

결장암 및 직장암에서 암유전자 산물의 발현

영남대학교 의과대학 병리학교실

심영란 · 장우영 · 최경찬 · 최준혁 · 최원희

영남대학교 의과대학 일반외과학교실

심 민 철

서 론

종양유전자와 암 발생의 연관성이 시사된 이래 종양유전자의 발현양상 및 기전에 관하여 조직표본내 유전자 재결합 반응(in situ hybridization), blot technique, 면역조직화학적 방법 등 많은 연구가 시행되어져 왔다. 종양유전자는 '우성(dominant)과 억압(suppressor)유전자로 나누며 우성유전자의 활성화와 억압유전자의 소실로 암이 발생한다. 우성유전자에는 fos, myc, sis 와 ras 유전자가 있으며 대장암에서는 ras 와 c-myc 유전자가 흔히 발현되고 정상 대장점막보다 더 높은 농도를 보이며 더우기 이들이 더 높게 나타날수록 더 나쁜 예후를 나타낸다고 한다. 종양유전자 myc은 c-myc, N-myc, L-myc 으로 분류되며, 특히 c-myc 종양유전자 산물은 62,000 dalton 단백질(p62^{c-myc})로서 주로 핵내에 존재하고 세포분열과 핵단백 생성에 관여하는것으로 알려져 있다. 또한 ras 종양유전자는 H-ras, K-ras, N-ras 로 분류되고, ras 종양유전자 산물인 21,000 dalton 단백질(p21^{ras})은 주로 내측세포막에 존재하여, guanine nucleotides(GTP 와 GDP)와 결합

해서 내인성 GTPase activity를 나타내고 세포내형질도입 신호조절에 관여하는 종양유전자로 알려져 있다. 종양유전자 p62^{c-myc}은 정상 대장점막, 대장용종, 대장암으로 갈수록 그 발현정도가 증가되지만, 대장암 주변부의 정상 대장점막에서도 나타나고¹⁾ 암중에서 더 많이 발현되며²⁾ 궤양성 대장염(ulcerative colitis)이나 크론씨 대장염(Crohn's colitis)에서도 p62^{c-myc}의 발현이 있다.³⁾ 종양유전자 p21^{ras}은 암종의 임상병기와 연관되어 증가하지만 대장암의 후기⁴⁾에 또는 초기에 증가한다는 보고⁵⁾도 있다. 종양유전자 p21^{ras} 또는 p62^{c-myc}의 발현은 방광⁶⁾ 위⁷⁻⁹⁾ 유방¹⁰⁾등에 연구되어 있으며 대장암에서 p62^{c-myc} 과 p21^{ras}의 발현을 임상소견, 병리학적 분화도, 임상병기와 예후에 관하여 알아보려고 면역조직화학적 방법을 이용하여 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1983년 6월부터 1993년 5월까지 10년간 영남대학교 의과대학 부속병원에서 결장 및 직장암

으로 절제되어 병리조직학적으로 결장 및 직장암으로 확진된 예 중, 파라핀 포매 조직의 상태가 양호한 선암종 67례를 대상으로 하였다.

염색방법

육안검색 후, 병리조직학적 검사를 위해 10% 중성 포르말린에 조직을 고정한 후 통상과정에 의하여 탈수하고 침투과정을 거쳐 파라핀절편을 만들어 약 4 마이크론 두께로 박절편을 만들고 통상의 hematoxylin-eosin 염색 및 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 면역조직화학적 염색은 LSAB Kit(DAKO Company, U.S.A.)를 이용하여 Avidin-Biotin-Complex(ABC) 방법으로 시행하였다. 과산화수소수(3%)를 5분간 작용시켜 내재성 peroxidase의 활성을 억제하고, phosphate buffered saline(PBS)으로 5분간 3회 세척하였다.

비특이성 결합반응을 감소시키기 위해 차단제를 5분간 도포한 다음에, 1차항체인 human Ha-ras 합성 peptide에 대한 mouse antihuman c-Ha-ras IgG(Oncogene Science Company, U.S.A.)를 1:20으로 희석하여 상온에서 1시간 도포하였고, human c-myc 합성 peptide 에 대한 mouse antihuman c-myc IgG(Cambridge Research Biochemicals Company, UK)를 1:100 으로 희석하여 상온에서 30분간 도포한 후, PBS로 5분간 3회 세척하였다. 그후 2차항체인 link antibody(biotinylated antimouse and antirabbit immuno-globulin(LSAB Kit, DAKO Company, U.S.A.))를 10분간 도포하고 PBS로 5분간 3회 세척하였다. 발색제인 ACE chromogen(3% 3-amino-9-ethyl carbazolein, N-dimethylformamide)을 5-10분간 도포한 후에, 증류수로 세척한 다음 Mayer hematoxylin용액으로 5분간 대조염색하고, glycerin jelly로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

성적평가

면역조직화학적 염색 결과의 평가: 광학현미경으로 관찰하여 갈색의 색소침착을 나타내는 세포를 양성으로, 색소침착을 나타내지않는 세포를 음성으로 판정하였다. 양성반응의 경우, 염색강도에 따라 약양성, 강양성으로 구분하였고, 분포에 따라 반미만의 세포에서 관찰되는 경우를 국소성, 반이상의 세포에서 관찰되는 경우를 미만성으로 평가하였다.

통계학적 분석

종양유전자 p62^{c-myc} 과 p21^{ras}의 발현과 관련된자들 사이의 유의성은 SPSS/PC+program중 crosstable을 사용하였으며, 통계학적 유의성은 x²-test로 검정 하였다.

성 적

환자의 성별 및 연령 (표 1)

남자는 총 67례중 29례(43.3%)였고 여자가 38례(56.7%)였다. 남녀비가 1:1.31로 여자가 약간 많았다. 환자의 연령은 32세에서 82세 사이였고 평균연령은 57.6세 였으며 50대가 67례중 24례(35.8%)로 가장 많았다.

종양의 육안적 소견 및 종양의 위치 (표 2)

Borrmann type II가 37례(55.2%)로 가장 많았고 Borrmann type III가 26례(38.8%)로 이 두가지형이 94.0%를 차지하였다.

종양의 위치는 67례중 직장이 30례(44.8%)로 가장 많았고, 상행결장이 15례(22.4%), S-결장이 8례(11.9%)였다.

면역조직화학적 염색소견

Table 1. Age and sex distribution in colorectal carcinoma

| Age (years) | Male | | Female | | Total | |
|-------------|------|-----------------|--------|-----------------|-------|------------------|
| | No. | % | No. | % | No. | % |
| 0-9 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| 10-19 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| 20-29 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| 30-39 | 4 | 13.8 | 2 | 5.3 | 6 | 9.0 |
| 40-49 | 3 | 10.3 | 5 | 13.2 | 8 | 11.9 |
| 50-59 | 10 | 34.5 | 14 | 36.8 | 24 | 35.8 |
| 60-69 | 6 | 20.7 | 14 | 36.8 | 20 | 29.9 |
| 70-79 | 6 | 20.7 | 2 | 5.3 | 8 | 11.9 |
| 80-89 | 0 | 0.0 | 1 | 2.6 | 1 | 1.5 |
| Total | 29 | 100.0 (43.3) | 38 | 100.0 (56.7) | 67 | 100.0 (100.0) |

Table 2. Location and gross appearance in colorectal carcinoma

| Location | Borrmann's classification | | | | | | | | | |
|------------------|---------------------------|----------------|-----|-----------------|-----|-----------------|-----|--------------|-------|------------------|
| | I | | II | | III | | IV | | Total | |
| | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| Cecum | 0 | 0.0 | 3 | 8.1 | 1 | 3.8 | 0 | 0.0 | 4 | 5.9 |
| Ascending colon | 1 | 25.0 | 6 | 16.2 | 8 | 30.8 | 0 | 0.0 | 15 | 22.4 |
| Hepatic flexure | 0 | 0.0 | 1 | 2.7 | 2 | 7.7 | 0 | 0.0 | 3 | 4.5 |
| Transverse colon | 0 | 0.0 | 3 | 8.1 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 3 | 4.5 |
| Splenic flexure | 0 | 0.0 | 2 | 5.4 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 2 | 3.0 |
| Descending colon | 0 | 0.0 | 1 | 2.7 | 1 | 3.8 | 0 | 0.0 | 2 | 3.0 |
| Sigmoid colon | 1 | 25.0 | 5 | 13.5 | 2 | 7.7 | 0 | 0.0 | 8 | 11.9 |
| Rectum | 2 | 50.0 | 16 | 43.3 | 12 | 46.2 | 0 | 0.0 | 30 | 44.8 |
| Total | 4 | 100.0 (6.0) | 37 | 100.0 (55.2) | 26 | 100.0 (38.8) | 0 | 0.0 (0.0) | 67 | 100.0 (100.0) |

종양유전자 p62^{c-myc}은 핵, 세포막, 세포질에 양성으로 관찰되었으며(그림 1) p21^{ras}는 세포막보다 세포질에 더 많이 발현되었다(그림 2).

조직학적 분류 및 분화도에 따른 소견(표 3, 4)

종양유전자 p62^{c-myc}은 고분화, 중등도분화, 저분화 선암종, 점액암종의 양성반응율이 각각 97.0%, 100.0%, 90.0%, 100.0%였는데, 고분화선암종에서는 대부분 미만성, 강양성으로 나타났다(그림 3). p21^{ras}는 고분화, 중등도분화, 저분화선암



Fig. 1. Positive reaction of p62^{c-myc} in the nucleus, cytoplasmic membrane, and cytoplasm. ABC method x200.

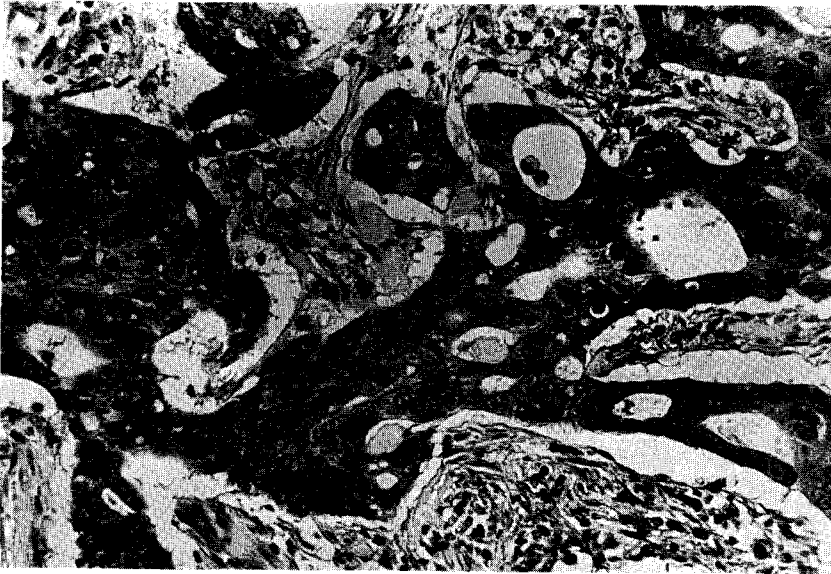


Fig. 2. Positive reaction of p21^{ras} in the cytoplasmic membrane, and cytoplasm. ABC method x200.

Table 3. Expression of p62^{c-myc} in colorectal carcinoma according to histologic type and differentiation

| Histologic type and differentiation | NOC NOPC(%) | | Distribution | | | | | | Intensity | | | |
|---|-------------|-----------|--------------|-------|-------|------|----------|------|-----------|------|-----|------|
| | | | Diffuse | | Focal | | Negative | | ++ | | + | |
| | | | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| Adenocarcinoma | | | | | | | | | | | | |
| Well diff. | 35 | 34(97.0) | 15 | 42.8 | 19 | 54.2 | 1 | 3.0 | 18 | 51.3 | 16 | 45.7 |
| Moderately diff. | 20 | 20(100.0) | 8 | 40.0 | 12 | 60.0 | 0 | 0.0 | 7 | 35.0 | 13 | 65.0 |
| Poorly diff. | 10 | 9(90.0) | 2 | 20.2 | 7 | 70.0 | 1 | 10.0 | 1 | 10.0 | 8 | 80.0 |
| Mucinous ca. | 2 | 2(100.0) | 2 | 100.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 1 | 50.0 | 1 | 50.0 |
| Total | 67 | 65(97.0) | 28 | 41.8 | 37 | 55.2 | 2 | 3.0 | 27 | 40.3 | 38 | 56.7 |

P = 0.59.

NOC: Number of cases,

NOPC: Number of positive cases,

diff: Differentiated.

ca.: Carcinoma.

Table 4. Expression of p21^{ras} in colorectal carcinoma according to histologic type and differentiation

| Histologic type and differentiation | NOC NOPC(%) | | Distribution | | | | | | Intensity | | | |
|---|-------------|-----------|--------------|------|-------|------|----------|------|-----------|------|-----|-------|
| | | | Diffuse | | Focal | | Negative | | ++ | | + | |
| | | | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| Adenocarcinoma | | | | | | | | | | | | |
| Well diff. | 35 | 32(91.4) | 18 | 51.4 | 14 | 40.0 | 3 | 8.6 | 8 | 22.8 | 24 | 68.6 |
| Moderately diff. | 20 | 19(95.0) | 8 | 40.0 | 11 | 55.0 | 1 | 5.0 | 7 | 35.0 | 12 | 60.0 |
| Poorly diff. | 10 | 9(90.0) | 3 | 30.0 | 6 | 60.0 | 1 | 10.0 | 2 | 20.0 | 7 | 70.0 |
| Mucinous ca. | 2 | 2(100.0) | 1 | 50.0 | 1 | 50.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 2 | 100.0 |
| Total | 67 | 62(92.5) | 30 | 44.7 | 32 | 47.8 | 5 | 7.5 | 17 | 25.4 | 45 | 67.1 |

P = 0.81.

NOC: Number of cases,

NOPC: Number of positive cases,

diff: Differentiated.

ca.: Carcinoma.



Fig. 3. Positive reaction of p62^{c-myc} in well differentiated adenocarcinoma. ABC method x200.



Fig. 4. Positive reaction of p21^{ras} in well differentiated adenocarcinoma. ABC method x200.

Table 5. Expression of p62^{cmyc} in colorectal carcinoma according to Dukes stage

| Dukes stage | Distribution | | | | | | | | Intensity | | | |
|----------------|--------------|-----------|---------|-------|-------|-------|----------|-----|-----------|------|-----|-------|
| | NOC NOPC(%) | | Diffuse | | Focal | | Negative | | ++ | | + | |
| | | | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| A | 0 | 0(0.0) | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| B ₁ | 17 | 16(94.1) | 14 | 82.3* | 2 | 11.8 | 1 | 5.9 | 9 | 52.9 | 7 | 41.2 |
| B ₂ | 25 | 24(96.0) | 8 | 32.0 | 16 | 64.0 | 1 | 4.0 | 9 | 36.0 | 15 | 60.0 |
| C ₁ | 5 | 5(100.0) | 2 | 40.0 | 3 | 60.0 | 0 | 0.0 | 3 | 60.0 | 2 | 40.0 |
| C ₂ | 18 | 18(100.0) | 3 | 16.7 | 15 | 83.0 | 0 | 0.0 | 6 | 33.3 | 12 | 66.7 |
| D | 2 | 2(100.0) | 0 | 0.0 | 2 | 100.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 2 | 100.0 |
| Total | 67 | 65(97.0) | 27 | 40.3 | 38 | 56.7 | 2 | 3.0 | 27 | 40.3 | 38 | 56.7 |

P = 0.27, * p = 0.03.
 NOC: Number of cases, NOPC: Number of positive cases.

Table 6. Expression of p21^{ras} in colorectal carcinoma according to Dukes stage

| Dukes stage | Distribution | | | | | | | | Intensity | | | |
|----------------|--------------|-----------|---------|------|-------|------|----------|------|-----------|------|-----|------|
| | NOC NOPC(%) | | Diffuse | | Focal | | Negative | | ++ | | + | |
| | | | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| A | 0 | 0(0.0) | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| B ₁ | 17 | 15(88.2) | 5 | 29.4 | 10 | 58.8 | 2 | 11.8 | 3 | 17.6 | 12 | 70.6 |
| B ₂ | 25 | 24(96.0) | 17 | 68.0 | 7 | 28.0 | 1 | 4.0 | 16 | 64.0 | 8 | 32.0 |
| C ₁ | 5 | 5(100.0) | 2 | 40.0 | 3 | 60.0 | 0 | 0.0 | 2 | 40.0 | 3 | 60.0 |
| C ₂ | 18 | 16(88.9) | 5 | 27.8 | 11 | 61.1 | 2 | 11.0 | 3 | 16.7 | 13 | 72.2 |
| D | 2 | 2(100.0) | 1 | 50.0 | 1 | 50.0 | 0 | 0.0 | 1 | 50.0 | 1 | 50.0 |
| Total | 67 | 62(92.5) | 30 | 44.7 | 32 | 47.8 | 5 | 7.5 | 25 | 37.3 | 37 | 55.2 |

P = 0.928.
 NOC: Number of cases. NOPC: Number of positive cases.

중, 점액암종의 양성반응율이 각각 91.4%, 95.0%, 90.0%, 100.0%였고, 역시 고분화 선암종은 대부분 미만성 반응으로 관찰되었다(그림 4).

율이 94.1%였고 대부분이 미만성, 강양성 반응이었다(그림 5). Stage B₂에서의 양성반응율은 96.0%였고 대부분 국소성, 약양성이었으나 일부에서 강양성을 보였다. Stage C₁의 양성반응율은 100.0%였고 대부분 국소성이었으나 강양성 반응을 보였다. Stage C₂의 양성반응율은 100.0%였

Dukes stage에 따른 소견(표 5, 6)
 종양유전자 p62^{cmyc}은 Stage B₁에서 양성반응

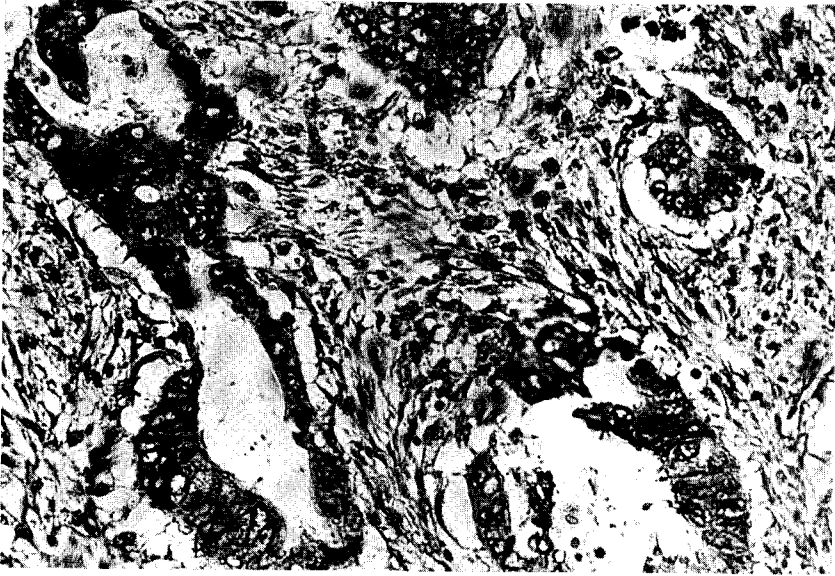


Fig. 5. Positive reaction of p62^{c-myc} in modified Dukes stage B₁. ABC method x200.

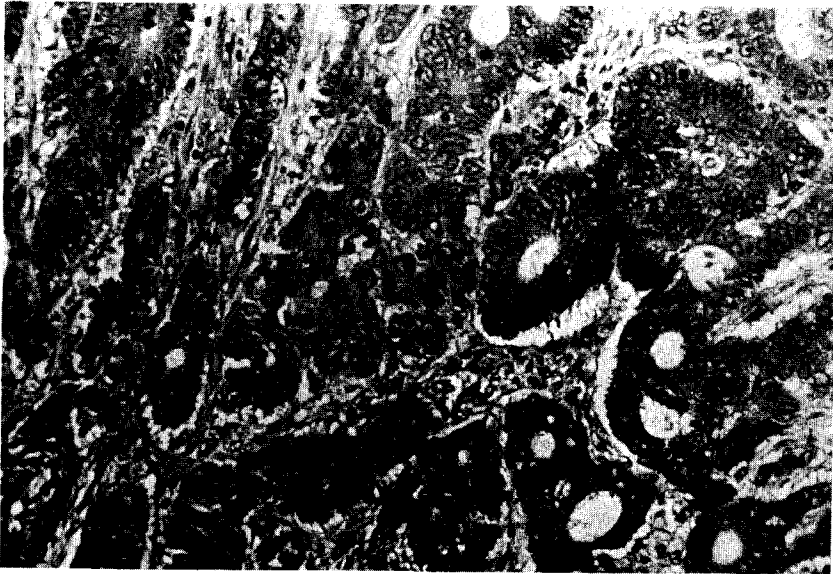


Fig. 6. Positive reaction of p21^{ras} in modified Dukes stage B₂. ABC method x200.

고 대부분 국소성이며 약양성이었고 일부에서 강양성을 보였다. Stage D의 양성반응율은 100.0%였고 모두 국소성이며 약양성이었다.

종양유전자 p21^{ras}의 발현은 Stage B₁에서 양성 반응율이 88.2%였고 대부분이 국소성, 약양성이었다. Stage B₂에서는 양성반응율이 96.0%였고, 대부분 미만성, 강양성이었다(그림 6).

Stage C₁의 양성반응율은 100.0%였고 대부분이 국소성, 약양성이었다. Stage C₂의 양성반응율

은 88.9%였고 대부분이 국소성, 약양성이었다.

Stage D의 양성반응율은 100.0%였고 국소성, 약양성이 50.0%였다.

원발성 및 전이성 병소의 결과(표 7, 8)

종양유전자 p62^{c-myc}은, 원발병소보다 전이된 림프절에서 미만성, 강양성 반응이 더 많았으나, p21^{ras}는 원발병소에서 양성반응이 더 많았으며, 주로 미만성, 강양성이었다.

Table 7. Expression of p62^{c-myc} in primary and metastatic colorectal carcinoma

| | NOC | NOPC(%) | Distribution | | | | | | Intensity | | | |
|-------------|-----|-----------|--------------|------|-------|------|----------|-----|-----------|------|-----|-------|
| | | | Diffuse | | Focal | | Negative | | ++ | | + | |
| | | | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| Primary | 20 | 20(100.0) | 4 | 20.0 | 16 | 80.0 | 0 | 0.0 | 8 | 40.0 | 12 | 60.0 |
| L/N meta. | 18 | 17(94.4) | 7 | 38.0 | 10 | 55.6 | 1 | 5.6 | 8 | 44.4 | 9 | 50.0 |
| Liver meta. | 2 | 2(100.0) | 1 | 50.0 | 1 | 50.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 2 | 100.0 |

P = 0.127.

NOC: Number of cases,
NOPC: Number of positive cases,

L/N meta: Lymph node metastasis.
Liver meta: Liver metastasis.

Table 8. Expression of p21^{ras} in primary and metastatic colorectal carcinoma

| | NOC | NOPC(%) | Distribution | | | | | | Intensity | | | |
|-------------|-----|-----------|--------------|------|-------|------|----------|------|-----------|------|-----|------|
| | | | Diffuse | | Focal | | Negative | | ++ | | + | |
| | | | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| Primary | 20 | 18(90.0) | 7 | 35.0 | 11 | 55.0 | 2 | 10.0 | 5 | 25.0 | 13 | 65.0 |
| L/N meta. | 18 | 13(72.2) | 5 | 27.8 | 8 | 44.4 | 5 | 27.8 | 2 | 11.1 | 11 | 61.1 |
| Liver meta. | 2 | 1(50.0) | 0 | 0.0 | 1 | 50.0 | 1 | 50.0 | 0 | 0.0 | 1 | 50.0 |

P = 0.28.

NOC: Number of cases,
NOPC: Number of positive cases,

L/N meta.: Lymph node metastasis.
Liver meta: Liver metastasis.

고찰

암의 발생과 종양유전자의 연관성에 관하여

Chang 등¹¹⁾에 의해 알려진 이후로, 여러가지 다양한 암종에서 종양유전자의 발현양상 및 그 기전에 대해 조직표본내 유전자 재결합 반응(in

situ hybridization), blot technique, 면역조직화학적 방법 등으로 많은 연구가 시행되어져 왔다.¹²⁻¹⁴⁾

대장암은 서구에서 더 많은 발생빈도를 나타내며, 우리나라에서는 전체 악성 종양 중에서 5번째로 많으나¹⁵⁾ 최근 식이습관의 서구화로 우리나라에서도 점차 그 발생율이 증가되는 추세이다. 대장암의 발생빈도에서 직장에서는 남자가 여자보다 많으며 직장 이외의 부위에서는 남녀의 성비에 따른 차이는 없다고 하였지만, 본 연구에서는 남녀비가 1:1.31로 남자보다 여자에서 발생빈도가 높았으며, 남자가 여자보다 높은 빈도를 보인다는 박 등¹⁶⁾, 임 등¹⁷⁾ 보고와는 다소 차이점을 보였고 평균연령은 57.6세로 50대의 발생빈도가 가장 많았는데, 이러한 결과는 장 등¹⁵⁾, 박 등¹⁶⁾, 임 등¹⁷⁾의 국내 보고와 일치하였다. 종양의 위치는 대부분의 국내 보고에서와 같이 직장이 가장 많았으며, 상행결장, S-결장 순이었다. 종양의 육안적 유형은 Borrmann type II가 가장 많았으며 다음으로 Borrmann type III 순이었고 이는 장 등¹⁵⁾의 연구와 일치하였다. 임상증상은 본 연구의 경우에 복통(43.7%), 혈변(40.6%), 설사(3.1%), 항문통(3.1%), 가늘어진 변(3.1%), 복부팽만감, 구토, 변비, 이급후증 등의 증상을 나타내어 국내의 다른 보고들과 유사하였다. 종양유전자 p62^{c-myc}의 발현은 직장암에서 더 많았으며 이는 transacting-regulator의 장애로 인한 c-myc deregulation의 결과에 기인한다.¹⁸⁾

성별에 따른 종양유전자는 p62^{c-myc}과는 상관관계가 없었으나 p21^{ras}의 발현은 여자에서 더 많았다.

지금까지 40여 종의 종양유전자가 알려져 있는데¹⁹⁾ 그중 결장 및 직장암은 myc, fos, ras 등의 종양유전자와 연관이 있으며, 또한 myc 및 ras 종양유전자는 신세포암, 난소암, 췌장암, 폐암, 유방암, 횡문근육종, 흉선종, 악성림프종, 백혈병과도 연관이 있다.^{20,21)} 종양유전자 myc은 c-myc,

N-myc, L-myc 으로 나누어지는데, 특히 c-myc 종양유전자는 염색체 전위(chromosomal translocation), 유전자 재배열(gene rearrangement), 유전자 증폭(gene amplification)에 의해 활성화되고^{22,23)} 이때 생긴 종양유전자 산물인 62,000 dalton 단백질(p62^{c-myc})은 주로 핵내에 존재하여 세포분열과 핵단백 생성에 관여하는것으로 알려져 있다. 종양유전자 ras는 H-ras, K-ras, N-ras 로 나누어지며, 12th, 61st, 13th codon의 점돌연변이에 의해 활성화되어 ras 종양유전자 산물인 21,000 dalton 단백질(p21^{ras})을 생성하게 되고, 이것은 주로 내측세포막에 존재하여 guanine nucleotides(GTP 와 GDP)와 결합해서 내인성 GTPase activity를 나타내며 세포내 형질도입 신호조절에 관여하는 종양유전자로 알려져있다.¹⁹⁾ 20),22-24) 종양유전자 p21^{ras}의 발현에 대하여 Chesa 등²⁵⁾은 성숙한 세포의 표현형(mature cellular phenotype)과 연관이 있고 증식능력(proliferative activity)과는 연관이 없으며 분화된 세포에서 강하게 나타나는데 특히 완전히 분화된 신경원(neuron), 근육(muscle), 내분비 세포(endocrine cell)에 강한 발현을 보인다고 하였다. 종양유전자 ras 발현에 대하여 Augenlicht 등²⁶⁾은 대장의 가장 분화된 세포에서 제일 많다고 하였다. 본 연구에서의 p62^{c-myc} 과 p21^{ras}에 대한 전반적 양성 반응율은 각각 97.0%, 92.5%로 박 등의 방광암 세포의 ras 양성반응율 79.4%(1급 이행상피암종), 81.9%(2급 이행상피암종), 87.6%(3급 이행상피암종), 이와 유⁷⁾의 위암종에서의 p21^{ras} 양성반응율 47.0±32.6%(고분화 선암), 47.1±29.1%(중등도분화 선암), 22.5±26.1%(미분화 선암), 남 등¹⁰⁾의 유방암종에서의 ras 양성반응율 71.6±17.2%보다 높게 나타났다. 종양유전자 p62^{c-myc}에 대한 양성반응은 핵뿐만 아니라 세포막, 세포질에서도 관찰되었고, p21^{ras}에 대한 양성반응도 내측

세포막 뿐만아니라 세포질에서도 관찰할 수 있었다. 이것은 p62^{c-myc} 과 p21^{ras}가 일단 세포질내에서 생성된 후 핵내와 내측세포막에 존재하기 때문으로 생각된다. 이 등⁷⁾, 정 등⁸⁾은 분화가 잘된 관상선암종 일수록 p21^{ras}에 대한 반응의 정도가 강하다고 하였으며, Sikora 등²⁷⁾은 분화가 잘될수록 c-myc 종양유전자 산물의 양이 많아지고 분화가 나뉠수록 종양유전자 산물의 양이 적어진다고 보고하였는데 본 연구에서도 고분화선암종에서 미만성 양성반응이 많이 나타나 두 연구결과와 일치하였다. 그러나 박 등⁶⁾이 발표한 방광암 세포에서 조직학적으로 분화가 되지 않을수록 양성반응이 증가한다는 연구와는 일치하지 않았다. 또한 이 등⁷⁾, 정 등⁸⁾, Sikora 등²⁷⁾ 등은 종양유전자 산물의 양이 적을수록 예후가 더 나쁘다고 하였고, 점액암종에서는 잘 분화된 선암종보다 종양유전자 산물이 감소된 경향을 보인다고 하였는데, 본 연구에서는 점액암종에서 높은 종양유전자 산물의 양성율을 보였다. 이는 단지 2례의 아주 적은 예만을 대상으로 하였기 때문에 좀더 많은 예에서 연구해야 할 것으로 생각된다.

Jansson 등⁹⁾은 종양이나 염증때의 점막에서 종양유전자 산물의 발현이 증가하나, 침윤정도나 임상병기와는 연관이 없다고 하였고, 이형성 용모선 용종(dysplastic villoglandular polyp)과 상피내암(carcinoma in situ)에서 p21^{ras}가 증가하여 이것이 대장암으로의 형질전환(transformation) 초기에 중요한 역할을 한다고 주장하였으며 Sikora 등²⁷⁾도 p21^{ras} 발현은 대장암의 초기 현상이라고 하였다. 본 연구에서는 Duker stage의 증가에 따른 p62^{c-myc} 과 p21^{ras}의 발현증가는 없었으며 오히려 p62^{c-myc}은 stage B₁에서 미만성, 강양성으로 많이 나타났고, p21^{ras}는 stage B₂에서 미만성 반응이 많이 나타나 비교적 대장암의 초기에 p

62^{c-myc} 및 p21^{ras}가 증가한다는 여러 연구들과 일치되는것으로 생각되었다.

원발병소와 전이된 림프절에서의 종양유전자 산물의 발현에 관하여 1985년 Gallick 등²⁸⁾은 원발병소에 비하여 림프절에 전이된 대장암에서 p21^{ras} 표현이 감소된다고 하였으며 p21^{ras}의 증가는 대장암의 초기의 결과이며 종양의 진행은 보다 자율성을 지닌 세포들에 의해 유도된다고 하였고 다른 성장인자(growth factor)가 이 p21^{ras}의 역할을 대신 한다고 하였다. Michelassi 등²⁹⁾은 p21^{ras} 발현이 암의 침윤이나 전이 능력을 지닌다고 하며 이는 세포에서 ras 발현 증가가 collagen IV 분비를 증가시켜 정상조직의 침윤이 증가되고 혈관이나 림프관을 침입하여 전이를 일으킨다고 한다. 또한 남 등¹⁰⁾은 침윤성 관상피암종의 림프절 전이에서 원발병소에 비해 p21^{ras} 양성율이 증가되고 이는 암세포의 악성도 및 ras 종양유전자의 활성이 증가되어 있음을 시사해 준다고 하였다. 본 연구에서는 p62^{c-myc}은 원발병소보다 전이된 림프절에서 더 미만성으로 발현되었으나 p21^{ras}는 원발병소에서 더 많이 미만성으로 발현되어 Gallick 등의 연구와 일치하였다.

이상의 문헌과 본 연구의 결과를 종합하면 종양유전자 산물 p62^{c-myc} 과 p21^{ras}의 발현은 대장암 초기 및 고분화 선암종에서 더 많이 나타나는 것으로 생각되었고 환자의 나이, 종양의 육안소견과는 관련이 없는 것으로 사료되었다.

요 약

1983년 6월부터 1993년 5월까지 10년간 영남대학교 의과대학 부속병원에서 결장 및 직장암으로 절제되어, 병리조직학적으로 결장 및 직장암으로 확진된 예 중, 파라핀 포매조직의 상태

가 양호한 선암종 67례를 대상으로 하여 면역조직화학적 방법을 이용해서 대장암에서의 p62^{c-myc}과 p21^{ras}의 발현양상을 검색함으로써 종양유전자 산물과 대장암의 유형, 분화도 및 Dukes stage에 따른 연관성 유무를 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

결장 및 직장암에서 p62^{c-myc} 발현은 직장암에서 더 많았으며 그 양상은 주로 미만성 반응이 많았고(p<0.05), p21^{ras} 발현은 여자에서 더 많았다(p<0.05). 분화도에 따라서는 고분화 선암종에서 미만성으로 나타났고 강양성 반응의 경향을 보였다. 수정된 Dukes stage와 두 종양유전자 산물의 발현은 비교적 초기에 미만성으로 나타났다.

종양유전자 p62^{c-myc}의 발현은 전이된 림프절에서 원발병소보다 미만성, 강양성으로 더 많이 관찰 되었고, p21^{ras}의 발현은 원발병소에서 더 양성반응이 많았고 주로 미만성, 강양성으로 나타나는 경향이였다. 환자의 나이, 종양의 육안소견과는 통계학적 유의성이 없었다.

이상의 연구를 요약하면 종양유전자 산물 p62^{c-myc} 과 p21^{ras}의 발현은 대장암 초기 및 고분화 선암종에서 더 많이 나타나는 것으로 생각되었고 환자의 나이, 종양의 육안소견과는 관련이 없는 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. Melhem MF, Meisler AI, Finley GG, Bryce WH, Jones MO, Tribby II, Pipas JM, Koski RA: Distribution of cells expressing myc proteins in human colorectal epithelium, polyps, and malignant tumors. *Cancer Research* 52: 5853-5864, 1992.
2. Imaseki H, Hayashi H, Taira M, Ito Y, Tabata Y, Onoda S, Isono K, Tatibana M: Expression of c-myc oncogene in colorectal polyps as a biological marker for monitoring malignant potential. *Cancer* 64: 704-709, 1989.
3. Macpherson AJS, Chester KA, Robson L, Bjarnason I, Malcolm ADB, Peters TJ: Increased expression of c-myc proto-oncogene in biopsies of ulcerative colitis and Crohn's colitis. *Gut* 33: 651-656, 1992.
4. Thor A, Hand PH, Wunderlich D, Caruso A, Muraro R, Schlom J: Monoclonal antibodies define differential ras gene expression in malignant and benign colonic diseases. *Nature* 311: 562-565, 1984.
5. Jansson DS, Radosevich JA, Carney WP, Rosen ST, Schlom J, Staren ED, Hyser MJ, Gould VE: An immunohistochemical analysis of ras oncogene expression in epithelial neoplasms of the colon. *Cancer* 65: 1329-1337, 1990.
6. 박창수, 정병홍, 정상우, 조규혁: 방광암 세포의 ras 및 myc oncogene 표현에 관한 연구. *대한병리학회지* 21(4): 233-239, 1987.
7. 이광민, 유주용: 위암조직의 Ha-ras p21에 대한 면역조직화학적 연구. *대한병리학회지* 24(1): 1-9, 1990.
8. 정진숙, 김인후: 위암의 조직학적 유형과 암유전자 발현과의 관계 -Southern blot analysis와 면역조직화학적 분석-. *대한병리학회지* 26: 543-551, 1992.
9. 이동후, 이종달: 위암 조직에서의 암유전자 발현에 관한 연구. *대한소화기병학회잡지* 21(2): 311-320, 1989.
10. 남종희, 이종현, 박창수, 조규혁: 유방의 양성 및 악성병변의 ras oncogene 표현에 관한

- 연구. 대한병리학회지 23(1): 85-93, 1989.
11. Chang EH, Furth ME, Scolnick EM, Lowry DR: Tumorigenic transformation of mammalian cells induced by a normal human gene homologous to the oncogene of Harvey murine sarcoma virus. *Nature* 297: 479-483, 1982. Cited from Bos JL: The ras gene family and human carcinogenesis. *Mutation Research* 195: 255-271, 1988.
 12. Costantini RM, Theillet C, Hutzell P, Merlo G, Schlom J, Callahan R: In situ detection of c-myc mRNA in adenocarcinomas, adenomas, and mucosa of human colon. *J. Histochemistry and Cytochemistry* 37(3): 293-298, 1989.
 13. 석성억, 박성수, 이동후, 이정희, 이중달: 편평세포성 폐암의 c-myc 암유전자 발현에 관한 in situ hybridization 연구. *대한내과학회잡지* 38(4): 511-518, 1990.
 14. Hand PH, Thor A, Wunderlich D, Muraro R, Caruso A, Schlom J: Monoclonal antibodies of predefined specificity detect activated ras gene expression in human mammary and colon carcinomas. *Proc. Natl. Acad. Sci* 81: 5227-5231, 1984.
 15. 장미수, 김우호, 김용일: 대장암의 병리학적 특성 -절제 대장암 872예에 대한 분석-. *대한소화기병학회잡지* 22(1): 71-83, 1990.
 16. 박진우, 양한광, 권오중, 박재갑, 홍성국, 김진복: 대장암 환자의 연령에 따른 임상 분석. *대한암학회지* 23(1): 140-149, 1991.
 17. 임채용, 정용철, 채권묵: 대장 및 직장암의 임상적 고찰. *외과학회지* 35(5): 569-576, 1988.
 18. Erisman MD, Scott JK, Astrin SM: Evidence that the familial adenomatous polyposis gene is involved in a subset of colon cancers with a completable defect in c-myc regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci* 86: 4264-4268, 1989.
 19. Weinberg RA: The action of oncogenes in the cytoplasm and nucleus. *Science* 230: 770-776, 1985.
 20. Slamon DJ, deKernion JB, Verma IM, Cline MJ: Expression of cellular oncogenes in human malignancies. *Science* 224: 256-262, 1984.
 21. Bos JL: The ras gene family and human carcinogenesis. *Mutation Research* 195: 255-271, 1988.
 22. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL: Robbins pathologic basis of disease. 4th ed, W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1989, pp 282-291.
 23. Polak JM: Diagnostic histopathology of neuroendocrine tumours. In Roncalli M, Coggi G: *Oncogenes and neuroendocrine tumours*. Churchill Livingstone, Singapore, 1993, pp 41-66.
 24. Tabin CJ, Bradley SM, Bargmann CI, Weinberg RA, Papageorge AG, Scolnick EM, Dhar R, Lowy DR, Chang EH: Mechanism of activation of a human oncogene. *Nature* 300: 143-149, 1982.
 25. Chesa PG, Rettig WJ, Melamed MR, Old LJ, Niman HL: Expression of p21^{ras} in normal and malignant human tissues: Lack of association with proliferation and malignancy. *Proc. Natl. Acad. Sci* 84: 3234-3238, 1987.
 26. Augenlicht LH, Augeron C, Yander G, Laboisie C: Overexpression of ras in mucus-secreting human colon carcinoma cells of low tumorigenicity. *Cancer Research* 47: 3763-3765,

- 1987.
27. Sikora K, Chan S, Evan G, Gabra H, Markham N, Stewart J, Watson J: c-myc oncogene expression in colorectal cancer. *Cancer* 59: 1289-1295, 1987.
28. Gallick GE, Kurzrock R, Kloetzer WS, Arlinghaus RB, Gutterman JU: Expression of p21^{ras} in fresh primary and metastatic human colorectal tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci* 82: 1795-1799, 1985.
29. Michelassi F, Erroi F, Roncella M, Block GE: Ras oncogene and acquisition of metastasizing properties by rectal adenocarcinoma. *Dis. Colon Rectum* 32: 665-668, 1989.

-Abstract-

Expression of Oncogene Product in the Colorectal Carcinoma

Young Ran Shim, Woo Young Jang, Kyoung Chan Choi,
Joon Hyuk Choi, Won Hee Choi

Department of Pathology
College of Medicine, Yeungnam University
Taegu, Korea

Min Chul Shim

Department of General Surgery
College of Medicine, Yeungnam University
Taegu, Korea

The expression of p62^{c-myc} and p21^{ras} can be seen in many solid tumor, but the pattern and incidence of expression were different according to organ, countries, and examiners, thus it is not definitely defined.

Total 67 colorectal carcinoma in paraffin sections are analysed by immunohistochemically for evaluation of the p62^{c-myc} and p21^{ras} expression according to the age, sex, chief complaints, location, differentiation, modified Dukes stage, using the specific monoclonal antibodies.

The results were summarized as follows :

The age of patients ranged from 32 years to 82 years. The mean age was 57.6 years. The expression of p62^{c-myc} and p21^{ras} was not correlated with age.

Male was 29 cases(43.3%) and female was 38 cases(56.7%). The male to female ratio was 1:1.31. The expression of p21^{ras} was increased in female(p<0.05).

Abdominal pain(43.7%) was the most frequent chief complaint.

The most frequent tumor location was rectum(44.8%). The expression of p62^{c-myc} was increased in the rectum(p<0.05).

The 65 cases(97.0%) out of 67 cases showed positive reaction of p62^{c-myc} in the nucleus, cytoplasmic membrane, and cytoplasm. The 62 cases(92.5%) out of 67 cases showed positive reaction of p21^{ras} in the cytoplasmic membrane and cytoplasm.

The positive rate of p62^{c-myc} and p21^{ras} was 97.0% and 91.4% in well differentiated adenocarcinoma, 100.0%

and 95.0% in moderately differentiated adenocarcinoma, 90.0% and 90.0% in poorly differentiated adenocarcinoma, 100.0% and 100.0% in mucinous carcinoma.

The positive rate of p62^{c-myc} and p21^{ras} was 94.1% and 88.2% in Dukes stage B₁, 96.0% and 96.0% in Dukes stage B₂, 100.0% and 100.0% in Dukes stage C₁, 100.0% and 88.9% in Dukes stage C₂, and 100.0% and 100.0% in Dukes stage D.

The expression of p62^{c-myc} in metastatic colorectal carcinoma showed diffuse and strongly positive reaction than primary colorectal carcinoma. The expression of p21^{ras} in primary colorectal carcinoma showed diffuse and strongly positive reaction than metastatic colorectal carcinoma.

Key Words: Oncogene, Immunohistochemistry, Colorectal carcinoma