

수모세포종에서 vimentin, nestin,  
survivin 표현율과 예후와의 관계

연세대학교 대학원

의 학 과

석 재 연

수모세포종에서 vimentin, nestin,  
survivin 표현율과 예후와의 관계

지도교수 김 태 승

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2006 년 6 월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

석 재 연

# 석재연의 석사 학위논문을 인준함

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

연세대학교 대학원

2006 년 6 월 일

## 감사의 글

이 논문이 완성되기까지 따뜻한 관심과 가르침을 주신 김태승 교수님과 최인홍 교수님, 시종일관 세심한 배려와 통찰력으로 지도해 주신 김세훈 교수님께 감사를 드립니다.

정직한 병리학자의 꿈을 품게 해 주신 병리학교실의 교수님들과 일과 인생의 선배인 신은아 선생님, 김혜령 선생님, 옆에 있는 것 만으로도 힘이 되는 동료이자 친구 권지은과 이윤희, 그리고 의국원들에게 감사의 마음을 전합니다.

풍성한 말씀으로 영의 양식을 주시는 백금산 목사님과 김은주 사모님, 영적 부모이신 양봉석 목사님과 이미섭 사모님께 감사드립니다.

헌신적인 섬김으로 지켜봐 주시는 부모님과 시어머님, 곁에서 모든 것을 나누는 남편과 어려운 환경 속에서도 건강하게 태어나 큰 기쁨을 준 예빈이에게 사랑의 마음을 전합니다.

저자 씀

# 차 례

국문요약 .....	1
I. 서론 .....	2
II. 재료 및 방법 .....	7
1. 환자군 설정 및 임상정보 수집 .....	7
2. Tissue microarray 의 제작 .....	8
3. 면역조직화학 염색 .....	9
4. 통계학적 분석 .....	11
III. 결 과 .....	12
1. 임상정보 .....	12
2. 병리학적 검색 .....	14
3. 면역조직화학 염색 결과 .....	15
4. 수모세포종의 임상적, 병리학적 인자와 면역조직화학 염색 결과 비교 .....	19

5. 수모세포종의 생존에 영향을 미치는 예후 인자 분석 .....	19
IV. 고찰 .....	23
V. 결론 .....	27
참고문헌 .....	28
영문요약 .....	33

## 그림 차례

Figure 1. Tissue microarray slide	8
Figure 2. Histologic type of medulloblastoma	15
Figure 3. Scatter diagram of Ki-67 & survivin	17
Figure 4. Expression of immunohistochemical markers in medulloblastoma	18
Figure 5. Overall survival of medulloblastoma according to expression of vimentin & survivin	21

## 표 차례

Table 1. Clinical profiles of medulloblastoma	13
Table 2. Immunohistochemical staining result	16
Table 3. Survival analysis of clinical factors & immunohistochemical markers for medulloblastoma (Kaplan-Meier method, Log rank test)	20
Table 4. Survival analysis of clinical factors & immunohistochemical markers for medulloblastoma(Cox proportional hazard model)	22



## 국문요약

### 수모세포종에서 vimentin, nestin, survivin 표현율과 예후와의 관계

수모세포종은 주로 소아의 소녀에서 발생하는 악성, 침윤성 배아 종양으로, 뇌척수액을 따라 전이하며, 5 년 생존율이 60% 에 불과하다. 수술적 절제, 방사선 치료와 항암 치료를 병행하여 이전에 비해 생존율이 높아졌지만, 치료에 의한 후유증은 발달이 진행중인 소아 환자에게는 치명적인 경우가 많다. 따라서 수모세포종의 적절한 치료를 위한 정확한 예후 예측 인자를 찾는 것은 매우 의미 있는 일이다.

이번 연구에서는 tissue microarray 를 이용하여 수모세포종의 분화형을 synaptophysin, glial fibrillary acidic protein, epithelial membrane antigen, vimentin 의 면역조직화학적 염색을 이용하여 살펴보고, 이와 신경상피 전구세포에서 발견되는 nestin 과의 관계를 검색하여 수모세포종의 예후와의 관계를 살펴보았다. 또한 기존에 수모세포종의 예후 인자로 알려진 세포자멸사와 관련하여, 세포의 증식능을 나타내는 Ki-67 과 세포자멸사의 억제 단백질인 survivin 의 표현율의 상호 관계와 수모세포종의 예후에 미치는 영향을 분석하였다.

분석 결과, 중배엽 분화를 나타내는 vimentin 과 nestin 의 발현이 상관 관계가 있었고, Ki-67 이 표현율이 높을수록 survivin 의 표현율도 높았다. Vimentin 은 수모세포종의 나쁜 예후 인자이고, Ki-67 표현율이 50% 이상인 경우와 survivin 표현율이 35% 이상인 경우도 나쁜 예후 인자로 나타났다. 결론적으로 vimentin 과 survivin 은 수모세포종의 나쁜 예후 인자이다.

---

핵심되는 말: 수모세포종, vimentin, nestin, survivin, 예후

수모세포종에서 vimentin, nestin, survivin 표현율과

예후와의 관계

<지도교수 김태승>

연세대학교 대학원 의학과

## 석 재 연

### I. 서론

수모세포종(medulloblastoma)은 소뇌의 악성, 침윤성 배아 종양으로, 뇌척수액을 따라 전이하는 경향이 있다. 약 70% 정도가 16 세 이하의 소아에서 발생하며, 성인에서는 80% 이상이 21~40 세에서 생긴다. 주로 소뇌충부(cerebellar vermis)에 생겨 제 4 뇌실로 침윤하며, 발생 연령이 높을수록 소뇌 반구를 침범하는 경향이 있다.<sup>1</sup>

조직학적으로는 다음의 4 가지 종류로 분류하는데, 1) classic medulloblastoma, 2) desmoplastic medulloblastoma, 3)

medulloblastomas with extensive nodularity and advanced neuronal differentiation, 4) large cell medulloblastoma 이다. 이 중에서 large cell medulloblastoma 가 뇌척수액을 따라 전이를 잘하고, 예후가 가장 좋지 않다.<sup>1, 2</sup>

그 동안 수모세포종의 치료 방법이 많이 발전하여, 외과적 종양 절제와 방사선 치료뿐 아니라 항암 요법까지 이용하게 되었으며, 1960 년대에 5 년 생존율이 30%였던 것에 비해, 지금은 5 년 생존율이 60%에 이르고 있다. 그러나 60%의 생존율은 아직 낮을 뿐 아니라 생존한 사람도 치료의 후유증은 치명적이다. 특히 신체적 발달이 진행중인 소아에서 외과적 절제와 뇌신경 전체에 가해지는 방사선 치료, 항암 요법은 신경인지능력 장애, 무언증, 성장호르몬 결핍 등의 부작용을 야기하게 된다.<sup>3, 4</sup> 따라서 수모세포종의 적절한 치료를 계획하기 위한 예후 예측 인자를 찾는 것은 매우 의미 있고 중요한 일이며, 이를 위한 연구가 다방면에서 꾸준히 진행되고 있다.

임상적으로는 종양의 범위와 전이한 정도에 따라 분류한 modified Chang system 이 사용되고 있는데, 이중 뇌간을 침범하거나(T3b, T4) 전이가 있는 경우(M1-3)에 예후가 좋지 않다.<sup>5</sup>

<sup>6</sup> 또한 종양의 75%만 절제한 경우나 자기공명영상에서 1.5cm<sup>2</sup> 이상 종양이 남아있는 경우, 수술 후 뇌척수액 세포 검사상 종양세포가 발견되는 경우에도 좋지 않다. 최근에는 소아에서 3 세 이후에 진단 받고, 전이가 없으며, 종양 모두를 절제하거나 혹은 수술 후 자기공명영상에서 1.5cm<sup>2</sup> 이하로 남아있는 경우만을 average-risk group 으로 정하고, 이 중 한 가지라도 만족시키지 못하면 high-risk group 으로 분류한 연구도 있었다.<sup>7</sup>

조직학적인 분화형은 예후와 관계가 없다는 가설이 우세한 편이지만, glial fibrillary acidic protein (GFAP)의 항원 발현이 예후와 관련이 있다는 보고가 있다.<sup>8, 9</sup> 역형성의 정도(anaplastic grade)를 정확히 분류하면 예후 예측에 중요한 정보를 제공할 수 있다는 보고도 있다.<sup>10</sup>

세포자멸사(apoptosis)는 임상적인 고위험군 혹은 저위험군에 따른 분류와 상관없이 진단당시에 세포자멸사가 많을수록 예후가 좋다고 알려져 있다.<sup>11</sup> 최근 세포자멸사의 억제 단백질인 survivin 에 대한 연구가 진행되고 있는데, 이것이 많이 발현될수록 수모세포종에서 예후가 좋지 않다는 보고가 있었다.<sup>12, 13</sup> Survivin 은 세포주기의 G2-M 기에 발현되고, 유사분열의 전기와 중기에 중심절에 위치하며, 세포질분열 시에는 midbody 에서 나타난다.<sup>14</sup> 또한 caspase-3 와 -7 을 차단함으로써 세포자멸사를 막는 것으로 알려져 있다.<sup>15</sup> Survivin 은 특히 대장, 전립선, 유방, 폐, 식도, 간 등 성인에서 발생하는 대부분의 암 조직에서 발현되고, 정상 성인 조직에서는 일부 혈관 내피세포와 조혈 세포 등을 제외하고는 전혀 발현되지 않아 암의 치료에 유용한 물질로 주목 받고 있다.<sup>16-18</sup>

Nestin 은 신경상피의 전구세포(neuroepithelial progenitor cell)에서 발현되는 중간세사(intermediate filament)로 사람의 중추신경계가 발생하는 동안 발현되다가 성숙한 뒤에는 사라지는

것이 특징이다.<sup>19</sup> Nestin 이 수모세포종에서 발현되는 것은 이미 알려진 사실이고, 이를 통하여 수모세포종의 발생기전에 대한 연구도 진행되고 있다.<sup>20-22</sup> 그러나 nestin 의 발현과 수모세포종의 예후와의 연관성에 대해서는 아직 밝혀진 바가 없다.

본 연구에서는 tissue microarray 를 이용한 면역조직화학 염색을 통하여 수모세포종의 분화형과 nestin 발현과의 관계를 살펴보고, 예후에 미치는 영향을 분석하였다. 또한, survivin 의 표현율과 수모세포종의 예후와의 관계도 살펴보았다.

분화형과 관련해서는 수모세포종에 synaptophysin, GFAP, epithelial membrane antigen(EMA), vimentin 등을 사용하여 각각 신경세포 분화, 교세포 분화, 상피세포 분화, 증배엽 분화를 규명하였다. 세포자멸사를 억제하는 survivin 역시 면역조직화학 염색을 통하여 증식능을 나타내는 Ki-67 의 표현율과의 관계를 살펴봄으로써 예후 예측 인자로서의 의의를 찾아보았다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 환자군 설정 및 임상 정보 수집

연세대학교 의과대학 부속 신촌 세브란스 병원에서 1995 년부터 2003 년까지 절제되고 진단된 원발성 수모세포종 55 예를 대상으로 하였다. 환자의 임상 기록지를 참고하여 진단 당시의 나이, 성별, 추적 관찰 기간, 재발 혹은 사망 여부를 검색 하였다. 진단 당시의 modified Chang system 에 의한 병기, 완전 절제여부, 방사선 치료와 항암 치료 여부를 찾아보고, 재발한 경우 재발까지의 기간, 전이 여부 등을 찾아보았다. 3 세 이후에 진단 받고, 전이가 없으며, 종양 모두를 절제하거나 혹은 수술 후 자기공명영상에서  $1.5\text{cm}^2$  이하로 남아있는 경우를 average-risk group, 이 중 한 가지라도 만족시키지 못하면 high-risk group 으로 분류하였다.

## 2. Tissue microarray 의 제작

10% 중성 포르말린에 12 시간 이상 고정 후 일련의 과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 보관된 조직을 이용하였고, 각 증례의 대표적인 파라핀 블록의 중앙조직에서 조직 심(tissue core)을 취하여 tissue microarray 를 제작하였다(Fig. 1.). 조직 심의 직경은 1.5mm 로 하고 하나의 파라핀 블록에 55 개의 조직 심이 포함되도록 제작하였다. 추출 오차를 최소화하기 위하여 한 증례 당, 가능한 3 개 이상의 조직 심을 취하였다.

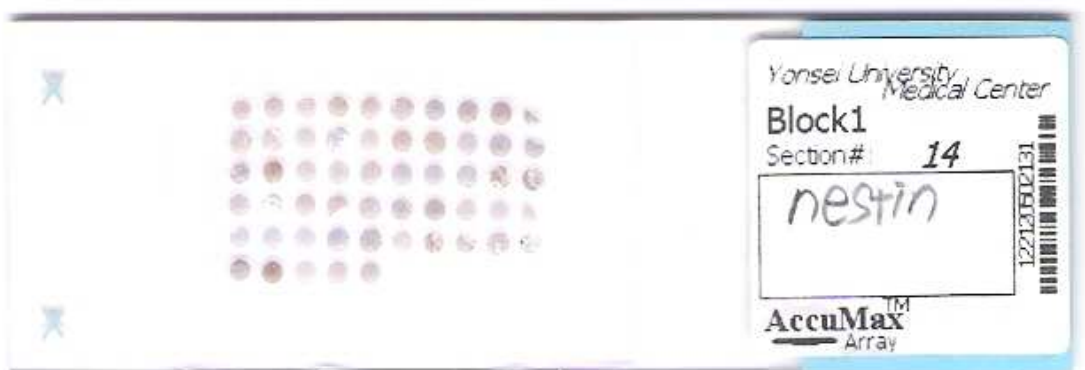


Fig. 1. Tissue microarray slide.



### 3. 면역조직화학 검색

Tissue microarray slide 는 4~5  $\mu\text{m}$ 의 연속 절편으로 박절하여 오븐에서 파라핀을 녹인 후 자일린으로 파라핀을 완전히 제거하였다. 에틸 알코올로 단계적으로 함수하였고, 조직 절편을 0.3% 과산화수소수에 10 분간 담근 후 pH 6.0 의 구연산 완충액에 담가 극초단파에 15 분간 처리하여 실온에서 식혔다. 이미 희석된 일차 항체인 항 synaptophysin(1:50 Shandon, Pittsburgh, PA, U.S.A.), GFAP(1:200 Dako, Carpinteria, CA, U.S.A.), EMA(1:100 Dako), vimentin(1:50 Dako), nestin(1:400 Chemicon, Temecula, CA, USA), Ki-67(1:200 Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK), survivin(1:2000 Novus Biologicals, Littleton, CO, USA) 항체를 상온에서 약 30 분간 반응시킨 후, 냉장고에서 12 시간 배양하였다. EnVision kit(Dako, Tokyo, Japan)를 이용한 EnVision 항체 복합체 방법으로 면역과산화효소 염색을 시행하였다. 3,3'-diaminobenzidine tetrachloride chromogen 으로 발색한 후 헤마톡실린으로 대조염색하였다.

Synaptophysin, GFAP, EMA, vimentin, nestin 은 종양 세포의 세포막 또는 세포질에 과립상으로 염색되는 경우를 양성으로 판정하여, 염색의 정도에 따라 전체 종양의 5% 미만에서 양성 반응을 나타내는 경우를 1+, 5~50%의 경우는 2+, 50% 이상에서 양성 반응을 나타내는 경우를 3+로 판독하였다. Ki-67 과 survivin 은 핵이 진하게 염색되는 경우를 양성으로 보았고, 종양세포의 밀도가 높은 3~5 개의 고배율 시야(x400)에서 1000 개의 종양세포 중에서 양성인 세포의 수를 세어 백분율을 구하였다.

#### 4. 통계학적 분석

SPSS 11.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)을 이용하여 임상적 인자(진단 당시 연령, 성별, 병기, 완전 절제 여부, 재발 여부, 방사선 치료 여부, 항암 치료 여부)와 면역조직화학 염색 인자간의 관계는 chi-square 검정 또는 Fisher' s exact 검정으로 분석하였다. 각 임상적, 면역조직화학적 인자들과 생존율과의 관계는 Kaplan-Meier method 의 log-rank 검정을 이용하여 단변량 분석하였고, Multivariate Cox proportional hazard model 을 이용하여 다변량 분석하였다. 생존기간은 진단 당시 날짜로부터 수모세포종으로 인한 사망일까지를 개월로 계산하였다. Synaptophysin, GFAP, EMA, vimentin, nestin 은 0~50%로 염색된 경우(-, 1+, 2+)를 음성군으로 분류하였고, 50% 이상에서 염색된 경우를 양성군으로 분류하였다. Ki-67 은 50% 미만과 50% 이상으로 발현되는 군으로 나누었고, survivin 은 35% 미만과 35% 이상의 군으로 분류하여 분석하였다.

### III. 결과

#### 1. 임상정보

임상 자료는 Table 1 에 요약하였다. 연령분포는 4 개월에서 34 세까지였으며, 평균 나이는  $7.9 \pm 6.9$  세였다. 16 세 미만의 소아 환자는 48 명, 16 세 이상의 성인 환자는 7 명 이었다. 추적 관찰 기간은 1 개월에서 150 개월로 평균 추적 관찰 기간은  $58.9 \pm 42.5$  개월이었다.

조직학적 유형은 53 예에서 classic medulloblastoma 였고, 2 예에서 desmoplastic medulloblastoma 였으며, desmoplastic medulloblastoma 는 모두 3 세 미만의 소아에서 발생했다.

Table 1. Clinical profiles of medulloblastoma

Clinical factor	Classification	
Age	<3 : 10	≥3 : 45
Gender	Male:40	Female: 15
T stage <sup>1</sup>	T1-T3a: 34	T3b-T4: 21
M stage <sup>1</sup>	M1-M3: 10	M0: 45
Resection status <sup>2</sup>	Complete: 50	Partial: 5
Recurrence	Recur:14	No recur: 41
Histologic type	Classic: 53	Desmoplastic: 2
Chemotherapy	Done: 48	No: 7
Radiation therapy	Done: 46	No: 9
Risk group <sup>3</sup>	Average-risk: 33	High-risk: 22

<sup>1</sup> According to the modified Chang system

<sup>2</sup> Complete resection : less than 1.5cm<sup>2</sup> on postoperative magnetic resonance imaging scan

<sup>3</sup> Average risk patients : diagnosed when they are older than the age of 3 years, nonmetastatic and totally or near-totally resected, high risk patients : not fulfilling these criteria

## 2. 병리학적 검색

55 예중 53 예에서 세포 밀도가 높고, 원형 또는 난원형의 핵을 보이며, 세포질이 매우 적은 classic type 이었다. 대부분 괴사와 출혈이 동반되었고, 세포 밀도가 높은 곳에서는 세포자멸사가 흔하게 보였다. Homer-Wright 로제트와 뇌실막세포종에서 보이는 가성 로제트가 관찰되기도 하였다. Desmoplastic type 은 결절성 양상으로 세포 밀도가 낮은 결절 부위가 세포 밀도가 높고 레티쿨린 섬유가 풍부하며 증식성이 강한 부위에 의해 둘러싸여 있는 소견을 보였다(Fig. 1.). 조직 소견만으로는 분화 양상을 정확히 예측하기 어려웠다.

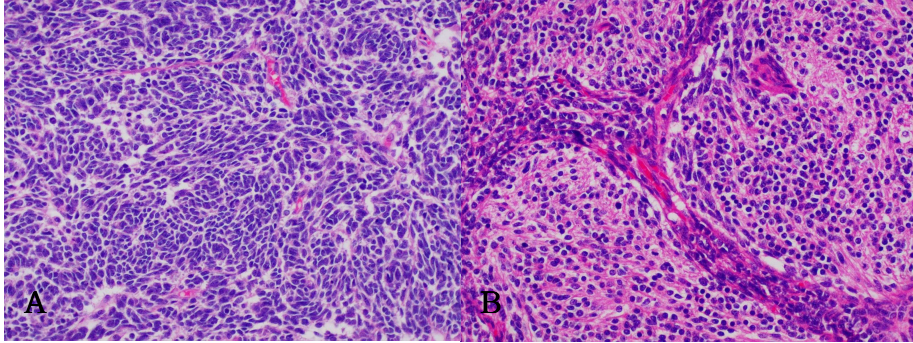


Fig. 2. Histologic type of medulloblastoma (H&E, x200).

A. Classic type. B. Desmoplastic type

### 3. 면역조직화학 염색 결과

분화형을 보기 위한 면역조직화학 염색 결과는 Table 2 에 정리하였다. 종양의 50% 이상에서 세포질에 과립상으로 양성인 경우를 양성군으로 정의하고, 음성이거나 50% 미만에서 양성인 경우를 음성군으로 정의하였을 때, synaptophysin은 55예 중 49예에서 양성군이어서 대부분이 신경세포성 분화를 나타냈다. 상피세포성 분화를 나타내는 EMA는 55예 중 2예에서 양성군이었으며, 2예 모두 nestin 음성군이었으나 통계적으로

유의하지는 않았다. Vimentin과 nestin은 통계적으로 유의하게 상관관계가 있었고( $p = 0.004$ ), synaptophysin, GFAP, EMA는 nestin과 관련은 없었다.

Table 2. Immunohistochemical staining result

Immunohistochemical markers	Nestin		Total	P-value
	N-group <sup>1</sup>	P-group		
Synaptophysin	N-group	5	1	0.702
	P-group	40	9	
GFAP <sup>2</sup>	N-group	37	8	0.588
	P-group	8	2	
EMA <sup>2</sup>	N-group	43	10	0.667
	P-group	2	0	
Vimentin	N-group	36	3	0.004*
	P-group	9	7	
Total		45	10	

<sup>1</sup> N(negative) group: totally negative or positive in less than 50% of tumor, P(positive) group: positive in more than 50% of tumor.

<sup>2</sup> GFAP: glial fibrillary acidic protein, EMA: epithelial membrane antigen

\*  $p < 0.05$



Survivin은 수모세포종 55예 모두에서 핵에 염색되었다. 일부에서는 핵뿐만 아니라 세포질에도 과립상으로 발현되는 것이 있었다. 표현율은 1%에서 88%까지였고, 평균은  $20.2 \pm 16.7\%$ 였다. Ki-67은 모두 핵에 염색되었고, 3%에서 70%까지 발현되었으며, 평균은  $25.4 \pm 14.8\%$ 였다. Survivin과 Ki-67은 양의 상관관계를 보였다(Fig. 3., 상관계수 0.253,  $p < 0.05$ ).

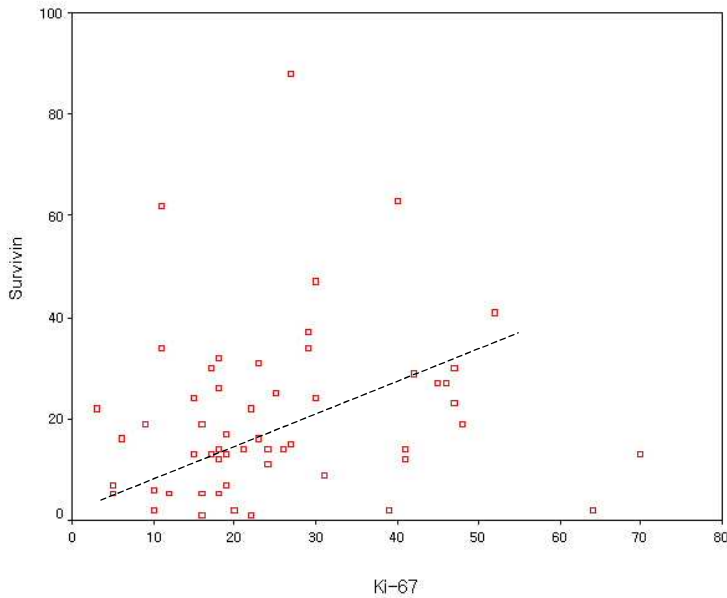


Fig. 3. Scatter diagram of Ki-67 & survivin. Correlation coefficient 0.253,  $p < 0.05$ .

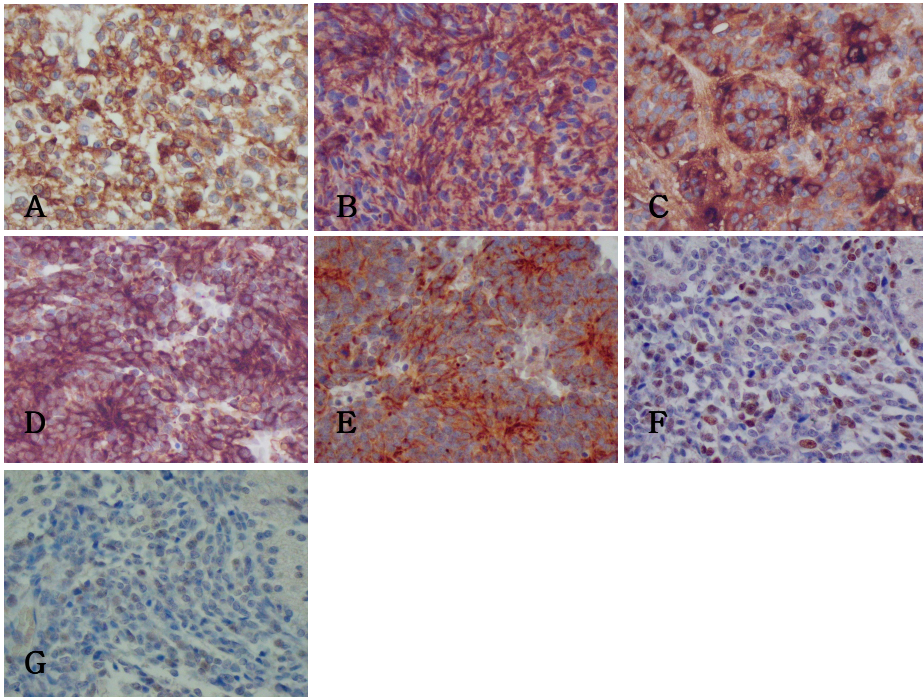


Fig. 4. Expression of immunohistochemical markers in medulloblastoma(x400). Synaptophysin(A), GFAP(B), EMA(C), vimentin(D) and nestin(E) show cytoplasmic granular expression. Ki-67(F) & survivin(G) show nuclear expression.

#### 4. 수모세포종의 임상적, 병리학적 인자와 면역조직화학 염색 결과 비교

GFAP의 양성군은 모두 재발하지 않았으며, 둘의 관계는 통계적 유의성을 보였다.( $p = 0.038$ ) Vimentin은 병기가 T3b이상 혹은 M1이상인 경우에 더 많이 발현되었다.( $p = 0.040$ )

#### 5. 수모세포종의 생존에 영향을 미치는 예후 인자 분석

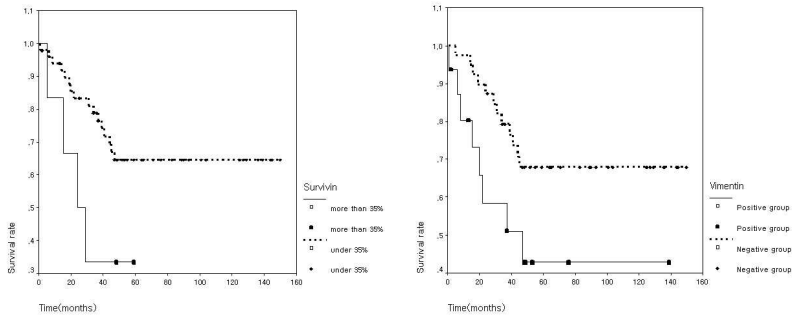
Kaplan-Meier method의 log-rank 검정으로 단변량 분석을 한 결과, 생존율은 진단 당시의 연령이 3세 미만인 경우, vimentin이 50% 이상에서 양성인 경우, Ki-67이 50% 이상인 경우, survivin이 35% 이상인 경우에 낮았다. 추적 기간 중 재발한 경우와 synaptophysin이 음성이거나 50% 미만에서 발현한 경우도 생존율이 낮은 경향을 보였지만, 통계적으로 유의하지는 않았다(Table 3).

Table 3. Survival analysis of clinical factors & immunohistochemical markers for medulloblastoma(Kaplan-Meier method, Log rank test)

	Variables	P-value
Clinical factors	Age(<3/≥3)	0.0061*
	Gender	0.4431
	T stage	0.4238
	M stage	0.9916
	Resection status	0.2309
	Recurrence	0.0911
	Histologic type	0.3108
	Chemotherapy	0.5443
	Radiation therapy	0.7280
	Risk group	0.2923
Immunohistochemical markers	Synaptophysin	0.0974
	GFAP <sup>1</sup>	0.8705
	EMA <sup>1</sup>	0.7324
	Vimentin	0.0463*
	Nestin	0.7735
	Ki-67(<50%/≥50%)	0.0014*
	Survivin(<35%/≥35%)	0.049*

<sup>1</sup> GFAP: glial fibrillary acidic protein, EMA: epithelial membrane antigen

\* p < 0.05



A B

Fig. 5. Overall survival of medulloblastoma according to expression of vimentin & survivin. Kaplan-Meier method, log rank test. A. Vimentin :  $p = 0.0463$ . B. Survivin :  $p = 0.049$ .

Multivariate Cox proportional hazards model을 이용하여 다변량 분석을 한 결과, 생존율에 영향을 미치는 임상적 인자로는 연령 (3세 기준), 조직학적 유형 등이 있었고, 면역조직화학적 인자로는 vimentin, Ki-67, survivin 등이 있었다.

Table 4. Survival analysis of clinical factors & immunohistochemical markers for medulloblastoma (Cox proportional hazard model)

Variables		P-value
	Age(<3/≥3)	0.002
Clinical factors	Histologic type (classic/desmoplastic)	0.006
Immunohistochemical markers	Vimentin	0.009
	Ki-67(<50%/≥50%)	0.004
	Survivin(<35%/≥35%)	0.029

#### IV. 고찰

진단 당시의 연령이 수모세포종의 예후에 미치는 영향은 연구자에 따라 매우 다양한 결과를 보이고 있다. 연령과 예후는 관련이 없다는 보고도 있지만,<sup>23</sup> Zeltzer 등에 의하면 5 세 미만에서 특히 3 세 미만에서 진단 받은 군이 예후가 좋지 않으며, 그 원인으로는 방사선 치료시 더 적은 양의 방사선을 사용하기 때문이라고 분석했다.<sup>6</sup> 본 연구에서도 3 세 미만의 연령에서 진단 받은 군이 통계적으로 유의하게 예후가 좋지 않았으나 방사선 치료나 항암 치료 여부, 병기, 전이, 절제 등의 임상적 인자와는 관련이 없었다.

Vimentin 의 발현은 본 연구에서 예후와 밀접한 연관이 있는 것으로 나타났는데, vimentin 과 수모세포종의 예후에 관련된 보고는 지금까지는 없었다. Oligodendroglioma 와 astrocytoma 에서 vimentin 이 더 많이 발현될수록 예후가 나쁘다는 보고가 있었고,<sup>24</sup> 유방의 invasive ductal carcinoma 에서는 vimentin 이 더 많이

발현될수록 폐와 간으로 전이를 더 많이 한다는 보고가 있었다.<sup>26</sup> Stenger 등에 의하면 소아의 뇌종양에서 vimentin 유전자 발현은 종양세포의 증식과 관련이 있다고 하였는데, 본 연구에서는 vimentin 과 Ki-67 과의 관계는 없었다.<sup>27</sup> 수모세포종에서 anaplastic grade 를 엄격하게 평가하여 예후와의 관련성을 밝힌 보고가 있었는데,<sup>10</sup> 수모세포종에서도 astrocytoma 와 같이 anaplastic grade 가 높아질수록 vimentin 이 더 많이 발현된다는 가설을 세워 연구해보는 것도 흥미로울 것이다.

Nestin 은 신경상피의 전구세포(neuroepithelial progenitor cell)에서 발현되는 중간세사(intermediate filament)로 사람의 중추신경계통이 발생하는 동안에는 발현되다가 성숙한 뒤에는 사라지기 때문에, 수모세포종이 분화가 덜 될수록 nestin 이 더 많이 발현되리라는 가설을 생각하였다. 그러나 본 연구에서는 nestin 은 신경세포 분화를 나타내는 synaptophysin, 교세포 분화를 나타내는 GFAP, 상피세포 분화를 나타내는 EMA 와는 연관성이 없었다. 중배엽 분화를 나타내는 vimentin 과는 통계적으로



유의하게 상관관계를 보였는데, 이것은 분화가 덜 될수록 nestin 이 더 많이 발현될 것이라는 가설과는 반대되는 결과이다.

중추신경계의 종양에서 survivin 의 발현을 살펴본 한 연구에서는 glioma 의 WHO 등급에 따라 survivin 의 발현이 달라진다고 하였다.<sup>28</sup> 그러나 수모세포종에서 survivin 발현과 예후와의 관계를 밝힌 연구는 아직 많지 않다. Salsano 등은 survivin 의 유전자인 BIRC5 가 수모세포종의 예후를 예측할만한 인자는 아니라고 하였다.<sup>29</sup> Bodey 등은 면역조직화학 염색을 통하여 수모세포종에서 survivin 이 중등도 이상으로 발현되어 진단적 표지자 뿐 아니라 세포자멸사와 관련하여 예후 인자로서의 가능성을 주장하였다.<sup>30</sup> 이후, 수모세포종에서 survivin 발현이 나쁜 예후와 연관 있다는 보고가 2 예 있었는데, Fangusaro 등은 survivin 의 발현이 large cell anaplastic type 과 연관있으며, 사망 환자군과 생존 환자군으로 나누어 분석한 결과 survivin 발현이 사망 환자군에서 더 많이 발현되었다는 결과를 얻었다. 하지만 생존기간과의 연관성은 통계적으로 유의하지 않았다.<sup>13</sup> Pizem 등은 이에서 한걸음

더 나아가 survivin 의 발현과 수모세포종의 생존율이 통계적으로 유의하게 관련이 있어 나쁜 예후 인자의 하나로 규명하였고, beta-catenin 의 면역조직화학 염색을 통하여 Wnt signaling pathway 가 관여한다는 가능성을 제시하였다.<sup>12</sup> 본 연구에서는 survivin 이 생존율과 통계적으로 유의하게 연관이 있어 예후 예측 인자 중 하나임을 규명하였다. 또한 좋은 예후와 나쁜 예후를 나누는 구체적인 기준이 35%임을 찾아내어 실질적으로 예후 예측 인자로 사용할 수 있는 기반을 마련하였다. 한편, survivin 과 Ki-67 이 양의 상관관계를 보이는 결과는 세포자멸사를 막는 survivin 의 역할로 종양의 증식능이 증가하였고 이로 인하여 종양의 악성도가 더 커진다는 가설을 뒷받침해준다.

## V. 결론

소아에서 호발하는 수모세포종에서 증배업 분화를 나타내는 vimentin 은 나쁜 예후 인자이다. 신경상피의 전구세포에서 발현되는 중간세사 nestin 은 vimentin 과 면역조직화학적으로 상관관계가 있다.

세포자멸사의 억제 단백질인 survivin 과 증식능을 나타내는 Ki-67 모두 수모세포종의 나쁜 예후 인자이며, 그 기준은 survivin 은 35% 이고, Ki-67 은 50% 이다. Survivin 과 Ki-67 은 양의 상관관계가 있으며, survivin 이 세포자멸사를 억제하여 종양의 증식능이 증가하였음을 나타낸다.

수모세포종의 새로운 예후 예측 인자로서 vimentin 과 survivin 을 이용하여 치료에 보다 적절한 전략을 세울 수 있을 것이다.

## 참고 문헌

1. Kleihues P, Cavenee WK, International Agency for Research on Cancer. *Pathology and genetics of tumours of the nervous system*. Lyon: IARC Press; 2000. p.129-137.
2. Brown HG, Kepner JL, Perlman EJ, Friedman HS, Strother DR, Duffner PK, et al. "Large cell/anaplastic" medulloblastomas: a Pediatric Oncology Group Study. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000;59:857-865.
3. Spiegler BJ, Bouffet E, Greenberg ML, Rutka JT, Mabbott DJ. Change in neurocognitive functioning after treatment with cranial radiation in childhood. *J Clin Oncol* 15 2004;22:706-713.
4. Reigate HL, Grubb RL, Aram DM, Hahn JF, Ratcheson RA. Muteness of cerebellar origin. *Arch Neurol* 1985;42:697-698.
5. Chang CH, Housepian EM, Herbert C, Jr. An operative staging system and a megavoltage radiotherapeutic technic for cerebellar medulloblastomas. *Radiology* 1969;93:1351-1359.
6. Zeltzer PM, Boyett JM, Finlay JL, Albright AL, Rorke LB, Milstein JM, et al. Metastasis stage, adjuvant treatment, and residual tumor are prognostic factors for medulloblastoma in children: conclusions from the Children's Cancer Group 921 randomized phase III study. *J Clin Oncol* 1999;17:832-845.

7. Ellison DW, Clifford SC, Gajjar A, Gilbertson RJ. What's new in neuro-oncology? Recent advances in medulloblastoma. *Eur J Paediatr Neurol* 2003;7:53-66.
8. Goldberg-Stern H, Gadoth N, Stern S, Cohen IJ, Zaizov R, Sandbank U. The prognostic significance of glial fibrillary acidic protein staining in medulloblastoma. *Cancer* 1991;68:568-573.
9. Packer RJ, Sutton LN, Rorke LB, Littman PA, Sposto R, Rosenstock JG, et al. Prognostic importance of cellular differentiation in medulloblastoma of childhood. *J Neurosurg* 1984;61:296-301.
10. Eberhart CG, Kepner JL, Goldthwaite PT, Kun LE, Duffner PK, Friedman HS, et al. Histopathologic grading of medulloblastomas: a Pediatric Oncology Group study. *Cancer* 2002;94:552-560.
11. Haslam RH, Lamborn KR, Becker LE, Israel MA. Tumor cell apoptosis present at diagnosis may predict treatment outcome for patients with medulloblastoma. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998;20:520-527.
12. Pizem J, Cort A, Zdravec-Zaletel L, Popovic M. Survivin is a negative prognostic marker in medulloblastoma. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2005;31:422-428.
13. Fangusaro JR, Jiang Y, Holloway MP, Caldas H, Singh V, Boue DR, et al. Survivin, Survivin-2B, and Survivin-deltaEx3 expression in medulloblastoma: biologic markers of tumour morphology and clinical outcome. *Br J Cancer* 2005;92:359-365.

14. Uren AG, Wong L, Pakusch M, Fowler KJ, Burrows FJ, Vaux DR, et al. Survivin and the inner centromere protein INCENP show similar cell-cycle localization and gene knockout phenotype. *Curr Biol* 2000;10:1319-1328.
15. Shin S, Sung BJ, Cho YS, Kim HJ, Ha NC, Hwang JI, et al. An anti-apoptotic protein human survivin is a direct inhibitor of caspase-3 and -7. *Biochemistry* 2001;40:1117-1123.
16. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997;3:917-921.
17. Conway EM, Zwerts F, Van Eygen V, DeVriese A, Nagai N, Luo W, et al. Survivin-dependent angiogenesis in ischemic brain: molecular mechanisms of hypoxia-induced up-regulation. *Amer J Pathol* 2003;163:935-946.
18. Fukuda S, Foster RG, Porter SB, Pelus LM. The antiapoptosis protein survivin is associated with cell cycle entry of normal cord blood CD34(+) cells and modulates cell cycle and proliferation of mouse hematopoietic progenitor cells. *Blood* 2002;100:2463-2471.
19. Michalczyk K, Ziman M. Nestin structure and predicted function in cellular cytoskeletal organisation. *Histology and histopathology* 2005;20:665-671.
20. Almqvist PM, Mah R, Lendahl U, Jacobsson B, Hendson G. Immunohistochemical detection of nestin in pediatric brain tumors. *J Histochem cytochem* 2002;50:147-158.

21. Rao G, Pedone CA, Valle LD, Reiss K, Holland EC, Fufts DW. Sonic hedgehog and insulin-like growth factor signaling synergize to induce medulloblastoma formation from nestin-expressing neural progenitors in mice. *Oncogene* 2004;23:6156-6162.
22. Valtz NL, Hayes TE, Norregaard T, Liu SM, McKay RD. An embryonic origin for medulloblastoma. *New Biol* 1991;3:364-371.
23. Giordana MT, Schiffer P, Schiffer D. Prognostic factors in medulloblastoma. *Childs Nerv Syst* 1998;14:256-262.
24. Dehghani FF, Schachenmayr WW, Laun AA, Korf HHW. Prognostic implication of histopathological, immunohistochemical and clinical features of oligodendrogliomas: a study of 89 cases. *Acta Neuropathol* 1998;95:493-504.
25. Bian XXW. [An immunohistochemical and ultrastructural study of 243 gliomas with reference to the prognosis]. *Chin J Pathol* 1992;21:171-173.
26. Domagala WW, Striker GG, Szadowska AA, Dukowicz AA, Harezga BB, Osborn MM. p53 protein and vimentin in invasive ductal NOS breast carcinoma--relationship with survival and sites of metastases. *Eur J Cancer* 1994;30A:1527-1534.
27. Stenger AAM, Garr MI ML, Andreussi LL, Cama AA, Callea FF, Brisigotti MM, et al. Expression of histone H3 cell cycle-related gene, vimentin and MYC genes in pediatric brain tumors. A

preliminary analysis showing the different malignant cell growth potential. *Mol Brain Res* 1992;13:273-275.

28. Sasaki T, Lopes MB, Hankins GR, Helm GA. Expression of survivin, an inhibitor of apoptosis protein, in tumors of the nervous system. *Acta Neuropathol (Berl)* 2002;104:105-109.
29. Salsano E, Pollo B, Eoli M, Giordana MT, Finocchiaro G. Expression of MATH1, a marker of cerebellar granule cell progenitors, identifies different medulloblastoma sub-types. *Neurosci Lett* 2004;370:180-185.
30. Bodey B, Bodey V, Siegel SE, Kaiser HE. Survivin expression in childhood medulloblastomas: a possible diagnostic and prognostic marker. *In Vivo* 2004;18:713-718.



## **Abstract**

### Vimentin, nestin and survivin expression rates as prognostic factors in medulloblastoma

Jae Yeon Seok

*Department of Medicine*

*The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Tai Seung Kim)

Medulloblastomas are a primitive neuroepithelial tumor of the cerebellum in children and metastasize via the cerebrospinal fluid. It is highly malignant and invasive that the 5-year survival rate is just 60%. The treatment modality have improved overall survival rate, but patients suffer from various side effects such as cognitive dysfunction or endocrine abnormalities. It is essential to uncover the prognostic marker for treatment strategy to minimize side effects.

We evaluated the immunohistochemical differentiation and survival rate with synaptophysin, glial fibrillary acidic protein, epithelial membrane antigen and primitive neuroepithelial marker nestin in 55 paraffin-embedded medulloblastoma tumors, using tissue microarray. We also investigated the expression of survivin, the apoptotic inhibitor, and change in survival rate with regard to the proliferative index of Ki-67.

We found the vimentin, mesenchymal differentiation marker, positive group shows a high correlation with a worse prognosis and is statistically associated with nestin expression. Patients with a survivin expression rate of over 35% show a statistically worse clinical course with a high correlation with the expression rate of Ki-67. In conclusion, vimentin and survivin are negative prognostic markers in medulloblastomas.

---

Key Words: medulloblastoma, vimentin, nestin, survivin, prognosis