

# 자궁경부 상피내종양에서 p16<sup>INK4a</sup>와 pRb의 이상 발현과 고위험 군 인유두종바이러스 감염 및 재발의 상관성에 관한 연구

연세대학교 의과대학 산부인과학교실, 병리학교실\*

남은지·김혜연·김상운·윤보성·김재훈·김영태·김재욱·조남훈\*·김성훈

## Relationship between p16<sup>INK4a</sup>, pRb and high risk HPV infection and recurrence

Eun Ji Nam, M.D., Hye Yeon Kim, M.D., Sang Woon Kim, M.D., Bo Sung Yoon, M.D., Jae Hoon Kim, M.D.,  
Young Tae Kim, M.D., Jae Wook Kim, M.D., Nam Hoon Cho, M.D.\*, Sunghoon Kim, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, \*Department of Pathology,  
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

**Objective:** The purpose of this study was to identify the abnormal expressions of p16<sup>INK4a</sup> and pRb in cervical intraepithelial neoplasia (CIN), and then to determine the relationship between the levels of p16<sup>INK4a</sup> and pRb and high risk HPV infection and recurrence.

**Methods:** The study group was composed of 265 formalin-fixed, paraffin-embedded tissue array sections of the uterine cervix collected from women who had underwent biopsy, conization or hysterectomy at our hospital from January 2001 to December 2003. Immunohistochemical stainings for p16<sup>INK4a</sup> and pRb were performed and the association of pRb and p16<sup>INK4a</sup> expressions with clinical features was analyzed retrospectively.

**Results:** There was positive correlation between p16<sup>INK4a</sup> expression rate and grade of cervical lesion. Meanwhile, there was reverse correlation between pRb expression rate and grade of cervical lesion. The expression rate of p16<sup>INK4a</sup> was higher (33%) in CIN I with high risk HPV infection, than in CIN I without high risk HPV infection (19%). In all CIN lesions, the mean expression rate of p16<sup>INK4a</sup> was lower in recurred group than in those which did not recur. In CIN II and CIN III, the mean expression rate of pRb was higher in recurred group than in those which did not recur.

**Conclusion:** With increasing CIN grade, abnormal expression of p16<sup>INK4a</sup> was increased, but pRb expression was decreased. Relatively decreased p16<sup>INK4a</sup> expressions and increased pRb expressions significantly cooperate to predict a recurrence of the CIN lesions.

**Key Words:** Cervical intraepithelial neoplasia, HPV, Recurrence, p16<sup>INK4a</sup>, pRb

### 서 론

자궁경부암은 특히 한국 여성에서 발생률이 높은 중

요한 질환으로 5-15년 정도 전구 병소 형태인 자궁경부 상피내종양 단계를 거쳐 침윤성 병변으로 진행된다. 인유두종 바이러스 (human papilloma virus, 이하 HPV)의 감염이 자궁경부암의 발생에 가장 중요한 원인임은 현재까지 광범위한 역학조사 및 분자생물학적인 연구에 의해 이미 밝혀져 있다.<sup>1</sup> HPV는 double stranded DNA

접수일 : 2006. 2. 15.  
교신저자 : 김성훈  
E-mail: shkim70@yumc.yonsei.ac.kr

바이러스로서 현재까지 약 120여종 이상이 알려져 있으며, 이중 생식기에 존재하는 인유두종 바이러스는 크게 고위험 인유두종 바이러스 군 (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 69)과, 저위험 인유두종 바이러스 군 (6, 11, 34, 40, 42, 43, 44)으로 나뉜다. 특히 고위험 군 HPV의 지속적인 감염이 자궁경부암의 발생과 직접 연관이 있는 것으로 보여진다.<sup>2-4</sup>

HPV가 자궁경부암을 유발하는 기전은 고 위험 군 HPV의 E6 및 E7 단백질 각각 p53 및 pRb 세포주기 억제 단백질의 기능을 억제함으로써 세포주기 G1에서 S로의 이행을 억제하지 못하여 발생된다고 생각되고 있다.<sup>5,6</sup> p16<sup>INK4a</sup>는 cdk4 및 cdk6와 작용하여 세포증식 촉진 단백질인 cyclin D/cdk4, 6 complex의 형성을 방해하여 cdk에 의한 pRb의 인산화 (phosphorylation)를 억제하여 cyclin dependent kinase inhibitor로서 작용한다.<sup>7</sup> 종양억제단백인 pRb가 인산화되면 pRb와 결합하고 있던 전사조절인자인 E2F가 유리되어 세포주기가 G1에서 S기로 이행되도록 유도한다.<sup>8</sup> 그러나 HPV 감염으로 인하여 E7 단백질이 pRb와 결합하게 되면 E2F는 pRb로부터 유리되어 G1-S 세포주기 이행에 관련된 유전자의 발현을 촉진하게 된다.<sup>9</sup> HPV E7 단백질에 의해 pRb의 기능이 불활성화되면 pRb와 p16<sup>INK4a</sup>의 음성 되먹임 (negative feedback) 기전으로 인해 상반적으로 p16<sup>INK4a</sup>는 과발현 (overexpression)하게 된다.<sup>9-12</sup>

본 연구에서는 상기의 문헌 지견을 바탕으로 자궁경부 상피내종양의 암발생 (tumorigenesis)에 관계하는 세포조절주기 단백질인 p16<sup>INK4a</sup>와 pRb의 발현을 관찰하고, 이와 아울러 고위험 군 HPV 감염 및 재발 여부와 세포주기 단백질발현 정도를 비교하여 p16<sup>INK4a</sup>와 pRb의 임상적 유용성을 밝히고자 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

2001년 1월부터 2003년 12월까지 본원 산부인과에 내원하여 자궁경부 착공생검 (punch biopsy) 및 자궁경

부 환상투열 절제술 (LEEP) 또는 제 1형 확대형 전자궁적출술 (type I extended hysterectomy)을 시행받고 조직병리학적으로 자궁경부 상피내종양 (cervical intraepithelial neoplasia, 이하 CIN)을 진단 받은 환자들의 파라핀포매 조직절편으로 tissue array를 제작하였다 (Petagen Inc, Seoul, Korea). Tissue array는 117개의 CIN I 병변과 44개의 CIN II, 104개의 CIN III로 구성되었다. 자궁 근종 등 양성 병변으로 전자궁적출술을 시행받고 조직병리학적으로 자궁경부에 종양성 병변이 없는 10예를 대조군으로 사용하였다. 대상 환자들 중 고등급 상피내병변 (CIN II, CIN III)을 진단 받은 환자들은 모두 치료로서 자궁경부 환상투열절제술 또는 제1형 확대형 전자궁절제술을 시행받았다. 저등급 상피내병변 (CIN I)을 진단받은 환자들은 냉동치료 (cryotherapy), 레이저 치료, 또는 자궁경부 환상투열절제술을 시행받았다. 자궁경부 환상투열절제술 또는 제 1형 확대형 전자궁절제술을 시행 받은 경우 그 적출물의 조직학적 검사 결과 절제연에 잔류암 소견은 없었다. 이후 3개월에서 6개월 사이의 간격으로 추적검사로 자궁경부 세포도말검사 또는 질확대경검사를 시행하였으며 의심되는 병변이 있는 경우 질확대경 조준하 자궁경부 착공생검을 시행하였다. 2년 이상 추적 관찰 기간 중 시행한 생검 결과 상 다시 자궁경부 상피내종양 병변이 진단되는 경우를 재발로 판정하였다.

### 2. 방법

#### 1) 고위험 군 HPV의 검출

고위험 군 HPV 검출에는 인유두종바이러스 oligonucleotide microarray DNA chip (Biomedlab Co., Seoul, Korea) 또는 HPV hybrid capture II<sup>□</sup> kit (Digene/Abbott, Clopper Road, Gaithersburg, Maryland, USA)를 사용하여 검사하였다. 고위험 군에 속하는 아형은 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 69형이며, 저위험 군에 속하는 아형은 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44형이었다.

2) 면역조직화학염색 (immunohistochemical staining) 및 판독

(가) p16<sup>INK4a</sup>, pRb의 면역조직화학염색

p16<sup>INK4a</sup>의 염색은 CINtec™ p16<sup>INK4a</sup> Histology kit (DAKOCytomation, Carpinteria, CA, USA)를 사용하였고 제작회사의 사용 설명서에 따라 염색을 시행하였다. pRb의 염색은 retinoblastoma (Rb) Ab-1 (Neomarkers, Drive Fremont, CA, USA)을 이용하여 시행하였다. Tissue array로 제작된 파라핀 포매 조직을 섭씨 38도의 열판과 섭씨 60도의 오븐에서 각 2시간 동안 둔 후 파라핀 제거와 함께 함수과정을 거쳤다. Xylene에 슬라이드를 넣은 후 5분씩 3회 반복하여 탈파라핀을 시행 후 100%, 90%, 70% 알코올에 슬라이드를 1분씩 두어 xylene이 빠지도록 하였다. 흐르는 물에 5분간 씻은 후 ckd4와 pRb의 경우 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 10분간 담갔다. Epitope retrieval를 위해 citrate buffer를 넣고 10분간 예열 후 slide를 넣고 15분간 데운다. 증류수에 슬라이드를 담귀서 20분간 식힌 후 세척 완충액 (wash buffer)에 5분간 담갔다. 그 후 peroxidase-blocking reagent 200 μl를 떨어뜨리고 10분간 처리하고 슬라이드를 꺼내어 citrate buffer에 3분간 담근 후 (3회 반복), 슬라이드를 완충액에서 꺼내어 잘 털어준 다음 미리 희석해 둔 일차 항체와 음성대조시약을 1:25로 희석하여 각각의 검체에 떨어뜨린 다음 습성 배양기 (wet incubator box)에 마르지 않도록 뚜껑을 잘 덮어서 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 슬라이드를 꺼내어 세척 완충액에 3분간 담근 후 발색시약 200 μl를 각각의 검체에 떨어뜨린 다음 습성배양기에 마르지 않도록 뚜껑을 잘 덮어서 30분간 습성시킨 후, 슬라이드를 꺼내어 세척완충액에 3분간 담갔다 (3회 반복). 슬라이드를 완충액에서 꺼내어 잘 털어준 후 미리 만들어 놓은 substrate-chromogen solution 200 μl를 각각의 검체에 떨어뜨린 다음 습성배양기에 10분간 습성시켰다. 슬라이드를 꺼내어 증류수에 행구고, 슬라이드를 hematoxylin bath에 1분간 담근 후, 슬라이드를 꺼내어 다시 증류수에 행겼다. 100%, 90%, 70% 알코올에 1분씩 둔 후, xylene에 슬라이드를 넣은 후 10분간 두었

다. Histomount를 사용하여 coverslip으로 mount하였다.

(나) 결과 판독 및 통계 처리

p16<sup>INK4a</sup>, pRb의 조직발현의 판독은 400배 광학현미경하 시야에서 관찰하여 전체 관찰된 상피 세포 중 염색된 세포의 수를 세어 백분율 단위로 표기하였다. 모든 슬라이드는 두 명의 독립된 관찰자에 의해 분석되었다. 각 조직학적 유형에 따른 고위험 군 HPV감염 여부, 재발 여부, p16<sup>INK4a</sup>와 pRb의 발현 정도의 관계를 one-way ANOVA test, t-test, Pearson's correlation test (SPSS 12.0)로 분석하였고, p값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

Table 1은 자궁경부 상피내종양의 병기에 따른 p16<sup>INK4a</sup>, pRb의 염색 정도를 나타낸 표로서 자궁경부 상피내종양의 조직병리학적 진행 정도와 p16<sup>INK4a</sup>, pRb의 이상 발현 정도와는 통계적으로 유효하게 차이가 있었다. Fig. 1, 2는 p16<sup>INK4a</sup>, pRb의 염색상이다. 저등급 자궁경부 상피내종양에서 고등급 자궁경부 상피내종양으로 진행함에 따라 p16<sup>INK4a</sup>의 이상 발현 정도가 통계적으로 유의하게 증가하여 양의 상관관계를 보였다. 또한 pRb의 경우 고등급 자궁경부 상피내 병변으로 진행할수록 이상발현 정도가 감소하여 조직병리학적 진행 정도와 통계적으로 유의하게 음의 상관관계를 보였다 (Fig. 3). 이 관계는 모두 통계적으로 유의하였다 (Pearson's correlation test, p<0.05).

고위험 군 HPV는 CIN I에서는 실험 군의 69.9%에서 검출되었고 CIN2에서는 73.5%, CIN3 및 CIS에서는 70.1%가 검출되어 조직병리학적 등급과 HPV 고위험 군 감염률과는 관계는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 2). 고위험 군 HPV감염 여부에 따라 p16<sup>INK4a</sup>, pRb의 발현 정도와의 관계를 자궁경부 상피내종양의 병기 별로 분석해 본 결과 고위험 군 HPV에 감염되었을 경우 p16<sup>INK4a</sup>의 발현이 증가되는 경향을 보였

다. 저등급 상피내종양 (CIN I)에서는 고위험 군 HPV 감염이 있는 경우 유의하게 p16<sup>INK4a</sup> 이상 발현이 증가하였다 (p<0.05). 그러나 중등도 또는 고등급 상피내종양 (CIN II, CIN III)의 경우 p16<sup>INK4a</sup>, pRb의 발현은 고위험 군 HPV 감염과 통계적으로 유의한 관계를 보이지 않았다 (Table 3).

p16<sup>INK4a</sup>의 경우 저등급 및 고등급 상피내종양 병변

모두에서 재발 군에서 비재발 군에 비해 통계적으로 유의하게 발현률이 낮았다. pRb는 고등급 자궁경부 상피내종양 (CIN II and CIN III)에서 통계적으로 유의하게 재발 군에서 발현률이 높았으며, 비록 통계적으로 유의하지 않았으나 저등급 상피내종양에서도 재발 군에서 pRb의 발현률이 높은 경향을 보였다 (Table 4).

**Table 1.** The mean expression rates of p16<sup>INK4a</sup> and pRb according to pathologic grade of CIN

Pathologic grade	p16 <sup>INK4a</sup> *		pRb*	
	No.	Expression rate	No.	Expression rate
CIN I	109	27.2%	110	47.8%
CIN II	41	36.9%	39	41.3%
CIN III	87	61.9%	87	19.4%
Total	237		236	

\* p<0.05, statistical significance was tested by ANOVA test of variances among groups.  
No. specimen numbers of adequately stained for reading

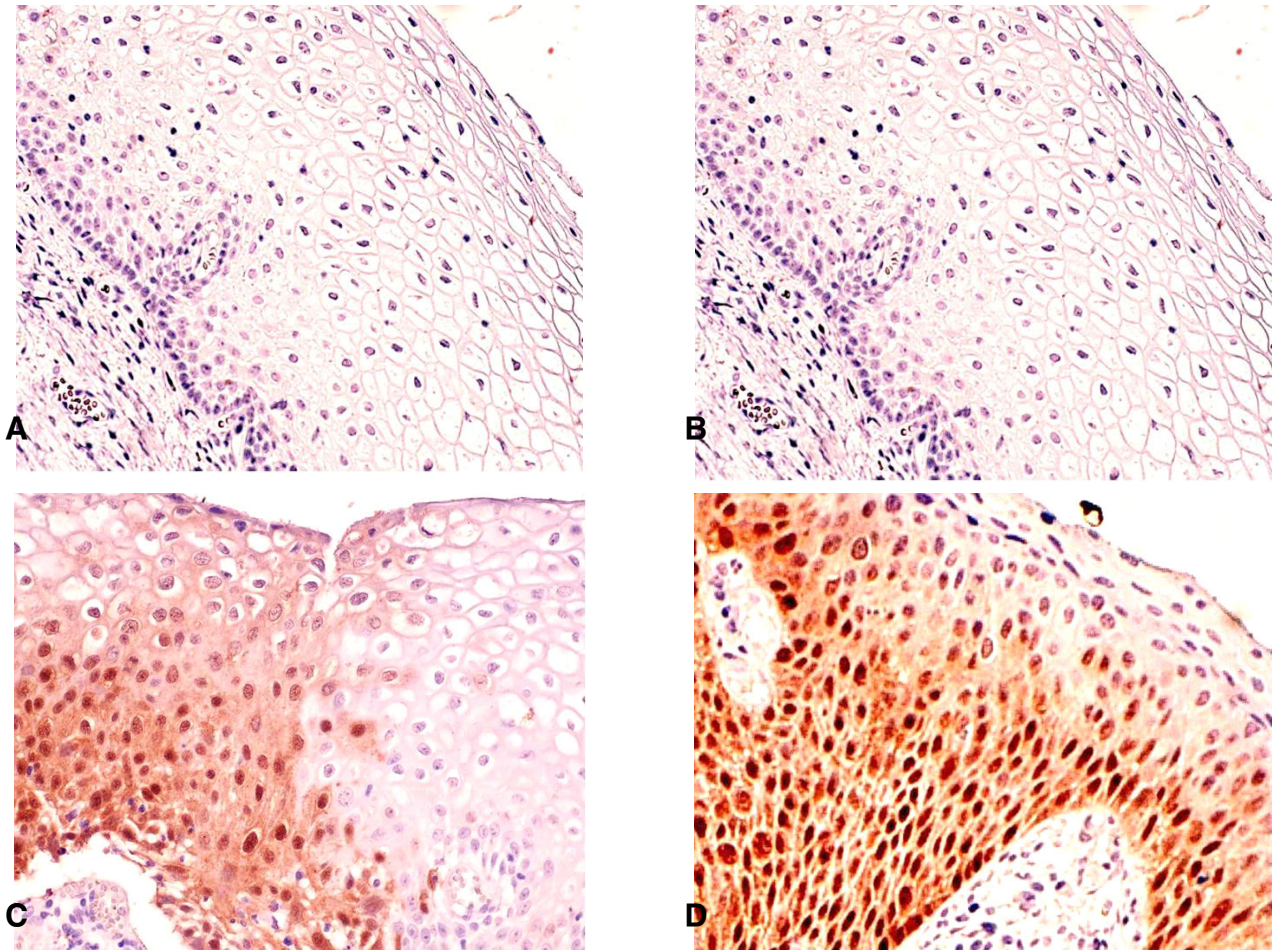
**Table 2.** High risk HPV infection rate according to pathologic grade of CIN

Pathologic grade	No. of HPV tested case	No. of high risk HPV infected case	High risk HPV infection rate (%)
CIN I	93	65	69.9
CIN II	34	25	73.5
CIN III	87	61	70.1
Total (mean)	214	151	(70.6)

**Table 3.** The mean expression rates of p16<sup>INK4a</sup> and pRb in CIN according to the high risk HPV infection status

High risk HPV	Mean expression rate±SD (%)			
	p16 <sup>INK4a</sup>		pRb	
	Negative	Positive	Negative	Positive
CIN I	18.9±14.3*	33.0±25.0*	50.0±18.6	47.2±22.4
CIN II	30.0±33.9	39.0±35.4	40.0±19.4	40.0±19.3
CIN III	59.1±33.0	63.4±30.8	22.7±17.1	18.2±16.5

\* p value=0.001; p value was obtained using t-test in CIN I.

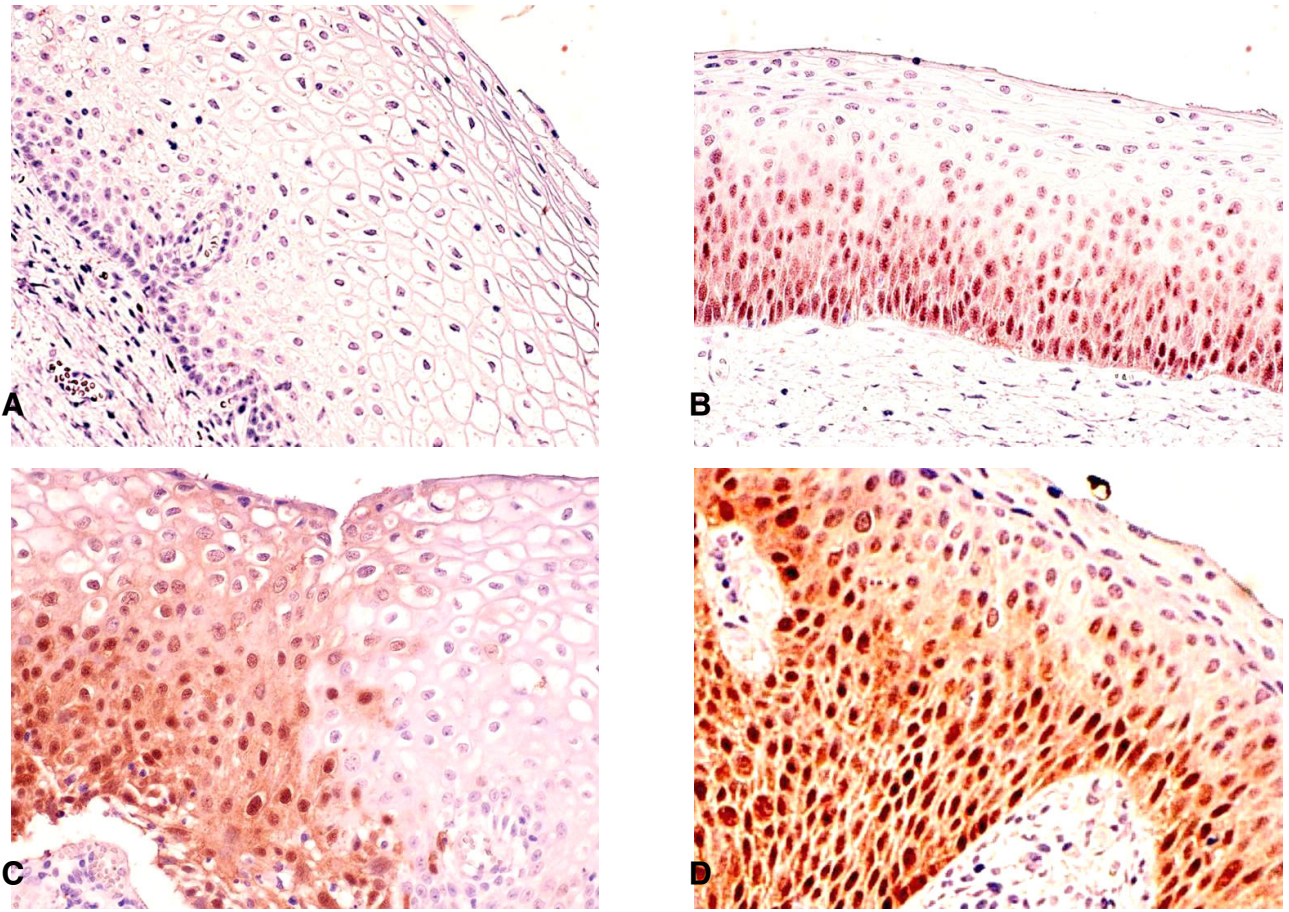


**Fig. 1.** Representative examples of p16<sup>INK4a</sup> immunoreactivity  
 A. Negative p16<sup>INK4a</sup> immunohistochemical staining in normal cervical tissues. B&C. 50-60% positive p16<sup>INK4a</sup> immunohistochemical staining in CIN tissues. D. 90% positive for p16<sup>INK4a</sup> immunohistochemical staining in invasive cervical cancers.

## 고 찰

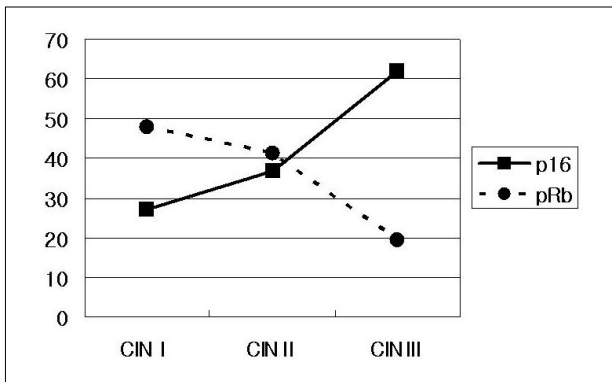
HPV 감염은 자궁경부암의 발생에 가장 큰 원인으로 알려져 있다. HPV 감염에 의한 자궁경부의 암화 과정은 HPV의 E6 및 E7 단백질이 세포조절주기 단백질의 기능을 저하함으로써 생겨남이 알려져 있다. 본 연구에서는 자궁경부 상피내종양에서 HPV의 E7의 주요 타겟으로 알려져 있는 RB pathway (p16<sup>INK4a</sup>-cdk4/cyclinD1-pRb pathway)의 변화를 관찰하여 고위험 군 HPV 감염과의 연관성 및 예후와의 관계를 살펴보고자 하였다. 이전 연구결과에서 p16<sup>INK4a</sup>의 과발현 (overexpression)이

자궁경부암을 포함한 대장암, 폐암, 식도암, 구강암 등에서 이미 알려진 바 있다.<sup>13-16</sup> p16<sup>INK4a</sup>의 과발현의 기전은 현재까지 명확하게 밝혀지지 않았으나 HPV E7이 ubiquitin 의존성 단백질분해계에 의해 pRb의 분해를 초래하여 상보적으로 p16<sup>INK4a</sup> 발현이 증가한다는 의견이 제시된 바 있다.<sup>16-18</sup> 본 연구에서는 자궁경부 상피내종양의 조직병리학적 등급이 증가할수록 p16<sup>INK4a</sup>의 발현이 증가하였으며 pRb의 발현은 감소하여 위 가설과 일치된 결과를 보였다. 특히 p16<sup>INK4a</sup>의 경우 자궁근종으로 전자궁적출술을 시행한 10예를 대상으로 면역조직화학검사를 시행한 결과 p16<sup>INK4a</sup>의 발현이 매우 낮고 (0-



**Fig. 2.** Representative examples of pRb immunoreactivity

A. 80% positive pRb immunohistochemical staining in normal cervical tissues. B. 60% positive pRb immunohistochemical staining in CIN I tissues. C. 30% positive pRb immunohistochemical staining in CIN II lesion. D. 10% positive for pRb immunohistochemical staining in CIN III.



**Fig. 3.** Correlation between p16<sup>INK4a</sup> and pRb expression and CIN grade.

10%), 자궁경부 상피내종양의 이형 세포의 경우 뚜렷이 염색되어 자궁경부 상피내종양 진단의 재현성 (reproducibility)을 증가시키는 객관적인 표지로서 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서는 고위험 군 HPV감염이 있는 경우 p16<sup>INK4a</sup> 이상 발현이 증가하였으며 이는 이전 연구결과들과 일치한다.<sup>19,20</sup> 이는 고위험 군 HPV의 E7 단백질에 의해 pRb의 발현이 저하되어 음성 되먹이기 기전에 의하여 p16<sup>INK4a</sup>의 발현이 더욱 증가하기 때문으로 추정된다. Nakao 등은 p16<sup>INK4a</sup>의 과발현이 늦게 악성화 (late malignant transformation) 과정에 관여하는 것이 아

**Table 4.** The mean expression rates of p16<sup>INK4a</sup> and pRb in CIN according to recurrence

Recurrence	Mean expression rate±SD (%)			
	p16 <sup>INK4a</sup>		pRb	
	No	Yes	No	Yes
CIN I	29.0±22.8	25.4±22.6	47.4±22.4	48.1±16.4
CIN II	38.5±35.0	27.5±31.0	40.0±18.3	45.0±23.8
CIN III	63.9±30.9	44.3±38.7	17.6±15.1	33.8±26.7
Total	44.2±32.6*	31.0±29.0*	34.5±23.5 <sup>†</sup>	43.6±21.0 <sup>†</sup>

\* p value=0.043

<sup>†</sup> p value=0.034

p value was significant only in the high grade intraepithelial lesion (CIN II and CIN III).

나라 암발생 초기 불멸화 과정 (immortalization)에서 증가함을 보고한 바 있다.<sup>21</sup> 따라서 pRb의 기능의 불활성화 및 16<sup>INK4a</sup>의 과발현은 암발생 (carcinogenesis)의 비교적 초기 과정에 이루어지는 것으로 보이고 특히 CIN I 병변에서 통계적으로 유의하게 p16<sup>INK4a</sup>의 발현이 증가한 본 연구 결과에 부합하는 것으로 사료된다. Geradts 등은 면역조직학적 방법에 의한 p16<sup>INK4a</sup>의 핵 염색이 Western blot의 결과와 일치하였다고 보고하여 암화 과정을 연구하는데 있어 p16<sup>INK4a</sup>의 경우 면역조직 화학 검사가 좋은 연구방법이 될 수 있음을 시사한 바 있다.<sup>22</sup> 다만 상피 세포의 기저층 (basal epithelium) 및 가시층 (spinous epithelium)에서는 p16<sup>INK4a</sup>가 강하게 염색된 데 반해 HPV의 감염에 의해 생겼다고 믿어지는 원반 세포 (koilocytes)나 HPV의 복제 (viral replication)가 가장 활발히 이루어지는 과립층 (granular layer)에서는 p16<sup>INK4a</sup>가 거의 음성 소견을 보였다. 결론적으로 p16<sup>INK4a</sup>의 과발현이 고위험 군 HPV 감염을 시사하는 표지로서 사용될 수 있는 가능성을 다시 한번 확인할 수 있었다.

Rb pathway에 관여하는 세포주기 조절단백의 악성 종양의 통상적인 임상병리학적 예후 인자로서의 역할에 대해서는 현재까지는 논란의 여지가 많다. p16<sup>INK4a</sup>의 경우 결과의 불일치 (discrepancy)가 두드러진다. 난소암 (ovarian carcinoma)이나 전립선암 (prostate

cancer)에서는 p16<sup>INK4a</sup>발현이 증가하는 것이 나쁜 예후와 관계가 있다는 논문들이 발표된 바 있다.<sup>23,24</sup> 반대로 악성 흑색종 (melanoma)이나 췌장암 (pancreatic cancer)에서는 p16<sup>INK4a</sup>의 발현 감소가 나쁜 예후와 관련이 있다는 보고들이 있었다.<sup>25,26</sup> 하지만 이러한 상반되는 결과들은 암종의 pRb status와 관련지어 설명될 수 있다. 즉 주로 pRb가 활성화된 종양 (Rb positive tumor)에서는 pRb를 불활성화시킬 정도의 충분한 cdk4를 활성화하기 위해 p16<sup>INK4a</sup>의 활성이 감소되는데 반해 주로 pRb가 불활성화되어 있는 종양 (Rb negative tumor)에서는 cyclin D1의 과발현이 필요치 않으므로 p16<sup>INK4a</sup> 발현이 상보적으로 증가된다.<sup>27</sup> 본 연구에서는 p16<sup>INK4a</sup>가 재발 군에서 비재발군에서보다 통계적으로 유의하게 낮은 발현을 보였고 pRb와 음의 상관관계를 보여 이전 연구와 일치된 결과를 보였다.<sup>28</sup>

결론적으로 조직병리학적 등급이 증가할수록 p16<sup>INK4a</sup>의 발현은 발현이 증가하였고 pRb는 발현이 감소하였다. 고위험 군 HPV에 감염되어 있는 경우 CIN I에서 p16<sup>INK4a</sup>의 이상 발현이 증가하여 p16<sup>INK4a</sup>가 암발생 (carcinogenesis)의 비교적 초기 과정에 관여하는 것으로 보인다. 또한 재발 군에서 p16<sup>INK4a</sup>의 발현이 저하되고 pRb의 발현이 증가하여 p16<sup>INK4a</sup> 및 pRb의 면역조직 화학적 염색 결과가 예후 인자로 사용 가능할 뿐만 아니라 치료 방침을 정하는데 보조적 수단으로 이용 가능할 것

으로 사료된다.

### 참고문헌

- Zur Hausen H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Cur Topics Micro Immunol* 1977; 78: 1-30.
- Pfister H. Human papillomavirus and genital cancer. *Adv Cancer Res* 1987; 48: 113-47.
- Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 328-37.
- Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796-802.
- Slebos RJ, Lee MH, Plunkett BS, Kessiss TD, Williams BO, Jacks T, et al. p53-dependent G1 arrest involves pRb-related proteins and is disrupted by the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5320-4.
- Thomas M, Massini P, Jenkins J, Banks L. HPV 18 E6 mediated inhibition of p53 DNA binding activity is independent of E6 induced degradation. *Oncogene* 1995; 10: 261-8.
- Sherr CJ, Roberts JM. Inhibition of mammalian G1 cyclin-dependent kinases. *Genes Dev* 1995; 9: 1149-63.
- Chellappan SP, Hiebert S, Mudryj M, Horowitz JM, Nevins JR. The E2F transcription factor is a cellular targets for the RB protein. *Cell* 1991; 65: 1053-61.
- Dyson N, Howley PM, Munger K, Harlow E. The human papillomavirus 16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989; 243: 934-7.
- Sherr CJ. Cancer cell cycles. *Science* 1996; 274: 1672-7.
- Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, Liu Q, Harshman K, Tavitian SV, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science* 1994; 264: 436-40.
- Khleif SN, DeGregori J, Yee CL, Otterson GA, Kaye FJ, Nevins JR, et al. Inhibition of cyclin D-CDK4/CDK6 activity is associated with an E2F-mediated induction of cyclin kinase inhibitor activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4350-4.
- Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol* 1998; 153: 1741-8.
- Esteller M, Gonzales S, Rissques RA, Marcuello E, Mangues R, Germa JR, et al. K-ras and p16 aberrations confer poor prognosis in human colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19: 299-304.
- Sturm I, Petrowsky H, Volz R, Lorenz M, Radetzki S, Hillebrand T, et al. Analysis of p53/BAX/p16<sup>INK4a</sup>/CDKN2 in esophageal squamous cell carcinoma: high BAX and p16<sup>INK4a</sup>/CDKN2 identifies patients with good prognosis. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2272-81.
- Sakaguchi M, Fujii Y, Hirabayashi H, Yoon HE, Komoto Y, Oue T, et al. Inversely correlated expression of p16 and Rb protein in non small cell lung cancers: an immunohistochemical study. *Int J Cancer* 1996; 65: 442-5.
- Hofmann F, Martelli F, Livingston DM, Wang Z. The retinoblastoma gene product protects E2F-1 from degradation by the ubiquitin-proteasome pathway. *Genes Dev* 1996; 10: 2949-59.
- Hateboer G, Kerkhoven RM, Shvarts A, Bernards R, Beijersbergen RL. Degradation of E2F by the ubiquitin-proteasome pathway: regulation by retinoblastoma family proteins and adenovirus transforming proteins. *Genes Dev* 1996; 10: 2960-70.
- Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, Ridder R, Rudy W, Petry U, et al. Overexpression of p16<sup>INK4a</sup> as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer* 2001; 92: 276-84.
- Sano T, Masuda N, Oyama T, Nakajima T. Overexpression of p16 and p14ARF is associated with human papillomavirus infection in cervical squamous cell carcinoma and dysplasia. *Pathol Int* 2002; 52: 375-83.
- Nakao Y, Yang X, Yokoyama M, Ferenczy A, Tang SC, Pater MM, et al. Induction of p16 during immortalization by HPV 16 and 18 and not during malignant transformation. *Br J Cancer* 1997; 75: 1410-6.
- Geradts J, Kratzke RA, Niehans GA, Lincoln EL. Immunohistochemical detection of suppressor gene1 (CdKN2/MTS1) product p16<sup>INK4a</sup> in archival human solid tumors: correlation with retinoblastoma protein expression. *Cancer Res* 1995; 55: 6006-11.
- Dong Y, Walsh MD, McGuckin MA, Gabrielli BG, Cummings MC, Wright RG, et al. Increased expression of cyclin-dependent kinase inhibitor 2 (CDKN2A) gene product P16<sup>INK4A</sup> in ovarian cancer is associated with progression and unfavourable prognosis. *Int J Cancer* 1997; 74: 57-63.
- Halvorsen OJ, Hostmark J, Haukaas S, Høisaeter PA, Akslen LA. Prognostic significance of p16 and CDK4 proteins in localized prostate carcinoma. *Cancer* 2000; 88: 416-24.
- Alonso SR, Ortiz P, Pollan M, Perez-Gomez B, Sanchez L, Acuna MJ, et al. Progression in cutaneous malignant melanoma is associated with distinct expression profiles: a tissue microarray-based study. *Am J Pathol* 2004; 164: 193-203.
- Gerdes B, Ramaswamy A, Ziegler A, Lang SA, Kersting M, Baumann R, et al. p16<sup>INK4a</sup> is a prognostic marker in resected ductal pancreatic cancer: an analysis of p16<sup>INK4a</sup>, p53, MDM2, and Rb. *Ann Surg* 2002; 235: 51-9.
- Shapiro GI, Park JE, Edwards CD, Mao L, Merlo A, Sidransky D, et al. Multiple mechanisms of p16<sup>INK4A</sup> inactivation in non-small cell lung cancer cell lines. *Cancer Res* 1995; 55: 6200-9.
- Ghazizadeh M, Jin E, Shimizu H, Fujiwara M, Arai S, Ohaki Y, et al. Role of cdk4, p16<sup>INK4</sup>, and Rb expression in the prognosis of bronchioloalveolar carcinomas. *Respiration* 2005; 72: 68-73.

---

= 국문초록 =

**목적:** 자궁경부 상피내 종양에서 p16<sup>INK4a</sup>, pRb의 이상발현 정도를 살피고 이들이 고위험군 HPV 감염 및 재발 등 임상적 특성과 연관이 있는지 알아보고자 하였다.

**연구 방법:** 2001년 1월부터 2003년 12월까지 본원 산부인과에 내원하여 자궁경부 착공생검 및 환상투열절제술 또는 제 1형 확대형 자궁적출술을 시행 받고 조직병리학적으로 자궁경부 상피내 종양을 진단 받은 265개의 파라핀 포매 조직 절편으로 tissue array를 제작하였다. p16<sup>INK4a</sup>, pRb에 대한 면역조직화학 염색을 시행하였다. 이상의 결과를 고위험군 HPV 감염 여부 및 재발 여부 등 임상적 특징과 연관지어 분석하였다.

**결과:** 자궁경부 상피내 종양의 조직 병리학적 진행 정도와 p16<sup>INK4a</sup>의 발현 정도는 양의 상관 관계를 보였으며 반면 pRb의 발현과는 음의 상관관계를 보였다. 저등급 상피내병변에서는 고위험군 HPV 감염이 있는 경우 p16<sup>INK4a</sup> 단백 이상 발현이 증가하였다. p16<sup>INK4a</sup>의 경우 자궁경부 상피내병변에서 재발군에서 비재발군에 비해 통계적으로 유의하게 발현률이 낮았다. pRb는 고등급 자궁경부 상피내 종양에서 통계적으로 유의하게 재발군에서 발현률이 높았으며 비록 통계적으로 유의하지 않았으나 저등급 상피내종양에서도 재발군에서 pRb의 발현률이 높은 경향을 보였다.

**결론:** 자궁경부 상피내 종양의 p16<sup>INK4a</sup> 및 pRb의 면역조직화학염색결과가 자궁경부 상피내 종양의 예후 인자로서 치료 방침을 결정하는 데 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

**중심단어:** 자궁경부 상피내종양, HPV, 재발, p16<sup>INK4a</sup>, pRb

---