췌장암에서 p16단백 발현의 소실 및 p53단백 발현의 임상적 의의

연세대학교 대학원

의학과

정 준

췌장암에서 p16단백 발현의 소실 및 p53단백 발현의 임상적 의의

지도교수 지 훈 상

이 논문을 석사학위논문으로 제출함

2001년 12월 일

연세대학교 대학원

의학과

정 준

정　　준의 석사학위 논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2001년　12월　　일

감사의 글

미국에 온 지도 벌써 2개월이 지났습니다. 정신없이 새로운 생활에 적응하느라 주위를 둘러 볼 여유조차 가지지 못했는데, 이곳에서도 이젠 아침저녁으로 제법 쌀쌀한 계절의 변화를 느낍니다.

돌이켜보면 논문을 준비하는데 있어 소홀함도 많았고, 좀 더 충실하지 못했던 것에 대한 후회와 미련이 많이 있지만 결실의 계절인 가을에 저 또한 자그마한 노력의 결과를 한 권의 책으로 내 놓을 수 있다는 것에 대해 조금은 뿌듯함을 느낍니다.

이 논문이 완성되기까지 저를 지도해 주시고 외과의사로의 길을 인도해 주신 지훈상 선생님과 더불어 저의 석사학위 논문에 도움을 주신 노재경 선생님과 박영년 선생님에게 지면으로나마 감사의 마음을 전합니다. 그리고 항상 저를 아껴주시고, 형님처럼 돌봐주시는 윤동섭 선생님과 면역조직화학염색을 한다고 수고하신 권계원 선생님, 이 논문이 차질 없이 출판되도록 도와준 조신일 선생님께 감사의 뜻을 전합니다.

힘들 때나 어려울 때 항상 같이 있어 힘이 되어준 아내와, 두호, 지현이에게 고마움을 전하고, 멀리 있지만 언제나 저를 생각해 주시고 염려해 주시는 아버지, 어머니께 이 책을 바칩니다.

저자 씀

차 례

그림 차례

표 차례

국문요약

췌장암에서 p16단백 발현의 소실 및 p53단백 발현의 임상적 의의

췌장암은 조기 진단이 어렵고, 따라서 수술 시 절제율도 낮고 근치적 절제술 후에도 예후가 매우 불량한 것으로 알려져 있다. 췌장암에 있어 분자생물학적 접근은 췌장암의 발생이나 병인을 이해하는 것뿐만 아니라 조기진단이나 새로운 치료법 개발의 가능성을 제시할 수 있다는 점에서 더 흥미롭다 하겠다. 본 연구는 췌장암에서 면역조직화학염색법을 통해 p16 단백 발현의 소실 및 p53 단백의 과발현 정도를 알아보고 이에 따른 임상병리학적 특징 및 생존율과의 관계를 조사하여 p16 유전자와 p53 유전자의 임상적 의의 및 상호 연관성에 대해 알아보고자 하였다. 1990년 3월부터 1999년 4월까지 연세대학교 의과대학 외과학교실에서 췌장암으로 진단받고 수술받은 환자를 대상으로 하였다. 이 중 근치적 절제술이 시행되고 병리조직학적으로 췌장선암(pancreatic ductal adenocarcinoma)으로 확진된 환자를 대상으로 파라핀 포매조직의 이용이 가능하고 추적관찰이 가능했던 44명을 대상으로 p16 단백과 p53 단백에 대한 면역조직화학염색을 시행하여 그 결과를 대상 환자들의 임상병리학적 특성 및 생존율과 비교하여 분석하였다. 44예 중 20예(45.5%)에서 p16단백의 발현이 소실되었고, 14예(31.8%)에서 p53단백의 과발현을 보였다. p16단백 발현이 소실된 군에서 림프절 전이가 의의있게 많았고(p=0.040), 병기도 높았다(p=0.015). 나머지 임상병리학적 특성들 및 생존율과는 의미있는 연관성을 찾을 수 없었다.

p53단백의 과발현은 조직학적 분화도가 나쁠수록 증가하여 의미있는 연관성을 보였고(p=0.038), p53단백의 과발현을 보인 군에서 무병생존율이 의의있게 낮은 것을 관찰할 수 있었다(p=0.0209). 나머지 임상병리학적 특성들과의 연관성은 찾을 수 없었다. 이상에서와 같이, p16단백 발현의 소실을 보인 군은 림프절 전이가 많고 병기가 높았으나 생존율에는 차이가 없었고, p53단백의 과발현을 보인 군에서는 조직학적 분화도가 나쁘고 무병생존율도 낮았다. 따라서 p16 유전자와 p53 유전자는 췌장암의 진행과정에서 중요한 역할을 한다고 할 수 있겠다.

핵심되는말 : 췌장암, p16, p53, 면역조직화학염색

췌장암에서 p16단백 발현의 소실 및 p53단백 발현의 임상적 의의

<지도교수 지 훈 상>

연세대학교 대학원 의학과

정 준

I. 서 론

1999년도 대한민국 보건복지부 통계에 따르면 췌장암은 남자에서 8번째, 여자에서는 10번째로 많이 발생하는 암으로[1], 점차 그 빈도가 증가하는 추세이다. 췌장암의 발생원인으로는 흡연, 고칼로리 식이, 여러 화학물질, 만성 췌장염, cystic fibrosis, 당뇨병 등이 관련이 있다고 알려져 있으나 정확한 원인은 아직 확실하지 않다.[2]

췌장암은 조기 진단이 어렵고, 따라서 수술 시 절제율도 낮고 근치적 절제술 후에도 예후가 매우 불량한 것으로 알려져 있다. 수술 시 15 - 20%만이 절제가 가능하고[3], 절제후 5년 생존율은 대략 20%내외 정도이다.[3,4] 아직 생존기간을 연장하는 보조요법이나 고식적인 치료방법도 표준화되지 않은 상태이다.

암 발생기전에 여러 종류의 암유전자와 종양억제 유전자가 관여한다는 사실이 밝혀지면서 각종 암에서 분자생물학적 접근이 활발하게 시도되고 있다. 췌장암에서도 많은 연구들이 진행되고 있고, 여러 가지 유전자들이 관여한다고 알려졌다. 이 중, K - ras, p53, p16, DPC4 등이 대표적인 유전자들이다.[5 - 7]

이 중 p16 유전자는 MST1, CDKN2 등으로 불리우며, 비교적 최근에 주목을 받기 시작한 종양억제 유전자로 염색체 9p에 위치하고 있다. p16 단백은 cyclin - dependent kinase 4에 결합하여 여러 종류의 성장 및 조절 단백의 인산화를 억제하여 세포주기의 G1기에서 증식을 조절한다. 이 p16 유전자에 돌연변이가 일어날 경우 cyclin - dependent kinase 4의 활성이 증가되고 Rb 단백의 과인산화가 일어나 G1기에서 S기로의 진행을 촉진시켜 결국 세포 증식을 항진시킨다.

p53은 각종 암에서 가장 활발히 연구되고 있는 유전자 중의 하나이다. p53 유전자는 염색체 17p에 위치하고 있고 핵 DNA에 결합하는 단백을 만들어 세포주기에서 checkpoint로 작용하고 세포 고사(apoptosis)를 유도하는 역할을 한다. p53 유전자의 기능이 비활성화되면 세포 증식의 조절과 세포 고사의 유도라는 세포 성장의 2가지 중요한 조절기능을 상실하게 된다.

이들 유전자와 췌장암에서의 임상적 특성이나 생물학적 특성과의 연관성에 대해서도 활발히 연구가 진행되고 있고, 연구자마다 다양한 결과를 보고하고 있다. 또, 이 여러 가지 종양억제 유전자와 암유전자가 정상 췌장세포에서 췌장암으로 이행하는 암화과정(carcinogenesis)의 어느 단계에 작용하는 지에 관한 연구도 활발히 진행중이다.

본 연구는 췌장암에서 면역조직화학염색법을 통해 p16 단백 발현의 소실 및 p53 단백의 과발현 정도를 알아보고 이에 따른 임상병리학적 특징 및 생존율과의 관계를 조사하여 p16 유전자와 p53 유전자의 임상적 의의 및 상호 연관성에 대해 알아보고자 한다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 재 료

1990년 3월부터 1999년 4월까지 연세대학교 의과대학 외과학교실에서 췌장암으로 진단 받고 수술 받은 환자를 대상으로 하였다. 이 중 근치적 절제술이 시행되고 병리조직학적으로 췌장선암(pancreatic ductal adenocarcinoma)으로 확진 된 환자를 대상으로 파라핀 포매조직의 이용이 가능하고 추적관찰이 가능했던 44명을 대상으로 하였다.

2. 연구 방법

가. 임상기록 검토

환자들의 임상적 특성과 병리조직학적 특성은 의무기록과 병리기록을 통하여 후향적으로 조사하였다.

나. 면역조직화학적 검색

(1) p16 단백의 면역조직화학염색

각 블록의 5μm 연속절편을 poly-L-lysine이 덮인 슬라이드에 부착하여 50℃에서 1시간 항온시켰다. Xylene에서 파라핀을 제거하고 에틸알콜에서 단계적으로 함수 한 후 methanol 300ml와 과산화수소 10ml로 20분간 전처치하여 내인성 과인산화효소를 포화시켰다. 수세 후 citrate 완충액에 담궈 microwave에서 20분간 가열하고 식힌 후 TRIS 완충액 (pH 7.6)으로 10분간 처리하였다. 1:100으로 희석한 p16항체 (Santa Cruz Biotechnology, Inc, Santa Cruz, CA,

USA)와 4℃에서 하룻밤 반응시켰다. TRIS 완충액으로 세척 후 Universal LSAB peroxidase II kit (Dako, Carpenteria, CA, USA)를 이용하여 염색한 후 diaminobenzidine으로 발색하였다.

(2) p53 단백의 면역조직화학염색

p53의 면역조직화학염색은 p53항체(Novocastra, Benton, NC, UK)를 1:200으로 희석하여 p16단백의 염색과 동일한 방법으로 하였다.

다. 면역조직화학염색 판독

p16, p53에 대한 면역조직화학염색표본을 검경하여 핵이 진한 갈색으로 염색된 경우를 양성으로 판정하였으며, 고배율 시야(x400)에서 병변을 구성하는 세포 1000개 중 양성인 세포의 수를 세어 5%이상 인 경우를 각각 p16, p53 단백 양성으로 하였다.

라. 통계학적 검색

SPSS 프로그램을 이용하여 p16 및 p53 단백의 발현 유무에 따른 비교는 Chi-square test로 하였고, 생존분석은 Kaplan-Meier방법을 이용하였고 Log-Rank test로 검증하였다. p-value가 0.05 이하인 경우를 의의 있는 결과로 간주하였다.

Ⅲ. 결 과

대상환자 44명 중 남자가 30명, 여자가 14명이었고, 평균 연령은 57세(39~75세)였다. 종양의 위치는 췌장 두부가 38예(86.4%), 체부 및 미부에 위치한 경우가 6예(13.6%)였다. 췌장 두부에 위치한 경우가 압도적으로 많은 이유는 근치적 절제가 가능한 경우가 체부나 미부에 발생한 경우보다 두부에 발생한 경우가 많기 때문으로 생각되어진다.

세포 유형은 선암이 41예(93.2%), 점액성 선암이 3예(6.8%)였다. 선암의 경우 분화도에 따르면 분화가 좋은 경우가 6예(14.6%), 중증도가 21예(51.2%), 분화도가 나쁜 경우가 14예(34.2%) 였다.

American Joint Committee of Cancer(AJCC) 기준에 의한 종양의 크기 및 침윤 정도에 따른 분류에 있어서는 T1이 3예(6.8%), T2가 2예(4.5%), T3가 35예(79.6%), T4가 4예(9.1%)로 T3가 압도적으로 많았다. 림프절 전이가 있었던 경우는 19예(43.2%), 없었던 경우는 25예(56.8%)였다. AJCC 기준에 따른 병기는 제 1기가 4예(9.1%), 제 2기가 18예(40.9%), 제 3기가 18예(40.9%), 제 4기가 4예(9.1%)였다(Table 1).

췌장암조직 44예 중 20예(45.5%)에서 면역조직화학염색에 의한 p16단백의 발현이 없었고, p53단백의 경우 14예(31.8%)에서 과발현을 보였다(Fig. 1, 2).

p16단백의 경우, 남자에서는 13예(43.3%), 여자에서는 7예(50.0%)가 음성으로 성별에 따른 차이는 없었다. 조직학적 분화도와 p16단백 발현과의 관계를 보면, 분화가 좋은 경우는 3예(50.0%), 중증도인 경우는 11예(52.4%), 나경우

는 5예(35.7%)에서 음성으로 나와 차이를 발견할 수 없었다. 종양의 크기 및 침윤정도에 따르면, T1이 2예(75.0%), T2가 1예(50.0%), T3가 14예(40.0%), T4가 3예(75%)에서 p16단백 음성으로 나와 역시 차이를 보이지 않았다. 림프절 전이가 없었던 경우는 8예(32.0%), 전이가 있 었던 경우는 12예(63.2%)에

Table. 1. Clinicopathologic characteristics of the 44 patients with pancreatic adenocarcinoma

Parameters	Number (%)
Sex	
Male	30(68.2)
Female	14(31.8)
Location	
Head	38(86.4)
Body/tail	6(13.6)
Cell type	
Ductal adenocarcinoma	41(93.2)
Well	6
Moderate	21
Poor	14
Mucinous adenocarcinoma	3(6.8)
Tumor size and depth of invasion*	
T1	3(6.8)
T2	2(4.5)
T3	35(79.6)
T4	4(9.1)
Lymph node metastasis	
Without	25(56.8)
With	19(43.2)
Stage*	
I	4(9.1)
II	18(40.9)
III	18(40.9)
Iva	4(9.1)
Ivb	0(0.0)

- classified according to the American Joint Committee on Cancer classification

● 서 p16단백 음성을 보여 의의 있는 차이가 있었다(p=0.040). 병기에 따르면 제 1, 2기가 6예(27.3%), 제 3, 4기가 14예(63.6%)에서 p16단백 음성을 보여 의

의 있는 차이를 나타내었다(p=0.015)(Table 2).

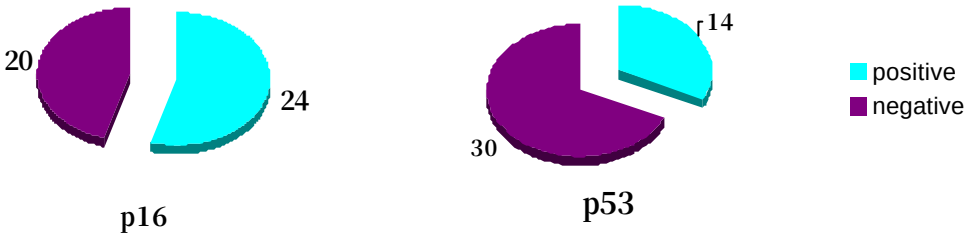
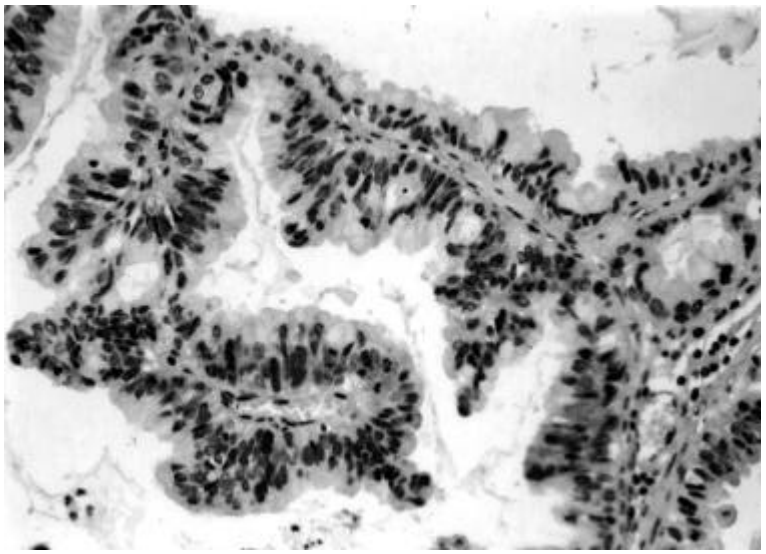


Figure 1. Results of immunohistochemical staining of p16 and p53. Loss of p16 expression was noted in 20 patients (45.5%) and overexpression of aberrant p53 protein was noted in 14 patients (31.8%).

Table 2. Relationship between p16 protein expression and clinicopathologic characteristics in the patients with pancreatic ductal adenocarcinoma

Parameters	p16 protein expression		P - value
	positive	negative	
Sex			0.679
Male	17	13	
Female	7	7	
Differentiation			0.431
Well	3	3	
Moderate	10	11	
Poor	9	5	
Tumor size and depth of invasion			0.488
T1, T2	2	3	
T3, T4	22	17	
Lymph node metastasis			0.040
Without	17	8	
With	7	12	
Stage			0.015
I, II	16	6	
III, IV	8	14	

A.



B.

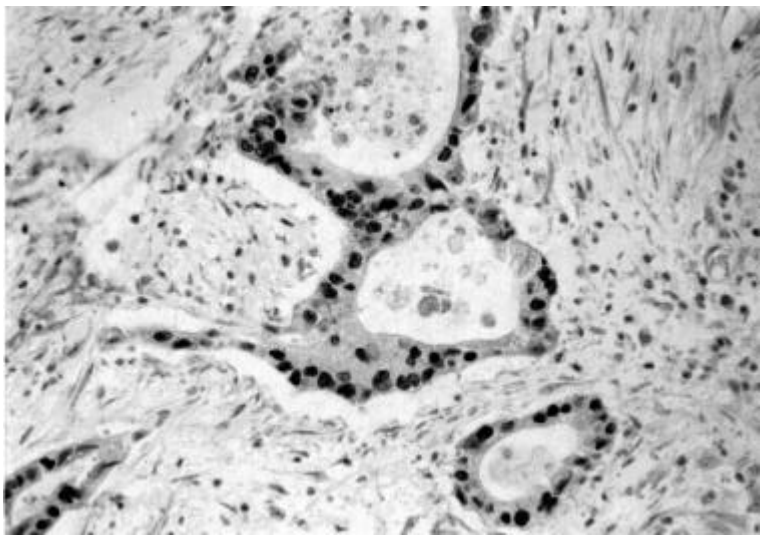


Figure 2. Positive immunohistohemical staining for p16 protein and aberrant p53 protein. A. p16 protein expression in pancreatic ductal adenocarcinoma. B. aberrant p53 protein expression in pancreatic ductal adenocarcinoma(A and B, LSAB x200).

p53단백의 경우, 남자에서는 11예(36.76%), 여자에서는 3예(21.4%)에서 과발현을 보여, 성별에 따른 차이는 없었다. 조직학적 분화도에 있어서는 분화가 좋은 경우에는 p53단백의 과발현을 보인 예가 없었고, 중증도인 경우 7예(33.3%)에서, 분화가 나쁜 경우 7예(50.0%)에서 과발현을 보여 분화가 나쁠수록 p53의 과발현의 빈도가 증가하는 것을 알 수 있었다(p=0.038). 종양의 크기 및 침윤정도, 림프절 전이 유무, 임상병기와 p53단백의 발현은 의의 있는 차이를 보이지 않았다(Table 3).

Table 3. Relationship between aberrant p53 protein expression and clinicopathologic characteristics in the patients with pancreatic ductal adenocarcinoma

Parameters	p53 protein expression		P - value
	positive	negative	
Sex			0.312
Male	11	19	
Female	3	11	
Differentiation			0.038
Well	0	6	
Moderate	7	14	
Poor	7	7	
Tumor size and depth of invasion			0.547
T1, T2	1	4	
T3, T4	13	26	
Lymph node metastasis			0.495
Without	9	16	
With	5	14	
Stage			0.414
I, II	9	13	
III, IV	5	17	

P16단백발현이 없었던 경우의 평균무병생존기간은 21개월이었고, p16단백이 발현된 경우의 평균무병생존기간은 18개월로 의미 있는 차이는 보이지 않았다

(Fig. 3). p53단백은 과발현을 보인 경우가 10개월, 보이지 않은 경우가 24개월로 의미 있는 차이를 보였다(p=0.0209)(Fig. 4).

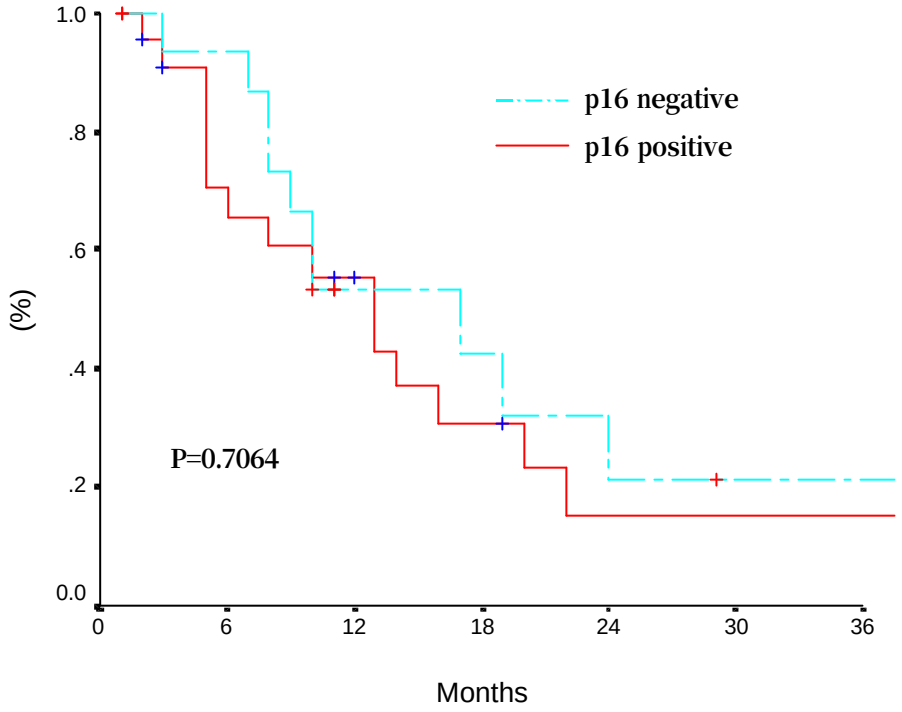


Figure 3. Disease - free survival of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma according to the expression of p16 protein

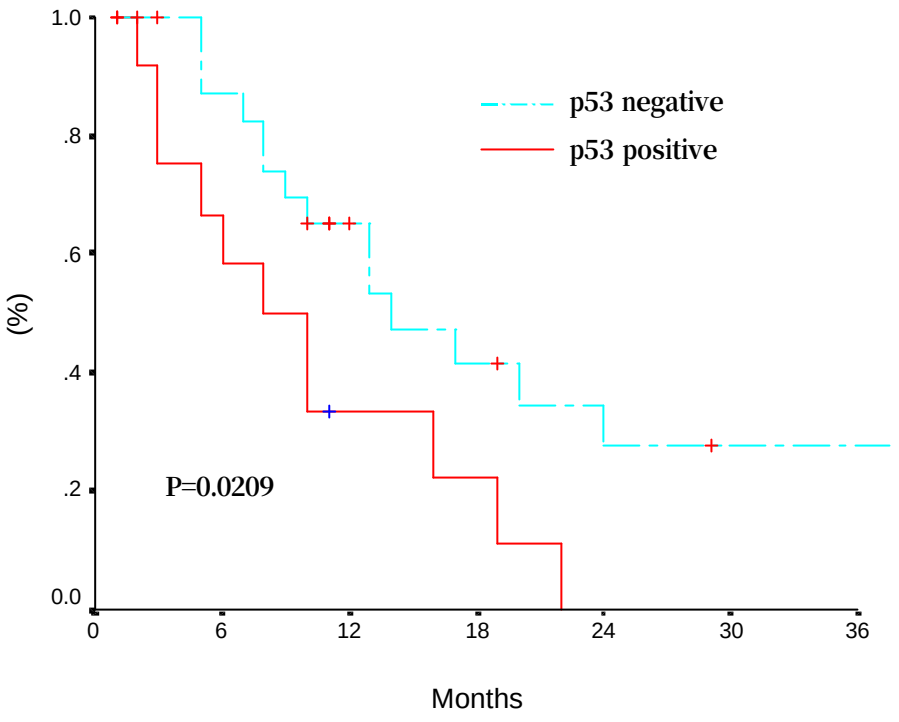


Figure 4. Disease - free survival of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma according to the aberrant expression of p53 protein

Ⅳ. 고 찰

임상 의사들의 많은 노력에도 불구하고 췌장암은 아직까지 예후가 아주 불량한 암 중의 하나이다. 많은 연구들이 진행되었지만, 췌장암이 이런 공격적인 특성을 가지는 이유에 대해서는 아직 알려진 바가 없다. 췌장암을 조기에 진단하여 절제율을 증가시키고 생존율을 올리기 위해서는 췌장암의 병인(pathogenesis)에 대한 이해와 효과적인 조기진단법이 필수적이라 하겠다. 최근 들어 분자생물학의 발달에 힘입어 암의 유전적 측면을 이해하는데 비약적인 발전을 보였다. 암의 유전적 변화를 밝히는 것은 암의 원인을 찾는 것뿐만 아니라 새로운 진단과 치료법을 개발하는데도 중요하다 하겠다.

p16 유전자의 췌장암에서의 돌연변이는 homozygous deletion, 점 돌연변이(point mutation), 또 p16 유전자의 promoter에 존재하는 CpG island의 methylation에 의해 일어난다.[5,8,9] 췌장암에서 p16 유전자의 돌연변이나 p16 단백 발현의 소실 정도는 30~87%정도로 보고자마다 차이가 있는데,[8,10-12] 이는 검사 대상 혹은 검사 방법에 따른 차이라 할 수 있다. 즉, 췌장암 조직을 가지고 조사한 것 보다는 췌장암 세포주(cell line)를 가지고 검사한 경우 더 높은 빈도로 p16 유전자의 돌연변이를 보인 예가 많았고, 또 돌연변이 연구와 면역조직화학염색법에 따라서도 다른 빈도의 결과를 보였다. 본 연구에서는 췌장암의 45.5%에서 p16 단백의 소실을 보여 이전의 보고들과 비슷한 결과를 보였다.

최근 p16 유전자가 췌장암의 암화과정에서 중요한 역할을 할 것이라는 보고가 있었으며, Hu 등[10]은 정상 췌장조직과 만성췌장염, 췌장낭성종양 그리고 췌장

암에서 p16단백발현을 비교하여 만성췌장염과 췌장암 사이에 의미 있는 차이를 보였다고 하였다. Moskaluk 등[13]은 췌장암 조직에서 조기 병변에 해당하는 관내병변(pancreatic intraductal lesion)을 조사하여, K-ras 유전자의 돌연변이가 있는 관내병변의 일부분에서 p16 유전자의 돌연변이가 일어난다고 하였고, 이들 유전자의 돌연변이가 있다는 것은 침윤성 암으로 진행되는 고위험군을 의미한다고 하였다. Wilentz 등[14]은 비슷한 결과를 보고하면서 p16 유전자가 췌장암의 진행과정에서 중요한 역할을 할 것이라 하였다. 그러나 p16 유전자와 임상병리학적 특징이나 생존율과의 관계에 있어서는 보고자마다 다른 결과를 보였다. Bartsch 등[15]은 중간생존기간(median survival time)이 p16 유전자의 돌연변이가 있는 경우는 8.5개월, 없는 경우는 17개월로 의미 있는 차이가 있었다고 보고한 반면, 다른 보고에서는 본 연구결과처럼 p16 유전자와 생존율과는 무관한 것으로 보고하였다.[8,11] 본 연구 결과에서는 p16 단백발현의 소실이 림프절 전이 및 임상 병기와 관련이 있었는데, 문헌상으로는 p16 단백발현의 소실이 조직학적 분화도가 나빠지는 것과 연관이 있다는 보고는 있었으나[10] 림프절 전이나 병기와 관련이 있다는 보고는 찾을 수 없었다. 본 연구에서 병기 분류에 사용한 AJCC 분류법이 제 2병기와 3병기를 나누는데 있어 림프절 전이가 절대적인 역할을 하기 때문에 결과에서 병기 역시 p16 단백발현의 소실과 관련이 있는 것으로 생각된다. 따라서 림프절 전이 조직을 이용한 추가적인 연구가 의미가 있을 것으로 사료된다.

췌장암에서 p53 유전자의 돌연변이는 점돌연변이나 heterozygosity의 소실(loss of heterozygocity)에 의해 대부분 일어난다.[2] 정상형 p53 단백의 반감기

는 10~20분 정도로 짧은데 비해 돌연변이형 p53 단백은 반감기가 수 시간 또는 그 이상으로 연장되므로 monoclonal antibody를 이용한 면역조직화학염색법으로 쉽게 검출된다.

췌장암에서 p53 유전자의 돌연변이나 p53단백의 과발현은 대개 37~76%정도로 보고되고 있으며,[8,11,12,16-24] 본 연구에서 31.8%로 이전의 보고에 비해 낮은 결과를 보였다. p53 유전자 역시 세포주기에 관여하는 유전자로 췌장암의 암화과정에서 중요한 역할을 할 것이라는 보고들이 있다. Zhang 등[23]은 관내 유두상 선암(intraductal papillary adenocarcinoma)에서 p53 단백의 과발현을 보이기 때문에 p53 유전자의 변이는 췌장암의 암화과정에서 비교적 조기에 일어나는 변화일 것이라 하였고, Ruggeri 등[18]도 같은 의견을 제시하였다. 그러나 p53 유전자의 돌연변이 유무와 췌장암의 임상병리학적 특성 및 생존율과의 상관관계에 대한 보고는 일관되지 않다. 일반적으로 p53 유전자의 돌연변이와 임상병리학적 특성과는 연관이 없다는 보고가 많으며,[8,11,17-20,23] Yokoyama 등[24]이 임상 병기와 관계가 있다고 보고하였다. 본 연구에서는 조직학적 분화도가 나빠질수록 p53 단백의 과발현 정도가 증가했다. 종양에서 조직학적 분화도가 나빠질수록 p53 단백의 발현이 증가하였다는 보고도 있고, p53 유전자가 세포주기를 관장하기 때문에 세포분화와 관련이 있을 가능성은 충분하다고 보여지며, 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 사료된다. 생존율에 있어서 Yokoyama 등[24]과 Nakamori 등[21]은 본 연구결과와 같이 p53 단백의 과발현을 보인 경우 생존율의 저하를 보인다고 하였다. 그러나 생존율과 무관하다는 보고도 많이 있었는데, 이는 대상환자 선정에 있어 기준이 연구마다 달랐기 때문으로 생각되며, 더

많은 환자를 대상으로 하는 통제된 연구(controlled study)가 필요할 것으로 사료된다.

p16 유전자와 p53 유전자가 동시에 변이를 일으키는 경우가 췌장암환자의 많은 예에서 관찰된다고 하였는데[25], Naumann 등[26]은 췌장암의 77%에서 p16 유전자나 p53 유전자의 변이를 볼 수 있다고 하였다. 본 연구에서는 결과에 언급하지는 않았으나, p16 단백 발현의 소실과 p53 단백의 과발현을 동시에 보인 경우는 6예(13.6%)에서 있었고, 둘 중 하나라도 보인 경우는 28예(63.6%)였다. 하지만 p16 단백 발현의 소실과 p53 단백의 과발현을 동시에 보인 경우가 임상적 의의를 가지거나 생존율에 영향을 미치지는 않았다. 그러나 p16, p53 유전자 뿐만이 아니라 K-ras, DPC4 등 많은 유전자들이 췌장암과 관련이 있다고 보고되고 있고, 또 췌장암 발생과정에 있어 이런 유전자들의 상호 작용들에 대해서도 보고되고 있어 암화과정에서 단계별로 여러 유전자가 관여한다는 유전적 모델이 췌장암에서도 적용이 가능하다 하겠다. 따라서 p16, p53 유전자 외에도 다른 종양억제 유전자나 암유전자에 대한 연구가 이루어져 암화 과정에 관여한다고 알려진 유전자들의 임상적 의의를 밝히는 것이 췌장암의 치료성적을 올리는 데 기여할 것으로 사료된다.

V. 결 론

췌장암에서 p16 단백 발현의 소실 및 p53 단백의 과발현과 임상병리학적 특성 및 생존율과의 관계를 면역조직화학염색방법을 통해 알아보았다. p16 단백 발현의 소실은 45.5%에서 있었고, 림프절 전이와 임상 병기와 의미있는 연관성을 보였다. p53 단백의 과발현은 31.8%에서 있었고 조직학적 분화도가 나쁠수록 과발현이 의미있게 증가되는 것을 볼 수 있었고 p53 단백의 과발현이 있는 경우에 무병생존율이 의의있게 낮은 것을 알 수 있었다. 본 연구는 세포주기에 관여하는 종양억제유전자 중 대표적인 두 유전자의 췌장암에의 임상적 의의를 알아본다는 데 그 의의가 있다고 하겠다. 본 연구 결과로 p16 유전자와 p53 유전자가 췌장암에서 예후인자라고 말하기는 어려우나, 췌장암의 진행과정에 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있었다.

아직까지 치료가 힘든 암으로 남아있는 췌장암의 치료성적을 올리기 위해서는, p16, p53 유전자 외에도 다른 종양억제 유전자나 암유전자에 대한 연구가 더 많은 환자를 대상으로 이루어져 암화 과정에 관여한다고 알려진 유전자들의 임상적 의의를 밝히는 것이 중요하다고 하겠다.

참고문헌

1. 대한민국 보건복지부. 한국인 암등록 조사 자료 분석보고서 (1997.1.1~1997.12.31);1999.
2. Yeo CJ, Cameron JL. Pancreatic cancer. Current Problems in Surgery 1999;36(20);66 - 152.
3. Crist DW, Cameron JL. The current status of the Whipple operation for periampullary carcinoma. Adv Surg 1992;25:21 - 49.
4. Fernandez - delCastillo C, Rattner DW, Warshaw AL. Standards for pancreatic resection in the 1990s. Arch Surg 1995;130:295 - 300.
5. Caldas C, Hahn SA, da Costa LT, Redston MS, Schutte M, Seymour AB, et al. Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16(MTS1) gene in pancreatic adenocarcinoma. Nat Genet 1994;8:27 - 32.
6. Redston MS, Caldas C, Seymour AB, Hruban RH, da Costa L, Yeo CJ, et al. p53 mutations in pancreatic carcinoma and evidence of common involvement of homocopolymer tracts in DNA microdeletions. Cancer 1996;54:3025 - 33.
7. Goggins M, Schutte M, Lu J, Moskaluk CA, Weinstein CL, Peterson GM, et al. Germline BRCA2 gene mutations in patients with apparently sporadic pancreatic carcinomas. Cancer Res 1996;56:5360 - 4.

8. Rozenblum E, Schutte M, Goggins M, Hahn SA, Panzer S, Zahurk M, et al. Tumor-suppressive pathways in pancreatic carcinoma. Cancer Res 1997;57:1731-4.
9. Huang L, Goodrow TL, Zhang S, Klein-Szanto AJP, Chang H, Ruggeri BA. Deletion and mutation analyses of the p16/MTS1 tumor suppressor gene in human ductal pancreatic cancer reveals a higher frequency of abnormalities in tumor derived cell lines than in primary ductal adenocarcinomas. Cancer Res 1996;56:1137-41.
10. Hu YX, Watanabe H, Ohtsubo K, Yamaguchi Y, Ha A, Okai T, et al. Prequent loss of p16 expressionand its correlation with clinicopathological parameters in pancreatic carcinoma. Clin Cancer Res 1997;3:1473-7.
11. Kawesha A, Ghaneh P, Andren-Sandberg A, Ograed D, Skar R, Dawiskiba S, et al. K-ras oncogene subtype mutations are associated with survival but not expression of p53, p16INK4A, p21WAF-1, cyclin D1, erbB-2 and erbB-3 in resected pancreatic ductal adenocarcinoma. Int J Cancer 2000;89:469-74.
12. Eskelinen MJ, Haglund UH. Prognosis of human pancreatic adenocarcinoma: review of clinical and histopathological variables and possible uses of new molecular methods. Eur J Surg 1999;165:292-306.
13. Moskaluk CA, Hruban RH, Kern SE. p16 and K-ras gene mutations in the intraductal precursors of human pancreatic adenocarcinoma.

Cancer Res 1997;57:2140 - 3.

14. Wilentz RE, Geradts J, Maynard R, Offerhaus GJA, Kang Mgoggins M, et al. Inactivation of the p6(INK4A) tumor - suppressor gene in pancreatic duct lesions: loss of intranuclear expression. Cancer Res 1998;58:4740 - 4.
15. Bartsch D, Shevlin DW, Callery MP, Norton JP, Wells Jr SA, Goodfellow PJ. Reduced survival in patients with ductal pancreatic adenocarcinomas associated with CDKN2 mutation. J Natl Cancer Inst 1996;88:680 - 2.
16. Sakorafas GH, Tsiotou AG, Tsiotos GG. Molecular biology of pancreatic cancer; oncogenes, tumour suppressor genes, growth factors, and their receptors from a clinical perspective. Cancer Treat Rev 2000;26:29 - 52.
17. Dergham ST, Dugan MC, Kucway R, Du W, Kamarauskiene DS, Vaitkevicius VK. Prevalence and clinical significance of combined K - ras mutation and p53 aberration in pancreatic adenocarcinoma. Int J Pancreat 1997;21;127 - 43.
18. Ruggeri BA, Huang L, Berger D, Chang H, Klein - Szanto AJP, Goodrow T, et al. Molecular pathology of primary and metastatic ductal pancreatic lesions. Cancer 1997;79(4):700 - 16.
19. Gansauge F, Gansauge S, Schmidt E, Muller J, Beger HG. Prognostic

significance of molecular alterations in human pancreatic carcinoma – an immunohistological study. Langenbeck's Arch Surg 1998;383:152-5.

20. Nio Y, Dong M, Iguchi C, Yamasawa K, Toga T, Itakura M, et al. Expression of Bcl-2 and p53 protein unresectable invasive ductal carcinoma of the pancreas: effects on clinical outcome and efficacy of adjuvant chemotherapy. J Surg Oncol 2001;76:188-96.
21. Nakamori S, Yashima K, Murakami Y, Ishikawa O, Ohigashi H, Imaoka S, et al. Association of p53 gene mutations with short survival in pancreatic adenocarcinoma. Jpn J Cancer Res 1995;86:174-81.
22. Campani D, Boggi U, Cecchetti D, Esposito I, Ceccarelli F, D'Antonio L, et al. p53 overexpression in lymph node metastases predicts clinical outcome in ductal pancreatic cancer. Pancreas 1999;19:26-32.
23. Zhang SY, Ruggeri B, Agarwal P, Sorling AF, Obara T, Ura H, et al. Immunohistochemical analysis of p53 expression in human pancreatic carcinomas. Arch Pathol Lab Med 1994;118:150-4.
24. Yokoyama M, Yamanaka Y, Friess H, Buchler M, Korc Murray. P53 expression in human pancreatic cancer correlates with enhanced biological aggressiveness. Anticancer Res 1994;14:2477-84.
25. Pancreas Club Meeting. May 19, 1996, San Francisco, California. Am J Surg 1997;173:153-8.

26. Naumann M, Savitskaia N, Eilert C. Frequent codeletion of p16/MTS1 and p15/MTS2 and genetic alterations in p16/MTS1 in pancreatic tumors. Gastroenterology 1996;110:1215 - 24.

Abstract

Clinical significance of loss of p16 protein expression and aberrant expression of p53 protein in pancreatic cancer

Joon Jeong

Department of Medicine

The Gradate School, Yonsei University

(Directed by Professor Hoon Sang Chi)

Pancreatic cancer has a very poor prognosis, mainly due to low resection rate and late diagnosis. A better understanding and the pathogenesis of pancreatic cancer and more effective screening technique are required to increase respectability and to improve survival rate. Knowledge about genetic and molecular alteration may suggest new methods to diagnose, detect and treat pancreatic cancer. Forty - four formalin - fixed, paraffin - embedded specimens of pancreatic ductal adenocarcinoma were investigated immunohistochemically with monoclonal anti - p16 antibodies

and monoclonal anti-p53 antibodies. Loss of p16 expression was noted in 20 cases (45.5%) and aberrant p53 protein expression was detected in 14 cases (31.8%). Loss of p16 expression was significantly correlated with lymph node metastasis (Without versus With, p= 0.040) and clinical stage (stage I, II versus III, IV, p=0.015). There was no significant correlation between p16 expression and survival time. The p16 negative group showed higher incidence of lymph node metastasis (p=0.040) and more advanced stage (p=0.015) than the p16 positive groups. Aberrant p53 protein expression was correlated with histologic grade (p=0.038). In aberrant p53 protein positive group, disease-free survival rate was significantly lower than aberrant p53 protein negative group (p=0.029). We cannot regard p53 as a prognostic factor of pancreatic carcinoma, but according to the above results, p16 and p53 genes have important roles in the progression of pancreatic ductal adenocarcinoma.

Key words : pancreatic carcinoma, p16, p53, immunohistochemical staining