

두경부 편평세포암에서 HMGI(Y), p53, Ki-67의 발현과 임상인자와의 상관 관계

한림대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실, 해부병리학교실*
노영수 · 박준영 · 박일석 · 임영창 · 문성호 · 김성동 · 황준식 · 김덕환*

= Abstract =

Correlation of Clinical Factors with HMGI(Y), p53 and Ki-67 Expression in Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck

Young Soo Rho, M.D., Jun Young Park, M.D., Il Seok Park, M.D.,
Young Chang Lim, M.D., Sung Ho Moon, M.D., Sung Dong Kim, M.D.,
Joon Sik Hwang, M.D., Duk Hwan Kim, M.D.*

Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery and Pathology,*
Hallym University College of Medicine, Seoul, Korea

Objectives : Expression of HMGI(Y), a nucleoprotein that binds to A/T rich sequences in the minor groove of the DNA helix, is observed in neoplastically transformed cells but not in normal cells. We have analyzed HMGI(Y), p53 expression and Ki-67 labelling index in squamous cell carcinomas of the head and neck, and evaluated its clinicopathologic significance.

Materials and Methods : 40 cases of squamous cell carcinoma of the head and neck were entered on the study of immunohistochemical stains for HMGI(Y), p53 and Ki-67. We analyzed the relationship between HMGI(Y), p53, Ki-67 expression and age, sex, primary tumor site, stage, survival rate, recurrence.

Results : HMGI(Y) expression evidenced by immunohistochemical staining was observed in 35 of 40 (87.5%) squamous cell carcinoma of the head and neck. But no significant correlation was observed between HMGI(Y) expression and other clinical factors such as primary site, tumor stage, differentiation, cervical lymph node, metastasis, recurrence and immunohistochemical status of p53. The Ki-67 labelling index was significantly correlated with recurrence and HMGI(Y) expression ($p < 0.05$).

Conclusion : This results suggest the Ki-67 is a good prognostic factor and the HMGI(Y) expression plays some roles in carcinogenesis and cellular proliferation of squamous cell carcinoma of the head and neck. HMGI(Y) gene can be used as a cancer marker, the correlation between the gene expression and the prognosis of the cancer patient should be proved in the future studies.

KEY WORDS : Squamous cell · Carcinoma · High mobility group proteins · Protein p53 · Ki-67 Antigen.

서 론

전체 암의 3~5%를 차지하는 두경부 편평세포암의 치료

교신저자 : 노영수, 134-701 서울 강동구 길1동 445
한림대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실
전화 : (02) 2224-2279 · 전송 : (02) 482-2279
E-mail : ys20805@chollian.net

는 수술, 항암화학요법 및 방사선 치료 등을 단독 혹은 병합하고 있는데 50% 내외의 치료율을 보여 다른 부위의 종양보다 비교적 좋은 예후를 보인다¹⁾. 현재까지의 치료방침을 결정하는데는 종양측 인자, 환자 및 치료 인자 등이 주로 이용되고 있으나, 임상적 인자만으로는 종양의 생물학적 특성과 미세환경의 차이 등을 반영하기에는 미흡하였다. 최근 들어 분자생물학, 면역학 및 유전학적 연구의 발달로 각

종 악성종양에서 종양의 증식능이나 암유전자나 암억제유전자의 발현양상을 측정하여 종양 악성도의 지표를 찾고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있으나 두경부 영역에서는 그 결과가 미약한 실정이다.

High mobility group I (HMGI) 단백질이 포유류 세포의 구성성분으로 발견된 후 많은 연구자들은 배형성 시기의 세포와 종양으로 변형된 세포에서 이 단백질의 발현이 높은 반면 정상세포에서는 없거나 매우 낮게 발현되는 것에 깊은 관심을 가지게 되었다²⁾. 그 후 Fedele 등³⁾은 악성도가 다른 7개의 대장암 세포주를 이용한 연구에서 HMGI(Y) 유전자는 모든 세포주에서 발현되고 특히 HMGI(Y) 단백질은 악성도가 높은 세포주에서 높게 측정되며 수술시 적출한 대장암 조직을 면역조직화학적 방법을 이용하여 분석한 결과 모든 예에서 HMGI(Y) 단백질은 핵에 국한되어 강하게 발현된다고 하였다. 자궁경부암에서도 대장암과 유사한 연구결과를 얻었고⁴⁾, 갑상선암에서도 HMGI(Y) 단백질이 강한 발현 양상을 보이나 양성선종과 정상 갑상선 조직에서는 발현되지 않는다고 하였다⁵⁾.

정상 p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하는 암억제 유전자로 알려져 있고, p53 유전자의 산물인 p53 단백질은 53kd의 분자량을 갖는 핵인 단백질로 세포핵내에 존재하며⁶⁾, 세포주기를 조절하지만, 단완의 소실(deletion)이나 점돌연변이(point mutation)에 의한 p53유전자의 돌연변이는 암발생에 깊은 관련을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 이 유전자의 변이는 두경부암종과도 관련이 있는 것으로 알려져 있다⁷⁾. 또한 Ki-67은 핵항원으로서 G0시기나 초기 G1시기를 제외한 모든 세포주기에서 발현되는 것으로 세포의 증식능을 측정할 수 있는 표식자로 알려져 있다⁸⁾. 따라서 본 연구는 두경부암 중 가장 많은 부분을 차지하는 편평세포암에 대한 HMGI(Y) 단백질의 발현을 연구함으로써 두경부암에서의 예후적 의미를 평가하고, p53과 Ki-67 발현과의 상관관계를 밝힘으로써 두경부 편평세포암의 생물학적 성상의 예측에 도움을 줄 수 있는지 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1997년 4월부터 1999년 7월까지 한림대학교 의과대학 강동성심병원 이비인후-두경부외과에서 두경부 편평세포암으로 진단받고 수술을 시행받은 40례의 환자를 대상으로 하였다. 환자의 의무 기록지 및 병리조직 검사결과지를 토대로 성별, 연령, AJCC(American Joint Committee on Cancer; 1997)의 TNM 체계에 따른 원발성 종양의 크기 혹은 국소 침범정도(size and/or local invasion of the primary tumor; T), 경부 림프절 전이여부(regional lymph

node involvement; N), 조직병리학적 분화도, 재발여부, 무병생존기간(disease free survival time) 등을 후향적으로 분석하였다. 성별은 남자가 32명, 여자가 8명, 연령은 34세부터 86세까지로 60세 미만이 23명, 60세 이상이 17명이었고, 평균연령은 59.1세이었다. 원발병소로는 후두암 13례, 하인두암 5례, 구강암 12례, 구인두암 6례, 상악동암 3례, 피부암 1례였고, T 병기는 1기 2례, 2기 16례, 3기 11례, 4기 11례이었다. 병리학적 분화도는 고분화군 22례, 중분화군 15례, 저분화군 3례이었으며 수술 후 병리적 림프절 전이는 20례에서 관찰되었다. 평균준거관찰기간은 29.3개월이었다.

연구재료는 수술시 적출된 종양을 통상적인 포르말린 고정과 파라핀 포매과정을 거친후 hematoxylin-eosin(H-E) 염색을 시행하여 광학 현미경하에서 조직학적 유형과 등급을 정한 다음 보관상태가 양호한 조직을 선택하였다. 대조군으로 구개편도 적출시에 정상 구개점막을 5례에서 채취하여 이용하였다.

2. 연구방법

1) 면역조직화학적 염색

Labelled streptavidin-biotin kit(DAKO LSAB Kit, Peroxidase System 40, K680, DAKO Corp.)를 사용하여 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 일차항체는 HMGI(Y) polyclonal antibody(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA), DO-7 monoclonal antibody(Dako, Glostrup, Denmark), Ki-67 polyclonal antibody(Dako)를 각각 1:25, 1:25, 1:100으로 희석하여 사용하였다. 파라핀 블록을 4 μ m 두께로 박절하여 슬라이드에 부착시킨 후 xylene에 5분간 3회 처리하여 파라핀을 제거하고, 100% 알코올에서 중류수까지 순차적으로 함수 처리한 뒤 micro wave에서 10mM citrate buffer에 약 20분 정도 처리하였다. 0.05M Tri-HCl완충용액(Tris buffered saline, TBS)으로 수세한 다음 내인성 과산화 효소의 활성을 억제하기 위하여 3% H₂O₂가 포함된 methanol 용액에 20분간 처리 후 TBS로 3회 수세하였다. 비특이적 반응을 감소시키기 위해 정상 염소혈청에 30분간 처리하고, 이 혈청을 조심스럽게 제거한 후 4 $^{\circ}$ C에서 0.1% bovine serum albumin(BSA)을 함유한 TBS에 희석한 일차항체와 12-15시간 반응시켰다. TBS로 3회 수세 후 biotin이 부착된 이차항체에 30분간 반응시키고 TBS로 3회 수세하였다. Steptavidin-biotin complex에 30분 동안 부착시킨 후 TBS로 3회 수세하였다. 발색제인 DAB(3,3-diaminobenzidine tetrachloride)로 5분간 반응시킨 다음 세척하여 Mayer's hematoxylin으로 대조염색 후 wet mounting하여 광학현미경으로 관찰하였다.

2) 판정 및 통계분석

판정은 비교적 종양세포의 밀도가 높은 부위를 임의로 3~5곳을 선정하여 400배 시야에서 1000개의 종양세포당 핵내에 명확한 적갈색의 과립이 관찰되는 세포의 수를 세어 백분율을 구하여 Ki-67 표지지수를 구하고, HMGI(Y)와 p53은 같은 방법으로 핵내에 염색된 세포가 전체 종양세포의 10%이상 염색된 것을 양성으로 판정하였다. 통계처리는 윈도우형 SPSS 통계 프로그램을 사용하였으며 이들의 발현 양상과 임상병리학적 인자들과의 관계는 Chi-square, Fisher's exact, T-test, ANOVA 검정으로 분석하였고 Kaplan-Meier법을 이용하여 무병기간 곡선을 그리고 각 집단간의 차이는 log-rank법을 이용하여 비교 분석하였으며, 유의수준은 $p < 0.05$ 를 의의 있는 것으로 하였다.

결 과

1. 면역조직화학적 염색

HMGI(Y), Ki-67과 p53 모두 종양세포의 핵내에 갈색 과립으로 염색되었다(Fig. 1, 2, 3). HMGI(Y)는 핵내의 갈색 과립이 전체 40례 중 35례(87.5%)에서 양성반응을 보였고, 대조군인 정상 점막 조직 5례에서 모두 염색되지 않았다. p53은 각각 20례(50.0%)에서 양성반응을 보였다. 전체 종양내 Ki-67 표지지수는 17~82%까지의 넓은 분포를 보였으며 평균은 $40.4 \pm 16.5\%$, 중앙값은 36.0%로 이 중앙값을 기준으로 Ki-67 표지지수를 높은 군과 낮은 군으로 분류하여 임상인자들과 비교하였다.

2. 원발병소와 연령에 따른 HMGI(Y), p53 발현과 Ki-67 표지지수

원발병소에 따른 Ki-67 표지지수와 p53의 발현은 차이가 없었다. HMGI(Y)도 원발병소에 따라 유의한 차이는 없었지만 구강암의 경우 12례 모두에서 발현되었다(Table 1).

연령분포에 따른 Ki-67 표지지수는 60세 미만군(39.9 ± 17.9)과 60세 이상인 군(41.1 ± 14.9)으로 나누어 비교하였으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. HMGI(Y)와 p53의 발현율도 연령별 분포에 따른 유의한 차이는 없었다(Table 1).

3. 분화도에 따른 HMGI(Y), p53 발현과 Ki-67 표지지수

HMGI(Y)는 조직병리학적 분화도에 따른 양성률에는 차이가 없었고, p53에서는 고도분화군에서 36.4%, 중등도분화군에서 60.0%, 저분화군에서 100.0%로 분화도가 나뉠수록 양성률이 증가하였지만 통계적으로 유의차이는 없었다. Ki-67 표지지수도 조직병리학적 분화도에 따라 고도분화군: 38.8 ± 14.2 , 중등도분화군: 42.1 ± 21.0 , 저분화군: 43.3 ± 6.4 로 분화도가 나뉠수록 증가하였지만 통계학적으로

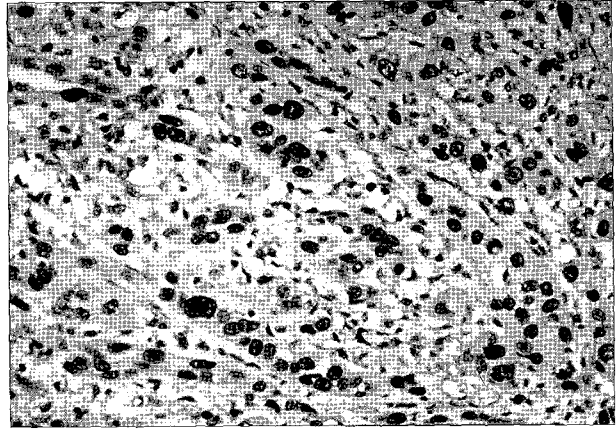


Fig. 1. Immunohistochemical staining for HMGI(Y) shows strong nuclear immunostaining in squamous cell carcinoma of the tongue ($\times 200$).

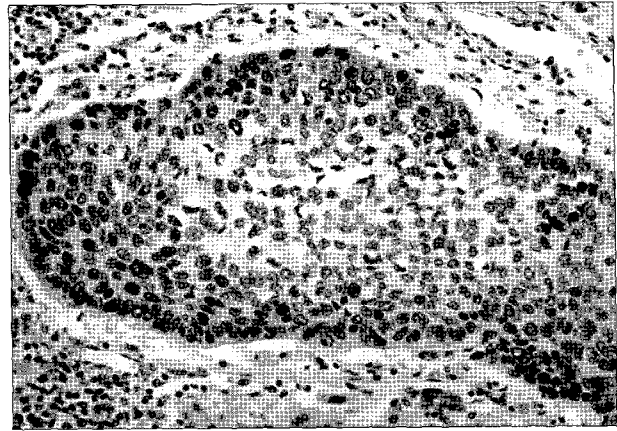


Fig. 2. Immunohistochemical staining for p53 shows nuclear immunostaining in squamous cell carcinoma of the hypopharynx ($\times 200$).

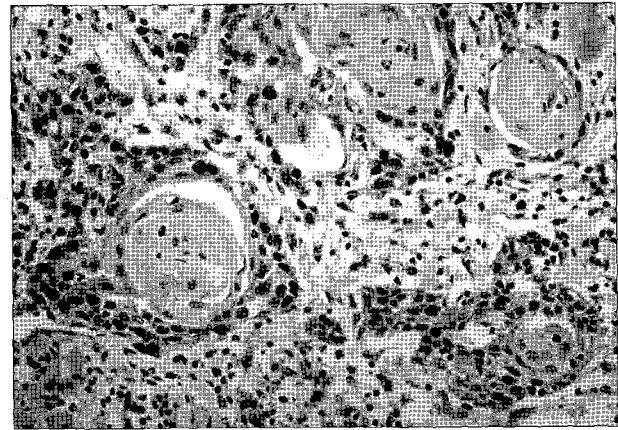


Fig. 3. Immunohistochemical staining for Ki-67 shows nuclear immunostaining in squamous cell carcinoma of the tongue ($\times 200$).

로 의미는 없었다(Table 1).

4. 병기에 따른 HMGI(Y), p53 발현과 Ki-67 표지지수

원발병소의 T병기에 따른 HMGI(Y)의 양성율은 T1: 100.0%, T2: 93.8%, T3: 90.9%, T4: 72.7%로 T병기

Table 1. Expression of HMGI(Y), p53 and Ki-67 labeling index according to the clinicopathological parameter in squamous cell cancer of the head and neck (N=40)

Parameters	No. of Cases	No. of HMGI(Y) positive cases (%)	p value	No. of p53 positive cases (%)	p value	Ki-67 index (%) ^a	p value
Age	<60 yrs	23	20 (87.0)	NS	10 (43.5)	NS	39.9±17.9
	≥60 yrs	17	15 (88.2)		10 (58.8)		41.1±14.9
Site	Larynx	13	10 (76.9)	NS	7 (53.8)	NS	32.8±13.2
	Hypo-pharynx	5	4 (80.0)		2 (40.0)		33.0± 8.0
	Oral cavity	12	12 (100.0)		5 (41.7)		42.2±16.9
	Oro-pharynx	6	5 (83.3)		3 (50.0)		52.7±19.4
	Maxilla	3	3 (100.0)		2 (66.7)		48.7±20.3
	Skin	1	1 (100.0)		1 (100.0)		56.0
Differentiation	WD	22	20 (90.9)	NS	8 (36.4)	NS	38.8±14.2
	MD	15	12 (80.0)		9 (60.0)		42.1±21.0
	PD	3	3 (100.0)		3 (100.0)		43.3± 6.4
Tumor stage	T1	2	2 (100.0)	NS	1 (50.0)	NS	40.0± 5.7
	T2	16	15 (93.8)		7 (43.8)		43.5±18.8
	T3	11	10 (90.9)		8 (72.7)		40.3±16.0
	T4	11	8 (72.7)		4 (36.4)		36.0±15.2
Pathologic stage	I	1	1 (100.0)	NS	0	NS	44.0
	II	7	7 (100.0)		3 (42.9)		44.6±22.2
	III	8	7 (87.5)		6 (75.0)		39.6±15.1
	IV	24	20 (83.3)		11 (45.8)		39.3±16.0
Lymph node metastasis	Absence	20	18 (90.0)	NS	11 (55.0)	NS	40.3±17.1
	Presence	20	17 (85.0)		9 (45.0)		40.5±16.3
Recurrence	No	32	27 (84.4)	NS	15 (46.9)	NS	36.7±15.4
	Yes	8	8 (100.0)		5 (62.5)		55.1±12.3

NO. : number, NS. : not significant, a value : Mean±D, WD : well differentiated, MD : moderately differentiated, PD : poorly differentiated

와 HMGI(Y)의 발현은 연관성이 없었으며 p53, Ki-67 표지수과 T병기와도 연관성이 없었다(Table 1).

병리학적 병기에 따른 HMGI(Y)와 p53의 양성률은 각각 서로 연관성이 없었고 Ki-67 표지수도 Stage I에서 44.0%, Stage II에서 44.6±22.2%, Stage III에서 39.6±15.2%, Stage IV에서 39.3±16.0%로 병리학적 병기에 따라 연관성이 없었다(Table 1).

5. 경부 림프절 전이에 따른 HMGI(Y), p53 발현과 Ki-67 표지수

HMGI(Y)의 면역조직화학적 염색에서 경부 림프절 전이가 있는 경우 17례(85%)에서, 경부 림프절 전이가 없는 경우 18례(90.0%)에서 양성을 나타내어 유의한 차이가 없었으며, p53의 발현에도 유의한 차이가 없었다. Ki-67 표지수도 전이가 있는 경우는 40.5±16.3%, 전이가 없는 경우는 40.3±17.1%로 연관성이 없었다(Table 1).

6. 예후에 따른 HMGI(Y), p53 발현과 Ki-67 표지수

전체 40례 중 모든 치료 종료 후 8례에서 재발을 보였으며 이중 원발부위 재발이 5례로 가장 많았고, 경부 재발이 2례, 원발 및 경부 재발이 1례이었으며, 원격 전이는 없었

다. HMGI(Y)와 p53의 발현과 재발과는 연관성이 없었으나, Ki-67 표지수는 재발한 군: 55.1±12.3%, 재발하지 않은 군: 36.7±15.4%로 차이가 있었고 통계학적으로 유의하였(p<0.05) (Table 1).

7. 무병생존기간에 따른 HMGI(Y), p53 발현과 Ki-67 표지수

환자의 추적 관찰 기간이 최장 54개월 최소 6개월이었고 평균생존기간(mean survival time)은 29.3개월이었으며 평균무병생존기간(mean disease free survival time)은 10.5개월이었다. 무병생존기간은 HMGI(Y) 음성인 군에서 47.0개월, 양성인 군에서 평균 38.7개월로 HMGI(Y)가 발현된 군에서 재발까지의 기간이 짧았으나 통계적 유의성은 없었다. p53 양성 군과 p53음성군에서는 차이가 없었고 Ki-67 표지수가 높은 군에서는 무병생존기간이 Ki-67 표지수가 낮은 군에 비해 짧았으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 4, 5, 6).

8. HMGI(Y) 발현에 따른 p53 발현, Ki-67 표지수와의 상관관계

HMGI(Y) 양성군 35례 중 p53의 양성률(90.0%)과 음

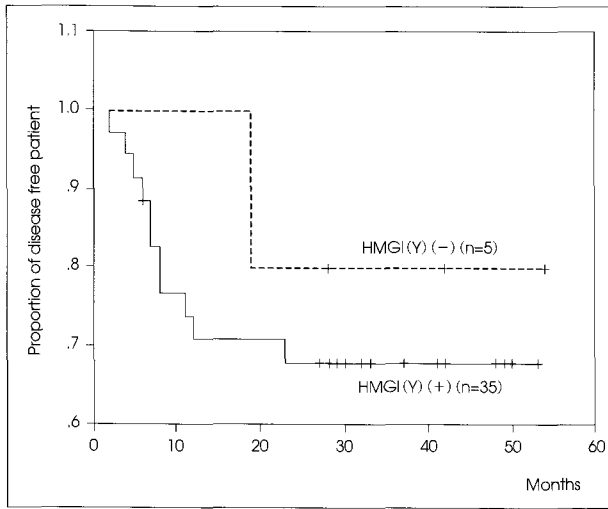


Fig. 4. Disease free time between HMGI(Y) (+) and HMGI(Y) (-) groups in Kaplan-Meier survival curve (p=0.536).

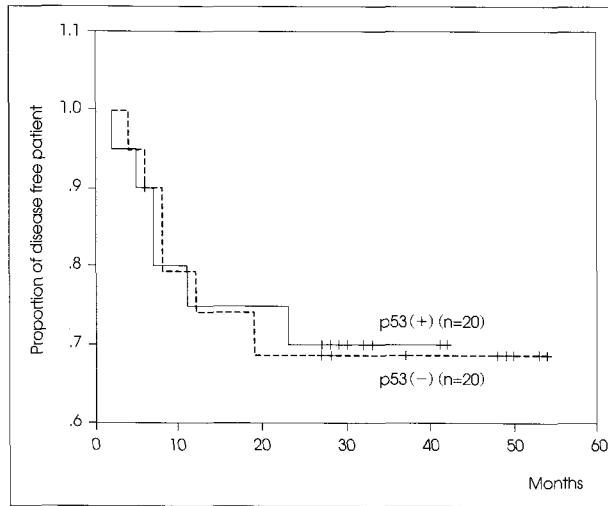


Fig. 5. Disease free time between p53(+) and p53(-) groups in Kaplan-Meier survival curve (p=0.981).

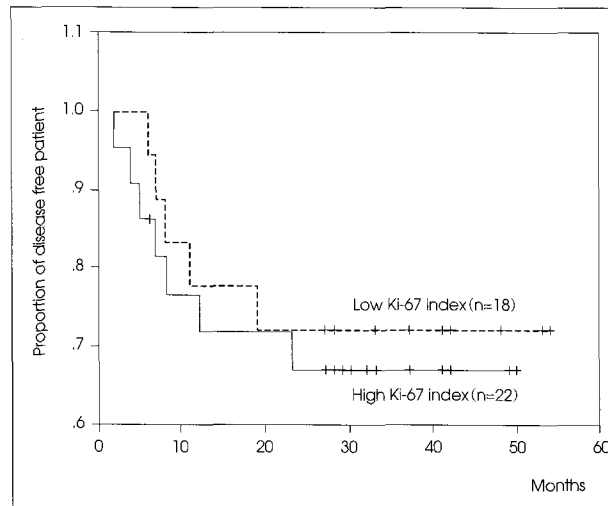


Fig. 6. Disease free time between Ki-67 index high and Ki-67 index low groups in Kaplan-Meier survival curve (p=0.679).

Table 2. Relationship between HMGI(Y) and p53, Ki-67 in squamous cell carcinomas in head and neck (N=40)

	HMGI(Y) (-) (n=5)	HMGI(Y) (+) (n=35)
p53(+) (n=20)	2 (10.0%)	18 (90.0%)
p53(-) (n=20)	3 (15.0%)	17 (85.0%)
Ki-67 index(%)	25.0±3.2%*	42.6±16.34%*

* : p<0.05

성률(85.0%)사이에는 유의한 차이가 없지만, Ki-67 표지 지수는 HMGI(Y) 양성군 : 42.6±16.34%, 음성군 : 25.0±3.2%로 차이가 있었고 통계학적으로 유의하였다(p<0.05) (Table 2).

고 찰

일반적으로 염색질(chromatin)은 DNA가 관여하는 복제(replication)나 전사(transcription) 등의 과정을 겪는 동안 구조상의 변화를 겪는데, 이러한 염색질의 동적인 구조의 변화는 핵단백질 복합체(nucleoprotein complex)를 매개로 하여 이루어지고, 이 과정에는 histone을 제외한 매우 다양한 단백질이 관여하고 있다. 최근에는 이중 high mobility group(이하 HMG)에 대한 활발한 연구가 진행중이나, 아직 두경부 편평세포암 분야에서의 연구는 미미한 편이다. HMG는 염색질을 주로 이루고 있는 histone과는 달리 염색질의 주된 구성성분은 아니나 그 구조의 변화를 유발시킬 수 있는 핵단백질 중의 한 군으로 알려져 있다. 포유류에서 HMG 단백질은 HMG1/2, HMG14/17과 HMGI군(family)의 세 가지 단백질군으로 나뉘며, HMGI 단백질군은 현재까지 HMGI, HMGY, HMGI-C의 세 가지 단백질 및 그 유전자가 인간과 쥐에서 발견되었다⁹⁾. 그 중에서 HMGI와 HMGY 단백질은 6p21에 존재하는 HMGI/Y 유전자의 교대접합에 의해서 유발되는 이중단백으로, 보통은 HMGI(Y)라고 불린다¹⁰⁾. 반면에 HMGI-C 단백질은 12q15에 존재하는 다른 유전자에 의해 발현되는 것으로 알려져 있는데, HMGI(Y) 유전자와 HMGI-C 유전자사이에는 약 50%정도의 상동성을 가지는 것으로 알려져 있다¹¹⁾. 이러한 유전자의 발현은 주로 쥐와 인간에서 연구가 진행되었는데, 두 유전자 모두 쥐의 초기 배형성과정에서 높게 발현이 되며, 최종적인 분화가 시작됨과 동시에 그 발현이 감소되었다고 하였다. 특히 HMGI/Y 유전자가 중추신경을 포함한 비중간엽(non-mesenchyme) 조직에서도 다량 발현되는 반면에, HMGI-C 유전자는 주로 중간엽(mesenchyme) 조직에서 발현되는 것이 발견되었고, HMGI-C 유전자가 결핍되었을 때 HMGI/Y 유전자가 이를 보상하지 못함을 관찰하였는데, 이상의 결과로 보아 두 유전자가 구조적인 상동성을 가지고는 있지만, 그 작용기전과 target 기

관이 서로 다르다고 하였다¹²⁾.

핵단백질인 HMGI(Y) 단백질은 염색질의 구조와 기능을 조절하는 것으로 알려져 있으며, 특히 interferon- β , tumor necrosis factor β , interleukin 2 receptor α chain과 같은 유전자의 전사를 자극하는 단백질 복합체의 구조적인 요소로 역할을 하는 반면, HMGI-C는 지방종, 폐 연골 파종과 같은 양성 고형종양의 발현과 관련 있는 것으로 보고되었다¹¹⁾.

HMGI(Y) 단백질은 사람의 성인과 쥐의 거의 모든 조직에서 낮은 정도로 발현되는 것으로 알려져 있고 생리적으로 배형성시기에 발현되지만 몇몇의 동물실험과 사람의 종양, 특히 암조직에서 HMGI(Y) 유전자가 활성화되는 것을 밝힌 보고가 다수 발표되었다³⁻⁵⁾¹²⁾. 종양에서의 HMGI(Y)의 발현은 갑상선, 전립선, 대장 및 직장과 자궁경부암에서 연구되었다³⁻⁵⁾¹⁶⁾. 면역조직화학법과 역전사 중합효소연쇄 반응을 이용한 갑상선의 여포성 선암에서 HMGI(Y)는 각각 22%와 40%에서 발현되었으나, 정상 갑상선 조직에서는 발현이 없음이 보고되었고, 이는 HMGI(Y)의 발현은 진행된 악성종양은 물론 전암단계에서도 일어남을 시사한다¹³⁾. 대장의 선암을 이용한 연구에서는 K-ras, DCC, p53 등의 유전자 변이가 선암의 초기에는 일어나지 않지만 HMGI(Y) 단백질은 발현되는 것으로 보아 HMGI(Y)의 발현은 세포 증식조절의 소실에 의해서 이루어지는 것으로 생각되고 또 초기의 종양형성에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다¹⁴⁾. 대장의 폴립에서는 일부에서 HMGI(Y) 단백질이 발견되었고 그 경우 모두 세포의 상당한 이형성을 보이고 있었으며, 악성도가 다른 7개의 대장암 세포주를 이용한 연구에서 좀 더 악성인 세포주에서 HMGI(Y) 단백질이 높게 나타난다고 보고하였다³⁾. 15개의 고분화군, 10개의 저분화군, 8개의 침습성 대장암, 8개의 직장암, 그리고 6개의 정상점막을 대상으로 한 면역조직화학적 분석에서 정상점막은 염색되지 않았지만 다른 모든 종양은 강하게 염색되었다³⁾. 또한, 자궁경부암에서도 대장암과 유사한 연구결과를 보고하고 있다⁴⁾. 그 외에도 Lewis 폐암, 전립선암, 피부암 등에서 HMGI 단백질의 발현이 증가됨을 보고하였다¹⁵⁻¹⁷⁾. 또한 기형암(teratocarcinoma)으로 분화하는 과정에서는 HMGI 유전자의 발현이 낮으며, 반면에 v-mos나 v-Ha-ras 등의 유전자의 발현으로 인해서 세포의 분화가 유발된 경우에는 발현이 증가됨을 보고하였다⁹⁾. 따라서 아마도 암유전자(oncogene)들이 이러한 HMGI 단백질의 유전자들의 발현을 자극하는 것이 아닌가 하는 의견이 대두되고 있다⁹⁾¹⁸⁾.

본 연구에서 HMGI(Y) 단백질은 두경부 편평세포암 전체 40례 중 35례(87.5%)에서 양성반응을 보였으나 정상점막조직 5례에서 모두 발현되지 않았다. 따라서 본 실험은 HMGI(Y) 단백질이 이미 알려진 대장암이나 갑상선 같은 선

구조를 갖는 조직에서의 종양화 뿐만 아니라 두경부 편평상피암에서의 종양발생에도 밀접한 연관성이 있음을 암시한다.

HMGI(Y)와 인체내 종양에서의 예후와의 연관성에 관한 연구는 거의 없으며 Tamimi 등¹⁶⁾의 102례의 전립선 종양에 대한 후향적 연구가 유일한데, 높은 HMGI(Y) mRNA의 발현이 분화가 나쁜 전립선 종양과 관련이 있으며, 높은 재발율과 나쁜 예후와의 연관성을 주장하였다. 본 연구에서는 추적관찰 기간이 짧아 직접적인 예후와의 연관성은 관찰하지 못하였으나 두경부 편평상피암에서 높은 HMGI(Y) 발현과 재발한 경우에서 모두 양성인 결과를 보였고 무병생존율과의 관계에서도 HMGI(Y) 단백질 발현 군에서의 평균 무병생존기간은 38.7개월, 발현이 되지 않은 군에서의 평균 무병생존기간은 47.0개월로 통계적인 유의성은 없었으나 발현이 되지 않은 군에서 무병생존기간이 길었다. 그리고 발현이 없었던 5례에서 모두 재발없이 무병 생존을 하고 있어 보다 장기적인 추적관찰이 필요하며 제한적이거나 HMGI(Y) 단백질의 발현이 두경부 편평세포암의 예후와 관련이 있음을 시사한다 하겠다. 그외 두경부 편평세포암에서 HMGI(Y) 단백질의 발현은 Kim 등¹⁹⁾의 대장암의 예후인자와의 연구에서 처럼 환자의 연령, 원발병소, 종양의 국소침범정도(T 병기), 병리적 병기(Stage), 경부 림프절 전이의 여부, p53의 발현 정도와 유의한 차이는 보이지 않았다.

Ki-67은 G0기와 G1기를 제외한 모든 세포주기에서 발현된다고 보고한 이래 여러 종양세포에서 면역조직화학염색법을 이용하여 세포의 증식을 나타내는 표지치수로 연구되었다²⁰⁾. Gasparini 등²¹⁾은 Ki-67이 유방암에서 병리학적 분화도와 생존율에 따라 유의하게 증가한다고 보고하였고, Hopf 등²²⁾은 뇌종양에서 Ki-67 표지치수가 높아짐에 따라 조직학적 분화도가 낮아지고 사망률의 증가와 비례한다고 하였으며, Porschen 등²³⁾은 직장암에서 종양의 크기, 성별, 나이, 병리적 분화도 및 종양의 병기와 무관하지만 재발한 예에서는 높은 표지치수를 보였다고 하였다. 본 연구에서도 Ki-67 표지치수가 다른 임상인자와는 연관성이 없었지만 두경부 편평세포암이 재발한 경우 높게 관찰되었고 또한 HMGI(Y) 단백질이 발현된 경우도 높은 표지치수를 나타내었다. 이는 HMGI(Y) 단백질의 발현이 세포의 증식능과 관계 있음을 보여주는 것이라 하겠다.

결론

HMGI(Y)과 p53의 발현은 두경부 편평세포암의 병리학적 분화도와 예후를 반영하는 인자 즉 원발부위 병기, 병리적 병기, 림프절 전이나 종양의 재발여부와 상관관계가 없었으며 무병기간과도 상관관계가 없었다. Ki-67 표지치수

는 다른 임상인자와는 연관성이 없었지만 재발한 군에서는 유의하게 높은 표지지수를 나타내어 예후를 반영하는 인자로 의미가 있었다. HMGI(Y)의 발현에 따라 p53의 양성률은 상관관계는 없었지만 Ki-67표지지수는 유의하게 높아 HMGI(Y)의 발현이 세포의 증식에 관계한다는 것을 보여주고 있다.

HMGI(Y)는 정상 점막 조직에서는 발현되지 않았으나 두경부 편평세포암의 대부분 레에서 양성발현을 보여 두경부 편평세포암의 발생과 진행에 있어서 어떤 형식으로든 관여함을 의미한다고 볼 수 있으며, 향후 두경부 편평세포암의 표식자로서 활용가치가 있다고 생각된다. 하지만 두경부 편평세포암의 악성도를 나타내는 예후인자로서의 가치에 대해서는 향후 지속적인 연구가 필요하다고 사료된다.

중심 단어 : 편평세포 · 암 · High mobility group proteins · Protein p53 · Ki-67 Antigen.

References

- 1) Jones AS, Roland NJ, Caslin AW, Cooke TG : A comparison of cellular proliferation markers in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Laryngol Otol.* 1994 ; 108 : 859-864
- 2) Giacotti V, Berlingieri MT, Di Fiore PP, Fusco A, Vecchio G, Crane-Robinson C : Changes in nuclear proteins on transformation of rat epithelial thyroid cells by a murine sarcoma retrovirus. *Cancer Res.* 1985 ; 45 : 6051-6057
- 3) Fedele M, Bandiera A, Chiappetta G, et al : Human colorectal carcinomas express high levels of high mobility group HMGI (Y) proteins. *Cancer Res.* 1996 ; 56 : 1896-1901
- 4) Bandiera A, Bonifacio D, Manfioletti G, et al : Expression of HMGI (Y) proteins in squamous intraepithelial and invasive lesions of the uterine cervix. *Cancer Res.* 1998 ; 58 : 426-431
- 5) Chiappetta G, Bandiera A, Berlingieri MT, et al : The expression of the high mobility group HMGI (Y) proteins correlates with the malignant phenotype of human thyroid neoplasias. *Oncogene.* 1995 ; 10 : 1307-1314
- 6) Levine AJ, Momand J, Finlay CA : The p53 tumor suppressor gene. *Nature.* 1991 ; 351 : 453-456
- 7) Watling DL, Gown AM, Coltrera MD : Overexpression of p53 in head and neck cancer. *Head-Neck.* 1992 ; 14 : 437-444
- 8) Kamel OW, Franklin WA, Ringus JC, Meyer JS : Thymidine labeling index and Ki-67 growth fraction in lesions of the breast. *Amer J Pathol.* 1989 ; 134 : 107-113
- 9) Zhou X, Chada K : HMGI family proteins : architectural transcription factors in mammalian development and cancer. *Keio J Med.* 1998 ; 47 (2) : 73-77
- 10) Friedmann M, Holth LT, Zoghbi HY, Reeves R : Organization, inducible expression, and chromosomal localization of the human HMGI-I (Y) nonhistone protein gene. *Nucleic Acids Res.* 1993 ; 21 : 4259-4267
- 11) Schoenmakers EF, Wanschura S, Mols R, Bullerdiek J, Van de Ven WJ : Recurrent rearrangements in the high mobility group protein gene, HMGI-C, in benign mesenchymal tumors. *Nature Genet.* 1995 ; 10 : 436-444
- 12) Zhou X, Benson K, Ashar HR, Chada K : Mutation responsible for the mouse pygmy phenotype in the developmentally regulated factor HMGI-C. *Nature.* 1995 ; 376 : 771-774
- 13) Chiappetta G, Tallini MC, De Biasio G, Manfioletti F, Martinez-Tello FJ, Pentimalli F : Detection of high mobility group I HMGI (Y) proteins in the diagnosis of thyroid tumors : HMGI (Y) expression represents a potential diagnostic indicator of carcinoma. *Cancer Res.* 1998 ; 58 : 4193-4198
- 14) Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al : Genetic alterations during colorectal tumor development. *N Engl J Med.* 1998 ; 319 : 525-532
- 15) Giacotti V, Buratti E, Perissin L, et al : Analysis of the HMGI nuclear protein in mouse neoplastic cells induced by different procedures. *Exp Cell Res.* 1989 ; 184 : 538-545
- 16) Tamimi Y, van der Poel HG, Karthaus HFM, Debruyne FM, Schalken JA : A retrospective study of high mobility group protein I (Y) as progression marker for prostate cancer determined by in situ hybridization. *Br J Cancer.* 1996 ; 74 : 573-578
- 17) Rajeswari MR, Singh D, Jain A, Ray R : Elevated levels of high-mobility-group chromosomal proteins, HMGA1, in murine skin carcinoma. *Cancer Lett.* 2001 ; 173 : 93-99
- 18) Giacotti V, Pani B, Andrea PD, et al : Elevated levels of specific class of nuclear phosphoproteins in cells transformed with v-ras and v-mos oncogenes and by cotransfection with c-myc and polyoma middle T genes. *Embo J.* 1987 ; 6 : 1981-1987
- 19) Kim DH, Park YS, Park CA, Son KC, Nam ES, Shin HS : Expression of the HMGI (Y) gene in human colorectal cancer. *Int J Cancer.* 1999 ; 84 : 376-380
- 20) 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 : 867-873
- 21) Gasparini G, Boracchi P, Verderio P : Cell kinetics in human breast cancer : Comparison between the prognostic value of the cytofluorometric S-phase fraction and that of the antibodies to Ki-67 and PCNA antigens detected by immunocytochemistry. *Int J Cancer.* 1994 ; 57 : 822-829
- 22) 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. *Neurosurg.* 1994 ; 35 : 917-923
- 23) Porschen R, Lohe B, Hegles KJ, Borchard F : Assessment of cell proliferation in colorectal carcinoma using the monoclonal antibody Ki-67. *Cancer.* 1989 ; 63 : 1607-1611