

뇌종양에서 p53 발현과 Ki-67 표지지수의 분석 - 종양재발과 등급을 중심으로 -

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단병리과 및 ¹신경외과

김덕환 · 서연림 · 신동익¹ · 신형진¹ · 김종현¹

p53 Expression and Ki-67 Labeling Index in Brain Tumor with Special Reference to Tumor and Histologic Grade

Duck Hwan Kim, Yeon-Lim Suh, Dong Ik Shin¹,
Hyung-Jin Shin¹, and Jong Hyun Kim¹

Departments of Diagnostic Pathology & ¹Neurosurgery, Samsung Seoul Hospital
Sung Kyun Kwan University, Seoul 135-710, Korea

Mutation in the p53 suppressor gene is the most common genetic alteration found in human cancers including primary brain tumors. Ki-67 labeling index(LI) is known to be a marker of proliferating activity. The purpose of this study was to verify whether an immunohistochemical expression of p53 antibody and Ki-67 LI could be related to different clinicopathologic parameters including histologic grade, size, invasiveness and recurrence of the brain tumors. Materials were based on the 147 surgically resected brain tumors during the last two years. Of the 147 brain tumors, there were 35 astrocytic tumors, 35 meningiomas, 10 oligodendrogliomas, 7 craniopharyngiomas, 5 dysembryoplastic neuroepithelial tumors, 4 medulloblastomas, 5 ependymomas, 23 pituitary adenomas, 9 schwannomas, and 14 other brain tumors. The p53 expression and Ki-67 LI were higher in malignant brain tumors including astrocytic tumors, medulloblastoma, PNET and gliosarcoma. The p53 positivity was correlated with histologic grades and tumor recurrence. The brain tumors with a high Ki-67 LI(>6%) also showed a close relationship to a higher histologic grading, radiological invasiveness and recurrence. There was no evident correlation with the age and tumor size with p53 expression and Ki-67 LI. These results suggest that p53 overexpression and high proliferation potential of the tumor cells are associated with the higher histologic grade and aggressive clinical course in the central nervous system tumors. (Korean J Pathol 1998; 32: 81~87)

Key Words: Brain tumor, p53, Ki-67, Histologic grade, Invasiveness, Recurrence

서 론

뇌종양의 생물학적인 행동양상은 다양하며 예측하기 힘든 경우가 많다. 조직학적으로 등급이 낮은 뇌종양의

상당수에서도 근치수술 후에 예상치 못한 재발을 보이기도 한다. 뇌종양은 전신적인 과급효과나 원격전이 가 드물기 때문에 상당수의 뇌종양 환자들의 예후를 결정하는 것은 재발여부에 달려 있다. 종양의 국소화, 범위, 환자의 나이, 조직병리학적 등급, DNA 배수성, 증식능, 침윤능력 및 치료에 대한 저항성 등의 소견들은 중추신경계의 신경-상피 종양 (neuro-epithelial tumor)에서의 생물학적 행동을 결정하는 중요한 인자들로 여겨져 왔다.¹⁻³ 뇌종양의 생물학적 행동은 광학현미경적 소견만으로는 예측하기 힘들고 세포의 증식능을 나타내는 유사분열 활성도가 증식능의 지표로서 사용되어 왔으나

접 수: 1997년 7월 29일, 게재승인: 1997년 10월 20일
주 소: 서울시 강남구 일원동 50번지, 우편번호 135-710
삼성서울병원 진단병리과, 서연림

ISSN : 0379-1149

이 논문의 일부는 1998년도 삼성서울병원 임상연구비의 지원을 받아 이루어졌음.

유사분열 활성도와 예후와의 불일치로 인하여 다른 증식능의 지표가 요구되었다. 세포증식에 관한 표지자는 PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen)와 Ki-67이 가장 흔히 사용되고 있다. PCNA는 G1/S기에 발현이 증가되며 뇌종양의 조직학적 등급간에 중복되는 범위가 넓고 수치가 높게 나와 분별력이 떨어지는데 비하여 Ki-67은 감수성 및 특이성이 높은 것으로 되어 있다.⁴ Ki-67은 핵내단백으로서 G0와 초기 G1기를 제외한 모든 세포주기에 발현된다.⁵ Ki-67 표지지수 (Ki-67 labeling index; LI)는 여러종류의 악성종양에서 생물학적 행동과의 연관성이 연구되고 있고,⁶ 뇌종양에서도 조직학적 등급과 나쁜 생존율과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다.^{4,7}

p53 종양유전자는 핵내 인산화단백으로서 정상적으로 세포 성장에 역조절자로서의 기능을 수행한다.^{8,9} 돌연변이 p53은 유전자의 손상을 입은 세포에서 항증식 작용이 소실되어 종양을 유발할 수 있고,¹⁰ 단백질의 안정성을 증가시켜 반감기가 증가되며 핵내에서 과다축적되어 면역조직화학 검사로 검출이 가능하다.¹¹ 최근에 p53의 유전자 변화가 정상세포종의 발생에 초기변화로 생각되고 있으나¹² 뇌종양에서 p53의 세포증식능이나 예후에 있어서의 역할은 아직 논란의 여지가 있다. 따라서 이에 저자들은 147예의 뇌종양을 대상으로 p53과 Ki-67의 면역조직화학적 발현을 종양별로 비교 분석하고, 특히 p53과 Ki-67 표지지수와 뇌종양의 예후와 밀접한 관련이 있는 조직학적 등급과 재발여부의 연관성을 조사하여, p53과 Ki-67이 뇌종양의 진행을 예측할 수 있는 지표로서의 역할에 관하여 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1995년 1월부터 1996년 9월까지 21개월간 삼성의료원에서 외과적 절제술이 시행되고 병리학적으로 뇌종양으로 진단되었던 172예중 면역조직화학 염색이 가능하였던 147예를 대상으로 하였다. 절제된 종양조직을 10% 포르말린에 고정 후 파라핀에 포매하였고 헤마톡실린-에오진 염색하여 광학현미경하에서 WHO 분류에 따른 조직학적 유형과 등급을 정하였다.¹³ 종양의 크기와 변연부의 침윤성 여부는 환자의 전산화 단층촬영 사진으로 조사하였고, 환자의 뇌종양재발 여부는 1차 수술시에 뇌종양을 완전히 제거하고 수술 2주후 시행한 전산화 단층촬영 사진상 잔류종양이 없었으나 환자의 추적조사시 방사선학적으로 종양의 재발이 확인된 경우에 국한 하였다. 면역조직화학적 염색은 파라핀에 포매된 조직에서 streptavidin-biotin 방법을 이용하였다. 일차항체는 p53 (BP 53.12, monoclonal antibody, 1:80, Zymed)과 Ki-67 (polyclonal, 1:200, Dako) 을 사용하였다. 간략하면 5 μ m 두께로 파라핀 포매조직을 박절하고 자일렌 (xylene)으로 탈파라핀 과정을 거친 후 (5분간 3

회) 포화 알코올을 거쳐 (2분간 2회) 내인성 과산화효소 (peroxidase)의 활성을 억제하기 위해 0.3% hydrogen peroxide-methanol에 10분간 처리 후 증류수로 세척하였다. 10 mM citrate buffer에 조직절편을 담근 후 약 10분 정도 반복하여 microwave oven에서 끓인 다음 citrate buffer에서 약 20분 정도 식혔다. 그 후 각 슬라이드는 0.15% 소 (bovine) 혈청 알부민을 함유하고 있는 phosphate 완충액 (PBS)에 30분간 처리 후, 비특이적 염색 (background staining)을 감소시키기 위해 30분간 정상 말 (horse)의 혈청으로 처리하고, 이 혈청을 털어 버린 후 4°C에서 1차 항체와 밤새 (12~15시간) 반응시켰다. 그 후에 biotin이 부착된 이차항체에 10분 동안 부치시키고 수세한 후 avidin-alkaline peroxidase에 10분 동안 부치시킨 후 10분간 수세하였다. DAB (3', 3-diaminobenzidine tetrachloride)를 5~10분간 도포하여 발색하고 10% Meyer's hematoxylin으로 대조염색 후 봉입하였다. 음성대조군으로 일차항체 대신 saline을 이용하여 관찰하였다. p53 염색과 Ki-67염색은 종양내에서 염색된 세포의 밀도가 높은 3~5개의 400배 시야에서 1000개의 종양세포당 핵내에 명확한 갈색과립이 보인 세포의 수를 세어 백분율을 구하였다. p53은 1% 이상의 명확한 염색이 있는 것을 양성으로 하였고 Ki-67 표지지수는 평균을 기준으로 평균이상의 군과 이하인 군으로 나누었으며 각 변수와의 관계의 통계분석은 SAS통계 프로그램을 이용하여 Chi-square와 Fisher's exact 검정으로 구하였고, p53과 Ki-67의 연속적인 수치와 나이, 성별, 종양의 크기와 비교할 때는 ANOVA (analysis of variance)로 하였다.

결 과

1. 임상양상 및 조직학적 유형에 따른 p53 단백질 발현과 Ki-67표지지수 (Table 1)

147예의 뇌종양 환자의 연령분포는 모양성상세포종의 1세부터 수막종인 79세까지로 평균 나이는 41 ± 18 세였고 남자 61명, 여자 86명이었다. p53은 전체 147예 중 59예 (25.8%)가 양성으로 종양세포의 핵내에 명확한 염색을 보였고 (Fig. 1), Ki-67도 유리슬라이드상의 조직절편에 염색이 전혀 관찰되지 않은 11예를 포함한 36예는 1%미만의 소수의 염색을 보였고 나머지 111예는 1%이상으로 저배율 (100배 시야)에서도 염색여부의 인지가 가능하였다 (Fig. 2). 뇌종양 147예에서 p53 LI의 평균은 10.2 ± 19.78 로 남녀의 평균은 9.1 ± 17.4 와 10.9 ± 21.1 였고 Ki-67LI의 전체 뇌종양의 평균은 6.37 ± 8.7 로 남녀 각각 6.8 ± 8.6 과 6.04 ± 8.6 으로 성별에 따른 두 표지지수에 큰 차이가 없었으며, 나이에 따른 p53LI와 Ki-67LI의 차이도 없었다 ($p > 0.1$). 뇌종양의 조직학적 유형에 따른 분류와 p53LI와 양성율, Ki-67LI의 평균지수는 Table 1에 나타내었고 성상세포종, 신경교육종, 수모세포종, 원시신경외배엽성 종양이 p53LI와 Ki-67LI의

Table 1. p53 expression and Ki-67 LI in CNS tumors

	p53 positive ratio	p53 LI	Ki-67 LI
Astrocytoma	27/35 (77.1%)	25.79±25.91	10.13±11.35
grade 1 & 2	4/7 (57%)	11.4±13	2.5±2.16
grade 3	10/12 (83.3%)	26.4±24.8	8.9±7.51
grade 4	13/16 (81.3%)	31.6±29.5	14.41±14.18
DNT	2/5 (40%)	4.6±9.2	3.6±3.2
Ependymoma	0/5 (0%)	0.02±0.04	0.94±1.15
Ganglioglioma	0/2 (0%)	0.2	0.75
Germinoma	0/2 (0%)	0.25	5.65
Gliomatosis cerebri	0/2 (0%)	0.4	12.35
Gliosarcoma	1/1 (100%)	80.0	37.4
Hemangioblastoma	0/1 (0%)	0.1	0.1
Hemangiopericytoma	2/2 (100%)	1.6	5.3
Medulloblastoma	3/4 (75%)	23.3±34	26.1±7.3
Meningioma	12/35 (34.3%)	5.33±11.5	4.14±4.35
Neurocytoma	0/2 (0%)	0.1	3.0
Oligodendroglioma	4/10 (40%)	7.08±9.65	8.1±5.33
Pituitary adenoma	4/23 (17.4%)	0.63±1.08	1.46±1.49
Pineocytoma	0/1 (0%)	0	4.9
PNET	1/1 (100%)	75	22.1
Schwannoma	0/9 (0%)	0.19±0.24	3.15±2.42
Craniopharyngioma	3/7 (42.8%)	7.72±9.54	8.22±9.2

DNT: dysembryoplastic neuroepithelial tumor, PNET: primitive neuroectodermal tumor

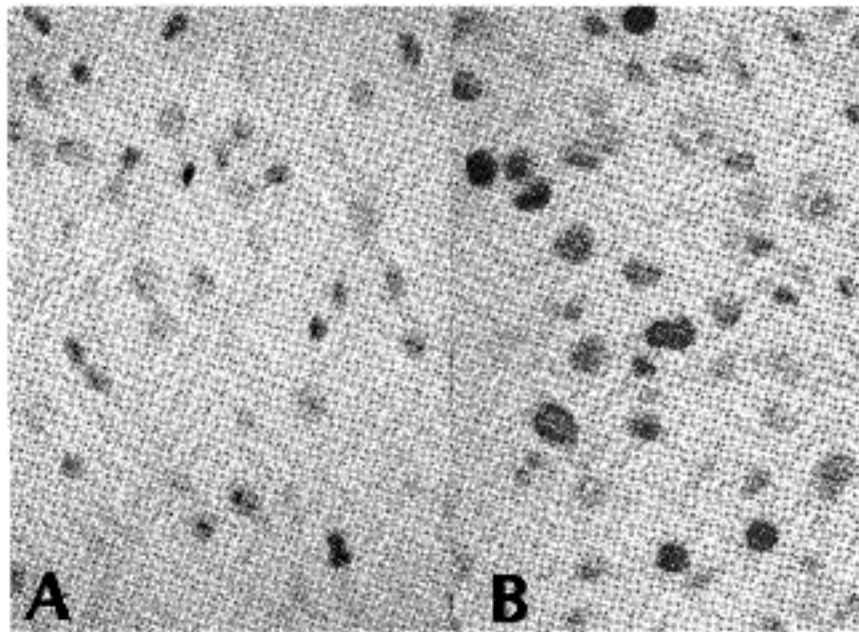


Fig. 1. No p53 immunoreaction in low grade astrocytoma(a) and intranuclear immunostain for p53 gene product in anaplastic astrocytoma(b).

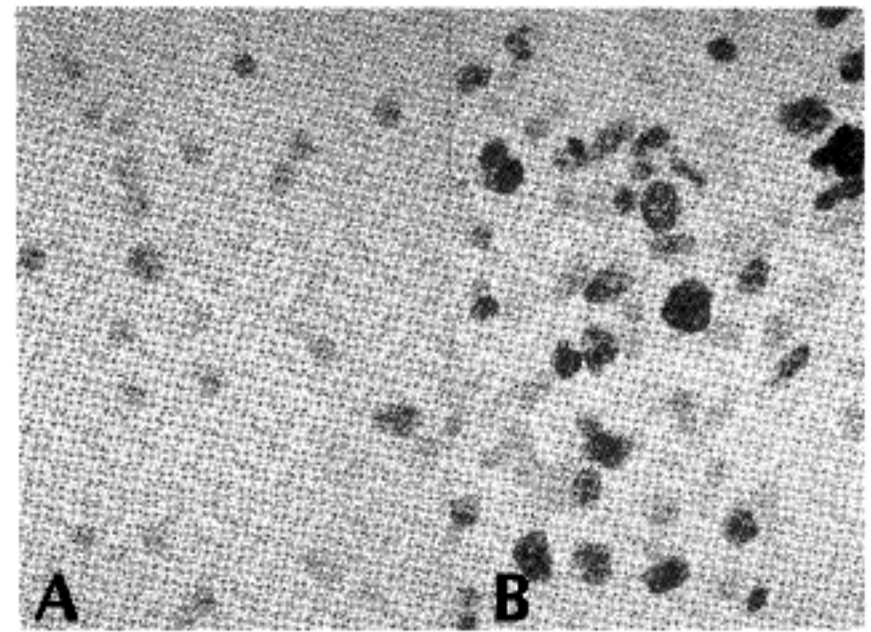


Fig. 2. Ki-67 labelling in low grade astrocytoma(a) and glioblastoma(b).

수치가 높았다.

2. 조직학적 등급에 따른 p53 단백질발현과 Ki-67표지 지수 (Table 2, 3)

WHO 분류에 따른 각종양의 조직학적 등급은 111례

에서 가능하였는데 가장 많은 35예의 성상세포종은 모양성상세포종 (1등급) 1예, 성상세포종 (2등급) 6예, 여형성 성상세포종 (3등급) 12예, 고모세포종 (4등급) 16예였다. 성상세포종에서의 p53 발현율은 등급이 높아짐에 따라 증가하는 양상이었고 3, 4등급이 1, 2등급보다

Table 2. p53 and Ki-67 labeling in relation to histopathologic tumor grade (n=111)

	P53 positive ratio*	p53 LI	Ki-67 LI	Ki-67 (>6%)*
Grade I	13/54 (24%)	2.99±8.07	3.45±3.77	10/54 (18.5%)
Grade II	9/18 (50%)	8.08±13.08	3.92±4.07	4/18 (22.2%)
Grade III	10/18 (55.5%)	20.52±23.12	8.64±6.77	10/18 (55.6%)
Grade IV	17/21 (81%)	32.1±30.55	17±13.49	15/21 (71.4%)

*: p<0.01, #: p<0.001

Table 3. Invasiveness and recurrence by histologic grades of CNS tumor (n=74)

	N	Invasion (%)#	Recur (%)#
Grade I	34	9 (26.5)	3 (0.09)
Grade II	11	4 (36.4)	1 (0.09)
Grade III	11	9 (81.8)	5 (45.5)
Grade IV	18	14 (77.8)	10 (55.6)

N: Number of patient, #: p<0.001

p53단백의 양성률이 높았고 Ki-67LI도 등급이 높아질수록 증가하였다 (p<0.05). 수막종은 35예중 34예가 1등급이었고 종양의 약 1/3에서 p53 단백질의 발현을 보였으며 평균 Ki-67LI는 전체 뇌종양의 평균보다 낮은 4.14%였다. 조밀한 세포밀도와 세포분열이 흔히 관찰되었던 이형성 수막종 1예는 p53 양성이었고 Ki-67 LI는 8.7%이었다. 림지교종은 2등급이 4예 3등급이 6예였고, 총 10예중 4예가 p53양성이었으며 평균 Ki-67LI는 전체 뇌종양의 평균보다 약간 높은 수치를 보였다. 상의세포종은 5예로 1등급인 점액유두상 1예를 제외하고 모두 2등급이었다. 그외에 1등급인 이상배엽 신경상피종양 (Dysembryoplastic Neuroepithelial Tumor; DNT) 5예, 신경절교종 (1등급) 2예, 수모세포종 (4등급) 4예, 혈관주위세포종 (2등급) 2예, 원시 신경상피종양 (Primitive Neuroepithelial Tumor; PNET; 4등급) 1예, 송과

체세포종양 (2등급) 1예, 신경초종 (1등급) 9예였다. 뇌종양 111예의 조직학적 등급별 p53 LI와 Ki-67 LI의 평균은 조직학적 등급이 높을수록 증가를 보여 3등급이상의 뇌종양에서는 평균 p53 LI가 20%이상, 평균 Ki-67 LI가 8%이상을 나타내었고, p53의 양성률과 Ki-67 LI의 평균인 6%이상인 군을 조직학적 등급별로 나누어 비교하여 보면 등급이 높을수록 p53 양성인 예와 Ki-67LI 6%이상 [Ki-67LI(>6%)] 인 예가 현저히 증가하였다 (Table 2, p<0.01, p<0.001). 조직학적 등급에 따른 뇌종양의 침윤과 재발유무는 저등급 뇌종양 (1, 2등급)보다 고등급 뇌종양 (3, 4 등급)이 침윤성 변연부와 재발의 빈도가 통계학적으로 의미있게 높았다 (Table 3, p<0.05).

3. 종양의 침윤성 성장 및 재발에 따른 p53 단백질 발현과 Ki-67표지지수 (Table 4)

147명의 뇌종양 환자중 추적 관찰시 컴퓨터 단층촬영이 시행되었던 86예를 대상으로 뇌종양의 침윤, 재발 여부와 종괴의 크기에 따른 p53LI와 Ki-67LI를 비교한 결과 다음과 같았다 (Table 4). 뇌 전산화 단층촬영 사진상 침윤성 변연부를 보이는 뇌종양이 41예 (47.6%)였으며 p53의 평균표지지수가 18.03%로 변연부가 명확한 뇌종양의 평균표지지수인 10.98%보다 높았으나 p53의 양성률은 통계학적인 차이가 없었다 (p=0.354). Ki-67 표지지수는 침윤성 변연부를 가진 군의 평균이 10.82%로 명확한 변연부를 보인 군의 6.62%보다 높았고 Ki-67

Table 4. p53, Ki-67 immunostaining and tumor size in relation to invasiveness and recurrence of CNS tumor (n=86)

	p53 positive ratio	p53 LI	Ki-67 LI	Ki-67 (>6%)	Size (cm)
Non-invasion	19/44 (43.2%)	10.98±18.6	6.62±8.07	14/44 (31.8%)	4.08±1.6
Invasion	24/41 (58.5%) (p>0.1)	18.03±24.78	10.82±11.94	22/41 (53.7%) (p=0.042)	4.17±1.5 (p>0.1)
Non-recur	23/62 (41.9%)	9.52±17.35	7.13±9.45	20/62 (32.3%)	4.13±1.6
Recur	17/23 (73.9%) (P=0.003)	28.2±27.52	13.19±11.48	16/23 (69.6%) (p=0.002)	4.11±1.5 (p>0.1)

Table 5. Percentage of tumors in two categories of Ki-67 and p53 immunolabelling index (n=147)

	N	Ki-67LI	Ki-67LI (>6%) [#]
p53 negative	88	3.62±5.97	15/88 (17.1%)
p53 positive	59	10.39±10.59	30/59 (50.9%)

#: p<0.001

LI (>6%)의 수도 현저한 차이가 있었다 (p=0.042). 재발이 있었던 뇌종양은 86예중 23예 (26.7%)였고 평균표지 지수가 p53은 28.2%와 Ki-67은 13.19%로 높았고 p53 양성률이 73.92%, Ki-67 LI (>6%)가 69.6%로 재발이 없는 뇌종양 군에 비하여 현저하게 많았다 (p=0.003, p=0.002). 뇌종양의 크기는 1.1 cm부터 7.3 cm였고 뇌종양의 크기와 p53LI, Ki-67LI, 뇌종양의 침윤성 및 재발여부와는 연관성이 없었다 (p>0.05).

4. p53 단백질발현에 따른 Ki-67표지 지수 (Table 5)

전체 147예중에 59예 (40.1%)에서 p53이 양성되었고, 45예 (30.6%)가 6%이상의 Ki-67LI를 나타내었다. p53 양성인 뇌종양이 음성인 뇌종양에 비하여 Ki-67 LI (>6%)의 빈도가 높아 p53 단백질발현과 Ki-67 LI (>6%)는 밀접한 비례관계를 보였다 (Table 5, p<0.001).

고 찰

p53 종양 억제 유전자의 불활성화는 사람에서 발생하는 종양의 반수에서 발견될 정도로 광범위하게 일어나며 이런 점은 종양의 병인에 기본적으로 중요한 단계를 시사한다.¹⁴ p53유전자는 17번 염색체의 단완부에 위치하면서 DNA에 결합하는 전사인자로 작용하여 DNA의 손상을 입은 세포에서 세포분열시에 손상된 유전자를 복구할 수 있게 세포를 G1기에서 정체를시키는 역조절자로서의 역할을 한다.^{8,9} p53의 종양억제 유전자는 G1 cyclin-dependent kinases의 억제자인 p21 (WAF1/CIP1) 유전자의 발현을 유도하여 G1기와 S기 경계에서 세포주기를 역류하거나 DNA 손상이 심한 세포에서는 p53이 apoptosis를 유발할 수 있다.^{15,16} 돌연변이 p53에 의한 야생형 p53의 기능적인 제거가 종양으로의 변형에 중요한 단계이며 83%정도가 과오점돌연변이 (missense point mutation)로서 주로 중심부의 소수성 영역에서 일어나며 exon 5~8 사이에서 많다.¹⁷ 야생형 p53 단백질은 보통 15~20분의 짧은 반감기를 가져서 통상의 면역조직화학 검사로 검출될 만큼 충분히 축적되지 않으나 돌연변이 p53단백은 Heat shock protein (hsc 70)과 결합하여 수시간의 반감기를 갖는 안정된 입체구조로 변화되어 면역조직화학 검사에서 검출이 가능하다.¹¹ p53 유전자의 돌연변이는 정상세포종에서 비교적 흔한 유

전자적 변화이며 p53의 면역조직화학 발현과 상관관계가 있고,^{12,18,19} 수막종, 피지교종, 상피세포종 등의 뇌종양에도 p53 유전자 돌연변이 및 면역조직화학적 발현이 보고되고 있다.^{20~22} Felts등²³은 14예의 고등급 교종에서 5예의 돌연변이를 발견하였으나 저등급 교종 6예에서는 돌연변이가 없어 p53돌연변이는 주로 고등급 교종에서만 발현되며 p53돌연변이는 정상세포종의 후기변화에 중요하다고 하였으나, 이후의 다른 연구에서는 고등급 교종 뿐만아니라 저등급 교종에서도 p53돌연변이가 관찰되어 p53 돌연변이는 신경교종 형성의 초기부터 중요한 역할을 하는 것으로 생각되어 진다.^{12,19,24~26} Louis등¹²은 정상세포종에서 p53 유전자 돌연변이가 정상세포종, 역형성 정상세포종, 교모세포종에서 모두 유사한 빈도로 나타나 종양의 진행과는 상관성이 없다고 하였다. 그러나 Jaros등²⁶의 면역조직화학적 연구에서 p53 양성률이 교종의 조직학적 등급이 높을수록 증가하였고, 다른 연구에서도 고등급의 정상세포종에서 p53 발현율이 49%로 2등급 정상세포종의 19~29%보다 더욱 높아 p53의 면역 조직화학적 발현이 저등급과 역형성 정상세포종의 구분에 도움을 줄 수 있을 것이라 하였다.²⁴ 본 연구에서는 147예의 뇌종양의 p53 면역조직화학 염색에서 59예 (25,8%)가 양성되었고 모든 조직학적 등급에서 발현을 보였으며 고등급으로 될수록 p53 양성률이 증가하여 이는 p53의 변화가 뇌종양의 초기부터 중요한 역할을 하며 종양의 진행에도 관여하는 것으로 고려할 수 있는 결과이다. 특히 고등급 (3, 4등급) 종양의 평균 p53LI는 20%이상으로 저배율 시야에서도 명확히 염색여부를 인지할 수 있었으며 p53의 양성여부 뿐만아니라 p53 표지 지수를 같이 고려할 때 저등급과 고등급을 구분하는데에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다. 재발이 있었던 환자의 원발 종양에서 p53 양성률이 높은 결과는 원발종양내의 p53의 비정상적 변화가 있는 일부의 세포군이 성장능력을 획득하여 재발된 종양의 주된 구성성분으로 될 수 있다는 것을 시사하는 결과로 생각된다. p53 단백질 발현을 보인 정상세포종에서의 100주 생존율이 11%인데 비해서 p53 음성 종양은 36%가 생존을 보여 p53 단백질 발현이 나쁜 예후와 연관이 있다는 보고도 있지만,²⁶ p53 단백질 발현이 예후와 상관이 없다는 연구결과도 있어²⁷ p53 단백질 발현과 예후와의 관련성에 있어서는 아직 논란의 여지가 있는 것이 사실이며 추후 보완적인 연구가 필요할 것이다.

p53 돌연변이가 급속한 세포증식을 유발하여 고등급의 악성 종양과 관련이 있다는 보고가 있으며,²⁸ Haapasalo등²⁴은 p53의 발현이 고등급의 뇌종양과 높은 증식지수와 관련 있음을 주장하였다. 본 연구에서 증식능의 지표로 사용한 Ki-67 표지 지수는 조직학적 등급이 증가할수록 평균 Ki-67 표지 지수가 증가하여 2등급의 평균 Ki-67 표지 지수가 4이하인데 반하여 3등급 이상은 8이상의 표지 지수를 보였고 3등급 뇌종양의 55.6%, 4등급

뇌종양의 71.4%에서 Ki-67LI (>6%)를 보였으나 2등급 뇌종양의 경우는 22.2%에서만 Ki-67LI (>6%)를 보여 6%이상의 Ki-67 표지지수가 고등급과 저등급을 나누는데 일조를 할 수 있을 것으로 생각된다. Ki-67 표지지수의 증가는 조직학적 등급과 사망률의 증가와 비례하는 것으로 보고가 되고 있으며,^{29,30} Hopf등³⁰의 연구에서 Ki-67 표지지수가 1, 2등급이 1.8%, 3등급이 6.7%, 4등급이 18.5%로 보고하여 전체 종양을 대상으로 한 본 연구의 결과와 유사하였다. Montin등⁷은 7.5%의 Ki-67표지지수를 기준으로 하여 7.5%이상의 Ki-67 표지지수를 갖는 성상세포종 환자의 평균 생존기간이 13개월인데 반하여 7.5%미만의 환자는 평균 30개월의 생존율을 보여 높은 Ki-67 표지지수가 나쁜 생존율과 관련이 있음을 보고하였다. Gömöri등³¹은 고배율시야에서 Ki-67 염색을 보이는 세포가 재발된 종양에서는 평균 21.71개로 그 원발 종양과 유사하며, 재발없이 완치된 뇌종양의 평균인 2.09개보다 현저한 차이가 있음을 보고하였다. 저자들의 연구에서도 재발된 뇌종양의 평균 Ki-67 표지지수가 13.19%였고 재발이 없는 종양의 평균인 7.13%보다 높았으며, 재발된 종양의 69.7%에서 6%이상의 Ki-67 표지지수를 보여 재발여부와 Ki-67 표지지수는 밀접한 관련성이 있었다. 또한 방사선학적인 침윤성조사에서 침윤성 변연부를 갖는 종양이 명확한 변연부를 갖는 뇌종양에 비하여 높은 Ki-67 표지지수를 보여 Ki-67 표지지수는 조직학적 등급, 종양의 재발, 침윤성 성장등과 밀접한 관련이 있는 증식의 지표임을 시사하였다.

p53유전자의 불활성화는 세포의 DNA복제 및 보수 등에 장애를 유발하여 다른 종양 유전자의 비정상적인 변화를 유발할 수 있고 연이은 세포증식에 기여할 수 있다.^{12,17} Haapasalo등²⁴의 연구에서는 성상세포종의 p53과 PCNA의 면역조직화학적 검사에서 p53 양성종양이 음성인 종양에 비하여 높은 증식지수를 보였고, 모든 등급의 성상세포종에서 p53 양성군이 p53 음성군에 비하여 Ki-67표지지수가 높다는 보고도 있다.²⁶ 저자들의 연구에서 전체 뇌종양에서 p53 양성군의 평균 Ki-67 표지지수는 10.39%로 p53 음성군의 평균인 3.62%에 비하여 현저하게 증가된 결과를 보여 이는 p53 유전자의 비정상적 변화가 세포증식에 기여함을 시사하는 결과로 생각된다. 본 연구에서 추적관찰 기간이 짧아서 예후와의 직접적인 연관관계를 볼 수는 없었지만 p53 단백질의 발현과 Ki-67 표지지수가 뇌종양의 조직학적 등급, 침윤성 성장 및 재발과 밀접한 관련을 보여 간접적으로 종양의 공격적인 임상양상과 관련이 있음을 알 수 있었으며, 본 연구의 결과는 p53 단백질의 발현과 Ki-67 표지지수가 뇌종양의 진단적 또는 예후적인 면으로 유용하게 사용할 수 있는 가능성을 제시하였다.

결 론

뇌종양 148예를 대상으로 p53 단백질의 발현과 Ki-67 표지지수를 구하여 뇌종양의 여러 임상 및 병리학적 지표들과의 관계를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 전체 147예중 59예 (53%)에서 p53이 발현되었고, 전체 뇌종양의 평균 Ki-67 표지지수는 $6.37 \pm 8.7\%$ 였다.
- 2) p53과 Ki-67 표지지수는 환자들의 나이, 성별, 종양의 크기와의 연관성이 없었다.
- 3) 뇌종양의 조직학적 분류상 성상세포종, 신경교육종, 수모세포종, 원시신경외배엽성 종양에서 p53 양성률과 Ki-67 표지지수가 높았다.
- 4) 조직학적 등급은 111예에서 가능하였고 등급이 높을수록 p53 발현율이 증가되었고, 6%이상의 Ki-67 표지지수를 갖는 종양이 현저히 증가하였다 ($p < 0.001$).
- 5) 내원시와 추적 관찰시에 시행한 컴퓨터 단층촬영의 검사가 가능한 86예의 뇌종양 환자에서 명확한 변연부를 갖는 종양에 비하여 침윤성 변연부를 보이는 뇌종양의 p53의 양성률은 통계학적인 차이가 없었으나 ($p=0.354$), Ki-67 표지지수는 의미있는 증가를 보였다 ($p=0.042$). 재발되었던 뇌종양은 23예 (26.7%)로 p53 양성률과 Ki-67 표지지수가 재발이 없는 뇌종양 군에 비하여 현저하게 높았다 ($p=0.003$, $p=0.002$).
- 6) p53 양성인 뇌종양이 음성인 뇌종양에 비하여 Ki-67LI (>6%)의 빈도가 높아 p53단백의 발현과 Ki-67LI (>6%)는 밀접한 비례관계를 보였다 ($p < 0.001$).

이상의 결과로 p53 단백질의 발현과 6%이상의 Ki-67 표지지수는 뇌종양에서 종양의 진행도, 침윤성 성장 및 재발여부와 관련이 있음을 알 수 있었고 예후 인자로서 큰 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Coons S, Johnson P, Pearl D. Prognostic significance of flow cytometric deoxyribonucleic acid analysis of human astrocytomas. *Neurosurgery* 1994; 34: 680-7.
2. Germino I, Ito M, Cho K, Hoshino T, Davis R, Wilson C. Correlation of histopathological features and proliferative potential of gliomas. *J Neurosurg* 1989; 70: 701-6.
3. Kros J, Pieterman H, Eden C, Avezaat C. Oligodendroglioma: the Rotterdam-Dijkzigt experiences. *Neurosurgery* 1994; 34: 959-66.
4. Kordek R, Biernat W, Alwasiak J, Liberski PP. Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) and Ki-67 immunopositivity in human astrocytic tumors. *Acta Neurochir* 1996; 138: 509-13.
5. Gerdes J, Li L, Schlueter C, et al. Immunohistochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by

- monoclonal antibody Ki-67 study. *Am J Pathol* 1991; 138: 867-73.
6. Brown DC, Gatter KC. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathology* 1990; 17: 489-503.
 7. Montine TJ, Vandersteenhoven JJ, Aguzzi A, et al. Prognostic significance of Ki-67 proliferation index in supratentorial fibrillary astrocytic neoplasms. *Neurosurgery* 1994; 34: 674-9.
 8. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-6.
 9. Kuerbitz SJ, Plunkett BS, Walsh WV, Kastan MB. Wild type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7491-5.
 10. Holstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
 11. Finlay CA, Hinds PW, Tan TH, Eliyahu D, Oren M, Levine AJ. Activating mutations for transformation by p53 produce a gene product that forms an hsc 70-p53 complex with altered half life. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 531-9.
 12. Louis DN. The p53 gene and protein in human brain tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 1994; 53: 11-21.
 13. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumors. *Brain Pathol* 1993; 3: 255-68.
 14. Vogelstein B, Kinzler KW. p53 function and dysfunction. *Cell* 1992; 70: 523-6.
 15. Harper JW, Adami GR, Wei N, Keyomarsi K, Elledge SJ. The p21 CDK-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. *Cell* 1993; 75: 805-16.
 16. Zhan Q, Carrier F, Fornace AJ. Induction of cellular p53 activity by DNA-damaging agent and growth arrest. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 4242-50.
 17. Milner J. Forms and functions of p53. *Semin Cancer Biol* 1994; 5: 211-9.
 18. Louis DN, Von Deimling A, Chung RY, et al. Comparative study of p53 gene and protein alterations in human astrocytic tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993; 52: 31-8.
 19. Koga H, Zhang S, Kumanishi T, et al. Analysis of p53 gene mutation in low- and high-grade astrocytomas by polymerase chain reaction-assisted single-strand conformation polymorphism and immunohistochemistry. *Acta Neuropathol* 1994; 87: 225-32.
 20. Chozick BS, Benzil DL, Stopa EG, et al. Immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 and p53 protein expression in benign and atypical human meningiomas. *J Neurooncol* 1996; 27: 117-26.
 21. Kros JM, Godschalk JJC, Krishnadath KK, Van Eden CG. Expression of p53 in oligodendrogliomas. *J Pathol* 1993; 171: 285-90.
 22. Tominaga T, Kayama T, Kumabe T, Sonoda Y, Yoshimoto T. Anaplastic Ependymomas: clinical features and tumor suppressor gene p53 analysis. *Acta Neurochir(Wien)* 1995; 135: 163-70.
 23. Felts D, Brockmeyer D, Tullous MW, Pedone CA, Cawthon RM. p53 mutation and loss of heterozygosity on chromosomes 17 and 10 during human astrocytoma progression. *Cancer Res* 1992; 52: 674-9.
 24. Haapasalo H, Isola J, Salinen P, Kalimo H, Helin H, Rantala I. Aberrant p53 expression in astrocytic neoplasms of the brain: association with proliferation. *Am J Pathol* 1993; 142: 1347-51.
 25. Lang FF, Miller DC, Pisharody S, Koslow M, Newcomb EW. High frequency of p53 protein accumulation without p53 gene mutation in human juvenile pilocytic, low grade and anaplastic astrocytomas. *Oncogene* 1994; 9: 949-54.
 26. Jaros E, Perry RH, Adam L, et al. Prognostic implications of p53 protein, epidermal growth factor receptor, and Ki-67 labelling in brain tumors. *Br J Cancer* 1992; 66: 373-85.
 27. Ellison DW, Steart PV, Bateman AC, Pickering RM, Palmer JD, Weller RO. Prognostic indicators in a range of astrocytic tumors: an immunohistochemical study with Ki-67 and p53 antibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995; 59: 413-9.
 28. 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 patient. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1109-14.
 29. Kiss R, Dewitte O, Decaestecker C, et al. The combined determination of proliferative activity and cell density in the prognosis of adult patients with supratentorial high grade astrocytic tumors. *Am J Clin Pathol* 1997; 107: 321-31.
 30. Hopf NJ, Bremm J, Bohl J, Perneczky A. Image analysis of proliferating cells in tumors of the human nervous system: an immunohistological study with the monoclonal antibody Ki-67. *Neurosurgery* 1994; 35: 917-23.
 31. Gömöri É, Mészáros I, Méhes G, Dóczi T, Pajor L. Cell kinetic analysis in recurrent neuro-epithelial tumors. *Acta Neurochir* 1996; 138: 1036-41.