

## 다발성 암종에서 Microsatellite Instability의 빈도와 종양 유전자의 발현

광주기독병원 및 전남대학교 의과대학 병리학교실\*

김경수 · 최 찬\* · 박창수\* · 정상우\*

### Microsatellite Instability and the Expression of Tumor-associated Genes in Multiple Cancer

Kyung Soo Kim, M.D., Chan Choi, M.D.\*, Chang Soo Park, M.D.\*  
and Sang Woo Juhng, M.D.\*

Department of Anatomical Pathology, Kwangju Christian Hospital  
Department of Pathology, Chonnam University Medical School\*

Genetic changes associated with oncogenes or tumor suppressor genes are frequently observed in human cancers. These changes may be more frequent in multiple primary cancers than sporadic cancers. These experiments were designed in order to know the genetic changes using microsatellite PCR technique and the expression of tumor-associated genes by immunohistochemistry for *c-myc* and *p53* in 17 cases of multiple primary carcinomas. The microsatellite instability (MSI) were found in 8 of 17 cases (47.1%); six cases showed MSI in more than two microsatellite loci and two cases revealed MSI in one locus. MSI was found in 2 out of 7 patients (28.6%) of multiple primary carcinomas arising from the unrelated organs, and 6 out of 10 patients (60.0%) arising from the same or related organs. When each case of multiple primary carcinomas was examined, immunohistochemistry for *c-myc* was positive in 25 cases (71.4%) and *p53* was positive in 21 cases (60.0%) out of 35 cases. But there was no correlation between MSI and expression of tumor-associated genes. From the above the results, MSI is more important in carcinogenesis of multiple primary carcinomas arising from the same or related organs than those from unrelated organs. (*Korean J Pathol* 1997; 31: 617~627)

**Key Words:** Microsatellite instability, *c-myc*, *p53*, Multiple cancer

접 수: 1997년 2월 19일, 게재승인: 1997년 4월 17일

주 소: 광주시 서구 양림동 264 우편번호 502-040

광주기독병원 해부병리과, 김경수

\*본 논문은 1996년도 대한의사협회 기초의학 진흥기금 보조금의 일부지원으로 이루어졌음.

## 서 론

많은 인체의 종양이 종양 유전자와 관련하여 다 단계의 유전적인 변화가 축적되어 발생하는 것으로 알려져 있다. 한 개체에서 동시성 혹은 이시성 종양이 다발성으로 발생시 이러한 현상이 더욱 빈발할 것으로 생각되어 진다. 종양의 형성 과정에는 *sis*, *hst*, *erb-B*, *fms*, *ras*, *abl*, *myc* 등과 같은 종양 유전자와 *Rb*, *p53*, *APC*, *Wt-1*, *DCC*, *NF-1,2*, *VHL* 등의 암 억제 유전자의 돌연변이 혹은 대립유전자의 소실이 발생하여 종양이 생성되는 것으로 알려져 있다<sup>1</sup>. 이러한 유전자 뿐만 아니라 최근에는 유전성 비용종성 대장암(hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC)에서 높은 빈도로 검출되는 microsatellite instability (MSI)가 암발생의 한 원인으로 제시되고 있다<sup>2,3</sup>.

현재 다발성 원발성 악성 종양의 원인은 잘 밝혀져 있지 않은데 유전적 소인, 감수성의 차이, 성호르몬의 관여, 환경적 요인 등이 생각되어 진다<sup>4</sup>. 이러한 요인중에서 감수성의 차이를 일으키는 한 요인으로 MSI가 작용하여 다발성 암종을 발생할 수 있다.

Microsatellite는 simple sequence length polymorphism (SSLP) 또는 short tandem repeat polymorphism (STR)으로도 불리는 2개 내지 5개의 짧은 염기 배열이 반복되는 유전자의 조합으로 크기는 약 100 bp이고, 인간의 유전자에는 약 30,000개 정도가 존재하는 것으로 알려져 있다<sup>5,6</sup>. 인체의 유전자를 증폭시 다형성(polymorphism)이 관찰된다는 보고<sup>5</sup> 이후 이 분야에 대한 연구가 활발히 진행되어, MSI가 유전성 비용종성 대장암과 깊은 연관성이 있는 것으로 밝혀졌고, 그 원인으로 *hMSH2*나 *hMLH1*과 같은 mismatch repair gene defect에 의하여 복제 이상이 발생하는 것으로 알려졌다<sup>7</sup>. 그 후 MSI가 종양의 발생 원인이 되는 돌연변이의 표지자로서의 가능성과 함께 발암 초기에 외적 혹은 내적 인자에 의하여 replication errors(RER)가 발생하여 종양 유전자나 암 억제 유전자에 돌연변이를 일으켜 종양을 발생케 한다는 가설이 제시되기에 이르렀다<sup>8</sup>.

이에 저자는 다발성 암종에서 MSI의 빈도를 조사하여 복제 이상과의 관계를 구명하고 종양 유전자와 암 억제 유전자를 면역조직화학적 염색으로 검출하여 다발성 암종의 암 발생 기전을 구명하기 위하여 본 연구를 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

대상은 91년부터 96년까지 전남대학교 병원에서 종양 진단을 받은 환자중에서 다발성 암종증을 가지고, 조직학적으로 전이성 암종이 아니고, 파라핀 블록 보관 상태가 양호하고, 정상 조직을 포함하고 있는 종례 17예를 대상으로 하여 성별, 연령, 가족력, 원발 병소의 부위 등을 확인하였다(Table 1). 대상중 남자는 8명, 여자는 9명이고 진단 당시 평균 연령은 56.4세이었다.

### 2. Microsatellite instability

1) DNA 추출: 조직내 DNA 채취를 위하여 암조직 부위를 현미경하에서 검색하여 파라핀 포매피에서 이 부위만 취하여 이용하였다. 파라핀 포매피는 10  $\mu$ m 두께로 10회 박절하여 탈파라핀 과정을 거친 후, 여기에 190  $\mu$ l의 1 X standard sodium citrate plus 0.01M EDTA와 10  $\mu$ l의 20 % sodium dodecyl sulfate 용액으로 용해시킨 뒤 4 mg/ml의 proteinase K를 첨가하여 37°C에서 48시간 동안 반응시켜 단백 성분을 분해 시켰다. 그 후 PCI-9(25:24:1, phenol/chloroform/isoamyl alcohol 혼합 용액) 200  $\mu$ l를 첨가하여 3~5분간 흔들어 반응시킨 후 4°C에서 8,000 rpm으로 원심 분리하여 상층 액을 모았다. 다시 chloroform을 동량 첨가하여 반응시킨 뒤, 같은 조건하에 원심 분리하여 상층 액을 얻어냈다. 추출된 용액의 1/10 분량의 3M sodium acetate(pH 5.5)를 넣고 두 배의 냉동 보관한 무수 알코올을 첨가하여 DNA를 침전시킨 다음, 이를 70% 알코올로 세척한 뒤 말렸다. 이를 적당량(100~200  $\mu$ l)의 멸균 증류수에 녹여 분광광도계로 농도를 측정하였다.

2) PCR 증폭: Microsatellite instability를 검출하기 위하여 D1S104<sup>9</sup>, D2S71<sup>10</sup>, D2S119<sup>10</sup>, D3S1067<sup>11</sup>, D5S107<sup>12</sup>, D6S87<sup>13</sup>, D8S87<sup>14</sup>, D11S905<sup>10</sup>, D17S250<sup>15</sup>의 primer를 사용하였고, 한쪽 primer에는 [<sup>32</sup>P]ATP를 부착시켜 검출에 사용하였다. PCR 반응 혼합액은 10 mM Tris(pH 8.0), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>를 포함한 1X PCR buffer, 1  $\mu$ M primer, 50 ng template DNA, 0.5U Taq DNA polymerase, 200  $\mu$ M dNTP를 가하여 총 용적이 10  $\mu$ l가 되게 하였다. 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)은 각 표본에 대하여 32주기를 반복하였고, 모든 반응은 Thermal cycler(Perkin Elmer Cetus 480, USA)에서 시행되었다. 각 주기에서 변성 반응은 94°C에서 1분, 결합 반응

**Table 1.** Summary of clinical and pathologic features in multiple cancer patients

Case	Sex	Age	Family history	Site
H1	female	51	none	A descending colon(adenoca.) B thyroid(papillary ca.)
H2	female	40	none	A breast(infiltrating ductal ca.) B cervix(carcinoma in situ)
H3	male	50	none	A thyroid(papillary ca.) B mediastinum(squamous cell ca.)
H4	female	37	none	A breast(infiltrating ductal ca.) B ascending colon(mucinous ca.)
H5	female	63	none	A thyroid(papillary ca.) B stomach(adenoca.)
H6	male	58	none	A larynx(squamous cell ca.) B bile duct(adenoca.)
H7	female	44	none	A breast(infiltrating ductal ca.) B stomach(adenoca.)
S1	female	48	none	A cervix(adenoca.) B endometrium(adenoca.)
S2	female	80	none	A cervix(squamous cell ca.) B endometrium(adenoca.)
S3	male	64	none	A stomach(adenoca.) B stomach(adenoca.)
S4	male	73	none	A stomach(adenoca.) B stomach(adenoca.)
S5	male	61	none	A cecum(adenoca.) B stomach(adenoca.)
S6	female	54	none	A transverse colon(adenoca.) B stomach(adenoca.)
S7	female	67	none	A rectum(adenoca.) B stomach(adenoca.)
S8	male	66	none	A ectum(adenoca.) B stomach(adenoca.)
S9	male	33	Father gastric ca	A descending colon(adenoca.) B descending colon(adenoca.)
S10	male	70	none	A ascending colon(adenoca.) B ascending colon(adenoca.) C ascending colon(adenoca.)

H : patients in multiple primary cancer arising from unrelated organs

S : patients in multiple primary cancer arising from same or related organs

은 각각 53°C(D1S104, D2S71, D5S107, D8S87), 55°C (D2S119, D3S1067, D6S87, D17S250), 58°C(D11S905)에서 1분, 연장 반응은 72°C에서 1분으로 구성되었고, 마지막 주기의 연장 반응은 10분으로 연장하여 반응시켰다. 두 개 혹은 세 개의 종양 조직과 정상

조직의 PCR 산물을 7M urea가 첨가된 6% polyacrylamide gel 상에서 1~2시간 동안 56°C에서 전기영동시킨 후 12~16시간 동안 X-ray film에 감광시켜 현상하여 관찰하였다.

3) **Microsatellite instability 분석:** Microsatellite in-

stability는 정상 조직과 종양 조직을 비교하여 PCR 산물의 이형성이 관찰될 때를 양성으로 판정하였고, 정상 부분과 비교시 대립유전자의 소실시 이종접합성의 소실(loss of heterozygosity, LOH)로 판정하였다.

4) 면역조직화학적 염색: 10% 중성 완충 포르말린에 고정된 후 제작한 파라핀 포매괴를 3 µm 두께로 박절하여 Probe-On 슬라이드(Fisher Scientific, USA)에 부착시켜 건조시킨 다음 검색에 사용하였다. 일차항체는 *c-myc* 유전자 산물에 대한 항체(Novocastra, USA)와 wild형과 mutant형을 모두 검출할 수 있는 *p53* 유전자 산물에 대한 항체(Novocastra)를 1:50으로 희석하여 사용하였고 avidin-biotin complex(ABC)법으로 염색 하였다. *c-myc*은 종양세포의 세포질에서 염색되는 강도가 정상세포 보다 강한 경우를 양성으로 판정하였고, *p53*은 핵에서 염색되는 종양세포가 전체의 5% 이상인 경우를 양성으로 판정하였다. 음성대조는 일차 항체 대신 항체 희석 액을 이용하였다.

성 적

다발성 원발성 암종의 가장 호발 장기는 소화기계로서 13예(76.4%)이었으며, 다음은 갑상선 종양 3예(17.6%), 유방암 3예, 여성 생식기 종양 3예이었다.

Microsatellite instability는 전체 증례 17예 중 8예(47.1%)에서 관찰되었다. 특히 조직학적 기원에 근거하여 비연관 장기 군(H군)과 같은 장기나 연관 장

기에서 발생한 군(S군)으로 분류하여 관찰시, H군은 7예 중 2예(28.6%)이었고 S군은 10예 중 6예(60.0%)이었다(Fig. 1). 이 중에는 MSI의 빈도가 1개의 primer에서만 관찰된 예는 2예, 2개 이상의 primer에서 관찰된 예는 6예이었다. Microsatellite instability는 H5 증례에서 두 종양이 같은 모양의 전기영동상을 보였으나, 나머지 증례(H6, S3, S5, S6, S7, S10)들은

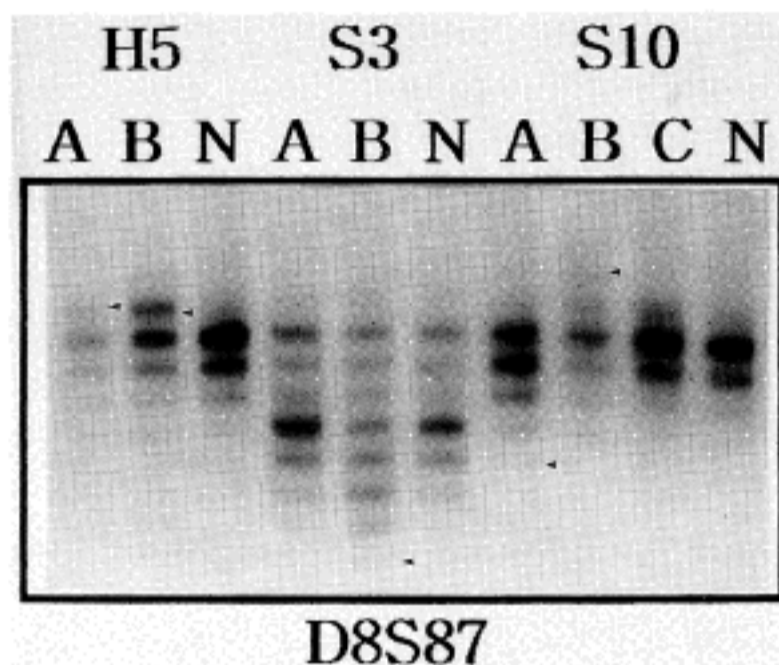


Fig. 1. One example of microsatellite instability in multiple primary carcinomas. Replication errors were detected in H5, S3 and S10 patient when D8S87 primer was used. A,B,C: each tumor N: normal tissue

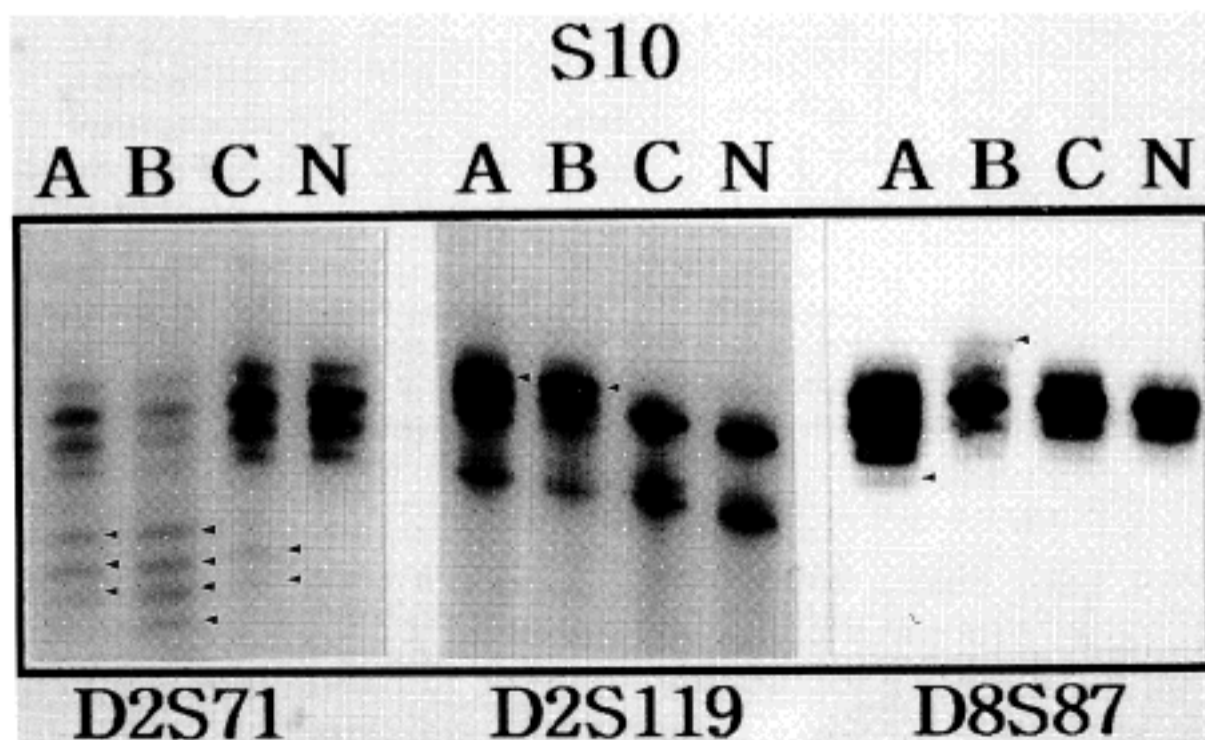


Fig. 2. Heterogenic pattern of microsatellite instability in multiple primary carcinoma of S10 patient.

Table 2. Results of microsatellite instability in 17 multiple cancer patients

Case	RER	Site	D1S104	D2S71	D2S119	D3S1076	D5S107	D6S87	D8S87	D11S905	D17S250
H1	-	colon	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		thyroid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H2	-	breast	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		cervix	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H3	-	thyroid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		mediastinum	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H4	-	breast	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		colon	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H5	+	thyroid	-	L	-	+	L	-	+	-	+
		stomach	-	L	-	+	L	-	+	-	+
H6	+	larynx	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		bile duct	+	-	-	-	-	-	-	-	-
H7	-	breast	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S1	-	cervix	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		endometrium	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S2	-	cervix	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		endometrium	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S3	+	stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		stomach	+	-	-	-	-	-	+	-	-
S4	-	stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S5	+	cecum	-	-	-	+	-	-	-	-	+
		stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	+
S6	+	colon	-	+	+	-	+	+	-	+	+
		stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S7	+	rectum	L	-	-	-	-	+	-	+	+
		stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S8	-	rectum	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S9	+	stomach	-	-	-	+	-	-	-	-	-
		stomach	-	-	-	+	-	-	-	-	-
S10	+	colon	+	+	+	-	-	-	+	-	-
		colon	+	+	+	+	-	-	+	-	+
		colon	+	+	-	-	-	-	-	-	-

H : patients in multiple primary cancer arising from unrelated organs  
 S : patients in multiple primary cancer arising from same or related organs  
 L : loss of heterozygosity

같은 증례의 각 종양들이 다른 모양을 나타내었다 (Fig. 2). MSI에 양성인 대장관 종양 중 3예(S5, S6, S10)가 우측 대장(비장굴쪽 상부)에 암종을 가지고 있었으며, H4에서는 LOH가 관찰되었다(Table 2).

면역조직화학 염색에서는 35개의 각종양 중 25개 종양(71.4%)에서 *c-myc*이 양성이었고, 21개 종양(60.0%)에서 *p53*이 양성이었다(Fig. 3, 4). 그리고 H군은 *c-myc*에 대하여 85.7%(12/14), *p53*에 대하여 57.1%(8/14)가



Fig. 3. Immunohistochemistry for *c-myc* in gastric adenocarcinoma 200X.

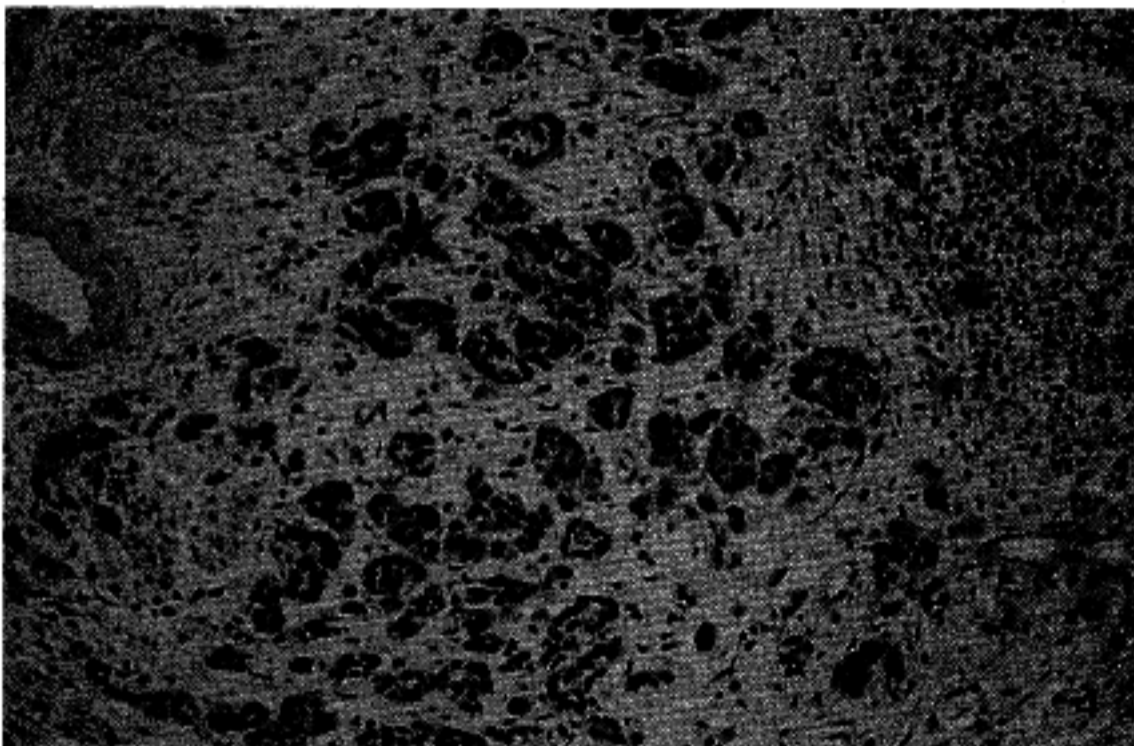


Fig. 4. Immunohistochemistry for *p53* in colonic adenocarcinoma 200X.

양성이었고, S군은 *c-myc*에 대하여 61.9%(13/21), *p53*에 대하여 61.9%(13/21)가 양성이었다(Table 3). MSI가 양성인 경우 H군은 *c-myc*이 21%, *p53*이 7%에서 양성을 보였고, S군은 *c-myc*이 29%, *p53*이 38%의 양성률을 나타내어 MSI와 종양 유전자와의 연관성은 없었다(Table 4, 5).

### 고 찰

인체의 종양에서는 염색체 이상이나 유전자 변이

가 높은 빈도로 관찰된다<sup>16</sup>. 종양에서 유전자 돌연변이가 빈발한다는 사실은 종양이 이러한 유전자 변이의 산물이라는 가정을 할 수 있다. 최근 발달 과정에 관여하리라 생각되는 종양 유전자의 활성화나 안어제 유전자들의 불활성화 기전은 이러한 돌연변이가 빈발되는 기전에 의하여 발생할 가능성이 있어 그 중요성이 대두되고 있다.

이러한 유전자 변이를 검사하는 방법에는 DNA cytometry, DNA fingerprinting, microsatellite 분석법이 있고, 이러한 방법을 통한 유전자 변이는 악성 종양

**Table 3.** Summary of microsatellite instability, *c-myc* and *p53*

Case	RER	<i>c-myc</i>	<i>p53</i>	Case	RER	<i>c-myc</i>	<i>p53</i>
H1-A	-	+	-	S1 -A	-	-	-
B	-	+	+	B	-	-	+
H2-A	-	+	+	S2 -A	-	+	+
B	-	+	-	B	-	+	-
H3-A	-	+	-	S3 -A	-	+	+
B	-	+	+	B	+	+	+
H4-A	-	-	-	S4 -A	-	+	-
B	-	+	+	B	-	+	-
H5-A	+	+	-	S5 -A	+	-	+
B	+	+	+	B	+	+	+
H6-A	-	-	+	S6 -A	+	-	-
B	+	+	-	B	-	-	+
H7-A	-	+	+	S7 -A	+	+	-
B	-	+	+	B	-	+	+
				S8 -A	-	+	-
				B	-	-	-
				S9 -A	+	+	+
				B	+	+	+
				S10-A	+	+	+
				B	+	-	+
				C	+	-	+

H : patients in multiple primary cancer arising from unrelated organs  
 S : patients in multiple primary cancer arising from same or related organs  
 RER : replication errors

**Table 4.** Correlation of microsatellite instability to *c-myc* and *p53* in multiple primary cancer of unrelated organs

	Microsatellite instability		
	Positive no.(%)	Negative no.(%)	Total no.(%)
<i>c-myc</i>			
Positive	3(21)	9(64)	12(86)
Negative	0(0)	2(14)	2(14)
<i>p53</i> stabilization			
Positive	1(7)	7(50)	8(57)
Negative	2(14)	4(29)	6(43)

**Table 5.** Correlation of microsatellite instability to *c-myc* and *p53* in multiple primary cancer of same or related organs

	Microsatellite instability		
	Positive no.(%)	Negative no.(%)	Total no.(%)
<i>c-myc</i>			
Positive	6(29)	7(33)	13(62)
Negative	4(19)	4(19)	8(38)
<i>p53</i> stabilization			
Positive	8(38)	5(24)	13(62)
Negative	2(10)	6(29)	8(38)

의 약 80% 이상에서 관찰된다<sup>17,18,19</sup>. 최근에 유전성 비용종성 대장암과 높은 연관 관계가 밝혀진 MSI는 *hMSH2*, *hMLH1*, *hPMS1*, *hPMS2*와 같은 mismatch

repair gene 결함에 의한 복제 이상(RER)에 의하여 발생되는 것으로 알려졌고<sup>3,7</sup>, 산발성(sporadic) 종양에서 MSI는 polymerase delta gene과 같은 다른 유전

자의 돌연변이에 의하여 발생한다고 알려져 있다<sup>20,21</sup>. Microsatellite는 2개 내지 5개의 짧은 염기 배열이 반복되는 유전자의 조합으로 이 부위를 PCR로 증폭할 때 다형성이 관찰되어 유전자의 불안정성을 확인할 수 있다<sup>19</sup>.

현재 Microsatellite DNA의 기능은 완전히 이해되고 있지는 않고 있으나, 단순히 exon을 연결시켜 주는 의미 없는 유전자(junk)라는 생각이외에 구조가 완전히 반복되는 염기 서열로 구성되어 있지 않아 homologous recombination에 대한 방어(barrier) 역할을 하는 것으로 생각되어지고 있다<sup>22</sup>. 암종에서는 이러한 반복되는 염기 서열의 확장으로 인한 방어 역할의 상실이 빈번한 recombination이나 유전자 교환을 발생케 하여 발암 과정에 관여할 것으로 생각되어진다<sup>8</sup>. 또한 MSI의 원인인 stability gene의 결함 자체도 DNA repair, mismatch repair, 복제나 분리의 장애를 초래하여 종양 유전자(*ras*, *Rb*, *p53*)에 돌연변이를 유발하여 종양을 발생케 한다고 생각되고 있다<sup>8</sup>.

산발성 단발성 암종에서 MSI의 빈도는 자궁경부암 13%<sup>23</sup>, 자궁내막암 17~22%<sup>24,25</sup>, 위암 16~34%<sup>26,27</sup>, 소장암 15%<sup>28</sup>로 대개 13~30% 이내로 보고하고 있다. 그러나 다발성 원발성 종양에서 MSI의 빈도를 조사한 몇몇 보고는 이보다 더 높은 65~89%<sup>29,30</sup>을 보고하고 있어 다발성 종양이 단발성 종양에 비하여 유전자의 불안정성과 더 밀접한 관련이 있는 것으로 추측하고 있다. 본 실험의 결과도 다발성 암종에서 MSI의 빈도가 47%로 다른 보고자들의 단발성 암종(10~30%)에 비하여 더 높은 빈도가 관찰되고 있어, 다발성 암종이 유전자의 불안정성과 더 관련이 있다는 보고와 일치하였다. 특히 연관 장기에서 다발성 암종이 발생한 군(S군)의 MSI 빈도가 60.0%로 비연관 장기에서 다발성 암종이 발생한 군(H군)의 28.6%에 비하여 높아 연관 장기가 MSI와 더 밀접한 관계가 있을 것으로 추측되었다. 그러나 이러한 소견은 연관 장기 즉 소화기계 장기가 MSI에 더 밀접한 관계가 있어 단순히 높게 관찰된 점으로 해석할 수 있으나, 소화기 장기의 MSI 빈도가 30% 이내라는 점을 고려시 매우 높은 결과라 생각된다. 결국 MSI가 존재하는 개체에서 첫 번째 원발성 종양이 발생한 후 같은 조건에 있는 장기가 종양 발생에 대한 감수성이 더욱 높아 이차 종양이 연관 장기나 같은 장기에서 더욱 빈발하게 발생한 것으로 생각하였다. 이와 같은 가정은 종양 발생의 두 가지 원칙인 field cancerization<sup>31</sup>과 다단계 발암 과정(multi-

step carcinogenesis)<sup>32</sup>를 생각하면 가능하다. field cancerization은 암의 발생이 임의로 한 세포에서 일어나는 것이 아니라 같은 환경에 있는 상피 전반에 걸쳐 일어나는 미만성의 암전구병변에서 종양이 발생한다는 것이고, 다단계 발암 과정은 여러 단계의 유전자적 변화에 의하여 종양이 발생한다는 것이다. 이와 같은 field cancerization의 영향하에 있는 유사 장기에서 유전자의 불안정성이 있다면 그 개체는 다단계의 발암 과정에 더욱 민감할 것으로 생각되어진다.

본 연구에서 MSI가 양성인 환자중 2개 이상의 primer에서 양성인 경우는 6예(80%) 이었는데, 이는 MSI를 만드는 유전자(stability gene)의 결함이 여러 부위의 microsatellite loci에 복제 이상을 발생케 한 것으로 생각된다. 그리고 각 primer에 대한 MSI의 소견이 같은 개체 내의 종양 사이에서 차이가 있는 경우(H6, S3, S5, S6, S7, S10)가 많은 점은 stability gene의 결함에 의한 MSI의 발생이 일률적이 아닌 불규칙적으로 작용하여 발생한 소견으로 생각되었고 이는 다른 보고자들<sup>29,33</sup>과 일치하는 소견이었다. 이러한 이질성은 난소와 충수에 동시에 발생한 점액성 암종의 발암 과정의 해석에 이용되기도 하는데, 두 종양에서 MSI의 소견이 이질적으로 관찰되면 두 종양이 전이병소가 아닌 두개의 원발성 종양임을 시사한다고 하였다<sup>34</sup>.

MSI가 양성인 대장관 종양 중 우측 대장에서 발생한 경우가 3예(75%)로 다른 보고자들<sup>35,36</sup>의 76%와 유사한 결과가 관찰되었다. 이러한 우측 대장암 환자에서 MSI가 높은 빈도로 관찰된다는 사실은 대장암종 유전성 대장암의 가능성이 높은 환자 군을 식별하는 데에 도움을 줄 수 있다는 점<sup>37</sup>에서 좀 더 연구가 있어야 할 것으로 생각되었다.

악성 종양에서 *c-myc* 단백질의 검출은 갑상선 종양 60%<sup>38</sup>, 유방암 50%와 자궁경부암 25%<sup>39</sup>, 대장암 66%<sup>40</sup>, 위암 23.5%<sup>41</sup>로 보고되고, *p53* 변이형 단백질의 검출은 갑상선암 8.5~22.7%<sup>42,43</sup>, 유방암 53%<sup>44</sup>, 대장암 46.5%<sup>45</sup>, 위암 34~58%<sup>46-48</sup>로 보고되고 있다. 본 실험에서 종양 유전자(*c-myc*)와 암억제 유전자(*p53*)에 대한 면역조직화학적 염색 결과는 *c-myc*은 71.4%(25/35), *p53*은 60.0%(21/35)에서 관찰되었으나, 전체 암종의 평균 양성률을 생각하면 약간 높은 양성률이라고 생각하였다. 그러나 H군과 S군으로 분류하여 관찰하면 각각 *c-myc*이 85.7%(12/14)와 61.9%(13/21)의 양성을 보이고, *p53*은 각각 57.1%(8/14)와 61.9%(13/21)의 양성이 관찰되어, 통계학적으로 각군



과 종양 유전자사이에 상관관계가 없었으며 전체 증례 뿐 아니라 각군에서도 MSI와 *c-myc* 및 MSI와 *p53* 사이에 상관관계가 없었다. 이는 다른 보고자들이 대장암에서 MSI와 *p53*이 연관 관계가 적다는 연구<sup>36</sup>와 자궁내막암에서 *ras*나 *p53*과 같은 종양 유전자와 상관성이 없다는 연구<sup>49</sup>와 일치하였다.

이상의 결과에서 연관 장기 군에서 발생한 다발성 암종에서 MSI의 빈도가 비연관 장기 군에 비하여 높게 관찰되어 연관 장기 군이 더 MSI와 밀접한 연관성이 있을 것으로 추정되며, 첫 번째 종양이 발생 후 같은 조건에 있는 유사 장기가 감수성이 더욱 높아 이차 종양 발생이 유사 장기에서 빈발한 것으로 생각되어졌다. 다발성 원발성 암종의 발암 과정의 확인은 앞으로 더 연구를 해야 할 부분으로 생각되었다.

## 결 론

다발성 종양 17예를 대상으로 종양에 대한 microsatellite instability(MSI)를 조사하고, 종양 유전자인 *p53* 과 *c-myc*의 단백에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 MSI와 관계를 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

MSI는 17예중 8예(47.1%)에서 관찰되었고, 이중 두개 이상의 위치에서 양성인 경우는 6예(80%)이었다. 비연관 장기에서 다발성 암종이 발생한 군(H군)과 연관 장기에서 다발성 암종이 발생한 군(S군)으로 나누어 보면 MSI의 빈도가 각각 28.6%(2/7)와 60.0%(6/10)이었다. 이는 MSI와 연관하여 종양이 발생할 때 같은 조건에 있는 장기가 다른 조건의 장기에 비하여 다단계의 발암 과정에 더욱 감수성이 높음을 시사하였다. 그리고 MSI 양상이 이질적인 경우가 6예에서 관찰되어 replication errors의 발생이 불규칙적임을 알 수 있었다. 종양 유전자에 대한 면역조직화학적 염색에서는 다발성 종양에서 종양 유전자(*c-myc*)와 암억제 유전자(*p53*)가 71.4%(25/35)와 60.0%(21/35)로 높은 양성률이 관찰되었으나 MSI와 연관성은 관찰 할 수 없었다.

이상의 성적으로 MSI는 비연관 장기에서 발생한 다발성 암종보다 연관 장기에서 발생한 다발성 암종의 발암 과정에 보다 많은 영향을 미칠 것으로 사료되었다.

## 참 고 문 헌

1. Cotran GS, Kumar V, Robbins SL. Pathologic basis of disease. 5th edition. Saunders, 1994: 241-303.
2. Aaltenen LA, Peltomaki P, Leach FS, et al. Clue to the pathogenesis of familial colorectal cancer. Science 1993; 260: 812-6.
3. Papadopoulos N, Nicolaides NC, Wei YF, et al. Mutation of *mutL* homolog in hereditary colon cancer. Science 1994; 263: 1625-9.
4. 김선영, 김상표, 채종민, 이상숙, 장은숙, 정재홍. 다발성 원발성 악성종양. 대한병리학회지 1987; 21: 67-74.
5. Weber JL, May PE. Abundant class of human DBA polymorphism which can be typed using the polymerase chain reaction. Am J Hum Genet 1989; 44: 388-96.
6. Charlesworth B, Sniegowski P, Stephan W. The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes. Nature 1994; 371: 215-20.
7. Bronner CE, Baker SM, Morrison PT, et al. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue *hMLH1* is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. Nature 1994; 368: 258-61.
8. Loeb LA. Microsatellite instability: Marker of a mutator phenotype in cancer. Cancer Res 1994; 54: 5059-63.
9. Craddock N, Burge S, Parfitt L, Owen M. Linkage is excluded between Darier's disease and the Duffy blood group locus in five British families. Ann Genet 1993; 36: 211-3.
10. Weissenbach J, Gyapay G, Dib C, et al. A second generation linkage map of the human genome. Nature 1992; 359: 794-801.
11. Jordan SA, McWilliam P, O'Brian DS, Humphries P. Dinucleotide repeat polymorphism at the D4S42 locus. Nucleic Acids Res 1991; 19: 1171.
12. Koi M, Umar A, Chauhan DP, Cherian SP, Carethers JM, Kunkel TA, Boland CR. Human chromosome 3 corrects mismatch repair deficiency and microsatellite instability and reduces N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine tolerance in colon tumor cells with homozygous *hMLH1* mutation. Cancer Res 1994; 54: 4308-12.
13. Weber JL, Kwitek A, May PE. Dinucleotide repeat polymorphism at the D6S87 locus. Nucleic Acids Res 1990; 18: 4636.
14. Thomas W, Rubenstein M, Goto M, Drayna D. A

- genetic analysis of the Werner syndrome region on chromosome 8p. *Genomics* 1993; 16: 685-90.
15. Weber JL, Kwitek AE, May PE, Wallace MR, Collins FS, Ledbetter DH. Dinucleotide repeat polymorphisms at the D17S250 and D17S261 loci. *Nucleic Acids Res* 1990; 18: 4640.
  16. Loeb LA. Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis. *Cancer Res* 1991; 51: 3075-9.
  17. Schafer R, Zischler H, Birsner UF, Becker A, Epplein JT. Optimized oligonucleotide probes for DNA fingerprinting. *Electrophoresis* 1988; 9: 369-74.
  18. Thein SL, Jeffreys AJ, Gooi HC, et al. Detection of somatic changes in human cancer DNA by DNA fingerprint analysis. *Br J Cancer* 1987; 55: 353-6.
  19. Peinado MA, Malkhosyan S, Velazquez A, Perucho M. Isolation and characterization of allelic losses and gains in colorectal tumors by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10065-9.
  20. Liu B, Nicolaides NC, Markowitz S. Mismatch repair gene defects in sporadic colorectal cancers with microsatellite instability. *Nature Genetics* 1995; 9: 48-55.
  21. da Costa LT, Liu B, El-Deiry WS. Polymerase delta variants in RER colorectal tumours. *Nature Genetics* 1995; 9: 10-1.
  22. Radman M, Wagner R. Mismatch recognition in chromosomal interactions and specification. *Chromosoma (Berl.)* 1993; 102: 369-73.
  23. Mitra AB, Murty VV, Singh V, et al. Genetic alterations at 5p15; a potential marker for progression of precancerous lesions of the uterine cervix. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 742-5.
  24. Katabuchi H, van-Rees B, Lambers AR, et al. Mutations in DNA mismatch repair genes are not responsible for microsatellite instability in most sporadic endometrial carcinomas. *Cancer Res* 1995; 55: 5556-60.
  25. Risinger JI, Berchuck A, Kohler MF, Watson P, Lynch HT, Boyd J. Genetic instability of microsatellites in endometrial carcinoma. *Cancer Res* 1993; 53: 5100-3.
  26. Nakashima H, Inoue H, Mori M, Ueo H, Ikeda M, Akiyoshi T. Microsatellite instability in Japanese gastric cancer. *Cancer* 1995; 75: 1503-7.
  27. dos Santos NR, Seruca R, Constanca M, Seixas M, Sobrinho Simoes M. Microsatellite instability at multiple loci in gastric carcinoma: clinicopathologic implications and prognosis. *Gastroenterology* 1996; 110: 38-44.
  28. Hibi K, Kondo K, Akiyama S, Ito K, Takagi H. Frequent genetic instability in small intestinal carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1995; 86: 357-60.
  29. Horii A, Han H-J, Shimada M, et al. Frequent replication errors of microsatellite loci in tumors of patients with multiple primary cancers. *Cancer Res* 1994; 54: 3373-5.
  30. Shinmura K, Sugimura H, Naito Y, Shields PG, Kino I. Frequent co-occurrence of mutator phenotype in synchronous, independent multiple cancers of the stomach. *Carcinogenesis* 1995; 16: 2989-93.
  31. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium: clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 1953; 6: 963.
  32. Bodmer W, Bishop T, Karran P. Genetic steps in colorectal cancer. *Nat Genet* 1994; 6: 217-9.
  33. Nakashima H, Inoue H, Honda M, et al. The heterogeneity of microsatellite instability in multiple gastric cancers. *Am J Gastro* 1995; 90: 653-6.
  34. Chuaqui RF, Zhuang Z, Emmert-Buck MR, et al. Genetic analysis of synchronous mucinous tumors of the ovary and appendix. *Human Pathol* 1996; 27: 165-71.
  35. Muta H, Noguchi M, Perucho M, et al. Clinical implications of microsatellite instability in colorectal cancers. *Cancer* 1996; 77: 265-70.
  36. Bocker T, Schlegel J, Kullmann F, et al. Genomic instability in colorectal carcinomas: Comparison of different evaluation methods and their biologic significance. *J of Pathol* 1996; 179: 15-9.
  37. 김호근, 진윤미, 심정연, 박찬일. DNA 복제 이상이 있는 대장암의 병리학적 특성. *대한병리학회지* 1995; 29: 590-5.
  38. Yang Y. Expression, amplification and rearrangement of *c-myc* gene in human thyroid carcinoma. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih Taipei* 1991; 71: 304-6.
  39. Munzel P, Marx D, Kochel H, Schauer A, Bock KW. Genomic alterations of the *c-myc* protooncogene in relation to the overexpression of *c-erbB2* and *Ki-67* in human breast and cervix carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol* 1991; 117: 603-7.
  40. Smith DR, Myint T, Goh HS. Over-expression of the *c-myc* proto-oncogene in colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 1993; 68: 407-13.
  41. Ninomiya I, Yonemura Y, Matsumoto H, et al. Expression of *c-myc* gene product in gastric carcinoma. *Oncology* 1991; 48: 149-53.
  42. Ho YS, Tseng SC, Chin TY, Hsieh LL, Lin JD. p53

- gene mutation in thyroid carcinoma. *Cancer Lett* 1996; 103: 57-63.
43. Dobashi Y, Sakamoto A, Sugimura H, et al. Over-expression of *p53* as a possible prognostic factor in human thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 375-81.
  44. Walker RA, Dearing SJ, Lane DP, Varley JM. Expression of *p53* protein in infiltrating and in situ breast carcinomas. *J Pathol* 1991; 165: 203-11.
  45. Purdie CA, O'Grady J, Piris J, Wyllie AH, Bird CC. *p53* expression in colorectal tumors. *Am J Pathol* 1991; 138: 807-13.
  46. Jang WI, Yang WI, Lee CI, et al. Immunohistochemical detection of *p53* protein, *c-erbB-2* protein, epidermal growth factor receptor protein and proliferation cell nuclear antigen in gastric carcinoma. *J Kor Med Sci* 1993; 8: 292-304.
  47. Kakeji Y, Koreanaga D, Tsujitani S, et al. Gastric cancer with *p53* overexpression has high potential for metastasising to lymph nodes. *Br J Cancer* 1993; 67: 589-93.
  48. Uchino S, Noguchi M, Hirota T, et al. High incidence of nuclear accumulation of *p53* protein in gastric cancer. *Japanese J Clin Oncol* 1992; 22: 225-31.
  49. Caduff RF, Johnston CM, Svoboda-Newman SM, Poy EL, Merajver SD, Frank TS. Clinical and pathological significance of microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma. *Am J Pathol* 1996; 148: 1671-8.
-