

비소세포성 폐암에서 *p53*과 *nm23* 단백질의 발현

가톨릭대학교 의과대학 임상병리학교실

권 미 선 · 김 원 일 · 이 교 영
김 영 신 · 강 창 석 · 심 상 인

Expression of *p53* and *nm23* Proteins in Non-Small Cell Lung Cancer

Miseon Kwon, M.D., Won Il Kim, M.D., Kyo Young Lee, M.D.
Young Shin Kim, M.D., Chang Suk Kang, M.D.
and Sang In Shim, M.D.

Department of Clinical Pathology, Catholic University Medical College

To elucidate the role of *p53* and *nm23* in the development, progression, and metastasis of non-small cell lung cancer, we studied 91 paraffin sections of the primary non-small-cell lung cancers and the 34 paraffin sections of their metastatic lymph nodes using the immunohistochemical method. The results are as follows: 1) The incidence of *p53* protein expression was positively correlated with the staging of lung cancers ($p < 0.025$). 2) The incidence of *p53* protein expression was higher in the lung cancers with lymph node metastasis than in those without lymph node metastasis ($p = 0.009$). 3) The incidence of *nm23* protein expression was lower in the adenocarcinomas than in the squamous cell carcinomas ($p = 0.032$). 4) The incidence of *nm23* protein expression was lower in the lung cancers with lymph node metastasis than in those without lymph node metastasis ($p = 0.026$). The expression of *nm23* protein between the primary lung cancers and corresponding metastatic lymph nodes showed positive correlation (Kendall's Tau-b correlation coefficient=0.47140, $p = 0.0068$). 5) The expression of *p53* was not correlated with the expression of *nm23* protein (Kendall's Tau-b correlation coefficient=0.11387, $p = 0.2800$). The above results suggest that an overexpression of *p53* protein and a downregulation of *nm23* protein are associated with tumor progression and metastasis in non-small-cell lung cancer. (Korean J Pathol 1997; 31: 499 ~ 507)

Key Words: Non-small-cell lung cancer, *p53*, *nm23*

접 수: 1996년 12월 17일, 게재승인: 1997년 3월 14일

주 소: 서울시 영등포구 여의도동 62, 우편번호 150-010

가톨릭의대 성모병원 임상병리과, 권미선

*본 논문은 가톨릭중앙의료원 학술연구조성비로 이루어졌음.

서 론

원발성 폐암은 주로 50에서 80세의 성인에서 나타나며 85%는 이 종양으로 사망하게 되는, 가장 흔한 암사망의 원인으로 미국의 경우 암사망의 약 1/4을 차지하는 악성 종양이다¹⁻³. 폐암 발암에는 흡연이 가장 중요한 원인이고 이외에 라돈 노출과 수동 흡연 등이 있지만² 폐암의 분자학적 발생 기전은 아직 완전히 밝혀지지 않았으나 다른 종양에서와 마찬가지로 이런 원인 인자들이 종양억제 유전자의 불활성화, 발암유전자의 활성화 및 고사(apoptosis) 조절 유전자 등의 변화를 일으켜 세포 변형과 자발적으로 억제되지 않는 세포 성장을 일으키는 다단계 과정으로 여겨지고 있다³.

여러 암의 발생 과정 연구에서 염색체 17p13.1에 위치하는 *p53* 종양억제 유전자의 돌연변이는 현재 인간 종양에서 가장 흔히 나타나는 유전적 변화로 폐암에서도 주요한 암억제 유전자로 여겨지고 있다³⁻⁷. *p53* 유전자 산물인 *p53* 단백질은 53 kd의 핵단백질로서 simian virus 40(SV40)의 large T항원과 결합한 상태로 발견되었다⁸. 야생형(정상) *p53* 단백질은 반감기가 20분 정도이나 *p53* 유전자에 돌연변이가 일어나면 정상 기능을 소실하면서, *p53* 단백질은 반감기가 수시간 정도로 길어져 핵에 축적되므로 면역조직화학염색법으로 검출할 수 있게 된다^{2,3}. *p53* 유전자에 돌연변이가 일어나면 정상 기능이 소실되면서 DNA 손상이 생겨도 복구를 하지 않고 복제를 해서 다른 돌연변이가 더 쉽게 일어나게 해 결국 악성 변화를 하게 한다. *p53*은 어떤 돌연변이 형태에서는 정상 기능을 소실할 뿐만 아니라 정상 *p53* 단백질과 결합해서 이를 불활성화하는 종양 유전자로 작용하기도 한다¹. 그러나 아직까지 종양의 진행 과정에서 *p53*의 역할은 완전히 밝혀지진 않았다.

전이 억제 유전자로 알려진 *nm23* 유전자는 1988년 Steeg 등⁹이 murine K-1735 흑색종 세포주가 상당히 낮은 전이력을 가질 때 *nm23* RNA의 발현이 높고, 높은 전이능력을 가질 때 1/10로 감소한다는 것을 밝히면서 처음 알려졌다. *nm23* 유전자는 17q21.3-22에 위치하고 *nm23-H1*과 *nm23-H2* 유전자로 구성되는데 이들은 18 kb 떨어져서 각각 18.5와 17 kD 단백질을 합성한다^{10,11}. *nm23-H1*과 *nm23-H2* 단백질은 주로 세포질에 위치하지만 핵과 핵막에서도 존재한다¹⁰. 면역조직화학염색에서 오히려 정상 조직이나 양성 병변에서 그 발현율이 높을 수 있어 주변

의 비종양성 조직과 강도 비교를 하여 이와 같거나 더 강하게 염색될 때를 양성으로 판독하는 경우가 많았다¹²⁻¹⁴. *nm23* 유전자는 조직에 따라 다르게 전이 억제 인자로 작용해 유방암에서는 전이 억제인자로 작용하지만 대장암에서는 전이 억제인자로 규명되지 않았고¹⁵ 소아기 신경모세포종에서는 과다 발현되기도 하였다¹⁶. 이외 난소, 갑상선, 전립선, 간, 위, 신장 등의 장기의 암종에서도 *nm23* 이상에 대한 연구가 계속 이루어지고 있다¹⁷⁻²². *nm23*에 대한 초기 연구들이 세포주를 중심으로 이루어졌고 이들에서는 전이 억제 인자로서의 역할이 증명된 반면 인체 암종에 대한 직접적인 연구에서는 서로 상이한 연구 결과를 보여 *nm23*이 종양의 발생, 성장, 침윤, 전이 어느 단계에 작용하는지 명확하지 않다.

*p53*의 과다 발현과 *nm23-H1*의 하향조절이 종양의 진행과 림프절 전이에 관여할 것이라는 것이 위암에서도 보고되어 있으나²³, 폐암에서 *p53*과 *nm23* 유전자의 상호관계에 대한 연구는 이루어져 있지 않았으며 또한 임상적 병리학적 예후인자들과의 관련성이 정확히 밝혀지지 않았다. 이에 저자들은 면역조직화학염색으로 비소세포성 폐암에서 17번 염색체에 위치하는 *p53*과 *nm23* 유전자의 단백질 발현 정도를 환자의 나이, 성별, 임상 병기와 종양의 크기, 형태, 분화도, 림프절 전이와의 상관관계를 알아보고 원발성 병변과 림프절 전이 병변에서 이들 유전자 단백질들의 발현 양상에 차이가 있는지 관찰하고 이들 두 유전자 단백질 발현이 서로 상관관계가 있는지 알아보려고 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

가톨릭대학교 의과대학 부속 성모병원에서 1988년 1월부터 1996년 2월까지 개흉 생검이나 수술을 시행하여 원발성으로 폐의 비소세포암, 특히 선암종과 편평세포암종으로 진단된 조직중 파라핀 포매 조직 상태가 양호한 것만을 대상으로 하였다. 또한 수술전에 방사선 치료나 화학요법을 받은 경우는 제외해서 이들에 의해 DNA를 손상시키는 경우도 배제하였다. 각각의 진단을 대표할 수 있는 폐의 파라핀 포매조직 91예를 실험 대상으로 하였으며 림프절 전이가 있는 37예 중 파라핀 포매조직을 얻을 수 있는 34예를 대상으로 하였다. 대조군으로 폐의 파라핀 포매조직 91예와 림프절 파라핀 포매조직 34예에서 모두 종양 조직 주변의 정상조직을 이용

하였다.

2. 방법

1) **임상 양상 및 병리조직학적 분류:** 비소세포암 환자 91명에서 연령, 성별, 임상 병기, 종양의 크기, 조직학적 형태 및 조직학적 분화도를 각각 재검토 하였다. 병기는 TNM에 기초를 둔 1986년에 Mountain이 제안한 병기결정체계를 적용하였다. 종양의 크기는 91예의 평균인 4.72 cm를 기준으로 큰 형과 작은 형으로 나누었다. 폐암의 조직학적 형태는 세계 보건 기구 조직 분류 체계를 사용했고, 분화도는 고분화형, 중등도 분화형, 그리고 저분화형의 3형으로 나누었다.

2) **p53과 nm23 단백질의 면역조직화학 염색:** 91예의 폐와 34예의 림프절 파라핀 포매조직으로부터 5 μ m 두께의 연속 절편 2 매씩을 얻고 통상의 방법에 따라 탈파라핀한 후 0.3% 과산화수소수로 처리하였다. 차단 항체로 30분간 반응시킨 후 조직 절편 2매에 각각 야생형과 돌연변이형 p53 항원과 특이 반응이 있는 p53(mouse anti-p53, Zymed laboratories) 단일클론 일차 항체와 nm23-H1(mouse anti-nm23-H1 antibody, Santa Cruz biotechnology, Inc., Santa Cruz, California, U.S.A.) 단일클론 일차 항체를 항체 희석액으로 1 : 50으로 희석한 후 p53은 실온에서 60분, nm23은 45°C에서 15분간 작용시켰다. Streptavidin HRP detection system(Research Genetics)를 이용하여 통상의 avidin-biotin complex(ABC)법에 따라 진행하였고 헤마톡실린으로 대조 염색을 하였다.

3) **염색의 평가:** p53 단백질의 경우 핵에 염색되는 것만 양성으로 간주하고 세포질에 염색되는 것은 음성으로 처리하였다. nm23 단백질의 경우에는 주변의 비종양성 조직과 유사하거나 보다 강하게 세포질에 염색되는 경우만 양성으로 보고 주변의 비종양성 조직보다 약하게 염색되는 경우는 음성으로 판독하였다.

4. 통계적 분석

(1) 임상 양상, 조직학적 분류와 nm23, p53의 단백질 발현율은 카이제곱 검정법으로 비교하였고 발현율의 증가 추세는 Bartholomew test로 검정하였다. 통계적 검정의 유의수준은 5%로 하였다.

(2) 폐에서 p53과 nm23 단백질 발현간의 연관성과 폐와 림프절에서 p53과 nm23 단백질 각각의 발현 양상의 연관성은 Kendall의 Tau-b 연관계수로 비교하였다.

결 과

1. 일반적 특징

대상 환자 91예에서 연령은 38세에서 84세로 평균 연령은 60.68(\pm 9.31)세였다. 성별로는 남자가 70예(76.92%)이었고 여자가 21예(23.07%)였다. 임상 병기를 보면 I기가 41명(45.05%), II기가 21명(23.08%), IIIA기가 16명(17.58%), IIIB기가 4명(4.39%), IV기가 9명(9.89%)이었다. 종양의 크기는 91예의 평균인 4.72 cm를 기준으로 큰 형이 40예(43.96%)였고 작은 형은 51예(56.04%)였다. 편평세포암종이 48예(52.75%)였고 선암종이 43예(47.25%)였다. 고분화 형이 11예(12.09%), 중등도 분화형이 69예(75.82%), 저분화형이 11예(12.09%)였다.

2. p53 단백질 발현 빈도(Table 1)

91예의 폐암 조직에서 44예(48.35%)에서 양성을 보였고(Fig. 1a), 34예의 림프절 전이 병변 조직에서 17예(50.00%)에서 양성을 보였다(Fig. 1b). 연령($p=0.454$), 성별($p=0.939$), 종양의 크기($p=0.671$)에 따른 발현을 차이는 없었다. p53 단백질은 정상 조직에서는 음성이었다.

1) **임상 병기에 따른 p53 단백질 발현:** I기 41예 중 14예(34.15%), II기 21예 중 14예(66.67%), III기 20예 중 9예(45.00%), IV기 9예 중 7예(77.78%)에서 p53 단백질 발현을 보여 임상 병기가 높아질수록 p53 단백질 발현율이 높았다($p<0.025$).

2) **조직학적 형태에 따른 p53 단백질 발현:** 선암종 43예 중 18예(41.86%)와 편평세포암종 48예 중 26예(54.17%)에서 p53 단백질 발현을 보여 조직학적 형태에 따른 발현을 차이는 없었다($p=0.241$).

3) **조직학적 분화도에 따른 p53 단백질 발현:** 고분화형 11예 중 4예(36.36%), 중등도 분화형 69예 중 33예(47.83%), 그리고 저분화형 11예 중 7예(63.64%)에서 p53 단백질 발현을 보여 분화가 나뉠수록 p53 단백질 발현율이 높은 경향이 있었으나 통계적으로 유의한 수준은 아니었다($p=0.434$).

4) **림프절 전이에 따른 p53 단백질 발현:** 91예의 폐암 조직에서 림프절에 전이를 보였던 37예 중 24예(64.86%)와 림프절 전이가 없었던 54예 중 20예(37.04%)의 원발성 종양에서 p53 단백질 발현을 보여 림프절 전이가 있을수록 p53 단백질 발현율은 높았다($p=0.009$). 폐의 원발성 병변과 그 병변의 림프절 전이 병변에서 p53 단백질 발현 양상은 서로

Table 1. Relationship between expression of *p53* and *nm23* proteins and clinicopathologic parameters in non-small cell lung carcinoma

Parameters	<i>p53</i> reactivity		<i>nm23</i> reactivity	
	<i>p53</i> +(%)	p value	<i>nm23</i> +(%)	p value
Age				
~49(n=11)	4(36.36)	0.454	6(54.55)	0.074
50~59(n=29)	16(55.17)		20(68.97)	
60~69(n=34)	18(52.94)		26(76.47)	
70~ (n=17)	6(35.29)		7(41.18)	
Sex				
female(n=21)	10(47.62)	0.939	13(61.90)	0.748
male(n=70)	34(48.57)		46(65.71)	
Stage				
I(n=41)	14(34.15)	<0.025	29(70.73)	0.453
II(n=21)	14(66.67)		11(52.38)	
III(n=20)	9(45.00)		14(70.00)	
IV(n=9)	7(77.78)		5(55.56)	
Tumor size				
small(n=51)	18(35.29)	0.671	34(66.67)	0.933
large(n=40)	25(62.50)		27(67.50)	
Cell type				
adenocarcinoma(n=43)	18(41.86)	0.241	23(53.49)	0.032
squamous cell ca.(n=48)	26(54.17)		36(75.00)	
Differentiation				
well(n=11)	4(36.36)	0.434	5(45.45)	0.223
moderate(n=69)	33(47.83)		48(69.57)	
poor(n=11)	7(63.64)		6(54.55)	
Lymph node involvement				
presence(n=37)	24(64.86)	0.009	19(51.35)	0.026
absence(n=54)	20(37.04)		40(74.07)	
No. of cases(n=91)	44(48.35)		59(64.84)	

일치하는 경향을 보였지만 통계적으로 유의하지는 않았다(Kendall의 Tau-b 연관계수=0.31435, $p=0.0710$).

3. *nm23* 단백질 발현 빈도(Table 1)

91예의 폐암 조직에서 59예(64.84%)에서 양성을 보였고(Fig. 2a), 34예의 림프절 전이조직에서 18예(52.94%)에서 양성을 보였다(Fig. 2b). 연령($p=0.074$), 성별($p=0.748$), 종양의 크기($p=0.933$)에 따른 발현을

차이는 없었다.

1) 임상 병기에 따른 *nm23* 단백질 발현: I기 41예 중 29예(70.73%), II기 21예 중 11예(52.38%), III기 20예 중 14예(70.00%), IV기 9예 중 5예(55.56%)에서 *nm23* 단백질 발현을 보여 임상 병기에 따른 *nm23* 단백질 발현을 차이는 없었다($p=0.453$).

2) 조직학적 형태에 따른 *nm23* 단백질 발현: 선암 중 43예 중 23예(53.49%)와 편평세포암종 48예 중

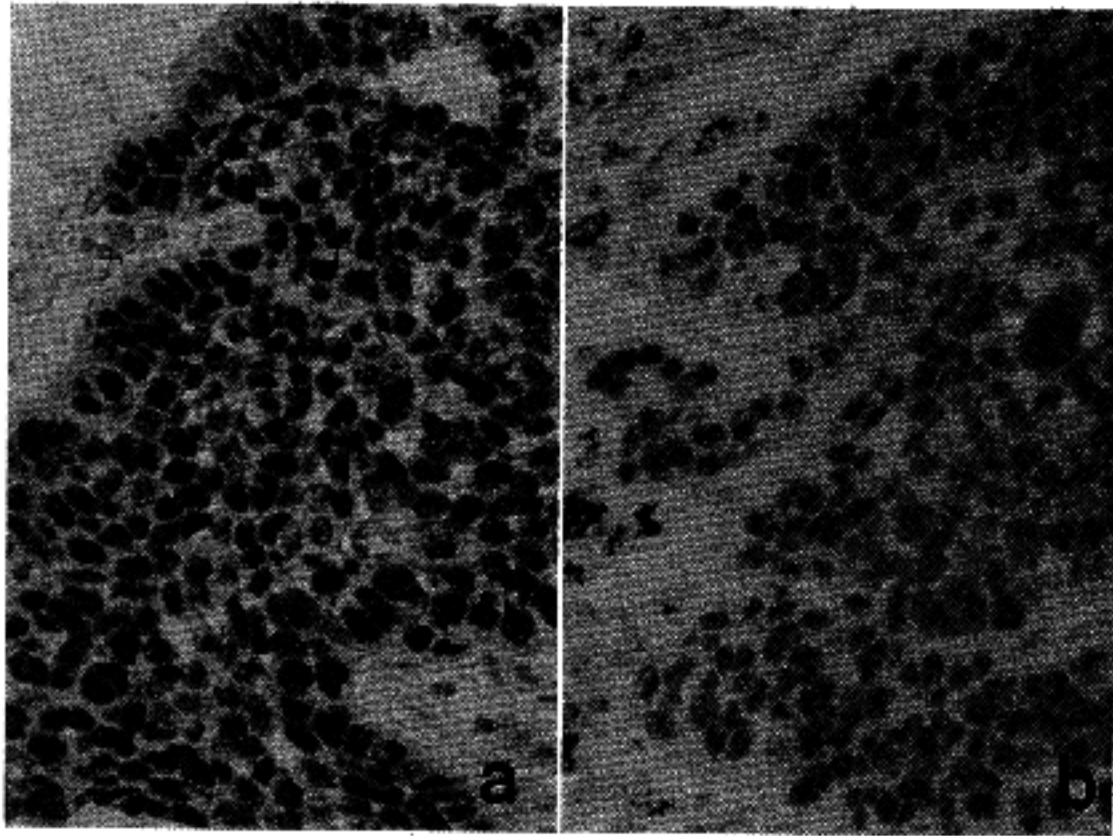


Fig. 1. Nuclear staining of tumor cells for p53 protein in the lung(a) and the lymph node(b).

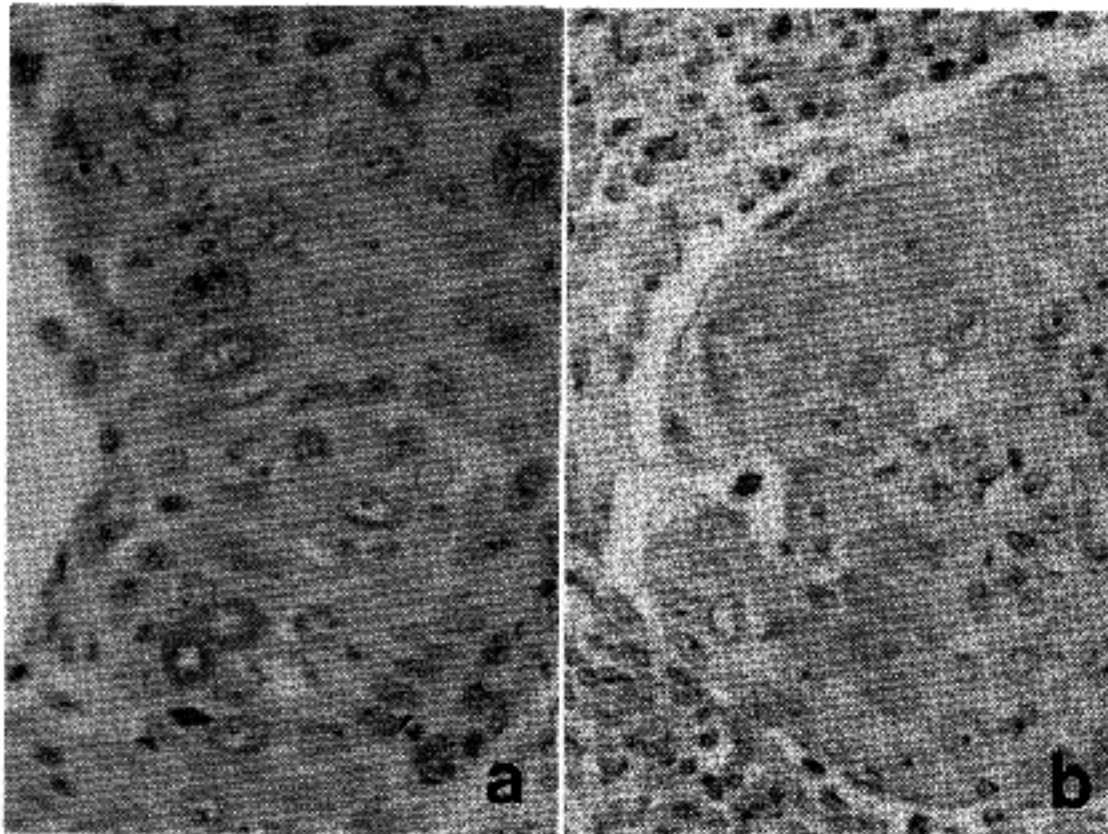


Fig. 2. Cytoplasmic staining of tumor cells for nm23 protein in the lung(a) and the lymph node(b).

36예(75.00%)에서 nm23 단백질 발현을 보며 선암종이 편평세포암종보다 낮은 발현율을 보였다($p=0.032$).

3) 조직학적 분화도에 따른 nm23 단백질 발현: 고분화형 11예 중 5예(45.45%), 중등도 분화형 69예 중 48예(69.57%), 그리고 저분화형 11예 중 6예(54.55%)에서 nm23 단백질 발현을 보며 조직학적 분화도에 따른 nm23 단백질 발현을 차이는 없었다($p=0.223$).

4) 림프절 전이에 따른 nm23 단백질 발현: 91예의 폐암 조직에서 림프절 전이를 보였던 37예 중 19예(51.35%)와 림프절 전이가 없었던 54예 중 40예(74.07%)에서 nm23 단백질 발현을 보며 림프절 전이가 있을수록 nm23 단백질 발현율은 낮았다($p=0.026$). 폐의 원발성 병변과 그 병변의 림프절 전이 병변에서 nm23 단백질 발현 양상은 서로 일치하는 경향을 보

Table 2. Relationship between *p53* and *nm23* proteins in non-small cell lung cancer

<i>p53</i> reactivity	<i>nm23</i> reactivity	
	<i>nm23</i> +	<i>nm23</i> -
<i>p53</i> +	31(34.07%)	13(14.29%)
<i>p53</i> -	28(30.77%)	19(20.88%)

었다(Kendall의 Tau-b 연관계수=0.47140, $p=0.0068$).

4. *p53*과 *nm23* 단백질 발현간의 상관성(Table 2)

91예의 폐암종에서 *p53*과 *nm23* 모두 양성인 31예(34.07%), *p53* 양성인면서 *nm23* 음성은 13예(14.29%), *p53* 음성인면서 *nm23* 양성은 28예(30.77%), 그리고 *p53*과 *nm23* 모두 음성은 19예(20.88%)로 *p53*과 *nm23* 단백질 발현 양상에 어떤 연관성도 관찰되지 않았다(Kendall의 Tau-b 연관계수=0.11387, $p=0.2800$).

5. 종양의 재발, 환자의 생존과 *p53*, *nm23* 단백질 발현간의 상관성은 환자의 추적 관찰이 가능했던 증례가 매우 적어서 시행하지 못하였다.

고 찰

p53 종양억제 유전자의 돌연변이는 현재 인간 종양에서 가장 흔히 나타나는 유전적 변화로 뇌, 갑상선, 유방, 식도, 위, 대장, 간, 자궁 내막, 난소, 전립선, 방광, 골 및 연부조직 등에 발생한 암종에서도 *p53* 유전자의 돌연변이가 빈번히 관찰된다^{6,23-24}. *p53* 유전자의 돌연변이는 과오돌연변이, nonsense 돌연변이, 결손, 삽입, splicing 영역에서의 돌연변이로 구성되는데 이 중 과오돌연변이가 72% 정도 차지한다². 야생형 *p53* 단백질은 세포주기 조절에 관여하는 393개의 아미노산 핵 인단백질로 *p53* 기능이 소실되면 시험관 내에서(*in vitro*)는 세포 변형과 연관되고 생체 내에서(*in vivo*)는 종양 발생과 관계된다. *p53* 기능이 어떻게 정상적으로 유지되고 종양형성에 영향을 미치는가에 대한 분자학적 기전은 아직 잘 알려져 있지는 않다²⁵.

세포질 내 *p53* 단백질 염색은 예후가 나쁜 소세포성 폐암에서 가장 흔하고 세포질 내 *p53* 염색의 존재는 비정상적인 형태의 *p53*이 존재한다는 것을 가리킨다는 보고도 있지만⁵ 거의 모든 보고에서 핵 내의 염색만 양성으로 간주하였다. *p53* 유전자의 안정성을 증가시키는 다른 분자적 변화가 생기면 양

성소견을 보일 수 있고^{6,26} 또한 정지유전부호를 유발하는 nonsense 점돌연변이로 인하여 돌연변이 *p53* 단백질의 핵내 축적이 없거나 유전자 소실로 인하여 위음성이 있을 수 있지만^{17,27} 대다수에서는 면역조직화학염색법에서 *p53* 단백질에 양성을 보인다는 것은 *p53* 유전자의 돌연변이를 의미해 면역조직화학염색으로 *p53* 유전자의 변화를 검출할 수 있다. 폐암세포주에서 exon 5에서 8 사이의 위치에서의 과오돌연변이를 보이는 경우 면역조직화학염색상 *p53* 단백질 발현이 높았지만 과오돌연변이 이외 다른 돌연변이에서는 *p53*의 표현이 높지 않았다는 보고도 있어²⁸ 면역조직화학염색법으로도 분자적 형태도 짐작할 수 있음을 나타낸다².

흡연과 *p53* 돌연변이간에 상관관계가 있다는 보고도 있고^{3,24,29} 이와 상반된 보고도 있어³⁰ 흡연과 *p53* 돌연변이와의 상관관계는 아직 잘 밝혀지지 않았다. 흡연이 폐암 환자에서 *p53* 돌연변이 발생을 증가시키거나 면역조직화학염색에서 *p53* 단백질 검출을 증가시키는 것처럼 보이지만 여기에 대한 연구는 더 필요하다. 본 연구에서는 흡연의 과거력을 조사할 수 있는 증례가 24예였고 이 중에서 9예에서 *p53* 단백질에 양성을 보였는데 증례가 적어서 이에 대한 해석은 하지 않았다.

p53 유전자 돌연변이는 선암종보다 편평세포암종에서 높게 표현된다는 보고가 있는데⁵, 본 연구에서는 선암종보다 편평세포암종이 높게 표현되었지만 유의한 차이는 아니었다. 조직학적 분화 정도와 *p53* 단백질의 과다 발현과 관계가 있어 분화도가 좋을 때 *p53* 단백질 발현 빈도는 적었다는 보고도 있지만²⁹ 이와 다른 연구 결과도 보여^{23,24}, 분화도와 *p53* 단백질 발현 빈도 사이의 상관 관계는 아직 잘 밝혀지지 않았다. 본 연구에서는 분화가 나쁠수록 *p53* 단백질 발현 빈도는 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다.

p53 유전자의 돌연변이가 발암과정 중 정확히 어느 시기에 나타나는지 아직 규명되지는 않았다. 폐의 전종양 병변의 연구에서도 *p53* 유전자의 돌연변이가 보고되고³¹⁻³⁴, *p53* 단백질의 돌연변이는 폐의 편평세포암종에서 침습 시작 전에 일어날 수 있다는 보고가 있고³, *p53* 유전자의 돌연변이가 일어나면 이미 발암성 돌연변이가 일어난 세포들의 증식을 막지 못하고 이들에게 더욱 악성 변화를 가능하게 하고, *p53* 단백질 발현이 진행된 병기와 관계된다는 보고로 보아^{3,35} *p53* 단백질의 과다발현은 상당히 조기에 나타나 진행 과정 동안 증가할 것으로

보인다. 본 연구에서도 병기가 진행함에 따라서 p53 단백질 발현이 점차 증가하였고 림프절 전이가 있는 병변일수록 p53 단백질 발현 빈도는 높아서 이를 뒷바침하고 있다.

폐암, 후두암, 유방암 등에서 원발성 병변과 전이성 병변에서 p53 단백질 발현율은 일치했다고 보고하였는데^{3,36} 본 연구에서는 폐의 원발성 병변과 림프절 전이 병변에서 p53 단백질 발현 양상은 일치하는 경향을 보였지만 통계적으로 유의한 수준은 아니었다.

nm23 유전자는 nm23-H1과 nm23-H2로 구성되고 이들은 각각 NDP kinase A와 B를 coding한다. nm23-H1 유전자는 종양세포에서 전이 억제인자로 작용하는 것으로 보이고 nm23-H2는 c-myc 전사인자인 PuF와 동일하다는 보고가 있다³⁷. 종양 세포주 실험에서 nm23이 beta-tubulin과 복합체를 형성해서 세포 분화에 참여한다는 보고도 있고³⁸ developing mouse에서 다양한 상피조직이 기능적 분화를 보일 때 nm23 단백질이 증가했다는 보고도 있어³⁹ 정확한 기능은 모르지만 세포 증식과 발달에 역할을 하는 것으로 보인다. NDP kinase의 감소가 유방암종과 간세포암종에서 전이력을 증가시킨다는 보고가 있지만⁴⁰ NDP kinase가 아니라 nm23의 serine 인산화가 종양의 전이력을 감소시킨다는 보고도 있고⁴¹, 대장암세포에서 nm23 mRNA 수준이 감소하면 세포들의 운동성이 증가한다는 보고는 있지만⁴² nm23이 어떤 기전을 통하여 전이 억제 기능을 수행하는가에 대해서는 아직 규명되지 않았다. nm23 단백질이 감소되면 예후가 불량할 것이라는 많은 보고가 있지만^{10,13,43}, 이와 상반되는 의견도 있어⁴⁴ nm23의 기능과 역할에 대한 연구가 더 필요하다.

nm23의 역할이 종양의 발생, 성장, 침윤 및 전이의 어느 단계에서 작용하는지 명확하지 않지만, nm23의 전이 억제 인자로서의 역할이 murine k-1735 melanomas, N-nitrosomethylurea induced mammary tumors 및 rat embryo fibroblast에서 ras와 adenovirus 2 E1A의 onco-transfection 등의 실험에서 증명되기 시작했고¹⁰ 유방암종에서도 잘 관찰되어¹, nm23은 종양 성장의 말기 즉 전이 초기에 관여할 것이라 추측하고 있다⁴⁵. 본 연구에서 림프절 전이가 있을수록 nm23 단백질의 발현율은 낮아 nm23은 종양의 성장 말기 전이에 관여하는 여러 인자 중의 하나일 가능성을 제시하고 있다.

Okubo들¹⁹이 갑상선, 난소, 유방암종 등에서는 전이된 림프절에서 원발성 병변과 비교하여 nm23 단

백질 발현이 아주 미약했다고 보고했지만 본 연구에서는 폐의 원발성 병변과 그 병변의 림프절 전이 병변의 nm23 단백질 발현은 서로 일치하는 경향을 보여 전이 병변에서 nm23 단백질의 감소는 관찰할 수 없었다.

본 연구에서 폐암종의 p53과 nm23 단백질의 발현 양상은 어떤 연관성은 관찰되지 않았지만 이상의 결과를 종합하면 p53의 과다 발현과 nm23의 낮은 발현이 림프절 전이와 관계되어 종양 진행에 중요한 역할을 하리라 여겨진다.

결 론

비소세포성 폐암 91예를 대상으로 파라핀 포매 조직에서 p53 및 nm23 단백질을 이용한 면역조직화학적 염색을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다:

1) p53 단백질의 발현율은 임상 병기가 높아질수록 높아지는 경향을 보였고($p < 0.025$), 림프절 전이가 있는 원발성 폐암종일수록 p53 단백질의 발현율은 높았다($p = 0.009$). 폐의 원발성 병변과 그 림프절 전이 병변의 p53 단백질 발현 양상은 서로 일치하는 경향을 보였지만 통계적으로 유의한 수준은 아니었다(Kendall의 Tau-b 연관계수=0.31435, $p = 0.0710$).

2) nm23 단백질 발현은 선암종이 편평세포암종보다 낮은 발현율을 보였고($p = 0.032$), 림프절 전이가 있는 원발성 폐암종일수록 낮았다($p = 0.026$). 폐의 원발성 병변과 그 림프절 전이 병변에서 nm23 단백질 발현 양상은 서로 일치하는 경향을 보였다(Kendall의 Tau-b 연관계수=0.47140, $p = 0.0068$).

3) 91예의 폐암종에서 p53과 nm23 단백질 발현 양상에 어떤 연관성은 관찰되지 않았다(Kendall의 Tau-b 연관계수=0.11387, $p = 0.2800$).

본 연구에서 폐암종의 p53과 nm23 단백질의 발현 양상은 어떤 연관성은 관찰되지 않았지만 이상의 결과를 종합하면 p53의 과다 발현과 nm23의 낮은 발현이 림프절 전이와 관계되어 종양 진행에 중요한 역할을 하리라 여겨진다.

참 고 문 헌

1. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease. 4th. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994: 241-303.
2. Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA. The molecular basis of cancer. Philadelphia: WB Saunders,

- 1995; 317-39.
3. Colby TV, Koss MN, Travis WD. Tumors of the lower respiratory tract. 3rd. ed. Washington: AFIP, 1995: 31-117.
 4. McLaren R, Kuzu I, Dunnill M, Harris A, Lane D, Gatter KC. The relationship of *p53* immunostaining to survival in carcinoma of the lung. *Br J Cancer* 1992; 66: 735-8.
 5. 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.
 6. Lehman TA, Bennett WP, Metcalf RA et al. *p53* mutations, ras mutations, and *p53*-heat shock 70 protein complexes in human lung carcinoma cell lines. *Cancer Res* 1991; 51: 4090-6.
 7. Schlichtholz B, Tredaniel J, Lubin R, Zalcman G, Hirsch A, Soussi T. Analyses of *p53* antibodies in sera of patients with lung carcinoma define immunodominant regions in the *p53* protein. *Br J Cancer* 1994; 69: 809-16.
 8. Lane DP, Crawford LV. T-antigen is bound to a host protein in SV40 transformed cells. *Nature* 1979; 278: 261-3.
 9. Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L et al. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 200-4.
 10. Royds JA, Rees RC, Stephenson TJ. *nm23*-a metastasis suppressor gene? *J Pathol* 1994; 173: 211-2.
 11. Tokunaga Y, Urano T, Furukawa K, Kondo H, Kanematsu T, Shiku H. Reduced expression of *nm23H1*, but not of *nm23H2*, is concordant with the frequency of lymph node metastasis of human breast cancer. *Int J Cancer* 1993; 55: 66-71.
 12. 송상용, 지제근, 한세환, 최국진. 유방암의 *nm23* 단백질 발현 -면역조직화학적 연구-. *대한병리학회지*, 1995; 29: 469-77.
 13. Steeg PS, Bevilacqua G, Pozzatti R, Liotta LA, Sobel ME. Altered expression of *nm23*, a gene associated with low tumor metastatic potential, during adenovirus 2 Ela inhibition of experimental metastasis. *Cancer Res* 1988; 48: 6550-4.
 14. Yamaguchi A, Urano T, Goi T, Takeuchi K et al. Expression of human *nm23-H1* and *nm23-H2* proteins in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1994; 73: 2280-4.
 15. Myeroff LL, Markowitz SD. Increased *nm23-H1* and *nm23-H2* mRNA expression and absence of mutation in colon carcinomas of low and high metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 147-52.
 16. Leone A, Seeger RC, Hong CM et al. Evidence for *nm23* overexpression, DNA amplification and mutation in aggressive childhood neuroblastomas. *Oncogene* 1993; 8: 855-64.
 17. Leone A, McBride OW, Weston A et al. Somatic allelic deletion of *nm23* in human cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 2490-3.
 18. Kapitanovic S, Spaventi R, Vujsic S et al. *nm23-H1* gene expression in ovarian tumors-a potential tumor marker. *Anticancer Res* 1995; 15: 587-90.
 19. Okubo T, Inokuma S, Takeda S, Itoyama S, Kinoshita K, Sugawara I. Expression of *nm23-H1* gene product in thyroid, ovary, and breast cancers. *Cell Biophysics* 1995; 26: 205-13.
 20. Igawa M, Rukstalis DB, Tanabe T, Chodak GW. High levels of *nm23* expression are related to cell proliferation in human prostate cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 1313-18.
 21. Boix L, Bruix J, Campo E et al. *nm23-H1* expression and disease recurrence after surgical resection of small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1994; 107(2): 486-91.
 22. Kodera Y, Isobe K, Yamauchi M et al. Expression of *nm23-H1* RNA levels in human gastric cancer tissues. A negative correlation with nodal metastasis. *Cancer* 1994; 73: 259-65.
 23. 김덕환, 김운주, 양성은, 팽성숙, 장희진, 서정일, 박효숙. 위암에서 *p53*과 *nm23* 단백질의 면역조직화학적 연구. *대한병리학회지* 1996; 30: 587-94.
 24. 이상용, 정진숙, 홍숙희. 원발성 폐암에서 *p53* 압 억제유전자 단백질의 발현 양상. *대한병리학회지* 1996; 30: 218-27.
 25. Chang F, Syrjanen S, Syrjanen K. Implications of the *p53* tumor-suppressor gene in clinical oncology. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1009-22.
 26. Winford-Thomas D. *p53* in tumor pathology: can we trust immunocytochemistry? *J Pathol* 1992; 166: 329-30.
 27. Oliner JD, Kinzler KW, Meltzer PS, George DL, Vogelstein B. Amplification of a gene encoding a *p53*-associated protein in human sarcomas. *Nature* 1992; 358: 80-3.
 28. Bodner SM, Minna JD, Jensen SM et al. Expression of mutant *p53* proteins in lung cancer correlates with the class of *p53* gene mutation. *Oncogene* 1992; 7: 743-9.
 29. Westra WH, Offerhaus JA, Goodman SN et al. Overexpression of the *p53* tumor suppressor gene product in primary lung adenocarcinomas is associated with cigarette smoking. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 213-20.
 30. Chiba I, Takahashi T, Nau MM et al. Mutations in

- the *p53* gene are frequent in primary, resected non-small cell lung cancer. *Oncogene* 1990; 5: 1603-10.
31. Sundaresan V, Ganly P, Hasleton P et al. *p53* and chromosome 3 abnormalities, characteristic of malignant lung tumours, are detectable in preinvasive lesions of the bronchus. *Oncogene* 1992; 7: 1989-97.
 32. Sozzi G, Miozzo M, Donghi R et al. Deletion of 17p and *p53* mutations in preneoplastic lesions of the lung. *Cancer Res* 1992; 52: 6079-82.
 33. Bennett WP, Colby TV, Travis WD et al. *p53* protein accumulates frequently in early bronchial neoplasia. *Cancer Res* 1993; 53: 4817-22.
 34. Nuorva K, Soini Y, Kamel D et al. Concurrent *p53* expression in bronchial dysplasias and squamous cell lung carcinomas. *Am J Pathol* 1993; 142: 725-32.
 35. Brambilla E, Gazzeri S, Moro D et al. Immunohistochemical study of *p53* in human lung carcinomas. *Am J Pathol* 1993; 143: 199-210.
 36. Fontanini G, Vignati S, Bigini D et al. Human non-small cell lung cancer: *p53* protein accumulation is an early event and persists during metastatic progression. *J Pathol* 1994; 174: 23-31.
 37. Caligo MA, Cipollini G, Fiore L et al. *nm23* gene expression correlates with cell growth rate and S-phase. *Int J Cancer* 1995; 60: 837-42.
 38. Lombardi D, Sacchi A, D'Agostino G, Tibursi G. The association of the *nm23-H1* protein and beta-tubulin correlates with cell differentiation. *Exp Cell Res* 1995; 217: 267-71.
 39. Lakso M, Steeg PS, Westphal H. Embryonic expression of *nm23* during mouse organogenesis. *Cell growth and differen* 1992; 3: 873-9.
 40. Nakayama T, Ohtsuru A, Nakao K et al. Expression in human hepatocellular carcinoma of nucleoside diphosphate kinase, a homologue of the *nm23* gene product. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1349-54.
 41. MacDonald NJ, Rosa ADL, Benedict MA, Freije JMP, Krutsch H, Steeg PS. A serine phosphorylation of *nm23*, and not nucleoside phosphate kinase activity, correlates with suppression of tumor metastatic potential. *J Biol Chem* 1993; 268: 25780-9.
 42. Hsu S, Huang F, Ossowski L, Friedman E. Colon carcinoma cells with inactive *nm23* show increased motility and response to motility factors. *Carcinogenesis* 1995; 16: 2259-62.
 43. Campo E, Miquel R, Jares P et al. Prognostic significance of the loss of heterozygosity of *nm23-H1* and *p53* genes in human colorectal carcinomas. *Cancer* 1994; 73: 2913-21.
 44. Ozeki Y, Takishima K, Mamiya G. Immunohistochemical analysis of *nm23/NDP* kinase expression in human lung adenocarcinoma: Association with tumor progression in clara cell type. *Jpn J Cancer Res* 1994; 85: 840-6.
 45. Cohn KH, Wang FS, Desoto-LaPaix F et al. Association of *nm23-H1* allelic deletions with distant metastasis in colorectal carcinoma. *Lancet* 1991; 338: 722-4.
-