

Analysis of the bcl-2, Ki-67 and p53 Expression Level Based on the Gleason Score Group of Prostate Adenocarcinoma

Tai-Jeon Kim¹ and Sung-Chul Kim^{2,*}

¹Department of Biomedical Laboratory Sciences, College of Health Sciences, Eulji University, Sungnamsi, Gyeonggi-do, Korea.

²Department of Pathology, Hanyang University Guri Hospital, Gurisi, Gyeonggi-do, Korea

Recently, the number of patients with prostate cancer has been increased gradually by both the change of living environment and the increase of aged population. In this study the serum prostate specific antigen (PSA) level was compared to the Gleason score known as a prognostic factor for the prostate cancer. In the Gleason score 6 and 9~10, the average age was 69.68 years old and 69.52 years old, respectively and there was no statistically difference in both of age and Gleason score. the PSA serum consistency appeared <4 ng/mL as example 1, 4~20 ng/mL as example 17 and ≥ 20 ng/mL as example 4 in the Gleason score 6, and In the Gleason score 9~10, it appeared <4 ng/mL as example 1, 4~20 ng/mL as example 6 and ≥ 20 ng/mL as example 15. PSA serum consistency in the Gleason score 9~10 showed higher value than those of Gleason score 6 ($P < 0.05$). Next, expression ratios of bcl-2, Ki-67 and p53 were examined in the Gleason score 6 and 9~10. the p53 expression ratio, a tumor suppression gene, appeared the significance statistically by the classification of the Gleason score as example 7 (28%) in the Gleason score 6 and as example 16 (64%) in the Gleason score 9~10 ($P < 0.05$). but not different in the expression ratios of the Ki-67 and bcl-2. The expression ratio of p53 by the expression ratio of bcl-2 and the expression ratio of Ki-67 by the expression ratio of p53 had a positive relationship in all of the Gleason score 6 and the Gleason score 9~10 ($P < 0.05$). However, the expression ratio of Ki-67 by the expression ratio of bcl-2 did not show any significance in the Gleason score 9~10 ($P < 0.05$). Therefore, the results suggested that p53 expression could be used as an independent prognostic factor.

Key Words: Prostate cancer, bcl-2, Ki-67, p53 Gleason score, Prognostic factor

서 론

전립선은 방광 아래에 위치하고 있는 남성 생식기관으로 고령화 될수록 염증, 비대증, 또는 암 등의 질환 발생률이 증가한다. 특히 전립선 선암종 (prostate adenocarcinoma)은 전립선에서 발생하는 악성 종양으로 주위 조직이나 정낭으로 전이하는 (Landis et al., 1999) 발생 빈도가 매우 높은 질환이다. 50세 이상의 성인남자 중 약 50% 정도에서 발병할 가능성이 있으며 80세 이상은 거의 100%의 미세병변이 관찰된다 (Hyun et al., 2006). 미국에서는 남성의 경우 가장 발병율이 높고, 사망률이 2위

인 암으로 보고되어 있으며 (Greenlee et al., 2000), 국내에서도 그 발병사례가 급격히 증가하고 있다 (Hyun et al., 2006). 또한 고령인구의 증가와 생활환경의 변화 역시 이 질환에 대한 유병률 증가의 원인이 되고 있어 조기 치료와 예후판단이 중요한 문제로 대두되고 있다 (Kim et al., 1993). 그러나 전립선 선암종은 조기진단이 어렵고, 진행형 암종으로 발견되는 경우는 33~40%에 불과하다 (Landis et al., 1998). 진행형의 경우 다양한 임상 경과가 보고되고 있으나, 그 중에서도 조직학적 분화도, 임상-병리학적 병기, 전립선 특이항원 (prostate specific antigen, 이하 PSA)의 혈청농도, 종양의 크기, p53 발현 등이 매우 중요한 인자로 알려져 있다 (Niu et al., 2003).

Gleason 등급을 분류하면 Grade 1은 종양조직이 균일한 모양의 선을 형성하고, 둥근 변연부를 형성하며, Grade 2는 종양조직의 균일한 모양 선관이 약간의 간질조직에 의해 느슨해지고, 약간 불분명한 경계를 가진다. Grade

*논문 접수: 2008년 7월 17일

수정제 접수: 2008년 8월 25일

†교신저자: 김성철, (우) 471-701 경기도 구리시 교문동 249-1, 한양대학교 구리병원 병리과

Tel: 031-560-2648, e-mail: kccos@hanmail.net

3는 종양조직이 간질조직에 의해 다양한 크기의 선관을 형성하며, 분명한 경계를 가진 체상구조 (cribriform pattern)를 보인다. Grade 4는 종양조직의 경계가 불분명하며 침윤성 성장을 하고, 종양선관이 서로 융합되어 나타나며, Grade 5은 종양조직의 경계가 분명하지만, 중심부 괴사로 면포성유암 (comedocarcinoma)의 형태를 보이거나, 선암종인지 판단하기 어려울 정도의 비정형성을 나타낸다. Gleason 채점법은 종양의 부위에 따라 분화정도 (differentiation)가 다양할 때는 주된 두 가지 분화도를 산술적으로 합산하며, 분화도도가 균일할 때는 그 Gleason 분화도를 2배로 한다고 명시하고 있다 (Jang et al., 1990). Gleason 점수 그룹을 과거에는 2~4, 5~7, 8~10으로 분류하던 것을 2~6, 7, 8~10 세 그룹으로 분류하면, 병기에 따른 예후를 좀 더 정확히 예측할 수 있다는 보고에 따라 (Egevad et al., 2002), 본 연구에서는 저등급으로 분류되는 Gleason score 6과 고등급으로 분류되는 Gleason score 9~10으로 나누어 연구하였다.

병리학적으로 정밀한 예후 평가를 위하여 p53, bcl-2 등 세포 주기 및 세포 고사와 연관된 인자들에 대한 연구가 많이 보고되었다 (Bailey et al., 1999). p53 유전자는 인체 17번 염색체의 단완에 위치하는 종양억제 유전자로서 그 산물인 p53 단백질은 세포증식조절에 주로 관여하는 핵 내 단백질이다 (Levine et al., 1991). 최근 인체의 여러 악성 종양에서 이 유전자의 돌연변이 또는 불활성화 등의 유전적 변이가 관찰되어 p53 유전자의 유전적 형질 변화가 암세포 형성에 중요한 작용을 하는 것으로 여겨지며 (Takahashi et al., 1989), p53 유전자의 점 돌연변이가 암종의 진행과 전이에 관여한다고 알려져 있다 (Isaacs et al., 1994). Wild-type의 p53 유전자는 세포성장을 억제하거나 증가시키는 두 가지 기능을 가지고 있으나, 변이형 p53 유전자는 정상적인 기능이 상실되어 손상된 DNA를 복구하지 못하고, 다른 유전자의 돌연변이의 증가로 발암 과정에 관여한다 (Milner, 1994). p53이 발현되었다는 것은 합성이 증가하거나 분해가 지연되어 반감기가 증가함에 따라 p53의 수준이 탐지 가능한 수준으로 증가했음을 의미한다. 전립선 선암종에서 변형된 p53의 기능을 연구한 결과 대표적인 변이형 p53 유전자가 16군데에서 나타났다 (Shi et al., 2002).

Ki-67은 세포증식을 확인하는데 쓰이는 항원으로 G1 후기로부터 S phase 및 G2 phase와 M phase까지 세포증식과 관련하여 광범위하게 발현된다. 종양의 성장은 세포의 죽음과 증식 사이의 균형에 의해 결정되므로 (Reed,

1994), Ki-67의 발현정도는 종양의 악성 여부를 잘 반영하여 Ki-67이 높게 발현될수록 더욱 고등급의 종양으로 평가 받고 있으며, 인체의 여러 악성 종양에서 생물학적 기능과의 연관성이 연구되고 있고, 명확한 예후정보를 제공해주는 가치 있는 예후인자로 인정받고 있다 (Brown et al., 1990; Borre et al., 1998).

Bcl-2 유전자는 18번 염색체의 장완에 위치하는 암유전자로서 26 kDa 단백질을 전사하는데 이 단백질은 세포의 자멸사 (apoptosis)를 억제함으로써 세포의 수명을 연장시켜 종양억제 유전자 혹은 세포증식과 연관된 유전자들의 유전적 결함의 기회를 증가시켜 암을 유발한다 (Lu et al., 1996). 비소세포성 폐암, 비인두암, 신경아세포종, 유방암 및 전립선 선암종 등의 고형종양에서도 bcl-2가 발현하며 이의 발현이 환자의 예후와 밀접한 관련이 있다 (Colombel et al., 1993).

고령인구가 증가하면서 전립선암에 대한 기본검사로 혈청 PSA (Prostate Specific Antigen) 농도를 측정하게 되고 그 농도가 높은 경우 거의 대부분에서 초음파 유도하에 전립선 생검을 하게 된다.

이에 본 연구는 전립선 선암종 조직에서 면역조직화학적 방법을 통해서 bcl-2, Ki-67, p53 유전자의 발현 양상과 발현율을 조사하여 bcl-2, Ki-67, p53 사이의 상관관계를 분석하고, 또한 전립선 선암종에서 기존의 예후인자로 알려진 Gleason score와 전립선 특이항원 (Prostate Specific Antigen, PSA) 혈청농도의 상관관계를 비교 분석하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1999년부터 2006년까지 한양대학교 구리병원에서 전립선 조직검사를 시행 받은 667례 중 선암종으로 진단 받은 156례에서 선별하였다. Gleason score 6으로 진단 받은 25례와 Gleason score 9~10으로 진단 받은 25례를 구분하였고, 조직검사방법은 Gleason score 6에서는 침생검 20례, 경요도적 절제술 3례, 광범위 전립선 절제술 2례였으며, Gleason score 9~10에서는 침생검 13례와 경요도적 절제술 7례, 광범위한 전립선의 절제술 5례였다.

2. 방법

1) 임상기록

환자의 임상기록과 병리보고서를 재검토하여 나이, PSA (Prostate Specific Antigen) 수치를 분석하였다. 총 50

명의 환자 중 PSA 측정이 안 된 6명을 제외한 44명을 대상으로 분석한 결과, Gleason score 6은 25예 중 22예였으며 Gleason score 9~10은 25예 중 22예에서 측정하였다.

2) 조직학적 등급

H&E (hematoxylin and eosin) 염색을 실시하여 광학현미경으로 검경하여 조직학적 등급인 Gleason grade을 확인하였다. Gleason score는 Gleason grade의 가장 많은 부분을 차지하는 등급과 두 번째로 많은 등급을 합하여 정하였다.

3) 면역조직화학염색

Paraffin 블록을 4 μ m 두께로 잘라 조직 표본의 탈락을 방지하기 위하여 3-Amino-propyltriethoxy-silane (Sigma Chemical, Germany)용액으로 처리 후 탈파라핀과 함수 과정을 실시하였다. 항원 복구를 위해 Ki-67, p53 및 bcl-2을 pH 6.0 10 mM 구연산 완충액에 담가 autoclave에서 121°C 10분 간 처리하였고, 10% H₂O₂-methanol을 사용하여 내인성 인자의 활성을 억제하기 위해 10분 간 처리하였다. pH 7.6 Tris 완충액으로 5분 간 수세한 후 일차 항체인 bcl-2 (DAKO, Denmark, clon 124, mouse monoclonal antibody, 1:50), Ki-67 (DAKO, Denmark, clon MIB-1, mouse monoclonal antibody, 1:100), p53 (DAKO, Denmark, clon DO-7, mouse monoclonal antibody)을 30분 동안 실온에서 반응시킨 후 pH 7.6 Tris 완충액으로 수세한 후, EnVision (DAKO, Denmark)을 10분 동안 반응시켰다. pH 7.6 Tris 완충액으로 수세한 후, 발색제인 3,3-diaminobenzidine tetrachloride (DAB)를 사용하여 광학현미경으로 관찰하며 발색시켰다. Mayer hematoxylin으로 핵에 대조 염색을 실시한 후, Canada balsam으로 봉입 후 광학현미경 하에서 관찰하였다.

4) 면역조직화학염색의 평가 및 통계처리

염색된 조직을 광학현미경 하에서 bcl-2, Ki-67 및 p53의 발현 유무와 발현 양상을 관찰하였다. bcl-2 단백질의 면역조직화학적 반응은 종양세포의 세포막과 세포질에 강하게 염색된 경우에 한해서 악성세포의 세포질에 5% 이상의 발현이 있는 경우 양성으로 판정하였다. Ki-67과 p53은 악성세포의 핵에 적갈색의 과립이 보이는 세포들이 5% 이상 발현했을 때 양성으로 판독하였으며, 5% 미만의 경우 음성으로 판독하였다. 각각 염색반응이 30% 미만으로 발현된 경우를 약양성 (+), 30% 이상 발현한 경우를 강양성 (++)으로 구분하였다. 혈청 PSA와 연령 및 bcl-2, Ki-67, p53의 발현과 Gleason score 6과 9~10 등급과의 통계학적 분석은 SPSS Windows version 10.0 프로그램

Table 1. Comparison between Gleason score 6 group and 9~10 group in terms of Age and PSA

	Gleason score		Total No. (%)
	6 (n=25)	9~10 (n=25)	
Age (yrs)			
<60	3	3	6 (12.0)
60~69	10	11	21 (42.0)
≥70	12	11	23 (46.0)
Mean	69.68±8.7	69.52±9.9	50 (100.0)
PSA (ng/mL)	6 (n=22)	9~10 (n=22)	
<4.0	1	1	2 (4.5)
4~19	17	6	23 (52.3)
≥20	4	15	19 (43.2)
Mean	23.68±30.8	55.90±39.8*	44 (100.0)

*: P=0.03 (compared with Gleason score 6)
PSA: prostate specific antigen

을 이용하여, Pearson 상관관계수, Pearson 카이제곱을 이용하여 비교 분석하였으며, P 값이 0.05 미만인 경우 통계학적 유의성이 있다고 평가하였다.

결 과

1. 임상 및 병리학적 소견

환자의 연령과 PSA의 상관관계를 분석한 결과는 Table 1에서 요약한 바와 같이 Gleason score 6에서는 평균연령이 69.68±8.7세이고, Gleason score 9~10에서는 평균연령이 69.52±9.9세로 나타났다. Gleason score 6에서 60세 이하의 3예, 60세에서 69세 사이가 10예, 70세 이상이 12예로, 60세 이상이 88%를 차지하였고, Gleason score 9~10에서는 60세 이하가 3예, 60세에서 69세 사이가 11예, 70세 이상이 11예로, 60세 이상이 88%를 차지하였다. 따라서 연령에 의한 Gleason score 6과 9~10 사이의 구분은 통계적 유의성이 없었다. PSA 농도는 Gleason score 6에서는 정상범주인 4 ng/mL 이하가 1예, 4~19 ng/mL 사이가 17예, 20 ng/mL 이상이 4예를 차지하여 20 ng/mL 이상인 경우는 18.2%를 차지하였고, 평균 PSA 농도는 23.68±30.8 ng/mL으로 나타났으며, Gleason score 9 이상에서 정상범주인 4 ng/mL 이하의 1예, 4~19 ng/mL 사이는 6예, 20 ng/mL 이상인 경우는 15예로 20 ng/mL 이상인 경우는 68.2%를 차지하여 평균 PSA 농도는 55.90±39.8 ng/mL에서 Gleason score 6보다 통계적으로 유의하게 더 높았다 (P<0.05) (Table 1).

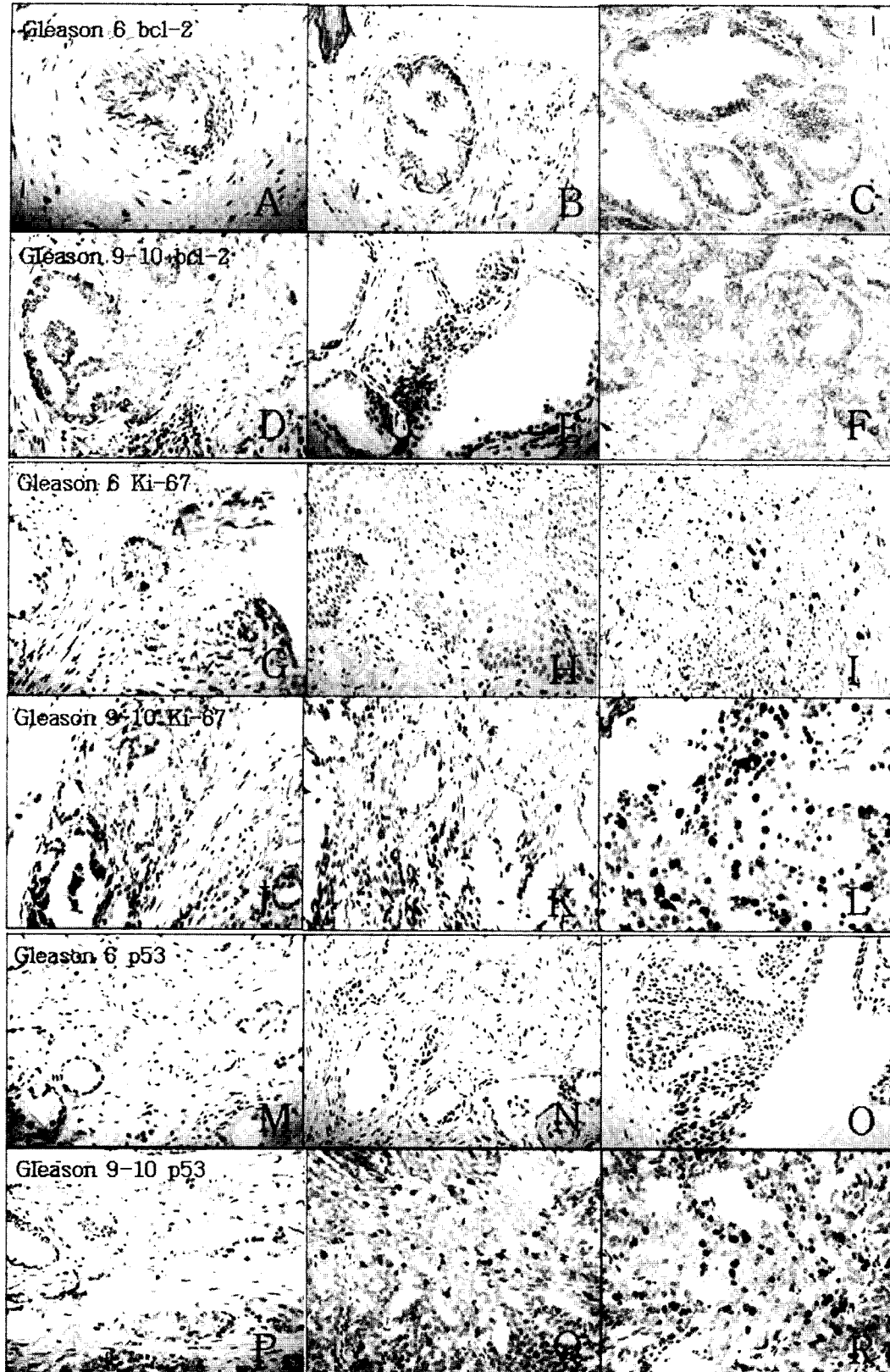


Fig. 1. The expressions of bcl-2, Ki-67 and p53 detected by immunohistochemistry in the prostate cancer tissues. Tumor cells showed negative, positive and strong positive response in bcl-2 on the cytoplasm of the Gleason score 6 group (A, $\times 400$; B, $\times 400$; C, $\times 400$) and Gleason score 9-10 group (D, $\times 400$; E, $\times 400$; F, $\times 400$). Tumor cells showed negative, positive and strong positive in Ki-67 on the nuclei of the Gleason score 6 group (G, $\times 400$; H, $\times 400$; I, $\times 400$) and Gleason score 9-10 group (J, $\times 400$; K, $\times 400$; L, $\times 400$). Tumor cells showed negative, positive and strong positive response in p53 on the nuclei of the Gleason score 6 group (M, $\times 400$; N, $\times 400$; O, $\times 400$) and Gleason score 9-10 group (P, $\times 400$; Q, $\times 400$; R, $\times 400$).

2. Gleason score에 따른 bcl-2, Ki-67, p53 발현 상관관계

Fig. 1의 N, O, Q, R에서 보는 바와 같이 p53은 종양세포의 핵에 강하게 발현되는데, Gleason score 9에서 양성으로 염색된 예는 전체 25예 중 16예에서, Gleason score 6

Table 2. Relationship of bcl-2, Ki-67 and p53 expression between Gleason score 6 group and 9-10 group

	Gleason score		Total No. (%)
	6 (n=25)	9~10 (n=25)	
bcl-2			
±	12	8	20 (40)
+	7	5	12 (24)
++	6	12	18 (36)
Positive (%)	13 (52)	17 (68)	50 (100)
P value	0.109		
Ki-67			
±	13	6	19 (38)
+	10	16	26 (52)
++	2	3	5 (10)
Positive (%)	12 (48)	19 (76)	50 (100)
P value	0.077		
p53			
±	18	9	27 (54)
+	7	8	15 (30)
++		8	8 (16)
Positive (%)	7 (28)	16 (64)	50 (100)
P value	0.001*		

*: Correlation is significant at the level of 0.05 ($P<0.05$)

에서는 전체 25예 중 7예에서 염색되었다. p53은 Gleason score 6과 9~10 사이에 통계학적인 유의성이 나타났다 ($P<0.05$) (Table 2).

Bcl-2는 종양세포의 세포질 내에 염색된 예가 Gleason score 9~10에서는 25예 중 17예에서 염색되었고 (Fig. 1. E, F), Gleason score 6에서는 25예 중 13예에서 염색되었다 (Fig. 1. B, C). Ki-67은 종양세포의 핵내에 발현된 예가 Gleason score 9~10에서는 25예 중 19예에서 염색되었고 (Fig. 1. K, L), Gleason score 6에서는 25예 중 12예에서 염색되었다 (Fig. 1. H, I). bcl-2와 Ki-67은 Gleason score 6과 9~10 사이에서 통계학적 유의성은 없었다.

3. Gleason score 9-10에서 bcl-2, p53 and Ki-67의 발현 상관관계

Gleason score 9~10에서 bcl-2, p53과 Ki-67의 발현 상관관계를 비교 분석해 본 결과 (Table 3), Fig. 1E, F에서 보는 바와 같이 bcl-2의 발현이 종양세포의 세포질내에 나타났으며, Fig. 1Q, R에서 보는 것처럼 p53의 발현이 종양세포의 핵내에 발현하여 bcl-2와 p53 사이에 통계적 유의성이 나타났다. bcl-2와 Ki-67의 발현 상관관계는 Fig. 1K, L에서 보여주듯이 Ki-67의 핵내 발현을 볼 수 있으나, bcl-2와는 상관관계가 인정되지 않았다. 반면에 p53과 Ki-67 사이에는 통계적 유의성이 인정되었다 ($P<0.05$) (Table 3). p53과 Ki-67 사이의 상관관계와 p53과 bcl-2 사이의 상관관계에서는 의의가 나타났지만 bcl-2와 Ki-67 사이에는 상관관계가 나타나지 않았음을 알 수 있었다.

Table 3. Correlations among expression level of bcl-2, p53 and Ki-67 in 25 case of Gleason score 9~10 group

	p53				bcl-2				Ki-67			
	±(%)	+(%)	++(%)	P	±(%)	+(%)	++(%)	P	±(%)	+(%)	++(%)	P
p53				-				0.010*				0.003*
±	-	-	-		6 (24)	1 (4)	2 (8)		6 (24)	2 (8)	1 (4)	
+	-	-	-		1 (4)	3 (12)	4 (16)			8 (32)		
++					1 (4)	1 (4)	6 (24)			6 (24)	2 (8)	
bcl-2				0.010*				-				0.358
±	6 (24)	1 (4)	1 (4)		-	-	-		4 (16)	3 (12)	1 (4)	
+	1 (4)	3 (12)	1 (4)		-	-	-			4 (16)	1 (4)	
++	2 (8)	4 (16)	6 (24)						2 (8)	9 (36)	1 (4)	
Ki-67				0.003*				0.358				-
±	6 (24)				4 (16)		2 (8)		-	-	-	
+	2 (8)	8 (32)	6 (24)		3 (12)	4 (16)	9 (36)		-	-	-	
++	1 (4)		2 (8)		1 (4)	1 (4)	1 (4)					

*: Correlation is significant at the 0.05 level ($P<0.05$)

Table 4. Correlations among expression level of bcl-2, p53 and Ki-67 in 25 case of Gleason score 6 group

	p53				bcl-2				Ki-67			
	±(%)	+(%)	++(%)	P	±(%)	+(%)	++(%)	P	±(%)	+(%)	++(%)	P
p53				-				0.001*				0.000*
±	-	-	-		12 (48)	4 (16)	2 (8)		13 (52)	5 (20)		
+	-	-	-			3 (8)	4 (16)			7 (28)		
++												
bcl-2				0.001*				-				0.015*
±	12 (48)				-	-	-		10 (40)	2 (8)		
+	4 (16)	3 (12)			-	-	-		1 (4)	6 (24)		
++	2 (8)	4 (16)							2 (8)	4 (16)		
Ki-67				0.000*				0.015*				-
±	13 (52)				10 (40)	1 (4)	2 (8)		-	-	-	
+	5 (20)	7 (28)			2 (8)	6 (24)	4 (16)		-	-	-	
++												

*: Correlation is significant at the 0.05 level ($P < 0.05$)

4. Gleason score 6 group에서 bcl-2, p53 and Ki-67의 발현 상관관계

Gleason score 6에서 bcl-2, p53, Ki-67의 발현관계를 비교 분석해 본 결과 (Table 4), Fig. 1B, C에서 보는 바와 같이 bcl-2의 발현이 세포질내에 나타났으며, Fig. 1H, I에서 보여 주듯 Ki-67이 핵내에 발현되었다. bcl-2와 Ki-67 사이에 상관관계가 인정되었으며, 또한 bcl-2와 p53 발현사이에 통계적 유의성이 있었다. Fig. 1N, O에서 보이는 바와 같이 p53이 핵내에 발현된 것을 볼 수 있었으며, Ki-67과 p53 사이에도 역시 통계적 유의성이 있었다 ($P < 0.05$) (Table 4).

고 찰

본 연구에서는 Gleason score를 연령별로 구분하면 전립선 선암종의 예후인자와 연관성이 없다는 기존의 보고 (Choi et al., 2001)와 일치한 결과로 Gleason score 6과 9~10 사이에 통계적 유의성은 보이지 않았다. 따라서 연령의 고령화와 전립선 선암종의 조직학적 분화도와는 연관성이 없는 것으로 사료된다.

Gleason score 수치는 혈청 전립선 특이항원농도와 통계적 유의성이 없다는 보고와 (Choi et al., 2001), 높은 Gleason score를 보이는 저분화도의 암종에서 혈청 PSA의 생산은 감소하지만, 전립선 선암종의 용적이 증가하므로, 이에 따른 PSA의 수치는 증가한다는 상이한 결과 보고 (Stamey et al., 1989)도 있다. Partin 등 (1990)은 높은

Gleason score를 보이는 전립선 선암종의 경우 단위 용적당 낮은 PSA의 생산을 보이기 때문에 같은 용적을 보이는 전립선 선암종이라도 서로 다른 PSA의 수치가 나타날 수 있어 PSA 단독으로 Gleason score를 예측하는 데는 한계가 있다고 보고하였다. 본 연구에서는 Gleason score 6에서 평균 PSA는 23.68 ng/mL이고 9~10에서는 55.90 ng/mL으로 Gleason score 9~10에서 더 높은 수치를 보여 통계적 유의성이 나타났다. 따라서 혈청 PSA 수치는 전립선 선암종의 발생 및 진행과 밀접한 관계가 있는 것으로 판단된다.

정상 조직에서 apoptosis는 유사분열과 함께 조직의 항상성 유지에 중요한 역할을 하며 (Korsmeyer et al., 1992), bcl-2 단백질은 apoptosis로부터 암세포를 보호하는 역할을 한다 (Finnegan et al., 2001). 전립선 선암종에서 bcl-2의 발현이 있을 경우 예후가 좋지 않으며 (Taniguchi et al., 1996), 침윤성 전립선암에서 bcl-2의 발현율은 Colombel 등 (1996)의 경우 62%, Borre 등 (2000)은 52%의 발현율을 보고하였다. 본 연구에서도 60%의 발현율을 나타내어 결과를 확인할 수 있었다. 그리고 Krajewska 등 (1996)은 Gleason score 8~10에서 41%의 발현율을 2~7 사이에서는 16%의 발현율을 보고하였는데, 본 연구에서는 Gleason score 6에서는 13예 (52%), 9~10에서는 17예 (68%)의 발현율을 나타내어 bcl-2의 발현율이 Gleason score 그룹을 나누는 데는 통계적 유의성은 없었다.

bcl-2와 Ki-67의 발현율을 비교 분석한 결과는 Gleason score 6에서는 정의 상관관계가 있었고 ($P < 0.05$) (Table 4), Gleason score 9~10에서는 상관관계가 없었다 ($P = 0.358$)

Table 3). Bcl-2와 p53 발현율을 비교했을 때 bcl-2와 p53 사이에 상관관계가 없다는 보고 (Lin et al., 2005)도 있으나, De Brasi (2000)의 보고에 따르면 bcl-2는 p53과 독립적으로 세포 고사 기전의 하류에 작용하기 때문에, 상호 연관성은 없으면서도 각각은 독립적인 예후 관련 인자로서의 의미를 가지고 또한 종양세포의 생존에 상보적인 역할을 한다. 본 연구에서도 Gleason score 6와 9~10 모두에서 bcl-2의 발현율에 따른 p53의 발현 상관관계에서 통계학적인 유의성이 나타났다 ($P<0.05$). 따라서 전립선암의 조직학적 등급을 bcl-2와 p53의 발현관계에 따라 구분할 수 있을 것으로 사료된다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하는 종양억제 유전자로 조직학적 등급 및 임상병기와 의미 있는 상관관계가 있으며 (Borre et al., 2000), p53의 발현율과 조직학적 분화도의 관계를 비교한 결과에 따르면 Gleason score 7 이상에서 20.8%, 6 이하에서 7.4%의 발현율 보고 (Kallakury et al., 1994)가 있었는데, 본 실험에서는 p53 발현율은 Gleason score 9~10에서는 64%의 발현율을 나타냈고, Gleason score 6에서는 28%를 보여 p53 발현율에 따라 Gleason 그룹을 분류할 수 있는 유의성이 인정되었다 ($P<0.05$). p53 단백질 발현율에 차이가 있는 것은 Gleason score를 나누는 등급에 따라 다를 수 있고, 고등급으로 갈수록 전립선 암종의 진행상 침윤과 전이가 발생하며 이는 p53 유전자의 발현과 관련이 있음을 시사하며, p53 유전자의 돌연변이 검출 방법의 차이, 연구 대상의 차이, 유전 및 지역 인구의 환경적 인자, 그리고 발현 여부의 판독적인 면에서 이러한 차이가 기여한다고 사료된다. Bookstein 등 (1993)은 비정상적인 p53의 핵내 축적은 종양의 임상적 병기와 관련성을 가지며 조기암인 경우 p53 대립형질의 변이는 낮지만 진행암의 20~25%에서는 증가하였다고 보고하였다. 그리고 Gleason score 2~4와 8~10 사이에서 p53의 발현율은 의미가 없고, 단지 Gleason score 2~4 사이에서 p53과 Ki-67의 발현율 사이가 의미 있는 상관관계가 있다는 보고 (Sasor et al., 2000)와 유사하게, 본 연구에서는 Gleason score 6과 9 이상에서 p53의 발현율에 통계학적 차이가 있었고, Ki-67의 발현에 따라 p53 발현이 Gleason score 6과 9~10 사이 모두에서 의미 있는 정의 상관관계가 있었다 ($P<0.05$). 이는 p53 유전자의 돌연변이가 종양세포의 증식을 일으키는 데 관여하는 것으로 판단되며, 전립선 암종에서 p53과 Ki-67의 발현관계가 조직학적 분화도와 밀접한 관계가 있을 것으로 사료된다.

Ki-67은 조직학적 분화도 및 임상병기와 관련성이 있으며 (Raymond et al., 1988), 종양내 발현율은 76%을 나타냈으나, 조직학적 분화도에 따른 차이는 없다는 보고 (Thompson et al., 1992)와, Gleason score 8~10과 5~7 group의 발현율 비교에서도 의미 있는 차이는 없었다는 보고 (Sasor et al., 2000)가 있다. 본 연구에서도 Ki-67의 발현율이 Gleason score 6에서는 48%, 9~10에서는 76%의 발현율을 나타냈으나, 그룹별 유의성은 인정되지 않았다. Ki-67의 발현율과 p53과 bcl-2의 발현율을 비교 분석한 결과는 p53과는 Gleason score 6과 9~10 사이 모두 통계적 유의성이 있었으며 ($P<0.05$), bcl-2와는 Gleason score 6에서만 통계적 유의성이 나타나 ($P<0.05$), bcl-2와 Ki-67의 발현 상관관계는 조직학적 분화도와 관계가 없는 것으로 판단된다.

종합적으로 Gleason score 6과 9~10 사이에 p53의 발현율에서 통계학적 유의성이 나타났으나, bcl-2와 Ki-67의 발현에서는 통계적 유의성은 없었지만 p53과의 발현 상관관계에서는 정의 상관관계가 인정되었다. 따라서 p53과 Ki-67, bcl-2은 모두 예후예측 표지인자로 사용하지만, 전립선 선암종에서는 p53 발현만이 독립적인 예후예측 인자로 나타났다. Gleason score가 높아질수록 p53의 발현이 증가하므로 전립선 선암종의 조기발견과 치료에 대한 보조적 지표로 활용할 수 있을 것으로 사료되며, bcl-2, Ki-67 발현은 다른 임상예후인자인 종양의 용적, 수술 전 PSA 수치, 림프 전이 등과 같이 사용할 수 있으나, 독립적으로 환자의 예후 표지인자로 사용할 수 없다고 판단된다. 본 연구에서 실시한 전립선암의 p53, Ki-67 및 bcl-2의 발현현상이 Gleason score 분류에 따른 예후예측 인자의 유용성 확인을 위해서 향후 더 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

REFERENCES

- Bairey O, Zimra Y, Shaklai M, Okon E, Rabizadeh E. Bcl-2, Bcl-X, Bax, and Bak expression in short-and long-lived patients with diffuse large B-cell lymphomas. Clin Cancer Res. 1999. 5: 2860-2866.
- Bookstein R, MacGrogan D, Hilsenbeck SG, Sharkey F, Allred DC. p53 is mutated in a subset of advanced-stage prostatic cancers. Cancer Res. 1993. 53: 3369-3373.
- Borre M, Stausbol-Gron B, Nerstrom B, Overgaard J. Immunohistochemical BCL-2 and Ki-67 expression predict survival

- in prostate cancer patients followed expectantly. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 1998, 5: 268-275.
- Borre M, Stausbol-Gron B, Overgaard J. p53 accumulation associated with bcl-2, the proliferation marker MIB-1 and survival in patients with prostate cancer subjected to watchful waiting. *J Urol.* 2000. 164: 716-721.
- Brown DC, Gatter KC. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathology* 1990. 17: 489-503.
- Choi Yoon La, Kim Sung Rim, Song Sang Yong, Choi Han Yong. Pathologic characteristics of korean prostatic adenocarcinoma: A mapping analysis of 60 cases. *Korean J Pathol.* 2001. 35: 35-40.
- Colombel M, Symmans F, Gil S, O'Toole KM, Chopin D, Benson M, Olsson CA, Korsmeyer S, Buttyan R. Detection of the apoptosis-suppressing oncoprotein bcl-2 in hormone-refractory human prostate cancers. *Am J Pathol.* 1993. 143: 390-400.
- De Brasi C, Narbaitz M, Rodriguez A, Larripa I, Slavutsky I. Bcl-2 molecular analysis in paraffin-embedded biopsies from diffuse large B-cell lymphomas. *Medicina* 2000. 60: 305-310.
- Egevad L, Granfors T, Karlberg L, Bergh A, Stattin P. Prognostic value of the Gleason score in prostate cancer. *BJU Int.* 2002. 89: 538-542.
- Finnegan NM, Curtin JF, Prevost G, Morgan B, Cotter TG. Induction of apoptosis in prostate carcinoma cells by BH3 peptides which inhibit Bak/Bcl-2 interactions. *Br J Cancer.* 2001. 85: 115-121.
- Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics 2000. *CA Cancer J Clin.* 2000. 50: 7-73.
- Hyun Chang Lim, Lee Hee Eun, Kim Haer Yung, Lee Hye Seung, Park So Yeon, Chung Jin Haeng, Choe Ghe Youn. Pathological analysis of 1,000 cases of transrectal ultrasoundguided systematic prostate biopsy: Establishment of new sample processing method and diagnostic utility of immunohistochemistry. *Korean J Pathol.* 2006. 40: 406-419.
- Isaacs WB, Bova GS, Morton RA, Bussemakers MJ, Brooks JD, Ewing CM. Molecular biology of prostate cancer. *Semin Oncol.* 1994. 21: 514-521.
- Jang Se Jin, Lee Jung Dal. Correlation between histologic differentiation and prognosis of prostate adenocarcinoma. *Korean. J Pathol.* 1990. 24: 243-253.
- Kallakury BV, Figge J, Ross JS, Fisher HA, Figge HL, Jennings TA. Association of p53 immunoreactivity with high Gleason tumor grade in prostatic adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 1994. 25: 92-97.
- Kim Suk Won, Kim Jong Kwon, Park Ro Jung. A clinical review on 33 cases of prostatic adenocarcinoma. *Korean J Urol.* 1993. 34: 252-257.
- Korsmeyer SJ. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: Regulators of cell death. *Blood* 1992. 80: 879-886.
- Krajewska M, Krajewski S, Epstein JI, Shabaik A, Sauvageot J, Song K, Kitada S, Reed JC. Immunohistochemical analysis of bcl-2, bax, bcl-X, and mcl-1 expression in prostate cancers. *Am J Pathol* 1996. 148: 1567-1576.
- Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1998. *CA Cancer J Clin.* 1998. 48: 6-29.
- Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1999. *CA Cancer J Clin.* 1999. 49: 8-31.
- Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991. 351: 453-456.
- Lin JT, Wang JS, Jiann BP, Yu CC, Tsai JY, Huang JK, Wu TT. Correlation of p53 protein accumulation and Bcl-2 overexpression with histopathological features in prostatic cancer. *J Formos Med Assoc.* 2005. 104: 864-867.
- Lu QL, Abel P, Foster CS, Lalani EN. bcl-2: Role in epithelial differentiation and oncogenesis. *Hum Pathol.* 1996. 27: 102-110.
- Milner J. Forms and functions of p53. *Semin Cancer Biol.* 1994. 5: 211-219.
- Niu HL, Tao Y. Recent advances on molecular pathology of prostate carcinoma. *Ai Zheng* 2003. 22: 552-556.
- Partin AW, Carter HB, Chan DW, Epstein JI, Oesterling JE, Rock RC, Weber JP, Walsh PC. Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol.* 1990. 143: 747-752.
- Raymond WA, Leong AR, Bolt JW, Milios J, Jose JS. Growth fractions in human prostatic carcinoma determined by ki-67 immunostaining. *J Pathol.* 1988. 156: 161-167.
- Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol.* 1994. 124: 1-6.
- Sasor A, Wagrowska-Danilewicz M, Danilewicz M. Ki-67 antigen and P53 protein expression in benign and malignant prostatic lesions. Immunohistochemical quantitative study. *Pol J Pathol.* 2000. 51: 31-36.
- Shi XB, Nesslinger NJ, Deitch AD, Gumerlock PH, deVere White RW. Complex functions of mutant p53 alleles from human prostate cancer. *Prostate* 2002. 51: 59-72.
- Stamey TA, Kabalin JN. Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. I. Untreated patients. *J Urol.* 1989. 141: 1070-1075.

Takahashi T, Nau MM, Chiba I, Birrer MJ, Rosenberg RK, Vinocour M, Levitt M, Pass H, Gazdar AF, Minna JD. p53: A frequent target for genetic abnormalities in lung cancer. *Science* 1989. 246: 491-494.

Taniguchi J, Moriyama N, Kurimoto S, Kameyama S, Kawabe K. Histochemical detection of intranuclear DNA fragmentation

and its relation to the expression of bcl-2 oncoprotein in human prostatic cancer. *Br J Urol.* 1996. 77: 719-723.

Thompson SJ, Mellon K, Charlton RG, Marsh C, Robinson M, Neal DE. p53 and Ki-67 immunoreactivity in human prostate cancer and benign hyperplasia. *Br J Urol.* 1992. 69: 609-613.