

위암에서 예후인자로서 점액소 표현형과 CDX2 단백질 발현의 역할

정찬권 · 송교영¹ · 박경신 · 박조현¹
최명규² · 홍영선² · 이교영

가톨릭대학교 의과대학 병원병리학교실
외과학교실, ²내과학교실

접 수 : 2007년 2월 23일
게재승인 : 2007년 3월 9일

책임저자 : 이 교 영
우 137-701 서울시 서초구 반포동 505
가톨릭대학교 강남성모병원 병리과
전화: 02-590-1556
Fax: 02-592-4190
E-mail: leekyooy@catholic.ac.kr

*본 연구는 2005년 수도권 대학 특성화 사업
지원을 받아 이루어졌음.

Mucin Phenotype and CDX2 Expression as Prognostic Factors in Gastric Carcinomas

Chan-Kwon Jung, Kyo-Young Song¹, Gyeongsin Park, Cho-Hyun Park¹,
Myeong-Gyu Choi², Young-Seon Hong² and Kyo-Young Lee

Departments of Hospital Pathology, ¹Surgery and ²Internal Medicine, College of Medicine,
The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Background : Mucin phenotypic markers and CDX2 are widely expressed in gastric carcinomas, however, recent studies have produced conflicting results regarding whether the expression patterns of these markers have clinicopathologic significance. **Methods** : We examined samples from 217 gastric carcinoma patients immunohistochemically to determine if the expression of mucin phenotypic markers and CDX2 was correlated with postoperative survival and other clinicopathologic factors. **Results** : All tumors were phenotypically classified as gastric (type G, 81 cases), gastric and intestinal mixed (type GI, 55 cases), intestinal (type I, 43 cases), or unclassified (type U, 38 cases). The occurrence of type G and GI tumors was positively correlated with tumor progression whereas that of type U tumors was negatively correlated with tumor progression. CDX2 expression was correlated with type I tumors. Tumors that expressed MUC5AC or MUC6 had a better prognosis than those that did not. When the relationship between phenotype and prognosis was considered, type GI had the best prognosis, followed by type G, then type U. **Conclusions** : The mucin phenotypic markers may be useful for predicting tumor progression and survival in patients with gastric carcinomas. Additionally, CDX2 may play an important role in gastric carcinogenesis of type I tumors.

Key Words : Gastric cancer; Mucin; Phenotype; CDX2; Prognosis

점액소는 트레오닌(threonine), 세린(serine)이 풍부한 일련 반복 펩티드에 O-glycosylation으로 결합된 올리고당류를 많이 함유한 고분자량의 상피 당단백이다. 적어도 19종의 점액소가 알려져 있으며 구조와 기능에 따라 두 가지 유형으로 분류된다. 1) 분비형: MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC8, MUC9, MUC19; 2) 막결합형: MUC1, MUC3A, MUC3B, MUC4, MUC12, MUC13, MUC15, MUC16, MUC17, MUC20.¹⁻³ 점액유전자는 세포와 조직에 특이적으로 조절되어 발현되며, 많은 연구 결과 점액소 발현의 증가 혹은 감소가 종양 발생과정 및 분화에 관여하는 것으로 밝혀졌다. 위암에서 주로 발현되는 점액유전자는 MUC6, MUC2, MUC5AC, MUC5B으로 염색체 11p15.5에 순서대로 인접하여 위치한다.^{1,3}

정상 위점막에서 MUC1은 낱문의 표층 상피와 목 부위의 점액세포, 위낱문샘, 몸통의 산분비세포에서, MUC5AC는 주로

낱문과 몸통의 소화세포에서, MUC6는 몸통의 목점액세포와 낱문의 위낱문샘에서 제한적으로 발현된다.⁴

위암은 조직발생학적으로 장상피화생을 거쳐 위점막에서 발생하는 분화암(differentiated carcinoma)과 장상피화생과 무관하게 발생하는 미분화암(undifferentiated carcinoma)으로 분류할 수 있는데, 이 두 유형은 서로 다른 발생경로를 거치는 것으로 알려져 있다.⁵ 그러나 점액소는 이러한 위암의 조직학적 유형과는 무관하게 광범위하게 발현된다.⁴ 정상적으로 발현되는 점액소가 과발현되거나 소실되기도 하며, 장에서 발현되는 MUC2가 새로 발생하기도 한다.^{2,6-9} 위암은 조직학적 유형과는 무관하게 MUC2, MUC5AC, MUC6, CD10에 대한 면역조직화학 염색법으로 점액소의 발현 정도에 따라 위 표현형과 장 표현형으로 분류할 수 있다.⁴

위암에서 점액소 발현은 임상적으로 다양한 중요성을 가지지

만, 연구들마다 상반된 결론들이 많다.¹⁰ 환자의 생존율과 관련된 연구에서도 연구자에 따라 각 점액소의 발현은 다양한 결과를 보였다.^{3,4,8,11-14}

CDX2 (caudal type homeobox 2)는 caudal-related homeobox protein의 일종으로 십이지장에서 직장에 이르는 장 상피세포에 주로 발현되는 전사인자로서, 상피세포의 증식과 분화를 조절하는 데 중요한 역할을 한다.¹⁵ 정상 위점막에서는 CDX2가 발현되지 않지만 장상피화생에서는 발현된다.¹⁵ 또 위암 발생과 관련이 있으며, 특히 장표현형의 위암 발생과 연관성이 높았다.^{12,16,17} 위암의 예후 인자로서 CDX2 발현에 관해 연구한 사례가 일부 있지만 임상병리학적 중요성은 아직 잘 알려져 있지 않은 실정이다.^{12,17}

CD10은 common acute lymphoblastic leukemia antigen (CALLA)로 알려진 90-110 kDa의 cell surface zinc-dependent metalloprotease이다. 또 neutral endopeptidase, enkephalinase, neprilysin 으로서 불린다.¹⁸ CD10은 다양한 종양세포에서 발현될 뿐만 아니라 간질세포에서도 발현된다. 유방암, 흑색종, 대장암, 위암, 코인두암, 구강 편평세포암종 등에서 간질세포의 CD10 발현은 나쁜 예후 인자로 작용하였다.¹⁹⁻²² 그러나 간질세포에서 CD10 발현에 관한 연구는 그 수가 너무 적어 아직 정확한 기전은 파악하지 못한 실정이다.

본 연구에서는 임상적으로 추적할 수 있는 위암의 조직을 이용하여 면역조직화학적 방법으로 위암을 점액소 표현형에 따라 분류하고 여러 임상병리학적 자료와 비교 분석하여 이들이 인체 내 위암 진행과 어떤 관련이 있는지 알아보려고 한다. 또 종양세포의 CDX2 발현과 CD10의 간질세포 발현 양상도 조사하여 비교 분석한다. 더불어 이러한 결과들이 환자의 생존 기간과 어떤 관계가 있는지도 알아보려고 한다.

재료와 방법

본 연구(과제번호 R-KCMC-008)는 강남성모병원 임상시험심사위원회의(IRB)의 승인을 받아 진행되었다.

연구재료

1999년 1월부터 2001년 12월까지 가톨릭대학교 강남성모병원에서 외과적으로 근치적 수술을 받은 위암 환자의 조직 중 보존 상태가 양호한 217예(조기위암 174예, 진행위암 43예)를 대상으로 하였다. 병리진단 보고서를 참고하고 보관된 헤마토실린-에오신 염색 슬라이드를 재검토하여 조직학적 유형 및 등급, 림프절 전이 유무를 조사하였다. 대상 환자의 의무기록과 추적조사를 통해 나이, 성별 등 임상양상과 병기 및 생존 유무를 조사하였다.

조직미세배열 블록(Tissue Microarray Block) 제작

대상 증례의 헤마토실린-에오신 염색 슬라이드를 재검하여 각 증례의 조직학적 소견을 대표할 수 있는 부위를 표시하였다. 그런 다음 각 증례의 파라핀 포매 조직에서 그에 해당하는 부위를 조직미세배열 제작기구를 이용하여 조직미세배열 블록으로 만들었다. 전체 조직에 대한 대표성을 높이기 위하여 2 mm 직경의 펀치를 사용하였고, 각 표본당 두 개의 코어를 사용하여 블록당 15개의 표본을 5×6배열로 제작하였다.

면역조직화학 염색

조직미세배열 블록에서 5 μm 두께의 조직 절편을 얻고 자동 면역화학염색기(Lab Vision Autostainer LV-1; LabVision/Neomarkers, Fremont, CA, USA)를 사용하여 MUC2, MUC5AC, MUC6, CD10, CDX2에 대한 면역조직화학 염색을 실시하였다. 박절한 조직 표본은 59°C 보온기에 60분간 처리한 후 자이렌으로 파라핀을 제거하였다. 100%, 95%, 75% 알코올로 순차적으로 각각 3분간 처리하고 증류수로 흡수시켰다. 0.01 M citrate 완충용액(pH 6.0)으로 microwave vacuum histoprocessor (RHS-1, Milestone, Bergamo, Italy)를 사용하여 121°C에서 15분간 끓인 다음 식힌 후 이차 증류수로 씻어냈다. 내인성 페록시다아제의 활동을 억제하기 위해 3%의 과산화수소를 투여한 후, 다시 인산완충용액에 10분간 씻어냈다. 단백질단제가 들어 있는 Dako Antibody Diluent (Dako, Carpinteria, CA, USA)로 다음과 같이 일차항체를 희석하였다: MUC2 (1:200, clone Ccp58, monoclonal, Novocastra Lab., Newcastle upon Tyne, UK) MUC5AC (1:100, clone CLH2, monoclonal, Novocastra Lab.), MUC6 (1:100, clone CLH5, monoclonal, Novocastra Lab.), CD10 (1:400, clone 56C6, monoclonal, Novocastra Lab.), CDX2(1:100, clone CDX2-88, monoclonal, Biogenex, San Ramon, CA, USA). 일차항체는 실온에서 30분 동안 반응시켰다. 세척 후 이후 면역조직화학 염색 과정은 Envision plus System (Dako)를 사용하였다. 30분간 면역 반응 후 diaminobenzidine (Dako)으로 5분간 발색시켰다. 그런 다음 헤마토실린으로 대조염색 후 봉입하였다. 음성대조군은 염색 때 일차항체 대신 정상 생쥐혈청을 처리한 것을 제외하면 모든 과정을 실험 예와 동일하게 하였다.

면역조직화학 염색 결과 판정

MUC2, MUC5AC, MUC6는 종양세포의 세포질이 10% 이상 갈색으로 염색된 경우 양성으로 판정하였다. CD10는 종양세포의 술가장자리 혹은 간질세포의 세포질에 10% 이상 염색될 경우 종양세포 양성으로 판정하여 판정하였다. 점액소 표현형은 MUC5AC와 MUC6 중 어느 한 가지라도 양

성이면 위형(gastric (G) type), MUC2와 CD10 중 어느 한 가지라도 양성이면 장형(intestinal (I) type), G type과 I type이 같이 존재하는 경우 혼합형(mixed (M) type), 모든 표지자에

음성일 경우 미분화형(unclassified (U) type)으로 분류하였다. CDX2는 10% 이상의 종양세포의 핵에서 갈색으로 염색반응이 관찰될 때 양성으로 판정하였다.

Table 1. Correlations between clinicopathologic parameters and expression of MUC2, MUC5AC, MUC6, CD10, and CDX2 in 217 gastric carcinoma patients

Variables	Antigen expression						Total No.
	MUC2 No. (%)	MUC5AC No. (%)	MUC6 No. (%)	CD10(t) No. (%)	CD10(s) No. (%)	CDX2 No. (%)	
Gender							
Male	54 (37.8)	88 (61.5)	43 (30.1)	19 (13.3)	50 (35.0)	81 (56.6)	143
Female	28 (37.8)	41 (55.4)	16 (21.9)	8 (10.8)	22 (29.7)	36 (48.6)	74
p value	0.991	0.383	0.185	0.600	0.437	0.263	
Tumor size							
≤2 cm	26 (39.4)	44 (66.7)	26 (39.4)	9 (13.6)	25 (37.9)	40 (60.6)	66
>2 cm	56 (37.1)	85 (56.3)	33 (21.9)	18 (11.9)	47 (31.1)	77 (51.0)	151
p value	0.747	0.152	0.008	0.725	0.331	0.191	
Tumor location							
Upper	9 (37.5)	13 (54.2)	3 (12.5)	1 (4.2)	9 (37.5)	7 (29.2)	24
Middle	21 (28.0)	42 (56.0)	17 (22.7)	11 (14.7)	22 (29.3)	36 (48.0)	75
Lower	51 (45.5)	71 (63.4)	37 (33.0)	13 (11.6)	39 (34.8)	72 (64.3)	112
Whole	1 (16.7)	3 (50.0)	2 (33.3)	2 (33.3)	2 (33.3)	2 (33.3)	6
p value	0.387	0.491	0.033	0.216	0.794	0.018	
Histologic type							
Differentiated	49 (46.2)	64 (60.4)	39 (36.8)	20 (18.9)	49 (46.2)	79 (74.5)	106
Undifferentiated	33 (29.7)	65 (58.6)	20 (18.0)	7 (6.3)	23 (20.7)	38 (34.2)	111
p value	0.012	0.785	0.002	0.005	0.000	0.000	
Lauren							
Intestinal	49 (46.7)	61 (58.1)	38 (36.2)	23 (21.9)	47 (44.8)	79 (75.2)	105
Mixed	7 (26.9)	12 (46.2)	7 (26.9)	0 (0.0)	8 (30.8)	14 (53.8)	26
Diffuse	26 (30.2)	56 (65.1)	14 (16.3)	4 (4.7)	17 (19.8)	24 (27.9)	86
p value	0.032	0.209	0.009	0.000	0.001	0.000	
pT stage							
pT1	63 (41.2)	102 (66.7)	52 (34.0)	21 (13.7)	61 (39.9)	89 (58.2)	153
pT2	10 (37.0)	14 (51.9)	2 (7.4)	1 (3.7)	3 (11.1)	13 (48.1)	27
pT3, T4	9 (24.3)	13 (35.1)	5 (13.5)	5 (13.5)	8 (21.6)	15 (40.5)	37
p value	0.165	0.001	0.002	0.675	0.004	0.126	
Lymph node metastasis							
Negative	65 (44.2)	98 (66.7)	48 (32.7)	19 (12.9)	55 (37.4)	85 (57.8)	147
Positive	17 (24.3)	31 (44.3)	11 (15.7)	8 (11.4)	17 (24.3)	32 (45.7)	70
p value	0.005	0.002	0.009	0.755	0.055	0.094	
pTNM stage							
I	67 (42.7)	105 (66.5)	52 (32.9)	22 (13.9)	61 (38.6)	94 (59.5)	158
II	6 (30.0)	11 (55.0)	2 (10.0)	1 (5.0)	4 (20.0)	5 (25.0)	20
III	3 (25.0)	5 (41.7)	1 (8.3)	2 (16.7)	2 (16.7)	4 (33.3)	12
IV	6 (22.2)	8 (29.6)	4 (14.8)	2 (7.4)	5 (18.5)	14 (51.9)	27
p value	0.135	0.002	0.020	0.373	0.051	0.013	
Lymphatic invasion							
Negative	62 (44.3)	92 (65.7)	44 (31.4)	18 (12.9)	47 (33.6)	83 (59.3)	140
Positive	20 (26.0)	37 (48.1)	15 (19.5)	9 (11.7)	25 (32.5)	34 (44.2)	77
p value	0.008	0.011	0.058	0.803	0.869	0.032	
Blood vessel invasion							
Negative	79 (39.1)	126 (62.4)	58 (28.7)	23 (11.4)	67 (33.2)	108 (53.5)	202
Positive	3 (20.0)	3 (20.0)	1 (6.7)	4 (26.7)	5 (33.3)	9 (60.0)	15
p value	0.141	0.001	0.075	0.099	1.000	0.624	
Perineural invasion							
Negative	71 (41.5)	110 (64.3)	51 (29.8)	24 (14.0)	64 (37.4)	99 (57.9)	171
Positive	11 (23.9)	19 (41.3)	8 (17.4)	3 (6.5)	8 (17.4)	18 (39.1)	46
p value	0.029	0.005	0.092	0.171	0.010	0.023	
Total expression	82 (37.8)	129 (59.4)	59 (27.2)	27 (12.4)	72 (33.2)	117 (53.9)	217

통계학적 분석

위암의 모든 예에서 나이, 성별, 조직학적 유형 및 분화도, 침범 깊이, 림프절 전이 유무, 임상병기 등의 임상병리학적 변수에 따른 각종 단백질의 발현 및 점액소 표현형의 차이는 χ^2 검정, linear-by-linear association, ANOVA 검정으로 분석하였다.

Kaplan-Meier 분석과 Cox proportional hazard model을 이용하여 이들 인자들이 독립적인 예후 인자로서 가치가 있는지 분석하였다. 통계학적 처리는 컴퓨터용 통계 프로그램인 SPSS version 11.5 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA)를 사용하여 유의성을 검증하였고, p 값이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

Table 2. Correlations between mucin phenotypes and clinicopathologic parameters and CDX2 expression in 217 gastric carcinoma patients

Variables	Mucin phenotypes (%)				p value
	G	GI	I	U	
Total No.=217 (%)	81 (37.3)	55 (25.3)	43 (19.8)	38 (17.5)	
Age (years)	56.0±14.0	61.0±11.4	60.9±10.4	58.6±13.7	0.501
Gender					0.442
Male	57 (70.4)	37 (67.3)	28 (65.1)	21 (55.3)	
Female	24 (29.6)	18 (32.7)	15 (34.9)	17 (44.7)	
Tumor size					0.175
≤2 cm	27 (33.3)	21 (38.2)	11 (25.6)	7 (18.4)	
>2 cm	54 (66.7)	34 (61.8)	32 (74.4)	31 (81.6)	
Tumor location					0.380
Upper	10 (12.3)	4 (7.3)	5 (11.6)	5 (13.2)	
Middle	32 (39.5)	12 (21.8)	16 (37.2)	15 (39.5)	
Lower	37 (45.7)	38 (69.1)	20 (46.5)	17 (44.7)	
Whole	2 (2.5)	1 (1.8)	2 (4.7)	1 (2.6)	
Histologic type ^a					0.009
Differentiated	33 (40.7)	33 (60.0)	27 (62.8)	13 (34.2)	
Undifferentiated	48 (59.3)	22 (40.0)	16 (37.2)	25 (65.8)	
Lauren ^b					0.005
Intestinal	31 (38.3)	32 (58.2)	29 (67.4)	13 (34.2)	
Mixed	10 (12.3)	5 (9.1)	2 (4.7)	9 (23.7)	
Diffuse	40 (49.4)	18 (32.7)	12 (27.9)	16 (42.1)	
pT stage ^c					0.011
pT1	60 (74.1)	47 (85.5)	27 (62.8)	19 (50.0)	
pT2	9 (11.1)	5 (9.1)	6 (14.0)	7 (18.4)	
pT3, T4	12 (14.8)	3 (5.5)	10 (23.3)	12 (31.6)	
Lymph node metastasis ^d					0.001
Negative	57 (70.4)	46 (83.6)	27 (62.8)	17 (44.7)	
Positive	24 (29.6)	9 (16.4)	16 (37.2)	21 (55.3)	
pTNM stage ^e					0.008
I	60 (74.1)	50 (90.9)	29 (67.4)	19 (50.0)	
II	9 (11.1)	2 (3.6)	4 (9.3)	5 (13.2)	
III	3 (3.7)	2 (3.6)	3 (7.0)	4 (10.5)	
IV	9 (11.1)	1 (1.8)	7 (16.3)	10 (26.3)	
Lymphatic invasion ^f					0.003
Negative	52 (64.2)	45 (81.8)	26 (60.5)	17 (44.7)	
Positive	29 (35.8)	10 (18.2)	17 (39.5)	21 (55.3)	
Blood vessel invasion ^g					0.003
Negative	79 (97.5)	54 (98.2)	38 (88.4)	31 (81.6)	
Positive	2 (2.5)	1 (1.8)	5 (11.6)	7 (18.4)	
Perineural invasion ^h					0.005
Negative	62 (76.5)	52 (94.5)	32 (74.4)	25 (65.8)	
Positive	19 (23.5)	3 (5.5)	11 (25.6)	13 (34.2)	
CDX2					0.000
Negative	51 (63.0)	19 (34.5)	7 (16.3)	23 (60.5)	
Positive	30 (37.0)	36 (65.5)	36 (83.7)	15 (39.5)	

^a-Significant differences between mucin phenotypes (p<0.05). ^a, G vs I, GI, U, I vs U; ^b, G vs I, U, GI vs U, I vs U; ^c, GI vs I, U; ^d, G vs U, GI vs I, U; ^e, G vs U, GI vs I, U; ^f, GI vs G, I, U; ^g, G vs I, U, GI vs U; ^h, GI vs G, I, U; ⁱ, G vs I, GI, U, I vs U, GI vs I, U.

결 과

전체 217예의 위암 환자의 연령은 24세에서 88세까지(평균

59.3±12.6세) 분포하였고, 이 중 남자는 143명, 여자는 74명 (남자:여자=1.93:1)이었다. 종양의 조직학적 유형에 따라 분류 하면 유두샘암종 2예(0.9%), 고분화관상샘암종 41예(18.9%),

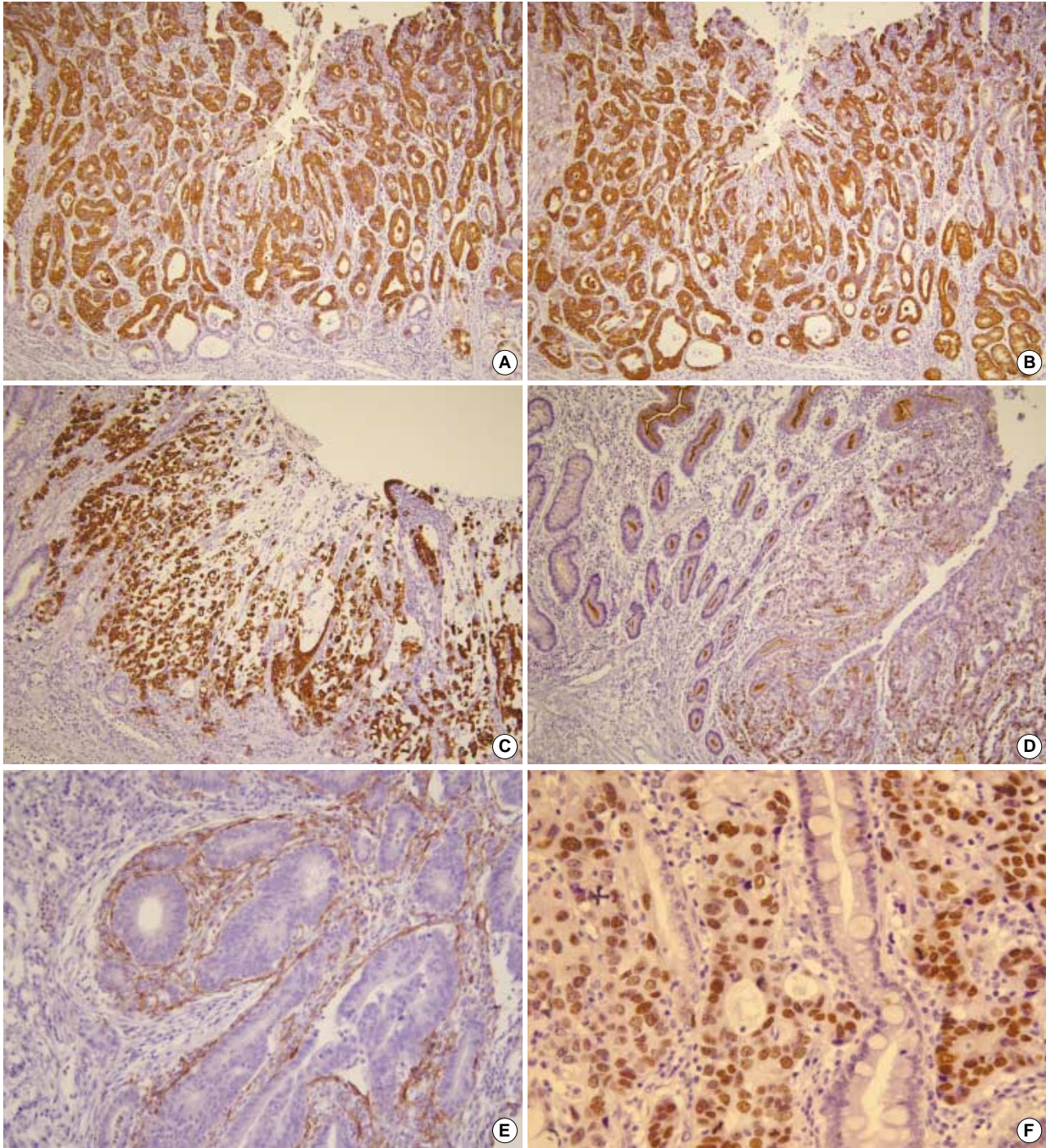


Fig. 1. Representative immunohistochemical gastric (A and B) and intestinal (C and D) phenotypic expression in gastric carcinomas. (A) MUC5AC is detected in the cytoplasm of tumor cells. (B) MUC6 is detected in the cytoplasm of tumor cells and pyloric glands in normal gastric mucosa. (C) MUC2 is positive in the cytoplasm of intestinal metaplasia and cancer cells. (D) CD10 is apparent in the luminal surface of intestinal metaplasia and cancer cells. (E) CD10 is present in the stromal cells around the infiltrating cancer cells, but not in cancer cells. (F) CDX2 nuclear staining is observed in the cancer cells, but not normal gastric mucosa.

중분화관상샘암종 63예(29.0%), 저분화관상샘암종 76예(35.0%), 점액암종 5예(2.3%), 반지세포암종 30예(13.8%)였다. 유두샘암종, 고분화 및 중분화관상샘암종을 분화암종(differentiated carcinoma)으로 분류하고, 저분화관상샘암종, 점액암종, 반지세포암종을 미분화암종(undifferentiated carcinoma)으로 분류하여 통계에 이용하였다.

MUC2, MUC5AC, MUC6, CDX2은 전체 위암 217예 중 각각 82예(37.8%), 129예(59.4%), 59예(27.2%), 117예(53.9%)에서 양성반응을 보였다. CD10은 종양세포의 발현(CD10(t))과 간질세포의 발현(CD10(s))으로 구분하여 분석하였다. CD10(t)는 27예(12.4%)에서, CD10(s)는 72예(33.2%)에서 양성반응을 보였다.

MUC2, MUC5AC, MUC6, CD10, CDX2 단백질 발현과 임상 병리학적 인자의 관계 (Table 1)

MUC6는 종양의 크기가 2 cm 이하인 예에서 발현율이 높았다($p < 0.05$). MUC6와 CDX2는 종양의 해부학적 위치에 따라 발현율에 차이를 보였고, 위 상부보다 하부에서 발현율이 높았다(각각 $p < 0.05$). 위암의 조직학적 유형은 MUC2, MUC6, CD10(t), CD10(s), CDX2의 발현과 상관관계가 있었는데, 이들 모두 미분화암보다 분화암에서 발현율이 높았다($p < 0.05$). Lauren 위암 분류에 따른 장형 위암은 미만성 위암보다 MUC2, MUC6, CD10(t), CD10(s), CDX2의 발현율이 높았다($p < 0.05$). T1 병기의 위암은 진행된 T 병기의 위암보다 MUC5AC, MUC6, CD10(s)의 발현율이 유의하게 높았다($p < 0.05$). MUC2, MUC5AC, MUC6 발현의 소실은 림프절 전이와 유의한 상관관계가 있었다($p < 0.05$). 임상병기와 관련성이 있는 인자는 MUC5AC, MUC6, CDX2였다($p < 0.05$). MUC2, MUC5AC, CDX2 발현의 소실은 림프관 침범과 관련성이 있고($p < 0.05$), 혈관 침범은 MUC5AC 발현의 소실과 관련 있었다($p < 0.05$). 또 신경 주위 침범은 MUC2, MUC5AC, CD10(s), CDX2 발현의 소실과 관련성이 있었다($p < 0.05$).

점액소 표현형과 임상병리학적 인자 및 CDX2 단백질 발현의 관계 (Table 2)

217예의 위암을 점액소 표현형에 따라 분류하면 G, GI, I, U type이 각각 81예(37.3%), 55예(25.3%), 43예(19.8%), 38예(17.5%)였다. 점액소 표현형은 조직학적 유형, Lauren 위암 분류, T 병기, 림프절 전이, pTNM 병기, 림프관 침범, 혈관 침범, 신경 주위 침범과 유의한 관련성이 있었다($p < 0.05$). 이들 인자들과 점액소 표현형 간의 차이를 알기 위해 각 표현형별로 통계학적 분석을 시행하였다.

먼저 G type을 다른 표현형들과 비교하였다. G type은 I type보다 미분화암과 Lauren 위암 분류의 미만성 위암에서 더 많았고($p < 0.05$), 혈관 침범과 CDX2 발현율은 더 낮았다($p < 0.05$). GI type에 비해서는 미분화암에서 더 많았고($p < 0.05$), 림프관 및 신경 주위 침범과 관련성이 높았으며($p < 0.05$), CDX2 발현율은 더 낮았다($p < 0.05$). U type에 비해서는 Lauren 위암 분

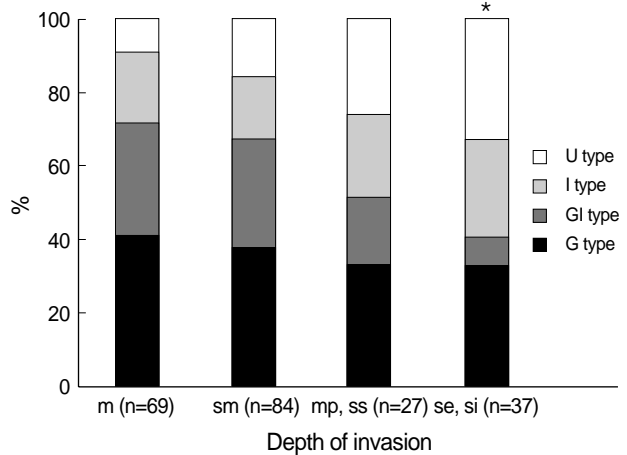


Fig. 2. Changes in mucin phenotypic expression and depth of invasion in 217 gastric carcinomas. *, $p = 0.002$ (m vs se, si) and $p = 0.015$ (sm vs se, si). m, mucosa; sm, submucosa; mp, muscularis propria; ss, subserosa; se, serosa-exposed; si, serosa infiltrating.

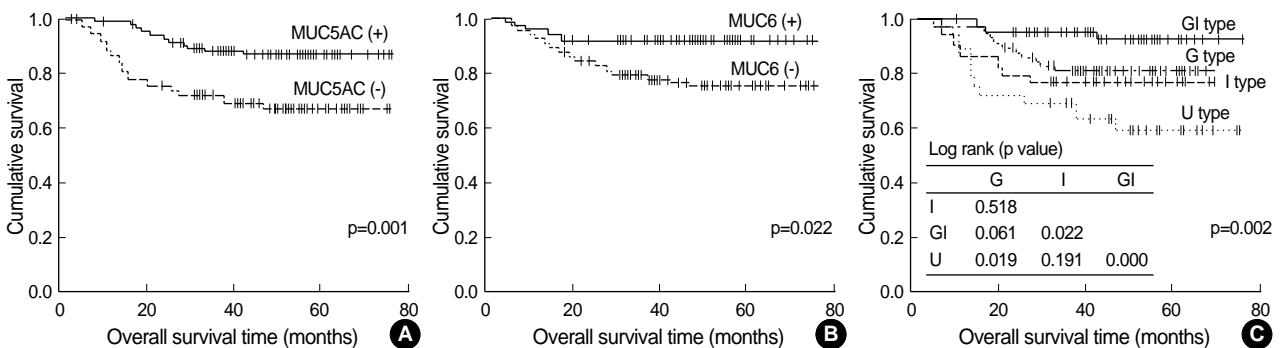


Fig. 3. Kaplan-Meier analysis of the overall survival in 187 gastric carcinoma patients. Postoperative survival curves show the better outcome in gastric carcinomas with the positive MUC5AC (A) and MUC6 (B) expression ($p = 0.001$ and $p = 0.022$, respectively). (C) Patient with GI type cancers have a better outcome than their U and I type counterparts ($p = 0.000$ and $p = 0.022$, respectively). G type cancers show better survival than U type ($p = 0.019$).

류의 미만성 위암에서 더 많았고($p < 0.05$), 림프절 전이와 혈관 침범은 더 낮았다($p < 0.05$).

I type은 GI type에 비해서 진행된 T 병기, 림프절 전이, 진행된 pTNM 병기, 림프관 침범, 신경 주위 침범, CDX2 발현과 관련성이 높았다($p < 0.05$). U type에 비해서 분화암과 Lauren 위암 분류의 장형위암에서 더 많았고($p < 0.05$), CDX2 발현율이 더 높았다($p < 0.05$).

GI type은 U type에 비해서 분화암과 Lauren 위암 분류의 장형위암에서 더 많았고($p < 0.05$), 낮은 T 병기, 낮은 림프절 전이, 낮은 pTNM 병기, 낮은 림프관, 혈관 및 신경 주위 침범, 높은 CDX2 발현과 관련성이 있었다($p < 0.05$).

Table 3. Univariate analysis of clinicopathologic factors related to survival in 187 gastric carcinoma patients (Kaplan-Meier method)

Variables	No.	% Patients alive at 5 years	p value
Gender			0.956
Male	120	80.0	
Female	67	79.0	
Tumor size			0.000
≤ 2 cm	58	96.5	
> 2 cm	129	72.1	
Tumor location			0.000
Upper	18	61.1	
Middle	66	83.0	
Lower	99	83.0	
Whole	4	25.0	
Histologic type			0.021
Differentiated	93	86.3	
Undifferentiated	94	72.9	
Lauren			0.051
Intestinal	89	86.7	
Mixed	23	69.6	
Diffuse	75	74.3	
pT stage			0.000
pT1	137	95.3	
pT2	23	62.2	
pT3, T4	27	14.6	
Lymph node metastasis			0.000
Negative	130	91.9	
Positive	57	51.4	
pTNM stage			0.000
I	141	94.8	
II	17	64.1	
III	9	38.1	
IV	20	5.3	
Lymphatic invasion			0.000
Negative	125	92.2	
Positive	65	55.7	
Blood vessel invasion			0.000
Negative	175	84.2	
Positive	12	9.1	
Perineural invasion			0.000
Negative	149	92.2	
Positive	38	29.5	

종양의 침범 깊이에 따른 점액소 표현형의 변화

점막 내에 국한된 위암은 G, GI, I, U type이 각각 40.6%, 31.9%, 18.8%, 8.7%였으며, 점막 밑층까지 침범한 위암은 각각 38.1%, 29.8%, 16.7%, 15.5%였고, 장막이나 주변 장기까지 침범한 위암은 각각 32.4%, 8.1%, 27.0%, 32.4%였다. 장막이나 주변 장기까지 침범한 위암에서는 점막이나 점막 밑층까지 침범한 위암에 비해 G type과 GI type이 유의하게 감소하였고, U type은 증가하였다($p < 0.05$, Fig. 2).

Kaplan-Meier 생존분석

전체 217명의 환자 중 생존 여부를 추적할 수 있었던 사람은 모두 187명(조기위암 137명, 진행위암 50명)이었다. 추적 기간은 2.4개월부터 76.5개월까지(평균 44.1±18.0개월)였으며 36명(19.3%, 조기위암 6명, 진행위암 30명)이 사망하였다.

Kaplan-Meier 생존분석 결과 종양의 크기 및 위치, 조직학적 유형, T 병기, 림프절 전이, TNM 병기, 림프관 침범, 혈관 침범, 신경 주위 침범은 모두 생존율에 유의한 영향을 미쳤다($p < 0.05$, Table 3).

MUC5AC와 MUC6 발현 양성 환자군의 5년 생존율은 음성 군보다 유의하게 높았다($p < 0.05$, Fig. 3A, B, Table 4). 점액

Table 4. Univariate analysis of marker expression related to survival in 187 gastric carcinoma patients (Kaplan-Meier method)

Variables	No.	% Patients alive at 5 years	p value
MUC2			0.071
negative	116	75.2	
positive	71	86.7	
MUC5AC			0.001
negative	74	67.4	
positive	113	87.6	
MUC6			0.022
negative	137	75.2	
positive	50	92.0	
CD10(t)			0.525
negative	165	78.8	
positive	22	85.7	
CD10(s)			0.125
negative	125	76.2	
positive	62	86.3	
CDX2			0.591
negative	86	77.1	
positive	101	81.7	
Mucin phenotype ^a			0.002
G	68	81.5	
GI	50	93.1	
I	35	77.1	
U	34	59.6	

^aSignificant differences between mucin phenotypes ($p < 0.05$): G vs U, I vs GI, U.

Table 5. Summary of studies to evaluate the phenotypic marker expression in gastric cancers

Author	Year	Tumor	No.	Phenotypic marker expression correlated with clinicopathologic findings
Yamachika ²³	1997	Signet ring cell carcinomas	203	Phenotypic shift from G to I type expression with tumor progression (tumor intestinalization)
Yoshikawa ²⁴	1998	D.Ca	301	Tumor intestinalization
Koseki ⁷	2000	Submucosal D.Ca	120	G type and papillary carcinomas G type and lymph node metastasis
Tajima ⁴	2001	Advanced carcinomas	136	G type and undifferentiated type tumor G type and infiltrative histology G type and worse prognosis
Lee ⁸	2001	Adenomas	59	MUC2 expression and adenoma
		Adenoma associated carcinomas	57	MUC1 expression and associated carcinoma MUC1 expression and worse prognosis
		Carcinomas	300	MUC2, MUC5AC and MUC6 expressions: not associated with overall survival
Saito ²⁵	2001	Early carcinomas	351	Histologic transformation (small D.Ca with G type into UD.Ca with tumor progression)
Tsukashita ²⁶	2001	Intramucosal neoplastic lesions	80	Stable I type and low-grade adenoma/dysplasia Unstable phenotype and high-grade adenoma/dysplasia and intramucosal carcinomas
Baldus ¹¹	2002	Carcinomas	200	MUC5AC expression and better prognosis
Tajima ²⁷	2003	Advanced carcinomas	137	G type and effective 5-FU chemotherapy G type and worse prognosis
Tajima ⁹	2003	Advanced carcinomas	213	G type and peritoneal recurrence HGM (+)/MUC2 (-) tumors and peritoneal recurrence MUC2 (-)/CD10 (+) tumors and hematogenous recurrence
Mizoshita ¹²	2003	Advanced carcinomas	177	GI type and better prognosis vs U type
Wang ¹³	2003	Carcinomas	76	MUC1 expression and worse prognosis MUC5AC expression and better prognosis
Kim ¹⁴	2005	Carcinomas	251	MUC1 expression and worse prognosis MUC5AC expression and better prognosis MUC6 expression and better prognosis
Yamazaki ²⁸	2006	Adenomas	48	CD10 expression, or I type and adenomas
		D.Ca	171	G type and tumor invasion
Zheng ³	2006	Adenomas	40	MUC6 expression and adenomas
		Carcinomas	225	MUC6 expression and better prognosis
Tajima ¹⁰	2006	Adenomas	63	G or GI type and high-grade adenomas
		Early D.Ca	133	HGM expression and mixed type tumors HGM expression and lymph node metastasis MUC2 expression and submucosal invasion
This study		Carcinomas	217	MUC5AC (+) or MUC6 (+) tumors and better prognosis GI type and better prognosis vs I or U type G type and better prognosis vs U type

D.Ca, Differentiated-type adenocarcinomas; UD.Ca, Undifferentiated-type adenocarcinomas.

소 표현형에 따른 5년 생존율은 G type이 81.5%, GI type이 50%, I type이 35%, U type이 34%로 계산되었다. 로그순위 검정법(Log-rank method)으로 검정한 결과, 통계적으로 의미가 있는 군은 G type과 U type, I type과 GI type, I type과 U type이었다($p < 0.05$, Fig. 3C).

Cox 회귀모형 분석

단변량분석에서 의미 있는 인자들을 대상으로 Cox 회귀모형 분석을 실시하였으나, MUC5AC와 MUC6의 발현은 점액소 표현형에 직접적인 영향을 미치지므로 동시에 예후변수로 투입하지

않았다. Cox 회귀모형 분석 결과 오직 TNM 병기만이 환자의 생존과 의미 있는 상관관계를 보였다($p = 0.000$). 상대위험도는 1기에 비해 2기는 7.186, 3기는 14.825, 4기는 49.40였다.

고 찰

본 연구에서 GI type 위암은 U type보다 대부분 임상병리학 적 인자(조직학적 유형, Lauren 분류, T 병기, 림프절 전이, pTNM 병기, 림프관, 혈관 및 신경 주위 침범)에서 좋은 예후 인자와 관련성이 있었고 생존율도 더 높았다. G type은 I type

에 비해 미분화암, 미만성 위암과 관련성이 높아 나쁜 예후 인자로 예상할 수 있으나 더 낮은 혈관 침범을 보였으며 생존율 분석에서 통계학적 차이는 없었다. 이러한 결과들은 점액소 단백질 발현과 위암에 관한 연구들과 비교하여 Table 2에 정리하였다. Tajima 등^{4,27}은 G type이 I type보다 나쁜 예후와 더 높은 관련성을 보였다고 보고하였는데, 본 연구에서는 유의한 차이가 없었다. Lee 등⁸의 연구에서는 MUC5AC 및 MUC6 단백질 발현이 생존율과 무관하였으나, 본 연구에서는 이들의 발현이 모두 좋은 예후 인자였으며, 이는 Kim 등¹⁴과 Zheng 등³의 연구 결과와는 일치하였다. GI type과 U type의 생존율을 비교한 연구는 찾기 어려웠으나, Mizoshita 등¹²의 연구에서 본 연구와 동일하게 GI type 위암이 더 높은 생존율을 보였다. 저자들은 GI type과 G type이 U type보다 더 좋은 예후를 보인다는 점에서, 위암의 점액소 단백질이 많이 발현될수록 더 좋은 예후를 보일 것으로 추측한다.

Yamachika 등²³의 반지세포암종 연구와 Yoshikawa 등²⁴의 분화암 연구에서는 종양의 침범 깊이에 따라 G type은 감소하고 I type은 증가하였다. 그러나 본 연구에서는 G type의 감소는 관찰되었으나 I type의 증가는 보이지 않았다. 또 GI type의 증가와 U type의 감소가 의미 있게 관찰되었다. 따라서 G type의 감소는 종양의 진행에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

위암에서 점액소의 변화는 유전학적으로 다양한 유전자의 발현과 관련되어 있을 것으로 추측된다. 이들 유전자 중 CDX2에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. CDX2는 정상적인 위 점막에서는 발현되지 않지만, 장상피화생, *H. pylori* 감염과 관련하여 발현되며, MUC2 발현을 촉진한다.²⁹ 또 carbonic anhydrase 1, sucrase-isomaltase, lactase-phlorizin hydrolase, guanylyl cyclase C의 발현에도 중요한 역할을 한다.²⁹ 위암에서 CDX2 발현율은 I type에서 더 높게 나타나고, 임상적으로 침범 깊이와 림프절 전이와는 역의 상관관계가 있으며 더 높은 생존율과도 관련성이 있는 것으로 알려져 있다.^{12,17} 본 연구에서도 점액소 표현형에 따른 CDX2 발현율을 비교한 결과 I type이 다른 유형보다 관련성이 높았으므로, 위암에서 CDX2는 장형화(intestinalization)에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 또 CDX2 발현이 하부 위치, 분화암, 장형암과 관련성이 높고 병기와 림프관 및 신경 주위 침범과는 역의 상관관계를 보인다는 점에서 CDX2 발현을 좋은 예후 인자로 예측하였다. 그러나 Kaplan-Meier 생존분석 결과 CDX2 발현이 환자의 생존율과는 관련성이 없어, CDX2 하나만을 예후를 예측하는 지표로 사용하기에는 논란이 있을 것으로 생각되며 좀 더 광범위하고 구체적인 연구가 필요하리라 생각된다.

CD10은 많은 종류의 정상세포에서 발현되며, 종양세포의 성장과 분화에도 중요한 역할을 한다. 특히 신장암, 방광암, 미분화 위암, 폐암, 자궁내막암, 전립선암 등에서 CD10 발현의 감소는 암 발생 및 진행과 관련성이 높은 것으로 알려져 있다.¹⁸⁻²² 그러나 종양세포 주변의 간질세포에서 CD10 발현은 종양세포의

CD10 발현과는 다른 역할을 한다. Huang 등²⁰은 분화 위암에서 CD10(s) 발현은 침범 깊이, 림프절 전이, 혈관 침범, TNM 병기와 유의한 관련성이 있어 분화 위암의 침범과 전이를 촉진한다고 하였다. CD10(s) 발현은 다른 종양에서도 의미 있는 예후 인자의 역할을 것으로 보고되었다. CD10(s) 발현은 대장암에서 암종의 크기와 관련성이 있었고, 유방암에서는 높은 겨드랑이 림프절 전이와 관련성이 있었고 나쁜 예후 인자였다.¹⁹ 또 CD10(s) 발현은 흑색종에서 침범 깊이와 림프절 전이와 관련성이 있었으며,³⁰ 코인두암종에서 진행된 임상 병기와 관련성이 있었고, 구강 편평세포암종에서 나쁜 조직학적 분화도, 림프절 전이, 높은 재발률과 관련성이 있었다.²⁰⁻²² 이러한 현상들은 CD10이 구조적으로 matrix metalloproteinase와 stromelysin과 유사하기 때문에 종양세포의 침범과 전이를 촉진하는 것으로 설명하고 있다.¹⁹ 본 연구에서 간질세포의 CD10 발현율은 33.2%였으며, 분화암과 Lauren 위암 분류의 장형암에서 더 많이 발현되었고, T 병기가 낮을수록, 신경 주위 침범이 없을수록 더 높게 나타났다. 그리고 비록 통계적 의의는 없었으나 림프절 전이가 낮을수록, 병기가 낮을수록 발현율이 더 높은 경향을 보였다(각각 $p=0.055$, $p=0.051$). 이러한 결과들은 기존의 연구 결과들과는 상반되는 결과다. 따라서 위암에서 CD10(s) 발현이 하는 역할은 다른 종류의 암에서 하는 역할과 다를 수 있으며 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로, 위암 환자에서 점액소 표현형 표지자는 종양의 진행과 환자의 예후를 예측하는 데 유용하다. 또 CDX2는 I type 표지자로서 유용하며 I type 위암 발생에도 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

참고문헌

- Byrd JC, Bresalier RS. Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2004; 23: 77-99.
- Pinto-de-Sousa J, David L, Reis CA, Gomes R, Silva L, Pimenta A. Mucins MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6 expression in the evaluation of differentiation and clinico-biological behaviour of gastric carcinoma. *Virchows Arch* 2002; 440: 304-10.
- Zheng H, Takahashi H, Nakajima T, et al. MUC6 down-regulation correlates with gastric carcinoma progression and a poor prognosis: an immunohistochemical study with tissue microarrays. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132: 817-23.
- Tajima Y, Shimoda T, Nakanishi Y, et al. Gastric and intestinal phenotypic marker expression in gastric carcinomas and its prognostic significance: immunohistochemical analysis of 136 lesions. *Oncology* 2001; 61: 212-20.
- Nakamura K, Sugano H, Takagi K. Carcinoma of the stomach in incipient phase: its histogenesis and histological appearances. *Gann*

- 1968; 59: 251-8.
6. Nakamura T, Yao T, Kabashima A, Nishiyama K, Maehara Y, Tsuneyoshi M. Loss of phenotypic expression is related to tumour progression in early gastric differentiated adenocarcinoma. *Histopathology* 2005; 47: 357-67.
 7. Koseki K, Takizawa T, Koike M, Ito M, Nihei Z, Sugihara K. Distinction of differentiated type early gastric carcinoma with gastric type mucin expression. *Cancer* 2000; 89: 724-32.
 8. Lee HS, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim YI, Kim WH. MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expressions in gastric carcinomas: their roles as prognostic indicators. *Cancer* 2001; 92: 1427-34.
 9. Tajima Y, Yamazaki K, Nishino N, *et al.* Gastric and intestinal phenotypic marker expression in gastric carcinomas and recurrence pattern after surgery-immunohistochemical analysis of 213 lesions. *Br J Cancer* 2004; 91: 1342-8.
 10. Tajima Y, Yamazaki K, Makino R, *et al.* Gastric and intestinal phenotypic marker expression in early differentiated-type tumors of the stomach: clinicopathologic significance and genetic background. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 6469-79.
 11. Baldus SE, Monig SP, Arkenau V, *et al.* Correlation of MUC5AC immunoreactivity with histopathological subtypes and prognosis of gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2002; 9: 887-93.
 12. Mizoshita T, Tsukamoto T, Nakanishi H, *et al.* Expression of Cdx2 and the phenotype of advanced gastric cancers: relationship with prognosis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129: 727-34.
 13. Wang JY, Chang CT, Hsieh JS, *et al.* Role of MUC1 and MUC5AC expressions as prognostic indicators in gastric carcinomas. *J Surg Oncol* 2003; 83: 253-60.
 14. Kim YI, Lee JH, Choi JS. Mucin Expression According to the Progression of Gastric Carcinomas. *J Korean Surg Soc* 2005; 68: 367-73.
 15. Bai YQ, Yamamoto H, Akiyama Y, *et al.* Ectopic expression of homeodomain protein CDX2 in intestinal metaplasia and carcinomas of the stomach. *Cancer Lett* 2002; 176: 47-55.
 16. Mizoshita T, Inada K, Tsukamoto T, *et al.* Expression of the intestine-specific transcription factors, Cdx1 and Cdx2, correlates shift to an intestinal phenotype in gastric cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 29-36.
 17. Kim GH, Song GA, Park DY, *et al.* CDX2 expression is increased in gastric cancers with less invasiveness and intestinal mucin phenotype. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41: 880-6.
 18. Chu P, Arber DA. Paraffin-section detection of CD10 in 505 non-hematopoietic neoplasms. Frequent expression in renal cell carcinoma and endometrial stromal sarcoma. *Am J Clin Pathol* 2000; 113: 374-82.
 19. Iwaya K, Ogawa H, Izumi M, Kuroda M, Mukai K. Stromal expression of CD10 in invasive breast carcinoma: a new predictor of clinical outcome. *Virchows Arch* 2002; 440: 589-93.
 20. Huang WB, Zhou XJ, Chen JY, *et al.* CD10-positive stromal cells in gastric carcinoma: correlation with invasion and metastasis. *Jpn J Clin Oncol* 2005; 35: 245-50.
 21. Braham H, Trimeche M, Ziadi S, *et al.* CD10 expression by fusiform stromal cells in nasopharyngeal carcinoma correlates with tumor progression. *Virchows Arch* 2006; 449: 220-4.
 22. Piattelli A, Fioroni M, Iezzi G, *et al.* CD10 expression in stromal cells of oral cavity squamous cell carcinoma: a clinic and pathologic correlation. *Oral Dis* 2006; 12: 301-4.
 23. Yamachika T, Inada K, Fujimitsu Y, *et al.* Intestinalization of gastric signet ring cell carcinomas with progression. *Virchows Arch* 1997; 431: 103-10.
 24. Yoshikawa A, Inada Ki K, Yamachika T, Shimizu N, Kaminishi M, Tatematsu M. Phenotypic shift in human differentiated gastric cancers from gastric to intestinal epithelial cell type during disease progression. *Gastric Cancer* 1998; 1: 134-41.
 25. Saito A, Shimoda T, Nakanishi Y, Ochiai A, Toda G. Histologic heterogeneity and mucin phenotypic expression in early gastric cancer. *Pathol Int* 2001; 51: 165-71.
 26. Tsukashita S, Kushima R, Bamba M, Sugihara H, Hattori T. MUC gene expression and histogenesis of adenocarcinoma of the stomach. *Int J Cancer* 2001; 94: 166-70.
 27. Tajima Y, Shimoda T, Nakanishi Y, *et al.* Association of gastric and intestinal phenotypic marker expression of gastric carcinomas with tumor thymidylate synthase expression and response to postoperative chemotherapy with 5-fluorouracil. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129: 683-90.
 28. Yamazaki K, Tajima Y, Makino R, *et al.* Tumor differentiation phenotype in gastric differentiated-type tumors and its relation to tumor invasion and genetic alterations. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3803-9.
 29. Tsukamoto T, Mizoshita T, Tatematsu M. Gastric-and-intestinal mixed-type intestinal metaplasia: aberrant expression of transcription factors and stem cell intestinalization. *Gastric Cancer* 2006; 9: 156-66.
 30. Bilalovic N, Sandstad B, Golouh R, Nesland JM, Selak I, Torlakovic EE. CD10 protein expression in tumor and stromal cells of malignant melanoma is associated with tumor progression. *Mod Pathol* 2004; 17: 1251-8.