

# 대장암에서 *nm23* 단백질의 면역조직화학적 발현양상과 다른 예후인자와의 상관관계

이화여자대학교 의과대학 병리학교실

이 시 내 · 구 혜 수 · 한 운 섭

## *nm23* Protein Immunohistochemical Expression in Colorectal Carcinoma and its Relationship with Other Prognostic Factors

Shi Nae Lee, Heasoo Koo, and Woon Sup Han

Department of Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul 158-051, Korea

The purpose of this study was to determine the immunohistochemical expression of *nm23*-H1, a putative metastatic suppressor gene, and to correlate its expression with clinicopathologic variables in 75 cases of surgically resected colorectal carcinomas. There appeared to be a trend between increasing relative *nm23* protein expression and Dukes' stage, vessel invasion, and metastasis of lymph nodes. *nm23* was expressed in 67 cases (89.3%) and increased in cases with lower Dukes' stage ( $P < 0.05$ ) and in cases without vessel invasion ( $P < 0.01$ ) or lymph node metastasis ( $P < 0.01$ ). No significant relationship was observed between the *nm23* protein expression and other parameters, such as tumor size, location and differentiation of the tumor. The results suggest that the *nm23* protein expression plays a role in the suppression of nodal metastasis and vessel invasion in colorectal carcinomas. (**Korean J Pathol 1998; 32: 413~419**)

**Key Words:** *nm23*, Colorectal carcinoma, Dukes' stage, Nodal metastasis

### 서 론

대장암은 전 세계적으로 그 발생빈도가 악성 종양중 3위를 차지하는 암종으로서<sup>1</sup> 국내의 발생빈도를 보면 남자에서는 위암, 간암, 폐암에 이어 4위를 차지하며 여자에서도 자궁경부암, 위암, 유방암에 이어 4위를 차지한다.<sup>2</sup> 대장암으로 인한 증상은 여러 가지가 있으나 임상증상이 없는 경우도 많고 대장암 환자의 약 50%가 암종의 전이로 사망하고 있다.<sup>3</sup> 이러한 대장암 환자의 예후를 추정하는데 여러 가지 인자가 관여한다고 보고 되었으며 그 중에서도 림프절이나 타장기로의 암종의 전이는 환자의 예후에 특히 중요하다. 대장암 환자에서 암종이 타장기로 전이할 수 있는 가능성을 정확히 예견

할 수 있거나 잘 파악되지 않는 이미 전이된 상태를 알아낼 수 있는 방법이 있다면 이것은 대장암 환자를 치료하면서 예후를 예측하는데 많은 도움이 될 것이다. 이러한 대장암의 전이 가능성을 예측할 수 있는 인자를 찾기 위해 많은 연구들이 시행되었고<sup>4</sup> 그 연구 결과로 얻어진 것중의 하나가 *nm23* 유전자이다. *nm23*은 1988년 Steeg등이 악성 흑색종을 이용한 암세포주 실험에서 처음 발견하여 전이 억제유전자로 주목받기 시작하였고<sup>5,6</sup> 그 이후에도 *nm23* 발현이 종양의 전이력과 관계가 있다는 많은 연구보고들이 있었다.<sup>6,7,8</sup> *nm23* 유전자는 17번 염색체 장완에 위치하고,<sup>9</sup> 8.5 Kb span에 5 exons와 4 introns로 구성되어 있다.<sup>10</sup> 사람의 *nm23* 유전자는 88%의 상동성을 갖는 *nm23*-H1과 *nm23*-H2의 두 가지로 분리되었고, 이들 각각은 Mr 17,143의 chain A와 Mr 17,294의 chain B 단백질 생산에 관여한다.<sup>11</sup> 최근에는 *nm23*이 사람의 nucleoside diphosphate (NDP) kinase A 및 B와 같은 것으로 밝혀졌다.<sup>12</sup> *nm23*을 이용한 종양전이력의 연구는 인체의 많은 암종에서 이루어져 왔는데 특히 유방암

접 수: 1997년 11월 6일, 게재승인: 1998년 4월 18일

주 소: 서울 양천구 목동 119, 우편번호 158-051

이대부속 목동병원 해부병리과, 이시내

ISSN : 0379-1149

에서의 *nm23*역할이 강조되었다.<sup>6,13,14</sup> 그 외에도 난소암,<sup>15</sup> 전립선암,<sup>16</sup> 췌장암,<sup>17</sup> 위암,<sup>18</sup> 대장암, 폐암,<sup>19</sup> 피부 편평상피암,<sup>9</sup> 갑상선암,<sup>20</sup> 간세포암,<sup>7</sup> 신세포암<sup>19</sup>에서 *nm23* 유전자의 이상이 보고되었다. 대장암에서는 *nm23* H1의 대립유전자 결손이 대장암 발생과 관계가 있고<sup>8,21,22</sup> *nm23* 단백질의 감소가 종양의 병기 및 전이와 관계된다는 보고가 있지만 아직 그 의미가 논란의 대상이 되고 있다. 원발성 대장암에서 *nm23*-H1의 대립유전자결손을 가진 환자들은 이런 변화를 가지지 않은 경우보다 더 많은 원격전이를 보였다.<sup>22</sup> 최근에 *nm23*-H1의 codon sequence의 결손이나 인자결손이 림프절, 폐, 간으로의 전이를 가지고 있는 대장암환자의 50%에서 발견되었으며, 반면에 이런 전이소견이 없는 환자에서는 *nm23*-H1의 인자결손을 보인 예가 하나도 없었다.<sup>23</sup> 그러나 Zeng등<sup>24</sup>이 보고한 바에 의하면 대장암에서 *nm23* -H1이 전이 억제인자로서보다는 국소질환의 진행에 더 중요한 역할을 한다고 하였다. 이처럼 *nm23*이 대장암환자에서 전이억제인자로 관여한다는 보고와 그렇지 않다는 보고가 서로 상반되어 나타나므로 본 연구에서 대장암에서 *nm23* 단백질의 발현을 면역 조직 화학적 염색을 이용하여 관찰하고, 림프절 전이를 포함한 예후인자들을 병리학적으로 관찰하여 *nm23*의 전이 억제 인자로서의 가능성과 다른 예후 인자들과의 연관성을 알아보려고 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구 대상

1994년 1월 1일부터 1996년 12월 31일까지 이화여자 대학 의과대학 부속 병원에서 해부병리과에 의뢰된 대장암 진단하에 절제된 대장 및 직장조직 총 75예를 대상으로 하였다.

### 2. 연구 방법

1) **임상소견:** 병록지와 병리검사서를 중심으로 환자의 연령, 성별, 병변의 크기, 침윤정도, 림프관 및 혈관 침윤 유무, 림프절 전이 및 타 장기 전이 등을 검토하였다.

#### 2) 병리학적검색:

(1) **육안적 검색:** 의뢰된 대장 및 직장 조직을 장간막 대측면을 따라 절개한 후 종양의 크기와 형태를 조사하고 절단면에서 종양의 침습정도를 육안검색하고 주위 지방조직에서 림프절을 찾아냈다.

(2) **병리 조직학적 검색:** 절취된 조직은 10% 중성 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거쳐 통상의 조직처리방법에 의하여 헤마톡실린 염색을 시행한 슬라이드를 반복하여 판독하였다.

(3) **면역 조직 화학 염색:** 면역 조직 화학적 염색을 위하여 포르말린 고정 파라핀 포매 조직중 주위 정상조직과 종양조직을 5  $\mu$  두께로 박절한 후 통상의 방법에 따라 탈파라핀한 후 각각 다른 농도의 알코올로 함수하고 증류수로 수세한다. 이때 파라핀 블록을 이용하므로

탈 파라핀 하는 과정에서 발생할 수 있는 변화를 방지하고 더욱 명확한 결과를 얻기 위하여 Tris 완충액으로 세척하고 펩신으로 전처치를 시행하였다. 그 후 0.3% 과산화수소로 반응시킨 후 일차항체 (*nm23*/nucleoside diphosphate kinase A, from mouse monoclonal, Santa Cruze Biotechnology, Inc)를 1 : 100으로 희석하여 상온에서 2 시간동안 반응시켰다. 이후의 과정은 labelled streptavidin-biotin (LSAB) kit (DAKO, USA)를 이용하여 통상의 avidin-biotin complex (ABC)법에 따라 진행하였고, 헤마톡실린으로 대조 염색을 하였다. 판독은 면역반응을 시각적 강도에 따라 반정량적인 등급을 주어 반응이 전혀 없는 경우를 음성(-)으로 하고 반응이 있는 경우를 양성으로 한 후, 양성에 대한 염색결과판독은 주변 배경 염색보다 확연히 강하게 된 부분만을 진성양성으로 간주하여 한 슬라이드 내에서 전체종양중 염색이 된 종양의 비율로 산출하였다.

3) **통계적 분석:** 기존에 알려진 여러 가지 예후 인자들중 혈관침윤과 발병부위와 *nm23* 단백질발현과의 관계는 student t test를 이용하여 검정하였고 나머지 다른 인자들은 ANOVA법을 이용하였다. 사후검정은 Schaffe법을 적용하였다. 이상의 통계학적 분석은 개인용 컴퓨터 통계프로그램인 PC-SAS를 이용하였다.

## 결 과

### 1. 임상 및 병리학적 소견

1) **임상적 소견:** 대상 환자들의 연령은 28세부터 81세까지 분포하였고, 평균 연령은 60.2 ( $\pm 13.6$ )세이었다. 성별은 남자 34명, 여자 41명으로 남녀 비는 1 : 1.2이었다.

2) **병리조직학적 소견:** 침윤성 선암종이 70예로 대부분은 차지하였고, 점액암종이 5예이었다. 침윤성 선암종중에서도 고등도의 분화를 보이는 경우가 15예 (20%)이었고, 중등도의 분화를 보이는 경우가 45예 (60%), 저등도의 분화를 보이는 경우가 10예 (13.3%)이었다. 종양의 크기는 3 cm 미만인 예가 13예 (17.3%), 3 cm에서 4.9 cm 사이인 예가 23예 (30.7%), 5 cm을 넘은 예가 39예 (52.0%)이었다. 종양의 부위를 좌측 (하행 결장, S-결장, 직장) 및 우측 (상행 결장, 횡행 결장)으로 구분해 보면 좌측이 56예 (74.7%), 우측이 19예 (25.3%)이었다. 림프절 전이가 있는 경우가 50예 (66.7%)이었고 없는 경우 ( $N_0$ )가 25예 (33.3%)였으며, 림프절 전이가 있는 경우 중에서 1~3개의 림프절에 전이한 예 ( $N_1$ )가 19예 (5.4%), 4개 이상의 림프절에 전이한 예 ( $N_2$ )가 31예 (11.1%)이었다. 림프관이나 혈관내 침윤이 발견된 경우는 50예 (66.7%), 없는 경우는 25예 (33.3%)이었다. Duke's 병기는 A병기가 4예 (5.3%), B병기가 20예 (26.7%), C병기가 50예 (66.7%), D병기가 1예 (1.3%)이었다 (Table 1).

### 2. *nm23* 면역 조직 화학염색 소견

대장암중 *nm23* 단백질에 양성반응을 보인 예는 전체

**Table 1.** Clinicopathologic parameters in the colorectal carcinoma

Parameters	Numbers (%) (n=75)	Parameters	Numbers (%) (n=75)
Histologic grade		Dukes' stage	
G1	15(20)	A	4(5.3)
G2	45(60)	B	20(26.7)
G3	10(13.3)	C	50(66.7)
Others	5(6.6)	D	1(1.1)
Size		Lymph nodes metastases	
< 3 cm	13(17.9)	N <sub>0</sub>	25(33.3)
3~4.9 cm	23(30.7)	N <sub>1</sub>	19(25.3)
> 5 cm	39(52.0)	N <sub>2</sub>	31(41.3)
Location		Vessel invasion	
Right colon	19(25.3)	No invasion	25(33.3)
Left colon	56(74.7)	Invasion	50(66.6)

G1: Grade 1 (Well differentiated), G2: Grade 2 (Moderately differentiated), G3: Grade 3 (Poorly differentiated), N<sub>0</sub>: negative, N<sub>1</sub>: 1 to 3 metastases, N<sub>2</sub>: over 4 metastases

75예중 67예 (89.3%)로 이들은 2%정도의 반응에서부터 80%정도의 반응까지 다양하게 나타났다.

1) **대장 선암종 분화도와 nm23단백 발현과의 상관관계:** 종양의 분화도와 nm23단백 발현과의 관계를 살펴보면 고등도의 분화도를 보이는 경우 15예는 5%에서 80%까지의 양성반응을 보였고 이들의 평균은 20.1±22.3% (M±SD)이었다. 중등도의 분화도를 보이는 경우 45예는 2예의 음성반응을 포함하여 50%까지의 반응을 보였으며 이들의 평균은 17.0±15.4%이었다. 저등도의 분화도를 보이는 경우 10예는 음성반응에서 부터 50%까지의 반응을 보였고 이들은 19.6±18.5%의 값을 보였다. 또한 점액암종의 경우 5예는 5±5%의 값을 보였다. 이들을 통계학적으로 검증해 보았을 때 P value가 0.81로 유의성이 없었다 (Table 2).

2) **Dukes병기와 nm23단백 발현과의 관계:** Dukes병기와 nm23단백 발현과의 관계를 살펴보면 4예의 A병기, 20예의 B병기, 50예의 C병기, 1예의 D병기의 양성반응의 평균은 각각 21.2±11.8%, 35.5±16.9% (Fig. 2), 9.4±10.3% (Fig. 3), 5.0±5.0%을 보여, 종양이 진행될수록 nm23발현이 잘 안되는 것으로 나타났다. 이들의 P값은 0.0001로 상당히 높은 유의성을 보였으며 특히 B병기와 C병기사이에서 유의성이 높았다 (Table 3) (Fig. 4).

3) **림프관 및 혈관내 종양침윤 유무와 nm23단백 발현과의 상관관계:** 림프관이나 혈관내 종양의 침윤과 nm23

**Table 2.** Relationship between nm23 protein expression and degree of differentiation in the colorectal carcinoma

Grade (n=75)	Positivity of nm23 immunostaining (%)										Mean ± SD
	0	5	10	20	30	40	50	60	70	80	
G1 (n=15)	—	7	2	1	2	1	1	—	—	1	20.1 ± 22.3
G2 (n=45)	2	19	7	4	4	7	2	—	—	—	17.0 ± 15.4
G3 (n=10)	2	4	—	1	1	1	1	—	—	—	19.6 ± 18.5
Others (n=5)	3	2	—	—	—	—	—	—	—	—	5.0 ± 5.0

F: 0.32 P: 0.81, G1: Well differentiated, G2: Moderately differentiated, G3: Poorly differentiated

**Table 3.** Relationship between nm23 protein expression and Dukes' stage in the colorectal carcinoma

Dukes' stage (n=75)	Positivity of nm23 immunostaining (%)										Mean ± SD
	0	5	10	20	30	40	50	60	70	80	
A(n=4)	—	1	—	1	2	—	—	—	—	—	21.2 ± 11.8
B(n=20)	—	3	—	4	3	7	2	—	—	1	35.5 ± 6.9 <sup>†</sup>
C(n=50)	8	29	8	1	2	1	1	—	—	—	9.4 ± 10.3
D(n=1)	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	5.0 ± 5.0

F: 19.25 P: 0.0001, <sup>†</sup>: B vs C (P=0.0001)



단백 발현과의 관계는 중앙침윤이 없는 25예의 경우 양성반응이 5%에서 80%까지의 분포를 보였으며 50예의 침윤을 보인 경우는 음성에서부터 50%까지의 반응을 보였다. 이들의 평균은 각각  $23.7 \pm 19.1\%$ 과  $14.3 \pm 15.1\%$ 이었다. 이들의 P 값은 0.042로 통계적 유의성이 있었다 (Table 4).

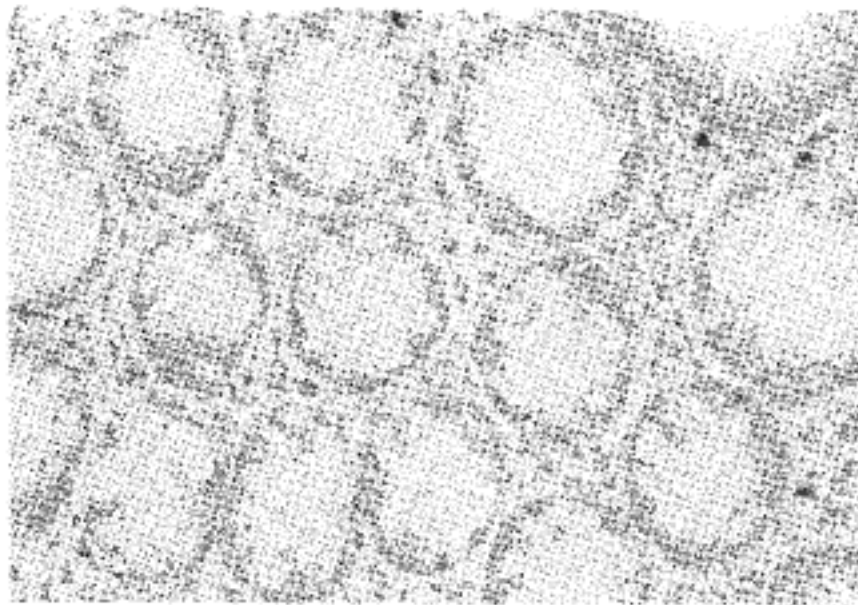


Fig. 1. Findings of normal mucosa with *nm23* protein expression less than 5%.



Fig. 2. Findings of colorectal carcinoma with *nm23* protein expression more than 50% in stage of Dukes' B.

4) 림프절 전이와 *nm23* 단백질 발현과의 상관관계: *nm23* 발현과 림프절 전이와의 상관성을 보면 No군 (25예)에서는 5%에서 80%까지의 분포를 보였고 그 평균은  $33.0 \pm 16.5\%$ 이었고, N<sub>1</sub>군 (19예)에서는 음성에서부터 10%까지였으며 평균은  $5.4 \pm 2.8\%$ 이었다. N<sub>2</sub>군 (31예)은 음성에서 50%까지의 반응을 보였으며 평균은  $11.1 \pm 12.1\%$



Fig. 3. Findings of colorectal carcinoma with *nm23* protein expression less than 2% in stage of Dukes' C.

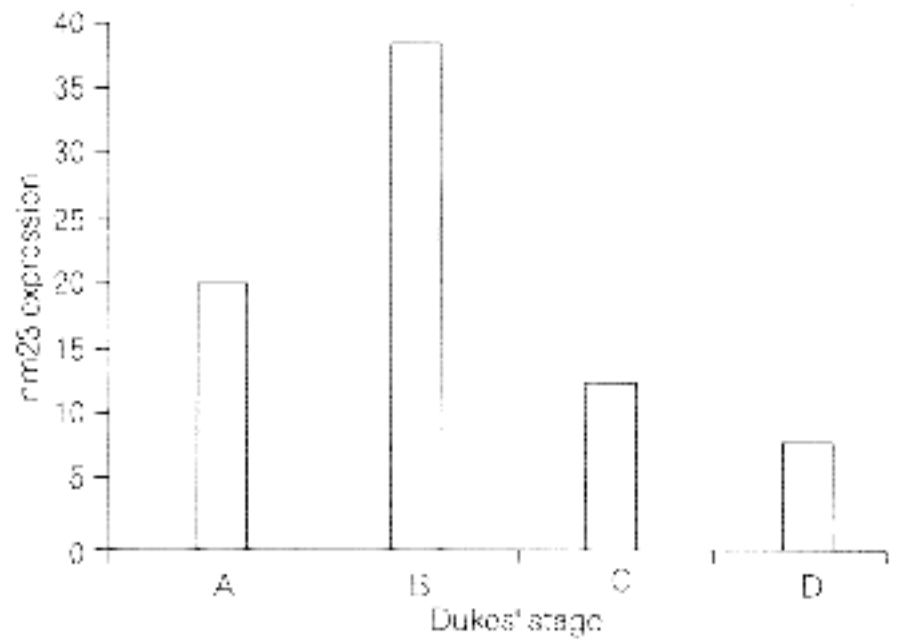


Fig. 4. Relationship between *nm23* protein expression and Dukes' stage in the colorectal carcinoma.

Table 4. Relationship between *nm23* protein expression and vessel invasion in the colorectal carcinoma

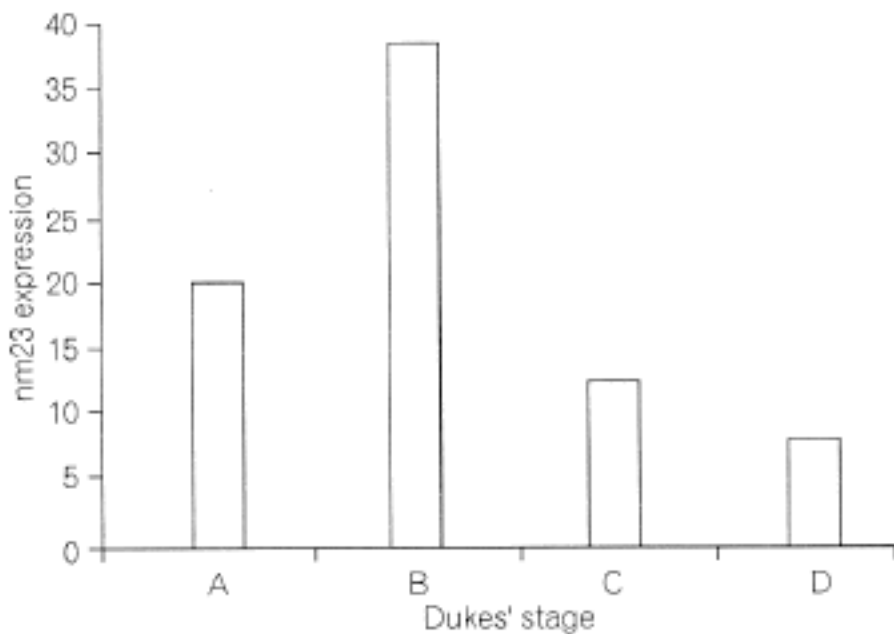
Vessel invasion (n=75)	Positivity of <i>nm23</i> immunostaining (%)										Mean + SD
	0	5	10	20	30	40	50	60	70	80	
No (n=25)	—	8	1	5	5	3	2	—	—	—	$23.7 \pm 19.1$
Yes (n=50)	8	23	8	1	2	6	2	—	—	—	$14.3 \pm 15.1$

t: 2.21, P: 0.042

**Table 5.** Relationship between nm23 protein expression and lymph nodes metastases in the colorectal carcinoma

Lymph node (n=75)	Positivity of nm23 immunostaining (%)										Mean ± SD	
	0	5	10	20	30	40	50	60	70	80		
N0(n=25)	—	3	—	3	6	8	4	—	—	—	—	1 33.0 ± 16.5*,**
N1(n=19)	2	13	4	—	—	—	—	—	—	—	—	5.4 ± 2.8
N2(n=31)	6	15	5	2	1	1	1	—	—	—	—	11.1 ± 12.1

F: 29.68, P:0.0001, \*: N0 vs N1 (P=0.0001), \*\*: N0 vs N2 (P=0.0001)



**Fig. 5.** Relationship between nm23 protein expression and lymph nodes metastases in the colorectal carcinoma.

이었다. 이같은 결과치는 림프절 전이가 없는 경우에서 nm23 양성 발현율이 높게 나타나는 것을 알 수 있고 이들은 통계적으로 유의한 관계를 보였다 (P=0.0001) (Table 5) (Fig. 5).

그 외 nm23 단백질의 양성 발현과 종양의 발병부위, 크기와는 유의성이 없었다.

### 고 찰

대장암 환자의 예후 추정인자로는 환자의 연령, 종양의 크기, 병소의 조직학적 분화, 발생장소, 장폐쇄 유무, 국소침윤과 림프절 전이를 포함하는 Dukes 병기, 혈관 및 신경조직 침윤과 암유전자 발현 등이 있다.<sup>25</sup> 이중 림프절이나 타장기로의 전이 유무와 혈관침윤 등은 대장암 환자의 예후를 판정하는데 독립적인 지표로 이용되고 있다.<sup>26</sup> 대장암은 ras oncogene의 변이와 억제인자들의 변화 등을 포함한 유전학적 변화들과 연관이 있는데 특히 암환자들의 가장 중요한 사인중 하나인 종양의 전이를 조절하는 유전학적 인자들을 찾기 위한 많은 연구들에 의해 nm23 유전자가 쥐의 흑색종에서 발견되었다.<sup>5,6</sup>

nm23은 강력한 전이 억제인자로서 NDP kinase로 해독되며 ATP를 제외한 모든 nucleoside triphosphate를 세

포에 공급하며 GTP를 G단백에 공급하고 세포의 신호 전달에 참여하는 것으로 생각되고 있다. nm23의 발현은 주로 세포질 염색으로 나타나고<sup>13</sup> 핵에서의 염색은 양성 양성일 가능성이 높다. 또 세포질 염색으로 나오는 경우에 있어어도 그 판독 방법은 그리 용이하지 않아 연구자마다 상이한 방법을 이용하기도 하였다. 일부 연구자들은 염색강도에 따른 등급 체계를 적용하고<sup>27</sup> 또 일군은 염색되는 면적에 따라 구분하였다.<sup>9</sup> 특이한 점은 nm23이 다른 종양 단백질과 달리 정상 조직이나 양성 병변에서도 존재 (Fig. 1)하기 때문에 상당수의 연구자들이 주변 비종양 상피와의 강도 비교를 하여 더 강하게 염색될 때를 진성 양성으로 판독하는 경우가 많았다는 점이다. 본 연구에서도 역시 nm23 발현염색이 주변 양성 병변에서도 존재하여 판독이 용이하지는 않아서 주변과 염색강도를 비교하여 확연히 강한 부분을 진성 양성으로 하고 이를 전체종양에 대한 백분율로 환산하였다. nm23-H1 유전자의 부호서열 (coding sequence) 결손이나 대립유전자 손실과 같은 유전자 변화들이 종양의 전이에서 중요한 역할을 할 것으로 생각되며,<sup>23</sup> c-myc을 전사시킬 수 있는 PuF (Purine binding factor)와 nm23-H2가 동종이라는 증거들과 nm23-H2 유전자 서열 내에 leucine zipper motif가 있는 점들은 nm23이 전사인자로 작용할 수 있다는 것을 암시하고 있다.<sup>28</sup> nm23의 발현감소가 실험모델,<sup>5</sup> 유방암,<sup>4,14</sup> 간세포암, 흑색종 등에서 전이능력과 연관이 있음이 입증되었고 이들 암종들에서 nm23이 전이 억제인자로서의 역할을 하는 것으로 보고 되었다. 반면에, 갑상선암,<sup>20</sup> 편평세포성 폐암,<sup>29</sup> 신경모세포종<sup>30</sup> 등에서는 nm23의 발현증가가 예후를 악화시키는 것과 연관이 있는 것으로 보고 되기도 했다. 대장암의 경우에는 nm23 대립유전자 소실이 림프절 전이가 있는 대장암에서 관찰되었으나<sup>19</sup> nm23 단백질의 표현이 종양의 임상적 기수 (stage)나 원격전이와 관련성이 없다는 보고도 있었다.<sup>31</sup> 비록, nm23의 기능적 역할에 대해서 아직 다 밝혀지지 않았지만 nm23이 NDPK (nucleoside diphosphate kinase)와 동일하다는 점들은 nm23이 세포성장 및 증식조절과정에 관여한다는 것을 암시하고, 또한 최근의 연구에서 nm23이 신호 전달, 증식, 분화과정을 조절하는 역할을 하는 것으로 알려졌다. 대장암에서의 nm23 인자결손은 이런 일련의 과정들을

음성방향으로 변화시킨다. 유방암에서는 림프절 전이가 없는 경우에는 *nm23* 발현이 높게 나타나고 림프절 전이가 있는 경우에는 *nm23* 발현이 낮게되는 역관계가 있음이 이미 많은 연구에 의해서 알려져서 *nm23*이 전이억제인자로 인식되었지만 대장암에서는 *nm23*의 역할은 아직 논란이 많다. *nm23*의 인자결손이 종양의 전이능과 분명한 연관이 있지만,<sup>22</sup> *nm23*이 조직에서의 발현되는 양상에 대해서는 상반되게 보고되고 있다. Haut 등<sup>21</sup>은 대부분의 대장암에서 *nm23*-H1과 *nm23*-H2의 발현이 증가되었고 *nm23*의 발현과 전이능사이에 역비례의 관계는 없다고 하였다. 그러나 Yamaguchi 등<sup>7</sup>은 *nm23*이 정상 대장점막조직에서 발현이 될 뿐 아니라 암조직에서 훨씬 강하게 발현이 되며 *nm23* 발현이 림프절 전이와는 연관관계가 없지만 간전이 있는 경우에는 원발성 종양에서 *nm23*의 발현이 낮게 나타난다고 하였다. 그 외에 *nm23*의 과도발현이 종양세포의 과도증식과 연관이 있다는 보고도 있고<sup>30,12</sup> *nm23*의 변이는 조직에서 유전자 생산을 증가시킴으로 대장암에서 *nm23*의 발현을 높게 하는 것이라는 보고도 있다.<sup>23</sup> Zeng 등<sup>24</sup>은 이들의 의견에 반하여 *nm23* 발현이 종양의 크기와 국소 침윤과 연관되어 높게 발현되고 그외의 다른 인자들과는 상관관계를 보이지 않는 결과를 보여 이들은 *nm23*-H1 gene이 전이 억제보다는 국소 질병진행에 더 중요한 역할을 한다고 하였다.

본 연구에서 *nm23*의 표현은 대장암의 크기, 발생부위, 분화정도와는 유의한 상관관계를 보여주지는 않았지만, Dukes병기, 조직내 종양의 혈관 침윤, 림프절 전이의 유무와는 유의한 상관관계를 보였다. Dukes병기 내에서도 특히 B병기와 C병기에서 유의한 상관관계를 보인 것은 *nm23* 단백질 발현이 종양의 침윤정도가 아닌 림프절 전이와 연관이 있다는 것을 시사하고 있고 B병기에서 더 높은 발현율을 보인 것은 *nm23*의 전이억제인자로서의 가능성을 시사하고 있다. 이러한 결과는 종양내 혈관침윤과 림프절 전이와의 관계에서도 동일한 소견을 보이고 있다. 림프절 전이와의 관계에서는 N<sub>0</sub>군과 N<sub>1</sub>군, N<sub>0</sub>군과 N<sub>2</sub>군 사이에서는 유의한 상관관계를 보였으나 N<sub>1</sub>군과 N<sub>2</sub>군 사이에는 유의성이 없는 결과를 보여 *nm23* 단백질 발현은 전이의 개수와는 연관성이 없고 전이유무와만 연관성이 있음을 알 수 있었다. 또한 림프절 전이가 없이 종양내 림프관이나 혈관 침윤이 있는 경우에 침윤이 없는 경우보다 *nm23* 단백질 발현이 낮게 나타나는 것을 보아 *nm23* 단백질 발현이 비록 현재 림프절 전이가 보이지 않는다고 할지라도 눈으로 확인 할 수 없는 전이 초기단계이거나 발견되지 못한 림프절에 전이되었을 가능성이 더 높을 수 있다.

암환자의 예후에는 여러 변수들이 복합되어 나타나므로 *nm23* 하나만으로 환자의 예후를 정확히 예측할 수는 없고 또한 *nm23*이 전이의 어떤 단계에 어떻게 작용하는지는 아직 확실치 않으나 본 연구 결과 *nm23* 단백질 발현의 감소가 대장암에서 림프관 및 혈

관 침윤 그리고 림프절 전이와 연관이 있음을 알 수 있었다.

## 결 론

1994년 1월 1일부터 1996년 12월 31일까지 이화여자 대학 의과대학 부속 목동병원 해부병리과에 대장암으로 진단되어 종양조직을 포함한 대장 및 직장 조직 총 75예를 대상으로 하여 전이억제인자로서의 *nm23*의 역할을 알기 위하여 *nm23* 단백질 발현과 임상적, 병리학적 관계를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) *nm23* 단백질 발현은 대장암 75예중 67 (89.3%)에 있어서 양성되었고 2%에서 80%까지 다양한 분포를 보였다.

2) *nm23* 단백질 발현은 Dukes병기의 B병기 (35.5 ± 16.9%)에서 C병기 (9.4 ± 10.3%)보다 의미 있게 높게 발현되었다 (P < 0.05).

3) *nm23* 단백질 발현은 림프관이나 혈관침윤의 유무에 따라 유의한 차이가 있었는데 (P < 0.01) 침윤이 없는 경우는 23.7 ± 19.1%, 침윤이 있는 경우는 14.3 ± 15.1%이었다.

4) 림프절 전이와 *nm23* 단백질 발현의 관계에서는 전이가 없는 경우에 더 높은 발현율을 보였고 (P < 0.01), 전이된 림프절의 수와는 관계가 없었다.

5) 원발종양의 위치, 크기, 조직학적 분화도와 *nm23* 단백질 발현은 유의한 관계가 없었다.

이상의 결과를 바탕으로 대장암에서 *nm23*은 전이억제인자로서의 역할을 하는 것으로 보이며 대장암 환자의 예후를 예측하는데 중요한 변수의 하나로 작용할 것이라고 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Ravry M, Moterl. Usefulness of serial serum CEA determination during anticancer therapy of long term follow up of gastrointestinal carcinoma. *Cancer* 1974; 238: 1641.
2. Ministry of Health and Social Affairs. Five years report for cancer registry programme in the republic of Korea, July 1st, 1982 June 30th, 1987. *J Korea Cancer Res Assoc* 1989; 21: No 1, May.
3. August DA, Ottow RT, Sugarbaker PH. Clinical perspective of human colorectal cancer metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1984; 3: 303-24.
4. Bevilacqua G, Sobel ME, Liotta LA, Steeg PS. Association of low *nm23* RNA levels in human primary infiltrating ductal breast carcinomas with lymph node involvement and other histopathological indicators of high metastatic potential. *Cancer Res* 1989; 49: 5185-90.
5. Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 200-4.



6. Steeg PS, Bevilacqua G, Pozzatti R. Altered expression of nm23, a gene associated low tumor metastatic potential, during adenovirus 2 Ela inhibition of experimental metastasis. *Cancer Res* 1988; 48: 6550-4.
7. Yamaguchi A, Urano T, Goi T, et al. Expression of human nm23-H1 and nm23 H-2 proteins in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1994; 73: 2280-4.
8. Campo E, Miquel R, Jares P, et al. Prognostic significance of the loss of heterozygosity of nm23-H1 and p53 genes in human colorectal carcinomas. *Cancer* 1994; 73: 2913-21.
9. Stephenson TJ, Royds JA, Bleehen SS, Slicocks PB, Rees RC. 'Anti-metastatic' nm23 gene product expression in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. *Dermatology* 1993; 187: 95-9.
10. Dooley S, Seib T, Engel M. Isolation and characterization of the human genomic locus coding for the putative metastasis control gene nm23-H1. *Hum Genet* 1994; 93: 63-6.
11. Stahl JA, Leone A, Rosengard AM, Porter L, King CR, Steeg PS. Identification of a second human nm23 gene, nm23-H2. *Cancer Res* 1991; 51: 445-9.
12. Sastre-Garau X, Lacombe ML, Jouve M, Veron M, Megdelenat H. Nucleoside diphosphate kinase /nm23 expression in breast cancer: lack of correlation with lymph-node metastasis. *Int J Cancer* 1992; 50: 533-8.
13. Urano T, Furukawa K, Shiku H. Expression of nm23/NDP kinase proteins on the cell surface. *Oncogene* 1993; 8: 1371-6.
14. Barnes R, Masood S, Barker E, et al. Low nm23 protein expression in infiltrating ductal breast carcinomas correlates with reduced patients survival. *Am J Pathol* 1991; 139: 245-50.
15. Mandai M, Konishi I, Koshiyama M, et al. Expression of metastasis-related nm23-H1 and m23-H2 genes in ovarian carcinomas: correlation with clinicopathology, EGFR, c-erbB-3 genes, and sex steroid receptor expression. *Cancer Res* 1994; 54: 1825-30.
16. Fishman JR, Gumerlock PH, Meyers FJ, deVere White RW. Quantitation of nm23 expression in human prostate tissue. *J Urology* 1994; 152: 202-7.
17. Nakamori S, Ishikawa O, Ohigashi H, Imaoka S, Sasaki Y, Kaneyama M. Clinicopathological features and prognostic significance of nucleoside diphosphate kinase/nm23 gene product in human pancreatic exocrine neoplasm. *Int J Pancreatol* 1993; 14: 125-33.
18. Kodera Y, Isobe K, Yamachusi M, Kondoh K, Kimura N, Akiyama S. Expression of nm23-H1 RNA levels in human gastric cancer tissues. A negative correlation with nodal metastasis. *Cancer* 1994; 73: 259-65.
19. Leone A, McBride W, Weston A, et al. Somatic allelic deletion of nm23 in human cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 2490-3.
20. Farley DR, Eberhardt NL, Grant CS, et al. Expression of a potential metastasis suppressor gene (nm23) in thyroid neoplasm. *World J Surg* 1993; 17: 615-20.
21. Haut M, Steeg PS, Wilson JKV, Markowits SD. Induction of nm23 gene expression in human colonic neoplasm and equal expression in colon tumors of high and low metastatic potential. *J Nat Cancer Inst* 1991; 83: 712-6.
22. Cohn KH, Wang FS, Desoto-LaPaix F, Solomon WB, Patterson LG, Arnold MR. Association of nm23-H1 allelic deletion with distant metastases in colorectal carcinoma. *Lancet* 1991; 338: 722-4.
23. Wang L, Patel U, Ghosh L, Chen HC, Banerjee S. Mutation in the nm23 gene is associated with metastases in colorectal cancer. *Cancer Res* 1993; 53: 717-20.
24. Zeng ZS, Hsu S, Zhang ZF, Cohen AM, Enker WE, Turnbull AA. High level of nm23-H1 gene expression is associated with local colorectal progression not with metastases. *Br J Cancer* 1994; 70: 1025-30.
25. Griffin MP, Bergstrahl EJ, Coffey RJ, Beart RW, Melton LM. Predictors of survival after curative resection of carcinoma of colon and rectum. *Cancer* 1987; 60: 2318-24.
26. Cho KR, Vogelstein B. Genetic alteration in the adenocarcinoma sequence. *Cancer* 1992; 70: 1727-31.
27. Simpson JF, O'Malley F, Dupont WD, Page DL. Heterogeneous expression of nm23 gene product in noninvasive breast carcinoma. *Cancer* 1994; 73: 2352-8.
28. Poster EH, Berberich SJ, Flint J, Ferrone CA. Human c-myc transcriptional factor PuF identified as nm23-H2 nucleoside diphosphate kinase, a candidate suppressor of tumor metastasis. *Science* 1993; 261: 478-80.
29. Engel M, Theisinger B, Seib T, Seitz G, Huwer H, Zang KD. High levels of nm23-H1 and nm23-H2 messenger RNA in human squamous-cell lung carcinoma are associated with poor differentiation and advanced tumor stages. *Int J Cancer* 1993; 55: 375-9.
30. Hailat N, Keim DR, Melhem RF, Zhu XX, Eckerskorn C, Brodeur GM. High-levels of p19/nm23 protein in neuroblastoma are associated with advanced stage disease and with N-myc gene amplification. *J Clin Invest* 1991; 88: 341-5.
31. Ayhan A, Yasui W, Yokozaki H. Reduced expression of nm23 protein is associated with advanced tumor stage and distant metastasis in human colorectal carcinomas. *Virchows Arch B* 1993; 63: 213-8.