

위의 장형화생과 동반된 비정형 병소의 *H-ras*, *erb B2*, *p53* 단백질의 발현 양상

동국대학교 의과대학 병리학교실

배 한 익 · 김 동 훈 · 김 정 란

Expression of *H-ras*, *erb B2*, and *p53* Proteins in Gastric Intestinal Metaplasia Associated with Cellular Atypism

Han Ik Bae, M.D., Dong Hoon Kim, M.D. and Jung Ran Kim, M.D.

Department of Pathology, Dongguk University, Kyong-ju, Korea

Intestinal metaplasia (IM) have long been thought to play a role in the pathogenesis of gastric intestinal adenocarcinoma, but not in that of diffuse cancer. We studied 20 normal gastric mucosa, 90 IM, 39 atypia (dysplasia or adenoma), and 51 adenocarcinoma to evaluate the expression of *p53*, *erb B2*, and *H-ras p21* proteins and to assess the correlation with IM (esp. type III IM, revealing positive HID-AB/PAS for sulfomucin). Positive rate of HID-AB staining revealed an increased trend in comparison between IM, atypia and adenocarcinoma. It was the highest in mucinous carcinoma, but it was not correlated with positive oncoprotein expressions. Positive rates of oncoproteins revealed increased trends in comparison between IM, dysplasia or adenoma and adenocarcinoma in *c-erb B2* and *p53* ($P < 0.01$). The positive rates were highest in intestinal adenocarcinoma (50.0% and 54.2%, respectively). Rates were lowest in biopsy tissue of IM (4.4% and 8.7%, respectively). The expression of *H-ras p21* was not significant in gastric carcinogenesis. There was no significant correlation between oncoproteins and other clinical parameters, such as depth of invasion, differentiation, size and nodal metastasis of the tumors. Therefore, we suggest that *p53* and *erb B2* may play a role in the carcinogenesis of gastric intestinal adenocarcinoma. (Korean J Pathol 1997; 31: 862~872)

Key Words: Gastric adenocarcinoma, Metaplasia, Atypism, *p53*, *erb B2*

접 수: 1997년 1월 29일, 게재승인: 1997년 6월 24일

주 소: 대구시 중구 동인 2가 101, 우편번호 700-422

경북의대 병리학교실, 배한익

ISSN : 0379-1149

*이 논문은 교육부 학술연구조성비(기초의학)에 의하여 연구되었음.

서 론

Lauren의 조직학적 분류¹에 따르면 위선암종은 장형 위암 (intestinal carcinoma)과 미만형 위암 (diffuse carcinoma)으로 나눌 수 있으며, 이 두 종류는 형태학적, 임상적, 역학적으로 서로 다르다. 장형 위암종은 여러 환경인자에 의해서 만성 활동성 위염, 위축성 위염, 장형화생 특히 sulphomucin을 분비하는 제 3형 화생, 선종 (adenoma)이나 이형성 (dysplasia)과 같은 점막 이형성을 거쳐, 궁극적으로 위암종으로 넘어가는 다단계 발암과정의 결과라고 여겨지고 있으며²⁻³, 미만형 위선암종은 정상 위점막에서 발생하나 선행병소가 아직 확실하게 알려지지 않고 있다³.

장형화생과 관련한 여러 연구들은 불완전 장형화생이 완전 장형화생보다 암이 일어날 위험도가 더 높다고 알려져 왔다⁴⁻⁷. Matsukura등⁴은 파네트 세포의 유무, 점액질과 효소의 분포 차이를 이용하여 장형화생을 기본적으로 2가지 아형으로 분류하였고, Jass⁷는 특히 불완전 화생점막에서 sulfomucin의 존재를 강조하였고 또한 파네트 세포와 성숙한 흡수 세포가 없다는 점을 주목하여 장형화생을 완전형 (I형), 불완전형 (II형), sulfomucin을 분비하는 불완전형 (III형)으로 나누었고, 제 III형에서 암의 빈도가 높다고 하였다.

예전부터 위암종에 관한 많은 연구가 진행되어 왔으며 이 중 주목할만한 것은 위암종 환자의 예후를 결정짓는 요인에 관한 연구이다. 진행성 위선암종에서 예후에 관여하는 인자들로는 침윤양상⁸, 종양의 분화정도⁹, 침윤의 깊이¹⁰, 림프절 전이, 병기, DNA ploidy, 림프구 및 Langerhans세포¹¹⁻¹²의 침윤정도 등이 있다. 정상 세포가 암세포로 변환하는 과정에는 세포의 유전학적 변화가 중요한 것으로 여겨지고 있으며, 근자에 종양 유전자의 증폭이나 종양억제 유전자의 돌연변이 등이 위선암종의 병인으로 중요하게 인식되면서 예후인자로 취급되고 있다^{13,14}.

특히 종양억제 유전자중 돌연변이된 p53은 거의 모든 종류의 암에서 발견되고 있는데^{15,16}, p53 단백질은 1970년대 말 SV40 DNA 바이러스의 T 항원에 결합되는 인 단백질로 처음 분리되었고¹⁷ 그것의 유전자는 염색체 17p13.1에 위치하며, DNA에 결합하여 DNA의 수리 및 합성, 세포분화와 고사 (apoptosis)에 관여한다고 알려져 왔다¹⁸⁻²⁰. p53 단백질의 유전자 전사에 대한 영향은 p53 유전자의 돌연변이 혹은 p53 단백질과 세포성 단백질 또는 바이러스성 단백질과의 결합에 의하여 변할 수 있는데 이렇게 변이된 p53 단백질은 wild type p53 단백질에 비하여 DNA에 대한 친화력이 감소되어서 정상적인 기능을 소실함에 따라 세포증식을 유발시킨다¹⁶. 특히 p53 단백질의 발현 정도는 각종 암에서 세포 증식능과 연관이 있고, 그 돌연변이는 전암성 단계에서 발견되므로 발암현상의 중요한 사건으로 인식되고 있어서 예후인자로서 중요하게 여겨지고 있으나 그 작용시기는 아직까지 논란의 대상이 되고 있다^{3,19,21}.

H-ras 암유전자는 세포막에 위치하는 p21 단백을 관장하고 있는데, 이 단백질은 막신호전달계의 G단백으로서 189개의 아미노산으로 구성되어있고 GTPase 활성을 가진다. 흔히 점돌연변이에 의해서 GTPase 활성도의 소실, 또는 현저한 감소로 인하여, ras 단백질이 비활성화되지 않고 지속적인 신호전달을 하게되면 세포는 자동적으로 계속 성장과 분열을 하게된다²². 이 유전자의 돌연변이는 체장암을 비롯한 여러 상하부 위장관 암의 초기 발암과정과 관련이 있다고 여겨지고 있다^{23,24}.

c-erb B2 유전자는 염색체 17q21에 위치해 있고 표피성장인자 수용체와 구조적으로 유사하지만 생물학적으로 뚜렷하게 구분되는, tyrosine kinase계의 분자량이 185~190 kDa에 해당되는 당단백질의 유전정보를 함유하고 있다²⁵. 유방암²⁶, 난소암^{26,27} 및 위선암종²⁸⁻³¹에서 c-erb B2의 증폭정도는 환자의 예후와 관련성이 있다고 알려져 있고, c-erb B2 암유전자 산물에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 검색이 c-erb B2 암유전자 증폭의 지표로 사용할 수 있음이 증명되었다³²⁻³³.

이에 저자들은 위내시경 생검조직 중에서 정상상피 20예, 장형화생 병소 90예, 이형성이나 위선종으로 진단된 39예 및 위절제술에서 위암으로 밝혀진 51예, 합계 200예의 위장 조직을 연구대상으로 H-ras, p53, c-erb B2에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 그 발현빈도를 조사하고, 장형화생의 종류에 따른 차이점, 비정형 병변의 동반시의 차이점 등을 조사하여, 암발생 과정 중 장형화생이 차지하는 중요성에 대하여 병리학적으로 검색하고자 하였다. 본 연구의 목적은 위의 비정형 병변을 암종이나 반응성 병변으로부터 구분하는 방법을 찾아서, 예후를 조기에 결정해줌으로서 지속적인 추적관찰을 통해 암을 조기 발견하여 장형 위장선암종 환자의 예방과 치료에 기여하고자 본 연구를 시작하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

동국대학교 경주병원에서 최근 4년동안 시행한 위 조직표본을 대상으로 보존상태가 양호한 파라핀 포매체를 추출하였는데, 위점막의 정상상피 20예, 장형화생 병소 90예, 이형성이나 위선종으로 진단된 39예 및 위절제술에서 위암으로 밝혀진 51예, 합계 200예의 위 조직을 연구대상으로 하였다.

2. 병리조직학적 검색

연구재료는 10% 중성 포르말린 용액에 고정된 후 파라핀에 포매하고 4~5 μ m의 두께로 마친 후 hematoxylin-eosin 염색을 시행한 조직표본을 이용하였다.

장형화생 병소는 4개 이상의 조직 편을 가지고 있는 것 중에서 적어도 1/2 이상이 장형화생으로 된 것만을 선택하였다. 장형화생은 완전형, 불완전형으로 나누었고, Silva와 Filipe의 방법에 따라³⁵ HID-AB/PAS 염색을 시행하여 sulfomucin을 분비하는 제 III형을 구분하였다 (Fig. 1).

비정형 병변의 위점막상피에 대한 진단 근거는 1993년 대한병리학회 소화기 병리학 연구회에서 마련한 위점막 상피 이형성의 분류지침³⁶에 따랐으며, 이형성의 정도는 WHO의 분류에 따라 고도의 이형성은 위선의 분이나 분지형성을 보이고 세포는 심한 호염기성을 보이며 핵은 과염색성 다형성증, 위중층 형성 및 극성이 소실된 경우에 진단하였고, 중등도의 이형성은 구조적 이상과 함께 세포 저부에 길쭉해진 핵을 가지고 있고 중등도의 핵의 이형성을 보이고 선방구조가 등을 맞대고 있는 양상을 보이는 경우에 진단하였으며 이형성은 있으나 중등도의 이형성보다 약한 경우를 정도의 이형성으로 하였다³⁵.

위암종의 수술 적출물은 대한병리학회에서 채택한 위암의 취급지침에 따라³⁶ 취급하였고, 암의 분화도에 따라 구분하여 조기 위암은 중등도 분화형, 저분화형, 인환세포암으로 나누고, 진행성 위암은 Lauren의 분류¹에 따라 장형 (intestinal type)과 미만형 (diffuse type)으로 구분하였다.

이상의 병리조직학적 구분은 3명의 병리 전문가가 조직검사표본을 각기 따로 편독하여 동일한 진단을 내린 조직표본을 본 연구의 재료로 이용하였다.

3. High Iron Diamine (HID) 염색

위의 장형화생이 있는 전 예에서 sulfomucin을 분비하는 제 III형 장형화생의 양성물을 조사하기 위해

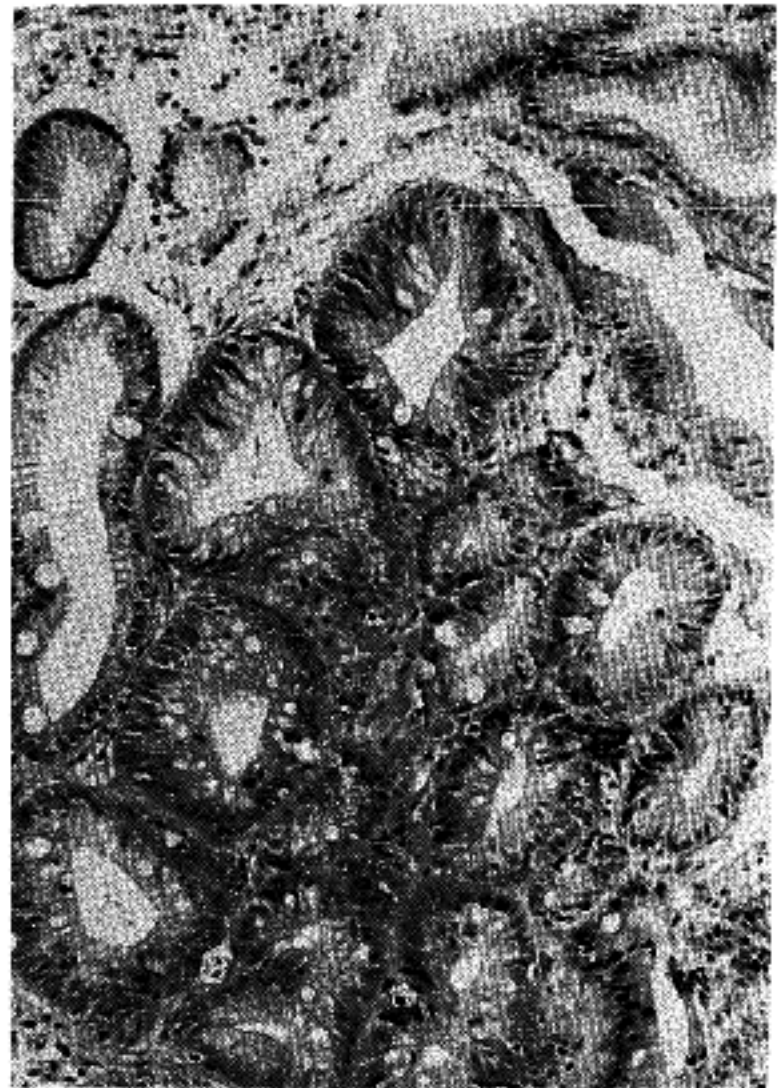


Fig. 1. The complete intestinal metaplasia is associated with distortion and crowding of small immature glands, frequent mitotic figures, and large nuclei.

pH 2.5 High iron diamine-Alcian blue/PAS (HID-AB/PAS)로 점액을 염색하는 방법은 다음과 같다³⁷⁻³⁸.

탈파라핀한 후 절편을 물로 수세하고, 1.4 ml의 40% ferric chloride로 탈이온화한 물 50 ml에 120 mg N, N-dimethyl-m-phenylenediamine.2HCl과 20 mg N, N-dimethyl-p-phenylenediamine.HCl을 넣은 것으로 조성된 시약으로 염색하였다. 절편을 여러번 탈이온화한 물로 수세하고 acetic acid로 30분 동안 처리하여 pH 2.5로 조성한 1% AB로 염색하였다. 마지막으로 절편을 수세하고 탈수시키고 봉입하였다.

그 판정은 HID-AB/PAS 염색에서 세포질의 전액이 암자색으로 염색될 경우에 sulfomucin을 분비하는 양성으로, 푸른색으로 염색되는 것을 음성으로 하였다.

4. H-ras P21, erb B2, p53 단백 발현을 위한 면역조직화학적 염색

DAKO-LSAB Kit를 이용하여 p53 단백, rabbit monoclonal anti-c-erb B2, H-ras P21에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 그 과정을 요약하면 10% 중성

완충 포르말린에 고정한 후 제작한 파라핀 포매피를 4 um의 두께로 박절하여 연속 절편을 만든 후 poly-L-lysine (Sigma)이 입혀진 슬라이드에 부착시킨 후 충분히 건조시켰다. 탈 파라핀과 합수과정을 거친 파라핀 절편을 10 mM citrate 완충액 (pH 6.0)에 담귀 전 처리한 후 microwave oven에서 15분간 처리하였다. 조직내 내재성 과산화수소의 활성을 제거하기 위해 3% 과산화수소에 15분간 처리하고, Tris-buffered saline (TBS, 0.1M, pH 7.6)으로 5분씩 3회 세척하였다. 배경의 비특이적인 결합을 방지하기 위해 차단혈청으로 20분동안 전처리하고, 1차항체인 H-ras p21 (DAKO), p53 protein (DAKO), 및 erb B2 (Oncogene Science)를 TBS로 각각 1 : 50, 1 : 100, 1 : 100으로 희석한 후 실온에서 1시간 반응시킨 후 다시 TBS로 5분간 3회 세척하였다. DAKO-LSAB Kit를 이용하여 biotinylated antibody와 peroxidase가 부착된 streptavidin을 결합시킨 후 AEC (3-amino-9-ethyl carbazole)로 발색하였다.

여러 위 조직에서 H-ras P21, erb B2, p53 단백질의 면역염색을 시행하여 3명의 병리 전문의가 같이 판독하고 결정하였는데, 그 판정은 연구대상인 병소의 전체 세포 중 10% 미만의 세포가 양성을 보일 때를 음성으로, 10% 이상일 때를 양성으로 판정하였다.

5. 통계학적인 분석

각군의 변수를 t-test와 chi-square test 및 Fisher's exact test로 분석하고 P 값이 0.05 이하인 것을 유의하는 것으로 하였다.

결 과

1. 임상적 고찰

장형화생을 보이는 내시경 생검조직의 경우는 남자가 65.6%, 여자가 34.4%였고, 60세 미만이 83.3%, 60세 이상이 16.7%였다. 비정형 병변으로 진단된 경우는 남자가 79.5%, 여자가 20.5%였으며 60세 미만은 59%, 60세 이상은 41%였다. 위 절제술을 받은 위선암종 51예의 환자중 남자가 74.5%, 여자가 25.5%로서 남녀 비는 2.9:1이었다. 나이 분포는 60세 이상의 환자 군에서 진행성 위선암종이 61.1%, 조기 위선암종이 73.3%였다.

2. 병리조직학적 연구

Silva와 Filipe의 기준에 따라³³ 장형화생을 관찰하였는데, 파네트 세포나 소장 흡수세포가 주상 세포와 섞여 나타나는 완전형, 주상세포만 나타나는 불완전형 (대장형)으로 구분하였을 때, 불완전형으로

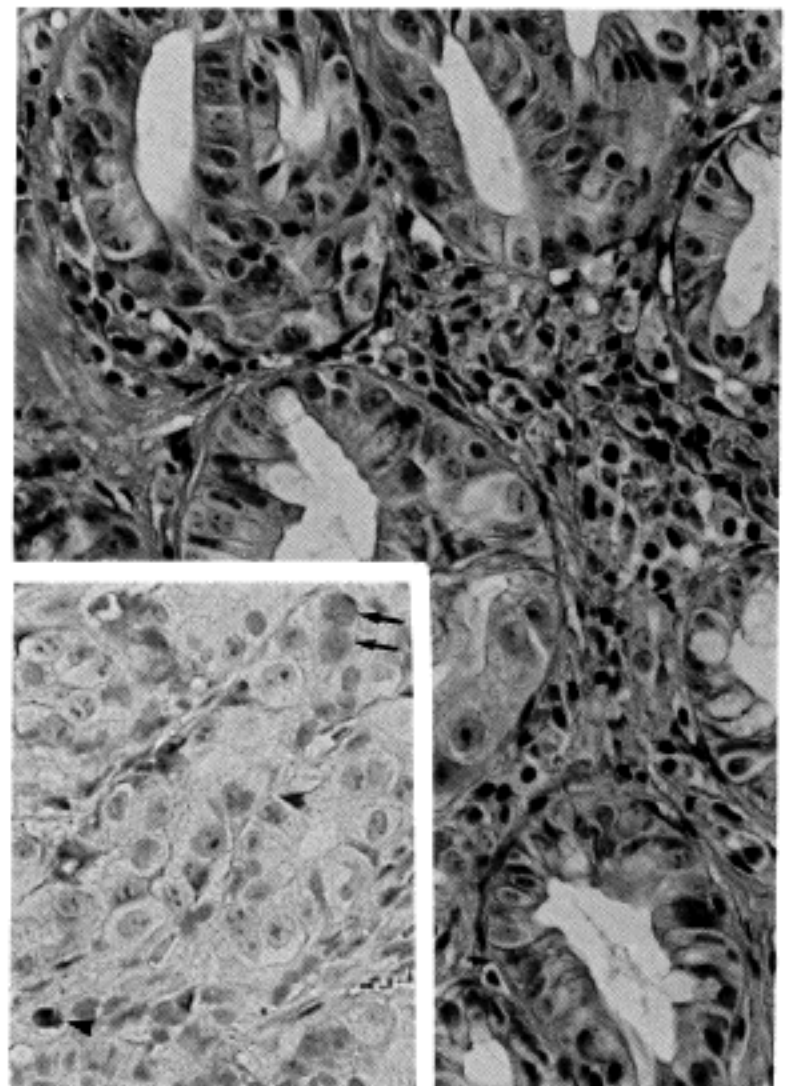


Fig. 2. The Moderate cellular atypism(dysplasia) with ciliated intestinal metaplasia represents large nuclei and prominent nucleoli. Immunostaining of p53 protein reveals mild(arrows) and strong(arrow head) intranuclear overexpression in a cell(inset).

갈수록 위의 선은 구조적인 이상이 심하였고 크기가 작아졌으며 선상피세포는 핵이 커지고 분열상을 나타내어 미성숙한 양상을 보여주었다 (Fig. 1).

위의 이형성 병소는 대부분의 경우 선종을 분명하게 구분할 수 있어서 이형성 상피 분류 시안에 따라 IIIa로 진단할 수 있었으나, 반응성 위선 변화나 장형화생 인접부위에 있는 미성숙 선이라고 보기에, 구조적인 이상이 뚜렷하고 세포학적으로도 핵이 크고 핵인이 뚜렷하며 이형성이라고 분명히 판정될 수 있는 경우에만 III로 진단하였다 (Fig. 2). 이중 선종 (IIIa)이 22예, 이형성이 9예, 암종과 구분하기 힘든 고도의 비정형 병변이 8예였다.

위선암종은 침윤 암을 Bormann분류에 의하면 II형이 19.4%, III형이 55.7%, IV형이 22.2%였고, Lauren 분류에 의하면 미만성 위선암종이 45.1%, 장형 위선암종이 47.1%, 혼합되어 있는 것이 7.8%였다 (Table 1). 림프절에 전이된 경우는 침윤성 위암에서 69.4% 조기 위암인 경우는 13.3%였다.

3. HID-AB/PAS염색 양성들

위 점막의 상형화생은 HID-AB/PAS 염색에서 세포질의 점액이 암자색으로 염색된 경우에 양성으로, 푸른색으로 염색되는 것을 음성으로 하였다. 제 I형

Table 1. Positive rate of HID-AB/PAS(pH2.5) staining in metaplasia, dysplasia, and adenocarcinoma

	Total	Number	%
Metaplasia	90	21	23.3*
Dysplasia	39	10	25.8
Adenoma	22	8	36.4
III	9	2	22.2
IV	8	2	25.0
Adenocarcinoma	51	24	47.1
EGC	15	7	48.7
AGC	36	17	47.2
Diffuse	23	11	47.8
Intestinal	24	13	54.2
Mixed	4	2	50.0

*P<0.05 by chi-square test for trend, comparison between metaplasia, dysplasia and adenocarcinoma

장형화생 (완전형 혹은 소장형)은 원주세포나 주상세포가 HID염색에서 음성으로 푸르게 염색되는 것으로 인지할 수 있었고, 제 II형 (불완전형, 대장형)은 주상세포와 오목세포가 음성으로 푸르게 염색되는 것으로 판정하였다 (Fig. 3).

Sulfomucin을 분비하는 제 III형은 HID-AB/PAS 염색에서 세포 표면이나 세포질내 점액이 암자색으로 염색되는 것으로 판정하였다. 그 양성들은 위점막의 장형화생에서는 23.3%, 비정형 병변에서는 전체적으로는 25.8% (III에서는 23%, IIIa에서는 28%)를 보이며 주어서 장형화생과 선종에서는 양성들의 통계학적 차이가 없었다 (P>0.05). HID 염색은 위선암종에서 그 양성률이 가장 증가하였는데 전체적으로는 양성률이 46%였으며 조기위암과 진행위암의 차이는 없었다. 이중 점액선암종, 인환세포암종, 저분화 선암종과 같이 많은 점액 변성을 가진 경우는 56%, 중등도 이상의 분화를 보여 주는 진행성 위선암종은 35%이었다. 주로 암종 주변의 이형성 병소에서 특히 강한 염색성을 보여주었다. 세포질에서 강한 양성으로 보이는 것은 인환세포암종일 경우에 주로 관찰되었다.

4. p53, erb B2, H-ras 단백질에 대한 면역조직화학적 염색

p53에 대한 염색은 핵내 염색을 보여수었다. 미란,

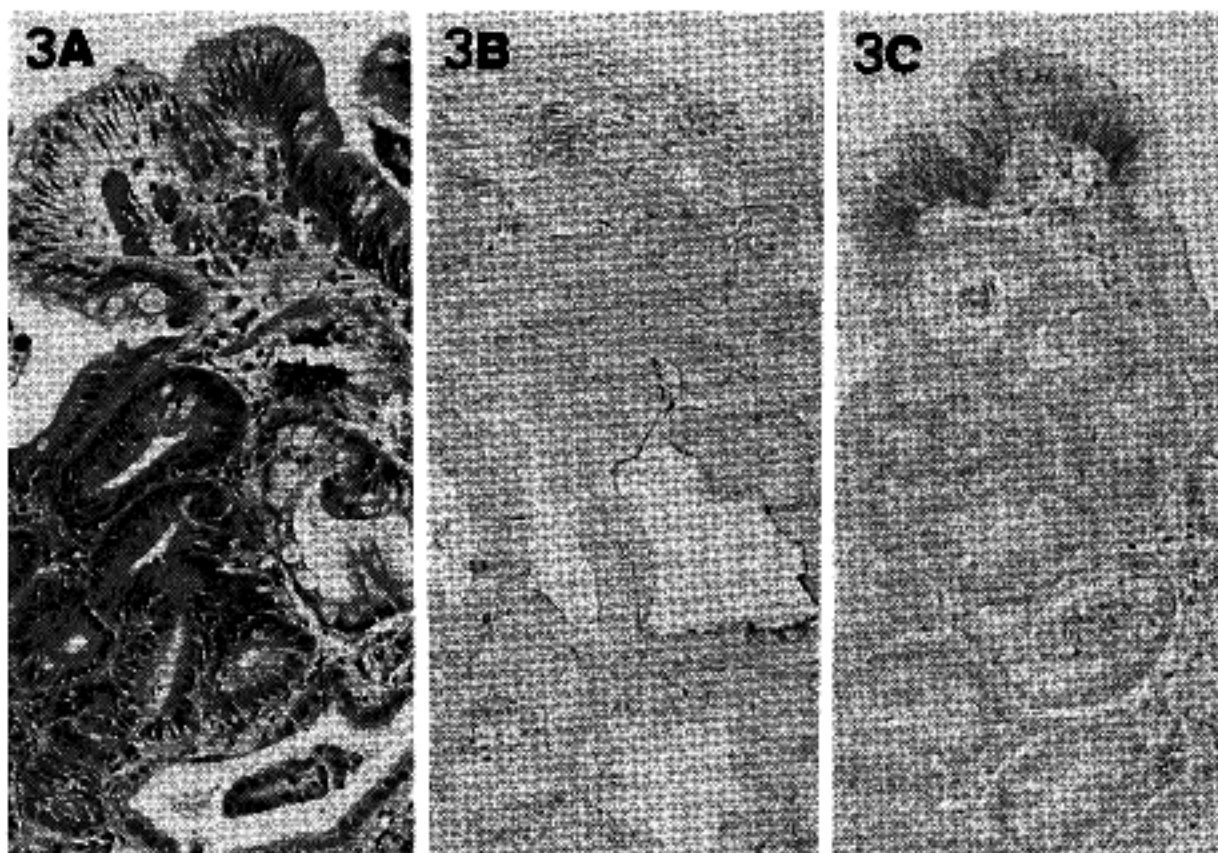


Fig. 3. An adenoma shows mild cellular atypism with elongated nuclei and is surrounded by intestinal metaplasia (3A). HID-AB/PAS (pH2.5) reveals focal sulfomucin-positive dark purple staining (3B). The surface epithelium shows strong membrane staining for erb B2 oncoprotein (3C).

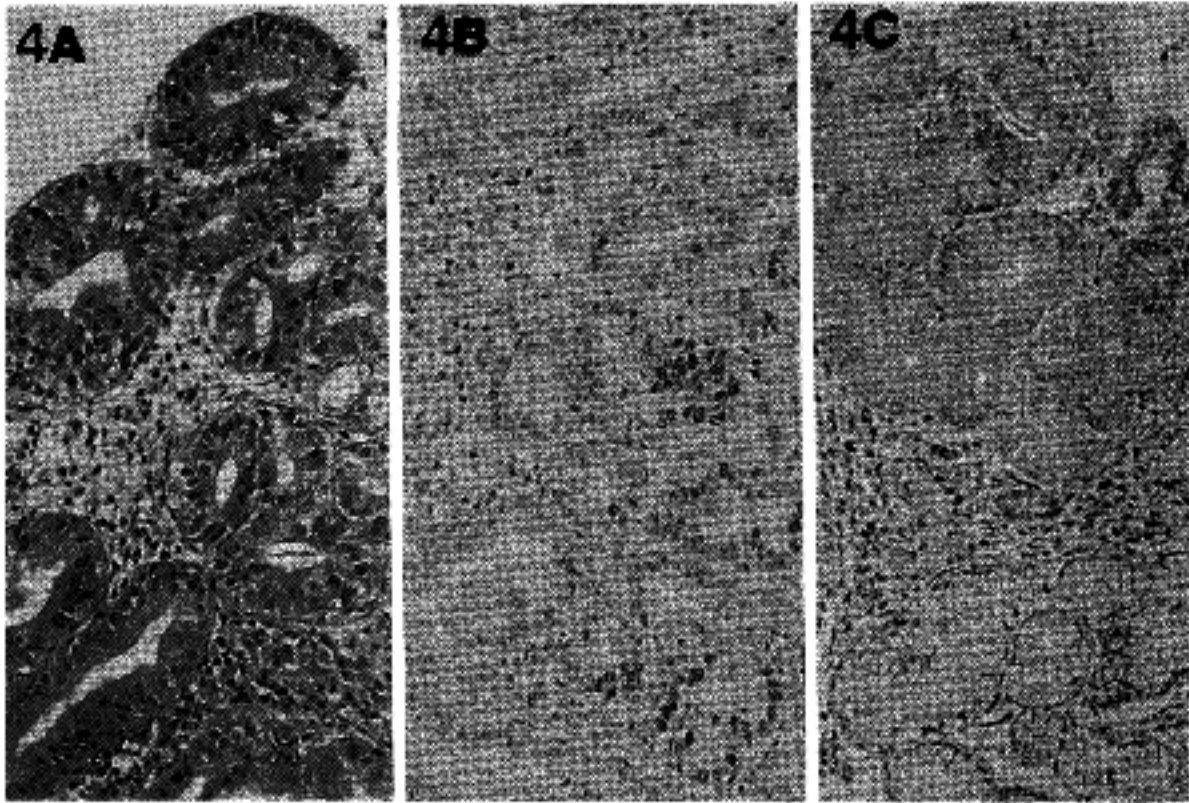


Fig. 4. An Adenoma shows moderate cellular atypism (4A). The Immunostaining for P53 protein shows focal strong intranuclear accumulation (4B). The immunostaining for c- H-ras oncoprotein shows moderate cytoplasmic accumulation (4C).

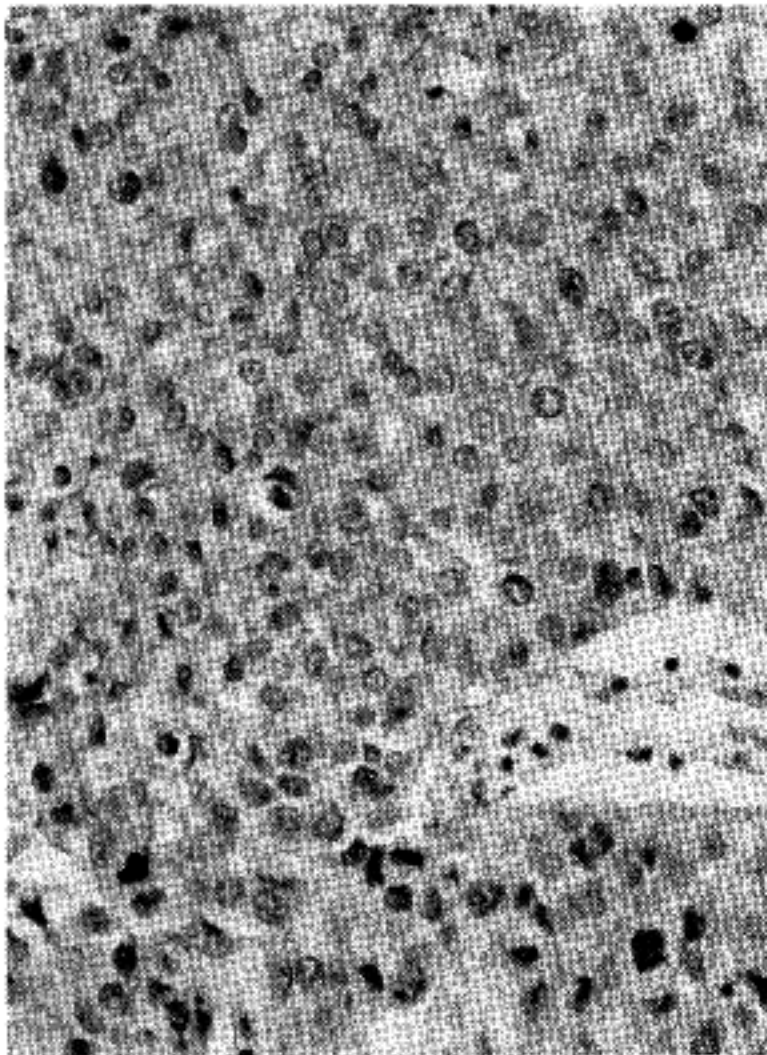


Fig. 5. An intestinal adenocarcinoma shows strong membrane staining for erb B2.

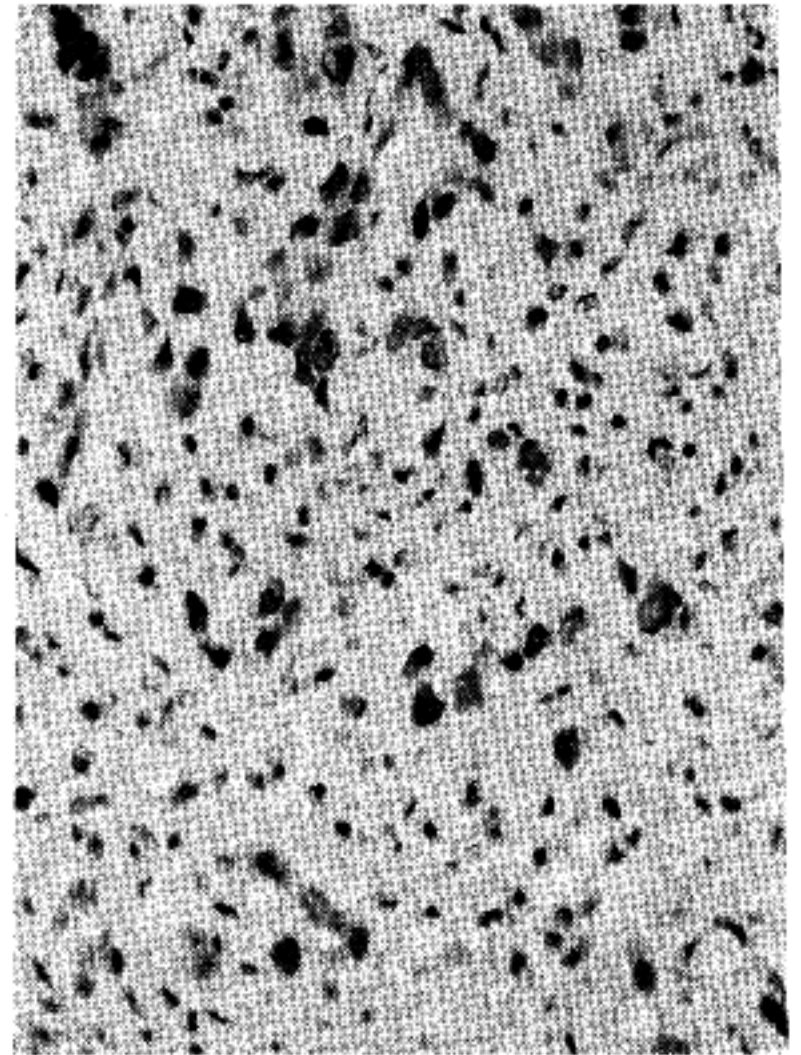


Fig. 6. p53 Immunohistochemical staining discloses strong intranuclear accumulation in diffuse adenocarcinoma.

Table 2. Positive rate of *erb* B2, *p53*, and *c-Ha-ras* p21 immunohistochemical staining in metaplasia, dysplasia and adenocarcinoma

	Total number examined	<i>erb</i> B2		<i>p53</i>		H- <i>ras</i>	
		Number	%	Number	%	Number	%
Metaplasia	90	4*	4.4	6*	6.7	2* ⁸	2.2
Dysplasia	39	8	20.5	13	33.3	4	0.3
III	9	2	22.2	3	33.3	1	11.1
IIIa	22	3	13.6	8	36.4	2	9.1
IV or IVa	8	3	37.5	2	25.0	1	12.5
Adenocarcinoma	51	28	54.9	22	43.1	1	2.0
EGC	15	12	66.7	7	46.7	1	14.3
AGC	36	16	44.4	15	41.7	0	0.0
Diffuse	23	10	43.5	7	30.4	0	0.0
Intestinal	24	12	50.0	13	54.2	1	4.2
Mixed	4	2	50.0	1	25.0	0	0.0

*P<0.01 by chi-square test for trend, comparison between metaplasia, dysplasia and adenocarcinoma

⁸ P<0.05 by chi-square test, comparison between metaplasia and dysplasia

비정형 병변 혹은 선암종일 경우에 *p53* 염색에서 국소적으로 양성을 보여주기도 하였으나 10%가 되지 않을 경우 음성으로 판정하였다 (Fig. 2). 점막화생에서 *p53*염색은 6.7%를 보여주었고, 비정형 병변일 경우는 33.3%, 미만성 선암종에서 30.4%, 장형 선암종일 경우 54.2%에서 양성을 보여주었다 (Fig. 3, 4, 6). 조기위암과 진행위암의 통계학적인 차이는 없었다. 이형성 병변 중에서는 선종에서 그 양성률이 높았다 (Table 1).

erb B2 염색의 양성세포는 주로 세포막 염색을 보여주고 있었다 (Fig. 3). *erb* B2 염색 양성물은 장형화생에서도 4%에서 관찰되어 이형성이 없는 조직에서도 유의하게 양성으로 관찰되는 경우가 있었다. 비정형 병변에서는 전체적으로는 20.5%였다. 위선암종 중 조기위암에서 66.7%, 진행위암에서 44.4%였다. 비정형 병변이나 암종으로 갈수록 통계적으로 유의하게 그 양성률이 증가하였으며 (P<0.01). 장형 위선암종일 경우가 50%로 가장 높았다 (Fig. 5).

H-*ras* 염색은 세포질 염색을 보여주었다 (Fig. 4). H-*ras* 염색의 양성물은 장형화생에서는 2.2%이었고 비정형 병변에서는 전체적으로 10%, 위암종일 경우 2%였으나 분류에 따른 차이는 없었다.

p53, *erb* B2의 면역조직화학 염색은 반응성 병소, 장형화생, 위선암종의 감별진단에 유용한 검사법으로 사료되나 H-*ras*는 위 병변의 감별진단에 도움을 주지 못하였다. HID-AB/PAS 염색의 양성률과 H-*ras*, *p53*, *erb* B2 단백질의 발현과는 관련이 없었다. 즉 HID 양

Table 3. Sensitivity and specificity of dysplasia and adenocarcinoma by HID-AB/PAS histochemical, and *erb* B2, *p53* and H-*ras* immunohistochemical staining

Groups		Sensitivity(%)	Specificity(%)
HID	Adenocarcinoma	47.1	76.0
	Dysplasia	25.6	68.1
<i>erb</i> B2	Adenocarcinoma	54.9	91.5
	Dysplasia	18.0	76.6
<i>p53</i>	Adenocarcinoma	43.1	85.3
	Dysplasia	33.3	79.4
H- <i>ras</i>	Adenocarcinoma	2.0	95.4
	Dysplasia	10.3	97.9

성인 소위 제 III형 화생에서 H-*ras*, *p53*, *erb* B2 단백질의 발현을 조사하였으나, 다른 제 I, II형의 일반화생과 통계학적으로 동일하지 않았고 양성률이 유의하게 높지도 않았다.

5. *p53*, *erb* B2, H-*ras* 단백질에 대한 염색의 민감도와 특이도 (Table 3)

이형성 병소와 위선암종의 경우에서 HID-AB/PAS 염색과 *p53*, *erb* B2, 및 H-*ras* 단백질에 대한 염색의 양성률을 가지고 민감도와 특이도를 조사하였던 바, 위선암종일 경우는 *p53*과 *erb* B2 단백질의 면역조직

화학적 검사가 민감도와 특이도에서 증가하여 진단에 도움이 될 수 있다고 생각되나, 이형성의 경우 특이도는 증가하였으나 민감도가 떨어져 그 판정에 신중을 기하여야 할 것으로 여겨진다. H-ras 염색은 민감도가 너무 떨어져서 위의 이형성 병소나 위암종의 예후 판정에 기여하는 검사법으로 고려되기는 어려울 것으로 사료된다.

고 찰

만성 위축성 위염과 장형화생은 오랫동안 위암의 병인에 중요한 역할을 할 것으로 여겨져 왔으나 결정적인 증거는 찾지 못하고 있다^{39,40}. 그러나 장형화생이 주로 선종이나 위암종의 주변에서 흔히 관찰되는 것은 발암과정에서 장형화생이 관여할 것이라는 것을 시사하는 소견이며, 역학적 조사나 병리학적 연구들^{41,42}은 위축성 위염과 장형화생이 장형위암과 밀접한 관련이 있다고 주장하고 있다. 한편 여러 분자병리학적 연구²에 따르면 암유전자나 항암유전자가 위암의 발생과 진행에 가담한다고 한다.

한편 Silva와 Filipe³⁸은 화생 조직내 점액은 완전형이라고 할지라도 소장의 것과 완전히 같은 것은 아니라고 하였다. 공장의 배상 세포내의 점액은 Alcian blue에 염색되는 sialoglycoprotein인데 비해 화생 점막내 점액은 high iron diamine에 염색되는 황단백질 (sulfoprotein)이다^{1,35}. Matsukura⁴는 high iron diamine에 양성 반응을 보이는 세포는 위 내에서 alkaline phosphatase를 생산하지 않고 파네트 세포도 없는 부위에 주로 발견된다는 것을 알았고 일부 연구자들은 화생 점막에서 생산하는 점액을 구분하기 위해 "소장형과 대장형"이라는 용어를 사용하고 있다⁵⁻⁷. 장형 화생의 아형과 각각에 대한 여러 연구자들은 불완전 장형화생에서 완전 장형화생보다 암이 일어날 위험도가 더 높다고 주장하였다⁴⁻⁶. Matsukura등⁴은 파네트 세포의 유무, 점액질과 효소의 분포 차이를 이용해 장형화생을 기본적으로 2가지 아형으로 분류하였고, 다시 완전형 (totally complete), 불완전형 (totally incomplete), 혼합형 (mixed)의 세 가지로 세분하였다. Jass⁸는 특히 불완전 화생점막내 sulfomucin의 존재를 강조하였고 또한 파네트 세포와 성숙한 흡수 세포가 없다는 점을 주목하였다. Silva와 Filipe³⁸은 화생의 3가지 단계를 기술하면서, 파네트 세포는 미성숙한 형태로 갈수록 그 빈도가 감소하고 위장 선구조의 이상이 나타나면서 미성숙해지고, sulfomucin은 미성숙 형태에서 가장 강하게 염색된다고 하였으며 제 III형 화생은 정상 장상피와 여러

가지 점에서 차이가 난다고 하였다. HID-AB/PAS 염색에서 제 I형 장형화생 (완전형)의 원주상 위장세포나 주상세포는 청색으로 염색되며, 불완전형 화생의 주상세포와 관련된 오목세포는 청색으로 염색되어 음성이 되나, sulfomucin을 분비하는 제 III형 화생에서는 HID-AB/PAS 염색에 양성으로 나타나서 제 II형과 구분된다고 하였다. Sulfomucin을 분비하는 제 III형 장형화생에 대한 의의는 위암의 발암과정과 관련된 병리조직학적, 분자병리학적 및 역학적 연구⁴³를 통해서 관찰한 바에 의하면 장형 위선암종의 발생과 긴밀한 관계를 가지고 있는 것으로 여겨지고 있다. 본 연구에서도 sulfomucin 양성률은 위장 점막의 장형화생에서는 23.3% 비정형 병변에서는 25.8%를 보여주어서, 장형화생과 선종에서는 양성률의 통계학적 차이가 없었으나 ($P>0.05$), 장형 위선암종에서 그 양성률이 54.2%로써 가장 증가하였다. 그러나 HID-AB/PAS 염색의 양성률과 H-ras, p53, erb B2 발현과는 관련이 없었다. 즉 HID 양성인 소위 제 III형 화생에서 H-ras, p53, erb B₂ 단백질에 대하여 면역조직화학적으로 염색을 했는데, 다른 제 I, II형의 일반 화생과 통계적으로 동일하지 않았고 양성률이 유의하게 높지도 않았다. 이는 장형화생 자체에 대한 종양 단백질의 양성률이 높지 않기 때문으로 여겨지고, 많은 재료를 가지고 검사를 하여야 그 유의성을 찾을 수 있을 것으로 여겨진다.

위장의 비정형 병변에서 p53 단백질 발현여부는 연구자에 따라 다양한데, Hurlimann등⁴⁴과 오등⁴⁵의 결과에 의하면 선종의 경우 이형성의 정도에 관계없이 항p53단백 항체 염색에서 음성을 보였다고하나, 4%에서 38%에 이르는 양성률을 보고한 연구자들⁴⁶⁻⁴⁸도 있다. 이와 같이 다양한 차이가 나는데 대한 해석으로 Sheu등⁴⁹과 Kupryjanczyk등⁵⁰은 p53 돌연변이를 검색하는데 면역조직화학적 염색은 그 신뢰도가 떨어진다고 하였는데, 그 이유로 wild type p53 단백질 세포질의 다른 단백질과 결합하여 반감기가 증가하기 때문에 검출되기도 하고, p53의 조절유전자에 변이가 생겨서 검출될 수도 있다고 하였다. 본 연구의 목적이 많은 환자의 내시경 생검조직에서 p53 양성률을 연구함으로써 선별된 환자의 예후에 기여하고자 하는 것이나, 이러한 면역조직화학적 검사의 단점을 고려하여 판정하여야 할 것으로 사료된다. 본 연구에서 p53 단백질에 대한 면역조직화학적 염색은 장형화생에서 6.7%, 선종과 이형성 병소에서 33.3%의 양성을 보였으며, 장형 위선암종의 54.2%, 미만형 위선암종에서 30.4%에서 양성률을 보여주었다. 분자병리학적 여러 연구문헌^{2,51-52}에 의하면, p53 변이의 빈

도가 장형화생에서 10~37.5%, 위선종이나 이형성에서 30~58.3%, 위선암종에서 43~66.7%로 점차 그 빈도가 증가함을 들어서 *p53* 변이는 대장암종의 발암과정과 같이, 위암종의 발암과정에서도 초기 사건으로 주장하기도 하는 바, 본 연구 결과도 장형화생에 대한 양성률의 결과를 제외하면 동일한 결과라고 여겨지기 때문에 발암과정의 초기에 *p53*이 관련한다는 설을 지지하는 결과라고 여겨진다. 그러나 여러 분자병리학적 연구가 병행되어야 규명될 수 있을 것으로 사료된다. Sakurai 등⁵³은 *p53* 돌연변이가 국소적으로만 나타날 때는 선종에서 선암종으로의 변이가 일어나는데 중요한 역할을 하지 않을 것으로 여겨진다고 하였다. 본 연구에서도 장형화생과 동반된 비정형 병소에서 흔히 양성을 보이는 세포가 나타나기도 하였다. 병소의 핵염색에 있어서 10%가 되지 않을 때는 음성으로 하였으나 이 또한 장형화생에서 이형성 병변으로 넘어간다는 설을 지지하는 소견으로 여겨진다. 본 연구에서 종양의 크기, 조직학적 분화도, 위암의 병기에 따른 양성률의 차이는 없었다.

*c-erb B2*는 위선암종의 증식과 침윤에 중요한 역할을 하며⁵⁴, 수술 후 림프절 재발이 있는 경우는 없는 경우보다 *c-erb B2* 단백질의 과발현의 빈도가 유의하게 높다고도 하지만, Hilton과 West⁵⁵는 *c-erb B2*가 양성인 경우 전 예에서 림프절 전이가 있었으나 오히려 예후가 좋다고 하였다. 또 Mizutani 등⁵⁶은 조기 위암인 경우 *c-erb B2* 양성인 환자의 생존율은 *c-erb B2* 음성인 환자에서보다 불량했으나 진행 위암의 경우는 그렇지 않다고 하였다. 또 Yonemura 등⁵⁷은 조기 위암에서는 *c-erb B2* 단백질의 발현과 예후는 유의한 차이가 없었으나 진행위암에서는 유의한 차이가 있다고 하는 등 다양한 연구 결과가 나와 있다. 본 연구에 있어서는 비정형 병변에 비해서 유의하게 선암종에서 발현율이 유의하게 높게 나왔으며 특히 조기 위암일 경우 66.7%의 높은 발현율을 보여 주었다. 그러나 세포의 이형성이 없는 조직에서도 양성으로 나오기도 하여 그 예후인자로써의 가치는 떨어진다고 본다. 또한 이 실험에서 종양의 크기, 조직학적 분화도, 위암의 병기에 따른 양성률의 차이는 없었다.

본 연구에서 *H-ras*는 전 예에서 그 양성률이 극히 낮았고, 오히려 장형화생이나 이형성 병소 정상 위 분비선의 경부 등에서 국소적으로 발현되기도 하였다. 따라서 위선암종의 다단계 발암과정에는 *H-ras*가 중요한 관련인자는 아닌 것으로 여겨진다.

결 론

장형 위선암종의 전구병변으로 여겨지고 있는 선종 혹은 이형성이 위점막의 장형화생과 어떤 연관성을 가지고 있는지를 알아보기 위하여 본 연구자들은 내시경 생검조직 중에서 정상상피 20예, 장형화생 병소 90예, 이형성이나 위선종으로 진단된 39예 및 위절제술에서 위암으로 밝혀진 51예, 합계 200예의 위 조직을 연구대상으로 하여, HID-AB/PAS 염색을 시행하여 sulfomucin을 가지는 제 III형의 장형화생을 관찰하였고, *H-ras*, *p53*, *c-erb B2*에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 그 발현빈도를 조사하였고, 알려져 있는 예후인자들과 상관관계를 병리학적으로 검색하였다.

HID-AB/PAS 염색의 양성률은 장형화생, 비정형 병변, 위암종으로 갈수록 증가하였으나 발현되는 종양단백의 양성률과는 관련이 없었다. *c-erb B2*와 *p53* 단백질의 양성률은 장형화생, 비정형 병변, 위암으로 갈수록 증가하는 경향을 보여 주었으며 (각각 $p < 0.01$), 장형 위암에서 가장 높았고 (각각 50.0%, 54.2%), 장형화생에서 가장 낮았다 (각각 4.8%, 8.7%).

따라서 *p53*과 *erb B2*는 장형 위암의 발암과정에 중요한 역할을 할 것으로 여겨지며, 내시경 검사에서 비정형 병변과 암종을 구분하는데 그 진단의 정확도를 높일 수 있다고 여겨지며 장형 위암의 조기발견과 치료에 기여할 수 있다고 여겨진다. *H-ras* P21 단백질은 위암의 발암과정에서 중요한 관련 인자는 아닌 것으로 사료된다. 발현 단백질과 종양의 침윤 깊이, 분화, 크기 및 림프절 전이 등의 예후인자들과는 중요한 상관성이 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. Tahara E. Molecular mechanism of stomach carcinogenesis. J Cancer Res Clin Oncol 1993; 119: 265-72.
3. Sakurai S, Sano T, Maeshima A, et al. Gastric adenoma-carcinoma sequence with special reference to *p53* and *Ki-ras* gene alterations. Virchows Arch 1995; 427: 119-24.
4. Mastukura N, Suzuki K, Kawachi T, et al. Distribution of marker enzymes and mucin in intestinal metaplasia in human stomach and relation of complete and incomplete types of intestinal metaplasia to min-

- ute gastric carcinomas. J Natl Cancer Inst 1980; 65: 231-40.
5. Segura DI, Montero C. Histochemical characterization of different types of intestinal metaplasia in gastric mucosa. Cancer 1983; 52: 498-503.
 6. Jass JR. Role of intestinal metaplasia in the histogenesis of gastric cancers. Precursors of gastric cancer. In: Ming S-C, ed. New York: Praeger, 1984; 167-78.
 7. Ma J, De Boer WGRM, Nayman J. Intestinal mucinous substances in gastric intestinal metaplasia and carcinoma studied by immunofluorescence. Cancer 1982; 49: 1664-7.
 8. Ming SC. Gastric carcinoma-a pathological classification. Cancer 1977; 39: 2475-84.
 9. Rosai J. Ackerman's surgical pathology. 7th ed, The C.V., Mosby, Washington, D.C., 1989, pp508.
 10. Sunderland DA, Mcneer G, Ortega LG, Pearce LS. The lymphatic spread of gastric cancer. Cancer 1953; 6: 987-97.
 11. Murphy JB, Watanabe W, Starum E. Studies of lymphoid activity V. Relation between time and extent of lymphoid stimulation induced by physical agents and degree of resistance to cancer in mice. J Exp Med 1975; 33: 423-9.
 12. 장태정, 양우익, 박찬일, 최인준. 위암종내 S-100 단백 양성 수지상 세포의 분포와 위암종의 악성도와의 관계. 대한병리학회지 1991; 25: 327-37.
 13. Tahara E. Molecular biology of gastric cancer. World J Surg 1995; 19: 384-8.
 14. Cho JH, Noguchi M, Ochiai A, Hirohashi S. Loss of heterozygosity of multiple tumor suppressor genes in human gastric cancers by polymerase chain reaction. Lab Invest 1996; 74: 835-41.
 15. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. Science 1991; 253: 49-53.
 16. Harris CC, Hollstein M. Clinical implication of the p53 tumor-suppressor gene. N Engl J Med 1993; 329: 1318-27.
 17. Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SV40 transformed cells. Nature 1979; 278: 261-3.
 18. Lowe SW, Schmitt EM, Smith SW, Osborne BA, Jacks T. p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. Nature 1993; 362: 847-9.
 19. Levine AJ, Momand J, Finlay C. The p53 tumor suppressor gene. Nature 1991; 351: 453-6.
 20. Lane DP. p53, guardian of the genome. Nature 1992; 358: 15-6.
 21. Craanen ME, Blok P, Dekker W, Offerhaus GJA, Tytgat GNJ. Chronology of p53 protein accumulation in gastric carcinogenesis. Gut 1995; 36: 848-52.
 22. The molecular biology of esophageal and gastric cancer and their precursors: oncogenes, tumor suppressor genes, and growth factors. Hum Pathol 1994; 25: 968-81.
 23. Kim YJ, Ghu HD, Kim DY, Kim HJ, Kim SK, Park CS. Expression of cellular oncogenes in human gastric carcinoma: c-myc, c-erb B2 and c-Ha-ras. J Surg Oncol 1993; 54: 167-70.
 24. Ohuchi N, Hand pH, Merlo G, et al. Enhanced expression of c-Ha-ras P21 in human stomach adenocarcinomas defined by immunoassays using monoclonal antibodies and in situ hybridization. Cancer Res 1987; 47: 1413-20.
 25. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. Science 1985; 230: 1132-9.
 26. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer; correlation of relapse and survival with amplification of HER-2/neu oncogene. Science 1987; 235: 177-81.
 27. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. Science 1989; 244: 707-12.
 28. Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, et al. Evaluation of immunoreactivity for c-erbB-2 protein as a marker of poor short-term prognosis in gastric cancer. Cancer Res 1991; 51: 1034-8.
 29. Mizutani T, Onda M, Tokunaga A, Yamanaka N, Sugisaki Y. Relationship of c-erbB-2 protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. Cancer 1993; 72: 2083-8.
 30. Tateishi M, Toda T, Minamisono Y, Nagasaki S. Clinicopathological significance of c-erbB-2 protein expression in human gastric carcinoma. J Surg Oncol 1992; 49: 209-12.
 31. 한상철, 유완식, 허태린. 인체 위선암조직에서 c-erbB-2 유전자의 증폭. 외과학회지 1996; 51: 32-8.
 32. Sasaki K, Tomita Y, Azuma M, Shida S, Simizu B. Amplification and overexpression of the c-erbB-2 protooncogene in human gastric cancer. Gastroenterol JPN 1992; 27: 172-8.
 33. Wenter DJ, Tuzi NL, Kumar S, Gullick WJ. Overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein in human breast carcinomas; immunohistological assessment correlates with gene amplification. Lancet 1987; 11: 69-72.
 34. 대한병리학회 소화기 병리학 연구회. 위의 이형성 상피 병변. 대한병리학회 추계학술대회 심포지움, 1993.

35. 한원철, 문형배. 위 이형성증과 선암종에서 CEA, AgNORs 및 PCNA의 진단적 의의. 대한병리학회지 1995; 29: 61-7.
36. 대한병리학회 소화기병리학 연구회. 위암의 병리학적 취급규정 시안. 대한병리학회지 1992; 26: 154-63.
37. Spicer SS. Diamine methods for differentiating mucosubstances histochemically. J Histochem Cytochem 1965; 13: 211-34.
38. Silva S, Filipe MI. intestinal metaplasia and its variants in the gastric mucosa of Portuguese subjects: a comparative analysis of biopsy and gastrectomy material. Hum Pathol 1985; 17: 988-95.
39. Correa P, Cuello C, Duque E. Carcinoma and intestinal metaplasia in the stomach of Colombian migrants. J Natl Cancer Inst 1970; 44: 297-6
40. Sipponen P, Kekki M, Haapakoski J, Ihamaki T, Siurala M. Gastric cancer risk in chronic atrophic gastritis: statistical calculations of cross-sectional data. Int J Cancer 1985; 35: 173-7.
41. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifocal process. First American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention. Cancer Res 1992; 52: 6735-40.
42. Nyayo T. Microscopic cancer of the stomach: a study on histogenesis of gastric carcinoma. Int J Cancer 1975; 16: 52-60.
43. Solcia E, Fiocca R, Luinetti O, et al. Intestinal and diffuse gastric cancers arise in a different background of *Helicobacter pylori* gastritis through different gene involvement. Am J Surg Pathol 1996; 20(Suppl 1): S8-S22.
44. Hurlimann J, Saraga EP. Expression of p53 protein in gastric carcinomas; association with histologic type and prognosis. Am J Surg Pathol 1994; 18: 1247- 53.
45. 오소영, 강명재, 이동근, 최호열, 김상호. 위선종 및 위암종에서 p53 단백질 발현에 관한 연구. 대한병리학회지 1996; 30: 886-92.
46. Martin HM, Filipe MI, Morris RW, Lane DP, Silvestre F. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. Int J Cancer 1992; 50: 859-62.
47. Tamura G, Kihana T, Nomura K, Terada M, Sugimura T, Hirohashi S. Detection of frequent p53 gene mutations in primary gastric cancer sorting and polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism analysis. Cancer Res 1991; 51: 3056-8.
48. 조성진, 이주환, 김애리, 최종상, 원남희. 위선종, 조기위암 및 진행성 위암에서 p53단백 표현에 관한 연구. 대한병리학회지 1996; 30(Suppl): 162
49. Sheu LF, Chen A, Tseng HH, et al. Assessment of p53 expression in nasopharyngeal carcinoma. Hum Pathol 1995; 26: 380-6.
50. Kupryjanczyk J, Bell DA, Dimeo D, et al. p53 gene analysis of ovarian borderline tumors and stage I carcinomas. Hum Pathol 1995; 26: 387-92.
51. Uchino S, Noguchi M, Hirota T, et al. High incidence of nuclear accumulation of p53 protein in gastric cancer. Jpn J Clin Oncol 1992; 22: 225-31.
52. Chiao YH, Rugge M, Correa P, Lehmann HP, Scher WD. p53 Alteration in gastric precancerous lesions. Am J Pathol 1994; 144: 511-7.
53. Sakurai S, Sano T, Maeshima A, et al. Gastric adenoma-carcinoma sequence with special reference to p53 and Ki-ras gene alterations. Virchows Arch 1995; 427: 119-24.
54. Yamagiwa H, Onishi N, Onishi T, Nishii M. Immunohistochemical study of EGF, EGFR, PCNA, c-erb B2, p53 and K-ras in intestinal metaplasia, atypical epithelium and well differentiated adenocarcinoma of the stomach. Jpn J Cancer Clin 1993; 39: 783-9.
55. Hilton DA, West KP. c-erb B2 oncogene product expression and prognosis in gastric carcinoma. J Clin Pathol 1992; 45: 454-8.
56. Mizutani T, Onda M, Tokunaga A, Yamanaka N, Sugisaki Y. Relationship of c-erb B2 protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. Cancer 1993; 72: 2083-8.
57. Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, et al. Evaluation of immunoreactivity for erb B2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. Cancer Res 1991; 62: 226-30.