

위의 이형성증, 선종, 선암종에서의 Oncogene과 Suppressor gene의 발현에 관한 연구

울산대학교 의과대학 병리학교실, 아산재단 서울중앙병원 진단병리과

유 은 실 · 정 재 결 · 이 인 철

=Abstract=

Immunohistochemical stainings were done to analyse the distribution of p53 and Rb proteins with various gastric epithelial lesions: normal, intestinal metaplasia, low grade and high grade gastric dysplasia, and gastric carcinoma. Normal and intestinal metaplastic epithelium revealed weak positivity for both p53 and Rb proteins. Low grade gastric dysplasia was also diffusely and mildly positive for two proteins. In contrast, in the area of high grade dysplasia, dysplastic cells were strongly positive in nuclei as well as in cytoplasm. Intranuclear strong immunostaining was persistent in gastric carcinomas regardless of histologic differences. It can be assumed that either p53 or Rb proteins may be involved in a spectrum of gastric epithelial changes directly or indirectly. Immunostaining for mutated p53 proteins may be used to determine the degree of gastric dysplasia in association with light microscopic features.

Key Words : gastric dysplasia, carcinoma, suppressor gene products

서 론

위암종은 한국인에 발생하는 암종 중 그 빈도가 가장 높은 암종이다. 위암종의 발생기전을 밝히기 위해서는 전암성병변과의 관계를 규명하는 것이 필요하며 임상적으로 전암성병변의 정확한 조기진단이 임상적으로 더욱 중요해지고 있다. 따라서 정기적인 내시경검사 및 생검 조직의 정확한 판독으로 위암종의 선형병변을 찾아내고 이의 적절한 치료를 통해

위암을 조기에 치료하려고 노력하고 있다. 위암종의 선형병변으로는 위축성 위염, 위점막의 장형화생¹, 이형성^{2,3}, 위선종^{4,5}이 있으며 형태학적으로 이들이 상호 유기적인 관계를 가지고 위암의 발생에 관여할 것으로 추측하고 있다. 그러나 이들 병변들의 광학현미경 소견들은 상호 중복되고 혼재되어 관찰되기때문에 진단에 따르는 어려움이 많은 것이 사실이다. 여러 종류의 발암과정과 전암단계에 관여하는 것으로 알려져 있는 암억제 유전자 중 p53⁶⁻¹³이나 Rb 유전자¹⁴

*이 연구는 학술진흥재단 1991년도 공모과제 연구비로 이루어졌음.

가 위암의 발생에도 적극 관여한다는 보고들이 있다¹⁵. 이 연구에서는 위암종 및 전암성 병변에서 종양유전자와 종양 억제유전자 생성물들의 분포를 조사하여 이들과 형태학적 특성간의 상관관계를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

이 연구는 내시경생검이나 위절제조직에서 병리학적으로 진단된 고도 이형성증 3예, 저도 이형성증 5예, 장형화생 1예, 인환세포암종 1예, 고분화암종 6예, 저분화암종 3예 및 분화가 혼재된 암종 1예를 대상으로 하였다. 조직은 생검이나 절제 후 광학현미경검색을 위해서는 10%포르말린에 고정하고 파라핀에 포매하였다. 2-4um두께로 박절하여 hematoxylin-eosin염색을 하였다. 면역조직화학염색을 위해서는 대표적인 부위의 조직을 절취하여 액체질소로 냉각시킨(-70°C) isopentane으로 급속 동결시킨 후 영하 70°C에서 냉동보관한 후 필요에 따라 사용하였다. 이들 조직들을 이용하여 동결절편기로 2-4um 두께의 동결절편을 제작하였다. 이들 절편들 중 한 장은 통상적인 hematoxylin-eosin염색을 실시하여 조직학적 소견을 관찰하였다. 면역조직화학검사를 위해서 만든 절편들은 공기중에 건조시킨 후 냉아세톤에 10분간 고정하였다. 이들은 적절히 희석시킨 1차항체와 40분간 반응시킨 후 biotin-labeled goat anti-mouse IgG 및 avidin-horseradish peroxidase conjugate와 함께 차례로 반응시켰다. 발색제로는 3,3'-diaminobenzidine-tetrahydrochloride가 사용되었다. 사용한 1차항체로는 c-erb B2(Oncogene Science), p105-RB에 대한 단클론항체 (Ab-1;Oncogene science), 모든 형태의 p53단백질에 대한 단클론 항체(Ab-2;Oncogene science) 및 p53 변이체 단백질에 대한 단클론항체(Ab-3;Oncogene Science)를 사용하였다. 면역조직화학염색을 시행한 절편은 Olympus광학현미경으로 발현유무, 염색강도, 발현세포의 분포 및 밀도등을 관찰하였다.

위이형성증은 병리학적으로 통상의 위염과 비교하여 고유층의 염증이 미약하고 주변 점막과의 경계가 좋은 병변으로 다음의 세포학적, 구조적 이상 소견들을 보이는 경우에 위이형증으로 진단하였다¹⁶; 세포학적으로 핵의 크기가 커지고 핵의 모양은 등그림

계 변하며 인도 커지고 또렷해지며 핵의 배열도 그 방향성을 잃게 된다. 유사분열도 더욱 빈번히 관찰된다. 구조적으로는 선의 크기는 작아지고 작은 선들끼리 가까이 붙어 복잡한 구조를 보인다. 이때 기질내에는 미약한 만성염증 소견을 보인다. 이러한 상피세포의 이형성의 정도에 따라 고도 이형성증과 저도 이형성증으로 분류하였다.

결 과

정상 위점막과 다양한 위점막병변의 면역조직화학염색 결과는 Table 1 에 요약되어있다. 위암을 동반

Table 1. Immunohistochemical staining results for p53 and Rb proteins in gastric epithelium

Cases & Diagnosis	Immunohistochemical staining results		
	Ab-1	Ab-2	Ab-3
1. Normal	++	++	+
2. Chronic gastritis	++	++	+
3. Intestinal metaplasia	+	+	+
4. Intestinal metaplasia with pleomorphism	++	++	+
5. Low grade gastric dysplasia	++	++	+
6. Low grade gastric dysplasia	++	++	+
7. Low grade gastric dysplasia	++	++	+
8. Low grade gastric dysplasia	++	++	+
9. Low grade gastric dysplasia	++	++	+
10. High grade gastric dysplasia	+	+	+
11. High grade gastric dysplasia	++	++	+
12. High grade gastric dysplasia	++	++	+
13. Well differentiated adenocarcinoma	+	++	-
14. Well differentiated adenocarcinoma	++	++	+
15. Well differentiated adenocarcinoma	++	++	+
16. Well differentiated adenocarcinoma	++	++	+
17. Well differentiated adenocarcinoma	++	+	+
18. Well differentiated adenocarcinoma	++	++	+
19. Poorly differentiated adenocarcinoma	+	++	+
20. Poorly differentiated adenocarcinoma	+	+	+/-
21. Poorly differentiated adenocarcinoma	++	+	+
22. Signet ring cell carcinoma	++	++	+
23. Mixed well and poorly differentiated adenocarcinoma	++	+	+

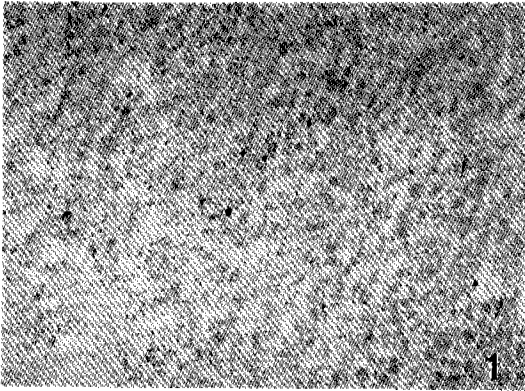


Fig. 1 Normal gastric mucosa : see diffuse and mild immunostaining for the Rb protein (peroxidase antiperoxidase(PAP) stain).

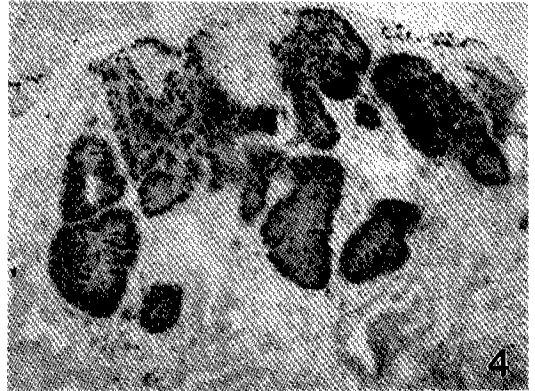


Fig. 4 High grade gastric dysplasia : dysplastic epithelial cells are strongly positive for p53 protein.(PAP stain)

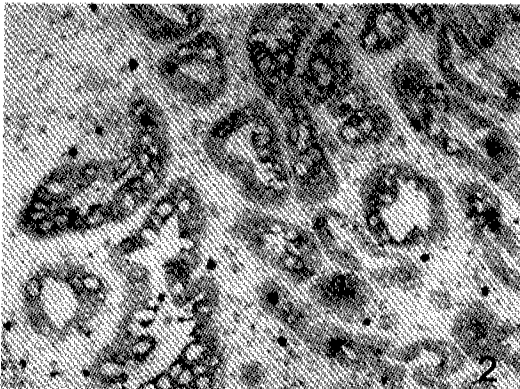


Fig. 2 Intestinal metaplasia : metaplastic goblet cells reveal weak cytoplasmic positivity (PAP stain for Rb protein).

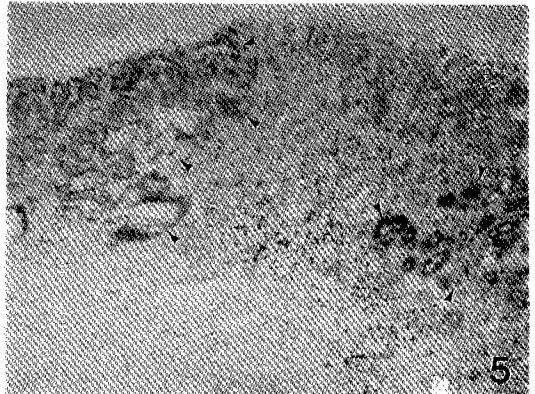


Fig. 5 Well differentiated adenocarcinoma : note two carcinomatous areas showing with positivity for p53 protein(arrow head). (PAP stain)

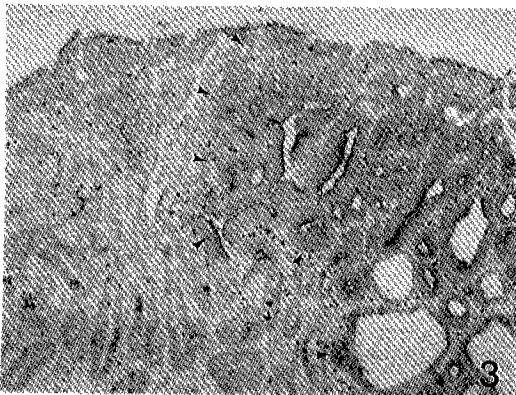


Fig. 3 Low grade gastric dysplasia : in contrast to the metaplastic mucosa, dysplastic epithelial cells(arrow head) reveal immunostaining along the brush border and within the cytoplasm(PAP stain for Rb protein).

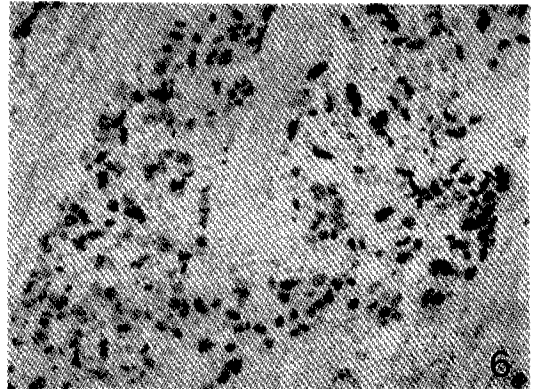


Fig. 6 Signet ring cell carcinoma : tumor cells reveal nuclear strong positivity for Rb protein.(PAP stain)

한 질체위의 비종양점막 상피세포에서는 Rb 및 p53 단백질에 대한 면역조직화학염색에서 세포질에 약하게 염색되었다(Fig. 1). 장형화생을 보이는 부분에서는 Rb 단백질과 p53 단백질은 세포질에는 미반성으로, 핵에는 초점성으로 분포하였다(Fig. 2). 세포의 다형성을 동반한 장형화생에서는 p53 변이체 단백질에 대해서 더 강하게 염색되는 경향이 있었다. 저도 위이형성증에서는 Rb 단백질과 p53 단백질의 분포와 염색강도가 장형화생상피와 같은 양상을 보였다(Fig. 3). 고도 이형성증에서는 세포질뿐만 아니라 핵에서 강하게 염색되었다(Fig. 4). 위암종에서는 종양의 분화에 따른 염색상의 차이는 없었다(Fig. 5 & 6).

C-erb B2에 대한 면역조직화학 염색에서는 위의 이형성증과 선종에서 차이가 없었으며 선암종에서는 미반성으로 양성반응을 보였다.

고 안

종양 억제 유전자인 p53은 여러 인체종양에서 직접 또는 간접적으로 작용하여 종양의 성장을 조절하는 생화학적기전에 관여하는 것으로 알려져 있으며¹⁷ 특히 DNA와 결합하고 복제조절에 관여하는 단백질로 알려져 있다. Simian virus 40 large T항원과 결합하는 숙주의 핵단백질인 p53은 이의 변이체 단백질이 종양을 일으키는데 관여한다고 한다. Wild type p53 단백질은 그 대사가 매우 빨라 정상적으로 면역조직화학법으로 확인할 수 없으나 p53의 변이체 단백질은 유방, 난소, 폐, 위, 대장, 신등의 종양에서 면역조직화학적으로 확인할 수 있다. 전암성 병변이나 침윤성 종양주변의 비침윤성부위에서도 그 발현이 현저히 증가한다고 알려져 있으나²¹⁻²⁴ 이와는 대조적으로 정상조직에서는 p53 단백질이 관찰되지 않는다. 본 연구에서는 종의 주변 정상점막 상피에서 미약하게 세포질내 p53 변이체 단백질이 분포함을 알 수 있었다. p53 단백질은 핵내 단백질로 세포질내 양성반응의 의미는 설명할 수 없으나 그러나 핵내 단백질의 일부는 바이러스 감염시 바이러스 단백질과 결합하여 핵안으로 이동되지 못하고 세포질내에 축적되기도 한다.

위암종에서의 p53 유전자변이와 p53 변이체 단백질의 발현이 보고되어 있으며 조직학적 분화도나 침윤과는 관련이 없다고 한다¹⁵. 위암종의 전암성 병변으로 알려져 있는 이형성증이나 다형성을 수반한 장형화

생점막에서의 p53 단백질의 발현은 알려진 바가 없다. 그러나 DNA 염기배열 조사로 위선종 10예중 3예에서 p53 유전자의 변이를 보고하고 있으며 이때 함께 실시한 면역조직화학염색에서는 선종 모두가 음성이었다고 한다²². 본 연구에서는 종양주변의 정상점막, 장형화생점막 및 저등급 위이형성에서는 미약하게 세포질내에서만 양성반응을 보였는데 이는 핵단백인 p53 단백질이나 Rb 단백질이 세포질에서 핵으로 이동하는 기전과 관련이 있을 것으로 생각된다. 이형성의 정도가 높아지면 점차 핵의 p53 단백질과 Rb 단백질의 발현이 빈번해지고 염색정도도 강해지는 경향을 보였으며 이는 위이형성증의 생물학적 성상을 이해하는데 도움이 될 것으로 생각된다. 암종의 분화도에 따른 차이는 없었으며 따라서 p53 및 Rb 단백질은 위암종의 발생초기에 이미 비정상적인 분포를 보이는 것으로 추측된다. 특히 면역조직화학염색에서 핵내 p53 단백질이 양성인 세포의 수가 증가하는 것이 위이형성의 정도, 나아가서는 암종변화로의 진행을 시사하는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Tosi P, Filipe MI, Luzi P, Miracco C, Santopietro R, Lio R, Sforza V, Barbini P: Gastric intestinal metaplasia type III cases are classified as low-grade dysplasia on the basis of morphometry. *J Pathol* 169:73-78, 1993
2. Rugge M, Farinati F, Mario FD, Baffa R, Valiante F, Cardin F: Gastric epithelial dysplasia: prospective multicenter follow-up study from the interdisciplinary group on gastric epithelial dysplasia. *Hum Pathol* 22:1002-1008, 1991
3. Jass JR, Sobin LH, Watanabe H: The World Health Organization's histologic classification of gastrointestinal tumors. *Cancer* 66:2162-2167, 1990
4. 김용일, 김우호: 위선종의 병리학적 특성 및 위암과의 상관관계에 의한 조직구축학적 연구. 대한병리학회지 18(2):164-173, 1984
5. Nakamura K, Sakaguchi H, Enjoji M: Depressed adenoma of the stomach. *Cancer* 62:2197-2202, 1988

6. Nigro SM, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, Bigner SH, Davidson N, Baylin S, Devilee P, Glover T, Collins FS, Weston A, Modali R, Harris CC, Vogelstein B: Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 342:705-708, 1989
7. Bressac B, Galvin KM, Liang TJ, Isselbacher KJ, Wands JR, Ozturk M: Abnormal structure and expression of p53 gene in human hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci* 87:1973-1977, 1990
8. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC: p53 mutations in human cancers. *Science* 253:49-53, 1991
9. Porter PL, Gown AM, Kramp SG, Coltrera MD: Widespread p53 overexpression in human malignant tumors. *Am J Pathol*:140(1):145-153, 1992
10. Trudel M, Mulligan L, Cavenee W, Margolese R, Cote J, Garipey G: Retinoblastoma and p53 gene product expression in breast carcinoma. *Hum Pathol* 23:1388-1394, 1992
11. Bartek J, Bartkova J, Vojtesek B, Staskova Z, Lukas J, Rejthar A, Kovarik J, Midgley A, Gannon JV, Lane DP: Aberrant expression of the p53 oncoprotein is a common feature of wide spectrum of human malignancies. *Oncogene* 6:1699-1703, 1991
12. Murakami Y, Hayashi K, Hirohashi S, Sekiya T: Aberrations of the tumor suppressor p53 and retinoblastoma genes in human hepatocellular carcinomas. *Cancer Research* 51:5520-5525, 1991
13. Cho J, Noguchi M, Ochiai A, Hirohashi S: Analysis of regional differences of p53 mutation in advanced gastric carcinoma: relation to heterogeneous differentiation and invasiveness. *Modern Pathol* 7:205-211, 1994
14. Yu ES, Park SY, Gong GY, Cho JH, Lee I: Gastric dysplasia. *Kor J Pathol* 25 suppl. A50, 1991
15. Vogelstein B, Kinzler KW: p53 function and dysfunction. *Cell* 70:523-526, 1992
16. Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harris AL: Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 335:675-679, 1990
17. Klein N, Vignaud JM, Sadmi M, Plenat F, Borelly J, Duprez A, Martinet Y, Martinet N: Squamous metaplasia expression of protooncogenes and p53 in lung cancer patients. *Lab Invest* 68:26-32, 1993
18. Hollstein MC, Metcalf RA, Welsh JA, Montesano R, Harris CC: Frequent mutation of the p53 gene in human esophageal cancer. *Proc Natl Acad Sci* 87:9958-9961, 1990
19. Casson AG, Mukhopadhyay T, Cleary KR, Ro JY, Levin B, Roth JA: p53 gene mutations in Barrett's epithelium and esophageal cancer. *Cancer Research* 51:4495-4499, 1991
20. Tohdo H, Yokozaki H, Haruma K, Kajiyama G, Tahara E: p53 gene mutations in gastric adenomas. *Virchows Archiv* 63:191-195, 1993
21. Gusterson BA, Anbazhagan R, Warren W, Midgely C, Lane DP, O'Hare M, Stamps A, Carter R, Jayatilake H: Expression of p53 in premalignant and malignant squamous epithelium. *Oncogene* 6:1785-1789, 1991
22. Bartkova J, Bartek J, Lukas J, Vojtesek B, Staskova Z, Rejthar A, Kovarik J, Midgley CA, Lane DP: p53 protein alterations in human testicular cancer including preinvasive intratubular germ cell neoplasia. *Int J Cancer* 49:196-202, 1991