

## 비소세포형 폐암종에서 p53 및 Bcl-2 단백질발현의 면역조직화학적 검색

부산대학교 의과대학 병리학교실 및 인제대학교 의과대학 부산백병원 내과학교실\*

이 옥 주\* · 박 도 윤 · 서 감 석

### Immunohistochemical Study on the Expression of p53 and Bcl-2 Proteins in Non-Small Cell Lung Carcinomas

Ok Ju Lee, M.D.\*, Do Youn Park, M.D. and Kang Suek Suh, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine, Pusan National University, Pusan, Korea  
Department of Internal Medicine, Pusan Paik Hospital, College of Medicine,  
Inje University\*, Pusan, Korea

To address the possible prognostic value of p53 and Bcl-2 proteins in non-small cell lung carcinomas (NSCLCs), the authors studied 43 cases of NSCLCs diagnosed between the years 1990 to 1995 at Pusan National University Hospital. The patients were treated either by pneumonectomy or lobectomy of the lung. The expression of p53 and Bcl-2 proteins was semiquantitatively analyzed in paraffin sections by immunohistochemical method and correlated with clinicopathologic prognostic parameters of NSCLCs. Overexpression of the p53 protein was found in 31 cases (72.1%) of the 43 NSCLCs. Overexpression of the p53 protein was significantly correlated with the decreasing degree of histologic differentiation, increasing tumor stage, and cigarette smoking. Bcl-2 expression was found in 19 cases (44.2%) of the 43 NSCLCs. Increased expression of the Bcl-2 protein was significantly correlated only with decreasing tumor stage. An inverse relationship was found between p53 and Bcl-2 proteins, but it was not statistically significant. Thus p53 and Bcl-2 proteins, as demonstrated immunohistochemically in routine paraffin sections, could be of value in prediction of the aggressiveness and prognosis of NSCLCs, in agreement with the central role of p53 and Bcl-2 proteins in the evolution of NSCLCs associated with cigarette smoking. (*Korean J Pathol* 1997; 31: 823~831)

**Key Words:** Non-small cell carcinoma, Lung, p53, Bcl-2, Immunohistochemistry

## 서 론

원발성 폐암은 선진국의 성인에서 암으로 사망하는 가장 중요한 원인으로 알려져 있으며 임상적으로 매우 급진적인 경과를 보이는 악성 종양이다<sup>1</sup>. 최근에 급속히 발달되고 있는 분자생물학적 기술을 이용한 연구에 의하면, 원발성 폐암의 발생은 일련의 발암 유전자 및 종양 억제 유전자의 변화가 수반된다고 한다<sup>2,3</sup>. 이런 발암 유전자 및 종양억제유전자들중 bcl-2 유전자와 p53 유전자는 Bcl-2 단백질과 p53 단백질의 발현을 통해 세포의 계획된 사멸 즉 apoptosis를 조절함으로써 발암 과정에 관여한다<sup>4</sup>.

p53 단백질은 53 kD의 핵단백으로 DNA 종양 바이러스인 SV (simian virus)40의 large T항원에 결합하는 특성으로 인해 처음으로 발견되었다<sup>5</sup>. p53 유전자는 17번 염색체의 단완의 13 band에 위치한다<sup>6</sup>. 야생형의 p53 단백질은 여러 가지 원인에 의해 손상된 DNA에 부착하여 손상된 세포가 세포주기중 G1기에서 멈추도록 하여 손상된 DNA를 복구할 시간을 부여한다. 돌연변이형의 p53 단백질은 정상적인 p53 유전자의 기능이 소실되어 손상된 DNA가 복구되지 않고 다른 유전자 돌연변이의 기회를 증가시켜 발암 과정에 관여한다<sup>7</sup>. 원발성 폐암에서 가장 흔하게 발견되는 p53 유전자의 돌연변이 형태는 missense 돌연변이이다<sup>8</sup>. 이런 돌연변이는 담배의 주요 구성 성분인 benzopyrene과 같은 발암물질들에 의해서 잘 발생하는 것으로 알려져 있다<sup>9</sup>. 돌연변이형의 p53 단백질은 인체에서 발생하는 모든 암에서 50% 정도 발현되는 것으로 보고되었으며<sup>10</sup>, 자궁 내막<sup>11</sup>, 유방<sup>12</sup>, 전립선<sup>13</sup>의 악성종양에서 p53 단백질의 과발현은 종양의 공격성 및 전이능의 증가와 관련된다고 한다.

Bcl-2 단백질은 처음 여포성 B 세포 악성림프종에서 발현이 된다고 보고된 이후 주로 조혈림프계의 악성종양에서 발현이 보고되었다<sup>14</sup>. 정상적으로 Bcl-2 단백질은 ① 외분비선 (췌장, 타액선, 한선)의 도관 상피세포, ② 피부기저층의 기저각화세포와 장의 선와세포, 그리고 ③ 호르몬 자극을 받는 자궁내막, 전립선, 유방 등의 상피조직에서 발현된다<sup>15</sup>. 처음에는 t(14;18) 염색체 전위가 있는 악성림프종에서 Bcl-2 단백질의 발현이 보고되었는데, 그후 염색체 전위가 일어나지 않은 악성림프종과 많은 상피성 종양에서도 발현이 보고되어 Bcl-2 단백질의 발현에 염색체 전위 뿐 아니고 다른 기전이 관여함을 시사하였다<sup>15</sup>. 실험적으로 bcl-2 유전자를 주입한 생쥐에 있어서 bcl-2 유전자의

과발현은 림프구의 생존 기간을 연장시켜 다클론성 림프구 증식을 야기한다. 다클론성 림프구 증식은 c-myc과 같은 다른 유전자의 변이에 의하여 결국 악성림프종이 발생하게 된다<sup>16,17</sup>. 이런 실험적인 결과를 토대로 Bcl-2 단백질의 과발현은 세포의 apoptosis를 억제하여 세포의 생존기간을 연장하고 다른 유전자 변이의 기회를 증가시켜 종양 발생에 관여할 것으로 생각된다. 이런 가설은 여러 종류의 상피성 종양의 발생에도 적용이 된다. Bcl-2 단백질의 과발현이 유방암<sup>18</sup>, 갑상선암<sup>19</sup>등의 상피성종양에서 임상적으로 좋은 예후와 관련이 있다고 보고되었다.

저자들은 이러한 사실을 기초로 원발성 비소세포형 폐암종에서 p53 단백질 및 Bcl-2 단백질의 발현을 면역조직화학적으로 검색하고 이들의 발현 정도와 원발성 비소세포형 폐암종의 임상적 및 병리학적 특징들과의 상관관계를 알고자 본 연구를 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 종례의 선정 및 조직학적 분류

본 연구에 이용한 재료는 1990년 1월부터 1995년 12월까지 부산대학교병원에서 원발성 비소세포형 폐암종 (non-small cell lung carcinoma)으로 진단 받고 편측 폐절제술이나 폐엽절제술을 실시 받은 43명의 환자들로부터 얻은 조직을 사용하였다. 이들은 10% 중성 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매하여 보관한 것들이었다. 환자의 성별, 연령, 흡연의 과거력, TNM 병기 등과 같은 임상 자료는 병력지를 참고하였다. TNM 병기는 American Joint Committee on Cancer에 따라 분류하였다<sup>20</sup>. WHO의 분류기준에 따라 모든 종례의 헤마톡실린-에오진 슬라이드를 두명의 병리의사가 독립적으로 판독후 분류상의 불일치 예는 다안 현미경으로 의견의 일치를 보았다. 그리고, 이들을 분화정도에 따라 다시 분화가 좋은 암종 (well differentiated carcinoma, G1), 분화가 중등도인 암종 (moderately differentiated carcinoma, G2), 그리고 분화가 나쁜 암종 (poorly differentiated carcinoma, G3)으로 분류하였다.

### 2. 면역조직화학적 염색

각 종례들에서 대표적인 블록을 한 개씩 선택한 뒤 4 μm 두께의 절편을 만들었다. 종례들의 각 파라핀 포매절편들은 염색시 조직의 항원 발현을 증가시키기 위해 pH 6.0의 10 mmol/l citric acid buffer에 넣어 전자렌지 (700W)를 이용하여 10분간 가열하였다. 실온에서 1시간 식힌 다음 universal DAKO LSAB<sup>R</sup>

kit를 이용하여 면역염색을 시행하였다. Bcl-2 단백질 및 p53 단백질에 대한 일차 항체는 각각 Dako사의 Bcl-2 oncoprotein (Clone 124, monoclonal mouse anti-human) 및 p53 protein (Clone DO-7, monoclonal mouse anti-human)을 사용하였다. 각각의 항체들은 모두 1 : 50으로 희석하여 사용하였으며, 면역염색의 과정은 통상적인 기법과 동일하게 하였다. 발색 과정은 AEC (3-amino-9-ethylcarbazole)를 5분간 적용시킨 후 Mayer 헤마톡실린으로 1분간 대조 염색을 실시하였다. Bcl-2 단백질은 조직내에 침윤한 정상 림프구와 기관지 및 소기관지 기저세포를, p53 단백질은 이전에 확인된 p53

단백 양성 결장 암종조직을 양성 대조군으로 사용하였다. 음성대조군은 각각의 일차항체 대신에 비면역 쥐 혈청 (nonimmune murine serum)을 이용하였다.

### 3. 염색의 평가

p53 단백질은 종양세포의 핵에 과립상의 갈색 염색 반응을 보일때, Bcl-2 단백질은 종양세포의 세포질에 국한되어 과립상의 갈색 염색반응을 보일때 양성으로 판정하였다. 각 증례들에서 염색의 강도에 따라 음성 (0), 약양성 (1), 중등도 양성 (2), 그리고 강양성 (3)으로 등급을 정하고 점수를 매겼다. 양성염색

**Table 1.** Frequency distribution of patients with non-small cell lung carcinomas by age and sex

Sex	Mean age	Age distribution				Total
		30~39	40~49	50~59	60~69	
Male	57.6	2	3	11	16	32
Female	59.5	0	2	4	5	11
Total	58.2	2	5	15	21	43

**Table 2.** Clinicopathological data and p53 protein expression in 43 cases of non-small cell lung carcinomas

Variables		No. of cases	p53 expression category			Significance
			I	II	III	
Age	≤55	31	8	12	11	p=0.78395
	>55	12	4	5	3	
Sex	M	32	5	15	12	p=0.09071
	F	11	7	2	2	
Histology	SCC	23	4	10	9	p=0.24537
	non-SCC	20	8	7	5	
Grade	G1	9	3	6	0	r <sub>s</sub> =0.41111, p=0.00617
	G2	24	8	9	7	
	G3	10	1	2	7	
T-status	T1	4	3	1	0	r <sub>s</sub> =0.32029, p=0.03627
	T2	26	6	13	7	
	T3-4	13	3	3	7	
N-status	N0	22	9	10	3	p=0.01758
	N1-2	21	3	7	11	
Smoking	(+)	32	2	17	13	p=0.00000
	(-)	11	10	0	1	
Survival	alive	25	8	11	6	p=0.36729
	dead	18	4	6	8	

SCC, Squamous cell carcinoma; G1, Well-differentiated; G2, Moderately-differentiated; G3, Poorly-differentiated.

의 분포점수는 100배의 시야에서 10개 이상의 종양 영역을 검경하여 양성 반응이 1% 이하에서 관찰되는 경우를 0점, 1~10%의 경우를 1점, 11~50% 사이는 2점, 그리고 51% 이상을 3점으로 하였다. 염색의 강도 점수와 분포 점수를 합하여 0~2점이면 category I, 3~4점이면 category II, 5~6점이면 category III로 표시하였다. Category I은 음성으로, category II와 III은 양성으로 분류하였다.

#### 4. 통계처리

원발성 비소세포형 폐암종에서 조직학적 유형, 분화도 및 TNM병기, 흡연, 성별, 연령 등의 임상자료들과 p53 단백질, Bcl-2 단백질의 발현과의 상관성은  $\chi^2$ -분할표 검정법, Fisher의 정확확률 검정법 및 Spearman의 순위상관계수를 이용하였고, 유의수준은 0.05 이하인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

### 성 적

#### 1. 임상적 소견 및 조직학적 분류

본 연구의 대상이 된 43예의 원발성 비소세포형

폐암종 환자의 성별 및 연령분포는 Table 1과 같다. 폐암종 환자의 연령분포는 38세에서 68세였으며, 그 평균 연령은 58.2세였다. 성별로는 남자가 32예 (74.4%) 이었고 여자가 11예 (25.6%)이었다.

WHO 분류에 따른 조직학적인 유형별로는 편평세포암종이 23예 (53.5%)로 가장 많았고, 그 다음으로 기관지 폐포성 선암종 6예를 포함한 선암종이 18예 (41.9%), 미분화대세포암종이 2예 (4.7%)의 순이었다.

#### 2. p53 단백질의 발현양상

p53 단백질의 발현양상은 염색을 시행한 43예중 category I이 12예 (27.9%), category II가 17예 (39.5%), category III가 14예 (32.6%)였다. p53 단백질의 발현 양상과 여러 가지 임상적 및 병리조직학적 소견과의 상관성은 Table 2에 제시하였다. 종양의 분화가 나뉠 수록 p53 단백질의 발현이 증가하였고 ( $r_s=0.41111$ ,  $p<0.05$ ), 종양의 병기가 높을 수록 p53 단백질의 발현이 역시 의미 있게 증가하였다 ( $r_s=0.32029$ ,  $p<0.05$ ). 종양이 림프절에 전이한 경우에서 그렇지 않은 경우보다 p53 단백질의 발현이 의미 있게 증가하였다 ( $p<0.05$ ). p53 단백질의 발현은 흡연의 유무와 밀접한 관

Table 3. Clinicopathological data and Bcl-2 protein expression in 43 cases of non-small cell lung carcinomas

Variables	No. of cases	Bcl-2 expression category			Significance	
		I	II	III		
Age	≤55	31	18	8	5	p=0.54952
	>55	12	6	5	1	
Sex	M	32	18	9	5	p=0.80311
	F	11	6	4	1	
Histology	SCC	23	15	6	2	p=0.35983
	non-SCC	20	9	7	4	
Grade	G1	9	3	5	1	p=0.42505
	G2	24	15	6	3	
	G3	10	6	2	2	
T-status	T1	4	0	2	2	$r_s = -0.49055$ , p=0.00084
	T2	26	13	9	4	
	T3-4	13	11	2	0	
N-status	N0	22	11	6	5	p=0.23592
	N1-2	21	13	7	1	
Smoking	(+)	32	20	7	5	p=0.12603
	(-)	11	4	6	1	
Survival	Alive	25	14	7	4	p=0.87019
	Dead	18	10	6	2	

Abbreviations: Refer to Table 2.

련을 보어 과거력상 흡연의 경험이 있는 경우에서 그렇지 않은 경우 보다 단백질의 발현이 유의 있게 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). p53 단백질의 발현과 연령, 성별, 조직학적 유형 및 생존여부와는 통계적으로 유의한 상관성이 인정되지 않았다.

### 3. Bcl-2 단백질의 발현양상

Bcl-2 단백질의 발현양상은 염색을 시행한 43예중 category I이 24예 (55.8%), category II가 13예 (30.2%),

category III가 6예 (14.0%)였다. Bcl-2 단백질의 발현양상과 여러 가지 임상적 및 병리조직학적 소견과의 상관성은 Table 3에 제시하였다. 종양의 병기가 높을수록 Bcl-2 단백질의 발현이 유의 있게 감소하였다 ( $r = -0.49055$ ,  $p < 0.05$ ). Bcl-2 단백질의 발현과 연령, 성별, 조직학적 유형, 종양의 분화도, 림프관 전이 여부, 흡연의 과거력 및 생존여부와는 통계적으로 유의한 상관관계가 인정되지 않았다.

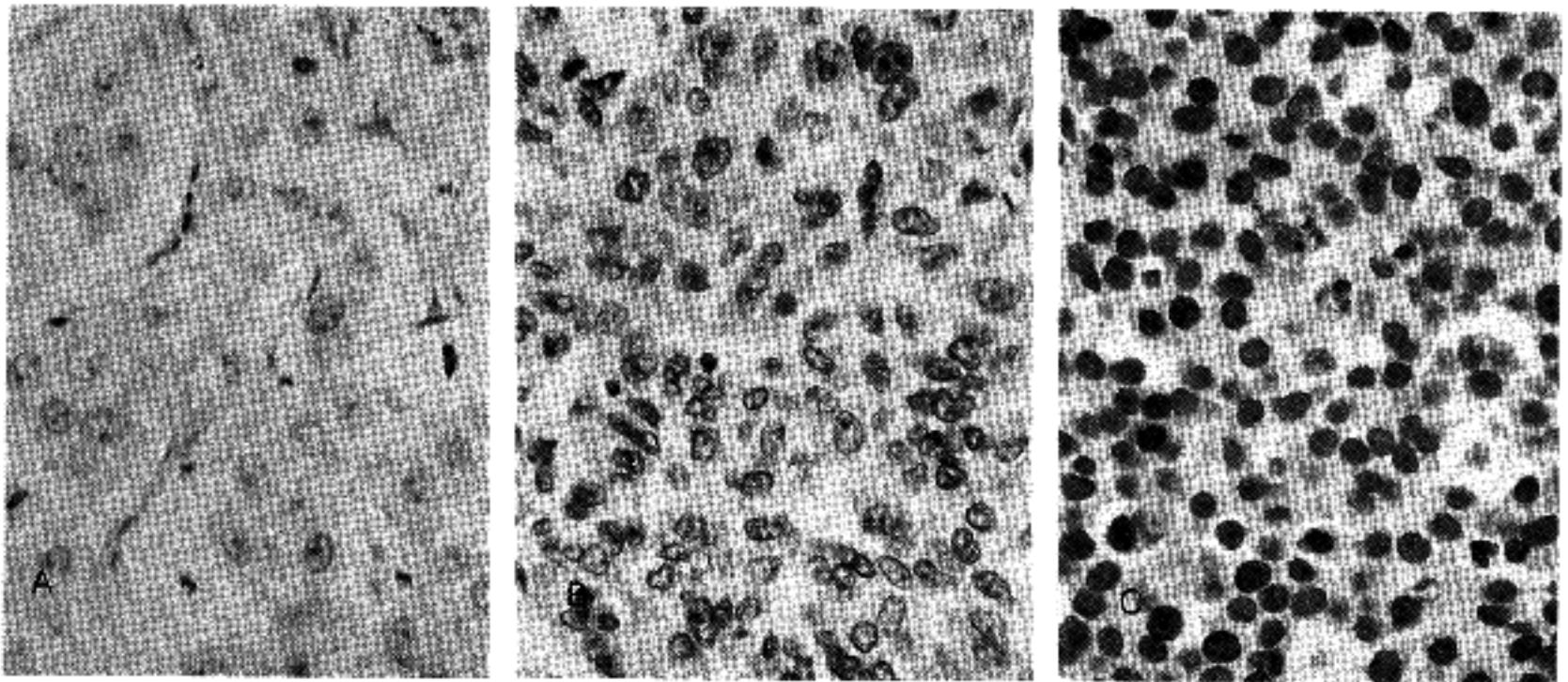


Fig. 1. Nuclear staining of p53 protein in tumor cells of squamous cell carcinoma; category I(A), category II(B), category III(C) (Immunostain for p53 protein).

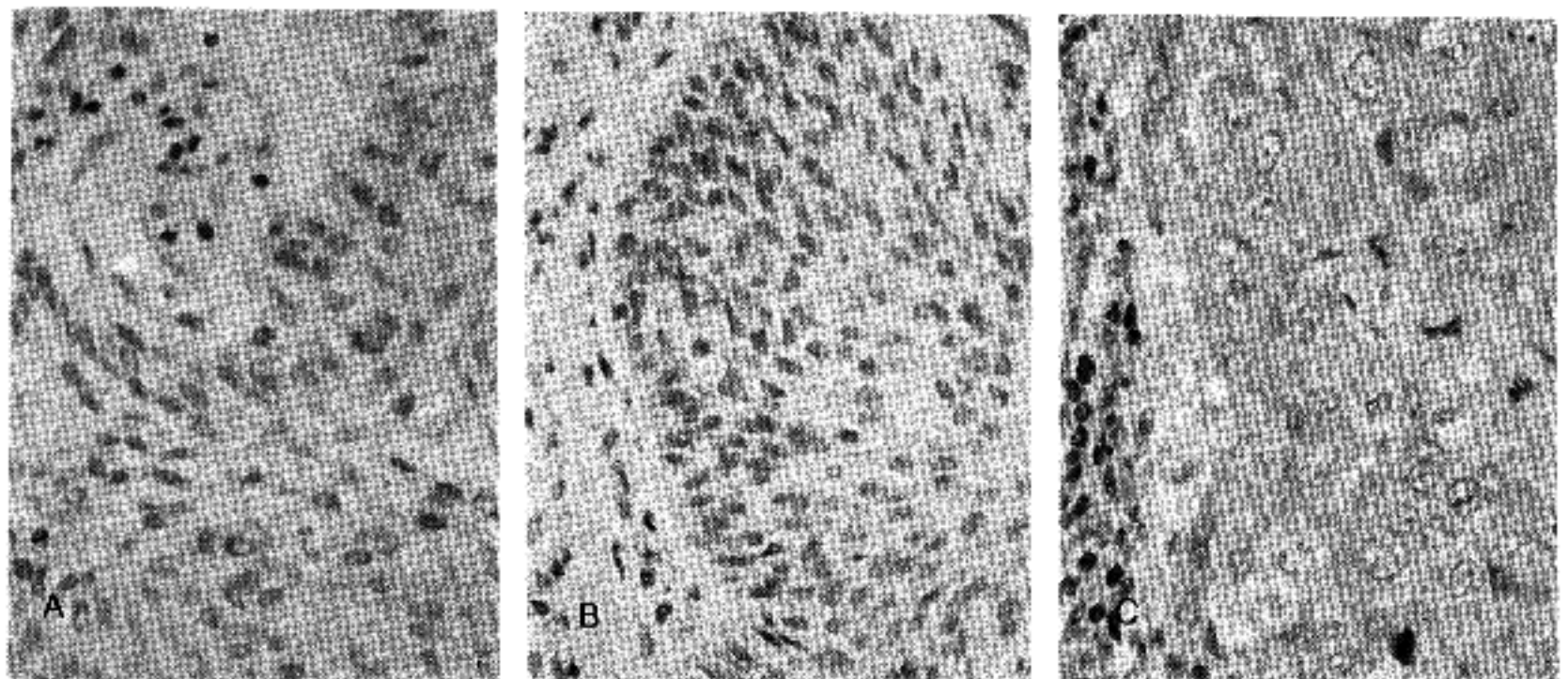


Fig. 2. Cytoplasmic staining of Bcl-2 protein in tumor cells of squamous cell carcinoma; category I(A), category II(B), and category III(C) (Immunostain for Bcl-2 protein).

Table 4. Categorical relationship in expression of p53 and Bcl-2 proteins

Bcl-2 protein expression category	p53 protein expression category			Total
	I	II	III	
I	5	10	9	24
II	6	4	3	13
III	1	3	2	6
Total	12	17	14	43

( $r_s = -0.32535$ ,  $p > 0.05$ ).

#### 4. p53 단백질과 Bcl-2 단백질 발현의 상관관계

p53 단백질과 Bcl-2 단백질 발현의 상관성은 Table 4에 제시하였다. p53 단백질의 발현이 증가 할수록 Bcl-2 단백질의 발현은 감소하는 경향을 보였으나 통계학적으로 의미있는 상관관계는 인정되지 않았다.

### 고 찰

원발성 폐암은 선진국에서 암에 의한 사망의 가장 중요한 원인으로 알려져 있으며 임상적으로 매우 급진적인 경과를 보이는 악성 종양이다<sup>1</sup>. 여러가지 분자생물학적 연구에서 원발성 폐암의 발생은 일련의 발암유전자 및 종양억제유전자의 변화가 수반된다고 보고되었으며, 이들중 bcl-2 유전자와 p53 유전자의 돌연변이가 종양의 발생에 중요하다고 하였다. 즉 bcl-2 유전자의 과발현은 기관지 상피세포의 생존기간을 연장시키고 연장된 생존기간은 p53과 같은 유전자의 돌연변이의 기회를 증가시켜 폐암종의 발암기전에 관여할 것이라고 생각된다<sup>2,3</sup>.

이들중 p53 단백질은 53 kD의 핵단백질로서 인체에 발생하는 모든 암에서 50% 정도 발현된다고 한다<sup>10</sup>. 야생형의 p53 단백질은 반감기가 매우 짧아서 (15~20분) 정상적으로 면역조직화학염색에서는 검출하기가 어렵다<sup>21</sup>. 그렇지만 돌연변이형의 p53 단백질은 수시간 정도의 긴 반감기를 가지며 heat shock protein (hsp) 70이라는 단백질과 결합되어 단백질 구조의 변화가 일어나 세포내 안정성이 증가되어 핵내에 축적됨으로서 면역조직화학염색에서 검출될 수 있다<sup>22</sup>. 그러므로 면역조직화학염색에서 양성으로 발현되는 p53 단백질은 거의 모두가 돌연변이형의 p53 단백질이라고 할 수 있다. p53 단백질의 발현과 원발성 폐암의 여러가지 임상적인 예후인자와의 상관성에 대한 연구는

일부 연구자들에 의해 시행되었다. Westra등<sup>23</sup>은 70예의 원발성 폐 선암종에서 p53 단백질의 과발현이 23예 (32.8%)에서 발현된다고 보고하였으며 이의 발현이 종양의 분화도 및 흡연 습관과 밀접한 연관이 있으나 종양의 병기나 환자의 생존율과는 직접적인 상관관계는 보이지 않는다고 하였다. Dosaka-Akita등<sup>24</sup>도 52예의 원발성 비소세포형 폐암종을 대상으로 한 연구에서 이들중 17예 (32.7%)에서 p53단백의 발현이 관찰되었고 편평세포암종이 다른형의 암종에 비해 p53 단백질의 발현율이 높으며 역시 흡연습관과 관계있다고 보고하였지만, 종양의 병기와는 상관관계가 없다고 하였다. 그렇지만 Quinlan등<sup>25</sup>과 Brambilla등<sup>26</sup>은 원발성 폐암종에서 p53 단백질의 과발현과 종양의 병기의 진행은 상관성을 보이며 예후인자로서 가치가 있다고 보고하였다. 국내의 보고에서는 이등<sup>27</sup>이 소세포폐암종을 포함한 원발성 폐암 59예중 28예 (47.5%)에서 p53 단백질발현을 보고하였고 각조직형간에 발현의 유의한 차이가 있다고 보고하였다. 그리고, p53 단백질발현이 임상적 병기 및 종양의 분화도와는 관계없으며 흡연의 과거력과 유의한 상관관계를 가진다고 보고하였다. 이러한 각각의 연구들의 차이는 실제의 발현의 차이뿐 아니라 염색방법의 차이 (항원복구방법의 이용, 발색제의 적용 시간, 일차항체의 적용시간 및 항체의 종류)와 연구자간의 염색정도의 판정차이에도 영향을 받을 것으로 생각된다. 저자들의 연구에서는 양성률 (31예/43예, 72.1%)이 높게 나오는 것은 citric acid buffer를 사용하여 극초단파를 처리하는 항원복구 방법을 사용하였기 때문이라고 생각이 되며, 실제 앞선 보고자들중 Westra등<sup>23</sup>만이 TUF (target unmasking fluid) 항원복구방법을 이용하였고 나머지 저자들은 이런 항원복구방법을 사용하지 않았다. 또한 저자들 마다 사용한 p53 단백질에 대한 일차항체도 다양하다. 즉, Brambilla등<sup>26</sup>과

Dosaka-Akita등<sup>24</sup>은 각각 PAb240, PAb421, PAb1801, CM1과 PAb1801, PAb421를, 이등<sup>27</sup>과 Westra등<sup>23</sup>은 Ab-6과 CM1을 사용하였다. 이들 일차항체들중 PAb240은 돌연변이형의 p53단백에 특이적으로 반응하며, 나머지 일차항체들은 야생형 및 돌연변이형에 모두 반응하는 일차항체들이다. 저자들이 사용한 일차항체는 DO-7로 마찬가지로 야생형의 p53 단백질뿐 아니라 돌연변이형의 p53단백에도 반응하는 일차항체이다. 염색 정도의 판정도 저자마다 다양하여 Brambilla등<sup>26</sup>과 Dosaka-Akita등<sup>24</sup>은 양성세포가 각각 20%, 10% 이상일 때를 양성으로 판정하였고, 이등<sup>27</sup>과 Westra등<sup>23</sup>은 염색강도와 염색분포에 따라 각각 높은 수준의 p53 단백질 발현, 낮은 수준의 p53 단백질 발현으로 구분하고 높은수준의 p53 단백질 발현을 양성으로 간주하였다. 저자들의 연구에서는 염색강도와 분포의 정도를 산술적 점수화하여 이들로 부터 3등급으로 분류하여 염색 정도를 분석하였다. 이런 염색 정도의 판정기준의 차이도 보고자들의 결과차이에 일부 기여할 것으로 생각된다. 저자들의 연구에서는 종양의 분화도가 나뉠수록, 종양의 병기가 높을수록, 그리고 림프절 전이가 있는 경우에 p53 단백질 발현이 의의있게 증가하여 p53 단백질 과발현이 종양의 공격성 증가와 관련이 있다는 이전의 보고와 매우 잘 부합하였다. 또 과거력상 흡연의 경험이 있는 경우 p53 단백질 발현이 의의있게 증가하였다.

bcl-2 유전자의 산물인 Bcl-2 단백질은 세포의 사멸체 내막, 핵막, 내형질막 등에 위치하여 apoptosis를 억제한다<sup>28</sup>. Bcl-2 단백질 발현과 임상적인 예후인자와의 상관성에 관한 보고는 보고자에 따라 조금씩 차이가 있다. Pezzella등<sup>30</sup>은 원발성 비소세포형 폐암종 122예중 25예 (20.5%)에서 Bcl-2 단백질 발현된다고 보고하고, Bcl-2 단백질 발현이 증가할수록 생존율이 증가한다고 보고하였다. Walker등<sup>31</sup>은 기관지상피의 이형성이 증가할수록 Bcl-2 단백질 발현이 증가하고, 31예의 비소세포형 폐암종중 16예 (59.3%)에서 Bcl-2 단백질 발현이 양성을 보이며 발현이 증가할수록 생존율이 증가한다고 비슷한 성적을 보고한 바 있다. 그렇지만 Ritter등<sup>32</sup>은 126예의 비소세포형 폐암종에서 47예 (37.3%)의 Bcl-2 단백질 양성을 보고하였고, Bcl-2 단백질 발현과 임상적인 생존율과는 직접적인 상관성이 없다고 하였다. 국내보고에 의하면 Bcl-2 단백질 발현이 소세포폐암종에서만 관찰되고 비소세포형 폐암종에서는 발현되지 않는다고 보고하였다<sup>33</sup>. 이런 여러가지 연구결과의 불일치들은 아마도 앞서 언급한 여러 가지 원인들, 즉 염색방법의 차이 (항원복구방법의 이용, 발색제의 적

용 시간, 일차항체의 적용시간 및 항체의 종류)와 연구자간의 염색 정도의 판정차이에 의해서 발생할 것으로 생각된다. Pezzella등<sup>30</sup>은 신선동결조직을 사용하였고, 일차항체는 100을 사용하였으나, Walker등<sup>31</sup>과 Ritter등<sup>32</sup>은 파라핀에 포매된 조직을 사용하였고, 일차항체는 124를 사용하고 citric acid buffer를 이용한 항원복구방법을 사용하였다. 염색반응의 평가에서도 Pezzella등<sup>30</sup>의 보고에서는 정확한 언급이 없으며, Walker등<sup>31</sup>은 기관지 상피의 이형성에서 염색강도와 분포에 따라 4개의 형으로 구분하였고, 폐암종에 있어서는 염색 정도를 백분율로 표시하였고, Ritter등<sup>32</sup>은 5% 이상의 양성세포가 발현될 때 양성으로 판정하였다. 저자들의 연구에서는 Bcl-2 단백질은 비소세포형 폐암종 43예중 19예 (44.2%)에서 발현되었고, 발현이 종양의 병기가 높아질수록 의미있게 감소하여 Pezzella등<sup>30</sup>과 Walker등<sup>31</sup>의 보고와 어느정도 일치하는 소견을 보였으나 생존율과의 직접적인 상관성은 관찰되지 않았다.

p53 단백질과 Bcl-2 단백질 발현은 서로 부의 상관성을 보이는 경향을 나타내었지만 통계학적으로 의미있는 것은 아니었다. Haldar등<sup>34</sup>과 Miyashita등<sup>4</sup>은 이미 p53 단백질과 Bcl-2 단백질이 apoptosis의 유전적 조절에 관여한다고 보고하였다. 최근의 연구에 의하면 bcl-2 유전자에 p53 유전자에 의해 전사기전에서 억제되는 부분이 존재한다는 것이 알려졌다<sup>35</sup>. 유방암종<sup>36</sup>, 갑상선 암종<sup>19</sup> 및 비 Hodgkin 악성림프종<sup>37</sup>에서 이런 결과를 근거로 p53 단백질과 Bcl-2 단백질 발현이 부의 상관관계를 가진다고 보고된 바 있다. Fontanini등<sup>38</sup>은 원발성 비소세포형 폐암종에서 Bcl-2 단백질 발현이 p53 단백질 발현과 부의 상관관계를 보인다고 보고하여 저자들의 성적과 유사한 소견을 보였다.

이상과 같은 사실을 기초로 원발성 비소세포형 폐암종에서 p53 단백질 및 Bcl-2 단백질 발현은 폐암종의 발암과정에서 p53 단백질 및 Bcl-2 단백질은 중요한 역할을 할 것으로 시사하며, 특히 흡연은 돌연변이형의 p53 단백질 발현을 증가시켜 비소세포형 폐암종의 발암과정에 관여한다고 생각되었다. p53 단백질 과발현과 Bcl-2 단백질 발현의 감소는 종양의 공격성의 증가와 상관성을 보였으며 제한적이지만 원발성 비소세포형 폐암종의 예후 인자로서 의의가 있을 것으로 생각되었다.

## 결 론

저자들은 1990년 1월부터 1995년 12월까지 부산대학교병원에서 진단되어 편측 폐절제술이나 폐엽절

제술로 얻어진 43예의 원발성 비소세포형 폐암종에 대하여 p53 단백질 및 Bcl-2 단백질의 발현을 면역조직화학적으로 검색하고 이들의 발현과 임상적 및 병리조직학적인 예후인자들과의 상관관계를 분석하여 얻은 결과를 다음과 같이 요약하였다.

1) p53 단백질은 원발성 비소세포형 폐암종의 43예 중 31예 (72.1%)에서 발현되었다. 종양의 분화가 나뉠수록, 종양의 병기가 진행될수록 p53 단백질의 발현이 유의있게 증가하였다. 과거력상 흡연의 병력이 있는 경우 p53 단백질의 발현이 증가하였다 ( $p < 0.05$ ).

2) Bcl-2 단백질은 원발성 비소세포형 폐암종의 43예 중 19예 (44.2%)에서 발현되었다. Bcl-2 단백질은 종양의 병기가 진행될수록 의미있게 감소하였으나 ( $p < 0.05$ ), 다른 임상적 및 병리조직학적인 예후인자와의 상관성은 인정되지 않았다.

3) p53 단백질의 발현이 증가할수록 Bcl-2 단백질의 발현이 감소하는 경향을 보였으나 통계학적으로 의미는 없었다.

위에 기술한 소견에 의거하면 원발성 비소세포형 폐암종에서 p53 단백질 및 Bcl-2 단백질의 발현은 종양의 발생 및 진행에 있어서 중요한 역할을 할 것으로 생각되며, 특히 흡연과 p53 단백질의 과발현과의 상관성은 원발성 비소세포형 폐암종의 발생기전을 잘 설명해 준다고 사료된다. 그러므로 p53 단백질의 과발현과 Bcl-2 단백질의 발현의 감소는 종양의 공격성 증가의 중요한 표지자이며 제한적이지만 원발성 비소세포형암종의 악성도 평가 및 예후의 추정인자로서의 의의가 있을 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Minna JD, Pass H, Galstein E, Inde D. Principles and Practice of Oncology. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1989: 591-705.
2. Suzuki H, Takahashi T, Kuroishi T, Suyama M, Ariyoshi Y, Ueda-R. p53 mutation in non-small cell cancer in Japan; Association between mutation and smoking. *Cancer Res* 1992; 52: 734-6.
3. Minna JD, Battey JF, Brooks BJ, et al. Molecular genetic analysis reveals chromosomal deletion, gene amplification, and autocrine growth factor production in the pathogenesis of human lung cancer. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1986; 51: 843-53.
4. Miyashita T, Krajewski S, Krajewska M, et al. Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene* 1994; 9: 1799-805.
5. Lane DP, Crawford LV. T-antigen is bound to a host protein in tumor antigen present in SV-40 transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cell. *Nature* 1979; 278: 261-3.
6. Isobe M, Emanuel B, Givol D, Oren M, Croce CM. Localization gene for human p53 tumor antigen to band 17p13. *Nature* 1986; 320: 84-5.
7. Zambetti GP, Levine AJ. A comparison of the biologic activities of wild type and mutant p53. *FASEB J* 1993; 7: 855-62.
8. 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.
9. Carothers AM, Grunberg D. DNA base changes in benzopyrene diol epoxide induced dihydrofolate reductase mutants of Chinese hamster ovary cells. *Carcinogenesis* 1990; 11: 189-92.
10. Hollstein H, Sidransky D, Vogenstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
11. Bur ME, Perlman C, Edelmann L, Fey E, Rose PG. p53 expression of neoplasms of the uterine corpus. *Am J Clin Pathol* 1992; 98: 81-7.
12. Isola J, Visakorpi T, Holli K, Kallioniemi OP. Association of overexpression of tumor suppressor protein p53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1109-14.
13. Visakorpi T, Kallioniemi OP, Heikkinen TK, Koivula T, Isola J. Small subgroup of aggressive, highly proliferative prostatic carcinomas defined by p53 accumulation. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 883-7.
14. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14; 18) chromosome translocation. *Science* 1984; 226: 1097-9.
15. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL, Pulford KA, Gatter KC, Mason DY. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14; 18 chromosomal translocation. *Am J Pathol* 1990; 137: 225-32.
16. McDonnell TJ, Deane N, Platt FM, et al. bcl-2-immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B cell survival and follicular lymphoproliferation. *Science* 1987; 236: 1295-9.
17. McDonnell TJ, Korsmeyer SJ. Progression from lymphoid hyperplasia to high-grade malignant lymphoma in mice transgenic for the t(14; 18). *Nature* 1991; 349: 254-6.
18. Doglioni C, Dei Tos B, Laurino L, Chiarelli C, Barbareschi M, Viale G. The prevalence of bcl-2 im-



- munoreactivity in breast carcinomas and its clinicopathological correlates with particular reference of oestrogen receptor status. *Virchows Arch* 1994; 424: 47-51.
19. 이창훈, 서강석. 갑상선 암종에서 Bcl-2 및 p53 단백질 발현에 관한 면역조직화학적 연구. *부산의대학술지* 1996; 36: 31-44.
  20. American Joint Committee on Cancer. Manual for staging of Cancer. 4th. ed. Chicago: AJCC, 1995: 195-200.
  21. Oren M, Maltzman W, Levine AJ. Post-translational regulation of the 53kD cellular tumor antigen in normal and transformed cells. *Mol Cell Biol* 1981; 1: 100-10.
  22. Pinhasi-Kimhi O, Michalovitz D, Ben-Zeev A, Oren M. Specific interaction between the p53 cellular tumor antigen and major heat shock protein. *Nature* 1986; 320: 182-5.
  23. Westra WH, Offerhaus GJA, 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.
  24. Dosaka-Akita H, Shindoh M, Fujino M, et al. Abnormal p53 expression in human lung cancer is associated with histologic subtypes and patient smoking history. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 660-4.
  25. Quinlan DC, Davidson AS, Summers CL, et al. Accumulation of p53 correlates with a poor prognosis in human lung cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 4828-32.
  26. Brambilla E, Gazzeri S, Moro D, et al. Immunohistochemical study of p53 in human lung carcinomas. *Am J Pathol* 1993; 143: 199-210.
  27. 이상용, 정진숙, 홍숙희. 원발성 폐암에서 p53 암억제유전자 단백질의 발현 양상. *대한병리학회지* 1996; 30: 218-27.
  28. Hockenbery D, Nunez G, Milliman C, Shreiber RD, Korsmeyer SJ. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990; 348: 334-6.
  29. Lu QL, Poulson R, Wong L, Hanby AM. Bcl-2 expression in adult and embryonic non-haematopoietic tissues. *J Pathol* 1993; 169: 431-7.
  30. 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.
  31. Walker C, Robertson L, Myskow M, Dixon G. Expression of the Bcl-2 protein in normal and dysplastic bronchial epithelium and in lung carcinomas. *Br J Cancer* 1995; 72: 164-9.
  32. Ritter JH, Dresler CM, Wick MR. Expression of the bcl-2 protein in stage T1N0M0 non-small cell lung carcinoma. *Hum Pathol* 1995; 26: 1227-32.
  33. Kim YJ, Huh MH. Immunohistochemical expression of p53, Bcl-2, and PCNA in small cell lung carcinoma. *Korean J Pathol* 1995; 29(suppl): A153.
  34. Haldar S, Negrini M, Monne M, Sabbiani S, Croce CM. Down regulation of bcl-2 by p53 in breast cancer cells. *Cancer Res* 1994; 54: 2095-7.
  35. Miyashita T, Harigai M, Hanado M, Reed JC. Identification of a p53-dependent negative response element in the bcl-2 gene. *Cancer Res* 1994; 54: 3131-5.
  36. Silvestrini R, Veneroni S, Daidone MG, et al. The bcl-2; a prognostic indicator strongly related to p53 protein in lymph node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 499-504.
  37. Pezzella F, Morrison H, Jones M, et al. Immunohistochemical detection of p53 and bcl-2 proteins in non-Hodgkins lymphoma. *Histopathology* 1993; 22: 39-44.
  38. Fontanini G, Vignati S, Bigini D, et al. Bcl-2 protein; a prognostic factor inversely correlated to p53 in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 1995; 71: 1003-7.
-