

피부 멜라닌세포성 병변에서 돌연변이형 p53 단백질과 Bcl-2 단백질 발현에 대한 면역조직화학 연구

영남대학교 의과대학 병리학교실

이 화 진 · 최 준 혁 · 최 원 희

Immunohistochemical Study on the Expression of Mutated p53 Protein and Bcl-2 Protein in Melanocytic Lesions of Skin

Wha Jin Lee, M.D., Joon Hyuk Choi, M.D. and Won Hee Choi, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine, Youngnam University

To investigate the immunohistochemical expression of mutated p53 protein and bcl-2 protein in the cutaneous melanocytic lesion, 15 cases of compound nevus, 10 cases of congenital melanocytic nevus, 15 cases of primary malignant melanoma(4 cases less than 1.5 mm thick and 11 cases more than 1.5 mm thick), and 10 cases of metastatic malignant melanoma(7 cases in lymph node and 3 cases in soft tissue) were examined. All cases of compound nevi and of congenital melanocytic nevi showed no immunoreactivity for p53 protein. p53 protein overexpression was observed in 75%(3/4) with primary malignant melanoma less than 1.5 mm thick, 81%(9/11) with primary malignant melanoma more than 1.5 mm thick, and 100%(10/10) with metastatic malignant melanoma. The difference in p53 protein overexpression was statistically significant between benign nevi and malignant melanoma($p < 0.01$). Bcl-2 protein expression was observed in 73%(11/15) with compound nevus, 70%(7/10) with congenital melanocytic nevus, 75% (3/4) in primary malignant melanoma less than 1.5 mm thick, 54%(6/11) with primary malignant melanoma more than 1.5 mm thick, and 40%(4/10) with metastatic malignant melanoma. These findings suggested that mutation of p53 gene may be an important mechanism in the development of malignant melanoma. Although bcl-2 protein was expressed in cutaneous melanocytic lesion, no correlation was found between p53 protein and bcl-2 protein expression in malignant melanoma. (*Korean J Pathol* 1997; 31: 112~120)

Key Words: Malignant melanoma, Mutated p53 protein, Bcl-2 protein

접 수: 1996년 5월 13일, 게재승인: 1996년 12월 11일

주 소: 대구시 남구 대명동 317-1, 우편번호 705-035

영남대학교 의과대학 병리학교실, 최준혁

서 론

최근 종양의 발생 기전을 규명하기 위하여 종양 세포의 유전자 이상에 대한 분자생물학적 연구가 활발히 진행되고 있다.

종양의 발생과 관련된 유전자는 종양 유전자와 종양억제 유전자로 분류될 수 있다. 종양 유전자는 종양을 유발하는 유전자이며, 종양억제 유전자는 정상 세포의 성장을 조절하는 유전자이다. 종양 유전자의 전단계 유전자를 원종양 유전자라하며 이 원종양 유전자는 정상 세포에서는 불활성 상태로 존재하지만, 점 돌연변이, 염색체 전위, 유전자 증폭 등에 의해 종양 유전자로 활성화될 경우 부적절한 세포 증식이 일어난다. 또한 종양억제 유전자는 돌연변이에 의해 불활성화될 경우 세포의 성장을 조절하는 기능이 상실되어 세포의 과잉 증식이 초래되는 것으로 알려지고 있다¹.

오늘날 인체의 종양에서 종양 유전자의 발견율은 높아지고 있지만 모든 인체의 종양이 종양 유전자의 활성화에 의해서만 발생하는 것은 아니며, 일부 종양은 종양억제 유전자의 돌연변이에 의한 종양억제 유전자의 불활성화에 의해서도 발생하는 것으로 보고되고 있으며², 최근에 인체의 종양은 다단계의 복잡한 과정을 통해서 발생된다고 알려지고 있다³.

종양억제 유전자 중 많은 연구가 진행되고 있는 것은 17번 염색체의 단완에 존재하는 p53 유전자이다. p53 유전자는 세포의 성장을 정상적으로 조절하는 역할을 하는데 p53 유전자의 산물인 p53 단백질은 SV 바이러스에 의해 변형된 세포에서 처음으로 발견되었다⁴. p53 단백질에는 정상적으로 존재하는 정상형과 p53 유전자의 돌연변이에 의해 합성된 돌연변이형이 있다. 정상형은 핵인 단백질로서 53 kD의 분자량을 가지며, 반감기는 짧고 세포의 핵내에서의 그 농도는 낮아 면역조직화학적 방법에 의해서는 쉽게 검출되지는 않는다⁵. 한편 돌연변이된 p53 유전자의 산물인 돌연변이형은 세포의 핵내에서 대사적으로 안정화되어 쉽게 축적되며 면역조직화학적 방법에 의해 검출이 용이하다. p53 유전자의 돌연변이가 일부 인체 종양의 발생과 관련있는 것으로 알려지고 있으며, 식도암⁶, 위암⁷, 전립선암⁸, 대장암⁹, 및 폐암¹⁰ 등에서 p53 단백질의 과발현이 보고되고 있다.

Bcl-2 (B-cell leukemia/lymphoma-2) 유전자는 염색체 18 번에 위치하는 원종양 유전자로서 B-세포 여포상 림프종에서 처음으로 발견되었다¹¹. Bcl-2 유전자

는 B-세포 여포상 림프종에서 t(14;18) 염색체 전위에 의해 활성화되며 이때에 Bcl-2 단백질이 과발현되는 것으로 알려져 있는데, 최근에는 다른 인자들에 의해서도 Bcl-2 유전자가 활성화될 수 있다고 보고되고 있다¹². Bcl-2 유전자는 계획된 세포사(programmed cell death) 즉 apoptosis를 억제함으로써 세포의 생존 기간을 연장하는 역할을 한다. Bcl-2 유전자의 산물인 Bcl-2 단백질은 분자량이 25 kD정도이며 미토콘드리아 막, 핵막, 내형질세망에 존재한다¹³. Bcl-2 단백질의 발현은 여포상 림프종¹⁴을 비롯하여 다발성 골수종¹⁵, 폐암¹⁶, 간암¹⁷, 비인두암¹⁸, 타액선암¹⁹, 유방암²⁰, 갑상선암²¹ 등에서 보고되고 있다.

피부의 멜라닌 세포에서 유래된 악성 종양인 악성 흑색종은 병리조직학적으로 다단계의 과정을 통하여 발생과 진행이 되며, 종양의 침윤 깊이에 따라서 예후와 밀접한 관련이 있기 때문에 종양세포의 유전자의 이상을 연구하는데 유용한 모델이 될 수 있다²².

악성 흑색종에서의 p53 단백질에 대한 연구로서 Cristofolini등²³은 p53 단백질의 발현율이 30%라고 보고한 반면 Stretch등²⁴은 85%라 보고하였다. 또한 p53 단백질의 발현 시기에 대해서는 Akslen등²⁵은 악성 흑색종의 발생 초기 단계에 p53 단백질이 발현된다고 보고한 반면에, Barnhill등²⁶과 Lassam등²⁷의 연구에 따르면 p53 단백질이 악성 흑색종의 진행 후기에 높게 발현되어 보고자마다 차이가 있다. p53 유전자의 돌연변이가 악성 흑색종의 발생기전에 중요한 역할을 할 것으로 사료되지만 악성 흑색종의 발생 기전과 예후와의 연관성은 확실하게 규명되어 있지 않다.

한편, 피부의 멜라닌세포성 병변에서의 bcl-2 단백질에 대한 연구로는 Ramsay등²⁸이 피부의 양성 모반과 악성 흑색종의 대부분에서 bcl-2 단백질이 발현되었고, 악성이 진행될수록 bcl-2 단백질 발현이 소실되었다고 보고하여 bcl-2 단백질이 피부의 멜라닌세포성 병변과 관련이 있는 것으로 생각되고 있으나 bcl-2 단백질의 발현이 피부의 멜라닌세포성 병변에 미치는 영향에 대한 체계적이고 구체적인 연구는 국내외에서 미흡한 실정이다.

이에 저자들은 피부의 멜라닌세포성 병변의 유형에 따른 p53 단백질과 bcl-2 단백질의 발현 차이와 상호관련성 및 악성화와 종양의 진행에 미치는 생물학적 표지자로서의 의의를 알아보기 위해 파라핀에 포매된 피부 멜라닌세포성 병변에서 p53 단백질과 bcl-2 단백질의 발현 양상을 면역조직화학적 방법으로 관찰하여 비교 검토하였다.

재료 및 방법

1. 연구 대상

영남대학병원 해부병리과에서 진단된 피부 멜라닌세포성 병변 중 슬라이드와 파라핀 포매조직이 잘 보존된 복합 모반 15예, 선천성 멜라닌세포성 모반 10예, 원발성 악성 흑색종 15예(진피 침윤 깊이 1.5 mm 미만 4예, 진피 침윤 깊이 1.5 mm 이상 11예), 전이된 악성 흑색종 10예(림프절 전이 7예, 연부조직 전이 3예)를 각각 대상으로 하였다.

2. 면역조직화학적 염색

p53 단백질과 Bcl-2 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 30 분간 처리하여 내인성 과산화효소의 작용을 억제시킨 뒤 Tris 완충 용액으로 3회 세척하고 citric acid 용액에 슬라이드를 넣고 5 분간 극초단파(microwave) 처리하였다.

일차 항체로 p53 (DO7 Monoclonal antibody, Novocastra Lab., U.K.)은 1:300, bcl-2(124 Monoclonal antibody, Dako Co., Denmark)는 1:80으로 희석하여 사용하였으며, 37°C에서 2 시간 동안 부양시킨 후 Tris 완충용액으로 3회 세척하였다. 그리고 이차항체인 Link antibody(Dako Co., Denmark)를 37°C에서 30분간 도포한 다음 Tris 완충용액으로 3회 세척하였다. Streptavidin(Zymed Co., USA)로 30분간 도포한 후 Tris 완충용액으로 3회 세척하고 AEC(3-amino-9-ethyl-carbazole)를 10분간 도포하여 발색한 다음 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하였다. 매 염색 시마다 p53 단백질과 bcl-2 단백질에 대한 양성 및 음성 대조 염색을 같이 시행하였다. p53 단백질에 양성인 유방암 종 조직과 bcl-2 단백질에 양성인 림프절 조직을 양성 대조군으로 사용하였고 음성 대조군에서는 일차항체를 제외하고 실험 예들과 동일하게 염색을 시행하였다.

3. 양성 판정 기준

p53 단백질 발현은 핵에서, bcl-2 단백질 발현은 세포질에서만 분명히 적갈색으로 염색된 것을 각각 양성 반응으로 판정하였고, 불확실하고 애매모호하게 염색된 것은 음성으로 판정하였다.

4. 통계학적 분석

피부의 멜라닌세포성 병변에 따른 p53 단백질과 bcl-2 단백질 발현의 유의성은 χ^2 test와 Fisher's exact test로 검정하였다.

성 적

1. p53 단백질 발현

p53 단백질의 발현은 복합 모반에서는 15예(100%) 모두가 음성반응을 나타내었고(Fig. 1), 선천성 멜라닌세포성 모반의 경우 10예 중 10예(100%) 모두에서 음성반응을 나타내었다. 원발성 악성 흑색종에서는 진피의 침윤의 깊이가 1.5 mm 이하인 4예 중에서 3예(75%)가 양성을, 침윤의 깊이가 1.5 mm 이상인 11예 중에서 9예(81%)가 양성을 각각 보였다(Fig. 2). 림프절에 전이된 악성 흑색종은 7예 중 7예(100%)에서, 연부조직에 전이된 3예 중 3예(100%) 모두에서 각각 양성반응을 보였다(Table 1).

2. Bcl-2 단백질 발현

Bcl-2 단백질의 발현은 복합 모반의 경우 15예 중 11예(73%)에서 양성을 보였고(Fig. 3), 선천성 멜라닌세포성 모반에서는 10예 중 7예(70%)에서 양성을 보였다. 원발성 악성 흑색종에서는 진피 침윤의 깊이가 1.5 mm 이하인 4예 중 3예(75%)에서 양성되었고 침윤의 깊이가 1.5 mm 이상인 11예 중 6예(54%)

Table 1. Expression of p53 protein in cutaneous melanocytic lesions

Lesions	No. of cases	No. of p53 positive
Compound nevus	15	0(0%)
Congenital melanocytic nevus	10	0(0%)
Malignant melanoma		
Primary		
< 1.5 mm	4	3(75%)
> 1.5 mm	11	9(81%)
Metastatic		
Lymph node	7	7(100%)
Soft tissue	3	3(100%)

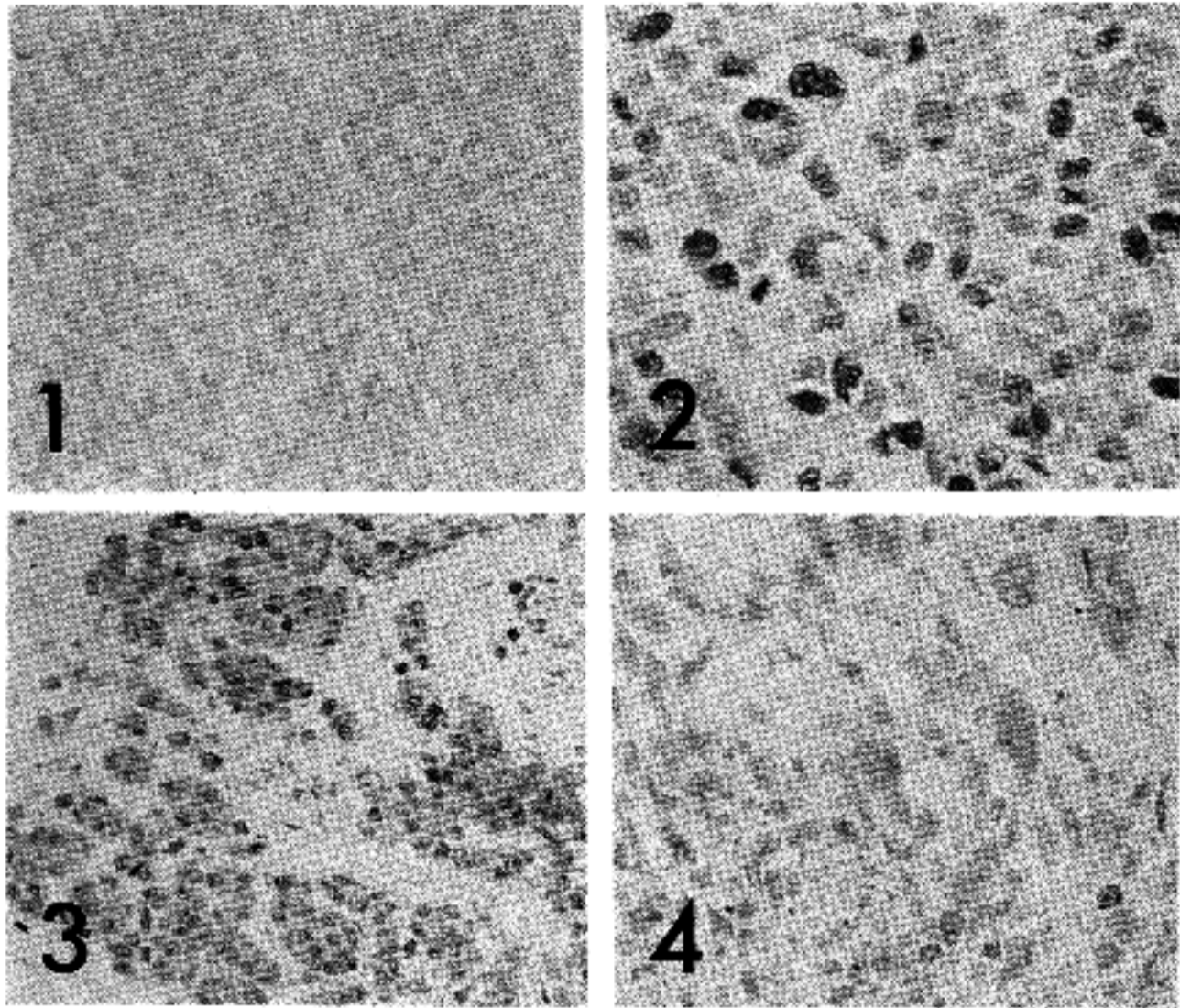


Fig. 1. Compound nevus. The nevus cells reveal negative reaction for p53 protein.
Fig. 2. Malignant melanoma more than 1.5 mm thick. The malignant cells reveal positive reaction for p53 protein.
Fig. 3. Compound nevus. The nevus cells reveal positive reaction for bcl-2 protein.
Fig. 4. Metastatic malignant melanoma in soft tissue. The malignant cells reveal positive reaction for bcl-2 protein.

에서 양성이었다. 림프질에 전이된 악성 흑색종 7예 중 2예(28%)에서 양성하였고, 연부조직에 전이된 악성 흑색종 3예 중 2예(67%)에서 양성이었다(Fig. 4). 종양 주위의 림프구와 표피의 기저세포가 bcl-2 단백질에 가끔 양성반응을 보인 경우도 있었다(Table 2).

3. p53 단백질과 bcl-2 단백질 발현의 비교

피부의 멜라닌세포성 병변에서 p53 단백질과 bcl-2 단백질의 발현을 비교하면 Table 3과 같다. p53 단백질에 음성인 양성 모반 25예(복합 모반 15예와 선천성 멜라닌세포성 모반 10예) 중 bcl-2 단백질에 양성인 18예, 음성은 7예였다. p53 단백질에 양성인 악성 흑색종 22예(원발성 악성 흑색종 12예와 전이성 흑색종 10예) 중 bcl-2 단백질에 양성인 12예, 음성은 10예였다.

4. 통계적 분석

p53 단백질 양성반응은 복합 모반과 원발성 악성 흑

Table 2. Expression of Bcl-2 protein in cutaneous melanocytic lesions

Lesions	No. of cases	No. of Bcl-2 positive
Compound nevus	15	11(73%)
Congenital melanocytic nevus	10	7(70%)
Malignant melanoma		
Primary		
< 1.5 mm	4	3(75%)
> 1.5 mm	11	6(54%)
Metastatic		
Lymph node	7	2(28%)
Soft tissue	3	2(67%)

색종 사이에 통계적인 유의적 차이가 있었다($P < 0.01$). 또한 p53 단백질 양성반응은 선천성 멜라닌세포성 모반과 원발성 악성 흑색종 사이에서도 통계적으

Table 3. Comparison of p53 and bcl-2 protein expression in cutaneous melanocytic lesions

Lesion	No. of cases	p53 positive		p53 negative	
		bcl-2+	bcl-2-	bcl-2+	bcl-2-
Compound nevus	15	0(0%)	0(0%)	11(73%)	4(27%)
Congenital nevus	10	0(0%)	0(0%)	7(70%)	3(30%)
Malignant melanoma					
Primary					
< 1.5 mm	4	3(75%)	0(0%)	1(25%)	0(0%)
> 1.5 mm	11	5(46%)	4(36%)	1(9%)	1(9%)
Metastatic					
Lymph node	7	2(29%)	5(71%)	0(0%)	0(0%)
Soft tissue	3	2(67%)	1(33%)	0(0%)	0(0%)

로 유의적인 차이가 있었다($P < 0.01$). 악성 흑색종의 침윤의 깊이에 따른 p53 단백 양성반응은 통계적으로 유의적인 차이는 없었고($P > 0.05$), 원발성 악성 흑색종과 전이성 악성 흑색종 사이에서도 유의적인 차이는 없었다($p > 0.05$).

Bcl-2 단백 양성반응은 복합 모반과 원발성 악성 흑색종 사이에 통계적인 유의적 차이가 없었으며 ($P > 0.05$), 선천성 멜라닌세포성 모반과 원발성 악성 흑색종 사이에도 유의적인 차이는 없었다($P > 0.05$). 악성 흑색종의 침윤의 깊이에 따른 bcl-2 단백질의 양성반응의 통계적인 유의적인 차이는 없었고($P > 0.05$), 원발성 악성 흑색종과 전이성 악성 흑색종 사이에서도 유의적인 차이는 없었다($p > 0.05$).

악성 흑색종에 있어 p53 단백질과 bcl-2 단백질의 발현 사이에 상관관계는 없었다($p > 0.05$).

고 찰

p53 유전자와 Bcl-2 유전자에 대한 연구는 종양의 발생 기전을 연구하는데 많은 도움을 주고 있으며 또한 종양 유전자와 종양억제 유전자간의 상호관계를 정립하는 데에도 큰 기여를 하고 있다.

정상적인 p53 유전자는 발암물질 등에 의해 세포가 손상되면 세포 성장 주기의 G₁기에서 세포의 성장을 억제하고 손상된 DNA를 복구하여 정상으로 회복시키거나, 혹은 손상이 심하여 DNA 복구가 어려우면 apoptosis에 의한 세포사를 유도하여 결과적으로 종양의 발생을 억제한다⁴. 그러나 돌연변이된 p53 유전자는 p53 종양억제 유전자의 본래의 종양 발생을 억제하는 기능을 상실하여 숙주세포가 종양

세포로 전환된다고 알려지고 있다²⁹. 여러 종류의 인체 종양에서 p53 종양억제 유전자의 돌연변이가 발견되며 p53 단백질의 발현은 종양의 종류에 따라 그 빈도에 차이가 있다. Porter 등³⁰은 p53 단백 발현율이 난소암종 92%, 유방암종 34%, 연부조직 육종 33%로 비교적 낮은 빈도였다고 보고하였다.

본 실험에서 p53 단백질은 복합 모반과 선천성 멜라닌세포성 모반 모두에서 음성반응을 나타내었다. Cristofolini 등²³의 실험에서는 정상 피부의 기저세포와 모반세포에서 p53 단백질이 일부 발현되었는데, 모반세포에서의 p53 단백질 발현은 DNA 복구와 apoptosis 등과 관련하여 세포 주기의 특수한 단계에서 정상형 p53 단백질이 생리적으로 증가하기 때문이라고 설명하였다.

본 실험에서 원발성 악성 흑색종 15예와 전이성 악성흑색종 10예를 포함한 전체 25예 중 양성인 22예(88%)로서(Table 1) 악성 흑색종이 양성 모반에 비해 p53 단백 양성율이 통계적으로 유의하게 높았다($p < 0.01$). 이러한 차이는 악성 흑색종과 p53 단백 발현간에 의의있는 연관성을 보여주는 것으로 p53 유전자의 돌연변이가 악성 흑색종의 발생의 중요한 기전으로 생각되었다. 또한 본 연구에서의 양성 모반과 악성 흑색종의 p53 단백질 발현의 차이는 진단의 기준으로 이용될 수 있을 것으로 생각되었다.

본 실험에서 원발성 악성 흑색종은 침윤 깊이가 1.5 mm 이하인 경우 75%에서, 1.5 mm 이상 인 경우 81%에서 p53 단백질이 발현하여 종양의 침윤의 깊이가 클 수록 양성율이 약간 높은 경향이 있었으나 통계적으로 유의적인 차이는 없었다. 악성 흑색종에 대한 p53 단백질의 양성율은 Cristofolini 등²³이 30%,

Lassam등²⁷이 7%, Barnhill등²⁶이 15%, McGregor등³⁵이 27%, Stretch등²⁴이 70%으로 각각 보고하였는데, Cristofolini등²³은 이러한 양성율의 차이가 포르말린 고정 조직과 동결 조직의 연구 대상의 차이, 악성 흑색종 예의 선택 차이, 악성 흑색종의 병리기전의 차이 및 p53 단백질 항체의 특수성의 차이에 기인한다고 설명하였다.

또한 본 실험에서 전이된 악성 흑색종은 p53 단백질 발현율이 100% 였고 원발성 악성 흑색종은 80%로서 악성 흑색종이 전이됨에 따라 양성율이 증가하는 경향을 보였으나 이 둘 간에 통계적으로 유의적인 차이는 없었다. Lassam등²⁷의 보고에 의하면 p53 단백질의 과발현은 원발성 악성 흑색종보다 전이된 악성 흑색종에서 높게 나타났는데, 이는 p53 단백질의 과발현이 악성 흑색종의 발생을 유발하기 보다는 오히려 종양이 발생된 후에 종양의 진행을 촉진시키는 것으로 설명하였고, Stretch등²⁴은 p53 단백질 발현이 전이성 종양의 성장에 중요한 역할을 하는 것으로 설명하였다. Akslen등³⁶은 p53 단백질이 악성 흑색종의 초기에 대부분이 발현하며 전이성 악성 흑색종에서는 양성율이 오히려 감소하였다고 하여 위와 상반되게 보고하였다. 본 실험에서 p53 단백질 양성율에 있어 원발성 악성 흑색종의 침윤의 깊이의 정도에 따른 통계적인 유의적 차이가 없는 점과 원발성 악성 흑색종과 전이성 악성 흑색종 사이에 통계적인 유의적 차이가 없는 점으로 보아 p53 단백질의 과발현이 악성흑색종의 진행 후기에 밀접한 관련이 있을 것으로 설명하기는 어렵다. 악성 흑색종의 발생의 어떠한 단계에서 p53 유전자의 돌연변이가 관여하는지는 대하여는 앞으로 더욱 많은 연구가 요구된다. 한편 McGregor등³⁵은 악성 흑색종에서 p53 단백질이 강한 양성반응을 나타내는 경우는 예후가 나쁘다고 보고하여 p53 단백질 양성인 악성 흑색종의 예후에 중요한 인자라고 시사하였다.

Bcl-2 유전자는 apoptosis를 억제하는 원종양 유전자로서 세포 증식의 기전에 직접 관여하지는 않지만 세포사를 조절함으로써 조직의 항상성에 영향을 준다¹³. Bcl-2 유전자의 산물인 bcl-2 단백질은 조혈세포계, 전립선, 유방, 위장 등의 관상피세포, 임파조직, 위장관의 음(crypts)의 기저세포, 외분비선의 관세포, 그리고 신경계 등에서 정상적으로 발현되며, 또한 bcl-2 유전자는 많은 태아 조직의 정상적인 평형 유지와 형태 형성에 중요한 역할을 담당한다^{31,32}. 최근 인체의 종양 중 폐암¹⁶, 비인두암¹⁸과 신경모세포종³³ 등에서도 bcl-2 단백질이 발현된다고 보고되고 있다. 또한 피부에 있어 bcl-2 단백질은 표피 기

저에 있는 각질세포 뿐만 아니라 표피-진피 경계 부위에 있는 멜라닌세포에서 정상적으로 발현되며, 피부 종양에 대한 연구로서 Smoller등³⁴은 기저세포암에서 bcl-2 단백질이 발현되었고 편평상피 세포암에서는 bcl-2 단백질에 음성이었다고 보고하였다.

본 실험에서 복합 모반에서의 bcl-2 단백질 양성율은 73%으로서 Cerroni등³⁷이 보고한 94%와 Ramsay등²⁸의 100%보다 낮게 나타났다. 또한 선천성 멜라닌세포성 모반에서 bcl-2 단백질 발현율은 70%으로서 복합 모반의 양성율과 유사하였다. Morales-Dueret등³⁸은 선천성 멜라닌세포성 모반에서 bcl-2 단백질의 발현은 선천성 멜라닌세포성 모반에 존재하는 모반세포가 계획된 세포사, 즉 apoptosis의 억제에 의해 증식되어서, 선천성 멜라닌세포성 모반이 악성 흑색종으로의 진행과 관련있을 것으로 시사하였다.

Table 2에서 나타난 바와 같이 bcl-2 단백질의 양성율은 복합 모반과 선천성 멜라닌세포성 모반을 합친 전체 양성 모반에서 72%, 원발성 악성 흑색종의 양성율은 60%으로서 악성 흑색종이 양성 모반보다 bcl-2 단백질 발현이 감소하는 경향이었으나 통계상의 유의적 차이는 없었다. 본 실험의 양성 모반과 악성 흑색종에서 bcl-2 단백질이 발현되는 점으로 보아 종양세포의 성장에 bcl-2 단백질이 중요한 역할을 할 것으로 생각되었다.

본 실험에서 악성 흑색종의 bcl-2 단백질의 양성율은 침윤 깊이가 1.5 mm이하는 75%였고 1.5 mm 이상은 54%, 그리고 전이된 경우 40%로서 악성 흑색종이 진행될 수록 bcl-2 단백질 양성율이 감소되는 경향이었으나 통계적인 유의한 차이는 없었다. 이는 Ramsay등²⁸의 보고와 유사한 것으로서 그들에 의하면 악성으로 진행됨에 따라 bcl-2 단백질 발현의 감소는 멜라닌 세포의 증식과 종양 진행에 중요한 역할을 할 것으로 시사하였다. 종양의 발생에는 여러 단계의 유전자적 변화가 관여하기 때문에 Bcl-2 발현이 멜라닌세포성 종양의 첫 단계인지 아니면 연속적인 유전자적 변화가 궁극적으로 멜라닌세포의 악성화를 일으키는지에 대해서는 앞으로 더 연구되어야 할 과제이다.

Bcl-2 발현이 예후에 미치는 영향에 대하여 Cerroni등³⁷은 피부의 멜라닌세포성 병변들의 생물학적 특성과 상관없이 대부분에서 발현된 점으로 보아 Bcl-2 단백질이 예후에 중요한 표지자로서 역할을 하지는 않는다고 보고하였다.

한편 apoptosis란 배형성, 면역과 신경계 발달, 종양세포 퇴행 등과 같은 인체내의 여러가지 생리 및 병리학적 상태에서 흔히 관찰되는 능동적이며 자발

적인 세포의 사망기전으로 bcl-2는 apoptosis를 억제하는 반면에 p53은 apoptosis를 촉진시킨다. 종양의 발생에 있어 p53 유전자와 bcl-2 유전자의 상호간의 연구로 Doglioni 등²⁰은 유방암에서 bcl-2 단백질과 p53 단백질 발현 사이에는 상관관계가 없었다고 보고하였다. 본 연구에서 복합 모반과 선천성 멜라닌세포성 모반에서 p53 단백질 발현은 음성인 반면에 bcl-2 단백질 발현은 양성으로 서로 상반되게 관찰되었고, 일부 악성 흑색종은 p53 단백질과 bcl-2 단백질에 발현되었으나 서로 상관관계는 없었다. 종양의 발생에 있어 여러 종류의 종양 유전자들이 종양에 따라 상대적인 역할은 특이할 것으로 생각되며, 종양의 발생에 종양억제 유전자의 불활성화와 종양 유전자의 활성화가 동시에 관여할 가능성이 매우 높아지고 있다³⁴. Pezella 등³⁹의 보고에 따르면 비호지킨 림프종에서 p53 단백질과 bcl-2 단백질의 발현 사이에는 상관관계가 없었는데, 돌연변이된 p53 유전자는 bcl-2 유전자가 과발현될 때와 유사하게 apoptosis를 억제하여 종양발생효과(oncogenic effect)를 나타낸다고 설명하였다. 앞으로 종양 발생의 기전과 관련하여 p53 유전자와 bcl-2 유전자 뿐만아니라 다른 종양 유전자 들간의 상호관계는 좀더 규명되어야 할 것으로 생각되었다.

이상의 연구에서 얻어진 결과들은 향후 피부 멜라닌세포성 병변 연구에 중요한 기초 자료로 이용될 것으로 사료되며 환자들의 추적 관찰을 통하여 p53 단백질과 bcl-2 단백질의 발현 여부와 예후와의 연관성은 규명될 것으로 보인다.

결 론

피부의 멜라닌세포성 병변에서 p53 단백질과 Bcl-2 단백질의 발현을 알아보기 위하여 복합 모반 15예, 선천성 멜라닌세포성 모반 10예, 원발성 악성 흑색종 15예(진피 침윤 깊이 1.5 mm 이하 4예, 침윤 깊이 1.5 mm 이상 11예), 그리고 전이된 악성 흑색종 10예(림프절 전이 7예, 연부조직 전이 3예)를 대상으로 면역조직화학적 염색을 실시하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) p53 단백질 발현은 원발성 악성 흑색종 중 침윤 깊이 1.5 mm 이하 4예 중 3예(75%), 1.5 mm 이상 11예 중 9예(81%)에서 양성하였고, 림프절의 전이성 악성 흑색종 7예와 연부조직의 전이성 3예는 각각 모두 양성이었다. 복합 모반 15예와 선천성 멜라닌 세포성 모반 10예는 각각 모두에서 음성이었다. p53 단백질의 양성반응은 양성 모반과 악성 흑색종사이에

통계적인 유의적 차이가 있었다($p < 0.01$). 원발성 악성 흑색종과 전이성 악성 흑색종사 이에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$).

2) Bcl-2 단백질 발현은 복합 모반의 경우 15예 중 11예(73%)에서 양성하였고, 선천성 모반의 경우 10예 중 7예(70%)에서 양성이었다. 원발성 악성 흑색종에서 침윤 깊이가 1.5 mm 이하에서는 4예 중 3예(75%), 1.5 mm 이상에서는 11예 중 6예 (54%), 림프절에 전이된 경우 7예 중 2예(28%)와 연부조직에 전이된 경우 3예 중 2예(67%)가 각각 양성반응을 보였다.

Bcl-2 단백질의 양성반응은 양성 모반과 악성 흑색종 사이에 통계적으로 유의적 차이가 없었다($p > 0.05$). 원발성 악성 흑색종과 전이성 악성 흑색종사 이에 통계적인 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$).

3) p53 단백질에 양성인 악성 흑색종 22예(원발성 악성흑색종 12예와 전이성 흑색종 10예) 중 bcl-2 단백질에 양성인 12예였고, bcl-2 단백질에 음성은 10예였다. 악성 흑색종에서 p53 단백질과 bcl-2 단백질의 발현간에 상관관계는 없었다($p > 0.05$).

이상의 결과를 종합하면 악성 흑색종의 p53 단백질이 과발현되는 점으로 보아서 p53 유전자의 돌연변이가 악성 흑색종의 발생에 중요한 기전에 밀접하게 관여하며, 양성모반과 악성흑색종에서 bcl-2 단백질이 발현되는 것은 종양세포 성장에 bcl-2 단백질이 중요한 역할을 하고, 악성 흑색종에서 p53 단백질과 bcl-2 단백질의 발현간는 서로 상관관계가 없었다.

참 고 문 헌

1. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994: 257-72.
2. Wynford-Thomas D. Oncogenes and antioncogenes; The molecular basis of tumor behaviour. J Pathol 1991; 165: 187-201.
3. Weinberg RA. Oncogenes, Antioncogenes, and the molecular bases of multistep carcinogenesis. Cancer Res 1989; 49: 3713-21.
4. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. Nature 1991; 351: 453-6.
5. Chang F, Syrjänen S, Tervahauta A, Syrjänen K. Tumorigenesis associated with the p53 tumor suppressor gene. Br J Cancer 1993; 68: 653-61.
6. Shimaya K, Shiozaki H, Inoue M, Tahara H, Monden T, Shimano T. Significance of p53 expression as a prognostic factor in oesophageal squamous cell car-

- cinoma. Virchows Archiv A Pathol Anat 1993; 422: 271-6.
7. Fléjou JF, Muzeau F, Potet F, Lepelletier F, Fékété F, Hénin D. Overexpression of the p53 tumor suppressor gene product in esophageal and gastric carcinomas. Path Res Pract 1994; 190: 1141-8.
 8. Losi L, Di Gregorio C, Brausi M, Fante R, Hurlimann J. Expression of p53 protein in prostate cancers of different histologic types. Path Res Pract 1994; 190: 384-8.
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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; 226: 1097-9.
 12. Korsmeyer SJ. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. Blood 1992; 80: 879-86.
 13. Hokkenbery D, Nuñez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. Nature 1990; 348: 334-48.
 14. Cerroni L, Volkenandt M, Rieger E, Soyer HP, Kerl H. *bcl-2* protein expression and correlation with the interchromosomal 14; 18 translocation in cutaneous lymphomas and pseudolymphomas. J Invest Dermatol 1994; 102: 231-5.
 15. Ladanyi M, Wang S, Niesvizky R, Feiner H, Michaeli J. Proto-oncogene analysis in multiple myeloma. Am J Pathol 1992; 141: 949-53.
 16. 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.
 17. Charlotte F, L'Herminé A, Martin N, et al. Immunohistochemical detection of *bcl-2* protein in normal and pathological human liver. Am J Pathol 1994; 144: 460-5.
 18. Kouvidou Ch, Kanavaros P, Papaioannou D, et al. Expression of *bcl-2* and p53 proteins in nasopharyngeal carcinoma. Absence of correlation with the presence of EBV encoded EBER1-2 transcripts and latent membrane protein-1. J Clin Pathol: Mol Pathol 1995; 48: M17-M22.
 19. Pammer J, Horvat R, Weninger W, Ulrich W. Expression of *bcl-2* in salivary glands and salivary gland adenoma. Path Res Pract 1995; 191: 35-41.
 20. 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 oestrogen receptor status. Virchows Archiv 1994; 424: 47-51.
 21. 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.
 22. Clark WH, Elder DE, Guerry D, Epstein MN, Greene MH, van Horn M. A study of tumor progression: The precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. Hum Pathol 1984; 15: 1147-65.
 23. Cristofolini M, Boi S, Girlando S, et al. p53 protein expression in nevi and melanoma. Arch Dermatol 1993; 129: 739-43.
 24. Stretch JR, Gatter KC, Ralfkiaer E, Lane DP, Harris AL. Expression of mutant p53 in melanoma. Cancer Res 1991; 51: 5976-9.
 25. Akslen LA, Mørkve O. Expression of p53 protein in cutaneous melanoma. Br J Cancer 1992; 52: 13-6.
 26. Barnhill RL, Castresana JS, Rubio MP, et al. p53 expression in cutaneous malignant melanoma: An immunohistochemical study of 87 cases of primary, recurrent and metastatic melanoma. Mod Pathol 1994; 7: 533-5.
 27. Lassam NJ, From L, Kahn HJ. Overexpression of p53 is a late event in the development of malignant melanoma. Cancer Res 1993; 53: 2235-8.
 28. Ramsay JA, From L, Kahn HJ. *bcl-2* protein expression in melanocytic neoplasms of the skin. Mod Pathol 1995; 8: 150-4.
 29. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. Nature 1989; 342: 705-7.
 30. Potter PL, Gown AM, Kramp SG, Coltrera MD. Widespread p53 overexpression in human malignant tumors. An immunohistochemical study using methacarn-fixed, embedded tissue. Am J Pathol 1992; 140: 145-53.
 31. LU QL, Poulson R, Wong L, Hanby AM. *bcl-2* expression in adult and embryonic non-hematopoietic tissues. J Pathol 1993; 169: 431-7.
 32. LeBrun DP, Warnke RA, Cleary ML. Expression of *bcl-2* in fetal tissues suggests a role in morphogenesis.

- Am J Pathol 1993; 142: 743-53.
33. 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.
 34. Smoller BR, van De Rijn M, Lebrun D, Warnke RA. *bcl-2* expression reliably distinguishes trichoepitheliomas from basal cell carcinomas *Br J Dermatol* 1994; 131: 28-31.
 35. McGregor JM, YU CC-W, Dublin EA, Barnes DM, Levison DA, Macdonald DM. p53 immunoreactivity in human malignant melanoma and dysplastic nevi. *Br J Dermatol* 1993; 128: 606-11.
 36. Akslen LA. P53 immunostaining in melanocytic lesions: *Eur J Cancer* 1993; 29: 652-3.
 37. Cerroni L, Soyer HP, Kerl H. *bcl-2* protein expression in cutaneous malignant melanoma and benign melanocytic nevi. *Am J Pathol* 1995; 17: 7-11.
 38. Morales-Dueret CRJ, van de Rijn M, LeBrun D, Smoller BR. *bcl-2* expression in congenital melanocytic nevi(CMN). *J Cutan Pathol* 1993; 20: 558.
 39. Pezzella F, Morrison H, Jones M, et al. Immunohistochemical detection of p53 and *bcl-2* protein in non-Hodgkin's lymphoma. *Histopathology* 1993; 22: 39-44.
-