

## 위선암에서 p53과 bcl-2의 발현이 예후와 생존율에 미치는 영향

분당제생병원 외과, <sup>1</sup>병리과

홍종현 · 신동우 · 백소야<sup>1</sup> · 김일동 · 김기호 · 박진수 · 서병선 · 김상욱 · 임혜인

**목적:** 세포자멸사의 중요인자인 p53과 bcl-2의 개별발현 및 동시 발현이 갖는 위선암의 예후 인자로서의 역할과 생존율에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

**대상 및 방법:** 1999년 12월에서 2007년 7월까지 위선암으로 분당제생병원 외과에서 근치적 위절제술을 시행 받은 238명의 환자들을 대상으로 자료의 후향적 분석을 시행하였다. p53과 bcl-2의 발현은 DAKO사의 Envision kit로 면역조직화학 염색을 하여 발현군을 양성으로 정의하였다.

**결과:** 전체 환자 중 p53은 149예(62.5%)에서 발현되었으며, 다른 임상병리학적 예후 인자와의 상관관계를 조사한 결과 세포분화도(P=0.028), TNM 병기(P<0.001)에서 유의성을 나타냈다. bcl-2은 29예(12.2%)가 발현되었으며, TNM 병기(P=0.005)에서 유의성을 나타냈다. 단변량 생존율 분석을 통해 p53과 bcl-2는 생존율 감소에 영향이 있으며, 다변량 생존율 분석을 통해 p53은 독립적 예후 인자로서의 확인되었다. 또한 두 단백질의 동시 발현군도 TNM 병기(P=0.002)와 의미 있는 상관관계를 보였으며, 개별 발현 때보다 동시 발현 시 유의한 생존율 감소를 보였다(P<0.001).

**결론:** p53과 bcl-2의 개별 발현은 나쁜 예후를 나타내며, 이들의 동시 발현은 더욱 나쁜 예후를 나타냈다. 그러나 bcl-2는 다변량 분석에서 독립 예후인자로서 의미는 부족하여 더 많은 분석을 통해 명확히 할 필요가 있겠다.

**중심 단어:** 위선암, p53, bcl-2, 예후 인자

조절인자 또는 암유전자(oncogene)나 종양억제유전자(tumor suppressor gene) 등이 있으며, 이 중 p53과 bcl-2는 위선암에서 암세포의 세포자멸사(apoptosis)와 증식(proliferation)에 관여하여 암 진행 과정을 조절하는 중요한 유전자로 알려져 있다.(3) 여러 연구를 통해 이들 분자생물학적 인자들의 발현이 암종의 예후에 미치는 영향에 대해 보고되어 왔으며 위암(4,5)을 비롯해 폐암,(6) 대장, 직장암,(7,8) 유방암,(9) 담도암,(10) 담낭암(11) 등에서 p53의 발현이 환자의 나쁜 예후와 관련 있다고 보고되었다. 또한 bcl-2 역시 폐암,(6,12) 대장암,(7,8,13) 유방암,(9) 위암(14-17) 등에서 연구가 이뤄졌으나 이들이 암종에 미치는 예후에 대해서는 의견이 일치하지는 않는다. 이에 본 연구자 등은 본원의 자료를 바탕으로 위선암에서 p53과 bcl-2의 발현과 기존의 임상병리학 예후 인자가 갖는 상관관계 및 생존율에 미치는 영향에 대해 분석하여 이들 분자생물학적 인자들의 위선암의 예후에 미치는 의미를 명확히 규명해 보고자 하였다. 또한 p53과 bcl-2이 동시 발현했을 때 위선암의 예후에 미치는 영향에 대해서도 알아보고자 하였다.

### 대상 및 방법

#### 1) 대상

1999년 12월에서 2007년 7월까지 분당제생병원 외과에서 위선암으로 근치적 위 전절제술 및 위 아전절제술을 시행 받은 위선암 환자 238예를 대상으로 의무기록을 통해 나이, 성별, 종양의 크기, 위치, UICC TNM 병기, Lauren 분류법, 세포분화도와 같은 임상병리학적 인자를 후향적으로 조사하였다. 종양의 크기는 장경을 기준으로 조사하였으며 평균 길이는 4.55 cm였으나 비교하기 쉽게 5 cm를 기준으로 두 그룹으로 나누었다. 종양의 발생 부위는 위 상부 1/3, 위 중부 1/3, 위 하부 1/3, 위 전벽으로 분류하였다. 환자를 Lauren 분류에 따라 장형, 미만형, 혼합형으로 분류하였다. 제5판 UICC 규약에 따라 위벽 침윤도는 T1에서 T4로 분류하였고, 림프절 전이는 N0에서 N3로 분류하였으며, 원격 전이는 M0과 M1으로 분류하여 병기를 결정하였다.(18) 전체 238예의 추적 관찰 기간은 2~92개월(중간값: 45±25.2)이었다. 추적 검사 방법은 본원 의무기록의 사망 내용 및 국립암센터 암등록사업소의 협조를 얻어 등록된 사망 자료

### 서 론

세포자멸사는 세포사(cell death)의 주된 발생 기전으로 조직의 항상성, 세포분화 및 발생에 중요한 역할을 하는데, 이런 세포자멸사 조절의 이상은 사람에서 퇴행성 질환, 암, 백혈병 등의 질병을 유발시킨다.(1) 암세포는 정상세포에 비해 생리적 자극에 의해 세포자멸사가 잘 유발되지 않는 특성이 있으며, 이런 특성은 종양 발생, 종양의 성장 및 전이에도 중요한 역할을 한다.(2)

이러한 세포자멸사와 관련된 종양유전자에는 세포주기

책임저자: 신동우, 경기도 성남시 분당구 서현동 255-2  
대진의료재단 분당제생병원 외과, 463-774  
Tel: 031-779-0182, Fax: 031-776-0176  
E-mail: shin519@dmc.or.kr

투고일(2009년 7월 14일), 수정일(1차: 2009년 8월 17일),  
게재확정일(2009년 9월 2일)

를 참조하였으며, 사망 여부가 확인되지 않은 환자와 위선암 이외의 원인으로 사망한 경우는 제외하였다.

2) 면역 조직화학 염색

파라핀에 포매된 조직을 3 μm의 두께로 연속 박절한 후 xylene으로 파라핀을 제거하였고 순차적으로 100%, 95%, 75% 알코올로 처리하고 증류수로 세척하였다. 구연산 완충액(pH 6.0)에 조직 슬라이드를 넣고 121°C에서 10분간 전기압력오븐으로 끓인 후 실온에서 약 20분간 식혔다. 이를 증류수로 세척한 후 3% 과산화수소-무수 메탄올로 내인성 과산화분해효소의 활성을 억제시켰다. Tris buffered saline (TBS)으로 수세한 후 일차항체를 25°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 일차항체는 p53 (DAKO, Glostrup, Denmark, 1 : 40), bcl-2 (DAKO Glostrup, Denmark, 1 : 50)을 사용하였다. 이차항체는 Envision kit (DAKO, Glostrup, Denmark)를 실온에서 30분간 부착시킨 후 Tris buffered saline (TBS)로 3회 세척하였으며 검출제는 streptavidin이 부착된 Mouse radish peroxidase를 이용하여 biotin-avidin 특이 결합을 유도하였다. 그리고 Diaminobenzidine (DAB) 용액으로 5~10분간 발색 과정을 거친 후 Mayer hematoxylin으로 대조 염색해 광학 현미경으로 관찰하였다(×400).

3) 면역조직화학 염색의 판정

면역조직화학염색의 판정은 한 명의 병리 전문의가 하였다. p53 (Fig. 1)발현은 상피세포의 핵에 국한되며, bcl-2 (Fig. 2)는 세포질이 갈색으로 염색된다. 이들을 슬라이드 관찰하여 염색이 잘된 부위를 선정해 갈색으로 염색된 비율에 따라 0: negative, 1+: <10%, 2+: 10~50%, 3+: 51~80%, 4+: >80%로 구분하여 자료를 수집하였고, 발현이 안되었으면 음성군으로 판정했으며, 발현된 세포가 관찰될 경우 양성군으로 정의하였다.

4) 통계방법

분자생물학적 인자의 면역조직화학 염색 결과와 임상병리학적 인자들을 Pearson Chi-square Test를 통해 교차분석을 시행하였고, Fisher's Exact Test로 검정하였다. 생존율은 Kaplan-Meier 방법으로 계산하였으며 Log-Rank test로 비교하였다. 또한 다변량 분석은 Cox regression법을 사용하였고, 모든 통계 처리는 Windows용 SPSS Statistics version 15.0을 사용하였다. 통계적 유의성은 P값이 0.05 이하인 경우로 하였다.

결 과

1) 대상 환자의 특성(Table 1)

전체 238예의 위선암 환자의 연령 분포는 35세에서 95세까지였으며 평균 연령은 64.8±12.03세였다. 남자는 151예(63.4%), 여자가 87예(36.6%)로 남녀의 성비는 1.74 : 1이었으며, 수술의 방법에 따라 위 아전절제술 173예(72.7%), 위 전절제술 65예(27.3%)가 시행되었다. 절제된 위에서 위선암의 크기가 5 cm 이하는 156예(65.5%), 5 cm 이상인 경우는 82예(34.5%)였다. 종양의 발생 부위는 위 상부 1/3이 92예(38.7%), 위 중부 1/3이 107예(45.0%), 위 하부 1/3이 31예(13.0%), 위 전벽 8예(3.3%)였다. UICC TNM 병기에 따라 stage I은 101예(42.4%), stage II는 42예(17.6%), stage III는 62예(26.1%), stage IV는 33예(13.9%)였다. Lauren 분류법에 의해 장형은 111예(46.6%), 미만형은 64예(26.9%), 혼합형은 63예(26.5%)로 분류하였으며 세포분화도는 고분화암에서 35예(14.7%), 중등도 분화암은 76예(31.9%), 저분화암은 127예(53.4%)였다. p53은 55예에서 1+, 18예에서 2+, 22예에서 3+, 54예에서 4+가 발현되어, 총 149예(62.6%)에서 발현되었고, 89예(37.4%)에서 발현되지 않았다. bcl-2의 경우

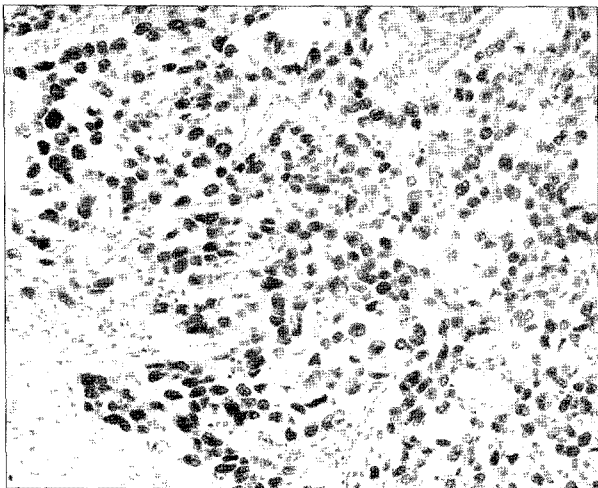


Fig. 1. Immunohistochemical staining for p53 proteins (×400).



Fig. 2. Immunohistochemical staining for bcl-2 proteins (×400).

**Table 1.** 5-year survival rate according to clinico-pathologic features

	No. of patients (%)	5-YSR (%)	P-value
Age			<0.001
≤65	56 (23.5)	90+	
>65	182 (76.5)	63+	
Sex			NS
Male	151 (63.4)	69+	
Female	87 (36.6)	69+	
Size			NS
≤5 cm	156 (65.5)	71	
>5 cm	82 (34.5)	70	
Location			NS
Lower 1/3	92 (38.7)	71	
Mid 1/3	107 (45.0)	70	
Upper 1/3	31 (13.0)	63	
Whole	8 (3.3)	63	
Differentiation			0.012
WD	35 (14.7)	91	
MD	76 (31.9)	71	
PD	127 (53.4)	64	
Lauren's classification			NS
Intestinal	111 (46.6)	75	
Diffuse	64 (26.9)	67	
Mixed	63 (26.5)	66	
Tissue invasion			<0.001
T1	91 (38.2)	90	
T2	36 (15.1)	91	
T3	102 (42.9)	53	
T4	9 (3.8)	11	
Lymph node metastasis			<0.001
N0	115 (48.4)	89	
N1	62 (26.0)	71	
N2	40 (16.8)	41	
N3	21 (8.8)	12	
Distant metastasis			<0.001
M0	223 (93.7)	74	
M1	15 (6.3)	7	
UICC TNM stage			<0.001
Stage I	101 (42.4)	93	
Stage II	42 (17.6)	78	
Stage III	62 (26.1)	58	
Stage IV	33 (13.9)	14	
p53			<0.001
Negative	89 (37.4)	86	
Positive	149 (62.6)	58	
bcl-2			0.001
Negative	208 (87.8)	72	
Positive	29 (12.2)	49	

WD = well differentiation; MD = moderate differentiation, PD = poorly differentiation.

**Table 2.** Correlation of p53 protein expression with clinicopathological features

	p53		P-value
	+	-	
Age			NS
≤65	31 (20.8%)	25 (28.1%)	
>65	118 (79.2%)	64 (71.9%)	
Sex			NS
Male	101 (67.8%)	50 (56.2%)	
Female	48 (32.2%)	39 (43.8%)	
Size			NS
≤5 cm	103 (69.1%)	53 (59.6%)	
>5 cm	46 (30.9%)	36 (40.4%)	
Location			NS
Lower 1/3	52 (34.9%)	40 (44.9%)	
Mid 1/3	74 (49.7%)	33 (37.1%)	
Upper 1/3	19 (12.8%)	12 (13.5%)	
Whole	4 (2.7%)	4 (4.5%)	
Lauren's classification			NS
Intestinal	69 (46.3%)	42 (47.2%)	
Mixed	48 (32.2%)	15 (16.9%)	
Diffuse	32 (21.5%)	32 (36.0%)	
Differentiation			0.028
WD	15 (10.1%)	20 (22.5%)	
MD	52 (34.9%)	24 (27.0%)	
PD	82 (55.0%)	46 (50.6%)	
Tissue invasion			0.002
T1	49 (32.9%)	42 (47.2%)	
T2	16 (10.7%)	20 (22.5%)	
T3	78 (52.3%)	24 (27.0%)	
T4	6 (4.0%)	3 (3.4%)	
Lymph node metastasis			<0.001
N0	57 (38.3%)	58 (65.2%)	
N1	43 (28.9%)	19 (21.3%)	
N2	30 (20.1%)	10 (11.2%)	
N3	19 (12.8%)	2 (2.2%)	
Distant metastasis			NS
M0	137 (91.9%)	86 (96.6%)	
M1	12 (8.1%)	3 (3.4%)	
UICC TNM stage			<0.001
Stage I	50 (33.6%)	51 (57.3%)	
Stage II	24 (16.1%)	18 (20.2%)	
Stage III	47 (31.5%)	15 (16.9%)	
Stage IV	28 (18.8%)	5 (5.6%)	

WD = well differentiation; MD = moderate differentiation; PD = poorly differentiation.

26예에서 1+, 3예에서 2+가 발현되어 총 29예(12.2%)에서 발현되었고 209예(87.8%)에서 발현되지 않았다. 또한 대상 환자 238명 중 2007년 12월 30일까지 사망한 환자는 68명 (28.6%)이었다.

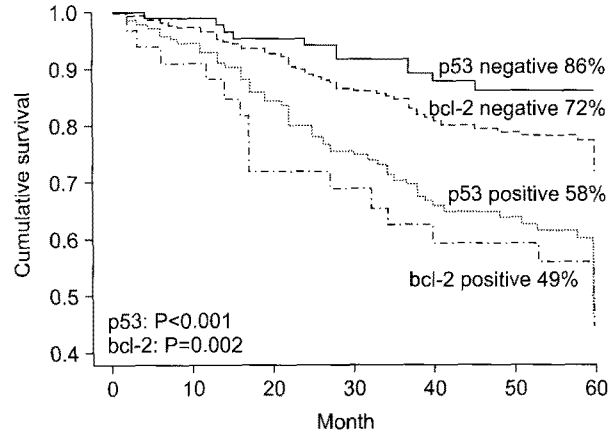
**Table 3.** Correlation of bcl-2 protein expression with clinico-pathological features

	bcl-2		P-value
	+	-	
Age			NS
≤ 65	5 (17.2%)	51 (24.4%)	
> 65	24 (82.8%)	158 (75.6%)	
Sex			NS
Male	20 (69.0%)	131 (62.7%)	
Female	9 (31.0%)	78 (37.3%)	
Size			NS
≤ 5 cm	19 (67.9%)	139 (66.5%)	
> 5 cm	10 (32.1%)	70 (33.5%)	
Location			NS
Lower 1/3	6 (20.7%)	86 (41.1%)	
Mid 1/3	18 (62.1%)	89 (42.6%)	
Upper 1/3	4 (13.8%)	27 (12.9%)	
Whole	1 (3.4%)	7 (3.3%)	
Lauren's classification			NS
Intestinal	13 (44.8%)	98 (46.9%)	
Mixed	9 (31.0%)	54 (25.8%)	
Diffuse	7 (24.1%)	57 (27.3%)	
Differentiation			NS
WD	2 (6.9%)	33 (15.8%)	
MD	11 (37.6%)	65 (31.1%)	
PD	16 (55.2%)	111 (53.1%)	
Tissue invasion			0.004
T1	4 (13.8%)	87 (41.6%)	
T2	3 (10.3%)	33 (15.8%)	
T3	19 (65.5%)	83 (39.7%)	
T4	3 (10.3%)	6 (2.9%)	
Lymph node metastasis			NS
N0	9 (31.0%)	106 (50.7%)	
N1	9 (31.0%)	53 (25.4%)	
N2	7 (24.1%)	33 (15.8%)	
N3	4 (13.8%)	17 (8.1%)	
Distant metastasis			0.010
M0	24 (82.8%)	199 (95.2%)	
M1	5 (17.2%)	10 (4.8%)	
UICC TNM stage			0.023
Stage I	6 (20.7%)	95 (45.5%)	
Stage II	4 (13.8%)	38 (18.2%)	
Stage III	13 (44.8%)	49 (23.4%)	
Stage IV	6 (20.7%)	27 (12.9%)	

WD = well differentiation; MD = moderate differentiation, PD = poorly differentiation.

**2) p53, bcl-2의 발현과 임상병리학적 인자와의 상관관계(Table 2, 3)**

(1) **성별 및 연령:** p53은 남자에서 101예, 여자에서 48예에서 발현을 보였으며, bcl-2은 남자 20예, 여자 9예에서 발



**Fig. 3.** Survival curves according to the status of p53 and bcl-2 expression in gastric adenocarcinoma.

현을 보여 모두 남자에서 발현 빈도가 높았으나 통계학적 유의성은 없었다. 환자의 연령 또한 고령의 경우 두 단백질 발현이 나타났으나 통계적 유의성은 없었다.

(2) **크기 및 종양의 위치:** 종양의 크기와 두 단백질 발현과는 상관관계의 유의성이 없었고 종양의 발생 부위와 두 단백질 발현과도 상관관계의 유의성이 없었다.

(3) **종양의 조직학적 분류:** 조직분화도에 따라 고분화암이 35예(14.7%), 중등도 분화암이 76예(31.9%), 저분화암이 127예(53.4%)로 저분화암의 비율이 가장 높았으며, 조직분화도와 두 단백질 발현과는 유의한 상관관계가 없었다.

(4) **Lauren 분류:** Lauren 분류와 두 단백질 발현과는 유의한 상관관계가 없었다.

(5) **조직의 침윤도(T):** 종양의 위벽 침윤도가 깊어질수록 p53 (P=0.002)와 bcl-2 (P<0.001)은 발현 빈도가 높았다.

(6) **림프절 전이(N):** 전체 위선암 환자에서 N0는 115예(48.3%), N1은 62예(26.1%), N2는 40예(16.8%), N3가 21예(8.8%)로 N0인 경우가 가장 많았다. 평균 절제된 림프절 개수는 31.51개였고, 평균 전이된 림프절 개수는 4.92개였다. 교차분석 결과 림프절 전이가 많을수록 p53 (P<0.001)와 bcl-2 (P=0.046)은 모두 발현 빈도가 높았다.

(7) **원격 전이(M):** p53은 원격 전이와 통계적 유의성은 없었고(P=0.150), bcl-2는 원격 전이가 있을 때 발현 빈도가 높았다(P=0.010).

(8) **UICC TNM 병기:** 전체 위선암 환자에서 UICC TNM 병기법에 따라 병기를 분류하였으며, stage I이 101예(42.4%), stage II가 42예(17.6%), stage III가 62예(26.1%), stage IV가 33예(13.9%)였다. 교차분석 결과 TNM 병기가 높아질수록 p53 (P<0.001)과 bcl-2 (P=0.005) 모두에서 발현 빈도가 높았다.

3) 생존율 분석

전체 위선암 환자 238예의 5년 생존율은 69%였다. p53과 bcl-2를 비롯해 본 연구에 포함된 여러 가지 임상병리 예후 인자를 Kaplan-Meier법으로 누적 생존율을 구하여 Log-rank test로 비교하였다. p53은 5년 생존율은 미발현군에서 86%와 발현군에서 58%였으며(P<0.001), bcl-2의 5년 생존율은 미발현군에서 72%와 발현군에서 49%였다(P=0.001)(Fig. 3). 또한 성별, 종양의 크기, 종양의 위치, Lauren 분류법은 통계적 유의성을 보이지 않은 반면(P>0.05), 나머지 임상병리 예후 인자들은 생존율의 감소에 영향을 미치는 것으로 나타났다(Table 1). 그러나 단변량 분석에서 의의가 없는 인자를 제외하고 Cox proportional hazard model을 이용한 다변량 분석 결과 조직의 침윤(P=0.006), 림프절 전이(P<0.001), 원격 전이(P<0.001), p53 (P=0.033), 나이(P=0.014)만 독립적인 예후 인자로서 가치가 있었다. 특히 p53의 발현이 발현되지 않은 군에 비해 사망의 위험성이 약 2배 높았다(Table 4).

(1) p53, bcl-2 동시 발현군과 생존율과의 관계: p53과 bcl-2 동시 발현군과 상관관계의 확인을 위해서 위선암의 독립적 예후 인자며, 현재 가장 강력한 예후평가 방법인 UICC TNM 병기와 교차 분석을 하였다. 그 결과 병기가 높을수록 p53과 bcl-2가 동시 발현된 경우가 많았다(P=0.002)(Table 5). 또한 동시 발현 그룹의 5년 생존율을 구한 결과 p53/bcl-2의 발현이 (-/-)일 때 87%, (-/+ )일 때 67%, (+/-)일 때 61%, (++)일 때 47%로 두 인자의 동시 발현은

생존율의 현격한 감소를 나타내었다(P<0.001)(Fig. 4).

고찰

위암에서 예후에 미치는 임상병리학적 인자에 대해서는 이미 여러 연구를 통해 종양의 크기, 위치, 육안형, 위벽 침윤도, 림프절 전이 정도, 원격 전이 유무, 조직형, 림프관 침윤 여부, 혈관 침윤 여부 등과 같은 종양 관련 인자와 근치적 절제 여부, 수술방법, 림프절 절제 정도, 합병절제 여부, 수혈, 보조적 항암화학요법 등과 같은 치료관련 인자들이 예후와 관련 있다고 보고되었다.(18,19) 그러나 이러한 임상병리학적 인자들 외에 최근 분자생물학적 인자에 대한 연구로 유전적 불안정성이나 세포주기 조절인자 또는 암유전자(oncogene)나 종양 억제 유전자(tumor suppressor gene) 등에 대한 연구도 보고되고 있다.(4-8) 특히 위암의 발생 및 진행과 관련 있는 종양 유전자는 c-met, K-sam, erbB-2, TGF- $\alpha$ , EGF, Cyclin E, MTS1 및 bcl-2 등이 있고 종양 억제 유전자로는 APC, DCC와 p53 등이 보고되고 있다.(3,20)

인간 p53 종양 억제 유전자는 염색체 17p13에 위치하며 전사조절인자로서 563 kDa의 인 단백질을 합성하며, 그 기능은 세포주기의 'check point'로써 DNA가 손상된 세포를

Table 4. Multivariate analyses showing independent prognostic factors in patients with gastric adenocarcinoma (n=238)

	R.R. <sup>†</sup>	95% C.I.*		P-value
		Lower	Upper	
T	1.705	1.162	2.502	0.006
N	1.709	1.302	2.244	<0.001
M	3.358	1.724	6.539	<0.001
p53	2.082	1.060	4.091	0.033
Age	3.599	1.290	10.038	0.014

\*C.I. = confidence interval of ratio risk; <sup>†</sup>R.R. = ratio of risk (exponential coefficient).

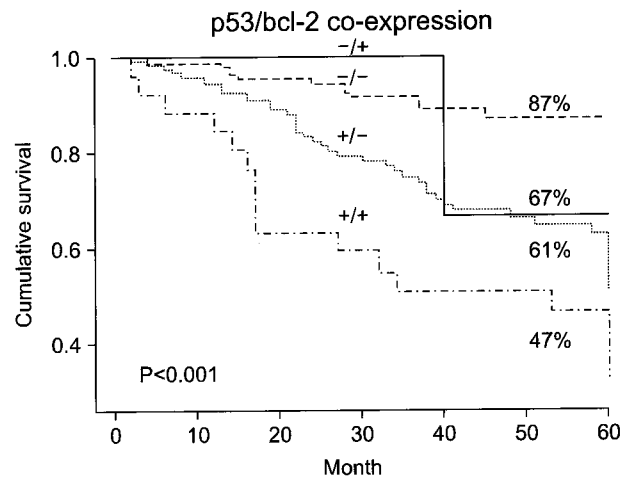


Fig. 4. Survival curves according to the combined p53 and bcl-2 in gastric adenocarcinoma.

Table 5. Relation between UICC TNM staging and expression of p53/bcl-2 in gastric adenocarcinoma (n=238)

UICC TNM stage		p53/bcl-2 co-expression				P-value
		-/-	-/+	+/-	+/+	
Stage I	Stage I	50 (58.1%)	1 (33.3%)	45 (36.6%)	5 (19.2%)	0.002
	Stage II	17 (19.8%)	1 (33.3%)	21 (17.1%)	3 (11.5%)	
	Stage III	14 (16.3%)	1 (33.3%)	35 (28.5%)	12 (46.2%)	
	Stage IV	5 (5.8%)	0 (0%)	22 (17.9%)	6 (23.1%)	

G1-S phase에서 성장을 멈추게 하거나 세포자멸사(apoptosis)를 유발하도록 하는 것으로 알려져 있다. 따라서 이 유전자의 변이가 일어날 경우 성장 능력의 변화를 초래하는 단백질을 생성하며, 이로 인해 악성 종양이 발생하는 것으로 알려져 있다.(3) 여러 연구에서 위암에서 p53의 발현은 장형에서 발현 빈도가 높기는 하지만 단일 예후인자로서 가치가 없다는 보고(4)가 있고, 종양의 위치가 상부에 있을 때 및 림프절에 전이가 되었을 때 발현율이 높다는 보고(5)도 있으며, 조기 위암보다 진행성 위암에서 발현율이 높고 조직학적으로는 분화도가 높은 암에서 발현율이 높으나 암의 진행 정도와는 관계가 없다는 보고(21) 등이 있다. 종양 유전자인 bcl-2는 염색체 18번에 위치하는 원시 종양유전자로 26-KD의 단백질을 합성하며 그 기능은 세포자멸사의 potential blocker로서 최종단계에 작용하여 종양세포를 세포 주기의 G0/G1 phase에 정지시키거나 APO-1/Fas 항체를 통한 세포자멸을 막아 생존을 연장시키는 것으로 알려져 있다.(1,13) 여러 연구에서 bcl-2가 세포자멸사를 억제하고 세포의 수명을 연장시키며 다른 이차적인 암유전자와 함께 종양 형성에 기여함으로써 bcl-2 발현이 암의 예후에 나쁜 영향을 끼친다고 하였으며, 폐암,(6) 대장암,(7,8) 유방암(9) 등 암종에서 이러한 부정적 영향에 대해 보고하였다. 그러나 Müller 등(14)은 장형에서 발현율이 높고 저분화암이 높은 발현율을 보였으며 조직의 침윤 및 혈관과 림프관 침범은 관련이 없다고 보고(14)했으며, Lauwers 등(15)은 위선암에서 발현율은 관련 있으나 종양의 진행과 활동성 및 생존율과는 관련이 없다고 보고했다. 또한 Pezzella 등(12)은 폐암에서, Manne 등(13)은 대장암에서, 그리고 Inada 등(16)과 Aizawa 등(17)은 진행성 위암에서 오히려 bcl-2의 발현이 높을수록 낮은 apoptotic index와 관련 있었으며, 좋은 예후와 의미가 있다고 보고하였다. 이는 bcl-2가 세포자멸사를 억제하는 역할을 하지만 그와 함께 세포의 증식도 억제하는 역할도 하기 때문인 것으로 생각한다. 본 연구에서 p53의 발현은 조직 분화도, 조직의 침윤 깊이, 림프절 전이 그리고 UICC TNM 병기에서 발현율의 증가를 보였으며, bcl-2의 발현은 원격 전이와 UICC TNM 병기에서 유의한 발현율의 증가를 나타냈다. 특히 이들이 여러 예후 인자들과 의미 있는 상관관계를 나타냈을 뿐 아니라 현재 강력한 예후 인자로 알려져 있으며, 예후 평가에 가장 많이 사용하고 있는 UICC TNM stage와(22) p53과 bcl-2의 발현이 유의한 상관관계를 보인 것이 이들의 예후인자로서의 가치를 평가하는데 중요하였다.

전체 환자 238예의 전체 5년 생존율은 69%였으며 성별, 종양의 크기, 종양의 위치, Lauren 분류법이 통계적 유의성을 보이지 않은 반면( $P>0.05$ ), 나머지 임상병리 예후 인자들이 생존율의 감소에 영향을 미치는 것을 확인하였다(Table 1). p53과 bcl-2의 5년 생존율 또한 각각 발현 시에 의미 있는 생존율의 감소를 보였지만 Cox proportional

hazard model을 이용한 다변량 생존 분석 결과 조직의 침윤( $P=0.006$ ), 림프절 전이( $P<0.001$ ), 원격 전이( $P<0.001$ )를 포함해, 나이( $P=0.014$ )가 독립적 예후 인자였으며, p53의 발현 역시 독립적인 예후 인자( $P=0.033$ )로서 통계적 의미가 있음을 알 수 있었다. 또한 p53 단백질이 발현된 환자의 경우 p53 단백질이 발현되지 않은 군에 비해 사망의 위험성이 약 2배 높았다(Table 4). 그러나 bcl-2는 독립적 예후 인자로 통계적으로 유의하지 않았다.

세포자멸사의 진행 과정 중 p53과 bcl-2는 서로 매우 밀접하게 연관되어 있다. Haldar 등(23)은 유방암에서 p53 변이형이 과발현될 때 bcl-2는 down regulation된다고 보고하였고, Hurlimann 등(24)과 Watson 등(25)은 유방암과 대장암에서 p53과 bcl-2 발현이 서로 반대의 작용을 한다고 보고하였다. 본 연구 결과 p53과 bcl-2의 개별 발현은 위선암의 예후에 각각 나쁜 영향이 있음을 확인하였으며, 이를 바탕으로 두 분자생물학적 인자가 동시 발현되었을 때 예후에 미치는 영향에 대해서 연구하여 보았다. 우선 UICC TNM 병기와 상관관계 분석을 통해 병기가 높아질수록 p53과 bcl-2의 동시 발현율이 증가한다는 것을 확인하였다( $P=0.002$ ) (Table 5). 이를 토대로 p53과 bcl-2의 동시 발현군에 대한 단변량 생존율 분석을 하였으며, 그 결과 p53(-)/bcl-2(-)의 5년 생존율은 87%이며, p53(+)/bcl-2(-)의 5년 생존율은 67%이며, p53(-)/bcl-2(+), 5년 생존율이 17%인 것과 비교해, 모두 발현된 p53(+)/bcl-2(+), 5년 생존율이 47%로 생존율의 현저한 감소를 나타냈다. 또한 모두 미발현된 군에서의 생존율 또한 87%로 개별 발현군에 비해 높은 생존율을 나타냈다. 단, 연구 자료에서 p53(-)/bcl-2(+), 5년 생존율의 경우 표본 수( $n=1$ )가 적어 다른 군과 비교하기에 어려움이 있었지만 동시 발현군에 대한 연구에는 큰 의미가 없었다. 위의 결과로 p53과 bcl-2 모두 발현이 나타나지 않았을 때의 예후가 가장 좋았으며 각각 개별 발현되었을 때보다 동시 발현되었을 때 예후가 가장 나쁘게 나타난 것을 확인할 수 있었다.

## 결론

위선암에서 p53의 발현은 세포 분화도와 UICC TNM 병기와 함께 주요 예후 인자로서의 역할이 있다고 확인되었으며, bcl-2의 발현도 예후에 나쁜 영향을 미치는 것으로 나타났다. 또한 p53과 bcl-2는 둘 다 동시 발현하였을 때가 개별 발현했을 때보다 예후가 더욱 나쁜 것으로 확인되었다. 그러나 bcl-2는 다변량 분석에서 독립적 예후 인자로서 가치를 지니지는 못하였다. 따라서 좀 더 많은 예의 분석을 통해 bcl-2와 타 인자들과 명확한 관계 및 예후 평가 인자로서의 가치를 밝힐 필요가 있을 것으로 생각한다.

## REFERENCES

1. Reed JC. Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol* 2000; 157:1415-1430.
2. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-70.
3. Demetrius A. Oncogenes and tumor suppressor gene as paradigms in oncogenesis. *J BUON* 2007;12(Suppl 1):9s-12s.
4. Ku KB, Park SH, Cheong HY, Yu W, Lee MH. p53 gene mutation in gastric cancer tissue. *J Korean Gastric Cancer Assoc* 2006;6:214-220.
5. Martin HM, Filipe MI, Morris RW, Lane DP, Silvestre F. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1992;50:859-862.
6. Ishida H, Irie K, Itoh T, Fukikawa T, Tokunaga O. The prognostic significance of p53 and bcl-2 expression in lung adenocarcinoma and its correlation with ki-67 growth fraction. *Cancer* 1997;80:1034-1045.
7. Sinicrope FA, Ruan SB, Cleary KR, Stephens LC, Lee JJ, Levin B. bcl-2 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 1995;55:237-241.
8. Zhao DP, Ding XW, Peng JP, Zheng YX, Zhang SZ. Prognostic significance of bcl-2 and p53 expression in colorectal carcinoma. *J Zhejiang Univ Sci B* 2005;6:1163-1169.
9. Faille A, De Cremoux P, Extra JM, Linares G, Espie M, Bourstyn E, De Rocquancourt A, Giacchetti S, Marty M, Calvo F. p53 mutations and overexpression in locally advanced breast cancers. *Br J Cancer* 1994;69:1145-1150.
10. Ahrendt SA, Rashid A, Chow JT, Eisenberger CF, Pitt HA, Sidransky D. p53 overexpression and K-ras gene mutations in primary sclerosing cholangitis-associated biliary tract cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2000;7:426-431.
11. Puhalla H, Kandioler D, Ludwig C, Filipits M, Wrba F, Laengle F, Jakesz R, Gruenberger T. p53 analysis in gallbladder cancer: comparison of gene analysis versus immunohistochemistry. *Anticancer Res* 2004;24:1201-1206.
12. Pezzella F, Turley H, Kuzu I, Tungekar MF, Dunnill MS, Pierce CB, Harris A, Gatter KC, Masom DY. bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1993;329:690-694.
13. Manne U, Myers RB, Moron C, Poczatek RB, Dillard S, Weiss H, Brown D, Srivastava S, Grizzle WE. Prognostic significance of Bcl-2 expression and p53 nuclear accumulation in colorectal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 1997;74:346-358.
14. Müller W, Schneiders A, Hommel G, Gabbert HE. Prognostic value of bcl-2 expression in gastric cancer. *Anticancer Res* 1998;18:4699-4704.
15. Lauwers GY, Scott GV, Karpeh MS. Immunohistochemical evaluation of bcl-2 protein expression in gastric adenocarcinomas. *Cancer* 1995;75:2209-2213.
16. Inada T, Kikuyama S, Ichikawa A, Igarashi S, Ogata Y. Bcl-2 expression as a prognostic factor of survival of gastric carcinoma. *Anticancer Res* 1998;18:2003-2010.
17. Aizawa K, Ueki K, Suzuki S, Yabusaki H, Kanda T, Nishimaki T, Suzuki T, Hatakeyama K. Apoptosis and Bcl-2 expression in gastric carcinoma: correlation with clinicopathological variables, p53 expression, cell proliferation and prognosis. *Int J Oncol* 1999;14:85-91.
18. Yi SH, Kim HC, Lee SH, Park HC, Yoon C, Joo HZ, Choi BK, Choi JM. Multivariate analysis of prognostic factors in gastric cancer. *J Korean Surg Assoc* 1999;56:75-83.
19. Maruyama K. The most important prognostic factors for gastric cancer patients: a study using univariate and multivariate analyses. *Scandinavian J Gastroenterol* 1987;22:63-68.
20. Tahara E. Gene alterations in human gastrointestinal cancers. The application to molecular diagnosis. *Cancer* 1995;75(Suppl 6):1410s-1417s.
21. Motojima K, Furui J, Kohara N, Ito T, Kanematsu T. Expression of p53 protein in gastric carcinomas is not independently prognostic. *Surgery* 1994;116:890-895.
22. Union International Contre la Cancrum. UICC TNM Classification of Malignant Tumors. 5th ed. New York: Wilwy-Liss, 1997.
23. Haldar S, Negrini M, Monne M, Sabbioni S, Croce CM. Downregulation of bcl-2 by p53 in breast cancer cells. *Cancer Res* 1994;54:2095-2097.
24. Hurlimann J, Larrinaga B, Vala DL. bcl-2 protein in invasive ductal breast carcinomas. *Virchows Arch* 1995;426:163-168.
25. Watson AJ, Merritt AJ, Jones LS, Askew JN, Anderson E, Becciolini A, Balzi M, Potten CS, Hickman JA. Evidence of reciprocity of bcl-2 and p53 expression in human colorectal adenomas and carcinomas. *Br J Cancer* 1996;73:889-895.

**= Abstract =**

**Expression of p53 and bcl-2 in Gastric Adenocarcinoma Affects the Prognosis and Survival Rate**

Jong Hyun Hong, M.D., Dong Woo Shin, M.D., So Ya Paik, M.D.<sup>1</sup>, Il Dong Kim, M.D., Ki Ho Kim, M.D., Jin Soo Park, M.D., Byung Sun Suh, M.D., Sang Wook Kim, M.D. and Hye In Lim, M.D.

Departments of Surgery and <sup>1</sup>Pathology, Bundang Jesaeng General Hospital, Seongnam, Korea

**Purpose:** p53 and bcl-2 are important markers of apoptosis. The expression of p53 and bcl-2 in gastric adenocarcinoma was examined in relation to prognosis and survival rate.

**Materials and Methods:** The clinicopathologic data from 238 patients who underwent gastrectomies for gastric adenocarcinoma between December 1999 and July 2007 were reviewed. Immunohistochemical staining of gastric adenocarcinoma tissues embedded in paraffin blocks was performed using an Envision kit (DAKO, Glostrup, Denmark). Statistical comparisons were made between age, gender, tumor invasion, lymph node metastasis, TNM stage, Lauren's classification, cell differentiation, and the relationship with p53 and bcl-2.

**Results:** The expression of p53 was related to cell differentiation ( $P=0.028$ ) and UICC TNM stage ( $P<0.001$ ). The expression of bcl-2 was related to UICC TNM stage ( $P=0.005$ ). The co-expression of p53 and bcl-2 was related to UICC TNM stage ( $P=0.002$ ). The co-expression group exhibited a greater reduction in the survival rate ( $P=0.001$ ).

**Conclusion:** The expression of p53 and bcl-2 nuclear proteins has significant relationships with other conventional prognostic factors and the survival rate. Bcl-2 will be characterized through analysis of a greater number of patients and comparison with survival data over a longer period of time. (**J Korean Gastric Cancer Assoc 2009;9:88-95**)

**Key Words:** Gastric adenocarcinoma, p53, bcl-2, Prognostic factor