

제1병기 비소세포폐암에서 Cyclin E와 p27의 발현과 예후

조 봉 균* · 조 성 래* · 천 봉 권**

=Abstract=

Prognostic Significance of Cyclin E and p27 in Stage I Non-Small Cell Lung Cancer

Bhong Gyun Jo, M.D.* · Sung Rae Cho, M.D.* · Bong Kwon Chun, M.D.**

Background: Cyclin E plays a pivotal role in the regulation of G1-S transition and could consequently be a deregulated molecule in tumors. The activity of the cdk2-cyclin E complex is increased by degradation of cdk inhibitor p27kip1. Little is known about the expression and prognostic significance of cyclin E and p27 in non-small cell lung cancer(NSCLC). **Material and Method:** The expression of cyclin E and p27 in eighty-one cases of resected stage I NSCLC tissues and its relation to major clinico-pathological factors, including histology, differentiation, size of tumor, pleural invasion and survival rate were studied and analyzed. Immunohistochemical analysis with monoclonal antibodies specific for cyclin E and p27 were performed by ABC method. **Result:** Expression rates of cyclin E and p27 in stage I NSCLC tissues were 29.6% and 28.4% respectively. Cyclin E was expressed higher in cases of pleural invasion($p=0.04$), and p27 was expressed higher in diameter of tumor less than 3cm($p=0.015$). The 5-years survival rate was lower in cases of positive expression of cyclin E than in cases of negative expression of cyclin E(44.4% vs 68.2%, $p=0.015$), and the 5-years survival rate was 72.2% in positive expression of p27 and 56.2% in negative expression of p27($p=0.09$). The 5-years survival rate was higher in negative expression of cyclin E and positive expression of p27 than in cases of positive expression of cyclin E and negative expression of p27(73.5% vs 36.3%, $p=0.0029$). In multivariate analysis, expression of cyclin E was an unfavorable prognostic factor($RR=3.578$, $p=0.006$) and p27 was a favorable prognostic factor($RR=0.183$, $p=0.019$) independently. **Conclusion:** Cyclin E and p27 may play a pivotal role for the biological behavior of stage I NSCLC, so that the expressions of cyclin E and p27 may be new prognostic markers.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2003;36:7-14)

Key words : 1. Carcinoma, non-small cell, lung
2. Neoplasm marker

* 고신대학교 의학부 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Kosin University College of Medicine

** 고신대학교 의학부 해부병리과

Department of Pathology, Kosin University College of Medicine

논문접수일 : 2002년 9월 14일 심사통과일 : 2002년 12월 23일

† 본 논문은 2001년 11월 제 33차 흉부외과 추계학회 포스터 발표된 내용임.

책임저자 : 조성래 (602-702) 부산시 서구 암남동 34번지, 고신대학교 의학부 흉부외과학교실. (Tel) 051-990-6237 (Fax) 051-254-5446

E-mail : srcho@ns.kosinmed.or.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

서 론

폐암 환자의 예후는 매우 불량하여 병기에 따라 차이가 있으나, 전체 폐암의 5년 생존율은 15% 이하로 매우 낮게 보고되고 있다¹⁾. 제1병기 폐암은 전체 비소세포폐암 중 약 15% 내지 25%를 차지하며, 치료는 외과적 절제술이 가장 좋으나 수술 후 환자의 30% 내지 40%는 사망에 이르게 된다¹⁾. 비소세포폐암의 예후와 관련된 임상적·병리학적 인자를 규명하기 위한 많은 연구가 시행되어 왔으며, 예후와 관련된 분자생물학적 변화, 특히 세포 주기 조절인자의 변화 등 실제적으로 임상에 유용한 많은 유전자들이 많이 보고되어 있다²⁾. 그러나 이들 유전자들의 임상적 유효성에 대해서는 논란이 되고 있다.

인체에서 암의 발생기전은 조절되지 않는 세포분열로 설명될 수 있다. 세포주기와 관련된 각종 유전자의 DNA 복제 이상은 세포내 신호 전달경로의 이상과 함께 종양 유전자의 활성화 또는 종양 억제유전자의 변이를 유발하여 정상세포의 악성 변환을 초래한다. 따라서 세포주기 조절의 이상은 대부분의 인체 암 발생의 중요한 필요조건이다³⁾. 세포주기 중 세포가 G₀/G₁기로부터 S기로 이행하도록 하는 중요한 기전이 최근에 밝혀졌다^{4,5)}. 여러 종류의 종양에서 유전자의 이상에 근거하여 세포주기 중 G₀/G₁기로부터 S기로의 이행이 종양형성에 중요한 요소임을 알 수 있다³⁾. 세포주기는 cyclin 의존성 인산화효소(cyclin-dependent kinases, cdk)에 의하여 조절되며, cdk들은 cyclin 등의 촉진제나 cdk 등의 억제인자와 결합함으로써 조절된다^{6,8)}. cdk는 세포분열신호 및 성장억제신호를 총괄하며, 세포주기 내의 이행을 조정한다⁶⁾. 세포주기 G₁기를 지나 S기로의 이행은 G₁기의 cyclin들의 활성화에 의존하며, D-형 cyclin 및 cyclin E가 G₁기의 cyclin에 속한다. D-형 cyclin은 G₁ 중간기에 활성화도가 최고조에 이르며 cdk4 및 cdk6와 결합하여 인산화효소 복합체를 형성한다^{9,12)}. 반면에 cyclin E는 G₁-S 경계에서 표현되며 cdk2와 활동형의 복합체를 구성한다¹³⁾. Cyclin E의 발현은 종양세포에 특이한 소견으로 간주되어 종양과 관련된 이상소견이며, 유방암 등에서 이의 발현은 예후가 불량한 것으로 알려져 있다¹⁴⁾.

p27^{Kip1}은 27Kda의 열안정 단백질이며, 인간 *Kip1*은 198개의 아미노산으로 이루어진 하나의 단백 유전자로¹⁵⁾ cyclin E-cdk2 복합체에 의한 RB(retinoblastoma)단백질의 탈인산화와 순조로운 G₁-S기 이행을 억제시킴으로써 세포주기를 멈춘다. 따라서 p27^{Kip1}은 종양에서 성장을 억제시키는 역할을 함으로, 유방암과 대장암 등에서 p27^{Kip1}의 발현은 예후가 양호한 것으로 알려져 있다.

현재까지 비소세포폐암에서 예후와 관련된 많은 종류의 유전자가 보고되어 있지만, 세포주기 조절인자 중의 하나인

cyclin E에 관한 연구는 거의 없으며, p27과의 상호연관성에 대해서도 전혀 연구되어져 있지 않다.

이에 저자들은 절제된 제1병기의 비소세포폐암에서 cyclin E와 p27의 발현이 예후인자로서의 역할을 할 수 있는지를 규명하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

1991년 1월부터 2000년 10월까지 고신대학교 의학부 흉부 외과학교실에서 폐암의 진단하에 외과적으로 절제된 비소세포폐암 중에서 수술 병리학적으로 제1병기이며, 병력지의 기록이 충실하고 파라핀 포매 조직표본의 보관상태가 양호한 81예의 환자를 대상으로 하였다. 81예 환자의 연령분포는 21세에서 75세로 평균 59.64세였으며, 성별은 남자 71명(87.7%), 여자 10명(12.3%)이었다. 병기는 American Joint committee on Cancer(AJCC)¹⁶⁾의 지침을 따랐으며, 각종 검사에 사용된 조직은 절제되어 보관된 파라핀 포매 조직표본 중에서 종양세포가 있는 대표적인 부위를 연구재료로 하였고, 암조직이 없는 정상 폐조직을 대조군으로 하였다.

2. 연구방법

1) 임상·병리조직학적 분석

환자의 임상기록을 검토하여 환자의 나이, 성별, 생존여부와 생존기간 등을 조사하였고, 종양의 크기와 위치 등에 관한 육안병리학적 소견은 보관된 병리보고서와 육안표본 사진을 참고로 하였다. 외과적으로 절제된 폐암 조직을 10% 중성 포르말린 용액에 12시간 고정한 후, 통상적인 조직표본 제작법에 따라 탈수, 투명, 침투의 과정을 거친 후 파라핀에 포매하고 4~5 μm의 두께로 박절한 후 hematoxylin-eosin 염색을 시행하였고, 광학현미경하에서 재검사하였다. 각 증례는 다음의 병리학적 파라미터에 따라 분석하였다: 종양의 크기, TNM병기, 조직학적 유형, 조직학적 분화의 등급, 흉막의 침습 여부. 조직학적 유형은 WHO/IASLC 분류법¹⁷⁾에 따라 분류하였고, 분화의 정도를 3단계로 나누어 고등급 분화, 중등도 분화, 저등급 분화로 분류하였다.

2) 면역조직화학적 염색 및 판정

(1) 일차항체

antimouse monoclonal antibody cyclin E(Clone CYE05, Neomarker, Fremont, U.S.A.), antimouse monoclonal antibody p27(Clone DCS-72.F6, Fremont, U.S.A.)을 각각 1:40 및 1:50으로 희석하여 사용하였다.

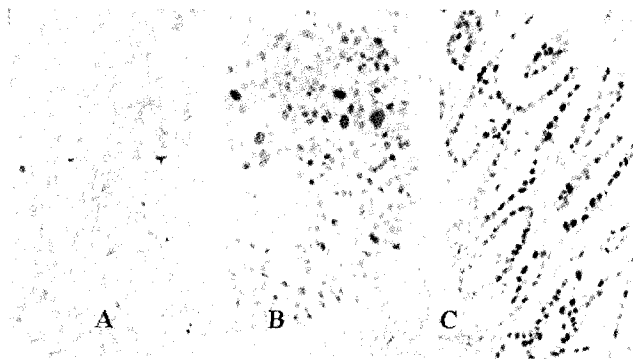


Fig. 1. Expression of cyclin E in non-small cell lung cancer. Negative staining in nuclei of the tumor cells (A), positive staining in squamous cell carcinoma (B) and adenocarcinoma (C)(Immunohistochemical staining, $\times 200$)

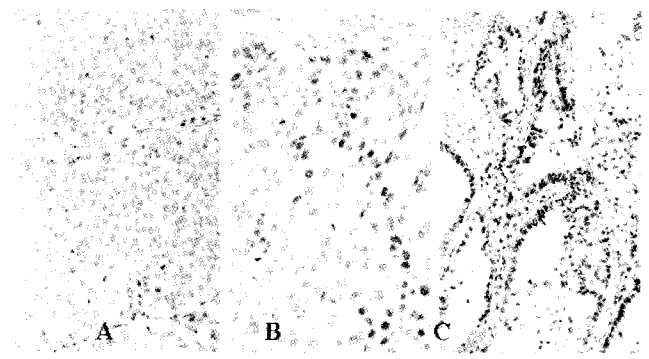


Fig. 2. Expression of p27 in non-small cell lung cancer. Negative staining in nuclei of the tumor cells (A), positive staining in squamous cell carcinoma (B) and adenocarcinoma (C)(Immunohistochemical staining, $\times 200$)

(2) 면역조직화학 염색

포르말린 고정과 파라핀 포매 조직으로서 각 항원에 대한 단클론 항체를 이용하여 avidin-biotin complex(ABC) 법으로 면역조직화학 염색을 아래와 같은 과정으로 시행하였다. 종양의 대표적인 부위의 넓이가 20×20 mm 이상이며, 또한 이웃한 비종양성 폐조직을 포함하는 대표적인 파라핀 포매 블록을 $4 \sim 5 \mu\text{m}$ 의 두께로 박절하고, 60°C 오븐에서 12시간 이상 건조 시킨 후 xylene에서 10분간 탈파라핀 과정을 거친 다음, 100%, 90% 에탄올의 순서로 각각 두 번씩 3분 동안 함수과정을 수행하고, Tris 완충용액($\times 10$ Immunoassay buffer: Biomed, Foster, U.S.A.)에 10분간 수세하였다. 항원성 회복을 위하여 pH 6.0의 citrate 완충용액에 슬라이드를 담근 후 극초단파로 약 15분간 끓인 후, 실온에 약 20분간 방치하여 온도를 내린 다음 Tris 완충용액($\times 10$ Immunoassay buffer: Biomed, Foster, U.S.A.)에 10분간 수세하였다. H_2O_2 로 endogenous peroxidase 활성도를 억제시킨 후 Tris 완충용액($\times 10$ Immunoassay buffer: Biomed, Foster, U.S.A.)에 10분간 수세하였다. 비특이적인 배경 염색을 방지하기 위하여 정상 양 혈청(LSAB kit: DAKO, Carpinteria, U.S.A.)을 처리하여 실온에서 약 30분간 반응시켰다. 각 일차항체의 희석액을 슬라이드 조직위에 충분한 양으로 떨어뜨린 후 상온에서 90분간 두어 반응을 시켰다. Tris 완충용액($\times 10$ Immunoassay buffer: Biomed, Foster, U.S.A.)에 10분간 수세하고 2차 항체(LSAB kit: DAKO, Carpinteria, U.S.A.)로 약 30분간 처리하였다. 다시 Tris 완충용액($\times 10$ Immunoassay buffer: Biomed, Foster, U.S.A.)에 10분간 수세하고 Streptavidin horse radish peroxidase (HRP)에 30분간 반응시켜 biotin-avidin 특이 결합을 유도하고 다시 Tris 완충용액($\times 10$ Immunoassay buffer: Biomed, Foster, U.S.A.)에 10분간 수세하였다. 3-amino-9-ethylcarbazole(AEC, DAKO company, Carpinteria, U.S.A.)을 도포 하여 6분간 두어

발색하고, 다시 Tris 완충용액($\times 10$ Immunoassay buffer: Biomed, Foster, U.S.A.)에 10분간 수세하였다. Mayer hematoxylin으로 대조 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

(3) 면역조직화학 염색의 판정

면역조직화학 염색의 판정은 cyclin E 단백질과 p27 단백질 모두 핵에 적갈색으로 염색된 경우를 양성으로 하였다. 염색의 강도에 따라서 종양세포의 핵에 발현이 없는 경우는 (-), 핵에 약하게 발현된 경우는 (+), 분명한 발현이 있는 경우(++), 아주 강하게 발현된 경우(+++)로 분류하였다. 이 중에서 (++) 및 (+++)로 발현된 경우만 양성으로 판정하였다. 또 양성으로 판정된 핵염색을 보이는 종양세포의 범위는 발현이 없는 경우와 30% 미만의 종양세포가 양성인 경우는 음성으로 판정하였고, 30% 이상의 종양세포가 양성인 경우는 양성으로 판정하였다(Fig. 1,2).

3) 통계분석

SPSS 프로그램(Statistical Package for, Windows, 10.0.7, SPSS Inc., Chicago, U.S.A.)을 사용하여 통계학적 분석을 하였다. log-rank 검사를 이용하여 종양 무재발 생존과 여러 가지의 병리학적 인자들, 즉 조직학적 유형, 종양의 분화도, 종양의 크기, 흉막으로의 침습 여부와 cyclin E, p27과의 상관성을 조사하였다. 생존곡선은 Kaplan-Meier 법을 이용하였고 cyclin E와 p27을 포함한 여러 가지의 임상적-병리학적인 인자들과의 상관성은 Fisher exact probability test 및 Pearson chi-square test를 이용하여 조사하였다. 의미 있는 예후인자간의 다변량 분석을 위하여 Cox proportional hazards 모델을 이용하였다. 모든 통계학적 분석은 p값이 0.05 이하일 때 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

Table 1. Main Pathological Characteristics of Stage I NSCLC*

| Characteristics | No. of Patients | % |
|-------------------------|-----------------|------|
| Histology | | |
| Squamous cell carcinoma | 54 | 66.7 |
| Adenocarcinoma | 22 | 27.2 |
| Large cell carcinoma | 3 | 3.7 |
| Mixed, NOS | 2 | 2.5 |
| Differentiation | | |
| Well | 27 | 33.3 |
| Moderately | 28 | 34.6 |
| Poorly | 26 | 32.1 |
| Tumor diameter(cm) | | |
| ≤ 3 | 32 | 39.5 |
| > 3 | 49 | 60.5 |
| Pleural invasion | | |
| Present | 26 | 32.1 |
| Absent | 55 | 67.9 |

*NSCLC : non-small cell cancer

결 과

1. 제1병기 비소세포폐암의 병리조직학적 특징

조직학적 유형에 따른 분포는 편평세포암종 54예(66.7%), 선암종 22예(27.2%), 대세포암종 3예(3.7%), 선편평세포암종 1예, 점액표피양 암종 1예였다. 조직학적 분화의 정도에 따른 분포는 고등급 분화 암종 27예(33.3%), 중등도 분화 암종 28예(34.6%), 저등급 분화 암종 26예(32.1%) 이었다.

TNM병기에서 T병기에 관여하는 인자 중 종양의 크기에 따른 분류로 종양의 크기가 3cm 이하 32례(39.5%), 3cm 이상 49례(60.5%)였고, 늑막으로의 침습 여부에 따라 늑막으로의 침습이 있는 경우가 26예(32.1%), 늑막 침습이 없는 경우가 55예(67.9%) 이었다(Table 1).

2. 제1병기 비소세포폐암에서 cyclin E의 발현

총 81례의 제1병기 비소세포폐암 조직에서 cyclin E 단백질의 양성 발현은 24례로 29.6% 이었다. 폐암조직 유형에 따라 cyclin E의 발현은 편평세포암종 35.2%, 선암종 18.2%로 선암종에 비해 편평세포암종에서 높은 발현을 보였고($p < 0.05$), 종양의 분화도나 종양의 크기에 따른 발현율의 차이는 없으나 늑막을 침습한 경우는 26례 중 11례에서 발현되어 42.3%로, 늑막침습이 없는 경우 55례 중 14례, 25.5%에 비해 높은 발현율을 보였다($p < 0.05$)(Table 2).

Table 2. Expression of Cyclin E in Stage I NSCLC*

| Characteristics | Total | Cyclin E positive | | |
|-------------------------|-------|-------------------|--------|---------|
| | | No. of Patients | (%) | p-value |
| Histology | | | | |
| Squamous cell carcinoma | 54 | 19 | (35.2) | 0.38 |
| Adenocarcinoma | 22 | 4 | (18.2) | |
| Large cell carcinoma | 3 | 1 | (33.3) | |
| Mixed, NOS | 2 | 0 | (0.0) | |
| Differentiation | | | | |
| Well | 27 | 10 | (37.0) | 0.49 |
| Moderately | 28 | 6 | (21.4) | |
| Poorly | 26 | 8 | (30.8) | |
| Tumor diameter(cm) | | | | |
| ≤ 3 | 32 | 9 | (28.1) | 0.702 |
| > 3 | 49 | 15 | (30.6) | |
| Pleural invasion | | | | |
| Present | 26 | 11 | (42.3) | 0.04 |
| Absent | 55 | 14 | (25.5) | |

*NSCLC : non-small cell lung cancer

3. 제1병기 비소세포 폐암에서 p27의 발현

총 81례의 제1병기 비소세포폐암 조직에서 p27의 양성 발현은 23례로 28.4%의 발현율을 보였으며, 폐암조직의 유형, 분화도, 늑막침습 여부에 따른 발현율에는 차이가 없으나 종양의 크기가 3cm 이하인 군은 43.7%의 발현율을 보여, 3cm 이상인 군 19.2%에 비해 높게 발현되었다($p < 0.05$)(Table 3).

4. 제1병기 비소세포폐암에서 cyclin E와 p27의 발현과 예후와의 상관성

제1병기 비소세포폐암의 5년 생존율은 61%이었다. 폐암조직에서 cyclin E 발현군의 5년 생존율은 44.4%로, 미 발현군 68.2%에 비해 의미 있게 짧았다($p=0.015$). 또 폐암조직에서 p27의 발현군의 5년 생존율은 72.2%로, 음성군 56.2% 보다 높게 나타났으나 통계학적인 유의성은 없었다($p=0.09$) (Table 4) (Fig. 3, 4).

5. 제1병기 비소세포폐암에서 cyclin E와 p27의 발현간의 상관관계

제1병기 비소세포폐암 81례중 cyclin E와 p27의 발현이 역위로 일치하는 경우는 35례(43.2%), 역위로 불일치하는 경우 46례(56.8%)로 두 단백질의 발현은 상호 역위된 관계를 보이지 않았다($p=0.43$, $Kappa = -0.049$)(Table 5). 그러나 cyclin E의 발현이 없으면서 p27의 발현이 있는 군의 5년 생존율은 73.5%

Table 3. Expression of p27 in Stage I NSCLC*

| Characteristics | Total | p27 positive | | p-value |
|---------------------------|-------|-----------------|--------|---------|
| | | No. of Patients | (%) | |
| Histology | | | | 0.44 |
| Squamous cell carcinoma | 54 | 15 | (27.8) | |
| Adenocarcinoma | 22 | 8 | (36.7) | |
| Large cell carcinoma | 3 | 0 | (0.0) | |
| Mixed, NOS | 2 | 0 | (0.0) | |
| Differentiation | | | | 0.31 |
| Well | 27 | 6 | (22.2) | |
| Moderately | 28 | 6 | (21.4) | |
| Poorly | 26 | 10 | (38.5) | |
| Tumor diameter(cm) | | | | 0.015 |
| ≤ 3 | 32 | 14 | (43.7) | |
| > 3 | 49 | 9 | (19.2) | |
| Pleural invasion | | | | 0.47 |
| Present | 26 | 8 | (30.8) | |
| Absent | 55 | 15 | (27.3) | |

*NSCLC : non-small cell lung cancer

로, cyclin E의 발현이 있으면서 p27의 발현이 없는 군36.3%에 비해 높았다($p=0.0029$)(Fig. 5).

6. 제1병기 비소세포폐암에서 다변량 분석에 의한 예후인자

생존율에 대한 독립적인 위험인자를 정하기 위하여 종양의 크기와 늑막의 침습여부, cyclin E와 p27의 발현을 Cox proportional hazards regression model에 포함하여 분석하였다.

Cyclin E와 p27의 발현은 생존율에 대한 독립적인 위험인자로서 의의가 있었다($RR=3.578, p=0.005, RR=0.183, p=0.019$)(Table 6).

고 찰

본 연구는 외과적으로 절제된 비소세포 폐암조직에서 cyclin E와 p27의 다양한 발현을 보여 주었으며, cyclin E와 p27이 비소세포폐암의 예후인자로서의 가능성을 보여준 첫 번째 연구이다. 병리학적 제1병기 환자에서 cyclin E의 발현은 의미있는 독립적인 예후인자로서 불량한 예후를 시사하였다. 본 연구에서도 암조직이 발견되지 않는 정상 폐조직에서는 cyclin E가 발현되지 않아 cyclin E는 종양세포에 특이한 이상 소견을 나타낸다고 발표한 Mishina 등¹⁸⁾의 연구와 일치 하였다. 발암제를 이용한 시험관내 연구에서 cyclin E는 인간 기관지 상피세포의 형질전환에 중심적 역할을 하는 것이 관찰되었다¹⁹⁾. Lonardo 등²⁰⁾은 기관지 편평세포암의 전암

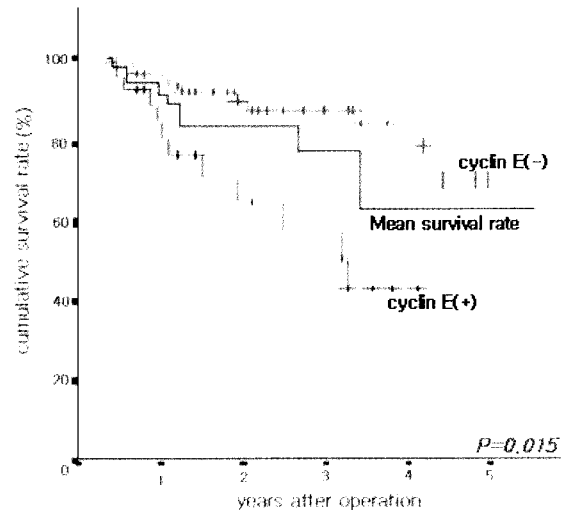


Fig. 3. Kaplan-Meier survival curves according to expression of cyclin E in stage I NSCLC

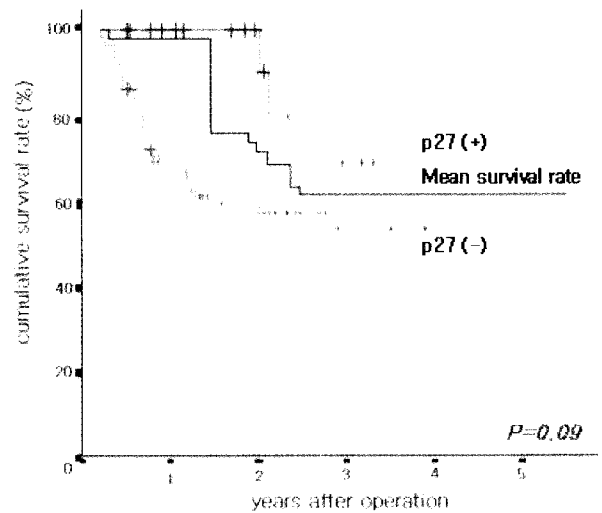


Fig. 4. Kaplan-Meier survival curves according to expression of p27 in stage I NSCLC

병변에서 cyclin E가 빈번하게 발현되어 cyclin E는 비소세포 폐암, 특히 편평세포 폐암의 발달의 다단계 과정중에 중요한 요소임을 암시하였는데, 본 연구에서도 Lonard 등²⁰⁾과 Mishina 등¹⁸⁾의 연구에 부합하여 cyclin E의 발현빈도가 선암보다 편평세포암에서 높게 나타났다.

유방암 세포에서 cyclin E에 의한 정상적인 세포주기 조절의 결함이 있는 것으로 보고되었다²¹⁾. 유방암에서 cyclin E의 발현은 진행된 병기, 고분화 등급, 불량한 예후와 관련이 있다고 보고가 있으며¹⁴⁾, 비소세포폐암에서는 cyclin E의 발현이 성별, 흡연 지수, 진행된 병기 및 불량한 예후 등과 관련이 있다는 보고도 있다¹⁸⁾. 본 연구에서도 cyclin E의 발현은

Table 4. The 5-Years Survival Rate according to Expression of Cyclin E and p27 in Stage I NSCLC*

| | No. of patients | (%) | 5-yr Survival Rate | p-value |
|----------|-----------------|--------|--------------------|---------|
| Cyclin E | | | | 0.015 |
| Positive | 24 | (29.6) | 44.4 | |
| Negative | 57 | (70.4) | 68.2 | |
| p27 | | | | 0.09 |
| Positive | 23 | (28.4) | 72.2 | |
| Negative | 58 | (71.6) | 56.2 | |

*NSCLC : non-small cell lung cancer

Table 5. Correlation between Expression of Cyclin E and p27 in Stage I NSCLC*.

| p27 | Cyclin E | |
|----------|----------|----------|
| | - (n=57) | + (n=24) |
| - (n=58) | 40 | 18 |
| + (n=23) | 17 | 6 |

$p=0.43, Kappa=0.6$

*NSCLC : non-small cell lung cancer

불량한 예후와 관련이 있는 것으로 나타났다. 제1병기 비소세포폐암에서 cyclin E의 발현율은 총 81례 중 24례에서 발현되어 29.6%였으며, 조직학적 유형에 따라 편평세포암종에서 35.2%로, 선암종의 18.2%에 비해 높게 나타났다.

Muller-Tidow 등²²⁾은 제1병기부터 제 IIIa병기까지의 비소세포폐암에 대한 연구에서 cyclin E의 발현이 종양의 크기와는 관련이 없고 원격전이의 발생과 밀접한 관련을 가진다고 하였으나, 본 연구에서는 제1병기 비소세포폐암을 연구대상으로 하였기 때문에 원격전이와의 상관성은 알 수 없으나, 제1병기 비소세포폐암을 IA병기와 IB병기로 구분하는 요소인 종양의 크기와 늑막의 침습 여부와 cyclin E의 발현을 조사한 결과, cyclin E의 발현은 종양의 크기와는 관련이 없었고 늑막의 침습 및 예후와 상관관계를 나타내어 종양의 침습성과 관련이 있는 것으로 나타났다. 따라서 앞서 언급한 Mashina 등¹⁸⁾의 연구에서 종양의 병기를 T1병기와 T2-4병기로 구분하여 T2-4병기에서 cyclin E의 발현이 의미 있게 관찰되었다고 보고 한 내용과 일치하는 소견을 보였다.

Cyclin E의 발현은 그 외에 여러 종류의 고형성 암과 림프종에서도 관찰되었다²³⁾. 이러한 소견들은 본 연구에서 관찰된 비소세포폐암에서 cyclin E의 발현이 세포증식의 결과가 아니라 정상세포와 종양세포 사이에 의미있는 차이를 나타내며, cyclin E가 비소세포폐암의 생물학적 양상에 중요한 역할을 하기 때문에 비소세포폐암의 새로운 예후인자로서의

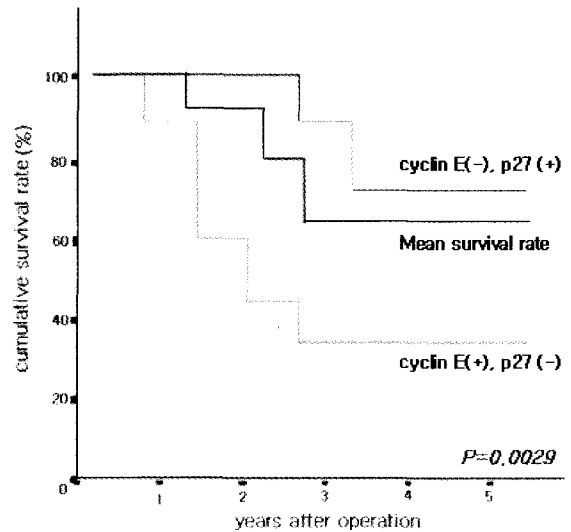


Fig. 5. Kaplan-Meier survival curves according to expression of cyclin E and p27 in stage I NSCLC

가능성을 시사한다.

Mishina 등²⁴⁾은 비소세포폐암 환자에서 cyclin D1의 발현을 보이는 경우 보이지 않는 경우보다 생존기간이 길었다고 하였다. Cyclin E와 cyclin D1 모두 세포주기의 G1-S기 이행에 관련되지만 이들 단백질의 발현은 암세포에서 서로 다른 분자생물학적, 세포생물학적 표현형을 나타낼 수 있다. Cyclin E는 염색체의 불안정화를 야기할 수 있으므로 종양의 발달과 진행에 관련되며, cyclin D1은 세포사와 세포의 성장억제를 조절하는데 중요한 역할을 한다. 따라서 cyclin E와 cyclin D1은 이렇게 서로 다른 기능상의 성질로 인하여 비소세포폐암 환자의 예후에 다른 영향을 미치게 된다¹⁸⁾.

유방암, 대장암, 비소세포폐암에서 p27의 발현이 보다 양호한 예후를 보여준다는 연구들이 보고되었다²⁵⁾. 본 연구에서도 역시 p27^{Kip1}의 발현을 보이는 제1병기 비소세포폐암군의 5년 생존율은 72.2%로 미 발현군 56.2% 보다 높게는 나타났으나 통계학적인 유의성이 없어($p=0.09$), 여러 가지 예후인자들을 포함한 다변량 분석을 실시한 결과, p27의 발현은 양호한 예후를 시사하는 독립적인 예후인자로 나왔다($RR=0.183, p=0.019$). 그러나 Ishihara 등²⁵⁾의 성, 연령, 조직학적 유형, 임상병기, 흡연지수 및 항암제에 대한 반응 등과 p27의 발현은 관련이 없다고 하였다.

본 연구에서는 제1병기 비소세포폐암을 IA기와 IB기로 구분하는 요소 중에서 흉막의 침습과는 관련이 없는 것으로 나타났으나, 종양의 직경이 3cm 이하인 군에서 43.7%로, 종양의 직경이 3cm 이상인 군 19.2%에 비해 높게 나타나 p27의 발현은 종양의 크기와 관련성이 있으며, 이는 종양조직에서 p27 발현의 소실이 위암의 병기와 침윤도와 상관 관계가

Table 6. Cox's Proportional Hazards Model Analysis of Prognostic Factors

| Factors | Time to Death | | |
|-------------------|---------------|-------------|---------|
| | OR | 95% CI | p-value |
| Tumor size | 1.581 | 1.012-2.247 | 0.44 |
| Pleural invasion | 1.132 | 0.435-2.946 | 0.80 |
| Cyclin E positive | 3.578 | 1.462-8.762 | 0.005 |
| p27 positive | 0.183 | 0.044-0.757 | 0.019 |

있다고 보고한 Yasui 등²⁶⁾의 연구와도 일치하였다.

p27은 cyclin E-cdk4 복합체를 억제함으로써 세포주기의 진행을 방해하며 p27과 cyclin E-cdk4 복합체 사이에 항상성의 균형이 유지됨으로써 과다한 증식이 방지된다고 알려져 있다. Yasui 등²⁶⁾은 위암조직에서 cyclin E의 발현과 p27의 발현 사이에 상호 역위된 관계를 발견하고 p27의 미발현이 cdk2-cyclin E 복합체의 활성을 적절히 억제하지 못함으로써 종양의 진행에 관계된다고 주장하였고, Erlanson 등²⁷⁾도 비호지킨성 림프종에서 cyclin E와 p27의 발현 사이에 상호 역위된 관계를 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 cyclin E의 발현과 p27의 발현 사이에 의미 있는 상호 역위된 관계는 관찰되지 않았다. Cyclin E의 발현은 불량한 예후를, p27의 발현은 양호한 예후를 시사하는 독립적인 인자로 나왔기 때문에 cyclin E의 발현이 있으면서 p27의 발현이 없는 군과 다른 군들, 즉 cyclin E와 p27이 모두 음성, cyclin E 음성과 p27의 양성, cyclin E와 p27 모두 양성인 군들 사이의 생존율의 차이는 의미있게 관찰되었다. 이러한 소견들은 cyclin E와 p27 발현에 의한 종양 표현형의 차이와 종양의 진전은 서로 다른 기전에 의하여 나타나는 것으로 생각된다.

본 연구는 81례라는 비교적 적은 예의 제1병기 비소세포 폐암만을 대상으로 하였고, 수술 후 재발과의 관련성에 대해서도 연구되지 못했기 때문에 cyclin E와 p27의 발현과 종양의 침습과의 관련성에 대한 연구로는 다소 제한점이 있는 것으로 생각되어 진다. 따라서 향후 보다 많은 층류에서 제1병기부터 제4병기까지의 모든 병기의 환자를 대상으로 하여 재발과의 관련성까지도 같이 연구되어 진다면 보다 훌륭한 결과가 나올 수 있을 것으로 예상된다.

결 론

이상의 결과로, 제1병기 비소세포폐암에서 p27은 종양의 크기와 cyclin E은 종양의 침습도와 생존율과 관련이 있는 것으로 나타났고, 또 cyclin E와 p27은 각각 독립적인 예후인자가 될 수 있었다. 따라서 제1병기 비소세포폐암 절제 예에서도 종양의 조직에서 cyclin E가 발현되거나 p27이 발현되

지 않는 경우에는 보강적인 항암치료를 적절히 시행함으로써, 생존율의 향상에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

참고 문헌

1. Fry WA, Menck HR, Winchester DP. *The National Cancer Data Base report on lung cancer*. Cancer 1966; 77:1947-55.
2. Minna JD, Sekido Y, Fong KM, Gazdar AF. *Principles and Practice of Oncology*. 5th ed. Philadelphia : Lippincott-Raven Publishers. 1997; 849-57.
3. Sherr CJ. *Cancer cell cycles*. Science 1966;274:1672-7.
4. Hatakeyama M, Weinberg RA. *The role of RB in cell cycle control*. Prog Cell Cycle Res 1995;1:9-19.
5. Planas-Silva MD, Weinberg RA. *The restriction point and control of cell proliferation*. Curr Opin Cell Biol 1997; 9:768-72.
6. Morgan DO. *Principles of CDK regulation*. Nature 1995; 9:131-4.
7. Sherr CJ, Roberts JM. *Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases*. Genes Dev 1995;9:1149-63.
8. Reed SI, Bailly E, Dulic V, Hengst L, Resnitzky D, Slingerland J. *G1 control in mammalian cells*. J Cell Sci Suppl 1994;18:69-73.
9. Bates S, Bonetta L, MacAllan D, et al. *CDK6 (PLSTIRE) and CDK4 (PSK-J3) are a distinct subset of the cyclin-dependent kinases that associate with cyclin D1*. Oncogene 1994;9:71-9.
10. Matsushime H, Quelle DE, Shurtleff SA, et al. *D-type cyclin-dependent kinase activity in mammalian cells*. Mol Cell Biol 1994;14:2066-76.
11. Meyerson M, Harlow E. *Identification of G1 kinase activity for cdk6, a novel cyclin D partner*. Mol Cell Biol 1994;14:2077-86.
12. Xiong Y, Zhang H, Beach D. *D type cyclins associate with multiple protein kinases and the DNA replication and repair factor PCNA*. Cell 1992;71:505-14.
13. Koff A, Giordano A, Desai D, et al. *Formation and activation of a cyclin E-cdk2 complex during the G1 phase of the human cell cycle*. Science 1992;257:1689-94, 1992.
14. Keyomarsi K, O'Leary N, Molnar G, et al. *Cyclin E, a potential prognostic marker for breast cancer*. Cancer Res 1994;54:380-5.
15. Polyak K, Kato JY, Solomon MJ, et al. *p27Kip1, a cyclin-Cdk inhibitor, links transforming growth factor-beta and contact inhibition to cell cycle arrest*. Genes Dev 1994;8:9-22.
16. Mountain CF. *Revisions in the International System for Staging Lung Cancer*. Chest 1997;6:1710-7.
17. Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y, Brambilla E, and Collaborators from 14 countries. *Histologic Typing Lung and Pleural Tumors*. Berlin:Springer Verlag. 1999.18. Mishina T, Dosaka-Akita H, Hommura F, et al.

- Expression, a potential prognostic marker for non-small cell lung cancers.* Clin Cancer Res 2000;6:11-6.
19. Langenfeld J, Lonardo F, Kiyokawa H, et al. *Inhibited transformation of immortalized human bronchial epithelial cells by retinoic acid is linked to cyclin E down-regulation.* Oncogene 1996;13:1983-90.
 20. Lonardo F, Rusch V, Langenfeld J, Dmitrovsky E, Klimstra DS. *Overexpression of cyclins D1 and E is frequent in bronchial preneoplasia and precedes squamous cell carcinoma development.* Cancer Res 1999;59:2470-6.
 21. Keyomarsi K, Conte D Jr, Toyofuku W, Fox MP. *Deregulation of cyclin E in breast cancer.* Oncogene 1995;11:941-50.
 22. Muller-Tidow C, Metzger R, Kugler K, et al. *Cyclin E is the only cyclin-dependent kinase 2-associated cyclin that predicts metastasis and survival in early stage non-small cell lung cancer.* Cancer Res 2001;61:647-53.
 23. Gong J, Ardeli B, Traganos F, Darzynkiewicz Z. *Unscheduled expression of cyclin B1 and cyclin E in several leukemic and solid tumor cell lines.* Cancer Res 1994;54:4285-8.
 24. Mishina T, Dosaka-Akita H, Kinoshita I, et al. *Cyclin D1 expression in non-small-cell lung cancers: its association with altered p53 expression, cell proliferation and clinical outcome.* Br J Cancer 1999;80:1289-95.
 25. Ishihara S, Minato K, Hoshino H, et al. *The cyclin-dependent kinase inhibitor p27 as a prognostic factor in advanced non-small cell lung cancer: its immunohistochemical evaluation using biopsy specimens.* Lung Cancer 1999;26:187-94.
 26. Yasui W, Kudo Y, Semba S, Yokozaki H, Tahara E. *Reduced expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 is associated with advanced stage and invasiveness of gastric carcinomas.* Jpn J Cancer Res 1997;88:625-9.
 27. Erlanson M, Portin C, Linderholm B, et al. *Expression of cyclin E and the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in malignant lymphomas-prognostic implications.* Blood. 1998;92:770-7.

=국문초록=

배경: Cyclin E는 G1-S기로의 이행을 조절하는데 매우 중요한 역할을 하는데, 세포주기 중 G₀/G₁기로부터 S기로의 이행의 조절이상은 종양형성에 중요한 요소로 알려져 있으므로, 여러 종류의 악성종양에서 cyclin E의 발현은 종양의 생물학적 양상과 관련되어 보고되고 있다. 또 cdk2-cyclin E 복합체의 활성도는 cdk 억제인자인 p27^{Kip1}의 분해에 의하여 증가한다. 그러나 비소세포폐암에서 cyclin E와 p27의 발현에 관한 연구는 매우 드물다. **대상 및 방법:** 81례의 절제된 제1병기 비소세포폐암 조직을 이용하여 cyclin E와 p27의 발현율을 조사하고, 조직학적 유형, 분화도, 종양의 크기, 늑막의 침범 여부, 생존율과의 상호관계를 비교 분석하였다. Cyclin E와 p27의 발현은 특이한 단클론 항체를 이용하여 ABC법으로 면역조직화학염색을 시행하였고, 생존율은 Kaplan-Meier법을 이용하였다. **결과:** 제1병기 비소세포폐암에서 cyclin E와 p27의 발현율은 각각 29.6%, 28.4%였다. Cyclin E는 늑막 침범례에서, p27은 종양의 직경이 3cm 이하인 경우에 각각 높은 발현율을 보였다($p=0.04$, $p=0.015$). Cyclin E의 발현군의 5년 생존율은 44.4%로, 미 발현군 68.2%에 비해 낮았으며($p=0.015$), p27의 발현군의 5년 생존율은 72.2%로, 미 발현군 56.2%에 비해 높은 경향을 보였다($p=0.09$). Cyclin E가 발현되지 않고 p27이 발현되는 군의 5년 생존율은 73.5%로, cyclin E가 발현되고 p27이 발현되지 않는 군 36.3%에 비해 높게 나타났다($p=0.0029$). 다변량 분석상 cyclin E는 불량한 예후를($RR=3.578$, $p=0.006$), p27은 양호한 예후를 시사하는 독립적인 인자였다($RR=0.183$, $p=0.019$). **결론:** 제1병기 비소세포폐암에서 cyclin E의 발현은 불량한 예후를, p27은 양호한 예후를 나타내는 독립적인 예후인자가 될 수 있음을 확인하였다.

- 중심 단어:** 1. 비소세포폐암
2. cyclin E
3. p27