결과와는 상

반되었다. Nakamura등²⁸은 bcl-2가 장화생을 동반한 위염에서 77.1% 발현되었고, Lauwers등²⁵의 보고에 의하면 위이형성에서 bcl-2가 81% 발현된 점으로 미루어 bcl-2가 위암의 다단계 발암과정 중 발생 초기에 중요한 역할을 한다고 시사하였다. 본 실험에서 림프절 전이 유무에 따른 bcl-2 단백질의 발현은 림프절 전이가 없는 경우 34.3%, 림프절 전이가 있는 경우 36.7%로서 림프절 전이가 있는 경우가 약간 높았으나 통계적인 유의한 차이는 없었다 ($p>0.05$). 또한 TNM기에 따른 bcl-2 단백질의 발현은 I기가 29.3%, II기가 58.3%, III기가 33.3%, IV기가 33.3%으로서 TNM 기에 따른 bcl-2 단백질 발현의 통계적인 유의한 차이는 없었다 ($p>0.05$). Lauwers등¹¹의 보고에 의하면 bcl-2 단백질 발현이 병리학적 병기 (pT stage), 림프절 전이, 예후와는 관련이 없었다고 보고하였는데 이는 본 연구와 비슷한 결과로 bcl-2가 종양의 진행과는 관련이 없을 것으로 생각된다.

Bcl-2 단백질 발현과 예후에 관한 연구로서 Baretton등²⁴은 대장암에서 bcl-2 단백질 양성인 경우가 bcl-2 단백질 음성인 경우보다 예후가 더 좋았다고 보고하였다. 폐의 비소세포암종에서도 bcl-2 단백질에 양성인 경우가 bcl-2 단백질에 음성인 경우보다 예후가 좋게 보고되고 있다.⁸ 이러한 결과는 bcl-2 단백질에 양성인 종양세포의 생물학적 악성 특성이 낮음을 시사하며 향후 환자들의 추적 관찰을 통해 bcl-2 단백질 발현여부와 위암의 예후와의 연관성은 규명되어야 할 것으로 생각된다.

p53 유전자는 17 번 염색체에 존재하는 종양억제 유전자로 세포가 손상을 받으면 세포성장 주기의 G₁기에서 세포의 성장을 억제하고 손상된 DNA를 복구하여 정상으로 회복시키거나 혹은 손상이 심하여 복구가 어려우면 apoptosis에 의해 세포사를 유도하여 결과적으로 종양의 발생을 억제한다. 그러나 돌연변이된 p53 유전자는 p53 종양억제 유전자 본래의 종양 발생을 억제하는 기능을 상실하여 숙주 세포가 종양세포로 전환된다고 알려지고 있다.¹⁴

위암에 관한 p53 단백질에 관한 연구로 Fukunaga등²⁰은 위 선암종 가운데 장형 선암종이 56%, 미만형이 27%로서 장형이 높았으며, p53 단백질이 장형 종양세포의 대부분에서 발현되고 미만형에서는 소수의 종양세포에서만 발현된 점으로 보아 p53유전자의 돌연변이가 장형 선암종의 발암 과정에 관여한다고 주장하였다. Hurliman등²⁹은 장형이 71%, 미만형이 11%, Brito등¹⁹은 장형이 43%, 미만형은 12%에서 각각 p53 단백질이 발현하였다고 보고하였다. Martin등²¹

은 장형에서 52%, 미만형에서 48%의 p53 단백질의 양성률을 보고하여 장형과 미만형의 발현에 큰 차이는 없었다. 본 연구에서는 p53 단백질 발현은 장형 선암종이 68.0%였고 미만형 선암종이 60.0%로서 장형 선암종이 다소 높았으나 통계적인 유의적 차이는 없었다 ($p>0.05$). 이러한 조직학적 유형에 따른 p53 단백질 발현의 차이는 이들의 발암기전이 다르다고 할 수 있으며, 또한 p53 유전자 변이의 검출방법의 차이, 연구 대상의 차이라고 생각된다. 본 연구에 장형 선암종이 미만형 선암종보다 p53 발현이 다소 높았지만 미만형 선암종에서의 p53 단백질의 발현은 장형 위선암종은 물론 미만형 위선암종의 발생과정에서도 p53 단백질이 중요한 역할을 시사한다.

본 연구에서 암의 진행에 따른 p53 단백질의 발현은 조기 위암에서 60.0%, 진행성 위암에서 66.7%로 각각 나타나 진행성 위암이 더 높았으나 유의한 차이는 없었다 ($p>0.05$). Shiao 등³⁰은 p53 돌연변이가 위이형성의 60%에서 발현되어 위암의 초기에 일어난다고 주장하였다. Brito 등¹⁹은 이형성, 조기위암, 진행성 위암으로 진행함에 따라 p53 단백질 발현이 증가는 p53 돌연변이가 위암의 진행과 관계있음을 시사하였고, Uchino 등³¹은 조기위암의 25%에서, 진행성 위암은 42%에서 각각 p53 유전자의 돌연변이가 관찰되었는데 이는 이미 조기 위암때 부터 p53 돌연변이가 발생하였으며 조기위암이 진행성 위암으로 진행되는 동안에는 p53은 종양의 성장에 영향을 주는 것 같지 않다고 하였다. 이와 반대로 Yamada 등³²은 p53 유전자의 돌연변이나 대립유전자의 소실이 원발성 위암보다 전이성 위암이나 전이암 세포주에서 더 높게 나타나 위암의 진행 후기에 p53 유전자 돌연변이가 생기며 p53 유전자 이상은 위암의 진행과 전이에 중요한 역할을 한다고 주장하였다. 본 연구에서 조기 위암 뿐 만 아니라 진행성 위암에서도 높은 빈도로 발현된 점으로 보아 p53의 돌연변이는 종양의 진행 및 전이에 관여하는 것으로 추측된다.

본 연구에서 림프절 전이 유무에 따른 p53 단백질의 발현은 림프절 전이가 없는 경우 62.9%, 림프절 전이가 있는 경우 66.7%로 각각 나타나 림프절 유무에 따른 p53 단백질 발현의 통계적인 유의한 차이는 없었다 ($p>0.05$). Starzynska 등³³은 림프절 전이가 있는 경우가 없는 경우보다 p53 단백질의 과발현 빈도가 높아 위암의 병기와 상관관계가 있고 이런 경우에는 대부분 예후는 좋지 않아 조기에 재발하여 사망하였다고 보고하면서 위암수술후 예후 추정과 적절한 치료의 결정에 p53을 표지자로 사용할 것을

제안하였다. 본 연구에서 TNM기에 따른 p53 단백질의 발현은 I기가 62.1%, II기가 66.7%, III기가 66.7%, IV기가 66.7%으로 각각 나타나 TNM기에 따른 p53 발현의 통계적인 유의한 차이는 없었다 ($p>0.05$). Fukunaga 등²⁰의 연구에서는 p53 단백질 발현이 위암의 TNM기, 침윤정도, 림프절 전이와는 상관성이 없었다고 하였다. 본 연구에서 p53 단백질 발현은 림프절 전이 유무, TNM기에 따른 통계적인 유의한 차이는 없었으나 림프절 전이와 종양의 진행에 따라 증가하는 경향이 있어서 p53 단백질 발현은 간접적으로 환자의 예후판정에 도움이 될 것으로 생각된다.

종양의 발생에 있어 bcl-2 유전자와 p53 유전자간의 상관 관계에 대한 연구로서 대장암²⁶에서는 상관 관계가 없음이 보고되었다. 본 연구에서는 Table 2와 Table 3에서 보는바와 같이 조직학적 유형과 암의 진행에 따른 bcl-2 단백질과 p53 단백질 발현사이의 상관 관계는 없었다. Sagusa 등²⁶은 위선암종에서 bcl-2 단백질에 양성인 예에서 p53 단백질 발현이 낮은 점으로 보아 bcl-2와 p53은 역 상관 관계를 시사하면서 bcl-2 단백질 발현이 p53 단백질 발현의 하향조절에 관여할 가능성을 추측하였다.

종양의 발생은 다단계의 경로를 거치며 여러 종류의 종양억제 유전자의 불활성화와 종양유전자의 활성화가 동시에 관여할 가능성이 높아지고 있다.³⁴ 장형과 미만형 선암종 각각은 서로 다른 여러 단계의 유전자 변화가 관여할 것으로 생각되며 이에 대한 더 많은 연구가 향후 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결 론

Lauren의 분류에 따른 장형 위선암종과 미만형 위선암종에서 bcl-2와 p53 단백질의 발현과 그 상관 관계를 검토하기 위하여 위절제술로 제거된 50예의 장형 선암종과 50예의 미만형 선암종을 포함한 총 100예에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하였다.

Bcl-2 단백질은 장형 선암종에서 38% (19/50), 미만형 선암종에서 30% (15/50)의 양성발현을 보여 장형 선암종에서 발현이 약간 높았으나 통계학적인 유의한 차이는 없었다 ($p>0.05$). P53 단백질은 장형 선암종에서 68% (34/50), 미만형 선암종에서 60% (30/50)의 양성 발현을 보여 장형 선암종에서 약간 높았으나 통계적인 유의한 차이는 없었다 ($p>0.05$). 위암의 진행정도, 림프절 전이, TNM기 각각에 대하여 bcl-2와 p53 단백질 발현은 통계적인 유의한 차이는 없었다.

($p > 0.05$).

이상의 결과를 미루어 보면 bcl-2와 p53 단백질 발현이 미만형 보다 장형 선암종의 발암기전에 더 중요한 역할을 할 것으로 시사되지만, 장형과 미만형 선암종에서 bcl-2와 p53 단백질 발현에 각각 유의한 차이는 없었다.

참 고 문 헌

1. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal type carcinoma. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; 64: 31-49.
2. Davessar K, Pezzulo JC, Kessimian N, Hale JH, Jauregui HO. Gastric adenocarcinoma: Prognostic significance of several pathologic parameters and histologic classification. *Hum Pathol* 1990; 21: 325-32.
3. Munoz N, Correa P, Cuello E. Histologic types of gastric carcinoma in high- and low-risk areas. *Int J Cancer* 1968; 3: 809-18.
4. Correa P. Precursors of gastric and esophageal cancer. *Cancer* 1982; 50: 2554-65.
5. Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1988; 48: 3554-60.
6. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cell with t(14:18) chromosome translocation. *Science* 1984; 22: 1097-9.
7. Hokeckenbery D, Nunez G, Millian C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990; 348: 334-48.
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. Pilotti S, Collinin 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.
10. Doglioni C, Dei Tos Ap, Laurino L, Chiarelli C, Barbareschi M, Viale G. The prevalence of bcl-2 immunoreactivity in breast carcinomas and its clinicopathological correlates, with particular reference to estrogen receptor status. *Virchows Arch* 1994; 424: 47-51.
11. Lauwers GY, Scott GV, Karpeh MS. Immunohistochemical evaluation of bcl-2 protein expression in gastric adenocarcinoma. *Cancer* 1995; 75: 2209-13.
12. Saegusa M, Takano Y, Okayasu I. Bcl-2 expression and its association with cell kinetics in human gastric carcinomas and intestinal metaplasia. *J Cancer Res Clin Oncol* 1995; 121: 357-63.
13. Levine AJ, Momand J, Finlay A. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-6.
14. Chang F, Syrjanen S, Tervahauta A, Syrjanen K. Tumorigenesis associated with the p53 tumor suppressor gene. *Br J Cancer* 1993; 68: 653-61.
15. Shimaya K, Shiozaki H, Inoue M, Tahara H, Monden T, Shimano T. Significance of p53 expression as prognostic factor in oesophageal squamous cell carcinoma. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1993; 422: 271-6.
16. Losi L, Di Gregorio C, Brausi M, Fantes R, Hurliman J. Expression of p53 protein in prostate cancers of different histologic types. *Pathol Res Pract* 1994; 190: 384-8.
17. Baker SJ, Markowitz S, Fearon ER, Willson JKV, Vogelstein B. Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild-type p53. *Science* 1990; 249: 912-5.
18. Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harris AL. Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335: 675-9.
19. Brito MJ, Williams GT, Thompson H, Filipe MI. Expression of p53 in early(T1) gastric carcinoma and precancerous adjacent mucosa. *Gut* 1994; 35: 1697-700.
20. Fukunaga M, Monden T, Nakanishi H, et al. Immunohistochemical study of p53 in gastric carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1994; 101: 177-80.
21. Martin HM, Filipe MI, Morris RW, Lane DL, Silvestre F. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1992; 50: 859-62.
22. Bearhrs OH, Hensen DE, Hutter RVP, Kennedy BJ. American Joint Committee on Cancer. Manual for staging of cancer. 4 th ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Co., 1992; 63-5.
23. Lu QL, Abel P, Foster CS, Lalani EN. bcl-2: Role in epithelial differentiation and oncogenesis. *Hum Pathol* 1996; 27: 102-10.
24. Baretton GB, Diebold J, Christofori G, et al. Apoptosis and immunohistochemical bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. *Cancer* 1996; 77: 255-64.
25. Lauwers GY, Scott GV, Hendricks J. Immunohistochemical evidence of aberrant bcl-2 protein expression in gastric epithelial dysplasia. *Cancer* 1994; 73: 2900-4.

26. Saegusa M, Takano Y, Kamata Y, Okayasu I. Bcl-2 expression and allelic loss of the p53 gene in gastric carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122: 427-32.
 27. Ayhan A, Yasui W, Yokozaki H, Seto M, Ueda R, Tahara E. Loss of heterozygosity at the bcl-2 gene locus and expression of bcl-2 in human gastric and colorectal carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1994; 85: 584-91.
 28. Nakamura T, Nomura S, Sakai T, Nariya S: Expression of bcl-2 oncoprotein in gastrointestinal and uterine carcinomas and their premalignant lesions. *Hum Pathol* 1997; 28: 309-15
 29. Hurliman J, Saraga EP. Expression of p53 protein in gastric carcinomas-association with histologic type and prognosis. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 1247-53.
 30. Shiao YH, Rugge M, Correa P, Peter Lehmann H, Scheer WD. p53 alteration in gastric precancerous lesions. *Am J Pathol* 1994; 144: 511-7.
 31. Uchino S, Noguchi M, Ochiai A, et al. Prognostic significance of p53 overexpression has high potential for metastasising to lymph nodes. *Br J Cancer* 1993; 67: 589-93.
 32. Yamada Y, Yoshida T, Hayashi K, et al. p53 gene mutations gastric cancer metastases and in gastric cancer cell lines derived from metastases. *Cancer Res* 1991; 51: 5800-5.
 33. Starzynska T, Bromley M, Ghosh A, Stern PL. Prognostic significance of p53 overexpression in gastric and colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 1992; 66: 558-62.
 34. Thomas WD. Oncogenes and antioncogenes; The molecular basis of tumor behaviour. *J Pathol* 1991; 165: 187-201.
-