

식도암에서 MDM2, p53, pRb 발현과 동시적 항암화학방사선요법의 결과

전남대학교 의과대학 방사선종양학교실, 병리학교실*, 혈액종양학교실†

윤미선 · 남택근 · 이재혁* · 조상희† · 송주영 · 안성자 · 정의주† · 정웅기 · 나병식

목 적: 식도암에서 동시적 항암화학방사선치료 전 MDM2, p53, pRb 발현양상이 치료반응 및 생존율 등 치료결과와 연관성이 있는지 알아보고자 하였다.

대상 및 방법: AJCC 병기 I~IVa로 근치적 목적의 동시적 항암화학방사선요법을 받은 51명의 환자를 대상으로 하였다. 방사선치료는 일일 1.8~2.0 Gy씩 원발병소에 중앙값 54 Gy를 시행하였고 항암화학요법은 CDDP/5-FU를 4주 간격으로 4회 시행하고 첫 2회는 방사선치료와 동시에 시행하였다. MDM2, p53, pRb 발현의 검출은 치료 전 내시경하 조직생검을 이용하여 면역조직화학 염색방법을 이용하였다. 단백발현 양성종양세포가 50% 이상인 경우를 고발현군으로 정의하였다.

결 과: 전체 환자의 중앙 추적관찰기간은 26개월이었다. MDM2, p53, pRb 고발현군은 각각 19.6%, 27.5%, 66.7%이었다. 그러나 이들의 발현 정도와 치료반응, 중앙특이 생존율, 전체 생존율 등 모두 유의한 연관성은 없었다. 연령(65세 이하 vs. 초과), 종양의 위치(상부, 중앙부, 하부), 종양의 길이(5 cm 이하 vs. 초과), 병기(I~II vs. III~IVa), MDM2 (저발현 vs. 고발현), p53 (저발현 vs. 고발현), pRb (저발현 vs. 고발현), 병리학적 완전관해여부, 임상적 완전관해여부 등 9개 요인들을 대상으로 중앙특성 생존율에 대한 다변량 분석에서 병리학적 완전관해여부(RR 12.100, $p < 0.001$)와 병기(RR 3.300, $p = 0.028$) 만이 유의한 인자들이었다.

결 론: 본 연구에서 MDM2, p53, pRb의 치료 전 발현양상과 치료결과와 의미있는 연관성은 발견할 수 없었다. 향후 상기 발현인자들을 포함하여 잠재적인 예후인자로서 새로운 다른 발현인자들을 발굴하고 보다 많은 증례 수를 대상으로 추적기간을 보강하여 이들을 재평가하는 연구가 요망된다.

핵심용어: 식도암, 항암화학방사선요법, MDM2, p53, pRb, 면역조직화학염색

서 론

식도암은 진단 당시 식도에만 국한된 예는 20%에 불과하고 대부분 국소적으로 진행된 경우이거나 원격전이를 동반하게 된다.¹⁾ 이렇게 절제 불가능한 식도암에 대한 주된 치료방법으로서 동시적 항암화학방사선요법이 널리 시행되고 있고, 과거 방사선단독치료에 비해 생존율이 크게 향상되었다.^{2,3)} 그러나 동시적 항암화학방사선요법으로도 국소재발률이 45~60%에 이르러 아직도 종양 제어율을 더욱 향상시키는 것이 관건이다.^{2,3)} 최근 동시적 항암화학방

사선요법과 동시적 항암화학 방사선요법 후에 수술을 추가하여 비교하는 전향적 연구에 의하면 두 군간에 전체 생존율의 차이는 없었으나 수술 추가 군에서 무재발기간이 향상되었다고 보고되었다.⁴⁾ 그러나 유도항암화학 방사선요법에 완전관해를 보인 군은 수술의 추가로 생존율의 상승이 없었으며, 수술을 추가함으로써 얻은 생존율의 상승은 주로 부분관해 이하를 보인 환자들로 알려져 있다.⁵⁾ 국소 진행된 식도암의 치료에서 항암화학 방사선요법 후 수술 추가 여부를 결정할 근거로 치료시작 후 일정시점에서 내시경하 조직검사 또는 영상적 평가로 치료반응을 평가해야 하나 이는 전체 종양의 치료반응을 정확히 대변할 수 없는 한계가 있다. 근치적 항암화학방사선요법으로 완전관해를 보일 수 있는 환자를 치료 전 미리 예측할 수 있는 표지자가 있다면 수술의 추가로 인한 합병증 또는 사망을 피하고 불필요한 의료비의 상승을 줄일 수 있다. 따라서 치료반응을 미리 예측할 수 있는 표지자를 발굴하여 이를

이 논문은 2007년 8월 2일 접수하여 2007년 10월 22일 채택되었음.

책임저자: 남택근, 전남대학교 의과대학 방사선종양학교실

Tel: 061)379-7200, Fax: 061)379-7249

E-mail: thnam@chonnam.ac.kr

이 논문은 전남대학교병원 임상의학연구소 학술연구비(CUHRICM-U-2006059)에 의하여 연구되었음.

참고하고 치료 후 반응의 임상적 또는 조직학적 평가를 종합하여 최종적으로 수술 여부를 결정하는 시도가 필요하다.

본 연구에서는 항암화학방사선치료에 종양반응을 미리 예측할 수 있는 잠재적인 표지자로서 MDM2, p53, pRb를 선택하였다. MDM2는 murine double minute 2 종양유전자의 산물로 wild-type 또는 mutant p53과 강하게 결합하고,⁶⁾ p53을 핵내에서 세포질로 끌어내 proteasome에 의해 분해되게 한다.⁷⁾ 또한 MDM2는 pRb와도 결합하여 pRb의 세포 성장조절기능을 p53에 의존하지 않고 억제한다고 알려져 있다.⁸⁾ 여러 종양에서 이러한 MDM2의 과발현은 불량한 예후를 보인다고 알려져 있다.^{9~11)} p53은 DNA 손상세포들의 고사를 야기하는 유전자들의 발현을 활성화시키고,¹²⁾ pRb는 E2F와 결합하여 G1 arrest를 야기함으로써 세포주기를 조절한다.¹³⁾ 식도암에서도 p53의 돌연변이, 과발현, 또는 pRb 유전자나 단백질 발현의 소실 등이 보고되었다.^{14~16)} 이에 저자는 식도암에서 동시적 항암화학방사선치료전의 내시경하 생검조직을 면역조직화학염색을 시행하여 MDM2, p53, pRb의 발현정도를 평가하고, 이들의 발현정도와 치료 반응, 종양재발률, 생존율 등과의 연관성을 분석하여 이들이 치료반응과 예후를 예측할 수 있는 표지자가 될 수 있는지 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 환자 대상 및 병기 결정

2004년 5월부터 2006년 5월까지 140명의 식도암 환자가 방사선치료로 의뢰되었다. 이 중 수술 후 방사선치료, 이중원발암, 방사선 단독치료, 고식적 목적의 방사선치료 등의 환자를 제외하고, 동시적 항암화학요법 2회 이상과 원발암의 방사선량이 50 Gy 이상을 시행받은 환자로서 American Joint Committee on Cancer 병기¹⁷⁾ I~IVa인 환자이며 방사선치료 전과 치료 후 조직검사가 가능하였던 총 51명의 환자를 대상으로 하였다. 병기 결정을 위해 문진, 이학적 검사, 전 혈구검사, 상부위장관내시경 ± 내시경초음파, 흉부 및 복부 전산화단층촬영(CT), 필요 시 PET 등을 시행하였다.

2. 방사선치료

선형가속기 6- 또는 10-MV 엑스선을 이용하여 일일 1.8~2.0 Gy씩 주 5회 총 54 Gy를 원발병소에, 경부림프절이나 쇄골 상부림프절에는 병소의 크기에 따라 추가조사를 시행하였다. 방사선치료 시작 시에는 전후 이문 조사야로 CT 소견과 바륨 조영상 종양의 크기를 참고하여 상하 5 cm, 좌우 2 cm 여유를 두었다. 36~40 Gy 시점에서 치료계

획용 흉부 CT를 시행하여 3차원 입체조형방사선치료로써 육안적 종양체적으로부터 상하 3 cm 전후 및 좌우 2 cm 여유의 임상적 표적체적에 14~18 Gy 추가하였다.

3. 항암화학요법

골수와 간, 신장기능이 적절한 환자를 대상으로 Cisplatin (75 mg/m²)을 매 주기 첫 날에, 5-fluorouracil (1000 mg/m²)을 매 주기 제 1~4 일에 정주하고 이를 4주 간격으로 4회 시행하며 첫 2회는 방사선치료와 병행하였다.

4. 면역조직화학염색

내시경으로 획득된 생검조직은 파라핀 포매되었고 각 종례 별로 4개의 4 μm 두께의 조직절편을 면역염색과 음성대조군을 위하여 준비하였다. 각 절편들은 염색 시 항원 노출을 향상시키기 위하여 파라핀을 제거한 후 citric acid buffer (10 mmol/l)가 담긴 용기에 넣어 마이크로웨이브 오븐(700 W)에 12 분간 처치하였다. 내인성 peroxidase 반응을 차단하기 위해 메탄올과 3% 과산화수소수에 30분간 처리한 다음 조직항원과 항체간의 비특이적 결합을 억제하기 위해 blocking agent로 20분간 처리하였다. 각 슬라이드는 human MDM2 (clone IF2, diluted 1 : 100, Oncogene Research Products, Cambridge, MA, USA), p53 (BP53-12, diluted 1 : 50, Novocastra Laboratories Ltd., Newcastle, UK), human pRb (clone Rb1, diluted 1 : 40, DACO, Glostrup, Denmark)에 대한 단일클론항체를 각각 사용하여 발현을 검색하였고, 음성대조군에는 비특이적 mouse IgG1을 사용하였다. MDM2, p53, pRb에 대한 양성 대조군은 각각 결장암 조직, 식도암 조직, 정상 식도점막을 이용하였다. 이후 완충액(phosphate-buffered saline)으로 세척한 다음 2차 항체를 반응시키고, hematoxylin으로 대조염색을 시행하여 광학현미경으로 관찰하였다.

5. 염색결과 판독

각 슬라이드는 200배율로 관찰하였으며, 면역염색 정도는 양성반응의 빈도와 강도를 종합하여 판정하였다. pRB 염색의 강도는 no staining=0; less intense than normal epithelium =1; same intensity as normal epithelium=2; and more intense than normal epithelium=3으로 규정하였고 2와 3을 양성세포로 간주하였다. MDM2와 p53 양성의 기준은 MDM2와 p53이 강하게 발현된 양성대조군 종양세포와 비교하여 같은 정도로 염색이 된 경우를 양성으로 간주하였다. 염색결과는 이러한 양성 종양세포가 ≤10%인 경우 grade 1, 10%~50%인 경우 grade 2, >50%인 경우는 grade 3으로 분류하였다.

6. 종양반응의 평가

병리학적 종양반응을 평가하기 위하여 방사선치료종료 1개월 전후에 내시경하 조직검사를 시행하고, 임상적 종양반응은 방사선치료종료 1개월 전후에 흉부 CT와 식도조영술을 시행하여 평가하였다. 이후 3개월 간격으로 CT 및 식도조영술을 시행하고, 임상적으로 진행성 병변이나 재발의 의심될 때 조직검사나 CT를 시행하였다. 조직검사상 종양세포가 보이지 않으면 병리학적 완전관해, 나머지를 비 완전관해로 구분하였고, CT상 종양이 소실되었거나 식도 벽이 방사선치료변화만으로 판독되고 정상식이 가능한 경우를 임상적 완전관해, 나머지를 비 완전관해로 구분하였다.

7. 통계

빈도분석에 Chi-square test와 Fisher's exact probability test를 이용하였고, 생존율은 Kaplan-Meier method, 각 구간 생존율의 비교는 log-rank test를 이용하였다. 다변량 분석은 Cox-proportional hazard model을 이용하였고, 모든 통계적 기법은 SPSS 14.0을 이용하였다. p-value가 0.05 보다 작을 때 통계적인 유의성을 갖는다고 간주하였다.

결 과

1. 환자 특성 및 생존율

환자의 주요 특성이 Table 1에 기술되어 있으며, 대부분의 환자가 남성이었고 모든 환자에서 편평상피 세포암이었다. 31예(60.8%)에서 원발병소가 중상부 식도에 위치하였고, 38예(74.5%)가 T3 병기였으며, 33예(58.9%)가 AJCC

Table 1. Patient Characteristics

Characteristics	Patients (%)
Age (years)	50~83 (median : 65)
Sex	
Male : Female	50 : 1
Tumor location	
Upper	12 (23.5)
Middle	31 (60.8)
Lower	8 (15.7)
Tumor length (cm) Stage	2~12 (median: 6)
I	2 (3.9)
II	30 (58.8)
III	12 (23.5)
IVa	7 (13.7)
RT* dose (Gy)	50~60 (median : 54)
Chemotherapy (cycles)	2~6 (median : 2)

*radiotherapy

병기 II 이었다. 19예(37.3%)에서 50 Gy 이상, 54 Gy 미만의 방사선량을 받았고, 35예(68.6%)가 2~3회의 항암화학요법요법을 받았는데, 이는 모두 동시적 항암화학요법에 의한 식도 점막염의 악화와 전신 쇠약감으로 인해 계획된 치료를 완료하지 못하였다. 반면 12예(23.5%)는 5회 이상의 항암화학요법을 받았는데 이들은 방사선치료후의 반응이 비완전 관해이면서 비교적 역할수행 능이 양호한 경우이었다. 전체 환자의 중앙추적관찰기간은 26개월이었고, 연구종료시점에 51명 중 29명이 사망하였다. 사망원인으로 18예는 진행성 또는 재발성 병변으로 사망하였고, 7예는 동반된 내과적 질환으로, 3예는 구제수술 후 합병증으로, 나머지 1예는 뇌혈관질환으로 사망하였다. 전체환자의 1년 및 2년 생존율, 중앙생존기간은 각각 66.7%, 37.4%, 17개월이었다. 전체환자의 1년 및 2년 종양특성 생존율은 각각 78.5%, 55.2%이었으나 중앙생존기간은 아직 도달하지 않았다. 병기 별 종양특성 2년 생존율은 병기 I, II, III, IVa에서 각각 100%, 60.4%, 60.6%, 14.3%이었다(p=0.031).

병리학적 완전관해는 29예(56.9%)이었고, 병리학적 완전관해에 따른 종양특성 2년 생존율은 완전관해군과 비 완전관해군에서 각각 76.0%, 30.1%이었다(p<0.001, Fig. 1). 입

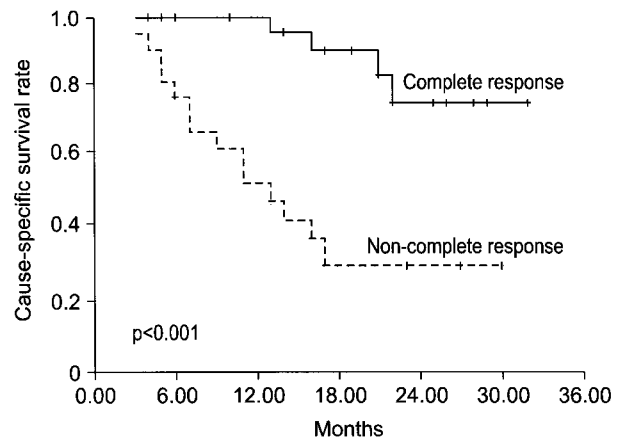


Fig. 1. Cause-specific survival curves according to the pathological response.

Table 2. Distribution of MDM2, p53 and pRb Expression (No. of patients)

IHC* Grade	0	1	2	Total
MDM2	19	22	10	51
p53	30	7	14	51
pRb	2	15	34	51

*immunohistochemical staining

상적 완전관해는 25예(49.0%)이었고, 임상적 완전관해에 따른 종양특성 2년 생존율은 완전관해군과 비 완전관해군에서 각각 81.2%, 32.2% 이었다($p=0.001$). 연령(65세 이하 vs.

초과), 종양의 길이(5 cm 이하 vs. 초과), 종양의 위치(상부, 중앙부, 하부)에 따른 종양특성 2년 생존율은 차이가 없었다. 국소주변 종양재발률은 23예(45.1%)이었고, 원격전이

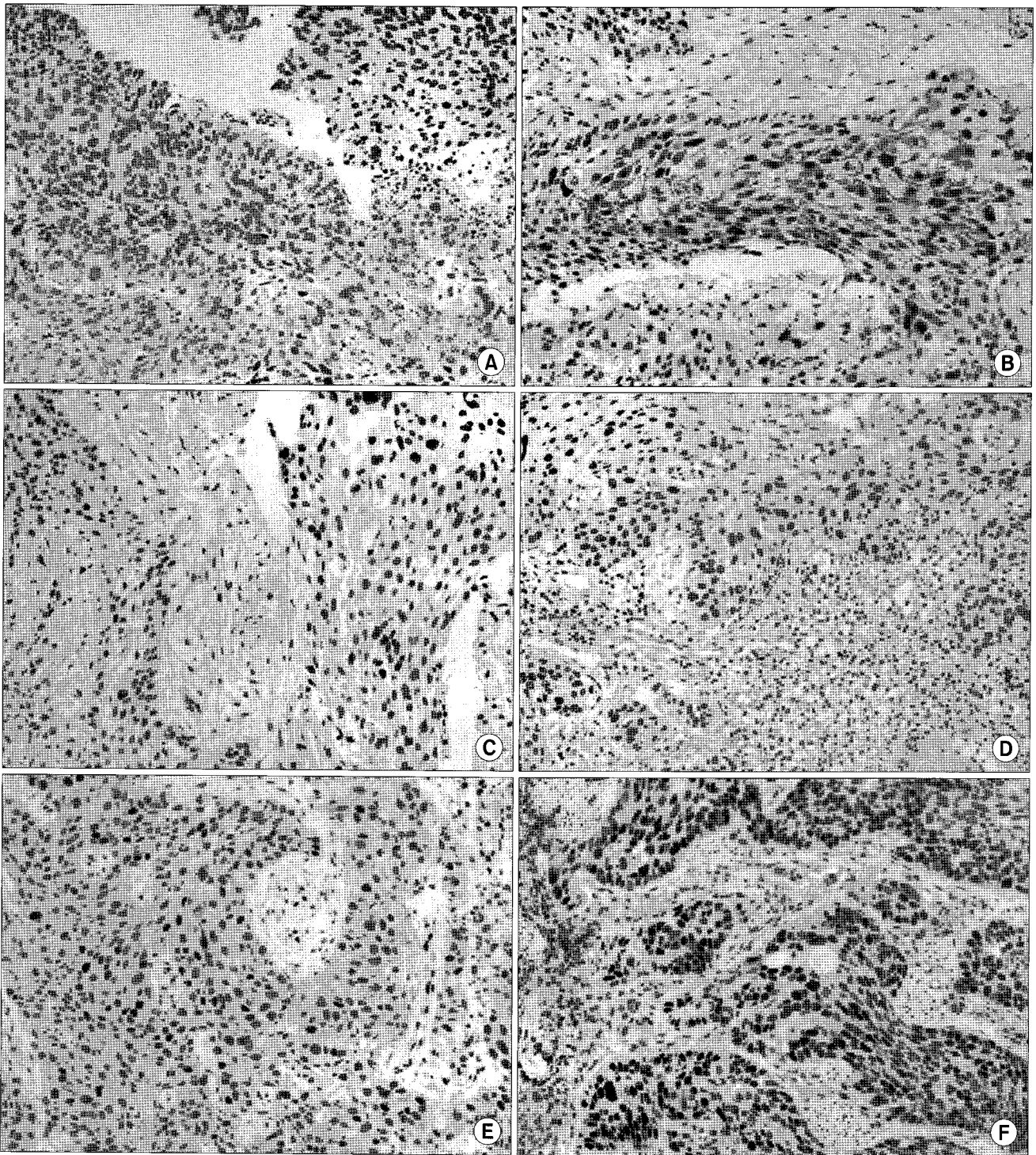


Fig. 2. Immunohistochemical staining of low and high MDM2 expression (A, B), low and high p53 expression (C, D), low and high pRb expression (E, F) ($\times 200$).

는 5예(9.8%)에서 발생하였다. 구제치료는 17예에서 시행되었고, 이중 식도절제술 9예, 2차 약제에 의한 항암화학약물요법 5예, 스텐트시술 2예, 위루술 1예이었다.

2. 면역조직화학염색결과와 임상적 의의

전체 환자에서 면역조직화학 염색 정도에 따른 각 군별 증례 수가 통계분석상 적절한 표본수가 되기 위하여 면역염색이 grade 0과 grade 1인 군을 합하여 저발현군으로, grade 2군을 고발현군으로 재 분류하여 분석하였다. MDM2 고발현군은 10예(19.6%)에서, p53 고발현군은 14예(27.5%)에서, 고발현군은 34예(66.7%)에서 나타났다(Table 2, Fig. 2). 이들의 발현양상과 임상적 의의에 대한 분석으로서 병기(I+II vs. III+IVa), 병리학적 완전관해 여부, 임상적 완전관해 여부, 국소주변종양재발률, 종양특성 생존율에 따른 결과는 Table 3과 같으나 이들 발현양상에 따른 각 요인들의 차이는 모두 유의하지 않았다. MDM2 저발현군과 고발현군의 종양특성 2년 생존율은 각각 51.2% 대 78.8%로 유의한 차이는 없었다($p=0.422$). p53 저발현군과 고발현군의 종양특성 2년 생존율은 각각 51.1% 대 72.4%로 역시 유의한 차이는 없었다($p=0.377$). pRb 저발현군과 고발현군의 종양특성 2년 생존율은 각각 61.6% 대 50.6%로 유의한 차이는 없었다($p=0.709$). Cox proportional hazards model을 이용하여 연령(65세 이하 vs. 초과), 종양의 위치(상부, 중상부, 하부), 종양의 길이(5 cm 이하 vs. 초과), 병기(I~II vs. III~IVa), MDM2 (저발현 vs. 고발현), p53 (저발현 vs. 고발현), pRb (저발현 vs. 고발현), 병리학적 완전관해여부, 임상적 완전관해여부 등 9개 요인들을 대상으로 종양특성 생존율에 대

한 다변량 분석에서 병리학적 완전관해여부(RR 12.100, $p < 0.001$, Fig. 1)와 병기(RR 3.300, $p=0.028$)만이 유의한 인자들이었다.

고안 및 결론

본 연구에서 MDM2, p53, pRb의 면역조직화학염색의 결과, 치료반응, 국소주변 재발률, 생존율 등과 모두 유의한 상관관계는 찾을 수 없었다. 결과에 제시되지는 않았으나 면역염색이 grade 0인군을 저발현으로, grade 1+2인군을 고발현군으로 재 분류하여 분석하였으나 역시 치료결과와의 의미 있는 상관관계는 보이지 않았고, 면역염색을 grade 0, 1, 2 등 세 군으로 분류하여 분석하여도 유의한 연관성은 찾을 수 없었다. 이는 내시경하 치료 전 조직생검이 종양 전체의 생물학적 특성을 대변하지 못할 수 있는 가능성과 전체 증례의 부족, 종양 및 치료 특성의 비균일성, 단기간의 추적관찰 기간 등 여러 요인이 복합적으로 작용되었을 것으로 생각된다. 본 연구에서 치료 후 내시경 하 병리학적 완전관해율은 56.9%로 타 문헌과 유사하였으며,¹⁸⁻²⁰ Lim 등²⁰의 보고와 같이 내시경하 병리학적 완전관해 여부가 종양특성 생존율에 가장 큰 영향을 미치는 인자로 나타났다. 그러나 유도 항암화학방사선요법 후 수술을 시행한 문헌들^{18,19}은 수술 직전 내시경하 생검과 수술조직과의 완전관해 일치율이 50%~60% 정도에 불과하다고 하여 내시경하 조직검사로는 종양의 치료반응을 정확히 대변할 수 없다고 하였다.

근치적 목적의 동시적 항암화학방사선요법의 치료결과

Table 3. Clinicopathologic Characteristics of MDM2, p53 and pRb Expression

Variable	MDM2		p-value	p53		p-value	pRb		p-value
	Low	High		Low	High		Low	High	
Stage									
I+II	26	6	1.000	23	9	0.889	11	21	0.838
III+IVa	15	4		14	5		6	13	
pCR*	25	4	0.295	21	8	0.980	10	19	0.842
Non-CR	16	6		16	6		7	15	
cCR [†]	22	3	0.566	19	6	0.588	9	16	0.692
Non-CR	19	7		18	8		8	18	
LRF [‡]									
No	23	5	0.739	19	9	0.407	9	19	0.842
Yes	18	5		18	5		8	15	
2YCSS [§]	51.2	78.8	0.422	51.1%	72.4%	0.377	61.6%	50.6%	0.709

*pathologically complete response, [†]clinically complete response, [‡]locoregional failure, [§]2-year cause-specific survival

와 MDM2의 발현과의 연관성에 대한 보고는 아직 없다. MDM2는 murine double minute 2 종양유전자의 산물로 염색체 12q13-14에 위치하고 이의 과증폭은 MDM2의 과발현을 야기한다.²¹⁻²³ 이는 wild-type 또는 mutant p53과 강하게 결합하고,⁶ p53을 핵 내에서 세포질로 끌어내 proteasome에 의해 분해되게 한다.⁷ 또한 MDM2는 pRb와도 결합하여 pRb의 세포성장조절 기능을 억제한다고 알려져 있다.⁸ Meng 등²⁴은 MDM2 과발현 세포주가 그렇지 않은 세포에 비해 p53을 발현하는 아데노바이러스 감염에 의한 성장억제에 더 저항성을 보인다고 하였다. 여러 종양에서 이러한 MDM2의 과발현은 불량한 예후를 보인다고 알려져 있다. Ikeguchi 등⁹은 식도암으로 수술 받은 환자를 대상으로 한 연구에서 MDM2 과발현이 32.4%로 보고하고, 특히 수술 후 항암화학방사선요법을 받은 환자 중 MDM2 과발현을 보인 군의 무병생존율이 유의하게 낮았음을 보고하였다. Shimada 등¹⁰은 식도암으로 수술을 받은 환자 중 19%에서 MDM2 유전자가 과증폭되었고 이들의 생존기간이 더 짧았다고 보고하였다. Suzuki 등¹¹은 MDM2 양성 유방암환자가 음성환자에 비해 doxorubicine에 유의하게 저항성을 보인다고 하였다. Soslow 등²⁵은 MDM2의 발현이 주로 wild-type p53 과발현 증례에서 보였고, mutant p53 증례에서는 MDM2의 발현이 거의 없었다고 하여 p53 기능소실에 MDM2의 역할을 강조하였다. 본 연구에서는 MDM2가 과발현을 보인 군은 10예(16.9%) 이었으나, 치료반응이나 재발률, 생존율 등에 있어서 이들의 임상적인 의의는 찾을 수 없었다.

정상적인 p53은 손상된 DNA에 반응하여 DNA 복구나 고사를 유도하나 이의 돌연변이는 항암화학제나 방사선치료에 저항성을 나타낸다고 알려져 있다.^{26~28} Beardsmore 등²⁶은 수술 전 항암화학방사선요법을 받은 환자에서 세포 증식 능이 높은 군에서 완전관해율이 높았으며, p53 면역염색이 10% 이상인 양성군에서 잔류종양이 많았음을 보고하여 functional p53이 치료반응에 중요한 인자라고 하였다. Seitz 등²⁷은 항암화학방사선요법을 받은 식도암 환자에서 p53 과발현군의 완전관해율이 유의하게 낮았다고 보고하였다. Shimoji 등²⁸은 수술 전 방사선치료를 받은 환자를 대상으로 한 연구에서 p53 발현군에서 방사선치료에 저항성을 더 보였다고 보고하였다. 그러나 Gibson 등²⁹은 수술 전 항암화학방사선치료를 받은 환자에서 병리학적 완전관해와 함께, 수술 전 조직검사의 p53 돌연변이의 존재가 오히려 양호한 생존율과 연관이 있었다고 보고하였고, 이를 p53의 codon 72 polymorphic variant가 고사능(apoptotic ability)을 증가시킬 수 있다는 연구³⁰와 연관 지어 설명하였다. 한편, 다른 문헌들은 식도암의 항암화학방사선치료에서

p53 돌연변이의 존재가 예후를 반영하지 못한다고 보고하였다.^{31,32} 본 연구에서는 p53의 발현에 따른 임상적인 의의는 찾을 수 없었다. 이러한 연관성의 부재는 증례의 부족일 수도 있으나 p53 발현상태를 면역염색이 정확히 대변하지 못함에 기인할 수도 있다. 즉 p53 양성이 돌연변이형 뿐만 아니라 세포환경의 변화로 자연형도 염색되었을 가능성도 있다. 반대로 p53 음성은 유전자 결손, 전사 장애, 불안정 돌연변이 등과 관련될 수 있다. 따라서 Ribeiro 등³³은 면역염색과 함께 topographic genotyping을 병행하여, 수술 전 항암화학방사선요법을 받은 환자에서 면역염색상으로는 p53 발현의 임상적인 의의가 없었으나 p53 유전자서열 분석에서는 p53 돌연변이 환자에서 잔류종양이 많았다고 하여 면역조직화학염색보다는 유전자 분석이 더 신뢰할 수 있다고 주장하였다. 한편, RB gene의 소실 또는 pRb 발현의 부재가 식도암에서도 관찰됨이 보고되었다.¹⁴ 그러나 이의 발현 양상이 임상적 의의를 갖는지에 대해서는 역시 논란이 많다.^{9,34,35} 본 연구에서도 pRb의 발현 양상에 대한 의의는 찾을 수 없었다.

결론적으로 본 연구에서 MDM2, p53, pRb의 면역염색의 결과 염색의 정도를 여러 기준으로 분류하여 분석하였으나 치료반응, 국소주변 재발률, 생존율 등과 모두 유의한 상관관계는 찾을 수 없었다. 이들의 발현 정도와 연령, 종양의 위치, 종양의 길이, 병기, 병리학적 완전관해여부, 임상적 완전관해여부 등을 대상으로 한 다변량 분석에서 병리학적 완전관해여부와 병기 만이 유의한 인자들로 나타남으로써 결국 병기만이 치료 전의 유일한 예후인자이었다. 향후 본 연구에서의 발현인자들을 포함하여 잠재적인 예후인자로서 새로운 다른 발현인자들을 발굴하고 보다 많은 증례 수를 대상으로 추적기간을 보강하여 이들을 재평가하는 연구가 요망된다.

참 고 문 헌

1. Pearson JG. The present status and future potential of radiotherapy in the management of esophageal cancer. *Cancer* 1977;39(2 Suppl):882-890
2. Al-Sarraf M, Martz K, Herskovic A, et al. Progress report of combined chemoradiotherapy versus radiotherapy alone in patients with esophageal cancer: an intergroup study. *J Clin Oncol* 1997;15:277-284
3. Araujo CM, Souhami L, Gil RA, et al. A randomized trial comparing radiation therapy versus concomitant radiation therapy and chemotherapy in carcinoma of the thoracic esophagus. *Cancer* 1991;67:2258-2261
4. Stahl M, Stuschke M, Lehmann N, et al. Chemoradiation

- with and without surgery in patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the esophagus. *J Clin Oncol* 2005; 23:2310-2317
5. **Hennequin C, Gayet B, Sauvanet A, et al.** Impact on survival of surgery after concomitant chemoradiotherapy for locally advanced cancers of the esophagus. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;49:657-664
 6. **Momand J, Zambetti GP, Olson DC, George D, Levine AJ.** The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. *Cell* 1992;69:1237-1245
 7. **Geyer RK, Yu ZK, Maki CG.** The MDM2 RING-finger domain is required to promote p53 nuclear export. *Nat Cell Biol* 2000;2:569-573
 8. **Xiao ZX, Chen J, Levine AJ, et al.** Interaction between the retinoblastoma protein and the oncoprotein MDM2. *Nature* 1995;375:694-698
 9. **Ikeguchi M, Ueda T, Fukuda K, Yamaguchi K, Tsujitani S, Kaibara N.** Expression of the murine double minute gene 2 oncoprotein in esophageal squamous cell carcinoma as a novel marker for lack of response to chemoradiotreatment. *Am J Clin Oncol* 2002;25:454-459
 10. **Shimada Y, Imamura M, Shibagaki I, et al.** Genetic alterations in patients with esophageal cancer with short- and long-term survival rates after curative esophagectomy. *Ann Surg* 1997;226:162-168
 11. **Suzuki A, Toi M, Yamamoto Y, Saji S, Muta M, Tomimaga T.** Role of MDM2 overexpression in doxorubicin resistance of breast carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1998;89:221-227
 12. **Levine AJ.** p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997;88:323-331
 13. **Weinberg RA.** The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* 1995;81:323-330
 14. **Boynton RF, Huang Y, Blount PL, et al.** Frequent loss of heterozygosity at the retinoblastoma locus in human esophageal cancers. *Cancer Res* 1991;51:5766-5769
 15. **Hollstein MC, Metcalf RA, Welsh JA, Montesano R, Harris CC.** Frequent mutation of the p53 gene in human esophageal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:9958-9961
 16. **Wagata T, Shibagaki I, Imamura M, et al.** Loss of 17p, mutation of the p53 gene, and overexpression of p53 protein in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer Res* 1993; 53:846-850
 17. **American Joint Committee on Cancer.** Manual for staging of cancer. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Co. 2002: 57-61
 18. **Bates BA, Detterbeck FC, Bernard SA, Qaqish BF, Tepper JE.** Concurrent radiation therapy and chemotherapy followed by esophagectomy for localized esophageal carcinoma. *J Clin Oncol* 1996;14:156-163
 19. **Kim JH, Choi EK, Kim SB, et al.** Preoperative hyperfractionated radiotherapy with concurrent chemotherapy in resectable esophageal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 50:1-12
 20. **Lim JT, Truong PT, Berthelet E, et al.** Endoscopic response predicts for survival and organ preservation after primary chemoradiotherapy for esophageal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;57:1328-1335
 21. **Barak Y, Juven T, Haffner R, Oren M.** mdm2 expression is induced by wild type p53 activity. *EMBO J* 1993;12:461-468
 22. **Landers JE, Haines DS, Strauss JF 3rd, George DL.** Enhanced translation: a novel mechanism of mdm2 oncogene overexpression identified in human tumor cells. *Oncogene* 1994;9:2745-2750
 23. **Leach FS, Tokino T, Meltzer P, et al.** p53 Mutation and MDM2 amplification in human soft tissue sarcomas. *Cancer Res* 1993;53(10 Suppl):2231-2234
 24. **Meng RD, Shih H, Prabhu NS, George DL, el-Deiry WS.** Bypass of abnormal MDM2 inhibition of p53-dependent growth suppression. *Clin Cancer Res* 1998;4:251-259
 25. **Soslow RA, Altorki NK, Yang G, Xie D, Yang CS.** mdm-2 expression correlates with wild-type p53 status in esophageal adenocarcinoma. *Mod Pathol* 1999;12:580-586
 26. **Beardsmore DM, Verbeke CS, Davies CL, Guillou PJ, Clark GW.** Apoptotic and proliferative indexes in esophageal cancer: predictors of response to neoadjuvant therapy [corrected]. *J Gastrointest Surg* 2003;7:77-86 discussion 86-87
 27. **Seitz JF, Perrier H, Monges G, Giovannini M, Gouvernet J.** Multivariate analysis of the prognostic and predictive factors of response to concomitant radiochemotherapy in epidermoid cancers of the esophagus. Value of immunodetection of protein p53. *Gastroenterol Clin Biol* 1995;19:465-474
 28. **Shimaji H, Miyazato H, Nakachi A, et al.** Expression of p53, bcl-2, and bax as predictors of response to radiotherapy in esophageal cancer. *Dis Esophagus* 2000;13:185-190
 29. **Gibson MK, Abraham SC, Wu TT, et al.** Epidermal growth factor receptor, p53 mutation, and pathological response predict survival in patients with locally advanced esophageal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Clin Cancer Res* 2003;9:6461-6468
 30. **Dumont P, Leu JI, Della Pietra AC 3rd, George DL, Murphy M.** The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat Genet* 2003;33:357-365
 31. **Ito T, Kaneko K, Makino R, et al.** Prognostic value of p53 mutations in patients with locally advanced esophageal carcinoma treated with definitive chemoradiotherapy. *J Gastroenterol* 2001;36:303-311
 32. **Puglisi F, Di Loreto C, Panizzo R, et al.** Expression of p53 and bcl-2 and response to preoperative chemotherapy and radiotherapy for locally advanced squamous cell carcinoma of the oesophagus. *J Clin Pathol* 1996;49:456-459
 33. **Ribeiro U Jr, Finkelstein SD, Safatle-Ribeiro AV, et al.** p53 sequence analysis predicts treatment response and outcome of patients with esophageal carcinoma. *Cancer* 1998; 83:7-18

34. Garcia del Muro X, Condom E, Vignes F, et al. p53 and p21 Expression levels predict organ preservation and survival in invasive bladder carcinoma treated with a combined-modality approach. *Cancer* 2004;100:1859-1867
35. Hur HK, Rha SH, Hong SH. Expression pattern of the Rb protein and its correlation with prognosis in primary lung cancer. *Korean J Pathol* 1997;31:152-161

Abstract

MDM2, p53 and pRb Expression Prior to Definitive Chemoradiotherapy in Esophageal Carcinoma

Mee Sun Yoon, M.D., Taek Keun Nam, M.D., Jae Hyuk Lee, M.D.*, Sang Hee Cho, M.D.[†], Ju Young Song, M.D., Sung Ja Ahn, M.D., Ik Joo Chung, M.D.[†], Woong Ki Chung, M.D. and Byung Sik Nah, M.D.

Departments of Radiation Oncology, *Pathology, [†]Internal Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

Purpose: This study evaluated the pretreatment expression patterns of MDM2, p53, and pRb proteins to determine if the expression patterns could predict the outcome of concurrent chemoradiotherapy (CCRT) for esophageal squamous cell carcinoma and aid in the decisions for the selection of treatment modalities.

Materials and Methods: Fifty-one patients that were treated with definitive chemoradiotherapy for stage I~IVa esophageal squamous cell carcinoma were selected for this study. Radiotherapy was administered with daily 1.8~2 Gy fractions up to a median dose of 54 Gy for primary tumors, and with four cycles of cisplatin/5-fluorouracil chemotherapy that was administered every 4 weeks, the first two cycles of which were administered concurrently with radiotherapy. Expression of MDM2, p53, and pRb was investigated by immunohistochemical analysis using pretreatment biopsy specimens.

Results: MDM2, p53, and pRb were detected with high immunoreactivity in 19.6%, 27.5%, and 66.7% of the patients, respectively. However, there was no significant correlation between expression of these factors and clinical outcome. By the use of multivariate analysis with nine covariates—age, tumor location, tumor length, stage, pathological response, clinical response, MDM2 expression, p53 expression, and pRb expression, only pathological response and stage were significant factors for cause-specific survival.

Conclusion: Expression of MDM2, p53, and pRb was not found to be clinically significant for predicting outcomes after CCRT in this study. Further studies with a larger patient population and longer follow-up periods are needed to re-evaluate the expression pattern and to identify new predictors for CCRT response.

Key Words: Esophageal neoplasms, Chemoradiotherapy, MDM2, p53, pRb, Immunohistochemistry