

위샘암종에서 FHIT와 p21의 발현

최현주 · 김병기 · 유진영 · 강석진
강창석

가톨릭대학교 의과대학 임상병리학교실

접 수 : 2003년 12월 3일
게재승인 : 2004년 1월 29일

책임저자 : 최 현 주
우 442-723 경기도 수원시 팔달구 지동 93
성빈센트병원 임상병리과
전화: 031-249-7592
Fax: 031-244-6786
E-mail: chj0103@catholic.ac.kr

Expression of FHIT and p21 in Gastric Adenocarcinoma

Hyun Joo Choi, Byung-Kee Kim, Jinyoung Yoo, Seok Jin Kang and Chang Suk Kang

Department of Clinical Pathology, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Background : The fragile histidine triad (FHIT) gene, located on the human chromosome 3p14.2, is frequently inactivated by its deletion in a number of human tumors, including gastric carcinomas. Its protein product, FHIT is presumed to have a tumor suppressor function. p21, one of the tumor markers acts as a regulator of the cell cycle, and inhibits cell proliferation. **Methods :** The association of the expressions of FHIT and p21 protein, with clinicopathological features, such as age, gender, tumor size, histological type, depth of invasion, lymph node metastasis, lymphatic and vascular invasion, grade and stage were investigated, and correlation of their expressions with p21 expression in 82 gastric adenocarcinomas attempted by immunohistochemical staining. **Results :** Of the 82 tumors analyzed, 58 (70.7%) were markedly reduced, or completely negative, for FHIT protein expression. The loss of FHIT expression was correlated with the depth of invasion ($p=0.000$), lymph node metastasis ($p=0.001$), lymphatic invasion ($p=0.000$), histological grade ($p=0.000$) and tumor stage ($p=0.000$). The loss of p21 expression was correlated with lymph node metastasis ($p=0.026$) and lymphatic invasion ($p=0.017$), but not with the histological grade and tumor stage. The comparison of the FHIT and p21 protein expressions showed significant correlation ($p=0.035$). **Conclusions :** The loss of FHIT and p21 expressions may be a useful indicator of the post diagnostic prognosis. Also, FHIT could be related to cell cycle arrest.

과거 수십년 동안 위암 발생률은 세계적으로 감소하고 있는 추세이지만 사망률은 여전히 높다. 특히 한국에서는 위암 발생률이 1위, 사망률은 2위를 차지하고 있다.¹ 위샘암종 발생은 특이 위험요인 중 *H. pylori* 감염, 알코올 섭취, 흡연, 염분과 질산염 섭취, 항산화 비타민 섭취의 결핍 등과 관련되어 있다. 이와 같은 외적 인자들의 지속적인 자극은 여러 가지 종양 유전자와 종양억제 유전자의 변이를 유발하여 암을 발생시키는 것으로 알려져 있다.²⁻⁴

염색체 1q, 3p, 3q, 5q, 6q, 7q, 11p, 11q, 12q, 13q, 17p와 18q가 위암종의 종양억제 유전자좌로 제안되고 있다.⁵⁻⁹ 특히 염색체 3p14.2 유전자좌는 원발성 위종양에서 이형접합성 소실(loss of heterozygosity, LOH)이 높은 빈도로 나타나고 있다. 또한 3p14.2의 특정 부위에 Fragile Histidine Triad (FHIT) 유전자가 있음이 증명되었는데, 이는 위장관에 발생하는 종양에서 비정상적으로 발현된다.¹⁰ 이 FHIT 유전자에는 common fragile site

인 FRA3B가 포함되어 있다. 이 fragile site는 위종양의 암세포주에서 동형접합성 결손이 관찰되기 때문에 이 부위가 위암종의 형성에 중요한 역할로 작용한다는 것이 발표되었고,¹¹ 그 이후로 FHIT 유전자는 인간에 발생하는 위를 포함한 여러 종양에서 3p14.2 부위의 변형을 가져오는 주요 인자라는 점이 보고되고 있다.¹² FHIT 단백질의 소실이 장형과 미만형 위샘암종의 대부분에서 일어나며, 이는 FHIT 기능의 소실이 위의 종양 발생에 매우 중요한 과정이라는 것을 보여준다.¹³

최근 연구 결과에 따르면, cyclin dependent kinase (cdk) 억제자로 불리는 많은 단백질들이 cyclin-cdk 복합체에 결합하여 이것을 불활성화시키고, 이러한 기능은 pRb의 인산화를 억제하여 세포주기 진행의 억제를 유도한다고 한다.¹⁴ 이러한 cdk 억제자의 하나인 p21 단백질은 DNA 손상 후 야생형 p53 단백질의 활성화에 의해 유도되어 G1기에서 세포주기를 억제시키는 결정적인 인자로 보고되고 있다.¹⁵ p21 단백질은 세포주기의 역조절자로 작용하

여 세포 증식을 억제하는 역할을 하므로, 위샘암종에서는 p21 단백질 발현의 감소나 소실을 보일 것을 예측할 수 있다. 또한 임상적 예후 인자인 종양 침윤 정도, 임상 병기와 생존율과 역상관 관계를 보인다는 보고들이 있다.^{16,17}

Capuzzi 등¹¹은 위암종에서의 FHIT 발현의 소실은 erbB2, p53, Ki67, CD44, bcl2, calmodulin, p21과 같은 다른 종양 표지자들의 발현과는 의미 있는 연관성을 찾을 수 없었으나, 그 중에서 p21은 FHIT 발현과의 상관 관계에서 가장 연관성이 있는 것으로 보고하였다. 또한 Sard 등¹⁸은 FHIT가 소실되어 있던 폐종양 세포주 내에 FHIT 단백을 주입시킨 결과 p21이 증가되는 것을 확인하였다.

이에 저자들은 위샘암종에서의 면역조직화학 염색법을 통한 FHIT와 p21 발현 정도를 분석하고 임상병리학적 요소인 환자의 연령, 성별, 종양의 크기, 조직학적 유형, 침윤도, 림프절 전이 유무, 림프관 및 혈관의 침윤, 분화도, 임상 병기와의 연관성을 살펴, FHIT 단백질 및 p21 단백질 발현의 소실 정도가 임상적 예후 인자로서의 유용성이 있는지를 확인하고자 하였다. 또한 FHIT 발현과 p21 발현과의 연관성을 살펴 FHIT가 세포주기 억제에도 관여하는지를 알아보려고 하였다.

재료와 방법

연구 대상

가톨릭 의과대학 강남성모병원에서 1995년 1월부터 1996년 12월까지 2년 동안 위샘암종으로 진단되어 위절제술을 시행한 예 중 수술 전 방사선요법이나 약물요법 등의 보조적 치료를 받지 않았고, 파라핀 포매 조직 중 블록 보존 상태가 양호하고 정상조직을 포함하고 있으며 환자의 임상 자료의 검색이 가능한 82예를 선택하였다. 두 개의 대표적인 파라핀 포매 조직을 연속 절편한 후 HE 염색에서 출혈 및 괴사 등의 이차적 변화가 심한 부위는 제외하였다.

방법

위샘암종 조직의 유형분류

종양은 WHO 분류¹⁹(유두상, 관상, 점액성, 인환세포, 미분화)와 Lauren 분류²⁰(장형, 미만형, 혼합형)에 의하여 조직학적 유형을 나누었다. 그리고, 종양의 크기, 침윤 깊이, 림프절 전이 유무, 림프관과 혈관의 침윤, 분화도 및 임상 병기 등을 조사하였다.

면역조직화학염색

10% 중성 완충 포르말린에 고정된 후 파라핀에 포매한 총 위샘암종 82예의 조직을 4 μm 두께의 절편으로 Probe On plus 슬라이드(Fisherscientific, Pittsburgh, Pennsylvania, USA)에

부착시켰다. 가능한 경우 정상 상피조직을 포함하여 내부 대조군이 되도록 하였다. 조직절편을 56°C 오븐에 15분간 넣은 후 xylene으로 60°C에서 2분간 4회 반복 처리하여 파라핀을 제거하였다. 100% 알코올로 10초간 3회 처리하여 xylene을 완전히 제거한 후, 95%, 80%, 70% 알코올 순서로 각각 2회씩 처리한 다음 1차 증류수로 흡수시켰다. 항원을 회복시키기 위해 10 mM의 citrate 완충용액(pH 6.0)에 슬라이드를 넣고 마이크로웨이브 전자렌지의 90°C에서 10분 동안 처리하여 실온에서 식힌 후 PBS(phosphate-buffered saline)로 5분씩 3회 세척하였다. 조직내의 내인성 과산화분해효소의 활성을 억제하기 위하여 20분간 0.3% 과산화수소로 처리한 후 PBS로 2-3회 세척하였다. 비특이적 항체의 결합을 방지하기 위하여 정상 차단 양혈청(DAKO kit, 1:5, USA)으로 전처리한 후, 일차항체로 1:200 희석된 FHIT(primary rabbit anti-glutathione S transferase-Fhit polyclonal antibody, Zymed, San Francisco, USA)와 1:25 희석된 항 p21 단일클론항체(monoclonal mouse anti-human p21^{WAF1/Cip1}, DAKO, Glostrup, Denmark)를 4°C에서 약 10-12시간 반응시켰다. 다음날, LSAB kit(DAKO, USA)를 이용하여 biotin이 부착된 이차항체와 표지항체인 streptavidin을 순서대로 실온에서 30분간 반응시킨 후 PBS로 세척하였다. diaminobenzidine(DAKO, USA)으로 5-10분간 발색시켜 흐르는 물에 수세하고 Mayerhematoxylin으로 대조염색하여 비수용성 봉입제로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

염색결과의 판독

FHIT의 발현 정도의 차이는 광학 현미경 시야에서 종양세포 세포질의 염색 강도를 점수화하여 판독하였다. FHIT 발현의 양성과 음성 대조군으로는 각각 정상 위 상피세포와 기질세포를 이용하였다. Capuzzi 등¹¹이 분류한 대로 염색의 강도를 4단계로 나누어서 종양의 염색 강도에 따라 음성 -, 약양성 +, 중간양성 ++, 강양성 +++으로 점수화하였다. 이때 5% 이상의 명확한 염색이 있는 것을 양성으로 하였다.

p21의 발현 정도의 차이는 염색된 세포의 밀도가 높은 부위 중 400배 시야에서 1,000개의 종양세포당 핵이 갈색으로 염색된 세포의 백분율을 구하여 살펴보았다. 이미 Gomyo 등¹⁶이 분류한 대로 양성 발현율 20%를 기준으로 하여 3등급으로 구분하였다. 양성으로 발현되는 세포가 1% 미만인 경우를 -, 1-20%의 종양 세포에서 양성인 경우를 +, 20% 이상의 종양세포에서 양성인 경우를 ++로 하였다.

통계 분석

FHIT 및 p21 각각의 발현 양상과 예후 인자와의 상관성뿐만 아니라 FHIT와 p21 발현의 상관 관계에 대해서, SPSS(version 9.0) 통계 프로그램을 이용하여 카이제곱 검정으로 분석하였으며 유의 수준은 p<0.05로 정하였다.

Table 1. Correlation between expression of FHIT and p21, and clinicopathologic parameters in gastric adenocarcinoma

Clinicopathologic factors	No. of cases	No. of FHIT expression (%)				p value	No. of p21 expression (%)			p value
		-	+	++	+++		-	+	++	
Mean age (years)	60.8±14.6	62.3±14.8	55.6±14.2	58.3±16.8	64.0±8.9	0.395	59.2±14.8	59.5±14.6	65.5±14.2	0.274
Mean size (cm)	5.8±3.5	6.2±3.4	4.7±3.5	6.5±4.5	2.5±1.7	0.148	6.4±4.2	4.9±2.8	5.8±2.7	0.281
Histologic type										
Lauren						0.626				0.648
Intestinal	4	3 (75.0)	1 (25.0)	0	0		3 (75.0)	0	1 (25.0)	
Diffuse	68	46 (67.6)	16 (23.5)	3 (4.4)	3 (4.4)		30 (44.1)	23 (33.8)	15 (22.1)	
Mixed	10	9 (90.0)	0	1 (10.0)	0		4 (40.0)	3 (30.0)	3 (30.0)	
WHO						0.534				0.363
Papillary	4	3 (75.0)	0	1 (25.0)	0		2 (50.0)	2 (50.0)	0	
Tubular	56	40 (71.4)	12 (21.4)	1 (1.8)	3 (5.4)		28 (50.0)	13 (23.2)	15 (26.8)	
Mucinous	3	2 (66.7)	1 (33.3)	0	0		1 (33.3)	2 (66.7)	0	
Signet ring	13	9 (69.2)	2 (15.4)	2 (15.4)	0		3 (23.1)	7 (53.8)	3 (23.1)	
Undifferentiated	6	4 (66.7)	2 (33.3)	0	0		3 (50.0)	2 (33.3)	1 (16.7)	
pT category						0.000*				0.222
pT1	4	1 (25.0)	0	1 (25.0)	2 (50.0)		1 (25.0)	2 (50.0)	1 (25.0)	
pT2	22	8 (36.4)	12 (54.5)	2 (9.1)	0		6 (27.3)	10 (45.5)	6 (27.3)	
pT3	20	18 (90.0)	2 (10.0)	0	0		13 (65.0)	5 (25.0)	2 (10.0)	
pT4	36	31 (86.1)	3 (8.3)	1 (2.8)	1 (2.8)		17 (47.2)	9 (25.0)	10 (27.8)	
pN category						0.001*				0.026*
Node-negative	25	10 (40.0)	10 (40.0)	3 (12.0)	2 (8.0)		9 (36.0)	13 (52.0)	2 (12.0)	
Node-positive	57	48 (84.2)	7 (12.3)	1 (1.8)	1 (1.8)		28 (49.1)	13 (22.8)	16 (28.1)	
Blood vessel invasion						0.531				0.272
Negative	77	53 (68.8)	17 (22.1)	4 (5.2)	3 (3.9)		34 (44.2)	26 (33.8)	17 (22.1)	
Positive	5	5 (100)	0	0	0		3 (60.0)	0	2 (40.0)	
Lymphatic invasion						0.000*				0.017*
Negative	24	9 (37.5)	10 (41.7)	3 (12.5)	2 (8.3)		8 (33.3)	13 (54.2)	3 (12.5)	
Positive	58	49 (84.5)	7 (12.1)	1 (1.7)	1 (1.7)		29 (50.0)	13 (22.4)	16 (27.6)	
Histologic grade						0.000*				0.731
Well	3	0	2 (66.7)	1 (33.3)	0		1 (33.3)	2 (66.7)	0	
Moderate	13	9 (69.2)	0	1 (7.7)	3 (23.1)		6 (46.2)	4 (30.8)	3 (23.1)	
Poor	66	49 (74.2)	15 (22.7)	2 (3.0)	0		30 (45.5)	20 (30.3)	16 (24.2)	
Stage						0.000*				0.278
0	1	0	0	1 (100)	0		0	1 (100)	0	
I	3	1 (33.3)	0	0	2 (66.7)		1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	
II	22	8 (36.4)	12 (54.5)	2 (9.1)	0		6 (27.3)	10 (45.5)	6 (27.3)	
III	20	18 (90.0)	2 (10.0)	0	0		13 (65.0)	5 (25.0)	2 (10.0)	
IV	36	31 (86.1)	3 (8.3)	1 (2.8)	1 (2.8)		17 (47.2)	9 (25.0)	10 (27.8)	

*: p<0.05.

결 과

임상 및 병리조직학적 소견 (Table 1)

전체 82예의 위샘암중 중, 환자의 연령은 19세부터 95세까지 분포하고 있었고 평균 연령은 61세였다. 성별은 남자가 44예, 여자가 38예로 남자가 더 많았다. 종양의 크기는 0.7 cm부터 20 cm 까지 분포하였고, 평균 크기는 5.8 cm였다. Lauren 분류에 의하면 장형 4예(4.9%), 미만형 68예(82.9%), 혼합형 10예(12.2%)였으며, WHO 분류상 유두상 샘암종 4예(4.8%), 관상 샘암종 56예(68.3%), 점액성 샘암종 3예(3.7%), 인환세포암종 13예(15.9%), 미분화암종 6예(7.3%)였다. 종양의 침윤도(pT)는 pT1은 종양이 점막하 부위까지 침윤한 경우로 4예(4.9%), pT2는

Table 2. Correlation between expression of FHIT and p21 in gastric adenocarcinoma

p21	FHIT			
	-	+	++	+++
-	32 (39.0%)	5 (6.1%)	0 (0)	0 (0)
+	14 (17.1%)	6 (7.3%)	4 (4.9%)	2 (2.4%)
++	12 (14.6%)	6 (7.3%)	0 (0)	1 (1.2%)

p=0.035.

장막하 부위까지 침윤한 경우로 22예(26.8%), 그리고 pT3는 주변의 장기의 침윤없이 장막을 통과한 경우로 20예(24.4%), pT4는 주변의 장기로 침윤한 경우로 36예(43.9%)였다. 림프절 전이(pN)는 음성군이 25예(30.5%), 양성군이 57예(69.5%)였으며, 혈관 침윤은 음성군이 77예(93.9%), 양성군이 5예(6.1%)였고,

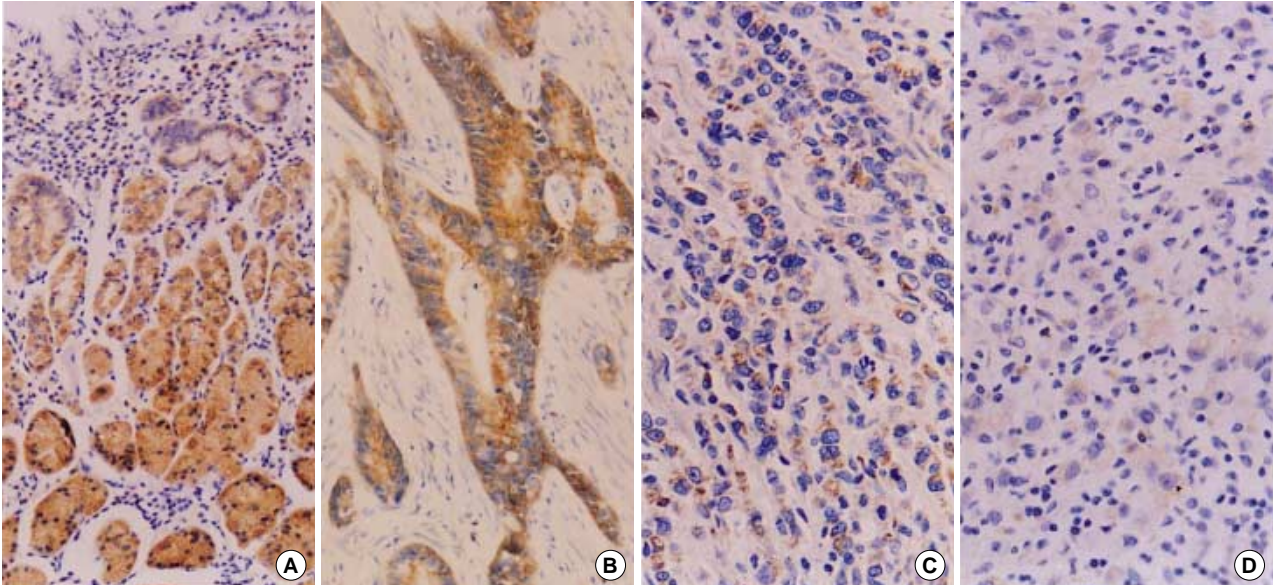


Fig. 1. Immunohistochemical stainings for FHIT in normal gastric mucosa and adenocarcinoma. Normal gastric mucosa shows strong cytoplasmic positivity in gastric proper glands, while weak staining in foveolar epithelial cells (A). In gastric adenocarcinoma, FHIT expression represent strongly positive (B) in 3.7%, moderately positive (C) in 4.9% and weakly positive (D) in 20.7%.

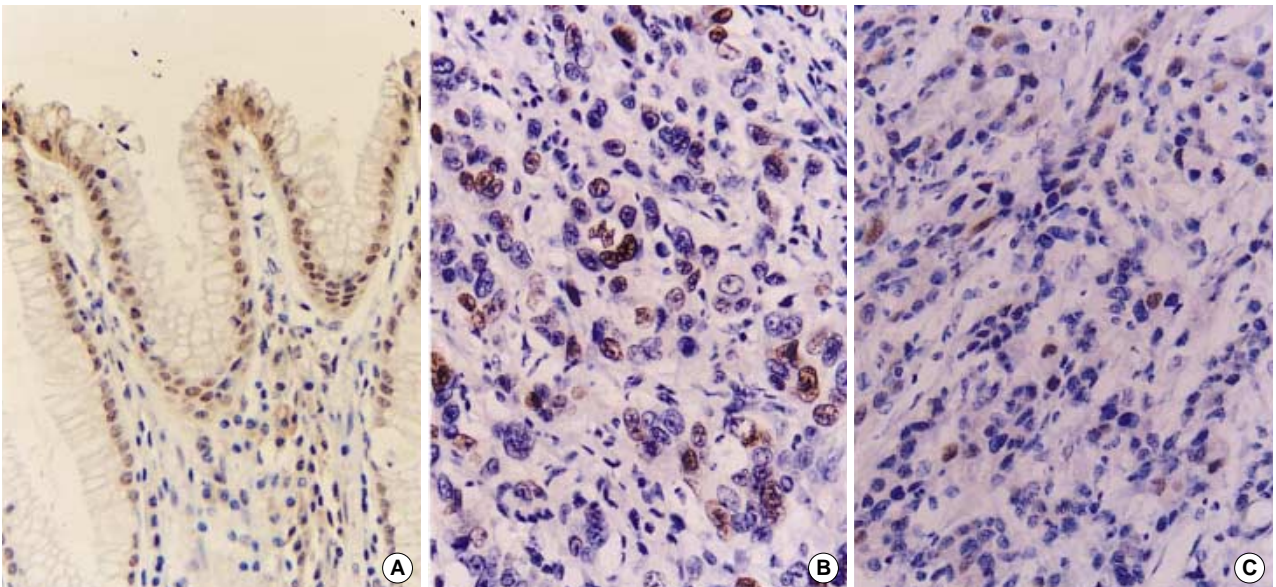


Fig. 2. Immunohistochemical stainings for p21 in normal gastric mucosa and adenocarcinoma. Normal gastric mucosa shows nuclear positivity in foveolar epithelial cells (A). In gastric adenocarcinoma, p21 expression represent strongly positive (B) in 23.2% and weakly positive (C) in 31.7%.

림프관 침윤은 음성군이 24예(29.3%), 양성군이 58예(70.7%)였다. 조직학적 분화도는 분화가 좋은 경우가 3예(3.6%), 중등도 분화가 13예(15.9%), 분화가 나쁜 경우가 66예(80.5%)였고, 임상 병기는 병기 0이 1예(1.2%), 병기 I이 3예(3.7%), 병기 II가 22예(26.8%), 병기 III이 20예(24.4%), 병기 IV가 36예(43.9%)였다.

면역조직화학적 소견

정상 위점막과 위샘암중에서의 FHIT 및 p21의 발현

FHIT 발현은 82예의 모든 위샘암중 주변의 정상 위 상피세포들의 세포질에서 균질하게 강한 양성 반응을 보였다(Fig. 1A). 환자의 58예(70.7%)에서 FHIT 발현의 소실(-)을 보였으며, 3예(3.7%)만이 강양성(+++) (Fig. 1B), 4예(4.9%)가 중간양성

(++) (Fig. 1C), 17예(20.7%)가 약양성(+) (Fig. 1D)을 보였다.

p21의 발현은 위샘암중 주변의 비종양성 위조직이 관찰되는 82예 모두에서, 위소와와 장형화생을 보이는 표면 상피세포의 핵에서 p21 단백질 양성으로 발현되었다(Fig. 2A). 그러나 위 기저층, 유문샘이나 심부의 증식능이 있는 부위에서는 발현되지 않았다. 위샘암중에서의 염색 양상은 종양 세포의 핵에 염색되었고, 양성으로 표현되는 빈도는 총 82예 중 45예(54.9%), 음성은 37예(45.1%)였다. 그 중 20% 이상의 종양 세포에서 미만성으로 염색된 예는 19예(23.2%) (Fig. 2B), 1-20%의 종양 세포에서 염색된 예는 26예(31.7%)였다(Fig. 2C).

FHIT 및 p21의 발현과 다른 예후인자들간의 관계(Table 1)

FHIT 발현의 소실 정도는 환자의 연령($p=0.395$), 성별($p=0.973$), 종양의 크기($p=0.148$)와는 통계학적으로 상관 관계가 없었으나, 종양의 침윤도($p=0.000$), 림프절 전이($p=0.001$), 림프관 침윤($p=0.000$), 조직학적 분화도($p=0.000$), 임상 병기($p=0.000$)와는 유의한 상관 관계가 있었다.

p21 발현의 소실 정도는 환자의 연령($p=0.274$), 성별($p=0.879$), 종양의 크기($p=0.281$), 종양의 침윤도($p=0.222$), 분화도($p=0.731$), 임상 병기($p=0.278$)와는 통계학적 상관 관계가 없었으나, 종양의 림프절 전이($p=0.026$) 및 림프관 전이($p=0.017$)와는 유의한 상관 관계가 있었다.

FHIT와 p21 발현간의 관계(Table 1)

FHIT의 발현 정도가 감소할수록 p21의 발현 정도도 감소하여 통계학적으로 선형대 선형 결합에 의한 유의한 상관 관계($p=0.035$)를 보였다.

고 찰

Ohta 등¹⁰은 상피세포암 세포주로부터 가족성 신세포암의 염색체 전좌와 관련된 breakpoint인 3p14.2에 위치하는 유전자를 위치 클로닝한 결과, 이 유전자는 아미노산 상동성 분석 상에서 histidine 잔기 3개(histidine triad)가 잘 보존된다는 사실을 알게 되었다. 이 점에 착안하여 염색체 절단 부위라는 의미의 조각(fragile)인 첫글자 "F"를 histidine triad 앞에 붙여 fragile histidine triad (FHIT)로 명명하고, 이 유전자가 약 50%의 소화 기암에서 비정상적인 mRNA를 만든다는 것을 처음 보고하다.

FHIT 유전자 생성 단백질은 Schizosaccharomyces pombe의 효소인 diadenosine 5', 5'''-P₁, P₄-tetrphosphate (AP₄A) asymmetrical hydrolase와 69%의 유사성을 가지고 있다.²¹ 이 효소는 AP₄A를 ATP와 AMP로 비대칭적으로 분리시키는 역할을 한다. AP₄A의 기능은 DNA 중합효소를 자극하고, 또한 열, 산소나 DNA 손상 같은 대사적 스트레스에 대해 세포가 적응하는 능력을 유도할 것으로 추측된다. 그러나 FHIT 유전자의 기능 상

실로 인해 AP₄A가 축적되면, 세포들의 증식을 자극하는 결과를 초래함으로써 악성화를 유도하고,²¹ 유전자적 손상의 원인이 되는 발암물질이나 바이러스에 의한 스트레스에 대해 세포가 적응하기 어렵게 될 것으로 추측된다.

FHIT 유전자의 비정상적 전사는 식도, 위, 대장 등 소화기 암종과 폐, 상기도 등 호흡기 암종에서 45-55%로 발견되고 있다.¹⁰ 또한 최근에는 FHIT 발현 이상의 빈도가 위장관²²을 포함하여 폐,²³ 유방,²⁴ 두경부,²⁵ 신장,²⁶ 자궁 경부,²⁷ 췌장²⁸ 등 여러 암에서 높게 보고되고 있어 이 유전자가 암억제 유전자일 것으로 추정하고 있다.

본 연구에서는 환자의 70% 이상에서 FHIT 발현의 소실이 관찰되었다. 저자들은 위샘암중을 가진 환자의 여러 임상적 예후인자와의 상관성에 대해서 조사하였다. 그 결과 FHIT 발현의 감소나 소실은 종양의 침윤도, 림프절 전이, 림프관 침윤, 조직학적 분화도 및 임상 병기 사이에 통계학적으로 유의한 연관성을 보였다. 따라서 FHIT 발현 정도를 평가함으로써 환자의 예후를 결정하는 데 유용한 지표가 될 수 있을 것으로 생각한다.

여러 문헌에 의하면, 폐와 위 종양의 대부분에서 FHIT 발현의 소실을 보였고 이 소실은 균질하게 나타났으며,^{23,29} 유방암에서는 약 40%의 예에서 FHIT 소실이 이질적으로 나타났다.²⁴ 췌장 종양의 대부분이 FHIT에 대하여 음성을 나타내는 반면,²⁸ 신장의 투명신세포암종들은 50%에서 FHIT 발현이 음성이었고 35%는 음성인 것과 양성인 것이 섞여 있는 것으로 나타났다.²⁶ 위샘암중 환자에 대한 본 연구에서도 대부분이 발현의 소실 정도가 균질하게 나타났다. 이와 같은 결과에 대하여 Capuzzi 등¹¹은 폐, 위, 췌장이 FHIT/FRA3B 손상을 유발하는 발암물질에 직접적으로 노출되며, 초기 단계에서 FHIT 손상을 받을 것으로 해석하였다. 반대로, 유방암 조직은 일차적으로 다른 종양억제 유전자가 손상을 받아 염색체가 불안정해지고 이차적으로 fragile 부위가 불안정하게 될 것으로 추측하였다. 신세포암종은 FHIT 소실이 초기 단계에서 나타나는 것과, 다른 종양억제 유전자가 손상을 받은 다음 후기 단계에서 나타나는 것이 동시에 나타날 것으로 생각하였다. 또한 위종양에서의 FHIT 발현이 대부분 균질하게 나타나는 것도 FHIT 소실이 초기 단계에서 나타나며, 아마도 FHIT 음성인 종양이 FHIT 양성인 종양으로부터 발생하지 않는다는 것을 의미하는 것이라고 보고하여 저자들과 같은 의견을 주장하였다.

p21 단백질은 cdk 억제자의 하나로 염색체 6p21.2에 위치하며 wild type p53 activated fragment-1 (WAF1), cyclin dependent kinase interacting protein-1 (CIP1)과 senescent cell-derived inhibitor-1 (SDI1)으로도 불린다. 야생형 p21 단백질은 세포주기의 역조절자로 세포 노화와 연관이 있어서 위샘암중 주변의 정상 위조직의 표면 상피 세포에서 관찰된다. 그리고 심부의 증식하는 세포나 위기저층과 유문샘에서는 관찰되지 않는다고 한다.³⁰ p21은 세포주기의 역조절자로 작용하여 세포 증식을 억제하는 역할을 하므로 위샘암중에서 종양 침윤 정도와 임상 병기

와는 역상관 관계를 보인다는 보고들이 있다.^{16,17} 김 등¹⁷에 의하면 위샘암중에서 p21 단백질의 발현이 종양의 침윤 깊이와 혈관 침윤성과 역상관 관계를 보이므로, 종양의 진행에 관여하는 예후 인자로서의 역할을 할 수 있을 것으로 생각한다고 보고하였다. 그리고 Gomyo 등¹⁶에 의하면 진행성 위암에서 p21과 p53 단백질 발현과 생존율과의 관계를 조사한 결과 p21이 p53보다 더 좋은 예후 인자가 될 수 있다고 보고하였다. 본 연구에 의하면, p21 발현의 소실 정도는 종양의 림프절 전이 및 림프관 침윤 사이에 통계학적으로 유의한 상관 관계를 보였다. 이와 같이 림프 계통에 특이적으로 상관 관계를 보인 본 연구 결과에 대하여 해석하기는 어려우나, 아마도 암의 림프절 전이 및 림프관 침윤에 관련되는 어떤 단계에서 p21 단백질이 관여할 가능성을 배제할 수는 없을 것이다. 또한 통계학적으로 유의하지는 않았지만 종양의 침윤도와 임상 병기와도 경계역의 상관 관계를 보여, p21 단백질의 발현 정도가 예후 인자로서의 한 지표가 될 수 있을 것으로 생각한다.

위암중에서 FHIT 발현의 소실이 여러 종양 표지자들 중 p21의 발현과 가장 연관성이 있었다는 Capuzzi 등¹¹의 보고와, FHIT가 소실되어 있던 폐종양 세포주 내에 FHIT 단백을 주입시킨 결과 p21이 증가되는 것을 확인하였다는 Sard 등¹⁸의 보고와 같이, 본 연구에서도 FHIT와 p21 발현 사이에 상관 관계($p=0.035$)를 보여 위의 보고와 결과가 일치하였다. 이는 아마도 FHIT가 세포주기 억제에도 관여할 것이라는 점을 예측 가능하게 해 준다.

결론적으로 말하여 위샘암중에서 FHIT와 p21 발현의 소실은 예후 인자로서 가치가 있으며, FHIT는 세포주기 억제에도 관여할 것으로 생각한다.

참고문헌

1. The Korean Society of Pathologists. Text book of pathology. 4th ed. Seoul: Koomonsa, 2000; 189-200.
2. Kneller RW, You WC, Chang YS, *et al.* Cigarette smoking and other risk factors for progression of precancerous stomach lesions. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1261-6.
3. Baik SC, Youn HS, Chung MH, *et al.* Increased oxidative DNA damage in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. *Cancer Res* 1996; 56: 1279-82.
4. You WC, Zhang L, Yang CS, Chang YS, Issaq H, Fox SD. Nitrite, N-Nitroso compounds, and other analytes in physiological fluids in relation to precancerous gastric lesions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 47-52.
5. Sano T, Tsujino T, Yoshida K, *et al.* Frequent loss of heterozygosity on chromosomes 1q, 5q, and 17p in human gastric carcinomas. *Cancer Res* 1991; 51: 2926-31.
6. Quiemado L, Seruca R, Costa-Perira A, Castedo S. Identification of two distinct regions of deletion at 6q in gastric carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1995; 14: 28-34.
7. Schneider BC, Pulitzer DR, Brown RD, *et al.* Allelic imbalance in gastric cancer: An affected site on chromosome arm 3p. *Genes Chromosomes Cancer* 1995; 13: 263-71.
8. Tamura G, Ogasawara S, Nishizuka S, *et al.* Two distinct regions of deletion on the long arm of chromosome 5 in differentiated adenocarcinomas of the stomach. *Cancer Res* 1996; 56: 612-5.
9. Motomura K, Nishisho I, Takai SI, Tateishi H, Okazaki M, Yamamoto M. Loss of alleles at loci on chromosome 13 in human primary gastric cancers. *Genomics* 1988; 2: 180-4.
10. Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, *et al.* The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3:8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers. *Cell* 1996; 84: 587-97.
11. Capuzzi D, Santoro E, Hauck WW, *et al.* Fhit expression in gastric adenocarcinoma. *Cancer* 2000; 88: 24-34.
12. Tamura G, Sakata K, Nishizuka S, *et al.* Analysis of the fragile histidine triad gene in primary gastric carcinomas and gastric carcinoma cell lines. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; 20: 98-102.
13. Baffa R, Veronese ML, Santoro R, *et al.* Loss of FHIT expression in gastric carcinoma. *Cancer Res* 1998; 58: 4708-14.
14. Terry LA, Boyd J, Alcorta D, *et al.* Mutational analysis of the p21/WAF1/CIP1/SDI1 coding region in human tumor cell lines. *Mol Carcinogenesis* 1996; 16: 221-8.
15. Waga S, Li R, Stillman B. p53 induced p21 controls DNA replication. *Leukemia* 1997; 3: 321-3.
16. Gomyo Y, Ikeda M, Osaki M, *et al.* Expression of p21 in gastric carcinoma. *Cancer* 1997; 79: 2067-72.
17. Kim YJ, Choi YH, Choi KC, Park YE. Expression of p21 and p53 proteins in gastric adenocarcinoma. *Korean J Pathol* 1999; 33: 187-92.
18. Sard L, Accornero P, Tornielli S, *et al.* The tumor-suppressor gene FHIT is involved in the regulation of apoptosis and in cell cycle control. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 8489-92.
19. Watanabe G, Jass JR, Sabin LH. Histological typing of oesophageal and gastric tumours. World Health Organization international histological classification of tumours. Berlin: Springer, 1989; 20-6.
20. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at histoclinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; 64: 31-49.
21. Huang Y, Garrison PN, Barnes LD. Cloning of the Schizosaccharomyces pombe gene encoding diadenosine 5', 5'''-P₄-tetrakisphosphate (AP₄A) asymmetrical hydrolase sequence similarity with histidine triad (HIT) family. *J Biochem* 1995; 312: 925-32.
22. Gemma A, Hagiwara K, Ke Y, *et al.* FHIT mutations in human primary gastric cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 1435-7.
23. Sozzi G, Veronese ML, Negrini M, *et al.* The FHIT gene at 3p14.2 is abnormal in lung cancer. *Cell* 1996; 85: 17-26.

24. Ingvarsson S, Agnarsson BA, Sigbjornsdottir BI, *et al.* Reduced Fhit expression in familial and sporadic breast carcinomas. *Cancer Res* 1999; 59: 2682-9.
25. Geurts JMW, Schoenmakers FPM, Roijer E, Stenman G, VandeVen WJM. Expression of reciprocal hybrid transcripts of HMGIC and FHIT in a pleomorphic adenoma of the parotid gland. *Cancer Res* 1997; 57: 13-7.
26. Hadaczek P, Siprashvili Z, Markiewski M, Domagala W, Druck T, McCue PA. Absence or reduction of Fhit expression in most clear cell renal carcinomas. *Cancer Res* 1998; 58: 2946-51.
27. Birrer MJ, Hendricks D, Farley J, *et al.* Abnormal Fhit expression in malignant and premalignant lesions of the cervix. *Cancer Res* 1999; 59: 5270-4.
28. Sorio C, Baron A, Orlandini S, Zamboni G, Pederzoli P, Huebner K. The FHIT-gene is expressed in pancreatic ductular cells and is altered in pancreatic cancers. *Cancer Res* 1999; 59: 1308-14.
29. Tomizawa Y, Nakajima T, Kohno T, Saito R, Yamaguchi N, Yokota J. Clinicopathological significance of Fhit protein expression in Stage I non-small cell lung carcinoma. *Cancer Res* 1987; 58: 5478-83.
30. Bond JA, Blaydes JP, Rowson J, *et al.* Mutant p53 rescues human diploid cells from senescence without inhibiting the induction of SDI1/WAF1. *Cancer Res* 1995; 55: 2404-9.