

위암에서의 p21^{Waf1/Cip1} and p27^{Kip1} 단백질 발현

가톨릭대학교 의과대학 외과학교실

김신선 · 박용근 · 전경화 · 정 현 · 송교영 · 김진조 · 진현민 · 김 욱 · 박조현 · 박승만 · 임근우 · 김승남 · 전해명

목적: 암의 발생과 진행에 있어서 비정상적인 세포주기로 인하여 조절이 불가능한 세포성장과 분열이 중요한 기전으로 관여한다. 세포주기는 cyclin, CDK와 cyclin의 복합체는 CDKI에 의해 억제된다. 세포주기를 억제하는 인자는 종양 세포에서도 종양억제인자로 작용한다. 세포 주기 조절인자 CDKI는 INK family, CIP/KIP family로 구분된다. 본 연구는 CIP/KIP family인 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1} 단백질의 발현유무에 따른 위암의 임상조직학적인 특성 및 예후와 연관성에 대해 조사하였다.

대상 및 방법: 1993년부터 1997년까지 위암으로 진단받고 수술적 치료를 받은 환자들 중에 추적 조사가 가능하고 파라핀 포매 조직상태가 좋은 192명의 환자를 대상으로 하였다. p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1}에 대해 면역조직화학염색을 시행하였고, 종양세포의 핵에 염색되는 세포를 양성 판정하였다. 통계학적 분석은 임상조직학적인 특성과 생존율의 차이에 대하여 시행하였다.

결과: p21^{Waf1/Cip1}은 15.6% (30/192), p27^{Kip1}은 28.1% (54/192)의 발현율을 보였다. p21^{Waf1/Cip1}은 양성에서는 T1-2 (80.0%), 음성에서는 T3-4 (50.6%)가 차지하는 비율이 높았으며(P < 0.05) 다른 인자에서는 통계적인 유의성이 없었다. p27^{Kip1}에서는 T-stage에서 p21^{Waf1/Cip1}과 비슷한 결과(77.8%, 55.1%)를 보였으며, Lauren 분류에서는 장형(62.7%)보다 미만형(91.3%)에서 음성을 보이는 비율이 높았다(P < 0.05). p27^{Kip1}도 다른 인자에서는 통계적인 유의성이 없었다. p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1}의 상관관계는 p21^{Waf1/Cip1}(+)/p27^{Kip1}(+) 보이는 경우(53.3%)와, p21^{Waf1/Cip1}(-)/p27^{Kip1}(-) 보이는 경우(76.5%)가 많았다(P < 0.05). p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1} 복합 검사에서는 p21^{Waf1/Cip1}(+)/p27^{Kip1}(+)인 경우에 T1-2 (87.5%)가 많았고 p21^{Waf1/Cip1}(-)/p27^{Kip1}(-)인 경우에는 T3-4 (58.1%)가 많았다(P < 0.05). 또한 Lauren 분류에서는 p21^{Waf1/Cip1}(+)/p27^{Kip1}(+)인 경우가 장형(100%)에서만 나타났으며(P < 0.05), p21^{Waf1/Cip1}(-)/p27^{Kip1}(-)인 경우는 미만형인 경우(87.0%)가 장형(54.9%)의 경우보다 많은 비율을 차지하였다(P < 0.05). 5년 장기 생존율에 있어서는 각각의 p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1}의 발현 유무에 따른 통계적인 유의성은 없었고 복합 검사에서도 p21^{Waf1/Cip1}(+)/p27^{Kip1}(+)의 경우에 생존율이 높았지만 통계적인 유의성은 없었다.

결론: 저자들의 경우에는 p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1}은 서로 비슷한 발현 형태를 나타내고 p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1}의 발현은 침윤 정도에 영향을 주며, p27^{Kip1}의 경우에는 Lauren 분류와 관련성이 있었다. 또한, p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1} 복합 검사는 침윤 정도와 Lauren 분류와 연관성이 있다고 할 수 있다. 하지만, p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1}의 발현에 따른 생존율의 차이가 유의성을 보이지 않아, 예후 예측인자로의 적용은 한계가 있다고 생각한다.

중심 단어: 위암, 면역화학염색, 예후인자, p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1}

서 론

세포의 증식이나 사멸은 세포의 항상성을 유지하는 데 매우 중요하다. 여러 종양 억제 유전자들이 이들 세포주기 조절인자들과 밀접한 관계가 있고, 세포의 분열과 분화 그리고 암의 발생과 연관이 있다는 것이 알려지면서 세포주기 조절기전에 대한 연구의 중요성이 강조되고 있다.

세포주기의 조절은 cyclin, cyclin dependent kinase (CDK)와 cyclin dependent kinase inhibitor (CDKI)들의 상호작용에 의해 이루어진다. CDKI는 아미노산 배열에 따라 INK family, CIP/KIP family로 구분되며, INK4 family는 p15, p16, p18, p19 등으로 CDK4, CDK6를 주로 억제한다. 본 연구에서 수행한 다른 하나의 inhibitory 경로인 CIP/KIP family는 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1}, p57^{Kip2} 등이며 여러 cyclin/CDK complex를 억제하여 G1/S에 작용하는 광범위한 inhibitor이다.(1) p21^{Waf1/Cip1}은 wild type의 p53에 의해 유도되어 p53 종양 억제유전자발현 효과를 나타내며 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 의존성 DNA 복제를 억제한다. p21^{Waf1/Cip1}의 세포주기 조절 기능으로 Gom-yo(2)의 연구 결과처럼 p21 단백질 발현이 위암에서 좋은 예후와 상관관계를 보일 가능성에 대해 연구가 행해졌으나 서로 다양한 결과가 보고되었다.

p27^{Kip1}은 G1기에서 S기로 이행되는 과정을 차단하여 세포분열을 중단시킴으로 분열을 억제할 뿐만 아니라, 세포간의 유착(adhesion)에도 관여한다고 알려져 있어서 p27^{Kip1}의 소실은 세포 간의 유착을 약화시켜 암세포의 전이를 유

책임저자 : 전해명, 서울시 영등포구 여의도동 62번지
가톨릭대학교 의과대학 외과학교실, 150-713
Tel: 02-3779-1170, Fax: 02-786-0802
E-mail: hmjeon@catholic.ac.kr

접수일 : 2006년 3월 18일, 게재승인일 : 2006년 3월 28일
본 논문은 가톨릭 의과대학 부속 성모병원 임상의학 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

발한다고 생각된다. p27^{Kip1} 또한 예후와 상관관계에 대해 연구가 행해졌으나 결과는 다양하였다.(3)

현재 위암에서 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1} 동시 발현과 예후와의 상관관계는 Liu P 등(4)이 연구하였으나 활발히 이루어지지 못하고 있다. 이에 본 연구는 면역화학염색방법으로 p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1} 발현을 확인하고 발현 양상에 따른 임상조직학적인 특성 및 예후 인자로서의 이용가능성에 대해 조사하였다.

방 법

1) 대상

가톨릭대학교 의과대학 부속병원에서 1993년부터 1997년까지 위선암증으로 진단받고 위절제술을 시행한 환자의 파라핀 포매 위암조직 중에서 보관상태가 양호하고 추적검사가 잘 이루어진 192예를 연구 대상으로 하였다. 위암의 병기, 침윤도, 림프절 전이 여부, 세포의 분화도, Lauren's 분류 및 생존 기간을 조사하였고, 대조군으로는 정상 위조직을 이용하였다. 위암의 병기는 International Union Against Cancer (UICC, 1997)에 기준하여 분류하였다.

2) 면역조직화학 염색 검사(Immunohistochemical staining)

10% 포르말린 액에 고정된 후 파라핀에 포매한 중앙조직을 사용하여 통상적인 면역조직화학 염색을 시행하였다. 일차 항체는 p21^{Waf1/Cip1} (NeoMarker), p27^{Kip1} (NeoMarker)을 사용하였다.

파라핀 포매 조직으로부터 4 μ m 두께의 조직 절편을 제작하여 규소로 처리된 슬라이드(Prove on + slide Fisher Scientific Co., Pittsburgh, PA, USA) 위에서 시행하였다. Histoclear (National diagnostics, Georgia, Atlanta)와 xylene의 3 : 1

혼합액에서 5분씩 4회 반복 접촉하여 파라핀을 제거하고, 무수알코올에서 15초간 12회, 75% 알코올로 세척하여, 잔여 xylene을 제거하고 함수시켰다. 특히 항원의 노출을 돕기 위하여 citrate buffer solution으로 121°C에서 12분간 가압멸균기(autoclave)를 실시한 다음 실온으로 식힌 후 Dulbecco's phosphate buffered saline으로 3회 세척하였다. 이후 비특이 반응을 억제하기 위하여 blocking solution (histostain sp for AEC, Zymed Co., South San Francisco, USA)으로 2분 처리한 후, 1 : 10, 1 : 50로 각각 희석한 일차 항체를 40°C에서 20분간 결합시킨 후 다음 수회 세척 후 biotinylated anti-mouse immunoglobulin (histostain sp for AEC, Zymed Co., South San Francisco, USA)으로 40°C에서 7분간 처리하고, 수회 세척 후 avidin-alkaline phosphatase로 40°C에서 7분간 반응시킨 후 적색의 색소원(chromogen)으로 40°C에서 2~5분간 발색시켜서 세척 후 hematoxylin으로 20초간 대조 염색을 시행하고, 세척하여 광학 현미경으로 관찰 판독하였다.

3) 염색의 평가

염색 후 단백질 발현에 대한 양성 판정은 p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1} 모두 먼저 중앙 조직에서 확실한 핵염색이 관찰되는지를 기준으로 하여, 400배율 시야에서 p21^{Waf1/Cip1}은 10% 이상에서 핵염색이 관찰되는 경우 양성으로 판정하였고, p27^{Kip1}은 25% 이상에서 핵염색이 관찰되는 경우를 양성으로 판정하였다. 판독은 두 명의 독립된 관찰자가 조직을 관찰하여 일치되는 결과를 채택하였다(Fig. 1).

4) 통계적 분석

p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1}의 발현 유무와 병기, 침윤도, 림프절 전이 유무, 세포 분화도, Lauren 분류의 관련성을 chi-square 검정법 혹은 Fisher 정밀 검정법을 이용하였고, 각 단백질 발현 강도 간의 상호 관련성도 chi-square를 이용하였다. 생존율

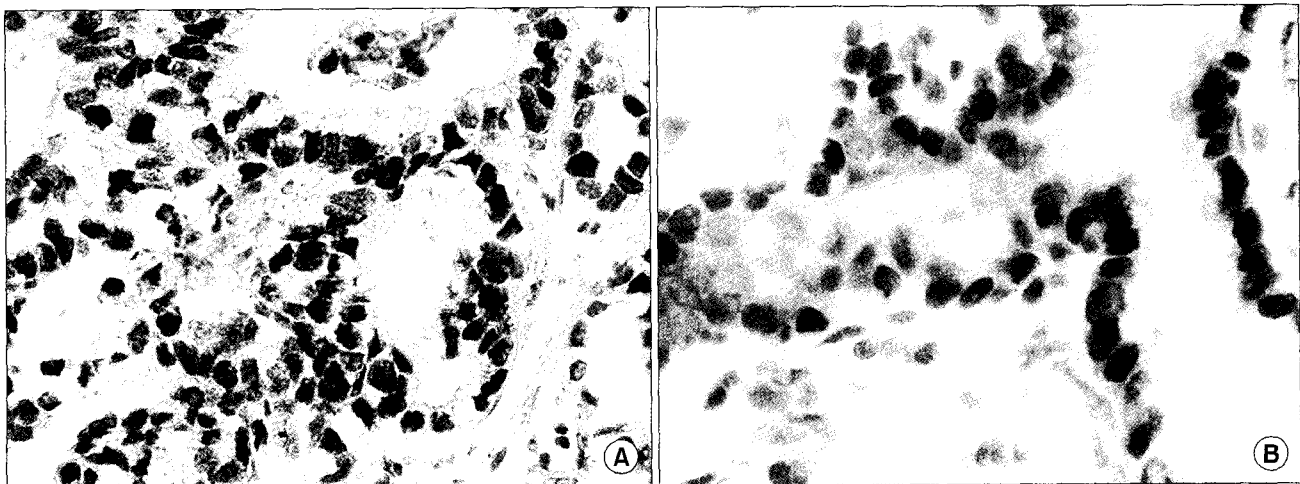


Fig. 1. (A) Immunohistochemical staining of p21^{Waf1/Cip1} (H&E stain, \times 400), (B) Immunohistochemical staining of p27^{Kip1} (H&E stain, \times 400).

의 차이는 로그 순위 검정법(log-rank test)을 이용해 유의성을 검증하였고, P값이 0.05 이하인 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다. 통계처리는 가톨릭대학교 의과대학 통계학교실에 의뢰하였다.

결 과

1) p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1} 단백질 발현의 상관 관계

p21^{Waf1/Cip1} 발현단백의 면역조직화학적 염색 결과 15.6%

Table 1. The relationship between p21^{Waf1/Cip1} and p27^{Kip1} expression

	p27 ^{Kip1}		Total	
	Positive	Negative		
p21 ^{Waf1/Cip1}	Positive	16 (8.3)	14 (7.3)	30 (15.6)
	Negative	38 (19.8)	124 (64.6)	162 (84.4)
Total	54 (28.1)	138 (71.9)	192	

Table 2. Expression p21^{Waf1/Cip1} according to the clinicopathological parametery

p21 ^{Waf1/Cip1}	Positive (%)	Negative (%)	P-value
Age			
≥ 65	7 (19.4)	29 (80.6)	0.563
< 65	8 (13.3)	52 (86.7)	
Sex			
Male	22 (17.7)	102 (82.3)	0.563
Female	8 (11.8)	60 (88.2)	
Stage			
I	16 (20.5)	62 (79.5)	0.247
II	10 (22.7)	34 (77.3)	
III	4 (7.7)	48 (92.3)	
IV	-	18 (100.0)	
Depth (T-stage)			
T1-2	24 (23.1)	80 (76.9)	0.046
T3-4	6 (6.8)	82 (93.2)	
Lymph node (N-stage)			
N0-1	15 (10.3)	67 (81.7)	0.120
N2-3	-	13 (100.0)	
Differentiation			
Well	2 (20.0)	8 (80.0)	0.709
Moderate	4 (25.0)	12 (75.0)	
Poor	16 (16.3)	82 (83.7)	
Lauren's classification			
Diffuse	2 (4.3)	44 (95.7)	0.090
Intestinal	22 (21.6)	80 (78.4)	

(30/192)에서 양성으로 발현되었으며, 84.4% (162/192)에서 음성이었다. p27^{Kip1} 단백질은 28.1% (54/192)에서 양성으로, 71.9% (138/192)에서 음성 발현되었다. p21^{Waf1/Cip1} (+)/p27^{Kip1} (+)은 53.3% (16/30)였으며, p21^{Waf1/Cip1} (-)/p27^{Kip1} (-) 경우는 76.5% (124/162)였고 통계적 유의성을 보였다 (P=0.028) (Table 1).

2) p21^{Waf1/Cip1} 단백질 발현과 임상조직학적인 소견

Stage I에서 20.5% (16/78), stage II에서 22.7% (10/44), stage III에서 7.7% (4/52), stage IV에서 0% (0/18)로 양성 발현되어 병기가 높을수록 발현도가 낮았으나 의미있는 유의성은 보이지 않았다(P=0.247). 암의 침범 정도에서는 T1-2 경우 23.1% (24/104) 양성, T3-4 경우 6.8% (6/88) 양성으로 침윤이 많을수록 유의하게 적은 발현을 보였다(P=0.046). 림프절 전이(P=0.120), 분화도(P=0.709), Lauren 분류(P=0.090) 등에서는 유의한 상관관계를 보이지 않았다(Table 2).

3) p27^{Kip1} 단백질 발현과 임상조직학적인 소견

Stage I에서 41.0% (32/78), stage II에서 22.7% (10/44),

Table 3. Expression of p27^{Kip1} according to the clinicopathological parametery

p27 ^{Kip1}	Positive (%)	Negative (%)	P-value
Age			
≥ 65	11 (30.6)	25 (69.4)	0.815
< 65	16 (26.7)	44 (73.5)	
Sex			
Male	34 (27.4)	90 (72.9)	1.000
Female	20 (29.4)	48 (70.6)	
Stage			
I	32 (41.0)	46 (59.0)	0.153
II	10 (22.7)	34 (77.3)	
III	10 (19.2)	42 (80.8)	
IV	2 (11.1)	16 (88.9)	
Depth (T-stage)			
T1-2	42 (40.4)	62 (59.6)	0.006
T3-4	12 (13.6)	76 (86.4)	
Lymph node (N-stage)			
N0-1	26 (31.7)	56 (68.3)	0.101
N2-3	1 (7.7)	12 (92.3)	
Differentiation			
Well	2 (20.0)	8 (80.0)	0.709
Moderate	2 (12.5)	14 (87.5)	
Poor	30 (30.6)	68 (69.4)	
Lauren's classification			
Diffuse	4 (8.7)	42 (91.3)	0.013
Intestinal	38 (37.3)	64 (62.7)	

Table 4. Expression of p21^{Waf1/Cip1} and/or p27^{Kip1} according to the clinicopathological parameter

p21/p27 combined test (%)	(-)/(-)	(-)/(+)	(-)/(+)	(+)/(+)	P-value
Age					
≥ 65	46 (63.9)	12 (16.7)	4 (5.6)	10 (13.9)	0.476
< 65	78 (65.0)	26 (21.7)	10 (8.3)	6 (5.0)	
Sex					
Male	78 (62.9)	24 (19.4)	12 (9.7)	10 (8.1)	0.750
Female	46 (67.6)	14 (20.6)	2 (2.9)	6 (8.8)	
Stage					
I	38 (48.7)	24 (30.8)	8 (10.3)	8 (10.3)	0.329
II	30 (68.2)	4 (9.1)	4 (9.1)	6 (13.6)	
III	40 (76.9)	8 (15.4)	2 (3.8)	2 (3.8)	
IV	16 (88.9)	2 (11.1)	-	-	
Depth (T-stage)					
T1-2	52 (50.0)	28 (26.9)	10 (9.6)	14 (13.5)	0.010
T3-4	72 (81.8)	10 (11.4)	4 (4.5)	2 (2.3)	
Lymph node (N-stage)					
N0-1	98 (59.8)	36 (22.0)	14 (8.5)	16 (9.8)	0.228
N2-3	24 (92.3)	2 (7.7)	-	-	
Differentiation					
Well	6 (60.0)	2 (20.0)	2 (20.0)	-	0.551
Moderate	12 (75.0)	-	2 (12.5)	2 (12.5)	
Poor	62 (63.3)	20 (20.4)	6 (6.1)	10 (10.2)	
Lauren's classification					
Diffuse	40 (87.0)	4 (8.7)	2 (4.3)	-	0.040
Intestinal	56 (54.9)	24 (23.5)	8 (7.8)	14 (13.7)	

stage III에서 19.2% (10/52), stage IV에서 11.1% (2/18)로 양성 발견되어 병기가 높을수록 양성 발견도가 낮았으나 의미있는 유의성은 보이지 않았다(P=0.153). 암의 침범 정도에서는 T1-2 경우 40.4% (42/104) 양성, T3-4 경우 12/88 (13.6%) 양성으로 침윤이 많을수록 적은 발견을 보이며 통계적인 유의성을 보였다(P=0.006). Lauren 조직학적인 분류로 미만형에서 91.3% (42/46) 음성 발견되었으며, 장형에서 37.3% (38/102) 양성 발견으로 통계적인 유의성을 보이며 발견되었다(P=0.013). 림프절 전이(P=0.101), 분화도(P=0.709)에서는 유의한 상관관계를 보이지 않았다(Table 3).

4) p21^{Waf1/Cip1}과 p27^{Kip1} 단백질 발현의 상관 관계와 임상조직학적인 소견

암의 침범정도에 따라 T1-2 경우 p21^{Waf1/Cip1} (+)/p27^{Kip1} (+)은 13.5% (14/104), T3-4 경우 p21^{Waf1/Cip1} (-)/p27^{Kip1} (-)은 81.8% (72/88)로 침윤이 많을수록 두 단백질의 동시 음성발현을 보였다(P=0.010).

Lauren 조직학적인 분류인 장형에서 p21^{Waf1/Cip1} (+)/p27^{Kip1} (+) 경우가 14/102 (13.7%)로 미만형에 비해 높았으

며, 미만형에서 p21^{Waf1/Cip1} (-)/p27^{Kip1} (-)은 87.0% (40/46)로 장형에 비해 높았다(P=0.040)(Table 4).

5) 생존율과의 관계

p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1} 각각의 발현에 따라 생존율을 Kaplan-Meier법으로 분석해 본 결과 양성 발견 시 생존율은 좋았으나 통계적인 유의성은 없었다(P=0.158, 0.152)(Fig. 2). p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1} 조합하여 생존율과의 관계를 조사 시에도 p21^{Waf1/Cip1} (+)/p27^{Kip1} (+) 시 생존율이 가장 높았으며, p21^{Waf1/Cip1} (+)/p27^{Kip1} (-), p21^{Waf1/Cip1} (-)/p27^{Kip1} (+)보다, p21^{Waf1/Cip1} (-)/p27^{Kip1} (-) 시 생존율이 가장 낮았다 그러나 통계적인 유의성은 없었다(P=0.118)(Fig. 3).

고 찰

세포주기의 조절은 cyclin, CDK와 CDKI들의 상호작용에 의해 이루어지며 두 곳의 중요한 check point (G1/S, G2/M)가 있다.(1) CDKI는 아미노산 배열에 따라 INK family, CIP/KIP family로 구분되며, INK4 family는 p15, p16, p18,

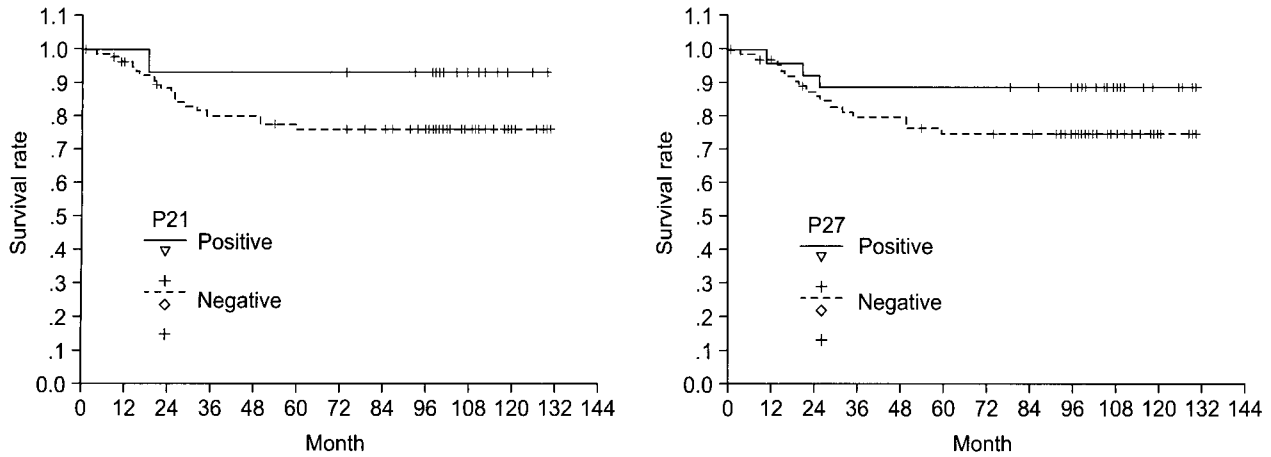
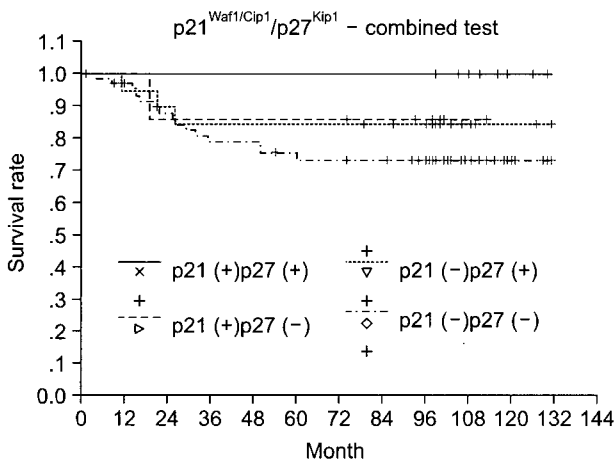


Fig. 2. (A) Survival curve according to the expression of p21^{Waf1/Cip1}, (B) Survival curve according to the expression of p27^{Kip1}.



P-value (Log-rank)	p21 (-)p27 (-)	p21 (-)p27 (+)	p21 (+)p27 (-)
p21 (-)p27 (+)	0.382		
p21 (+)p27 (-)	0.520	0.946	
p21 (+)p27 (+)	0.118	0.248	0.285

Fig. 3. survival curve according to the expression of p21^{Waf1/Cip1} and/or p27^{Kip1}.

p19 등으로 CDK4, CDK6를 주로 억제한다. 본 연구에서 수행한 다른 하나의 inhibitory 경로인 CIP/KIP family는 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1}, p57^{Kip2} 등이며 여러 cyclin/CDK complex를 억제하여 G1/S에 작용하는 광범위한 inhibitor이다.(2)

p21^{Waf1/Cip1}은 염색체 6p21.2에 위치하며 WAF1/CIPI 유전자에 의해 암호화되는 단백질로 wild type p53의 하위 target effector이다. p53 의존성 경로로 p53이 p21^{Waf1/Cip1} 전사체의 특정부위에 결합하여 p21^{Waf1/Cip1} 발현을 촉진시키고, 이는 CDKs을 억제함으로써 인산화가 저하되어 세포가 G1기에서 S기로 진행하는 것을 억제하는 작용과 p21^{Waf1/Cip1} 단독 DNA 복제와 복구에 필요한 PCNA에 결합하여 PCNA의 작용을 억제하여 DNA 복제를 방지하는 작용이 있다.(5)

p21^{Waf1/Cip1} 발현은 p53 의존성 경로뿐만 아니라 비의존성 경로를 통하여도 이루어지며 cyclin D1, cyclin E, p27^{Kip1}, pRb과 상호작용으로 조절된다.(6) Experimental analysis에서는 p21^{Waf1/Cip1}이 apoptosis를 유발함으로써 암억제유전자로서의 가능성도 보여주고 있다.(7)

p27^{Kip1}의 유전자는 염색체 12p13.1에 위치하며 p21^{Waf1/Cip1}과 마찬가지로 다양한 CDK/cyclin 복합체에 결합한다.(8) p27^{Kip1}은 cyclinE/CDK2 복합체에 붙어 이들을 억제함으로써 세포 주기 중 G1기에서 S기로 진행하는 것을 억제하게 된다. 또 p27^{Kip1}은 세포 간의 유착에 관여한다고 알려져 있어서 p27^{Kip1}의 소실은 세포 간 유착을 약화시켜 암 세포의 전이를 쉽게 할 수 있다고 보고되고 있다.(3,8)

Gom-yo(2)나 DONATO(9,10) 등은 p21^{Waf1/Cip1} p27^{Kip1} 독립 비발현 시 위암의 침범도와 임파관 전이가 많아진 결과를 보고했다. 저자들의 연구에서도 p21^{Waf1/Cip1}은 암의 침범 정도에서 T1-2 경우 23.1% (24/104) 양성, T3-4 경우 6.8% (6/88) 양성으로 침윤이 많을수록 적은 발현을 보였으며(P=0.046), p27^{Kip1}은 암의 침범정도에서 T1-2 경우 40.4% (42/104) 양성, T3-4 경우 13.6% (12/88) 양성으로 침윤이 많을수록 적은 발현을 보였다(P=0.006). 이는 다른 여러 조사와 같은 결과로 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1} 발현은 암의 침범도와 관련이 있음을 알 수 있었다.

Lauren 분류에서 p27^{Kip1}은 미만형에서 91.3% (42/46) 음성 발현되었으며, 장형에서 37.3% (38/102) 양성으로 유의하게 발현되었다(P=0.013). 미만형에서 87.0% (40/46)가 동시 음성 발현되었고, 장형에서 13.7% (14/102)가 동시 양성 발현되었으며 통계적 유의성을 보였다(P=0.040).

세포 주기 조절에 관여하는 단백질의 소실은 암세포의 세포 분열 억제 능력의 소실을 의미하며 암의 급속한 성장과 연관되어 있다. 감소되거나 발현되지 않은 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1}은 강력한 부정적인 예후인자가 될 수 있으며, 많은 종양에서 예후 인자로서 연구되어졌다. 유방암(11), 식도암

(12), 대장암(13), 위암(14,15) 등 여러 종양에서 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1}의 발현 감소 시 부정적인 예후를 나타낸다는 보고가 있다. 위암의 경우도 단독 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1} 낮은 발현 시 암의 침윤이 증가하였고, 임파선 전이가 높으며, 낮은 임상 예후를 나타낸다는 보고가 있다.(14,15) 그러나 Muller 등 (16,17)은 예후 예측인자로서의 가치가 없다고 보고하였다.

Liu 등(4)은 p21^{Waf1/Cip1} p27^{Kip1} 동시 발현과 예후와의 상관 관계를 연구하였고 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1}의 동시 비발현 시 높은 사망률을 결과로 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1}의 동시 비발현은 나쁜 예후인자로서 가치가 있다 보고하였다. 그러나 저자들의 연구에서 생존율을 비교 시 p21^{Waf1/Cip1} (+)/p27^{Kip1} (+)은 p21^{Waf1/Cip1} (+)/p27^{Kip1} (-), 또는 p21^{Waf1/Cip1} (-)/p27^{Kip1} (+) 보다 생존율이 높았으며, p21^{Waf1/Cip1} (-)/p27^{Kip1} (-) 시 생존율이 가장 낮았으나, 통계적인 유의성은 없었다(P=0.118). 이는 p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1} 동시 발현유무와 생존율과의 상관 관계가 없음을 나타내며 많지 않은 다른 연구와 반대된 결과이다.(18)

결 론

결론적으로 위암에서 p21^{Waf1/Cip1} p27^{Kip1} 동시 발현은 예후 예측 인자로서의 가치가 없었다. 또한 여러 세포주기 조절 인자가 관여하였을 때 암의 침범도가 많아지며, 조직학적인 차이를 보일 수는 있으나 생존율과의 상관관계가 있다고 보기는 어렵다는 것을 나타낸다.

REFERENCES

1. Chilosì M, Doglioni C, Magalini A, Inghirami G, Krampera M, Nadali G, Rahal D, Pedron S, Benedetti A, Scardoni M, et al. p21/WAF1 cyclin-kinase inhibitor expression in non-Hodgkin's lymphomas: a potential marker of p53 tumor-suppressor gene function. *Blood* 1996;88:4012-4020.
2. Gomyo Y, Ikeda M, Osaki M, Tatebe S, Tsujitani S, Ikeguchi M, Kaibara N, Ito H. Expression of p21 (waf1/cip1/sdi1), but not p53 protein, is a factor in the survival of patients with advanced gastric carcinoma. *Cancer* 1997;79:2067-2072.
3. Go JH. Expression pattern of p27 protein in primary gastric lymphoma. *Cancer Reserch and Treathmen* 2001;33:318-323.
4. Liu XP, Kawauchi S, Oga A, Suehiro Y, Tsushima K, Tsushima M, Sasaki K. Combined examination of p27, p27 and p53 expression allows precise estimation of prognosis in patients with gastric carcinoma. *Histopathology* 2001;39:603-710.
5. Luo Y, Hurwitz J, Massague J. Cell cycle inhibition by independent CDK and PCNA finding domains in p21^{Cip1}. *Nature* 1995;375:159-161.
6. Macleod KF, Sherry N, Hannon G, Beach D, Tokinol T. p53

- dependent and independent expression of p21 during cell growth differentiation and DNA damage. *Genes Dev* 1995; 9:935-944.
7. Oh WJ, Kim WH, Kang KH, Kim TY, Kim MY, Choi KH. Induction of p21 during ceramide-mediated apoptosis in human hepatocarcinoma cells. *Cancer Lett* 1998;129:215-222.
8. Ponce-Castaneda MV, Lee MH, Latres E, Polyak K, Lacombe L, Montgomery K, Mathew S, Krauter K, Sheinfeld J, Massague J, et al. p27Kip1: Chromosomal mapping to 12p12-12p13.1 and absence of mutations in human tumors. *Cancer Res* 1995;55:1211-1214.
9. Nitti D, Belluco C, Mammano E, Marchet A, Ambrosi A, Mencarelli R, Segato P, Lise M. Low level of p27 protein expression in gastric adenocarcinoma is associated with disease progression and poor outcome. *J Surgical Oncology* 2002; 81:167-176.
10. Jang SJ, Ahn MJ, Paik SS, Kong G, Keum JS, Park YW, Lee JD. Expression of cyclin dependent kinase inhibitor p21 alone and in combination with p27 shows prognostic value in gastric carcinoma. *J Korean Med Sci* 1998;13:369-376.
11. Porter PL, Malone KE, Heagerty PJ, Alexander GM, Gatti LA, Firpo EJ, Daling JR, Roberts JM. Expression of cell cycle regulators p27 and cyclin E, alone and in combination, correlate with survival in young breast cancer patients. *Nature Med* 1997;3:222-225.
12. Shamma A, Doki Y, Tsnjinaka T, Shiozaki H, Inoue M, Yano M. Loss of p27 expression predicts poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 2000;58:152-158.
13. Tenjo T, Toyoda M, Okuda J, Watanabe I, Yamamoto T, Tanaka K. Prognostic significance of p27 protein expression and spontaneous apoptosis in patients with colorectal adenocarcinoma. *Oncology* 2005;58:45-51.
14. Mori M, Mimori K, Shiraiishi T, Tanaka S, Ueo H, Sugimachi K, Akiyoshi T. p27 expression and gastric carcinoma. *Nature Med* 1997;3:593.
15. Ogawa M, Maeda K, Onada N, Chung YS, Sowa M. Loss of p21 expression correlates with disease progression in gastric carcinoma. *Br J Cancer* 1997;75:1617-1620.
16. Muller W, Noguchi T, Wirtz HC, Hommel G, Gabbert HE. Expression of cell cycle regulatory proteins cyclin D1, cyclin E, and their inhibitor p21 in gastric cancer. *J Pathology* 1999; 189:186-193.
17. Muller W, Grabsch H, Takeno S, Noguchi T, Hommel G, Gabbert HE. Prognostic value of the cyclin dependent kinase inhibition p27 in gastric cancer. *Anticancer Res* 2000;20:1787-1792.
18. Craanen ME, Blok P, Top B. Absence of ras gene mutations in early gastric carcinomas. *Gut* 1995;37:78-62.

= Abstract =

Clinical Analysis According to p21^{Waf1/Cip1} and p27^{Kip1} Expression in Gastric Cancer

Sin Sun Kim, M.D., Yong Geun Park, M.D., Kyong Hwa Jun, M.D., Hun Jung, M.D., Gyo Young Song, M.D., Jin Joo Kim, M.D., Hyung Min Chin, M.D., Wook Kim, M.D., Cho Hyun Park, M.D., Seung Man Park, M.D., Keun Woo Lim, M.D., Seung Nam Kim, M.D. and Hae Myung Jeon, M.D.

Department of Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Purpose: The p21^{Waf1/Cip1} protein inhibits the cell cycle by inhibiting the phosphorylation at the G1→S check point, and the p27^{Kip1} protein similarly performs the suppressor function by controlling the p27-mediated G1 arrest. In this study, we analysed the clinical status and survival rates in correlations with p21 and p27 expression patterns in gastric cancer.

Materials and Methods: Between 1993 and 1997, 192 patients who underwent surgeries in Catholic Medical Center were analysed retrospectively in this study. Immunohistochemical staining was performed and if the nuclei of the tumor cells were stained, we assumed those as positive results. Statistical analysis was based on clinicopathological findings and differences in survival rates.

Results: The expression rate of p27 was 28.1% and 15.6% in p21 each. The ratio of T1-2(80.0%) was significantly high in p21 (+), but the ratio of T3-4 (50.6%) was slightly high in p21 (-). There was no statistical significance regarding other factors. The results in p27 was not much different from expression rate of p21 in T-stage. In addition, p27 expression in diffuse type (91.3%) was higher than in intestinal type (62.7%) by Lauren's classification ($P < 0.05$). Also, there was no statistical significance in other factors. In the correlation of p21 and p27, p27 was positive when p21 was positive (53.5%). Conversely, p27 was negative when p21 was negative (76.5%, $p < 0.05$). In the p21 and p27 combination test, there was higher rate of T1-2 (87.5%) in p21 (+)/p27 (+), and higher rate of T3-4 (58.1%) in p21 (-)/p27 (-) ($P < 0.05$). Results showed higher rate of intestinal type (100%) in p21 (+)/p27 (+), and diffuse type (87.0%) was dominant in p21 (-)/p27 (-) ($P < 0.05$) by Lauren's classification. Moreover, there was no statistical significance in the 5-year survival rate in the expression of p21 and p27, and the 5-year survival rate was highest in the case of p21 (+)/p27 (+) without statistical significance.

Conclusion: In our study, p21^{Waf1/Cip1} and p27^{Kip1} expressed similar patterns. The expression of p21^{Waf1/Cip1} and p27^{Kip1} affected the degree of invasiveness of the tumor, and. Combined examination result revealed the correlation of p21^{Waf1/Cip1} and p27^{Kip1} with Lauren's classification and depth of invasion of the tumor. However, we assumed that little difference between the survival rates depending on expression of p21^{Waf1/Cip1} and p27^{Kip1} has limited their value as predictable prognostic indicators. (**J Korean Gastric Cancer Assoc 2006;6:36-42**)

Key Words: Gastric cancer, Immunohistochemical staining, Prognostic factor, p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1}