

## 비인강암에서 예후인자로서의 EGFR, p53, Cox-2, Bcl-2 단백질발현

가톨릭대학교 의과대학 방사선종양학교실\*, 병리학교실†

채수민\* · 이연수† · 김연실\* · 노광원\* · 정수미\* · 윤세철\* · 장홍석\*

**목적:** 비인강암증 환자들의 종양조직으로부터 EGFR, p53, Cox-2, Bcl-2 단백질발현정도를 측정하고 임상양상, 치료 성적과의 관련성을 조사하여 이들 단백질이 치료에 대한 반응 및 예후를 예측할 수 있는 생물학적 표지자(biomarker)로 이용할 수 있는지 알아보려고 하였다.

**대상 및 방법:** 1988년 3월 1일부터 2002년 8월 15일까지 성모병원과 강남성모병원에서 비인강암으로 진단받고 근치적 방사선치료와 항암치료를 받았던 환자 104명 중 파라핀 블록이 보존되어 있는 75명을 대상으로 하여 후향적 분석을 시행하였다. 병기는 2002년에 개정된 AJCC로 재분류하였으며, 대상환자의 Hematoxylin-Eosin 염색 슬라이드를 두경부 병리 전문의사가 재검토하여 WHO 분류에 맞게 환자군을 분류하였으며 역형성(anaplasia) 유무, 유사분열(mitosis) 빈도 측정 등 병리조직학적 소견을 확인하였다. EGFR, p53, Cox-2, Bcl-2 단백질발현 정도를 면역조직화학염색을 통해 측정하였으며 이들 단백질의 발현정도와 임상병기, 치료성적과의 관련성을 조사하였다.

**결과:** 전체 104명 환자의 추적기간은 5.5~201개월이었고 3년 생존율은 68.7%, 5년 생존율은 53.5%, 중앙생존기간은 85.5개월이었으며 3년 무병생존율은 68.2%, 5년 무병생존율은 51.5%, 중앙무병생존기간은 61.1개월이었다. WHO 분류 2와 3 종양은 완전관해율이 높아 항암방사선치료(chemoradiotherapy)에 대한 반응성이 높은 경향을 보였으며(p=0.075), 상대적으로 진단당시 림프절전이율이 높았고, 원격전이율 확률이 높았다. p53은 발현 정도가 증가함에 따라 생존율이 떨어지고 유사분열은 증가하였다. Bcl-2 발현이 증가함에 따라 재발률이 떨어지는 경향을 보였으며, WHO 분류와 연관성을 보였다. Cox-2의 발현이 증가함에 따라 생존율이 떨어지고, 림프절치료를 낮은 것으로 나타났다. 그러나 EGFR은 어떤 인자와도 상관관계를 보이지 않았다.

**결론:** 비인강암에서 치료 후 예후를 예측할 수 있는 생물학적 표지자의 가능성을 가진 것으로 보고되고 있는 Cox-2, p53, Bcl-2, EGFR에 대한 연구결과 Cox-2, p53, Bcl-2의 발현정도는 항암방사선치료후 반응률, 생존율, 재발률과 연관을 보여 향후 치료결과를 예측할 수 있는 예후인자로서의 이용가능성이 있음을 알 수 있었으며 보다 실용적인 생물학적 표지자의 규명을 위해서 향후 보다 많은 환자를 대상으로 한 전향적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

핵심용어: 비인강암, EGFR, p53, Cox-2, Bcl-2

### 서 론

비인강암은 드문 종양 중 하나로, 인종 및 지역에 따라 발생빈도의 차이를 보이는데, 대부분의 나라에서 인구 10만분의 1보다 적은 빈도를 보인다.<sup>1)</sup> 우리나라에서는 전체 종양의 1% 미만을 차지하며, 두경부종양중에서는 7.2~23.1%의 빈도를 보이고 있다.<sup>2,3)</sup> 비인강암은 해부학적 특성

상 근치적 절제가 불가능하여 다른 두경부종양과 달리 수술보다는 방사선치료가 주된 치료로 사용되어 왔다.<sup>3,4)</sup>

비인강암의 치료성적을 보면 항암방사선동시병행치료를 시행한, Al Sarraf 등의 연구와 Lin 등의 연구에서 5년 생존율이 70% 정도로 나타나고 있으며, 우리나라에서 시행된 연구에서도 5년 생존율이 47.4~67.2% 정도를 보이고 있어서, 다른 두경부종양에 비해서 비교적 높은 치료율을 보인다고 할 수 있다.<sup>3,5~11)</sup>

그러나, 이러한 항암방사선 치료는 치료에 대한 반응을 치료 시작 전에 예측할 수 없다는 문제점을 가지고 있다. 치료효과를 판정하는 데 있어서, 기존 영상장비인 전산화 단층촬영보다 우월하다고 평가받고 있는 FDG-PET scan조

이 논문은 2007년 1월 23일 접수하여 2007년 3월 9일 채택되었음.  
책임저자: 김연실, 강남성모병원 방사선종양학과  
Tel: 02)590-1566, Fax: 02)3476-1365  
E-mail: yeonkim7@catholic.ac.kr

차도 항암방사선병행치료 도중 수반되는 염증반응으로 인해 FDG의 섭취가 비특이적으로 증가하기 때문에 치료 후 조기에 반응을 예측할 수 없으며, 적어도 항암방사선병행 치료 후 수개월이 경과해야만 잔존 종양의 유무를 확인할 수 있는 제한점이 있다.<sup>12-17)</sup> 그러므로 비인강암에서 치료 결과 및 예후를 조기에 예측할 수 있는 생물학적 표지자의 규명은 근치적 치료 전략을 세우는 데 있어서 임상적으로 매우 의미 있다 할 수 있다.

본 연구는 성모병원과 강남성모병원에서 치료를 받은 비인강암 환자들의 종양조직으로부터 EGFR, p53, Cox-2, Bcl-2 단백질의 면역조직화학염색을 시행하여 임상에서 치료에 대한 반응 및 예후를 예측할 수 있는 생물학적 표지자로서의 역할을 규명하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상환자

1988년 3월 1일부터 2002년 8월 15일까지 성모병원과 강남성모병원에서 비인강암으로 진단받고 근치적 방사선치료와 항암치료를 받았던 환자 104명 중 파라핀 포매 조직 블록이 보존되어 있는 환자 75명을 대상으로 하였다. 이 환자들은 완치 목적으로 치료가 실시된 환자로서 진단 당시, 조직학적으로 확진되었고, 원격전이 없고, 생활수행능력이 KPS 60 이상으로, 적절한 흡수 기능, 신장 기능 및 간 기능을 가진 환자들만을 포함하였다. 대상환자의 연령분포는 21세에서 74세였으며 중앙값은 54세였으며, 성별 분포는 남자가 55명(73.3%), 여자가 20명(26.7%)이었다. 병

Table 1. Patients Characteristics (n=75)

Characteristics		Number of patients
Age	Median	54 year
	Range	(21~74)
Gender	Male	55 (73.3%)
	Female	20 (26.7%)
Stage	I	1 (1.3%)
	II	16 (21.3%)
	III	26 (34.7%)
	IV	32 (42.7%)
T-stage	T1	14 (18.7%)
	T2	23 (30.7%)
	T3	10 (13.3%)
	T4	28 (37.3%)
N-stage	N1	17 (22.7%)
	N2	16 (21.3%)
	N3	33 (44.0%)
	N4	9 (12.0%)

기는 2002년에 개정된 AJCC 병기분류법(6th edition)에 따라 후향적으로 재분류하였는데, T1, T2, T3, T4가 각각 14명(18.7%), 23명(30.7%), 10명(13.3%), 28명(37.3%)이었으며, N0, N1, N2, N3는 각각 17명(22.7%), 16명(21.3%), 33명(44.0%), 9명(12.0%)이었다(Table 1).

### 2. 병리조직학적 소견 재검토

대상환자의 비인강의 조직검체로부터 제작된 Hematoxylin-Eosin 염색 슬라이드를 두정부 병리 전문의사가 재검토하여 WHO 분류에 맞게 환자군을 재분류하였으며 역형성 유무, 유사분열 빈도 측정 등 병리조직학적 소견을 관찰하였다.

### 3. 면역조직화학검사

연구대상 단백질으로는 EGFR, p53, Cox-2, Bcl-2를 선택하였으며, 이들 단백질은 임상적으로 비인강암 환자의 예후와 관련이 있다고 보고된 바가 있는 표지자들로서 면역조직화학 염색을 조직절편에서 실시하여 그 발현 정도를 확인하였다. 파라핀 포매조직을 5µm 두께로 박절한 조직절편을 크실렌과 알코올에 처리하여 탈파라핀화와 재함수를 시킨 후 단백질의 항원성을 증가시키기 위해 10 mM citric buffer (pH 6.0)에 넣은 다음 전자레인지에 5분씩 4회 반복 가열하였다. 슬라이드를 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에서 5분간 처리한 후, blocking solution (0.01 mol/L Tris, 0.3% Triton X100, 1% BSA, and 3% Goat serum)에 30분간 담가 endogenous peroxidase의 활성을 차단하였으며 Tris-buffered saline에 헹구었다. 1차 항체로는 EGFR, p53, Cox-2와 Bcl-2 (Dako 사)의 단클론 항체를 사용하였다. 특정 비율로 희석한 각각의 1차 항체를 슬라이드위에 도포하고 실온에서 2~3시간 동안 배양하였다. 음성대조군으로는 1차 항체 대신 같은 농도로 희석한 정상 마우스 IgG을 이용하였다. 슬라이드를 1 : 200 비율로 희석한 biotinylated secondary anti-rabbit anti-bodies에 15분간 놓아두었다가 발색을 위해 avidin-biotin peroxidase complex solution를 사용하였으며 chromogen으로 d-aminobenzidine을 이용하였다.

### 4. 전체 대상환자의 치료결과 분석

전체 환자 104명의 임상병기, 치료반응률, 재발양상, 생존율 및 무병생존율을 후향적으로 분석하였으며 생존율 및 무병생존율에 영향을 주는 예후인자를 조사하였다.

### 5. 통계분석

병리조직학적 소견의 검토 및 면역조직화학염색을 시행했던 75명의 환자에서 임상 치료성적과 병리조직소견의

연관성을 알아보았고, 면역조직화학염색 결과와 임상치료 성적의 관련성을 조사하였다. 또한 병리조직학소견과 각 면역조직화학염색 소견의 상관관계가 있는지도 조사하였다.

통계분석은 SPSS를 이용하였으며, 환자의 전체생존율 및 무병생존율은 Kaplan-Meier 방법으로 구하였고 생존율에 영향을 미치는 예후인자의 분석은 Log-rank test를 이용하였다. 각 인자들간의 상관관계는 Pearson's Correlation, Spearman's Correlation을 이용하였으며, X<sup>2</sup> test, one-way ANOVA, indepenednt T-test, Fisher's exact test를 사용하여 검증하였으며, 양측검정 p값이 0.05 이하를 통계적 의미가 있다고 하였다.

결 과

1. 치료결과

전체 비인강암 104명 환자의 추적기간은 5.5~201개월이었으며 중앙값은 50.8개월이었다. 전체 환자의 3년 생존율은 68.7%, 5년 생존율은 53.5%, 중앙전체생존기간은 85.5개월이었으며 3년 무병생존율은 68.2%, 5년 무병생존율 51.5%, 중앙무병생존기간은 61.1개월이었다. 최종 반응은 치료종료 1~6개월에 이비인후과적 이학적 검사와 전산화 단층 촬영 및 자기공명영상촬영을 근거로 평가하였고 일부의 환자에서 조직검사를 시행하였다. 104명 중 73명(70.2%) 완전관해를 보였으며 24명(23.1%)이 부분 관해를 보였다. 7명(6.7%)의 환자에서는 적절한 반응 평가가 이루어지지 못했다.

104명 중 94명의 환자에서 재발부위의 확인이 가능하였으며, 국소재발이 20명(19.2%), 영역재발이 5명(4.8%), 국소재발과 영역재발을 동시에 보인 경우가 2명(1.9%), 원격전

이가 14명(13.5%)으로 총 41명(39.4%)에서 치료에 실패하였다.

전체 환자의 생존율 및 무병 생존율에 영향을 주는 예후 인자는 아래와 같았다. 생존율의 경우 병기(p=0.0113), 중앙반응률(p=0.0362), T병기(p=0.0469)에서 통계적으로 유의한 차이를 보여 주었고, 무병생존율의 경우 병기(p=0.0329), 중앙반응률(p=0.0424)에서 통계적으로 유의한 차이를 보여 주었다(Table 2).

2. 조직소견

조직블럭이 보존되어 있는 75명 중 73명에서 광학현미경 소견의 재검토가 가능하였으며 WHO분류 1은 9명(12.0%), WHO분류 2는 40명(53.3%), WHO분류 3은 24명(32.0%)이었다. 역형성이 관찰된 경우는 27명(36.0%)이며 관찰되지 않은 경우는 46명(61.3%)이었다. 핵의 유사분열 분포는 1에서 35까지 관찰되었으며 중앙값은 4였다(Table 3).

3. 면역조직화학염색

조직블럭이 보존되어 있는 75명 중 72명에서 면역조직화학염색의 판독이 가능하였으며, 각각의 단백질에 대하여 연속하여 3회의 고배율시야(X400)에서 종양의 침윤돌기 부위에서(invasive front of tumor) 관찰하여 semiquantitative하게 염색정도를 측정하여 labeling index를 구하였다. EGFR은 세포막의 염색정도를, Bcl-2와 Cox-2는 세포질의 염색정도를, p53의 경우 핵의 염색정도를 측정하였다. p53의 경우 63명(84.0%)의 환자에서 양성으로 염색되었으며 Bcl-2는 51명(68.0%)에서 양성으로 염색되었다. p53의 염색정도는 1~99%까지의 분포를 보였고 중간값은 30%였으며 Bcl-2의 염색정도는 1~100%까지의 분포였고 중간값은 35%였다. p53과 bcl2의 면역조직화학염색결과는 염색정도에 따라서 4단계로 grade를 구분하였고 0~1%까지를 grade 0으로, 2~10%까지를 grade 1으로, 11~50%까지를 grade 2로, 51% 이상을 grade 3으로 하였다.

p53의 경우 grade 0은 12명(16.0%), grade 1은 18명(24.0%),

Table 2. Prognostic Factors Affecting Overall Survival & Disease Free Survival

Factor	Overall survival	Disease free survival
Stage	0.0113	0.0329
Tumor response	0.0362	0.0424
T stage	0.0469	0.1116
N stage	0.3908	0.4510
RT* duration	0.3501	0.5041
WHO class	0.4519	0.3122
Treatment group †	0.7000	0.8261
Chemotherapy cycles ‡	0.2732	0.2930

\*radiation therapy, †induction chemotherapy followed by RT vs concurrent chemoradiation (CCRT), ‡chemotherapy cycles in CCRT arm: 1~2 cycles vs >3 cycles

Table 3. Histopathologic Findings

Characteristics	Number of patients	
WHO type	I	9 (12.0%)
	II	40 (53.3%)
	III	24 (32.0%)
Mitosis number	1~35	Median: 4
Anaplasia	Yes	27 (36.0%)
	No	46 (61.3%)

Table 4. Results of Immunohistochemical Staining of p53, Bcl-2, Cox-2 and EGFR

Factor	Classification	Number of patients (%)	Definition of classification
p53	Positive	63 (84.0%)	>1%
	Grade 0	12 (16.0%)	0~1%
	Grade 1	18 (24.0%)	2~10%
	Grade 2	19 (25.3%)	11~50%
	Grade 3	23 (30.7%)	51~100%
	Low grade	47 (62.7%)	<50%
	High grade	25 (33.3%)	>50%
Bcl-2	Positive	51 (68.0%)	>1%
	Grade 0	24 (32.0%)	0~1%
	Grade 1	9 (12.0%)	2~10%
	Grade 2	9 (12.0%)	11~50%
	Grade 3	30 (40.0%)	51~100%
	Low grade	38 (50.7%)	<50%
	High grade	34 (45.3%)	>50%
Cox-2	Positive	65 (86.7%)	
	Grade 0	10 (13.3%)	
	Grade 1	17 (22.7%)	
	Grade 2	21 (28.0%)	
	Grade 3	24 (32.0%)	
	Low grade	48 (64.0%)	Grade 0~2
	High grade	24 (32.0%)	Grade 3
EGFR	Positive	66 (88.0%)	
	Grade 0	9 (12.0%)	
	Grade 1	32 (42.7%)	
	Grade 2	21 (28.0%)	
	Grade 3	10 (13.3%)	
	Low grade	62 (82.7%)	Grade 0~2
	High grade	10 (13.3%)	Grade 3

grade 2는 19명(25.3%), grade 3는 23명(30.7%)이었다. 염색 정도를 50%를 기준으로 low grade와 high grade로 구분할 경우 low grade는 47명(62.7%), high grade는 25명(33.3%)이었다.

Bcl-2의 경우는 grade 0은 24명(32.0%), grade 1은 9명(12.0%), grade 2는 9명(12.0%), grade 3은 30명(40.0%)이었다. 역시 염색정도 50%를 기준으로 low grade와 high grade로 나누었을 때 low grade 38명(50.7%), high grade 34명(45.3%)이었다.

Cox2와 EGFR은 염색성을 측정할 때 4 grade로 구분하여 측정하였으며 염색이 되지 않은 경우를 grade 0로 하였다. Cox-2는 grade 0이 10명(13.3%), grade 1이 17명(22.7%), grade 2가 21명(28.0%), grade 3이 24명(32.0%)이었으며, 2단계로 구분할 경우 grade 0, 1, 2를 low grade, grade 3을 high grade로 구분하였고 low grade는 48명(64.0%), high grade는 24명(32.0%)이었다.

EGFR은 grade 0이 9명(12.0%), grade 1이 32명(42.7%), grade 2가 21명(28.0%), grade 3이 10명(13.3%)이었으며

grade 0, 1, 2를 low grade로 grade 3을 high grade로 구분할 때 low grade 62명(82.7%), high grade 10명(13.3%)이었다 (Table 4, Fig. 1).

#### 4. 조직소견과 치료결과의 상관관계

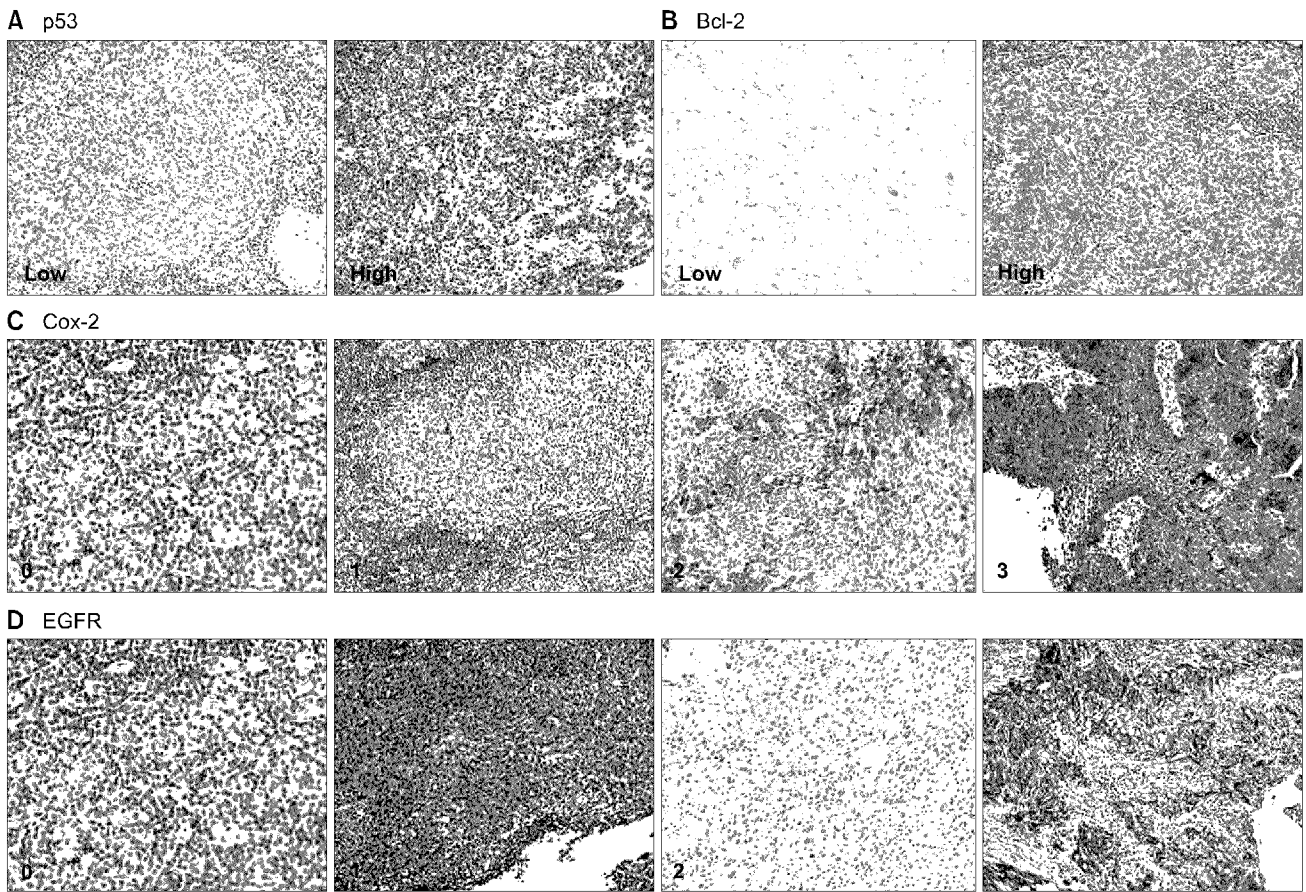
WHO 분류와 임상치료결과의 상관관계에서 WHO 분류가 1, 2, 3으로 높아질수록 원격전이 많은 경향성(p=0.069)을 보일 뿐 치료결과와의 상관관계에서 통계적 차이는 없었다. 그러나 개정된 WHO 분류와 임상인자들과는 연관성이 관찰되었다. 완전관해를 얻었던 49명의 환자 중 45명(91.8%)이 WHO분류 2, 3이었으며 WHO 분류 1 환자는 총 8명 중 4명(50%)만이 완전관해를 얻은 반면 WHO 분류 2, 3 환자는 총 57명 중 45명(78.9%)이 완전관해를 얻었다. 이는 통계학적으로 의미 있는 차이는 아니었지만(p=0.075) WHO 분류 2, 3종양에서 항암방사선치료에 대한 반응성이 높은 경향성을 보여주고 있다. 또한 WHO 분류 2, 3에서 진행된 N3 병기와의 연관성이 있었다. 진단 시 N3 병기환자 9명 모두 WHO분류 2, 3이었으며(p=0.0328) WHO 분류 1 환자에서는 진단시 N3 병기 환자가 없었다. 이는 WHO분류 2, 3 종양이 임상적으로 초기에 심한 림프절 전이를 동반함을 알 수 있었다. 또한 치료 실패 양상에서도 WHO 분류 2, 3 종양은 WHO 분류 1 종양에 비해 원격 전이율이 높았다(25.8% vs 0%). 원격전이로 실패한 15명의 환자 모두 WHO 분류 2, 3 종양이었다(p=0.0432)(Fig. 2). 이외에 유사분열과 역형성여부는 치료 결과와 통계학적인 상관관계가 없었다.

#### 5. 면역조직화학염색성과 치료결과의 상관관계

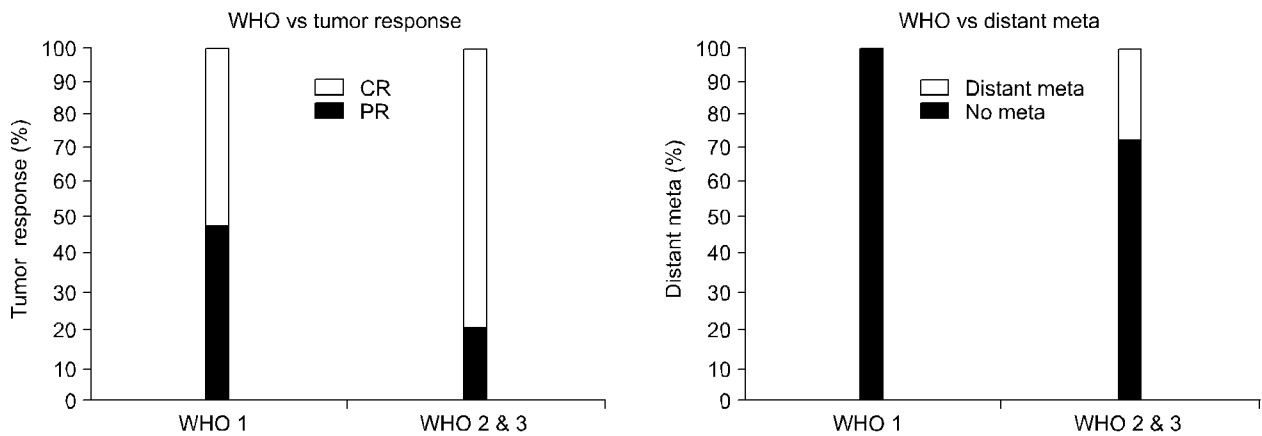
p53, Cox-2, Bcl-2 면역화학염색성과 치료결과와의 상관관계가 관찰되었다.

p53과 생존율의 상관관계를 보면 p53이 염색된 정도에 따라 50%를 기준으로 low grade와 high grade로 구분하였을 경우 low grade 군에서는 중앙 생존 기간이 57.7개월이며, high grade 군에서는 중앙 생존 기간이 37.8개월로 차이를 보였다(p=0.011). 그러나 Kaplan-Meier method로 생존율을 산출하였을 때 log-rank test 결과 p=0.13으로 통계적 의미는 없는 것으로 나타났다.

Bcl-2 grade는 치료 후 재발률과 상관관계를 보였다. Bcl-2 grade 0에서는 20명 중 15명(75%) 재발하였고, grade 1에서는 9명 중 6명(66.7%) grade 2는 8명 중 3명(37.5%), grade 3은 28명 중 13명(46.4%)이 재발하였다(p=0.043). Kaplan-Meier method로 무병생존율을 구한 결과도 5년 무병생존율이 grade 0에서는 21.1%, grade 1에서는 33.3%, grade 2에서



**Fig. 1.** Immunohistochemical staining intensity of p53, Bcl-2, Cox-2 and EGFR. (A, B) Labeling intensity of p53, Bcl-2 protein with H-E counterstaining (Original magnification  $\times 400$ ): p53, Bcl-2 protein expression labeled with brown color. Low grade labeling intensity was shown in left ( $< 50\%$ ) and high grade labeling intensity was shown in right ( $\geq 50\%$ ). (C, D) Labeling intensity of Cox-2, EGFR expression graded from 0 to 3 (Original magnification  $\times 400$ ). Immunostained cell was colored with brown with H-E counterstaining.



**Fig. 2.** (A) Correlation of WHO type and tumor response to chemoradiation: 78.9% of WHO type 2, 3 patients gained complete response compared to 50% of WHO type 1 patients ( $p=0.075$ ). (B) Correlation of WHO type and distant metastasis rate: 25.8% of WHO type 2, 3 patients failed in distant site compared to 0% of WHO type 1 patients ( $p=0.0432$ ).

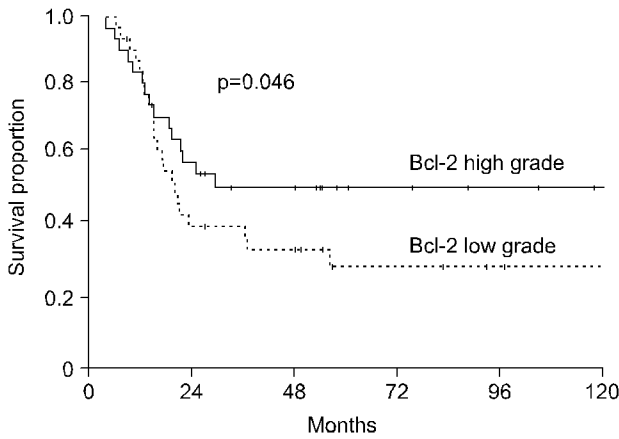


Fig. 3. Comparison of progression free survival in patients with high grade Bcl-2 immunostaining intensity (—) versus low grade Bcl-2 immunostaining intensity (···).

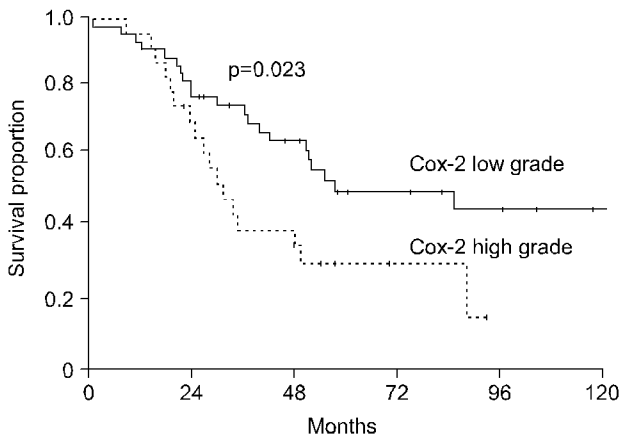


Fig. 4. Comparison of overall survival in patients with low grade Cox-2 immunostaining intensity (—) versus high grade Cox-2 immunostaining intensity (···).

는 75%, grade 3에서는 51.9%로 grade가 높을수록 재발률이 떨어지는 경향을 보였다( $p=0.055$ ). Bcl-2를 low grade와 high grade로 구분하였을 때도 같은 결과를 보였다. 5년 무병생존율의 경우 Bcl-2 low grade에서 29.1% high grade에서 51.7%였다(Fig. 3).

Cox-2는 생존율 및 림프절반응률과 상관관계를 보였는데, 생존율을 보면 Cox-2를 low grade와 high grade로 구분시 low grade는 중앙생존기간이 85.4개월이었고 high grade에서는 38.2개월로 차이를 보였다( $p=0.009$ ). Kaplan-Meier method로 생존율을 구한 결과도 low grade에서는 3년 생존율이 75.3%, 5년 생존율이 50.5%였으며 high grade에서는 3년 생존율이 39.7%, 5년 전체생존율이 30.2%였다( $p=0.023$ ) (Fig. 4).

림프절반응률은 Cox-2 low grade에서는 완전관해 40명

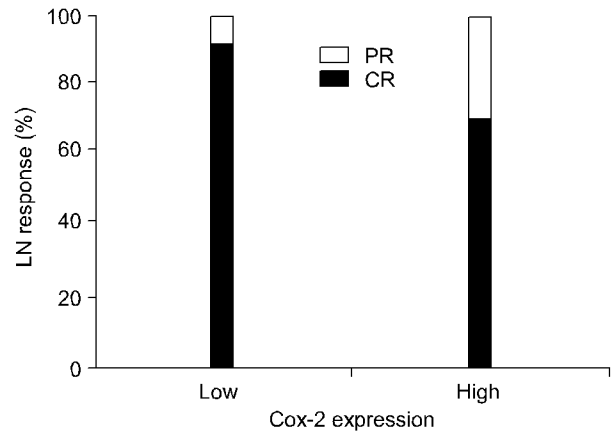


Fig. 5. Correlation of Cox-2 expression and LN response to chemoradiation: 93.0% patients of low grade Cox-2 expression gained complete response in LN compared to 71.4% of high grade Cox-2 expression ( $p=0.019$ ).

(93.0%), 부분관해 3명(7%), high grade에서는 완전관해 15명(71.4%), 부분관해 6명(28.6%)으로 나타났다( $p=0.019$ )(Fig. 5). EGFR 염색성은 어떠한 임상치료결과와도 상관관계를 보이지 않으며, 생존율에도 차이가 없는 것으로 나타났다.

## 6. 조직소견과 면역조직화학염색의 상관관계

### 1) p53과 유사분열의 상관관계

p53 grade와 유사분열 개수와의 상관관계가 관찰되었다. p53 grade 0, 1, 2, 3에 따라 평균 유사분열은 4.25, 6.22, 9.16, 9.90으로 p53 grade에 따라 mitosis가 증가하는 상관관계를 보였으며( $p=0.007$ ) p53을 low grade와 high grade로 구분하였을 때도 각각의 유사분열값은 5.4, 9.5로 역시 의미 있는 상관관계를 보였다(Fig. 6A).

### 2) Cox-2와 p53 상관관계

각각 생존율과 연관되었던 Cox-2, p53 면역화학염색정도가 서로 연관성이 있는 것으로 관찰되었다.

Cox-2 grade 0, 1, 2, 3의 경우 p53 labeling index (%)가 각각  $19.2 \pm 28.5$ ,  $30.2 \pm 35.2$ ,  $33.5 \pm 28.9$ ,  $46.9 \pm 33.4$ 로 연관성을( $p=0.005$ ) 보였다(Fig. 6B).

### 3) Bcl-2와 WHO분류

WHO 분류 1, 2, 3으로 구분시 Bcl-2 labeling index (%)는  $15.8 \pm 32.4$ ,  $41.7 \pm 39.5$ ,  $51.7 \pm 38.4$ 로 상관관계를 보였으며 ( $p=0.018$ ) WHO를 1과 2, 3으로 구분하였을 때도 Bcl-2 (%)는  $21.1 \pm 57.5$ ,  $38.7 \pm 57.5$ 로( $p=0.0164$ ) 상관관계가 관찰되었다(Fig. 6C).

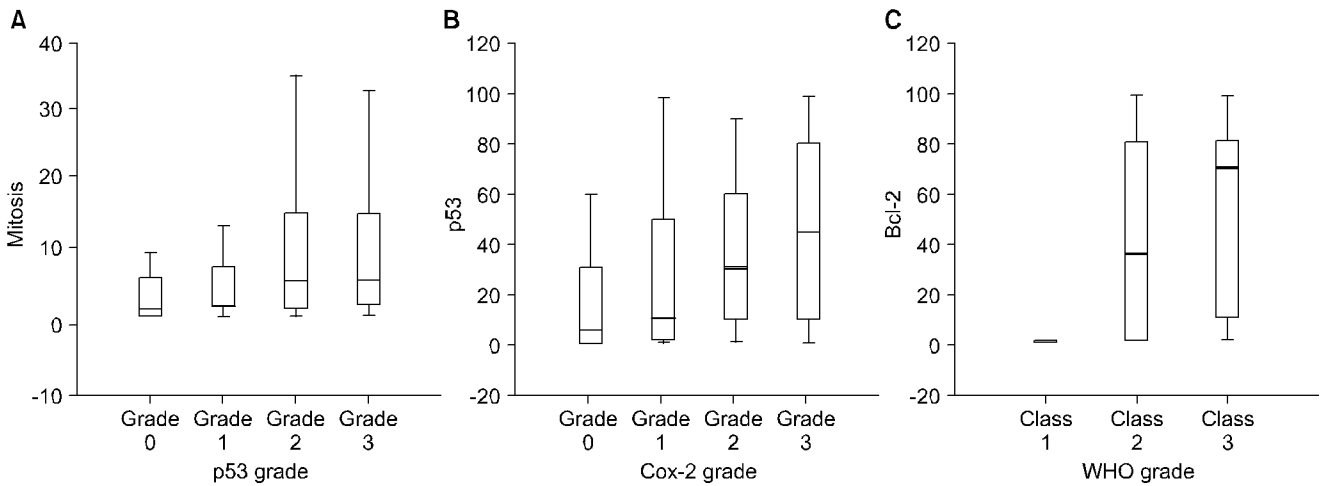


Fig. 6. Correlation of immunohistochemical staining results of p53, Cox-2, Bcl-2 and histopathologic findings. (A) p53 immunostaining intensity grade correlated with number of mitosis ( $p=0.007$ ), (B) Cox-2 immunostaining intensity correlated with p53 labeling index ( $p=0.005$ ), (C) WHO histopathologic type correlated with Bcl-2 labeling index ( $p=0.018$ ).

### 고안 및 결론

비인강암은 두경부에서 생기는 다른 암종과 임상소견, 병인, 형태가 다른 종양으로 뇌기저부에 위치하고 주위에 기도, 상부식도, 경동정맥, 척수신경 등 중요한 기관들이 밀집해 있는 등의 원발병소의 해부학적 특징과 풍부한 경부 림프절을 타고 조기에 림프절전이를 하는 특징을 갖고 있어서, 수술로서 근치적 절제가 불가능하여 다른 두경부종양과 달리 수술보다는 방사선치료가 주된 치료법으로 사용되고 있다.<sup>3,4)</sup>

1998년 Sarraf 등이 발표한 진행성 비인강암에서 항암방사선 동시병행치료의 3년 무병생존율이 69%, 3년 생존율이 76%였으며,<sup>5)</sup> Lin 등이 2003년 발표한 진행성 비인강암에서 항암방사선동시병행치료 결과도 5년 생존율이 72.3%, 5년 무병생존율이 71.6%를 보이고 있으며,<sup>6)</sup> 우리나라에서도 1997년부터 2005년까지 발표된 연구자료들을 보면 5년 생존율이 47.4%에서 67.2%를 보이고 있다.<sup>3,7-11)</sup> 본 연구에서는 3년 생존율이 68.7%, 5년 생존율이 53.5%를 보이고 있어서 유사한 결과를 보이고 있다고 할 수 있겠다.

비인강암은 WHO 분류에서 각질 편평세포암종, 비각질암종, 미분화암종으로 나뉜다. 그중 가장 발생빈도가 높은 것은 미분화암종으로 EBV 항원에 대한 항체보유율이 높고 비교적 예후가 좋은 것으로 알려져 있으나, 본 연구에서는 조직분류가 확인된 73명의 환자 중 비각질암종이 40명(54.8%)으로 가장 많았고, 미분화암종은 24명(32.9%)을 차지하였다. 2006년도 개정된 WHO분류는 각질 편평세포

암종 및 임상양상이 유사한 미분화암종과 비각질암종을 하나로 통합하여 2분하고 있다.

Cyclooxygenase (Cox)는 prostaglandin 합성에 작용하는 중요한 효소로 정상세포의 세포막에서 구조적으로 발현되는 Cox-1과 염증이나 종양생성을 유도할 수 있는 Cox-2 두 종류로 나눌 수 있다.<sup>18)</sup> 여러 종양에서 발현이 관찰되는 Cox-2가 종양의 성장, 침투성, 신생혈관발생 등의 종양생성 과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있으며, 이미 여러 종양에서 Cox-2 발현이 예후인자로서 인정을 받고 있다.<sup>18-22)</sup> 2005년 Tan과 Putti가 85명의 비인강암 환자를 대상으로 Cox-2 발현과 의의를 연구하였는데, 이 연구에서는 Cox-2의 발현빈도가 정상세포에서 상피이형성, 비인강암으로 갈수록 많아지는 것으로 나타나서, Cox-2는 비인강암에서의 종양생성과정중에 작용할 것으로 추정되고 있다.<sup>18)</sup>

기타 두경부종양에서도 마찬가지로 Cox-2 발현이 증가되어 있는 것이 관찰되고 있으며, Cox-2가 예후에 영향을 미친다는 사실이 보고되고 있다.<sup>19,23)</sup> Gallo 등이 2002년에 52명의 환자를 대상으로 두경부편평상피종양에서 Cox-2 발현을 보았는데 Cox-2 발현이 높을수록 전체생존율이 감소하였다.<sup>23)</sup> 2004년에는 Kim 등이 항암방사선치료를 받은 비인강암 환자군을 대상으로 Cox-2 발현과 치료실패율에 관해 조사하였는데, 비인강암에서 Cox-2의 높은 발현정도가 치료실패와 연관성이 있는 것으로 보고하고 있으며,<sup>19)</sup> 2005년 Chen 등이 발표한 연구에서는 5년전체생존율이 Cox-2 발현이 높은 군에서는 27%, 낮은 군에서는 50%로 Cox-2 과발현이 생존율에 나쁜 영향을 미치는 것으로 나타

났다.<sup>24)</sup> 본 연구에서도 Cox-2 발현을 low grade와 high grade 2가지로 분류하였을 경우 5년 생존율이 low grade에서 50.5%였으나, high grade에서 30.2%로 의미있게 짧은 것으로 나와서 역시 과거 다른 결과들과 유사한 결과를 보여주고 있다. 2005년 Peng 등이 발표한 연구에서는 비인강암 환자 24명에서 Cox-2 발현을 살펴보았는데, N0군보다 N1-3군에서 Cox-2 과발현이 빈도가 의미(p=0.006)있게 높게 나타나서 Cox-2 과발현이 비인강암에서 생존율뿐 아니라 림프절전이와 연관성이 있다고 추정하였다.<sup>25)</sup> 또한 본 연구에서는 림프절 반응률이 low grade에서 high grade보다 더 높은 결과를 나타내고 있어서, Cox-2 발현정도에 따른 생존율의 차이를 설명할 수 있었다.

종양억제유전자인 p53은 17p13에 위치하여, 11 exon과 10 intron으로 구성되어 있으며, wild-type p53은 apoptosis를 유발할 뿐만 아니라, 세포가 DNA 손상을 입은 세포를 G1 세포기에 정지시켜 세포주기 진행을 막아서 세포성장을 조절한다.<sup>26~28)</sup> Wild-type p53은 반감기가 매우 짧고, 변이된 p53은 안정적이기에 면역조직검사상 염색되는 p53 단백질은 변이된 단백질이라 추정된다. 변이로 인해 기능이 상실된 p53은 DNA 손상을 입은 세포를 apoptosis로 유도하지 못하고, 종양유전자의 성격을 갖게 된다.<sup>27~31)</sup> 두경부종양 절반가량에서 변이된 p53이 관찰되고 있으며, 변이된 p53은 종양의 발달에 기여하게 된다.<sup>26,27)</sup> p53 과발현이 비인강암에서 EBV 양성과 연관이 있다는 것은 잘 알려져 있다.<sup>27,29)</sup> 비인강암에서 면역조직검사상 p53 발현이 높게 나오지만, PCR 검사상 변이된 p53은 10% 이하로 나타나고 있어서, 비인강암에서는 과발현되는 p53은 다른물질과 결합하여 기능이 상실된 wild-type으로 추정되고 있다.<sup>27,28,30)</sup> 최근 연구에서는 또한 Bcl-2나 A20 gene 등이 p53에 의해 발생하는 apoptosis를 비활성화시키는 것을 보고하고 있다.<sup>27,29,32)</sup> 1995년 Gasparin 등이 항암방사선동시치료로 치료받은 두경부 편평상피세포종양환자 73명을 대상으로 p53과 Bcl-2의 의의를 연구한 결과를 발표하였는데, p53이 음성일 경우, 보다 좋은 무병생존율을 보였고(p=0.04), 전체 생존율과도 연관이 있는 경향을 보였으며(p=0.08)<sup>33)</sup> Masuda 등이 1998년 22명의 비인강암 환자를 대상으로 한 연구에서도 p53 양성일 경우 전체생존율이 더 나쁜 것으로 보고하였으며,<sup>30)</sup> 2001년에는 Ho 등이 비인강암 68명을 대상으로 한 연구에서는 p53 양성일 때 종양의 치료에 대한 반응률이 떨어지는 경향을 보였다.<sup>34)</sup> 또한 Ma 등은 2003년에 78명의 비인강암환자를 대상으로 p53 등이 예후에 미치는 영향을 알아보았는데, p53 발현이 무병생존율을 떨어뜨리고(p=0.01), 암 진행까지의 기간을 단축시키는 경향(p=0.06)

을 보이는 것으로 보고하였다.<sup>35)</sup> 본 연구의 결과 5년 생존율이 p53 low grade 염색성 환자에서 49.6%, high grade에서 27.5%로 나타나서 통계학적 의의는 없었으나 연관성을 나타내고 있다. 앞서 발표된 연구결과들과 본 연구결과를 종합해보면, p53은 본래 종양억제유전자이며, 비인강암에서 p53 변이는 10% 이하로 대부분이 wild-type p53이지만, 본래의 기능을 상실한 wild-type p53이 면역조직화학염색으로 검출되는 것으로 볼 수 있으며, 그로 인해 p53의 종양억제 기능을 상실하여 과발현되는 경우 생존율이 떨어지는 것으로 생각된다.

Bcl-2는 26 kD의 inner mitochondrial membrane 단백질로 세포주기속도를 빨리하는 대신 p53에 의한 apoptosis를 억제하여, 미성숙세포나 노화세포들의 생명을 연장시켜 종양 발생을 유발하는 매우 독특한 종양유전자이다.<sup>27~32,36)</sup> 여러 연구자들이 이미 비인강암에서 Bcl-2 과발현을 많이 보고하고 있다.<sup>27,32,36)</sup> Bcl-2는 이론적으로는 apoptosis를 억제하여 종양세포의 보다 빠른 축적을 야기하고, 치료관련 apoptosis를 차단하여 나쁜 예후와 치료에 대한 세포적 저항을 일으키는 것으로 생각된다.<sup>31)</sup> 그러나, 실제로 Bcl-2의 발현이 두경부종양에서는 좋은 예후와 연관된다는 결과들이 나오고 있다.<sup>33,37,38)</sup> 1995년 Gasparin 등이 발표한 항암방사선동시치료로 치료받은 두경부 편평상피세포 종양환자 73명을 대상으로 p53과 Bcl-2의 의의를 연구결과를 보면, Bcl-2가 양성일 경우 좋은 무병생존율 및 완전관해와의 연관성이 있는 경향을 보여주었으며,<sup>33)</sup> Gallo 등이 1996년 발표한 연구에서 근치적 방사선치료를 받은 초기 두경부 편평상피종양환자 71명을 대상으로 Bcl-2 발현이 5년 무병생존율 및 5년 생존율에 중요한 연관이 있는 것을 보여주었으며,<sup>38)</sup> Vera-Sempere 등은 1997년에 발표한 연구에서 55명의 비인강암 환자를 대상으로 Bcl-2발현이 미분화조직유형과 연관되며(p<0.05), Bcl-2 과발현이 생존기간을 늘리는 것(p<0.001)으로 보고하였다.<sup>36)</sup> 또한 1998년 Masuda 등이 22명의 비인강암 환자를 대상으로 Bcl-2 양성인 경우 전체 생존율이 더 좋은 경향을 보인다고 발표하였다.<sup>30)</sup> 본 연구에서도 Bcl-2 염색정도가 높을수록 재발률이 떨어지고, 무병생존율이 올라가는 경향을 보였으며 조직유형은 미분화암종과 연관되어 있는 것으로 나타났다. 앞선 연구들과 본 연구를 토대로 생각해 보면 Bcl-2는 종양유전자임에도 불구하고 발현이 높을수록 오히려 재발이 감소하여 무병생존율이 증가하는 결과를 보여주는데, 아마도 형태학적으로 림프구와 유사한 상피암인 미분화암종에서 Bcl-2가 많이 발현되며 생존율의 증가와 연관이 된다고 생각한다.

세포성장을 조절할 수 있는 EGFR은 170 kD의 glycoprotein



으로 extracellular receptor domain과 transmembrane region, 그리고 tyrosine kinase 기능이 있는 intracellular domain으로 구성되어서, 세포의 생존, 분화, 죽음, 증식 등의 기본적인 세포행동을 조절한다. EGFR은 HER-1 또는 C-erbB-1으로도 알려져 있으며<sup>39,40</sup> 유방암, 두경부암, 비소세포폐암, 신장암, 난소암, 대장암 등의 고형암에서는 EGFR이 과발현된다.<sup>39</sup> EGFR이 과발현되면, ligand가 EGFR에 결합하여 신호발생을 강화하고 하향신호전달체계를 활성화시켜서 세포증식, apoptosis 감소, 신생혈관 생성, 전이성 증가 등 종양진행에 영향을 주는 여러 가지 일을 한다.<sup>39,40</sup> 신생혈관 발생은 종양의 성장과 침습을 유지하는 데 필요하며, EGFR이 활성화되면 신생혈관발생에서 첫단계인 VEGF를 자극한다.<sup>39</sup> 두경부 편평상피세포종양에서 EGFR 염색이 양성으로 나타나는 범위는 90~100%이며, 과발현의 범위는 43~83%이다.<sup>41</sup> EGFR 발현정도는 두경부편평상피세포암에서 예후에 중요한 역할을 차지하며, EGFR 과발현이 종양크기, 병기, 종양조직의 미분화도와 연관되며 생존율을 나쁘게 하지만<sup>41,42</sup> 비인강암에서는 시행된 연구가 많지 않아 아직까지 실명이 부족한 상태이다. 2002년 Putti 등이 172명의 두경부편평세포종양 환자를 대상으로 EGFR 발현과 임상진행의 상관관계를 연구결과를 발표하였는데, T4 종양에서 EGFR 발현이 높게 나왔고,<sup>43</sup> Eriksen 등이 2004년 336명의 방사선치료를 받은 두경부편평상피세포종양 환자를 대상으로 연구한 결과를 발표하였는데, EGFR 발현정도는 분화정도(well/mod vs poor)( $p=0.002$ )와 종양크기(T1~2 vs T3)( $p=0.001$ )와 연관되며,<sup>40</sup> Leong 등도 2004년에 75명의 미분화암종 비인강암 환자를 대상으로 EGFR에 대해 연구결과를 발표하였는데, EGFR 과발현은 원발종양의 크기와만 상관관계( $p=0.007$ )를 보였다.<sup>42</sup> Chua 등은 2004년 항암방사선치료를 받은 진행성 비인강암 환자 92명 중 연구가능한 54검체를 대상으로 EGFR과 치료결과의 상관관계를 연구한 결과를 발표하였는데, EGFR 발현과 T 병기, N 병기 등과 상관관계가 없었다. EGFR 발현이 25% 이상일 경우 치료결과가 나쁘게 나타났으며, 다변량분석에서 EGFR 발현정도가 질병재발, 치료실패, 암성죽음 등을 예측할 수 있는 유일한 독립요소로 나타났다.<sup>41</sup> 그러나 본 연구에서는 위와 같은 결과를 관찰할 수 없었다.

비인강암에서 치료 후 예후를 예측할 수 있는 생물학적 표지자의 가능성을 가진 것으로 보고되어 있는 Cox-2, p53, Bcl-2, EGFR에 대한 연구결과 Cox-2, p53, Bcl-2의 발현정도는 향후 방사선 항암제 치료후 반응을, 생존율, 치료 실패를 예측할 수 있는 예후인자로서의 이용가능성이 있음을 알 수 있었으며, 이미 많은 연구자들이 이와 유사한 결

과들을 보고한 것으로 보아, 비인강암 환자의 치료 후 결과를 예측할 수 있는 보다 실용적인 생물학적 표지자의 규명을 위해서 향후 보다 많은 환자를 대상으로 한 전향적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Wei WI, Sham JS. Nasopharyngeal carcinoma. *Lancet* 2005;365:2041-2054
2. Jeon YK, Lee BY, Kim JE, Lee SS, Kim CW. Molecular characterization of Epstein-Barr virus and oncoprotein expression in nasopharyngeal carcinoma in Korea. *Head & Neck* 2004;26:573-583
3. Jung YY, Kim OB, Kim JH. An analysis of prognostic factors affecting the outcome of radiation therapy for nasopharyngeal carcinoma. *J Korean Soc Ther Radiol* 2005; 23:71-77
4. Mendenhall WM, Riggs CE, Cassisi NJ. Cancer of the head and neck. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: principles & practice of oncology*. 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins. 2005:712-713
5. Sarraf MA, LeBlanc M, Giri PG, et al. Chemoradiotherapy versus radiotherapy in patients with advanced nasopharyngeal cancer: phase III randomized Intergroup study 0099. *J Clin Oncol* 1998;16:1310-1317
6. Lin JC, Jan JS, Hsu CY, Liang WM, Jiang RS, Wang WY. Phase III study of concurrent chemoradiotherapy versus radiotherapy alone for advanced nasopharyngeal carcinoma: positive effect on overall and progression-free survival. *J Clin Oncol* 2003;21:631-637
7. Nho YJ, Cho JG, Ahn SD, et al. Radiation therapy of nasopharyngeal carcinoma. *J Korean Soc Ther Radiol* 1997;15(4)
8. Yun SM, Kim JC, Park IK. Combined modality treatment in nasopharyngeal carcinoma. *J Korean Soc Ther Radiol* 2001; 19:100-106
9. Lee MJ, Chun HC. Radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma. *J Korean Soc Ther Radiol* 2003;21:269-275
10. Cho MJ, Jang JY, Kim JS, Kim BK, Song CJ, Kim JS. Results of radiation therapy in nasopharyngeal cancer. *J Korean Soc Ther Radiol* 2001;19:9-15
11. Lee JY, Loh JK, Suh CO, Lee YG, Hong WP. Radiotherapy results of nasopharyngeal carcinoma. *J Korean Soc Ther Radiol* 1988;6:13-23
12. Kao CH, Tsai SC, Wang JJ, Ho YJ, Yen RF, Ho ST. Comparing 18-Fluoro-2-Deoxyglucose positron emission tomography with a combination of technetium 99m tetrofosmin single photon emission computed tomography and computed tomography to detect recurrent or persistent nasopharyngeal carcinomas after radiotherapy. *Cancer* 2001;92:434-439
13. Greven KM, Williams DW III, McGuirt WF, et al. Serial positron emission tomography scans following radiation therapy of patients with head and neck cancer. *Head Neck* 2001;

- 23:942-946
14. Yen TC, Lin CY, Wang HM, Huang SF, Liao CT. <sup>18</sup>F-FDG-PET For evaluation of the response to concurrent chemoradiation therapy with intensity-modulated radiation technique for stage T4 nasopharyngeal carcinoma. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2006;65:1307-1314
  15. Liu SH, Chang JT, NG SH, Chan SC, Yen TC. Case report - false positive fluorine-18 fluorodeoxy-D-glucose positron emission tomography finding caused by osteoradionecrosis in a nasopharyngeal carcinoma patient. *Brit J Radiol* 2004;77:257-260
  16. Zheng XK, Chen LH, Wang QS, Wu FB. Influence of [<sup>18</sup>F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography on salvage treatment decision making for locally persistent nasopharyngeal carcinoma. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2006;65:1020-1025
  17. Yao M, Buatti JM, Dornfeld KJ, et al. Can post-RT FDG PET accurately predict the pathologic status in neck dissection after radiation for locally advanced head and neck cancer? In regard to Rogers, et al. (*Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 58:694-697). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005;61:306-307
  18. Tan KB, Puffi TC. Cyclooxygenase 2 expression in nasopharyngeal carcinoma: immunohistochemical findings and potential implications. *J Clin Pathol* 2005;58:535-538
  19. Kim KB, Wu HG, Park SW, Kim CJ, Park CI. Expression of cyclooxygenase (COX)-2 as a prognostic factor in nasopharyngeal cancer. *Cancer Res Treat* 2004;36:187-191
  20. Khuri FR, Wu H, Lee JJ, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression is a marker of poor prognosis in stage I non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:861-867
  21. Sheehan KM, Sheehan K, O'Donoghue DP, et al. The relationship between cyclooxygenase-2 expression and colorectal cancer. *JAMA* 1999;282:1254-1257
  22. Kim HJ, Wu HG, Park IA, Ha SW. High cyclooxygenase-2 expression is related with distant metastasis in cervical cancer treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;55:16-20
  23. Gallo O, Masini E, Bianchi B, Bruschini L, Paglierani M, Franchi A. Prognostic significance of cyclooxygenase-2 pathway and angiogenesis in head and neck squamous cell carcinoma. *Human Pathology* 2002;33:708-714
  24. Chen WC, McBride WH, Chen SM, et al. Prediction of poor survival by cyclooxygenase-2 in patients with T4 nasopharyngeal cancer treated by radiotherapy. *Head & Neck* 2005;27:503-512
  25. Peng JP, Chang HC, Hwang CF, Hung WC. Overexpression of cyclooxygenase-2 in nasopharyngeal carcinoma and association with lymph node metastasis. *Oral Oncol* 2005;41:903-908
  26. Forastiere A, Koch W, Trotti A, Sidransky D. Medical progress: head and neck cancer. *N Engl J Med* 2001;345: 1890-1990
  27. Niemhom S, Kitazawa S, Murao S, Kunachak S, Maeda S. Co-expression of p53 and bcl-2 may correlate to the presence of Epstein-Barr virus genome and the expression of proliferating cell nuclear antigen in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Letters* 2000;160:199-208
  28. Sheu LF, Chen A, Lee HS, Hsu HY, Yu DS. Cooperative interactions among p53, bcl-2 and Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 in nasopharyngeal carcinoma cells. *Pathology International* 2004;54:475-485
  29. Yang HJ, Cho YJ, Kim SH, Chang MS, Sung MW, Kim HS. Association of p53 and Bcl-2 expression with Epstein-Barr virus infection in the cancer of the head and neck. *Head & Neck* 2001;23:629-636
  30. Masuda M, Shinokuma A, Hirakawa N, Nakashima T, Komiyama S. Expression of bcl-2-, p53, and Ki-67 and outcome of patients with primary carcinoma following DNA damaging treatment. *Head & Neck* 1998;20:640-644
  31. Sarac S, Akyol MU, Kanbur B, et al. Bcl-2 and LMP1 expression in nasopharyngeal carcinomas. *Am J Otolaryngol* 2001;22:377-382
  32. Khabir A, Ghorbel A, Daoud J, et al. Similar BCL-X but different BCL-2 levels in the two age groups of north African nasopharyngeal carcinomas. *Cancer Detection and Prevention* 2003;27:250-255
  33. Gasparin G, Bevilacqua P, Bonaldi E, et al. Predictive and prognostic markers in a series of patients with head and neck squamous cell invasive carcinoma treated with non-current chemotherapy. *Clin Cancer Res* 1995;1:1375-1383
  34. Ho KY, Kuo WR, Chai CY, et al. A prospective study of p53 expression and its correlation with clinical response of radiotherapy in nasopharyngeal carcinoma. *The Laryngoscope* 2001;111:131-136
  35. Ma BY, Poon TW, To KF, et al. Prognostic significance of tumor angiogenesis, Ki-67, p53 oncoprotein, EGFR and HER2 receptor protein expression in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma - prospective study. *Head & Neck* 2003;25:864-872
  36. Vera-Sempere FJ, Burgos JS, Botella MS, Morera C. Immunohistochemical expression of Bcl-2 oncoprotein in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma correlated to histological type and survival. *Histol Histopathol* 1997;12:9-18
  37. Pezzela F, Turley H, Kuzu I, et al. Bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1993;329:690-694
  38. Gallo O, Boddi V, Calzolari A, Simonetti L, Tarotati M, Bianchi S. Bcl-2 protein expression correlates with recurrence and survival in early stage head and neck cancer treated by radiotherapy. *Clin Cancer Res* 1996;2:261-267
  39. Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;59:21-26
  40. Eriksen JG, Steinichie T, Askaa J, Alsner J, Overgaard J. The prognostic value of epidermal growth factor receptor related to tumor differentiation and the overall treatment time of radiotherapy in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;58:561-566
  41. Chua DT, Nicholls JM, Sham JT, Au GH. Prognostic value of epidermal growth factor receptor expression in patients with advanced stage nasopharyngeal carcinoma treated with induction chemotherapy and radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;59:11-20

42. Leong JL, Loh KS, Puffi TC, Goh BC, Tan LKS. Epidermal Growth Factor Receptor in Undifferentiated Carcinoma of the Nasopharynx. *The Laryngoscope* 2004;114: 153-157
43. Puffi TC, To KF, Hsu HC, et al. Expression of epidermal growth factor receptor in head and neck cancers correlates with clinical progression: a multicenter immunohistochemical study in the Asia-Pacific region. *Histopathology* 2002;41: 144-151

---

*Abstract*

## **EGFR, p53, Cox-2 and Bcl-2 Expression in Nasopharyngeal Carcinoma and Their Potential Clinical Implication**

Soo Min Chae, M.D.\*, Youn Soo Lee, M.D.<sup>†</sup>, Yeon Sil Kim, M.D.\*, Kwang Won Roh, M.D.\*, Su-Mi Chung, M.D.\*, Sei-Chul Yoon, M.D.\* and Hong-Seok Jang, M.D.\*

Departments of \*Radiation Oncology, <sup>†</sup>Pathology,  
The Catholic University of Korea College of Medicine, Seoul, Korea

**Purpose:** To evaluate the relationship between the expression of EGFR, p53, Cox-2, Bcl-2 and the clinical parameters of NPC (nasopharyngeal carcinoma) patients treated with radiotherapy with/without chemotherapy, and to determine if these could be used as a biologic marker.

**Materials and Methods:** This study retrospectively examined 75 NPC patients who were pathologically diagnosed at St. Mary's Hospital and Kangnam St Mary's Hospital from March 1988 to August 2002 and treated with radiotherapy with/without chemotherapy. The levels of EGFR, p53, Cox-2, and Bcl-2 expression were determined immunohistochemically. The relationship between the levels of EGFR, p53, Cox-2 and Bcl-2 expression and the H-E staining findings including the WHO classification, TNM stage, tumor response to chemotherapy and radiotherapy, disease free survival (DFS), and overall survival (OS) was analyzed.

**Results:** At a median follow up of 50.8 months (range: 5.5~201 months), the 3 years OS rate and PFS rate were 68.7% and 68.2%, respectively. The five year OS rate and PFS rate were 53.5% and 51.1%, respectively. The median OS duration and PFS duration were 85.5 months and 61.1 months, respectively. The WHO classification correlated with the complete response rate, lymph node metastasis and distant metastasis. The expression of p53 was associated with increased mitosis and poor overall survival. The expression of Bcl-2 correlated with the DFS and WHO classification. The expression of Cox-2 correlated with a poor overall survival and response rate in the lymph node. However, EGFR was not correlated with any factors.

**Conclusion:** These results suggest that the expression of p53, Cox-2, Bcl-2 plays role in predicting prognostic factors for NPC treated with radiotherapy with/without chemotherapy. However, further study on a larger number of patients will be needed to identify more useful biomarkers of NPC.

---

**Key Words:** Nasopharyngeal carcinoma, EGFR, p53, Cox-2, Bcl-2