

## 대장직장암에서 E2F-1 단백질과 DNA Topoisomerase II- $\alpha$ 의 면역조직화학적 발현과 임상 및 병리학적인 연관성

중앙대학교 의과대학 외과학교실, <sup>1</sup>병리학교실

황상일 · 이태진<sup>1</sup> · 박용검 · 지경천 · 이정효 · 장인택 · 박성일

### The Immunohistochemical Expression of E2F-1 Protein and DNA Topoisomerase II- $\alpha$ E2F-1 Protein in Colorectal Cancer and Their Relationship with Clinicopathologic Factors

Sang Il Hwang, M.D., Tae Jin Lee, M.D.<sup>1</sup>, Yong Gum Park, M.D., Gyung Cheon Ji, M.D., Jung Hyo Lee, M.D. In Taik Chang, M.D. and Sung Il Park, M.D.

**Purpose:** E2F-1 is a transcriptor that converts G1 to S in the cell cycle, and Topoisomerase II- $\alpha$  is a key enzyme in the metabolism of DNA, and an indicator of cell replication. The purpose of this study was to evaluate the clinical validity of E2F-1 and Topoisomerase II- $\alpha$  as prognostic factors in colorectal cancer.

**Methods:** The expressions of E2F-1 and Topoisomerase II- $\alpha$  were studied immunohistochemically using tumor specimen sections fixed with formalin and paraffin-embedded for 84 cases of colorectal cancer. The correlation between E2F-1 and Topoisomerase II- $\alpha$  expressions, and their relationship with the clinicopathological factors, such as tumor differentiation, tumor invasion, lymph node metastasis and tumor stage were investigated.

**Results:** Of the 84 specimens, 43 (51.2%) were immunohistochemically negative for E2F-1, and 41 (48.8%) were positive. The expression of E2F-1 correlated with poor tumor differentiation, increased lymph node metastasis and high tumor stage. The expression of Topoisomerase II- $\alpha$  also correlated with poor tumor differentiation, increased lymph node metastasis and high tumor stage. The E2F-1 and Topoisomerase II- $\alpha$  expressions indices were significantly correlated.

**Conclusion:** These results suggest that the expressions of E2F-1 and DNA Topoisomerase II- $\alpha$  may play a role as

a prognostic factor for colorectal cancer, but further studies will be required for its confirmation. (J Korean Surg Soc 2003;65:35-41)

**Key Words:** Colorectal cancer, E2F-1, Topoisomerase II- $\alpha$   
**중심 단어:** 대장직장암, E2F-1, Topoisomerase II- $\alpha$

Departments of Surgery, <sup>1</sup>Pathology, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul, Korea

### 서 론

대장 및 직장암의 발생 빈도는 서구의 경우 폐암 다음으로 높은 발생 빈도를 나타내며 소화기계 암 중 발생 빈도가 가장 높다. 악성 종양은 현재 우리나라에서는 남자는 위암, 폐암, 간암, 여자는 자궁암, 위암, 유방암 순으로, 남녀 공히 4번째 순위인 대장 및 직장암은 단백질과 지방의 섭취가 많은 식이 습관 때문에 점차 증가 추세에 있다.(1) 대장직장암에서 이미 잘 알려진 예후인자로는 종양의 침윤 정도, 림프절 전이 유무, 원격 전이 유무 등이 있으며 조직학적 유형이나 세포의 분화 정도와는 상관관계가 확실치 않다. 현재 까지 대장직장암의 수술 후 치료방침을 정하거나 예후를 예측하는 데는 병리조직학적 소견과 임상적 병기에만 의존하여 왔으나, 같은 병기의 암이라도 재발률 및 생존율에 차이가 있는 경우가 많아 기존의 방법을 보완하거나 새로운 예후인자의 발견이 필요한 실정이며 많은 연구자들에 의해서 발암과정을 분자생물학적 측면에서 밝히고 이를 임상적으로 이용하기 위한 연구가 활발히 진행 중이다. 최근에는 암형성과 발전에 관여하는 여러 기능적 생물학적 변수들이 논의되고 있으며 이들 중 세포주기 조절인자에 대한 연구로 정상 세포주기의 장애가 암형성의 중요한 과정이라는 사실이 밝혀지고 있고 세포 주기 중 G1기에서 S기로의 이행이 증식에 가장 중요한 것으로 알려져 있다. 이 세포주기에 관여하는 여러 구성 성분의 이상이 여러 형태의 인체 종양에서 보고되고 있다.(2)

책임저자 : 지경천, 서울시 용산구 한강로 3가 65-207  
☎ 140-757, 중앙대학교 의과대학부속 용산병원  
외과학교실  
Tel: 02-748-9559, Fax: 02-793-1042  
E-mail: kcchi@cau.ac.kr

접수일 : 2002년 12월 11일, 게재승인일 : 2003년 1월 21일

세포의 핵 내에서 Cyclin이라는 단백질은 주기적으로 증가와 감소를 하고 있으며 Cyclin의 증가에 의하여 cyclin-dependent kinase (CDK)는 retinoblastoma tumor suppressor prot-ein (pRb)의 serine 및 threonine을 인산화시키고, 그 결과 pRb가 억제하고 있던 E2F이나 c-Abl, E1f-1과 같은 전사인자들이 활성화되면서 세포는 G1에서 S기로 들어가 증식하게 된다. E2F 단백질은 DNA 합성에 관련된 많은 유전자들의 전사를 조절하는 전사 조절인자로 알려져 있는데 여기에 pRb가 결합하면 전사인자로서의 기능이 상실된다. Cyclin D1/CDK4 복합체는 pRb에 직접 결합하여 mid-G1기에서 late-G1기 동안 이를 인산화하는데 이렇게 Rb 단백질이 과인산화되어 E2F와 결합하지 못하게 되면 자유롭게된 E2F는 S기를 위하여 필수적인 유전자 발현을 촉진시키는 것이 가능하게 되어 세포주기는 G1기에서 S기로 진행하게 되는 것으로 알려져 있다. 이 중 E2F-1은 종양의 분화도와 림프절 전이 여부, 병기와 연관성이 있다는 연구결과가 발표되고 있다. E2F-1이 인간 두경부 암종 세포에서 침습성을 증가시키는 데 중요한 역할을 하며,(3) E2F-1의 높은 발현이 대장암의 폐전이와 연관성이 있음이 알려져 있다.(4)

한편, 암세포의 증식력은 암세포의 특징 중에서 병의 진행을 결정짓는 중요한 인자로서 치료에 따른 결과를 예측할 수 있고 무병률(disease free survival rate) 및 생존율(overall survival rate)과도 밀접한 관계가 있다는 연구 결과들이 많이 나오고 있고 임상적으로 그 의미가 강조되고 있는데 이러한 세포 증식력을 측정하는 지표들은 MI (mitotic index), TLI (Thymidine Labeling Index), BrdUrd (Bromodeoxy-Uridine) labeling index, 유세포 분석을 통한 S기 측정, PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), Ki-67 등이 있고, 이들의 예후인자로서 가치가 알려져 있다.

최근 세포의 증식능을 측정하는 새로운 표지자로 DNA Topoisomerase II- $\alpha$ 가 알려지게 되었다.(5) DNA Topoisomerase II- $\alpha$ 는 세포증식에 있어서 변화가 민감하여 빠른 증식을 할 때 높은 수준을 나타내며 느린 증식을 할 때는 비교적 일정한 수준을 유지한다고 하며, 또한 S기에 있는 정상과 형질전환된 모든 세포에서 검출되고 비증식성 세포에서는 검출되지 않는다고 한다.(6) 이러한 DNA Topoisomerase II- $\alpha$ 를 이용한 세포 증식능 검출이 현재까지 소수의 유방암과 이행상피암 등에서 보고되었으며,(5,7) 세포의 증식능으로 환자의 예후를 평가하는 데 있어서 Ki-67보다 DNA Topoisomerase II- $\alpha$ 가 더 의미가 있다는 연구결과들이 발표되고 있다.(8)

이에 본 연구는 대장직장암에서 세포주기의 G1기에서 S기로 진행시키는 전사인자 E2F-1과 세포의 증식기에만 발현됨으로써 세포의 증식능을 나타내는 Topoisomerase II- $\alpha$ 에 대한 면역조직화학염색을 실시하여, 이들의 연관성과 기존에 알려져 있는 각종 예후인자들과의 연관성을 알아봄으로써 대장직장암에서 E2F-1과 Topoisomerase II- $\alpha$ 의 예후

인자로서의 임상적 의의를 알아보려고 한다.

## 방 법

### 1) 연구 대상

1997년 4월부터 2000년 4월까지 중앙대학교 의료원 외과 학교실에서 대장직장암으로 수술을 받은 환자 120예 중에서 조직보관 상태가 양호한 84예를 대상으로 포르말린에 고정된 파라핀 포매 조직을 이용하였다. 선택된 환자의 임상기록과 병리진단지 등을 검색하여 환자의 나이, 성별, 종양의 침윤도 및 림프절 전이 여부 등을 확인하였다.

### 2) 연구 방법

(1) **병리학적 분류:** 세포의 조직학적 분화도는 WHO 기준에 의해 핵의 다양성, 유사분열 활동성 정도에 따라 고분화도(well differentiated), 중등도 분화도(moderate differentiated), 저분화도(poorly differentiated)로 분류하였다. 종양의 침윤도는 AJCC의 T stage에 따라 각각 점막하층(T1), 고유근층(T2), 장막하층이나 결장 주위 지방(T3), 인접 장기(T4)의 침윤 정도에 따라 분류하였고, 림프절 전이는 그 수에 관계없이 전이 여부로 분류하였으며, 병기는 AJCC의 분류에 따랐다.

(2) **면역조직화학 염색:** 선택된 환자의 파라핀 포매조직을 4~5 $\mu$ m 두께로 박절하고 자일렌으로 5분간 3회의 탈 파라핀 과정을 거친 후 무수 알코올, 90%, 75% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 처리하여 함수시켰다. 그 후 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위해 0.3% hydrogen peroxide-methanol에 10분간 처리 후 증류수로 세척한 다음 50 mM Tris 완충용액(TBS, pH 7.5)으로 수세 후 비특이성 반응을 제거하기 위해 30분간 염소혈청으로 처리하고, 여분의 용액을 제거한 다음 일차항체인 E2F-1(1 : 10, Zymed)과 Topoisomerase II- $\alpha$ (1 : 50, Zymed)를 실온에서 2시간 작용시켰다. 일차항체 반응 후 TBS로 5분간 3회 수세한 다음 biotin이 부착된 이차항체(1 : 300, Zymed)에 20분간 작용 후, 통상적인 avidin-biotin complex (ABC)법으로 염색하였다. 발색제는 AEC를 사용하였고 Mayer's hematoxylin으로 대조염색하였다.

(3) **면역조직화학염색 결과 판정:** E2F-1은 종양세포의 10%에서 핵에 갈색으로 염색이 되는 것을 양성으로 판정하였으며(Fig. 1), Topoisomerase II- $\alpha$ 는 종양세포 1,000개 중에서 진한 갈색으로 핵에 염색이 되는 세포의 수를 세어 분율(Topoisomerase II- $\alpha$  index)로 표기하였다(Fig. 2).

(4) **통계처리:** 환자의 나이, 조직학적 분화도, 종양의 침윤도, 림프절 전이 여부, 병기, E2F-1 발현과 Topoisomerase index와의 관련성을 SPSS (version 8.0) 통계 프로그램을 이용하여 Pearson Chi-Square test와 ANOVA를 실시하였고, P 값이 0.05 이하일 때 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 인정하였다.

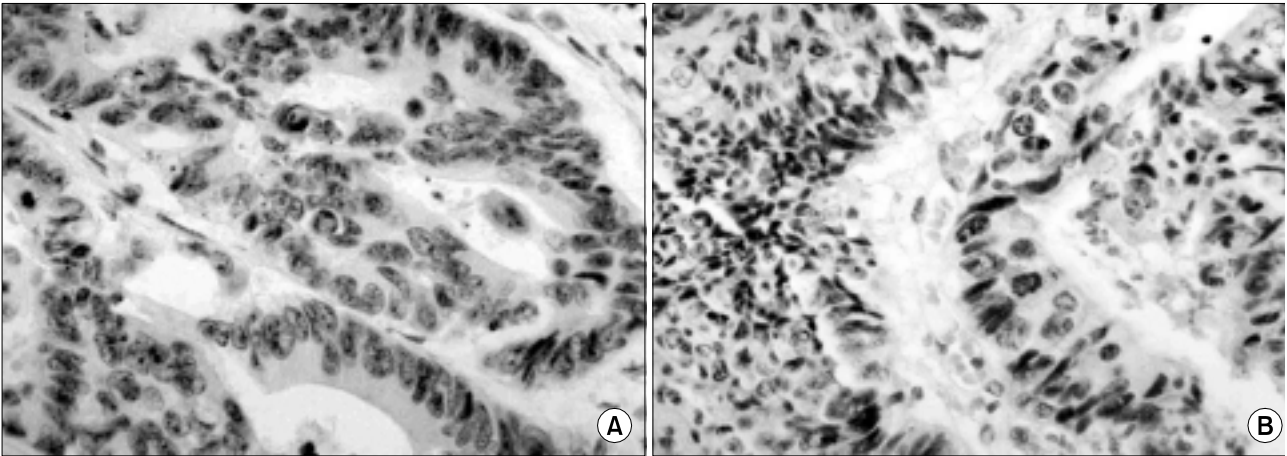


Fig. 1. Immunohistochemical staining for E2F-1 in colorectal adenocarcinoma. (A) negative staining in moderately differentiated adenocarcinoma, (B) positive nuclear staining in moderately differentiated adenocarcinoma (ABC stain,  $\times 400$ ).

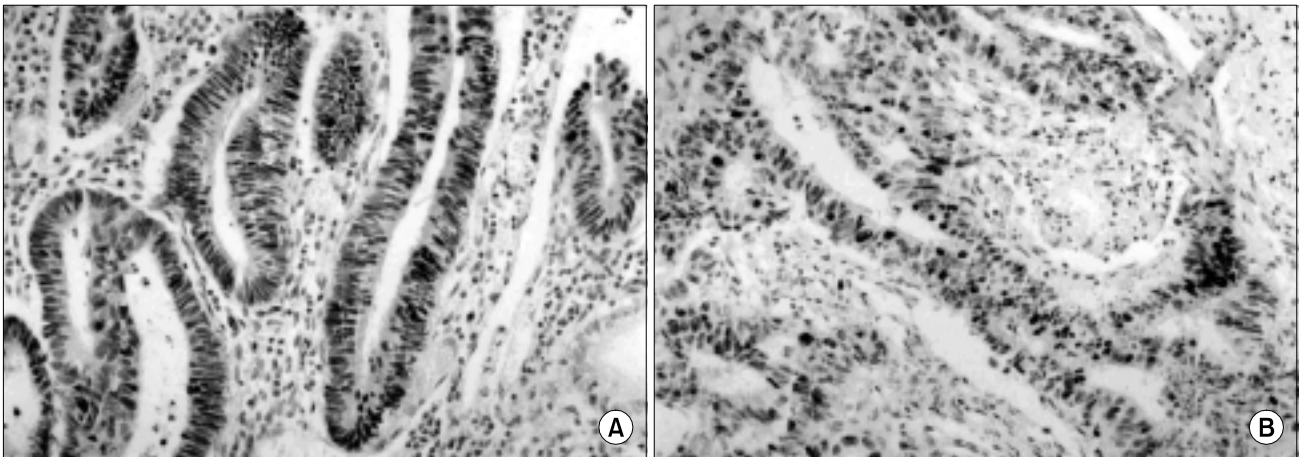


Fig. 2. Immunohistochemical staining for DNA topoisomerase II- $\alpha$  in colorectal adenocarcinoma. (A) sparse positive cells in well differentiated adenocarcinoma, (B) frequent positive cells in moderately differentiated adenocarcinoma (ABC stain,  $\times 200$ ).

## 결 과

### 1) 임상소견

환자의 연령은 36세부터 73세로 평균 54.5세였으며 39세 이하 군이 1예(1.1%), 40세에서 49세 군이 30예(35.7%), 50세에서 59세 군이 42예(50.0%), 60세에서 69세 군이 10예(11.9%), 70세 이상이 1예(1.1%)이었다. 환자의 성별은 남자가 41명, 여자가 43명이었다.

### 2) 조직학적 소견

종양의 분화도는 고분화도가 18예(21.4%), 중등도 분화도가 53예(63.1%), 저분화도는 13예(15.5%)이었으며, 종양의 침윤도(T)는 T1이 2예(2.4%), T2는 8예(9.5%), T3는 69예(82.1%), T4는 5예(6.0%)였다. 림프절 전이 여부는 전이가

있는 군이 42예(50.0%)였고, 전이가 없는 군이 42예(50.0%)로 같았다. AJCC에 의한 환자의 병기는 병기 I이 7예(8.3%), 병기 II가 35예(41.7%), 병기 III가 38예(45.2%), 병기 IV가 4예(4.8%)이었다.

### 3) E2F-1의 발현 및 Topoisomerase II- $\alpha$ index와 예후인자와의 상관관계

총 84예 중 E2F-1에 음성을 나타낸 예가 43예(51.2%), 양성을 나타낸 경우가 41예(48.8%)였다.

종양의 분화도에 따라서 고분화도 군에서 E2F-1이 음성인 예가 13예(72.2%), 양성인 예가 5예(27.8%)였고, 중등도 분화도 군에서 26예(49.1%)가 음성, 27예(50.9%)가 양성이며 저분화도 군에서는 4예(30.8%)가 음성, 9예(69.2%)가 양성으로 분화도가 나빠질수록 통계학적으로 유의하게 E2F-1의 발현이 증가하였다( $P=0.021$ ). 또한 Topoisomerase

**Table 1.** Association between E2F-1 & Topoisomerase II- $\alpha$  index and differentiation

Differentiation	n=84	E2F-1		Topoisomerase II- $\alpha$ index (mean $\pm$ SD)
		(-)	(+)	
Well	18	13 (72.2%)	5 (27.8%)	48.06 $\pm$ 19.50
Moderate	53	26 (49.1%)	27 (50.9%)	62.89 $\pm$ 20.04
Poor	13	4 (30.8%)	9 (69.2%)	67.31 $\pm$ 14.67
P-value		0.021		0.009

**Table 2.** Association between E2F-1 & Topoisomerase II- $\alpha$  index and T-stage

T-stage	n=84	E2F-1		Topoisomerase II- $\alpha$ index (mean $\pm$ SD)
		(-)	(+)	
1	2	2 (100%)	0 (0%)	44.50 $\pm$ 30.41
2	8	5 (62.5%)	3 (37.5%)	28.00 $\pm$ 10.39
3	69	33 (47.8%)	36 (52.2%)	62.65 $\pm$ 16.73
4	5	3 (60.0%)	2 (40.0%)	87.40 $\pm$ 0.55
P-value		NS*		NS

NS\* = not significant.

**Table 3.** Association between E2F-1 & Topoisomerase II- $\alpha$  index and LN\* metastasis

LN metastasis	n=84	E2F-1		Topoisomerase II- $\alpha$ index (mean $\pm$ SD)
		(-)	(+)	
(-)	42	27 (64.3%)	15 (35.7%)	50.93 $\pm$ 10.85
(+)	42	16 (38.1%)	26 (61.9%)	69.86 $\pm$ 16.77
P-value		0.014		0.0001

LN\* = lymph node.

II- $\alpha$  index도 분화도가 나빠질수록 유의하게 그 값이 증가하였다(P=0.009)(Table 1).

종양의 침윤도에 따라서는 T1에서 음성은 2예(100%), 양성 0예(0%), T2에서는 음성인 예가 5예(62.5%), 양성인 예가 3예(37.5%)였고 T3에서는 33예(47.8%)가 음성, 36예(52.2%)가 양성, T4에서는 3예(60.0%)가 음성, 2예(40.0%)가 양성으로 T stage에 따른 E2F-1의 발현은 통계적 유의성이 없었으며(P>0.05), Topoisomerase II- $\alpha$  index 또한 유의성이 없었다(P>0.05)(Table 2).

림프절 전이 여부에 따라서는 전이가 없는 군은 음성이 27예(64.3%), 양성 15예(35.7%)였고, 전이가 있는 군은 음성이 16예(38.1%), 양성 26예(61.9%)로 전이가 있는 군에서 E2F-1이 발현되는 예가 통계학적으로 유의하게 증가하

였고(P=0.014), Topoisomerase II- $\alpha$  index도 림프절 전이가 있는 군에서 통계적으로 유의하게 증가하였다(P=0.0001)(Table 3).

병기에 따른 E2F-1 발현은 병기가 높아짐에 따라 E2F-1의 발현이 증가함을 보여 통계적인 유의성이 있었고(P=0.037), Topoisomerase II- $\alpha$  index도 병기가 높아짐에 따라 통계학적으로 유의하게 증가하는 양상을 보였다(P=0.0001)(Table 4).

E2F-1이 음성인 43예의 평균 Topoisomerase II- $\alpha$  index는 56.40 $\pm$ 21.32였으며 양성인 41예의 평균은 65.46 $\pm$ 17.48로 E2F-1이 양성인 군에서 통계학적으로 유의하게 Topoisomerase II- $\alpha$  index가 높았다(P=0.040)(Table 5).

**Table 4.** Association between E2F-1 & Topoisomerase II- $\alpha$  index and tumor stage

Tumor stage	n=84	E2F-1		Topoisomerase II- $\alpha$ index (mean $\pm$ SD)
		(-)	(+)	
I	7	5 (71.4%)	2 (28.6%)	31.00 $\pm$ 16.00
II	35	22 (62.9%)	13 (37.1%)	54.91 $\pm$ 16.88
III	38	16 (42.1%)	22 (57.9%)	69.39 $\pm$ 17.46
IV	4	0 (0%)	4 (100%)	74.25 $\pm$ 7.37
P-value		0.037		0.0001

**Table 5.** Association between E2F-1 and Topoisomerase II- $\alpha$  index

E2F-1	Number (84)	Topoisomerase II- $\alpha$ index (mean $\pm$ SD)
(-)	43 (51.2%)	56.40 $\pm$ 21.32
(+)	41 (48.8%)	65.46 $\pm$ 17.48
P-value		0.040

## 고 찰

우리나라에서 대장직장암은 서구에 비해 발생빈도는 적으나, 우리나라에서도 발생빈도가 점차 증가하여 1990년대는 한국인 10대 암종 중 남녀 모두에서 4위를 차지하는 호발 암종이 되었다.(1) 대장직장암은 소화기계 암 중에서는 근치적 절제 후 높은 생존율을 보이고 있으나, 근치적 수술 후 1/3 이상이 재발하고, 재발의 2/3 이상이 2년 이내에 발생하여 결국에는 원격전이로 인해 사망하게 된다.(9) 현재까지의 대장직장암의 수술 후 치료방침을 정하거나 예후를 예측하는 데는 Dukes 병기가 가장 중요하지만, 이 외에도 환자의 연령, 장천공의 유무, 장폐쇄의 유무와 같은 임상소견과 조직학적 유형 및 분화도, 종양의 성장 양상, 종양 주위의 림프구 침윤, 혈관 및 신경조직 침윤과 같은 조직 소견이 있다. 이 중 Dukes 병기가 예후와 가장 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 왔으나, 림프절 전이가 있는 Dukes C군에 속하는 암종을 가진 환자들 중에서도 1/3 가량이 장기간 생존하는가 하면, 림프절 전이가 없었던 대장암 환자의 20~30%가 5년 이내에 재발하여 사망에 이르게 되는 등 재발 및 예후 측정 지표로서의 부족함이 많았다.(10) 최근에는 새로운 예후인자를 찾고자 하는 노력들이 활발하게 진행되고 있으며, 분자생물학의 발달에 힘입어 정상세포가 암세포로 형질 전환을 하는 여러 단계 및 이에 관여하는 물질들이 밝혀지고 있으며, 암의 신생혈관 생성, 침윤성에 관여하는 많은 물질들이 발견되고 있다.

DNA 합성에 관련된 유전자들을 조절하는 것으로 알려진 E2F 전사인자군은 E2F 1에서 6까지가 기술되어 있고 E2F 1-3은 과발현시 S기의 진행을 유발시키지만 E2F 4-6은 그렇지 않다. 이 중 E2F-1은 46 kDa의 아미노산으로 구성되어 있으며 Cyclin A binding domain을 가지고 있고, p16-cyclinD-Rb pathway의 downstream regulator이고 세포주기가 진행하는데 필요한 요소이다. E2F-1의 과발현은 종양세포의 분화를 촉진시키기도 하고 억제하기도 하는 것으로 알려져 있다. 하나의 세포 주기에서 다른 주기로 이행하는 데에는 cyclins, CDK, CDK inhibitors, Rb, E2F 등 여러 가지 요소가 작용한다. pRb가 세포의 S기로의 이행 및 전사조절에 결정적으로 중요한 역할을 하는 E2F와 결합하여 세포를 G1에 머물게 한다는 사실과 CDK에 의하여 pRb는 세포주기에 따라 주기적으로 인산화가 된다는 사실이 밝혀졌다.(11) 예를 들어 D-type cyclins는 CDK4/CDK6와 결합하여 활성화시키고 이들은 Rb gene을 부산물인 pRb를 인산화시키고 이 pRb의 인산화의 결과로 pRb-E2F 결합체에서 E2F가 유리된다. 이 유리된 E2F는 DNA 생성에 필요한 유전자의 전사를 촉진시키고 G1기에서 S기로 유도되는 데 필요한 요소이다. Rabbani 등(12)은 방광암 환자에게서 임상 추적 검사를 시행하였을 때 E2F 표현이 낮은 환자에서 더 좋은 예후를 나타냈다고 보고하였고, Zhang 등(13)은 높은 E2F의 표현이 고분위 암과 연관이 있고 유방암 환자에게서 나쁜 예후를 나타냈다고 보고하였다. 또한 E2F-1 gene의 transfer가 인간의 두경부 종양에서 침습도를 증가시키고 악성도가 높은 세포주일수록 E2F-1의 표현이 더 높아진다고 보고하였다.(3)

한편 새로운 증식표지자로 연구되고 있는 DNA Topoisomerase는 DNA의 합성, 전사, 염색체 분리와 재결합 등의 DNA 대사에 중요한 과정 동안 DNA의 구조변화에 관여하는 효소이다.(14) 이러한 DNA Topoisomerase는 기능적으로 서로 다른 I과 II의 두 가지 유형이 있다. DNA Topoisomerase I은 DNA의 한 가닥을 자르는 역할을 하지만 DNA Topoisomerase II는 동시에 두 가닥을 자르며 그 기능을 수행하기 위해 ATP를 필요로 한다고 알려져 있으며, Topois-

omerase II는 포유류에서 각각 170과 180 kDa를 가지는  $\alpha$ 와  $\beta$ 의 isoform이 증명되었고 이들은 각각 염색체 17q21~22와 3q24에 위치한다.(15) 이들은 서로 높은 상동성을 가짐에도 불구하고 서로 독립적으로 조절되며 다른 성장과 기능을 가진다고 알려져 있다. Topoisomerase II- $\alpha$ 는 세포 증식에 민감하게 변화하여 급속한 증식기 동안에 높은 수준을 나타내며 세포가 성장을 멈추면 낮아지지만, Topoisomerase II- $\beta$ 의 발현은 세포주기 동안 일정하게 유지된다고 하였으며,(15) Lynch 등(5)은 Topoisomerase II- $\alpha$ 가 S, G2, M기에서 발현된다고 보고하였다. 한편, 대략 160 kDa의 분자량을 가지면서 증식성 세포에서 잘 발현이 되는 Ki-S1이라는 단클론 항체가 알려지게 되었고,(16) 이것은 유방암에서 예후인자로서의 가치가 있는 것으로 알려졌으며,(17) 최근 이 Ki-S1이 Topoisomerase II- $\alpha$ 와 동일한 것이 확인되었다.(18) Topoisomerase II- $\alpha$ 는 정상세포와 조직에서도 세포증식의 표지자로 알려져 있으며,(19) 각종 종양에서의 연구결과가 보고되어 있다. Staley 등(20)은 대장암에서 Topoisomerase II- $\alpha$ 에 대한 면역조직화학 염색을 실시하여 평균염색지수는 63.6이라고 발표하였으며, 염색지수는 Dukes 병기 A, B, C에서 각각 55.9, 63.8, 67.6으로 병기에 따른 유의성은 없다고 하였다. 또, Willman과 Holden(21)은 전립선의 양성 전암성병변 및 악성 병변에서 Topoisomerase II- $\alpha$ 에 대한 연구를 실시하여 고분화도 암종에서는 염색지수를  $1.5 \pm 0.9$ , 중등도 분화도에서는  $3.1 \pm 2.4$ , 저분화도 암종에서는  $6.7 \pm 5.5$ 로 발표하면서 침윤성 암종에서의 염색지수는 평균 4.0이라고 하였으며 전암성 병변인 고등급의 전립선 상피내 종양에서는 2.3, 양성 전립선 증식증에서는 0.54였다고 보고하였다. Nakopoulou 등(22)은 방광의 요로 상피암에서 Topoisomerase II- $\alpha$ 에 대한 면역조직화학 염색을 실시하여 Topoisomerase II- $\alpha$  염색 지수와 조직학적인 등급 및 고유근층으로의 침윤여부와 연관성이 있으나, Ki-67과의 연관성은 없어서 세포증식에 있어서 서로 다른 경로와 기능을 가지는 인자라고 설명하면서, Topoisomerase II- $\alpha$ 는 제한적인 환자 즉, 표재성 암종에 있어서 치료의 방침을 결정하는 데 도움을 줄 수 있을 것이라고 하였다.

본 연구에서는 대장직장암으로 그 대상을 제한하였고, 면역조직학적 분석의 한계가 인정되기는 하지만 E2F-1에 양성을 나타내는 경우가 전체 84명의 환자에서 41명이었고 E2F-1은 종양의 분화도가 나쁘고 림프절 전이가 있으며 병기가 진행됨에 따라 통계학적으로 유의하게 발현되는 예가 증가하였고, Topoisomerase II- $\alpha$ 는 종양의 분화도, 림프절 전이 여부, 병기와 통계학적으로 유의성이 관찰되어 예후인자로서의 가치가 있다고 판단된다. 또한, E2F-1이 양성인 군에서 Topoisomerase II- $\alpha$  index의 평균이 통계학적으로 유의하게 높았으며, 발현에 있어서 상호간에 통계학적으로 유의한 연관성이 관찰되어, 전사인자인 E2F-1과 증식표지자인 Topoisomerase II- $\alpha$ 가 서로 연관성 있게 발현되는 것

로 생각된다.

결 론

1997년 4월부터 2000년 4월까지 중앙대학교 의료원 외과학교실에서 대장직장암으로 수술을 받은 84예를 대상으로 E2F-1의 발현도 및 Topoisomerase II- $\alpha$  index를 조사하였고 기존의 예후인자들인 환자의 나이, 종양의 분화도, 종양의 침윤도, 림프절 전이 여부, 종양의 병기 등과의 상관성을 비교 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

총 84예 중 E2F-1에 음성을 나타낸 예가 43예(51.2%), 양성인 경우가 41예(48.8%)였으며, 종양의 분화도가 나쁘고 림프절 전이가 있으며 병기가 진행된 경우에 있어서 E2F-1이 발현된 예가 증가하였으며, Topoisomerase II- $\alpha$  index는 종양의 분화도가 나쁘고, 림프절 전이가 있으며, 병기가 진행된 경우 통계학적으로 유의하게 증가하였다( $P < 0.05$ ). 또한 E2F-1과 Topoisomerase II- $\alpha$ 는 서로 연관성 있게 발현되었다. 종양의 침윤도와 E2F-1의 발현, Topoisomerase II- $\alpha$  index는 통계학적 유의성이 없었다( $P > 0.05$ ).

이상의 결과로 대장직장암에서의 E2F-1과 Topoisomerase II- $\alpha$ 는 다른 예후인자들과 상관관계가 있고 서로 연관성 있게 발현되어 중요한 예후인자로 활용 가능성이 있다고 판단되었고 향후 이에 대한 지속적인 연구가 필요하다고 생각된다.

REFERENCES

- 1) Annual report of the central cancer registry in Korea (Based on registered data from 128 hospitals; Jan 1999-Dec 1999). Central cancer registry center in Korea, Ministry of health and welfare.
- 2) MacLachlan TK, Sang N, Giordano A. Cyclin, cyclin-dependent kinases and Cdk inhibitors: implication in cell cycle control and cancer. Crit Rev Eukaryot Gene Expr 1995;5: 127-56.
- 3) Zhang SY, Liu SC, Johnson DG, Klein-Szanto AJ. E2F-1 gene transfer enhances invasiveness of human head and neck carcinoma cell lines. Cancer Res 2000;60:5972-6.
- 4) Banerjee D, Gorlick R, Liefshitz A, Danenberg PC, Danenberg PV. Levels of E2F-1 expression are higher in lung metastasis of colon cancer as compared with hepatic metastasis and correlate with levels of thymidylate synthase. Cancer Res 2000;60:2365-7.
- 5) Lynch BJ, Guinee DG Jr, Holden JA. Human DNA topoisomerase II-alpha: a new marker of cell proliferation in invasive breast cancer. Human Pathol 1997;28:1180-8.
- 6) Hirabayashi S. Immunohistochemical detection of DNA topoisomerase type II- $\alpha$  and Ki-67 in adenoid cystic carcinoma and pleomorphic adenoma of the salivary gland. J Oral Pathol Med

- 1999;28:131-6.
- 7) Monnin KA, Bronstein IB, Gaffney DK, Holden JA. Elevation of DNA topoisomerase I in transitional cell carcinoma of the urinary bladder: correlation with DNA topoisomerase II-alpha and p35 expression. *Human Pathol* 1999;30:384-91.
  - 8) Holden JA, Townsend JJ. DNA topoisomerase II-alpha as a proliferation marker in astrocytic neoplasms of the central nerve system: correlation with MIB-1 expression and patient survival. *Mod Pathol* 1999;12:1094-100.
  - 9) Welch JP, Donaldson GA. Detection and treatment of recurrent cancer of the colon and rectum. *Am J Surg* 1978;135:505-11.
  - 10) Broll R, Schauer V, Schimmelpenning H, Strik M, Wolumann A, Bruch HP, et al. Prognostic relevance of occult tumor cells in lymph nodes of colorectal carcinoma: an immunohistochemical study. *Dis Colon Rectum* 1997;40:1465-71.
  - 11) Nevins J. E2F: a link between Rb tumor suppressor protein and viral oncoprotein. *Science* 1992;258:424-9.
  - 12) Rabbani F, Richon V, Orlow I, Lu M, Drobnjak M, Dudas M, et al. Prognostic significance of transcription factor E2F-1 in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:874-81.
  - 13) Zhang SY, Liu SC, Al-Saleem L, Holloran D, Babb J, Guo X, et al. A proliferative marker of breast neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2000;9:395-401.
  - 14) Berger JM, Gamblin SJ, Harrinson SC, Wang JC. Structure and mechanism of DNA topoisomerase II. *Nature* 1996;379:225-32.
  - 15) Drake FH, Hofmann GA, Bartus HF, Mattern MR, Crooke ST, Mirabelli CK. Biochemical and pharmacological properties of p170 and p180 forms of topoisomerase II. *Biochemistry* 1989;28:8154-60.
  - 16) Kreipe H, Heidebrecht HJ, Hansen S. A new proliferation-associated nuclear antigen detectable in paraffin-embedded tissues by the monoclonal antibody Ki-S1. *Am J Pathol* 1993;142:3-9.
  - 17) Sampson SA, Kreipe H, Gillett CE. Ki-S1: a novel monoclonal antibody which recognizes proliferating cells: evaluation of its relationship to prognosis in mammary carcinoma. *J Pathol* 1992;168:179-85.
  - 18) Boege F, Andersen A, Jensen S, Ziedler R, Kreipe H. Proliferation associated nuclear antigen Ki-S1 is identical with topoisomerase II- $\alpha$ . *Am J Pathol* 1995;168:179-85.
  - 19) Heck MMS, Earnshaw WC. Topoisomerase II: a specific marker of cell proliferation. *J Cell Biol* 1986;103:2569-81.
  - 20) Staley BE, Samowitz WS, Bronstein IB, Holden JA. Expression of DNA topoisomerase I and DNA topoisomerase II- $\alpha$  in carcinoma of the colon. *Mod Pathol* 1999;12:356-61.
  - 21) Willman JH, Holden JA. Immunohistochemical staining for DNA topoisomerase II- $\alpha$  in benign, premalignant, and malignant lesions of the prostate. *Prostate* 2000;42:280-6.
  - 22) Nakopoupou L, Lazaris AC, Kavantzias N, Alexandrou P, Athanassiadou P, Keramopoulos A, et al. DNA topoisomerase II-alpha immunoreactivity as a marker of tumor aggressiveness in invasive breast cancer. *Pathology* 2000;68:137-43.