

## 결장직장 선암종에서 Chromogranin A, Cathepsin D, Cyclin D1, p53 단백질 발현

서재홍 · 이미자 · 조성강<sup>1</sup>

조선대학교 의과대학 병리학교실  
울산대학교 의과대학 서울중앙병원  
<sup>1</sup>마취과

접 수 : 2000년 8월 16일  
게재승인 : 2000년 12월 29일

책임저자 : 서 재 홍  
우 501-759 광주시 동구 서석동 375  
조선대학교 의과대학 병리학교실  
전화: 062-220-3273  
Fax: 062-234-4584  
E-mail: chsuh@mail.chosun.ac.kr

### Expression of Chromogranin A, Cathepsin D, Cyclin D1 and p53 proteins in Colorectal Adenocarcinoma

Chae Hong Suh, Mi Ja Lee and Sung Kang Cho<sup>1</sup>

Department of Pathology, Chosun University Medical School, Kwangju; <sup>1</sup>Department of Anesthetics, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

**Background :** The purpose of this study is to assess the roles of chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1 and p53 protein expression in colorectal tumorigenesis. **Methods :** 83 colorectal cancer and 12 villotubular adenoma tissue specimens were investigated by immunohistochemical staining for chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1 and p53 protein. Clinicopathologic values (tumor size, histologic grade, Astler-Coller stage and lymph node metastasis) were compared with the incidence of chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1 and p53 protein expression in colorectal adenocarcinomas. **Results :** Statistically significant correlation was noted between the expression of chromogranin A and histologic grade ( $p < 0.05$ ). The incidence of positive cathepsin D expression was increased with tumor size ( $p < 0.05$ ), and there was a statistically significant correlation between histologic grade and cathepsin D expression ( $p < 0.005$ ). There were no statistically significant correlations among cyclin D1 expression and tumor size, histologic grade, stage and lymph node metastasis. Patients with lymph node metastasis had a high incidence of positive p53 protein expression compared to those without this finding ( $p < 0.001$ ). **Conclusion :** It is suggested that chromogranin A, cathepsin D, and p53 protein are useful variables for the prognostic assessment of colorectal adenocarcinoma. The p53 protein seems to involve the metastatic ability of colorectal adenocarcinomas. Also, the expression of cathepsin D, cyclin D1, and p53 protein may play an important role in the tumorigenesis and progression of the colorectal adenoma-carcinoma sequence.

**Key Words :** Colorectal adenocarcinoma, Chromogranin A, Cathepsin D, cyclin D1, p53

대장암종은 전 세계적으로 볼 때 악성 종양 중 발생 빈도 3위를 차지하는 암종으로서,<sup>1</sup> 국내의 발생 빈도를 보면 남자의 경우 위암, 간암, 폐암에 이어 4위를 차지하며 여자의 경우 위암, 유방암, 자궁경부암에 이어 4위를 차지한다.<sup>2</sup> 대장암종으로 인한 증상은 여러 가지가 있으나 임상 증상이 없는 경우가 많고 대장암종 환자의 50%가 암의 전이로 사망하고 있다. 대장암종은 용종에서 기원하고 증상이 비교적 빨리 나타나기 때문에 대장경을 통해 조기에 발견할 수 있고 조기 수술로 완치가 가능한 암종의 하나이다.<sup>3</sup> 이 때문에 종양 조직에서 암의 침윤이나 전이와 연관된 인자를 규명하고 이들 물질들의 발현 양상의 변화를 관찰하는 것은 환자의 예후 추정에 중요한 의미를 가진다.

대장암종의 발생 기전은 선종에서 악성 변화를 통해 암종으로 전환하여 육안상 장관내로 돌출하는 종괴를 형성하는 경우와 선종과는 무관하게 정상 점막에서 원발성으로 암이 발생하여 육안상 침몰 내지는 편평한 모양을 보이는 2가지 경우가 있다.<sup>4</sup> 첫 번째 기전이 소위 '선종-암종 연쇄' 라고 하는데 정상 세포로부터 세포가 증식하면서 *K-ras* 원종양유전자의 활성화와 *APC* (adenomatous polyposis coli), *DCC* (deleted in colon carcinoma) 그리고 *p53* 같은 종양억제 유전자의 불활성화를 포함한 여러 종양유전자와 종양억제 유전자의 변화가 축적되어 다단계 과정을 거쳐 선암종이 발생한다.<sup>5</sup> 이와 달리 선종을 동반하지 않은 함몰된 대장암종이 보고된 이래 조직학적으로 선종을 거치지

않고 정상 점막에서 직접 암종으로 전환하는 대장암종이 보고되고 있다.<sup>6</sup> 이 종류의 대장암종은 용종형의 암종과 달리 초기에 침윤성 성장을 하며,<sup>4</sup> 분자생물학적으로 다단계적인 유전자 변화를 거치지 않거나 또는 다른 종류의 종양유전자가 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>7</sup> 이런 유전자 변화는 발암의 단계에 따라 다르며 암이 진행되는 동안 종양 세포들은 일련의 유전자 변화를 통해 침윤성과 전이능력을 얻게 되고, 원발종양에서 탈락한 종양세포는 결체 조직과 기저막을 뚫고 림프절이나 혈관에 들어가 인접 장기를 침범하거나 원격 전이를 일으킨다. 이런 일련의 과정에는 다양한 유전자의 변형이 수반되며 최근에 종양의 형성 및 성장과 암종의 침윤에 관여하는 다양한 종양표지자에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. 이 중 종양유전자로는 *c-erbB-2*와 세포주기 조절 단백질인 *cyclin D1* 등이 연구 결과 알려졌고, 종양억제 유전자로는 세포주기 중 G1 후반기에 작용하여 세포분열을 억제하는 *p53* 등이 알려져 있다.<sup>8</sup> Cathepsin D는 기저막 내 proteoglycan 등의 물질과 상호작용을 하며 침윤과 전이에 관련한다.<sup>9</sup> 또한 예후인자 중 신경내분비세포의 표지자인 chromogranin A에 대한 연구 결과도 보고되고 있다.<sup>10</sup>

결장직장암에서 환자의 예후는 대장벽에 대한 침습도 및 림프절 전이에 의해 주로 좌우되며, 부분적으로 암종의 위치, 병리학적 분화도 및 전이된 림프절 수에 따라 영향을 받게 된다.<sup>11</sup> 그러나 동일한 병기의 환자 중에서 재발할 가능성이 높은 고위험군을 찾는 객관적 지표는 아직은 잘 알려져 있지 않다.

이러한 지식을 배경으로 저자들은 결장직장 선종과 암종에서 예후에 관련된 chromogranin A, 침윤과 전이에 관련된 cathepsin D, 세포주기 조절 단백질인 *cyclin D1* 및 *p53* 단백질에 대해서, 면역조직화학적 염색에서의 발현 빈도를 서로 비교하며 이들의 발현 양상이 결장직장 종양의 발생 과정에 어떤 역할을 하는지를 알아보고 여러 임상병리학적 예후인자와 어떤 상관관계가 있는지를 밝혀 환자의 치료 및 예후 추정에 도움을 주고자 본 연구를 시행하였다.

## 재료와 방법

### 재료

본 연구는 1991년 1월부터 1999년 5월까지 조선대학교 부속 병원에서 결장직장암으로 외과적 근치술을 받은 환자의 조직 중 파라핀 포매 블록의 보관 상태가 양호하고 임상 기록의 재검토가 가능했던 선암종 83예, 종양성 선종 12예를 대상으로 하였다.

### 임상소견 및 병리조직학적 검색

10% 중성 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거쳐 통상적인 방법으로 HE 염색을 시행한 결장직장암 조직의 슬라이드를 재검

색하고 WHO 분류에 의거하여 대장암종을 고분화, 중등도 분화 및 저분화성 선암종과 점액암종으로 분류하였다. 환자의 임상 기록과 병리보고서들을 재검토하여 환자의 나이와 성별, 종양의 위치와 크기를 확인하였고, 침습 깊이, 림프절 전이 및 원격 전이 유무에 따라 변형된 Dukes 병기법, 즉 Astler-Coller 병기법에 의거하여 A, B1, B2, C1, C2, D군으로 나누었다.

### 면역조직화학 염색

파라핀 포매조직을 4  $\mu\text{m}$  두께로 박절하여 슬라이드에 부착하고 xylene에 탈파라핀한 다음 알코올로 함수 과정을 거친 증류수로 세척하였다. 항원성 회복을 위해 citrate 완충용액(10 mM, pH 6.0)에 슬라이드를 담근 뒤 전자오븐을 이용하여 98°C에서 10분간 끓였다. 실온에서 20분간 식힌 다음 tris 용액에 세척하고 Labelled Streptavidin Biotin (LSAB, DAKO, Denmark) 방법을 이용하여 일련의 통상적인 방법으로 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 일차 항체는 chromogranin A (Zymed, U.S.A., polyclonal, 1:50), cathepsin D (Zymed, U.S.A., polyclonal, 1:50), *cyclin D1* (DAKO, Denmark, DCS-6, 1:50) 및 *p53*(DAKO, Denmark, DO-7, 1:50) 단백질이었다. 발색제는 AEC (3-amino-9-ethyl carbazole)를 사용하였고 hematoxylin으로 대조염색하고 crystal mount로 봉입하였다.

각 항체에 대한 양성 판정기준으로는, *cyclin D1*과 *p53* 단백질은 핵에 분명하게 염색된 경우를 양성으로, cathepsin D와 chromogranin A는 세포질에 염색된 경우를 양성으로 판정하였다. 또한 각 항체 모두에 대해서 종양 세포가 10% 미만으로 염색되는 경우는 음성, 10% 이상은 양성으로 판정하였다.

### 통계학적 분석

Chromogranin A, cathepsin D, *cyclin D1* 그리고 *p53* 단백질 발현과 여러 임상적-조직학적 변수간의 상관성 여부는 Chi-square test를 사용하여 검정하였다.

## 결 과

### 임상적 소견에 따른 용종성 암종과 침윤성 암종의 비교

83예의 결장직장암종을 종양의 성장 양상에 따라 나누었을 때 용종성 암종이 60예, 침윤성 암종이 23예였다. 용종성 암종 환자의 평균 나이는 56.5세, 침윤성 암종은 63.5세였다. 남녀비는 용종성 암종이 1.36:1, 침윤성 암종이 1.18:1로 두 종양 모두에서 남자가 많았다. 종양의 발병 부위는 상행결장 18예(21.7%)(용종성 암종 15예, 침윤성 암종 3예), 하행결장 14예(16.9%)(용종성 암종 9예, 침윤성 암종 5예), 횡행결장 2예

(2.4%)(용종성 암종 1예, 침윤성 암종 1예), 그리고 S상결장 및 직장 49예(59.0%)(용종성 암종 34예, 침윤성 암종 15예)로 두 암종 모두 S상결장 및 직장에서 가장 많이 발생하였다. 종양의 크기는 3.5 cm 이하가 19예(22.9%)(용종성 암종 9예, 침윤성 암종 10예), 3.5 cm 이상 4.9 cm 이하가 32예(38.6%) (용종성 암종 22예, 침윤성 암종 10예), 그리고 5 cm 이상이 32예(38.6%)(용종성 암종 28예, 침윤성 암종 4예)였다. 크기가 클수록 침윤성 암종보다는 용종성 암종이 많았으며 이는 통계학적으로 유의하였다( $p<0.001$ ). 선암종의 조직학적 분화도는 고분화 선암종이 21예(25.3%)(용종성 암종 18예, 침윤성 암종 3예), 중등도분화 선암종이 52예(62.7%)(용종성 암종 34예, 침윤성 암종 18예), 저분화 선암종 4예(4.8%)(용종성 암종 3예, 침윤성 암종 1예) 그리고 점액성 선암종 6예(7.2%)(용종성 암종 4예, 침윤성 암종 2예)였다. Astler-Coller 병기에 따라 비교해 보면, A기는 7예(8.4%)(모두 용종성 암종), B1 또는 B2기는 8예(9.6%)(용종성 암종 7예, 침윤성 암종 1예), C1 또는 C2기는 62예(74.7%)(용종성 암종 40예, 침윤성 암종 22예), 그리고 D기는 6예(7.2%)(용종성 암종 5예, 침윤성 암종 1예)였다. 림프절 전이는 용종성 암종 59예 가운데 14예(23.7%), 침윤성 암종은 24예 가운데 14예(58.3%)로 침윤성 암종에서 림프절 전이 빈도가 더 높았다.

**면역조직화학적 소견**

**Chromogranin A 발현과 임상병리학적 특성과의 상관관계(Table 1)**

Chromogranin A 발현은 정상 점막내 신경내분비 세포 및 종양세포의 세포질에 국한되었고(Fig. 1) 전체 83예 중 43예(51.8%)에서 양성이었다. 종양의 크기가 클수록 chromogranin A 양성률이 높게 나타났으나 통계학적인 유의성은 없었다. 조직학적 분화도는 고분화 선암종 21예 중 7예(33.3%), 중등도분화 선암종 52예 중 32예(61.4%), 저분화 선암종 4예 중 2예(50%)가 양성을 보여 분화가 나뉠수록 chromogranin A에 높은 양성률을 보였으며 이는 통계학적으로 유의하였다 ( $p<0.05$ ). 점액성 선암종에서는 6예 중 2예(33.4%)에서 양성을 보였다. Astler-Coller 병기간 양성률 차이는 통계학적인 유의성은 없었다. 림프절 전이는 전이된 28예 중 18예(64.3%), 전이가 되지 않은 55예 중 25예(45.5%)가 양성을 보여 전이된 예에서 chromogranin A에 양성률이 높았으나 통계학적인 유의성은 없었다.

**Cathepsin D 발현과 임상병리학적 특성과의 상관관계( Table 1), [ ]는 cathepsin D에 양성인 stromal cells 증례수임**

Cathepsin D 발현은 세포질과 기저막 부위에 국한되어 있으며, 핵에서는 관찰되지 않았다. 또한 종양 주위 염증 세포 및 간질 세포에 양성을 보였다(Fig. 2). Cathepsin D 발현은 전체 83예 중 46예(55.4%)에서 양성이었다. 종양의 크기와 비교해 보면 3.5 cm 이하가 19예 중 9예[9](47.4%), 3.5 cm 이상 4.9

cm 이하가 32예 중 14예[12](43.8%), 5 cm 이상이 32예 중 23예[18](71.9%)가 양성이었다. 종양의 크기가 클수록 cathepsin D에 높은 양성률을 보여 통계학적으로 유의하였다 ( $p<0.05$ ). 조직학적 분화도를 보면 고분화 선암종 21예 중 7예(33.3%), 중등도 분화 선암종은 52예 중 34예[27](66.7%), 저분화 선암종은 4예 중 4예[4](100%) 그리고 점액성 선암종은 6예 중 1예[1](16.7%)에서 양성을 보였다. 분화가 안 좋을수록 높은 양성률을 보여 통계학적으로 유의하였다( $p<0.005$ ). 종양의 간질 세포의 cathepsin D에 대한 양성률은 조직학적 분화도에서 분화가 좋지 않을수록 높은 양성률을 보여 이는 통계학적으로 유의하였다( $p<0.05$ ). 각 병기간 또는 림프절 전이 빈도에 따른 양성률은 통계학적인 유의성은 없었다.

**Cyclin D1 발현과 임상병리학적 특성의 비교(Table 1)**

Cyclin D1 발현은 핵에 국한되어 있었으며, 세포질내에서는 양성 반응이 관찰되지 않았고, 주변 정상 점막 세포에서는 음성이었다(Fig. 3). Cyclin D1 발현은 전체 83예 중 28예(33.7%)에서 양성이었다. 종양 크기, 조직학적 분화도, 병기 및 림프절 전이 빈도에 따른 양성률은 통계학적인 유의성이 없었다.

**p53 단백 발현과 임상병리학적 특성의 비교(Table 1)**

p53 단백 발현은 핵에 국한되어 있으며 세포질내에서는 양성 반응이 관찰되지 않았고, 주변 정상점막세포에서는 음성이었다(Fig. 4). p53 발현은 전체 83예 중 26예(31.3%)에서 양성이었다. 림프절 전이는 전이된 28예 중 16예(57.1%), 그리고 전이

**Table 1.** Correlation between chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1 and p53 expression and clinicopathologic parameters in colorectal adenocarcinomas

	No.	CA(%)	CD(%)	CD1(%)	p53
Total	83	43 (51.8)	46 (55.4)	28 (33.7)	26 (31.3)
Tumor size (P value)		NS	<0.05	NS	NS
<3.5 cm	19	8 (42.1)	9 (47.4)	8 (42.1)	6 (31.6)
3.5-4.9 cm	32	17 (53.1)	14 (43.8)	8 (25.0)	12 (37.5)
>5 cm	32	18 (56.3)	23 (71.9)	12 (37.5)	8 (25.0)
Differentiation (P value)		<0.01	<0.005	NS	NS
Well	21	7 (33.3)	7 (33.3)	5 (23.8)	6 (28.6)
Moderately	52	32 (61.5)	34 (66.7)	19 (36.5)	18 (34.6)
Poorly	4	2 (50.0)	4 (100)	1 (25.0)	2 (50.0)
Mucinous	6	2 (33.4)	1 (16.7)	3 (50.0)	0 (0)
Stage (P value)		NS	NS	NS	NS
A	7	3 (42.9)	1 (14.3)	1 (14.3)	1 (14.3)
B1 and B2	8	2 (25.0)	5 (62.5)	3 (37.5)	3 (37.5)
C1 and C2	62	33 (53.2)	35 (56.5)	23 (37.1)	18 (29.0)
D	6	4 (66.7)	5 (83.3)	1 (16.7)	4 (66.7)
LN metastasis (P value)		NS	NS	NS	<0.001
Positive	28	18 (64.3)	20 (71.4)	13 (46.4)	16 (57.1)
Negative	55	25 (45.5)	26 (47.3)	15 (27.3)	10 (17.9)

CA: chromogranin A, CD: cathepsin D, CD1: cyclin D1, LN: lymph node.

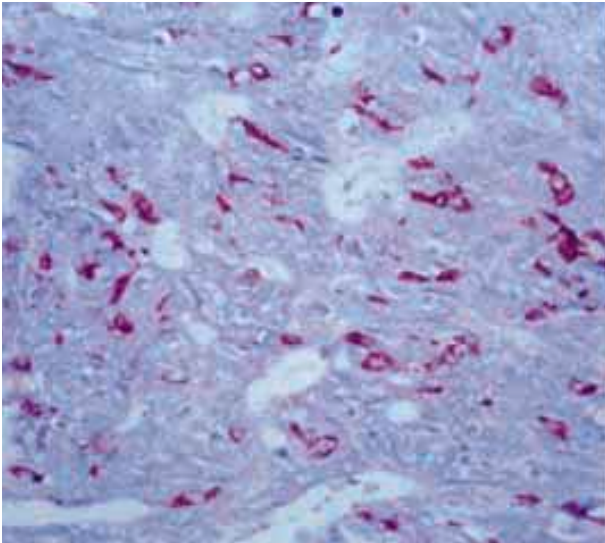


Fig. 1. The immunohistochemical staining for chromogranin A shows intracytoplasmic positive reaction in the adenocarcinoma.

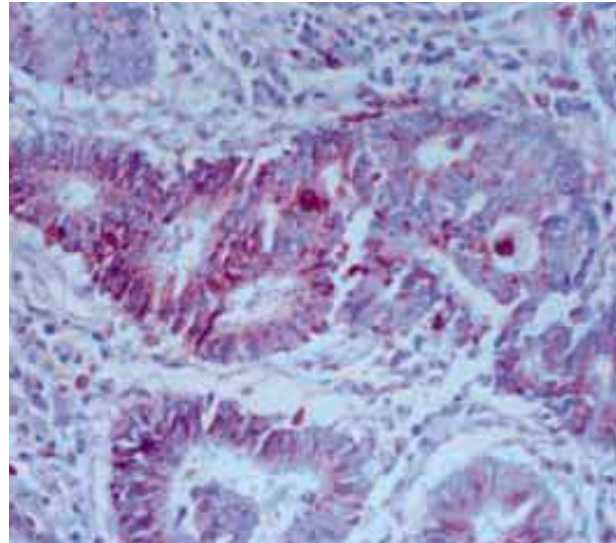


Fig. 2. The immunohistochemical staining for cathepsin D shows intracytoplasmic positive reaction in the adenocarcinoma and stromal cells.

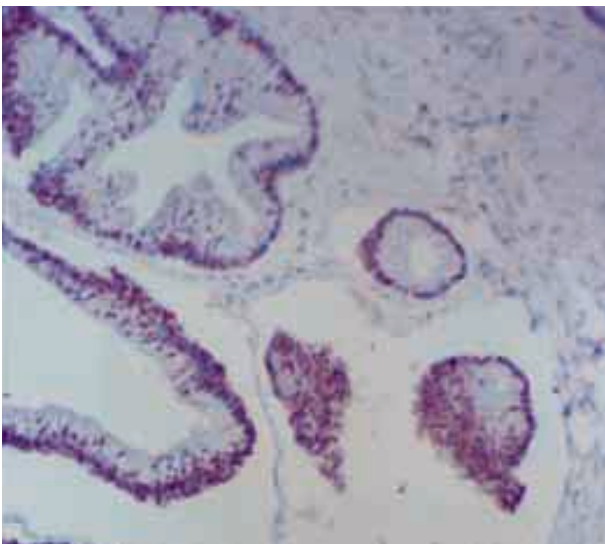


Fig. 3. The immunohistochemical staining for cyclin D1 shows intense nuclear staining in the adenocarcinoma.

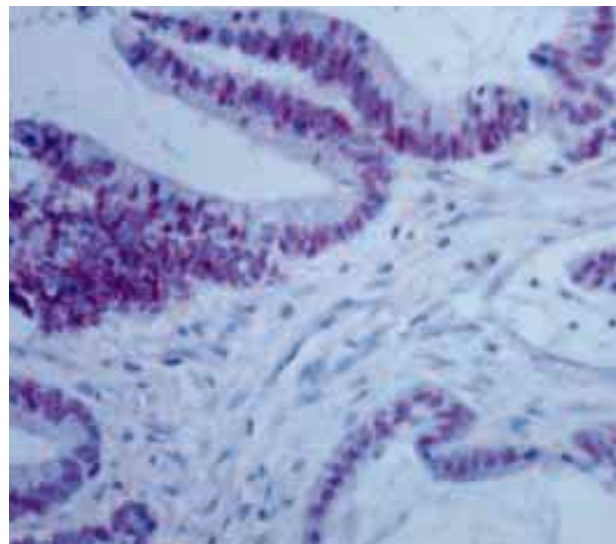


Fig. 4. The immunohistochemical staining for p53 protein shows intense nuclear staining in the adenocarcinoma.

가 안 된 55예 중 10예(17.9%)에서 양성을 보여 p53 단백질이 전이된 예에서 높은 양성률을 보였고, 이는 통계학적으로 유의하였다 ( $p < 0.001$ ). 종양의 크기, 조직학적 분화도 및 병기에 따른 양성률은 통계학적인 유의성이 없었다.

성장양상과 chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1 그리고 p53 단백질 발현과의 상관관계(Table 2)

용종성 암종 60예에서는 chromogranin A에 30예(50%), cathepsin D에 32예(53.3%), cyclin D1에 19예(31.7%), 그리

고 p53 단백질에 16예(26.7%)에서 양성이었다. 침윤성 암종은 23예 가운데 chromogranin A에 13예(56.5%), cathepsin D에 16예(69.6%), cyclin D1에 9예(39.1%), 그리고 p53 단백질에 10예(43.5%)가 양성이었다. 이들 간의 상관관계는 통계학적으로 유의성이 없었다.

선종과 선암종에서 chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1 그리고 p53 단백질 발현과의 상관관계(Table 3)

선종 12예에서는 chromogranin A에 4예(33.3%), cathepsin

**Table 2.** Correlation between chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1, and p53 protein expression and growth pattern of colorectal adenocarcinoma

Growth pattern	CA		CD		CD1		p53		Total
	-(%)	+(%)	-(%)	+(%)	-(%)	+(%)	-(%)	+(%)	
Polypoid	30 (50.0)	30 (50.0)	28 (46.7)	32 (53.3)	41 (68.3)	19 (31.7)	44 (73.3)	16 (26.7)	60 (72.3)
Infiltrative	10 (43.5)	13 (56.5)	7 (30.4)	16 (69.6)	14 (60.9)	9 (39.1)	13 (56.5)	10 (43.5)	23 (27.7)
p value	NS		NS		NS		NS		

CA: chromogranin A, CD: cathepsin D, CD1: cyclin D1.

D에 1예(8.3%), cyclin D1에 0예, 그리고 p53 단백질에 2예(16.7%)가 양성이었다. 특히 p53 단백질에 양성을 보이는 선종 1예는 심한 이형성을 보였다. 선종에서의 chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1 및 p53 단백질 발현과 용종성 암 및 침윤성 암에서의 chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1 및 p53 단백질 발현과의 상관성을 살펴보았을 때 선종, 용종성 암 및 침윤성 암으로 갈수록 cathepsin D ( $p<0.005$ ), cyclin D1 ( $p<0.05$ )과 p53 단백질( $p<0.05$ ) 발현이 증가하였고 이는 통계학적으로 유의하였다.

### 고 찰

대장암종의 예후 추정인자로는 환자의 연령, 종양의 크기, 병소의 조직학적 분화, 발생 장소, 국소 침윤과 림프절 전이를 포함하는 Astler-Coller 병기, 조직학적 유형 및 등급, 암유전자 발현 등이 있다.

Chromogranin A는 포유동물의 부신, 내분비 췌장, 위장관 내분비계, 갑상선 C세포, 부갑상선과 뇌하수체, 그리고 약간의 부교감신경의 내분비세포들에 광범위하게 분포되었다.<sup>12</sup> Arends 등<sup>13</sup>은 세로토닌 양성 enterochromaffin 세포들을 동반한 결장직장암종이 이 세포들이 없는 암보다 예후가 나쁘다고 하였고, Hamada 등<sup>14</sup>도 chromogranin A 양성 결장직장암종 환자가 chromogranin A 음성 환자보다 예후가 나쁘다고 하였다. Park 등<sup>15</sup>은 대장암종의 17% 정도에서 chromogranin A에 양성이 관찰되었으나 chromogranin A 양성 종양의 발생 위치, 병기, 등급, 그리고 분화도와는 상관관계가 없다고 하였다. 본 연구에 의하면 종양의 크기와 chromogranin A 발현을 비교해 볼 때 크기가 클수록 양성률이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다. 조직학적 분화도와 비교에서는 분화가 나쁠수록 높은 양성률을 보였으며 통계학적으로 유의하였다. Astler-Coller 병기가 높을수록, 림프절 전이가 있는 예에서 양성률이 높았으나 모두 통계학적 유의성은 없었다.

Cathepsin D는 산성 pH 상태의 리소솜에서 정상적으로 기능

**Table 3.** Chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1, and p53 protein expression in villotubular adenoma, polypoid carcinoma and infiltrative carcinoma

	No.	CA (%)	CD (%)	CD1 (%)	p53 (%)
Adenoma	12	4 (33.3)	1 (8.3)	0 (0)	2 (16.7)
Polypoid carcinoma	60	30 (50.0)	32 (53.3)	19 (31.7)	16 (26.7)
Infiltrative carcinoma	23	13 (56.5)	16 (69.6)	9 (39.1)	10 (43.5)
p value		NS	<0.005	<0.05	<0.05

CA: chromogranin A, CD: cathepsin D, CD1: cyclin D1.

하는 성숙된 활동성 효소, 중간활동성 효소, 그리고 procathepsin D로 세포내에 존재하는 단백질분해효소이다. 대부분의 procathepsin D는 리소솜에서 성숙된 활동형으로 진행되고 극히 소량의 procathepsin D가 분비된다. 분비된 procathepsin D는 proteoglycans과 기저막을 포함한 여러 물질에서 단백질분해를 활성화하고 에스트로겐이 결합된 MCF-7 세포들에서는 분열 능력을 보이기 때문에 암세포가 침윤과 전이를 할 때 암세포에서 분비되는 cathepsin D의 역할이 중요하리라 추측된다.<sup>9</sup> 유방암에서 높은 농도의 cathepsin D 효소는 나쁜 예후와 관련이 있으며 전이의 위험, 특히 주위 림프절 전이의 위험이 많았다고 하였다.<sup>9</sup> Theodoropoulos 등<sup>16</sup>은 결장직장 선암종의 42%에서 cathepsin D에 양성을 보이고 비종양성 간질 세포들은 선암종의 68%에서 양성을 보였으나 병기와의 상관성은 없다고 하였다. 다른 연구자들에 의하면 종양 세포들에서의 cathepsin D 발현은, 림프절 전이와 암세포 진행과의 상관관계를 가지고 있고 조직학적 분화도와는 관련이 없었다고 하였다.<sup>17</sup> 그러나 병기 및 조직학적 분화도와 cathepsin D 과발현과의 상관관계가 관찰되기도 하였다.<sup>18</sup> 본 연구에서는 종양의 크기가 클수록, 그리고 조직학적 분화가 나쁠수록 cathepsin D 발현율이 높았고 통계학적으로 유의하였다. 종양내 간질세포들의 cathepsin D 양성률은 종양 세포들에서의 결과와 비슷하여 조직학적 분화도가 나쁠수록 종양내 간질 세포들에서 높았다.

Cyclin은 사람을 포함한 포유동물에 A부터 F까지 6종류가 있으며, 활성화된 cyclin 의존성 단백질 키나제와 함께 세포주기 조절에 관여한다.<sup>19</sup> Cyclin D1의 생성과 파괴는 세포주기의 일정한 시기에 일어나며 cyclin 계열 중에 종양발생과 가장 관련이 깊은 것으로 알려져 있다. Cyclin D1은 G1기에서 합성이 시작되어 S기로 들어가기 전까지 대부분이 핵내에서 소멸된다. Cyclin D1 유전자는 염색체상의 11q13에 위치하며, 유전자 증폭이나 과발현된 cyclin D1은 Rb 단백을 인산화시켜 Rb 단백질의 세포주기 억제기능이 불활성화되면 세포 증식이 유도될 수 있다.<sup>20</sup> 종양 세포내에서 cyclin D1의 과발현은 이러한 세포주기 조절단백이 종양발생에 관여할 것을 암시하는 것이다. Cyclin D1 유전자 증폭과 과발현은 여러 인체암들에서 발생한다.

Cyclin D1 과발현은 결장직장 선암종의 30%에서 양성을 보였으나, 정상 그리고 과증식성 용종에서는 음성이었으며 선종의 몇 예에서 양성을 볼 수 있었다고 하였다.<sup>21</sup> Cyclin D1 과발현은 환자의 성별과 나이, 종양의 크기, 조직 분화도와 Duker 병기 등 임상병리학적 특성들과 상관성이 없었다고 하였다.<sup>21</sup> 본 연구에서도 cyclin D1 발현은 종양의 크기, 조직학적 분화도, Astler-Coller 병기, 그리고 림프절 전이에 따른 발현율의 차이는 통계학적인 유의성이 없었다.

p53 유전자에 의하여 발현되는 p53 단백질은 종양억제 유전자의 산물로 발암작용에서의 역할이 다양하다. 최근에는 p53 유전자의 변이나 결손이 대장 이외에도 유방,<sup>22</sup> 방광,<sup>23</sup> 폐<sup>24</sup>에서 기원한 악성종양에서도 밝혀졌고, p53 유전자 변이 및 결손은 어느 특정 암에서만 일어나는 것이 아니라 인체의 거의 모든 암종에서 나타나는 가장 흔한 유전자변이의 한 형태로 인정되고 있다. 야생형 p53 단백질이 종양 세포의 성장을 억제하는 기전은, 세포주기 중 G1 후반기에 작용하여 세포의 분열을 억제하는 세포분열 과정에서의 음성 조절자로 알려져 있다.<sup>25</sup> 본 연구에서는 p53 단백질 발현 빈도가 종양의 크기, 조직학적 분화도, 그리고 Astler-Coller 병기와 관련성이 없으나, 림프절에 전이된 예에서 p53 단백질 발현이 많았고 통계학적으로 유의성이 관찰되어 p53 단백질 발현이 종양의 전이능력과 관련이 있음을 간접적으로 제시하였다. 이는 p53 유전자 돌연변이를 동반한 환자에서 원격 전이가 많고 생존율이 낮았다는 보고<sup>26</sup>와 일치하였다. 한편 결장직장의 상피성 종양에서 p53 단백질의 발현율을 보고자마다 차이가 있는데, 선종의 경우 Purdie 등<sup>27</sup>은 8.7%, 조 등<sup>28</sup>은 관상선종에서 21.4%, 용모상 선종은 16.7%, 문 등<sup>29</sup>은 관상선종에서 73%, 용모상 선종에서 11%로 보고하고 있고, 선암종의 경우 Purdie 등<sup>27</sup>은 46.5%, 조 등<sup>28</sup>은 62.5%, 문 등<sup>29</sup>은 용종성 암종은 79%, 침윤성 암종은 71%로 보고하고 있다. 본 연구결과 선종에서는 16.7%, 선암종에서는 31.3% (용종성 암종 26.7%, 침윤성 암종 43.5%)의 양성률을 보여 선암종에서 p53 발현율이 다소 낮았으며 용종성 암종과 침윤성 암종간에 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 이는 문 등<sup>29</sup>의 결과와 일치하는 것이었다. 그러나 선종, 용종성 암종 및 침윤성 암종으로 갈수록 p53 단백질 발현이 증가한 본 연구 결과는 Kawasaki 등<sup>30</sup>의 연구 결과와 부합되어 p53 단백질이 결장직장 선암종의 발생 및 악성화에 연관되어 있다고 생각된다.

본 연구 결과 결장직장에서 발생한 선종, 용종성 암종 및 침윤성 암종과 chromogranin A, cathepsin D, cyclin D1 및 p53 단백질 발현과의 상관성에서 선종, 용종성 암종 및 침윤성 암종으로 진행될수록 cathepsin D, cyclin D1과 p53 단백질 발현이 의의있게 증가하였다.

결론적으로 chromogranin A, cathepsin D, 그리고 p53 단백질 발현은 결장직장암 환자의 예후 추정에 도움이 될 것으로 생각되며, cathepsin D, cyclin D1 및 p53 단백질은 선종, 용종성 암종 및 침윤성 암종으로 진행될수록 발현율이 증가하여 선종-

암종의 발생 및 진행에 관여하는 것으로 보인다.

## 참고문헌

- Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1998. *CA Cancer J Clin.* 1998; 48: 6-29.
- Ministry of Health and Welfare, Republic of Korea. Annual report of the central cancer registry of Korea (1998. 1. 1.-1998. 12. 31). June, 2000.
- August DA, Ottow RT, Sugarbaker PH. Clinical perspective of human colorectal cancer metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1984; 3: 303-24.
- Kuramoto S, Oohara T. Flat early cancers of the large intestine. *Cancer* 1989; 64: 950-5.
- Cho KR, Vogelstein B. Genetic alternations in the adenoma-carcinoma sequence. *Cancer* 1992; 70: 1727-31.
- Spratt JS, Ackerman LV. The growth of a colonic adenocarcinoma. *Am Surg* 1961; 27: 23-8.
- Mueller J, Mueller E, Hoepner I, et al. Expression of bcl-2 and p53 in de novo and ex-adenoma colon carcinoma: a comparative immunohistochemical study. *J Pathol* 1996; 180: 259-65.
- Meltzer SJ, Ahnen DJ, Battifora H, Yokota J, Cline MJ. Protooncogene abnormalities in colon cancers and adenomatous polyps. *Gastroenterology* 1987; 92: 1174-80.
- Spuratus F, Brouillet JP, Defrenne A, et al. Cathepsin-D: an independent prognostic factor for metastasis of breast cancer. *Lancet* 1989; 1: 1115-6.
- Pagani A, Papotti M, Abbona GC, Bussolati G. Chromogranin gene expressions in colorectal adenocarcinomas. *Mod Pathol* 1995; 8: 626-32.
- Wiggers T, Arends JW, Schutte B, Volovics L, Bosman FT. A multivariate analysis of pathologic prognostic indicators in large bowel cancer. *Cancer* 1988; 61: 386-95.
- Jansson D, Gould VE, Gooch GT, et al. Immunohistochemical analysis of colon carcinomas applying exocrine and neuroendocrine markers. *APMIS* 1988; 96: 1129-39.
- Arends JW, Wiggers T, Verstijnen K, Bosman FT. The occurrence and clinicopathological significance of serotonin immunoreactive cells in large bowel carcinoma. *J Pathol* 1986; 149: 97-102.
- Hamada Y, Oishi A, Shoji T, et al. Endocrine cells and prognosis in patients with colorectal carcinoma. *Cancer* 1992; 69: 2641-6.
- Park JG, Choe GY, Helman LJ, et al. Chromogranin-A expression in gastric and colon cancer tissues. *Int J Cancer* 1992; 51: 189-94.
- Theodoropoulos GE, Panoussopoulos D, Lazaris AC, Golemitis BC. Evaluation of cathepsin D immunostaining in colorectal ade-

- nocarcinoma. *J Surg Oncol* 1997; 65: 242-8.
17. Mayer A, Fritz E, Fortelny R, Kofler K, Ludwig H. Immunohistochemical evaluation of cathepsin D expression in colorectal cancer. *Cancer Invest* 1997; 15: 106-10.
  18. Ioachim EE, Goussia AC, Machera M, Tsianos EV, Kappas AM, Agnantis NJ. Immunohistochemical evaluation of cathepsin D expression in colorectal tumours: a correlation with extracellular matrix components, p53, pRb, bcl-2, c-erbB-2, EGFR and proliferation indices. *Anticancer Res* 1999; 19: 2147-55.
  19. Lukas J, Pagano M, Staskova Z, Draetta G, Bartek J. Cyclin D1 protein oscillates and is essential for cell cycle progression in human tumor cell lines. *Oncogene* 1994; 9: 707-18.
  20. Dowdy SF, Hinds PW, Louie K, Reed SI, Arnold A, Weinberg RA. Physical interaction of the retinoblastoma protein with human D cyclins. *Cell* 1993; 73: 499-511.
  21. Arber N, Hibshoosh H, Moss SF, *et al.* Increased expression of cyclin D1 is an early event in multistage colorectal carcinogenesis. *Gastroenterology* 1996; 110: 669-74.
  22. Thor AD, Moore DH II, Edgerton SM, *et al.* Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 845-55.
  23. Sarkis AS, Dalbagni G, Cordon-Cardo C, *et al.* Nuclear overexpression of p53 protein in transitional cell bladder carcinoma: a marker for disease progression. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 53-9.
  24. Quinlan DC, Davidson AG, Summers CL, Warden HE, Doshi HM. Accumulation of p53 protein correlates with a poor prognosis in human lung cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 4828-31.
  25. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG, *et al.* P53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. *Br J Cancer* 1996; 73: 29-35.
  26. Kern SE, Fearon ER, Tersmette KF, *et al.* Clinical and pathological associations with allelic loss in colorectal carcinoma. *JAMA* 1989; 261: 3099-103.
  27. Purdie CA, O'Grady J, Piris J, Wyllie AH, Bird CC. p53 expression in colorectal tumors. *Am J Pathol* 1991; 138: 807-13.
  28. Cho SJ, Oh HE, Chae YS. Expression of p53 and matrix metalloproteinase-2 proteins in colorectal adenocarcinoma. *Korean J Pathol* 2000; 34: 494-500.
  29. Moon JS, Park SH, Shin BK, Lee JH, Shin JH, Yeom BW. A comparative study of immunohistochemical expression of p53, bcl-2, c-erbB-2, and MIB-1 in polypoid and infiltrative colorectal carcinomas. *Korean J Pathol* 1998; 32: 581-9.
  30. Kawasaki Y, Monden T, Morimoto H, *et al.* Immunohistochemical study of p53 expression in microwave-fixed, paraffin-embedded sections of colorectal carcinoma and adenoma. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 244-9.