

단독 방사선치료를 받은 병기 IIB 자궁경부 편평상피암에서 Apoptosis와 p53 단백질 발현의 임상적 의의

연세대학교 의과대학 ¹치료방사선과학교실, ²병리학교실, ³산부인과학교실

정은지¹ · 김귀연¹ · 성진실¹ · 양우익² · 김영태³ · 서창욱¹

Clinical Significance of Apoptosis and p53 Protein Expression in Stage IIB Squamous Cell Carcinoma of the Cervix Treated with Radiotherapy Alone

Eun Ji Chung, M.D.¹, Gwi Eon Kim, M.D.¹, Jinsil Seong, M.D.¹, Woo Ick Yang, M.D.²
Young Tae Kim, M.D.³ and Chang Ok Suh, M.D.¹

Departments of ¹Radiation Oncology, ²Pathology and ³Obstetrics and Gynecology,
¹Yonsei Cancer Center, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: The purpose was to investigate the spontaneous apoptotic index (SAI) and p53 protein expression and to identify the role of SAI and p53 protein positivity.

Materials and Methods: Forty six patients with squamous cell carcinoma of the cervix, FIGO stage IIB, treated with curative radiotherapy alone between 1990 and 1993 were included in this study. Definitive radiotherapy including external beam and high-dose-rate brachytherapy was given. Pretreatment paraffin-embedded biopsy specimens of those patients were scored for apoptosis and p53 protein expression using mouse monoclonal antibody (DO-7) by immunostaining. Clinicopathologic characteristics were also studied in relation to SAI and p53 protein expression, and as prognostic factors for clinical outcome.

Results: SAI and p53 were not related to any clinical characteristics. The range of the SAI was 0.2~4.7% (median 1.1%, mean 1.5%). The rate of p53 protein expression was 65.2% (30/46). Patients whose tumors had high SAI and low p53 protein positivity had better treatment outcome than those with lower SAI. There was also a significant correlation between the SAI and p53 protein expression.

Conclusion: The pretreatment SAI and p53 oncoprotein expression are clinically useful in predicting the clinical outcome of FIGO stage IIB squamous cell carcinoma of the uterine cervix patients treated with definitive radiotherapy.

Key Words: Cervix neoplasm, Radiotherapy, Apoptosis, p53 protein

서 론

자궁경부암에서 방사선치료는 모든 병기에서 비수술적인 근치적 치료방법으로 매우 유용하게 사용할 수 있으며 방사선량은 정상조직의 부작용을 최소화하면서 종양의 국소제어를 최대화 할 수 있도록 조절하여 치료하고 있다. 만약 치료 전에 종양의 방사선민감성(radiosensitivity)에 대해 예측할 수 있다면 방사선치료선량을 조절할 수 있고, 수술 및 항암화학요법 등의 다른 치료법을 선택해 볼 수도 있을 것이다.

최근 종양학 분야에서 아포토시스는 예후인자 및 반응 예측인자로서 많이 연구되고 있고 악성 종양에서 발견되는 apoptosis는 방사선조사 전 후에 모두 관찰할 수 있으며, 치료하지 않은 종양조직에서 발견되는 spontaneous apoptosis가 임상적으로 유의한 방사선반응 예측인자가 될 수 있다는 보고들이 있다(1~4). 여러 가지 동물실험을 통해 기초적인 apoptosis 양과 방사선에 대한 종양의 반응 정도와의 관계성이 밝혀짐에 따라 실제로 임상에서 암 환자 치료에 앞서 spontaneous apoptotic index (SAI)를 미리 측정하여 이를 방사선치료나 항암화학요법에 대한 종양 반응의 예측인자로 발전시킬 수 있는지에 관한 연구들이 시행되었으나 자궁경부암의 경우는 이전에 시행되었던 두개의 연구결과가 서로 상반되었다(5,6).

Apoptosis의 p53 의존적 경로가 밝혀지면서 p53 단백질 발현과 apoptosis는 여러 종양에서 상호 연관성이 깊은 것으로 연구되었지만 근래에는 p53 비의존적인 경로를 통해서도 apoptosis가 일어날 수 있다는 사실이 보고되었다(7,8). 자궁경부암에서도 항암화학요법 전 후에 종양 조직의 apoptosis와 p53 단백질 발현도를 조사해 본 결과, 항암화학요법에 대한 반응도와 p53 단백질 발현 뿐 아니라 p53 단백질 발현과 apoptosis가 밀접한 관련성이 있었으며, 항암화학요법제의 세포독성 효과는 p53을 매개로 하는 apoptosis를 활성화한다는 가설을 입증한 연구도 있었다(2,9,10). 침습성 자

궁경부암에서 p53 단백질 발현도는 다양하게 보고되며, p53이 중요한 예후인자가 되는지에 관해서도 연구자에 따라 다르게 주장되었다(10,11).

본 연구에서는 자궁경부암 중 호발 조직형인 편평상피암 중에서, 근치적 방사선치료 환자의 다수를 차지하는 FIGO 병기 IIB 환자를 대상으로 방사선치료 전 자궁경부 종양조직의 spontaneous apoptosis 및 p53 단백질 발현 정도를 측정하고 이를 방사선치료의 임상결과와 비교 분석하여 예측인자로서의 임상적인 유용성이 있는지 연구하고자 한다.

재료 및 방법

1) 임상적 재료

1990년 1월부터 1993년 6월까지 연세의료원 연세암센터 방사선종양학과에서 자궁경부암으로 근치적 방사선치료를 받은 FIGO 병기 IIB 환자는 총 150명이었으며 이중 63명은 방사선치료와 더불어 항암화학요법을 시행받아 제외되었고, 39명은 자궁경부 조직검사를 타 병원에서 시행받아 종양 조직을 확보할 수 없어 제외되었다. 나머지 48명의 파라핀 포매조직을 본원 병리과에서 찾아 다시 H&E 염색을 시행하고 재검사한 결과 1명은 microinvasive carcinoma, 1명은 종양 세포가 100개 미만으로 적어 대상에서 제외시켰으며 나머지 46명만 연구대상으로 하였다. 의무 기록 및 방사선 필름을 기준으로 연령, 종양의 크기, 종양의 형태(exophytic type 혹은 infiltrative type), 혈색소 수치, 림프절 전이 유무, 방사선치료량과 방법, 방사선치료에 대한 반응, 치료종료 후 추적관찰 기간 동안에 발생한 국소재발 및 원격전이 등을 조사하였다.

외부 방사선치료는 선형가속기 10 MV X-선을 이용하여 일일 1.8~2.0 Gy씩 4문 대향으로 전 골반에 44~55 Gy (중앙치 50.4 Gy) 시행하였고 30~45 Gy (중앙치 36 Gy)에서 4×10 cm의 중앙차폐를 시행하고 그 후에는 AP/PA 2문 대향으로 치료하였다. 외부 방사선치료 후 고선량을 강내 방사선치료로 Co-60 RAL-303 (remote afterloading system)을 이용한 경우는 point A에 1회당 3 Gy씩 주

3회로 총 30~48 Gy (중앙치 39 Gy)가 조사되었으며 Ir-192 (Gammamed 12i[®])로 치료한 경우는 point A에 1회당 5 Gy씩 주 2회로 총 30~40 Gy (중앙치 30 Gy) 조사되었다. Point A에 조사된 총 방사선량은 65~79 Gy (중앙치 75 Gy)이었다.

추적관찰은 정기적으로 처음 2년은 3개월 간격, 그 이후는 6개월 간격으로 시행되었고, 추적관찰 기간은 최소 40개월로 범위는 40~110개월(중앙치 65개월)이었다. 치료반응은 치료종료 직후 및 치료종료 1개월 후 골반 진찰 시 판정하였으며 국소제어율 및 생존율은 방사선치료 시작일을 기준으로 계산하였다.

2) Apoptosis 관찰

광학현미경적 검사를 위해 이미 파라핀에 포매된 조직을 4 μ m 두께의 절편으로 만든 후 H&E 염색을 시행하였다. 각 환자에 대한 임상 정보는 전혀 없이 H&E 염색 조직 표본에서 조직의 분화도를 판독하였으며, 400배 광학현미경 하의 한 시야에서 그리드 내에 포함된 종양 세포를 최소 100~150개 정도 확인하고 이 중 apoptotic body 수를 센다. 이런 방법으로 최소 10개 이상의 무작위 시야에서 종양 세포를 세어 최소 1,000~1,500개 이상의 종양 세포에서 apoptotic body 수를 세었다. 이런 과정을 환자의 절편 당 3회 시행하여 오차를 최소화하였다.

3) p53 단백질의 면역조직화학 검사

조직절편을 항온기에서 56~58°C로 가온시킨 후 크실렌과 알코올에 처리하여 파라핀을 제거하고 충분히 수세하였다. 항원 retrieval을 위해 조직절편을 0.01 M sodium citrate buffer (pH 6.0)에 담가 전자렌지에 끓인 후(800 W, 5분씩 2회) 상온에서 서서히 식힌 후 3% 과산화수소에 10분간 처리하여 내인성 과산화효소(endogeneous peroxidase) 활성을 억제시킨다. 그 후 인산염 완충액(PBS, phosphate-buffered saline)에 2~3회 세척한다. 1차 및 2차 항체에 대한 비특이적 결합을 억제하기 위해 protein blocking agent (Universal LSAB kit,

DAKO, Carpinteria, CA)에 실온에서 20분간 작용시킨 후 일차항체 p53 mouse monoclonal antibody clone DO7 (Novacastra laboratories, Newcastle, UK)을 dilution buffer에 1 : 100으로 희석하여 4°C에서 하룻밤 동안 반응시킨다. PBS로 수세한 후 Biotin 결합 이차항체(Biotinylated anti-rabbit and anti-mouse IgG antibody)를 30분간 반응시킨 다음 PBS로 수세하고 과산화효소가 결합된 streptavidin 용액을 다시 30분간 반응시킨다. 과산화수소의 기질로서 AEC 색소용액(3-amino-9-ethyl-carbazole in N,N-dimethyl formamide)에 5~10분간 발색 반응을 거쳐 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색한 후 crystal mount로 봉입하여 광학현미경으로 관찰한다. 400배 광학현미경에서 전체 종양세포를 최소 1,000개 이상(10시야 이상) 세고 이 중에 세포의 핵이 붉게 염색된 p53 단백질 발현이 양성인 종양세포를 세어 양성률을 백분율로 구한다. 한 슬라이드에서 같은 과정을 3회 반복하여 세어서 평균을 내어 오차를 줄인다. p53 단백질 발현의 양성도 평가는 5% 미만은 (-), 5% 이상 30% 미만은 (+), 30% 초과는 (++)로 분류하였다.

4) 통계적 처리

SAI와 p53 단백질 정도는 3회의 count를 ANOVA test를 이용하여 비교하였고 chi-square test로 각 군의 차이를 비교하였다. 방사선치료 후의 5년 국소제어율 및 5년 생존율은 방사선치료 시작 시점부터 최후 추적관찰시 혹은 사망시까지를 기준으로 하여 Kaplan-Meier 방법으로 구하고 Log-rank test를 이용한 단변량법으로 비교하였으며, 전진법의 Cox-regression 다변량분석을 시행하여 유의한 인자를 찾고자 하였고, SAI와 p53 단백질 발현도는 Pearson's correlation 방법을 이용하여 상관성을 검증하였다. 통계처리는 SPSS 7.5 프로그램을 이용하였다.

결 과

1) 대상환자의 임상적 특성

진단 시 환자의 연령은 31~83세(중앙치 54세)

였으며 이전에 방사선치료나 항암화학요법을 시행받은 과거력은 없었다. 자궁경부 종양의 크기는 2~7 cm (중앙치 4 cm)이었고, 돌출형(exophytic type) 18명, 침습형(infiltrative type)이 28명이었다. 진찰상 한쪽 자궁옆조직(parametrium) 침범이 25명, 양쪽 자궁옆조직 침범이 21명에서 있었으며 내측과 외측 자궁옆조직 침범 정도는 의무기록상으로는 정확하게 확인하기 어려웠다. 조직학적 유형은 46명 모두 대세포 편평상피암종(large, non-keratinizing squamous cell carcinoma)이었으며 분화도는 모두 중등도 이상이었다. 병기 결정시 전 환자에서 기초 검사로 복부 및 골반 컴퓨터 단층촬영을 시행하였는데 골반 림프절이나 대동맥 림프절 종대 소견을 보인 환자는 없었다. 진단 시 혈색소는 8.2~14.5 g/dl (평균 11.8 g/dl)였고 방사선치료 전 혈색소가 낮은 환자에서는 수혈 후 혈색소를 9.5 g/dl 이상으로 증가시킨 후 방사선치료를 시행하였다.

2) Spontaneous Apoptotic Index (SAI) 및 p53 단백질 발현 결과

자궁경부 조직을 H&E 염색한 각 슬라이드에서 apoptotic body를 각각 3회씩 세어서 평균하였고 ANOVA test로 비교하였다. SAI의 범위는 0.2~4.7%로 평균치는 1.5±0.3% (3회의 평균은 각각 1.4±0.3%, 1.5±0.2%, 1.5±0.3%)이었고 중앙치는 1.1±0.2% (3회의 평균은 각각 1.1±0.1%, 1.1±0.2%, 1.2±0.2%)였다. 중앙치인 1.1%를 중심으로 두 군으로 나누어 몇 가지 인자들에 대해 두 환자군의 분포를 chi-square test로 비교해 보았을 때 양군 간에 차이가 없었다(Table 1). p53 단백질 발현은 46명 중 30명에서 5% 이상 양성인 것으로 판정되어 p53 단백질 발현도는 65.2%, 양성도는 0.2~87.6% (평균치 32.0%, 중앙치 22.1%)로 범위가 상당히 넓게 분포하였다. 양성도 5% 미만인 (-)에 16명, 5~30%인 (+)에 10명, 30% 초과인 (++)에 20명이 속하였고 세 군에 따라 치료결과를 비교해 보았다.

Table 1. Comparison of the number of patients whose spontaneous apoptotic index (SAI) was low or high according to tumor size, tumor shape, parametrial extension and p53 protein expression

Characteristics	SAI* < 1.1% (n=22)	SAI ≥ 1.1% (n=24)	P
Tumor size			0.2341
< 4 cm	7 (31.8%)	12 (50.0%)	
≥ 4 cm	15 (68.2%)	12 (50.0%)	
Tumor shape			0.0963
exophytic	11 (50.0%)	7 (29.2%)	
infiltrative	11 (50.0%)	17 (70.8%)	
Parametrial extension			0.7157
ipsilateral	12 (54.5%)	13 (54.2%)	
bilateral	10 (45.5%)	11 (45.8%)	
p53 protein expression			0.8579
(-)	9 (40.9%)	7 (29.2%)	
(+)	5 (22.7%)	5 (20.8%)	
(++)	8 (36.4%)	12 (50.0%)	

*spontaneous apoptotic index

3) SAI 및 p53 단백질 발현 양성도와 치료결과 비교

46명 중 43명에서 방사선치료 후 종양의 완전 관해를 보였고 3명만이 부분관해를 보였는데 이들의 SAI값은 각각 0.5, 0.8, 0.9%로 중앙치인 1.1% 미만인 환자군에 속하였다. p53 단백질 발현의 양성도에 따라서는 방사선치료 후 부분관해였던 3명 중 1명은 (+)군, 2명은 (++)군에 속하였다. 방사선치료 후 추적 관찰 중 치료실패 양상은 10명에서 국소재발(9명: 국소재발 단독, 1명: 국소재발+원격전이)이 있었고 1명은 원격전이만 발생하였다. 국소재발 환자 분포를 SAI치와 비교하여 보면 10명 중 8명이 1.1% 미만이고 2명은 1.1% 이상 군에 속하였으며, p53 단백질 발현 (-)군에서는 1명, 양성도 (+)군에서는 2명(1명은 원격전이 동반), (++)군에서는 7명에서 국소재발이 발생하여 p53 단백질 양성도가 높을수록 재발이 호발하는 양상을 확인하였으나 환자 수가 적

Table 2. 5-year local control, 5-year overall survival and disease-free survival rates by tumor size, tumor shape, parametrial extension, spontaneous apoptotic index (SAI) and p53 protein expression

Variables	LCR* (%)	p	OSR [†] (%)	p	DFSR [‡] (%)	p
Tumor size		0.3754		0.0697		0.6599
< 4 cm (n=19)	84.2		94.7		79.0	
≥ 4 cm (n=27)	77.4		74.1		77.4	
Tumor shape		0.8718		0.4616		0.9022
exophytic (n=18)	77.8		77.8		77.8	
infiltrative (n=28)	81.6		85.6		78.0	
Parametrial extension		0.7981		0.4925		0.8642
ipsilateral (n=25)	81.0		77.8		81.0	
bilateral (n=21)	79.2		82.1		76.2	
SAI [§]		0.0167		0.0127		0.0505
< median (n=22)	67.4		68.2		67.4	
≥ median (n=24)	91.7		95.8		87.5	
p53 protein expression		0.0357		0.1411		0.0141
(-) (n=16)	93.8		93.8		93.8	
(+) (n=10)	88.9		90.9		88.9	
(+ +) (n=20)	65.0		70.0		60.0	

*5-year local control rate, [†]5-year overall survival rate, [‡]5-year disease-free survival rate, [§]spontaneous apoptotic index

어 통계적인 유의성은 없었다.

예후에 영향을 미치리라 생각되는 인자인 종양의 크기, 형태, 자궁옆조직 침범, SAI 및 p53 양성도에 따라 5년 국소제어율, 5년 생존율, 5년 무병생존율을 분석해 보았다. 전체 대상환자 46명의 5년 국소제어율은 80.6%, 5년 생존율은 80.1%, 5년 무병생존율은 77.9%였다. 종양 크기 중앙치인 4 cm을 기준으로 하였을 때 양 군의 예후에 차이 없었으나, SAI 중앙치를 기준으로 분류한 두 군의 비교에서는 5년 국소제어율, 5년 생존율 및 5년 무병생존율이 SAI가 낮은 환자군에서 예후가 불량함을 알 수 있었다(Table 2). 5년 국소제어율과 5년 무병생존율은 p53 단백질 발현 양성도가 높을수록 불량하였으며, 5년 생존율도 p53 단백질 발현 양성도가 증가할수록 불량한 양상이었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 2). 5년 국소제어율, 5년 생존율 및 5년 무병생존율에 영향을 미치는 예후인자들에 대해 전진법의 Cox-regression 다변량분석 결과, 5년 국소제어율에서

Table 3. Multivariate analysis of 5-year local control rate, 5-year overall survival rate and 5-year disease-free survival rate (Cox-regression)

Variables	LCR* p-value	OSR [†] p-value	DFSR [‡] p-value
Tumor size	0.9146	0.6087	0.0549
Tumor shape	0.6490	0.7090	0.5568
Parametrial extension	0.1952	0.2574	0.2351
SAI	0.0986	0.0017	0.0547
p53 protein expression	0.0875	0.0082	0.0078

*5-year local control rate, [†]5-year overall survival rate, [‡]5-year disease-free survival rate

는 유의한 인자가 없었지만 5년 생존율에서는 SAI (p=0.0017)와 p53 단백질 양성도(p=0.0082)가 의미 있었고, 5년 무병생존율에서도 p53 단백질 양성도(p=0.0078)가 의미 있는 예후인자로 나타났으며 SAI도 유의성에 근접하는 인자였다(p=0.0547) (Table 3). SAI와 p53 단백질 발현 양성도의 관계

를 Pearson 상관계수로 분석하였을 때 상관계수가 0.317이었으며 유의확률이 $p=0.05$ 수준에서 두 요인이 상호 상관성이 있음이 확인되었다.

고 찰

종양의 방사선민감도에 영향을 미치는 여러 가지 요인들을 설명하려는 많은 연구가 여러 방향에서 진행되고 있는데 세포 주기와 관련된 기전, 종양자체의 분화 정도, 종양유전자의 활성화도, apoptosis 정도 등이 활발히 연구되는 주제이다(12, 13). 그러나 이러한 요인들도 다른 부위, 상이한 조직형인 여러 종양의 다양한 방사선민감도를 충분히 설명하지는 못하는 실정이다.

세포사의 기전 중 중요한 기전의 하나인 apoptosis는 정상 세포 뿐만 아니라 종양 세포에서 관찰되고, 방사선조사 및 항암화학치료 전 후에 관찰되므로(14) 자궁암 뿐 아니라 다른 여러종양에서 SAI가 임상적으로 유의한 예측인자가 될 수 있다는 보고들이 있다(1~4). 자궁경부암에서 근치적 방사선치료시 치료 전의 SAI가 방사선반응의 예측인자가 될 수 있다는 영문보고가 현재까지 두개 있다(5,6). Levine등(5)은 66명의 자궁경부암 환자를 대상으로 AI (apoptotic index) 및 다른 생물학적 인자들(SF-2 등)에 대해 조사하였는데 AI 중앙치가 0.48% (범위 0~3.57%, 평균 0.77%) 이었고, AI치가 중앙치보다 큰 환자군이 5년 국소 제어율(61% vs. 79%, $p=0.012$) 및 5년 생존율(47% vs. 79%, $p=0.003$)이 유의하게 불량하여 SAI를 방사선치료 반응의 예측인자로 고려할 수 있다고 주장하였다. 반면 Wheeler등(6)은 자궁경부 선암, 병기 IB, 종양크기가 4 cm 이상인 환자에서 SAI를 측정하여 예후와 비교하였는데 SAI의 범위는 0.2~10.9% (중앙치 2%, 평균 2.5%)였으며 중앙치인 2%를 기준으로 이보다 높은 SAI 환자군에서 5년 생존율이 양호하여($p=0.056$) 전자의 연구와는 오히려 상반되는 결과를 보고하였다. 본 연구에서는 SAI가 높은 환자군에서 예후가 양호한 결과를 보였으므로, 조직형은 편평상피암이고 병기도 IIB

로 상이하였으나 후자의 결과와 비슷하였다. 두 연구에서 대상 환자의 조직학적 유형, 병기 분포, 방사선치료방법 등의 차이로 인해 서로 상반된 결과가 나올 수도 있겠으나 각 연구에서 사용된 종양 조직은 자궁경부암 종양 전체가 아닌 일부 종양조직의 한 절편에 국한된 현상이므로 이런 일부 세포의 특성이 전체 종양의 생물학적 특성과 일치할 수는 없다고 판단되며 이런 요인도 상이한 결과를 초래하는데 영향을 미쳤으리라 생각한다. Wheeler등(6)은 자궁경부암 중에서 SAI가 0~4.6% 정도로 매우 낮은 편평상피암 환자(14) 대신 apoptotic index가 상대적으로 큰 선암 환자를 대상으로 하였으나 임상적으로 선암은 전체 자궁경부암의 10~20% 정도에 불과하고 70~80% 이상이 편평상피암이므로 본 연구에서는 SAI 값이 작더라도 실제 임상에서 유용성이 더 높다고 생각되는 편평상피암을 대상으로 하였고 병기도 근치적 방사선치료 환자 중 다수를 차지하는 FIGO 병기 IIB를 대상으로 하였는데, 자궁경부 선암 연구에서와 마찬가지로 SAI가 낮은 군의 예후가 불량하였다.

종양세포 실험에서 방사선조사 전에 보이는 spontaneous apoptosis 정도와 방사선조사로 유도되는 apoptosis는 직접적인 관련이 있다는 것이 증명된 바 있으며 방사선에 민감한 종양 세포주에서 SAI가 높고, 방사선에 저항성이 있는 세포에서는 SAI가 낮았다는 연구도 있었다(14,15). 이러한 사실은 SAI가 높은 종양은 방사선조사 후에 apoptosis가 더 많이 유도되는 방사선에 민감한 종양이므로 SAI를 방사선 반응성을 예측하는 인자로 사용할 수 있다는 가능성을 제시하였다. 비록 종양 내 SAI가 적더라도 이는 여러 가지 유전자에 의해 조절되는 계획된 세포사의 과정을 대표하는 것이라 할 수 있으며, 예정된 세포사인 apoptosis 과정에서 방사선조사는 단순한 자극, 또는 가속제 (enhancer 또는 accelerator) 역할을 할 뿐이라고 볼 수도 있다. 앞에 언급한 자궁경부 선암 연구(6) 및 본 연구의 결과가 이미 시행된 몇 가지 in vitro 및 동물 실험의 결과들과 일치되는 임상적 증거라고

할 수 있으며, 그 외에도 spontaneous apoptosis가 낮은 골육종에서 폐 전이가 호발하였다는 보고(16)와 수술을 시행한 편평상피 폐암에서 SAI가 높은 군에서 생존기간이 길었다는 보고(3) 등도 종양에서 SAI가 낮다는 것 즉 apoptosis 반응이 소실된다는 사실이 종양이 더욱 악성도가 높은 공격적인 상태로 이환하는 것을 의미한다고 생각할 수 있다.

이와는 반대로 다른 종양에서 SAI가 높을수록 방사선 민감성이 낮아 예후가 불량하다는 연구도 있는데(5) 첫째, 종양에서 SAI가 높은 경우 대개 유사분열이 많고 이는 증식이 활발한 종양이므로 방사선에 민감하지 않다는 것과 두번째, 종양 주변 혈관이 부족하여 저산소 상태가 되면 necrosis 뿐 아니라 apoptosis를 많이 유발하게 되며, 이런 저산소 종양세포는 방사선저항성이 있으므로 상대적으로 방사선치료 후 예후가 불량하다는 것이 가능한 기전으로 설명될 수 있다.

p53 종양억제 유전자에 관해서는 연구가 활발히 이루어진 분야로서 p53 단백질 과발현 정도가 여러 가지 암에서 예후인자로서의 역할에 관한 연구들이 시행되었으며, 일부 종양에서는 예후와 상관이 없는 것으로 보고되기도 하였으나, 유방암이나 식도암 등에서는 유의한 예후인자로 알려져 있다(9,10). 일부에서 p53 비의존적인 경로로 apoptosis가 발생하는 것을 밝히기도 하였으나 p53 단백질 발현과 apoptosis는 연관성이 깊은 것으로 알려져 있고(7,8), 신장암에서는 p53 단백질 양성 종양에서 apoptosis가 훨씬 적어 mutant p53은 apoptosis의 반대적인 조절인자(negative regulator)로 작용한다는 것이 시사되었다. 또한 FIGO 병기 2~3기 이상의 편평상피 자궁경부암 환자에서 cisplatin을 기본으로 하는 항암화학요법을 근치적 수술 또는 방사선치료 전에 시행할 때, 항암화학요법 전 후에 apoptosis와 p53 단백질 발현 정도를 비교해 본 결과 항암화학요법에 대한 반응도와 p53 단백질 발현 사이에 유의한 상관성이 있었고, p53 단백질 발현과 종양 세포의 apoptosis 정도 또한 긴밀한 연관성이 발견되어 cisplatin을 기본으로 하

는 항암화학요법의 세포독성 효과는 p53을 매개로 하는 apoptosis를 활성화한다는 가설을 임상적으로 입증하는 소견이라고 주장하였다(2). DNA의 손상은 세포 내의 p53을 증가시키고 과발현된 p53은 다시 apoptosis를 유도하는 일련의 과정이 진행되는 것으로 알려져 있으나(17) 일부에서는 p53 단백질, c-myc 단백질과 spontaneous apoptosis와는 연관성이 없는 것으로 연구되기도 하였다(15,18). 본 연구에서는 SAI와 p53 단백질 발현도가 각각 유의한 예후인자였을 뿐 아니라 SAI와 p53 단백질 발현 양성도 사이에도 유의한 상관관계가 있었다. 그러나 본 연구에 사용된 p53 mouse monoclonal 항체(DO-7)는 mutant type의 p53 단백질에만 양성으로 반응하는 것이 아니고 wild type의 p53 단백질에도 반응하는 항체이므로 각 조직절편에서 나타난 p53 단백질의 발현도는 mutant type과 wild type을 모두 포함하는 것으로 생각되며 이런 점이 본 연구에서 p53 단백질 발현도의 예후인자로서의 역할 및 SAI와의 관계성에 대해 강력히 주장하기 어려운 점이라 하겠으나 다른 보고들에서도(19) 임상적 적용이 용이한 p53 mouse monoclonal 항체인 DO-1 또는 DO-7 등을 이용하여 연구한 바가 있어 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

근치적 수술 또는 방사선치료를 시행한 침습성 자궁경부암에서 p53 단백질 발현 정도는 종양의 분화 정도, 조직학적 유형, 병기 등에 따라 다양하게 보고되는데 양성률은 대개 17~63%까지로 그 범위가 상당히 넓다(9,10,20,21). 본 연구에서도 46명 환자 중 30명에서 p53 단백질 발현이 관찰되어 발현도는 65.2%로 높은 편이었고 양성도는 0.2~87.6%로 각 조직절편에 따라 범위가 상당히 넓었다. p53 단백질 발현이 자궁경부암에서 유의한 예후인자가 아니라는 연구가 있는 반면(11,19,22). Nakano등(23)은 방사선치료를 받은 병기 I-IV 환자 중 p53 양성인 환자군은 5년 전체생존율이 52.8%인 반면 p53 음성인 환자군에서는 100%로 유의한 차이($p < 0.05$)를 보고하였고, Crawford등(24)도 p53 단백질 양성인 환자에서 p53 단백질

음성인 환자에 비해 4년 생존율이 현저하게 불량함을 보고하면서(78% vs. 38%, $p=0.002$) p53 단백질 발현도가 중요한 예후인자라고 주장하였으며 다른 연구에서도 p53 단백질 발현 양성인 환자군의 예후가 불량하다고 보고하였는데(25) 본 연구에서도 p53 단백질 발현 양성도가 증가할수록 5년 국소재여율과 5년 생존율이 감소하는 양상을 보여 p53 단백질 발현이 중요한 예후인자임을 다시 한번 확인하였다.

결 론

근치적 방사선치료 단독만을 시행받은 환자들에서 SAI 값이 중앙치보다 큰 환자군에서 예후가 우수하였고 p53 단백질 발현 양성도가 높을수록 환자들의 예후가 불량하였다. 아울러 SAI 값과 p53 단백질 발현 양성도 사이의 유의한 관련성도 확인할 수 있었으므로 자궁경부 편평상피암 IIB 병기 환자에서 방사선치료 전 종양조직에서 시행한 SAI와 p53 단백질 발현 양성도는 근치적 방사선치료에 대한 방사선반응의 예측인자로서 임상적인 유용성을 가질 수 있겠다.

참 고 문 헌

1. Vesalainen S, Lipponen P, Talja M, Syrjanen K. Histological grade, perineural infiltration, tumor-infiltrating lymphocytes and apoptosis as determinants of long-term prognosis in prostatic adenocarcinoma. *Eur J Cancer* 1994;30A:1797-1803.
2. Garzetti GG, Ciavattini A, Provinciali M, Di Stefano G, Lucarini G, Goteri G, Biagini G. Expression of p53 and apoptosis of tumor cells in locally advanced cervical carcinoma after cisplatin based neoadjuvant chemotherapy. *Anticancer Res* 1996;16:3229-3234.
3. Komaki R, Milas L, Ro JY, Fujii T, Perkins P, Allen P, Sikes CR, Mountain CF, Ordonez NG. Prognostic biomarker study in pathologically staged N1 non-small cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;40:787-796.
4. Seong J, Kim SH, Lee WJ, Suh CO, Min JS. Strain-specific differences in radiation-induced apoptosis in murine tissues. *J Korean Cancer Assoc* 1998;30:1259-1268.
5. Levine EL, Renahan A, Gossiel R, Davidson SE, Roberts SA, Chadwick C, Wilks DP, Potten CS, Hendry JH, Hunter RD, West CML. Apoptosis, intrinsic radiosensitivity and prediction of radiotherapy response in cervical carcinoma. *Radiother Oncol* 1995;37:1-9.
6. Wheeler JA, Stephens LC, Tornos C, Eifel PJ, Ang KK, Milas L, Allen PK, Meyn RE. ASTRO research fellowship: Apoptosis as a predictor of tumor response to radiation in stage IB cervical carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;32:1487-1493.
7. Lowe SW, Schmitt EM, Smith SW, Osborne BA, Jacks T. p53 is required for radiation induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature* 1993;362:847-849.
8. Blank KR, Rudoltz MS, Kao GD, Muschel RJ, McKenna WG. The molecular regulation of apoptosis and implications for radiation oncology. *Int J Radiat Biol* 1997;71:455-466.
9. Cardillo MR, Stamp GW, Pignatelli MN, Lalani EN. Immunohistochemical analysis of p53 oncoprotein and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in the cervix uteri. *Eur J Gyn Oncol* 1993;14:484-490.
10. Kainz CH, Kohlberger P, Gitsch G, Sliutz G, Bretenecker G, Reinhaller A. Mutant p53 in patients with invasive cervical cancer stage IB to IIB. *Gynecol Oncol* 1995;57:212-214.
11. Ebra T, Mitsuhashi N, Saito Y, Sakurai H, Hasegawa M, Takahashi M, Takahashi T, Hayakawa K, Niiibe H. Prognostic significance of immunohistochemically detected p53 protein expression in stage IIB squamous cell carcinoma of the uterine cervix treated with radiation therapy alone. *Gynecol Oncol* 1996;63:216-218.
12. McNally NJ. Can cell kinetic parameters predict the response of tumors to radiotherapy? *Int J Radiat Biol* 1989;56:777-786.
13. Begg AC, Hofland I, Van Glabekke M, Bartelink H, Horiot JC. Predictive value of potential doubling time for radiotherapy of head and neck tumor patients: results from the EORTC cooperative trial 22851. *Semin Radiat Oncol* 1992;2:22-25.
14. Meyn RE, Stephens LC, Ang KK, Hunter NR, Brock WA, Milas L, Peters LT. Heterogeneity in the development of apoptosis in irradiated murine tumours of different histologies. *Int J Radiat Biol* 1993;64:583-591.
15. Sirzen F, Zhivotovsky B, Nilsson A, Bergh J, Lewensohn R. Spontaneous and radiation-induced apoptosis in lung cancer cells with different intrinsic radiosens-

- sitivities. *Anticancer Res* 1998;18:695-699.
16. Radinsky R, Fidler IJ, Price JE, Esumi N, Tsan R, Petty CM, Bucana CD, Bar-Eli M. Terminal differentiation and apoptosis in experimental lung metastasis of human osteogenic sarcoma cells by wild type p53. *Oncogene* 1994;9:1877-1883.
 17. Waggoner SE, Baunoch DA, Anderson SA, Leigh F, Zagaja VG. Bcl-2 protein expression associated with resistance to apoptosis in clear cell adenocarcinoma of the vagina and cervix expressing wild-type p53. *Ann Surg Oncol* 1998;5:544-547.
 18. Lane DP. A death in the life of p53. *Nature* 1993;362:786-787.
 19. Hunt CR, Hale RJ, Buckley CH, Hunt J. P53 expression in carcinoma of the cervix. *J Clin Pathol* 1996;49:971-974.
 20. Gitsch G, Kainz C, Joura E. Mutant p53 product in patients with stage III cervical cancer. *Anticancer Res* 1992;12:2241-2242.
 21. Helland A, Holm R, Kristensen G, Kaern J, Karlsen F, Trope C. Genetic alterations of the TP53 genes, p53 protein expression and HPV infection in primary cervical carcinomas. *J Pathol* 1993;171:105-114.
 22. Benjamin I, Saigo P, Finstad C, Takahashi H, Federici M, Rubin SC, Boyd J. Expression and mutational analysis of p53 in stage IB and IIA cervical cancers. *J Obstet Gynecol* 1996;175:1266-1271.
 23. Nakano T, Oka K, Ishikawa A, Morita S. Immunohistochemical prediction of radiation response and local control in radiation therapy for cervical cancer. *Cancer Detection & Prevention* 1998;22:120-128.
 24. Crawford RAF, Caldwell C, Iles RK, Lowe D, Shepherd JH, Chard T. Prognostic significance of the bcl-2 apoptotic family of proteins in primary and recurrent cervical cancer. *Br J Cancer* 1998;78:210-214.
 25. Uchiyama M, Iwasaka T, Matsuo N, Hachisuga T, Mori M, Sugimori H. Correlation between human papillomavirus positivity and p53 gene overexpression in adenocarcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1997;65:23-29.