

## 갈색세포종의 *c-Myc*, *c-Fos*와 *c-Jun* 종양 단백질에 대한 면역조직화학적 연구

연세대학교 의과대학 내과학교실, 해부병리학교실\*

조재화 · 이은직 · 남문석 · 김경래  
남수연 · 송영득 · 임승길 · 이현철  
허갑범 · 이용희\* · 김태승\* · 이관우\*\*

### Immunohistochemical Study of *c-Myc*, *c-Fos* and *c-Jun* Oncoprotein Expression in the Human Pheochromocytoma

Jae Hwa Cho, M.D., Eun Jig Lee, M.D., Moon Suk Nam, M.D., Kyung Rae Kim, M.D.,  
Su Youn Nam, M.D., Young Duk Song, M.D., Sung Kil Lim, M.D.,  
Hyun Chul Lee, M.D., Kap Bum Huh, M.D. Yong Hye Lee, M.D.,\*  
Tae Sung Kim, M.D.\* and Kwan Woo Lee, M.D.\*\*

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

*\*\*Department of Internal Medicine, In Ha University, Seoungnam, Korea*

#### ABSTRACT

A large number of studies for genes involved in oncogenesis have been done during last decade. Over 20 oncogenes have been isolated and characterized, and the oncogene expressions in human tumors have been examined. The proto-oncogenes of *c-myc*, *c-fos* and *c-jun*, which modulate the transcription factors, have overexpressed in a variety of human cancers.

Immunohistochemical method was used in this study to examine *c-Myc*, *c-Fos* and *c-Jun* oncoprotein expression in 31 patients with human pheochromocytoma 28(90.0%) were benign and 3(10.0%) malignant. *C-Myc* oncoprotein immunoreactivity was found in 24 cases(77.4%), *c-Fos* in 29(93.5%), and *c-Jun* in 25(80.6%). Twenty-one(67.7%) showed positive immunoreactivity for all these oncoproteins, six(19.4%) for 2 oncoproteins, 3 for one oncoprotein. Only 1 case showed negative immunoreactivity for all 3 oncoproteins. The oncoprotein immunoreactivity did not correlate with the amount of 24 hour urinary catecholamine excretion. Although the number of malignant pheochromocytomas was not so many, most of them showed that the immunoreactivity for oncoprotein was more than 30 percent of tumor cells.

The expression of *c-Myc*, *c-Fos* and *c-Jun* oncoprotein were frequently found in human pheochromocytoma. These results suggest that the oncoprotein expression may play an important role in tumorigenesis and proliferation of human pheochromocytoma(J Kor Soc Endocrinol 10:26 ~34, 1995).

---

**Key Words:** Pheochromocytoma, Immunohistochemical stain, *c-Myc* oncoprotein, *c-Fos* oncoprotein, *c-Jun* oncoprotein

## 서 론

암의 원인을 규명하려는 노력으로 종양유전자의 구조와 역할을 밝히려는 연구가 계속되고 있고, 지금까지 알려진 종양유전자를 분류하면 직접 세포의 증식을 증가시켜 암을 유발하는 우성종양유전자(dominant oncogene)와 정상적으로는 세포의 증식을 억제하여 암의 발생을 억제하는 종양억제유전자(suppressor oncogene)로 분류할 수 있다[1]. 즉 암의 발생과정에는 원종양유전자(proto-oncogene)의 증폭이나 돌연변이, 염색체의 소실이나 전이 등에 의한 종양유전자의 활성화 및 종양억제유전자의 비활성화를 통해서 이루어질 수 있으며, 대장암모델에서 보는 바와 같이 악성종양 형성의 하나의 유전자변화로 이루어지는 것이 아니라 정상조직에서 양성 종양, 악성 종양 등의 단계에 따라 여러가지 유전자들의 변화가 일어난다고 한다[2]. 현재 약 20가지 이상의 종양유전자가 보고되었고, 여러 종양에서 발현에 관한 연구가 진행중이다. 아직까지 갈색세포종에 대한 종양 유전자발현에 관한 연구들은 많지 않으나, 갈색세포종과 같이 신경릉(neural crest)세포에서 유래된 갑상선 수질암에서 *c-myc*와 *c-fos*의 발현이 증가된 보고가 있으며[3], Goto 등(1990)은 사람의 갈색세포종에서 *c-myc*와 *c-fos*의 발현을 발견한 바 있다.

*C-myc*, *c-fos*와 *c-jun*은 원종양유전자로 핵내에 위치하여 활성화단백질-1(activating protein-1, AP-1)과 같은 전사인자(transcription factor)의 작용에 영향을 미치는 것으로 알려져 있고 여러가지 종양세포에서 과발현하는 것으로 알려져 있다[5,6]. 표피 성장인자(epidermal growth factor), 인슐린과 인슐린양 성장인자(insulin-like growth factor, IGF)는 분화(differentiation)를 촉진하지는 않으나 세포의 증식(proliferation)을 촉진시키고, 신경성장인자(nerve growth factor)는 쥐의 갈색세포종 세포(PC12)에서 신경세포로 분화시키는 것으로 알려져 있으며, 이들은 *c-myc*와 *c-fos*의 일시적인 발현을 유도한다[7-9]. 또한 *c-myc*와 *c-fos*의 발현을 정상 부신수질에서는 발견할 수 없었으며 갈색세포종에서 발현되는 것으로 보아 *c-myc*, *c-fos*의 발현은 갈색세포종세포의 지속적인 증식에 관여할 것으로 보인다.

대[4]. *c-jun*은 *fos*와 밀접한 구조와 작용기전으로 세포의 증식에 관여한다고 알려져 있다[6].

이에 본 연구에서는 사람의 갈색세포종에서 면역조직화학염색을 통하여 *c-Myc*, *c-Fos*와 *c-Jun* 종양단백질의 발현에 대해 알아 보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

연세대학교 의과대학 부속 영동 및 신촌세브란스병원에 입원하여 내분비학적 검사 및 수술을 통하여 갈색세포종으로 확진된 31예를 대상으로 하였다.

### 2. 방 법

#### 1) 내분비학적 검사

환자들에서 24시간 소변내의 카테콜아민 즉 에피네프린(epinephrine)과 노에피네프린(norepinephrine) 및 그 대사물인 메타네프린(metanephrine)과 바닐만델산(vanillylmandelic acid, VMA)의 측정은 high performance liquid chromatography를 이용하였고, 그 결과에 따라 '정상' 또는 '상승'으로 나누어 비교하였다.

#### 2) 조직화학적 검사

##### (1) 조 직

수술로 제거되어 통상의 방법으로 제작된 조직은 5  $\mu$ m로 박절하여 3-aminopropylmethoxysilane(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)을 피막한 슬라이드위에 부착하였다.

##### (2) *c-Myc*, *c-Fos*와 *c-Jun* 종양단백질 항체

*c-Myc* 및 *c-Jun* 종양단백질에 대한 단일클론성 마우스 IgG항체(Novocastra Laboratories, Newcastle, United Kingdom), *c-Fos* 종양단백질에 대한 단일클론성 토끼 IgG항체(Oncogene Science Inc., Uniondale, NY, U.S.A.)를 사용하였다.

##### (3) 면역조직화학염색

조직절편을 항온기에 57°C의 온도로 밤새 가온시킨 후 자일렌(Xylene)에 5분씩 2회 침수하여 파라핀을 제거하고 99% 및 95% 알콜과 증류수에 3분간 각각 2회씩 가수화(rehydration)하였다. *c-Fos* 및 *c-Jun*을 염색하기 위해서는 조직절편을 트립신용액(0.1% CaCl<sub>2</sub>,

0.1% trypsin, pH 7.8)에 5~20분간 반응시켰고, 3가지 모두 0.01 M sodium citrate buffer(pH 6.0)를 채운 용기에 조직절편을 침수후 전자오븐(microwave, 800 W)에 5분간 2회 처리하였고 실온에 20분간 식혔다. Tris buffered saline(TBS)용액(pH 7.6)으로 5분간 수세후 내인성 peroxidase 활성을 억제하기 위해 3% 과산화수소수에서 10분간 반응후 증류수에 5분간 2회, TBS 용액에 5분간 2회 수세하였다. IgG의 비특이적 결합을 방지하기 위해 phosphate buffer saline(PBS)과 1% bovine serum albumin(BSA)을 혼합한 용액에 5분간 반응후 일차항체에 반응시켰다. *c-Myc* 종양단백질에 대한 일차항체는 1:150으로 희석하고 실온에서 30분간 반응시켰고, *c-Fos* 종양단백질에 대한 일차항체는 1:50으로 희석하고 4℃에서 밤새 반응시켰고, *c-Jun* 종양단백질에 대한 일차항체는 1:40으로 희석하고 4℃에서 밤새 반응시켰다. 1차항체와 반응이 끝난 후 TBS용액에 5분간 2회 수세한 후 biotinylated horse anti-mouse or rabbit IgG에 30분간 반응시키고 TBS 용액에 5분간 2회 수세하였다. Peroxidase conjugate streptavidin에 20분간 반응시킨 후 TBS용액에 5분간 2회 수세하고 3-amino-9-ethylcarbazol(AEO) chromogen substrate-conjugate용액에 10분간 반응한 후 증류수로 5분간 2회 수세하고 Mayer's hematoxylin용액으로 대조 염색을 하였다.

결과 판독은 다음과 같다. *c-Myc* 종양단백질은 핵주변 세포질에 염색되고, *c-Fos*와 *c-Jun* 종양단백질은 핵에 염색된다. 종양세포의 양성률을 정함에 있어서 비교적 세포수가 많은 다섯 영역을 선택하여 400배의 고배율시야에서 전체 세포중 양성인 세포수를 세어 이들의 평균값을 구하고 다음과 같이 분류하였다. 종양세포가 전혀 염색되지 않은 경우를 음성(-)으로 하고, 양성세포수를 30% 기준으로 하여 1~30%를 약양성(+), 31% 이상을 강양성(++)으로 분류하였다.

## 결 과

### 1. 임상 및 내분비학적 특징

대상 31예중 남자 14예(45%), 여자 17예(55%)로 남녀비 차이가 없었으며, 연령분포는 18세부터 81세까지

Table 1. Classification of Pheochromocytoma

Classification	Male	Female	Total(%)
Benign	12	16	28 (90.0)
Malignant	2	1	3 (10.0)
Total(%)	14(45.0)	17(55.0)	31(100.0)

로 평균 45세이었고, 임상 및 병리학적으로 분류한 결과 양성 28예(90%), 악성 3예(10%)이었다(Table 1). 악성 갈색세포종 3예중 2예는 혈관 또는 종양의 섬유막 침범이 있었고 1예는 골전이기가 있었다.

종양의 크기를 보면 양성은 2.5×2.5×2.0 cm부터 19.0×19.0×8.0 cm까지로 평균 7.9×6.4×5.2 cm이었고 악성은 5.0×5.0×4.0 cm부터 10.0×8.0×8.0 cm까지로 평균 7.6×6.3×6.0 cm이었으며, 무게를 보면 양성은 11 g에서 890 g으로 평균 96.1 g이었고 악성은 60g에서 93 g으로 평균 76.5 g이었다. 종양의 위치는 우측 부신 16예(52%), 좌측 부신 11예(35%), 부신의 장기로는 후복막강의 Zuckerkandle기관 2예, 방관 1예가 있었다(Table 2).

24시간 소변내의 에피네프린(정상값: catecholamine < 100 mg/24 hours)은 측정한 25예중 14예(56%)에서, 노에피네프린은 25예중 19예(76%)에서 증가되었고 메타네프린은 측정한 20예중 14예(70%)에서, VMA(정상값 < 8 mg/24-hours)는 29예중 24예(83%)에서 증가되었다(Table 2).

### 2. 면역조직화학염색 소견

*c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun*종양단백질의 면역조직화학염색의 양성 소견은 Fig. 1, 2, 3과 같다. 음성대조군은 일차항체를 처리하지 않았고 모두 음성이었다. 면역조직화학염색결과 *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun*이 모두 음성인 경우가 1예(3.2%)가 있었으며 이들 종양단백질중 1가지에서 양성인 경우는 3예(9.7%), 2가지에서 양성인 경우는 6예(19.4%) 양성 25예(80.6%)이었다(Table 3).

악성 갈색세포종의 수가 적어 양성 28예와 유의한 차이가 없었으나 악성 갈색세포종에서 *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun* 종양단백질이 발현된 경우에는 대부분 30%이상의 종양세포에서 양성 28예를 보았다(Table 3).

Table 2. Clinical Features and Immunohistochemical Results in Patients with Pheochromocytoma

Sex	Age	Dx <sup>1</sup>	Loc. <sup>2</sup>	Size(cm)			24 hour urine Immunohistochemistry						
							E <sup>3</sup>	ME <sup>4</sup>	MN <sup>5</sup>	VMA <sup>6</sup>	c-Myc	c-Fos	c-Jun
M	53	B	R	8.0	8.0	5.0	-	-	-	I	-	++	++
M	53	B	R	4.5	3.5	3.5	N	N	I	I	+	++	++
M	25	B	R	19.0	19.0	8.0	-	-	-	-	++	++	++
M	29	B	R	14.0	12.0	10.0	N	N	-	I	-	++	+
M	45	B	L	5.0	3.5	2.5	-	-	-	I	+	++	+
F	33	B	R	2.3	2.3	2.3	I	I	-	I	++	++	++
F	58	B	L	10.0	8.0	7.0	-	-	-	-	++	+	++
M	51	B	L	6.0	5.0	5.0	-	-	-	I	++	++	+
F	39	B	L	6.0	5.0	4.0	I	I	I	I	+	+	+
F	57	B	R	15.0	11.5	10.0	-	-	N	N	-	-	+
M	55	B	L	5.0	3.0	2.5	I	I	-	I	-	++	-
F	36	B	R	9.7	7.0	5.5	I	N	I	I	-	-	-
F	33	B	R	3.5	2.5	2.0	N	N	N	N	+	++	+
M	36	B	L	6.5	5.7	4.5	N	I	N	I	+	+	-
F	50	B	L	7.0	4.5	4.0	I	I	I	I	++	++	+
M	68	B	R	6.0	4.0	3.5	I	I	I	I	+	++	+
F	37	B	R	6.0	6.0	5.0	I	I	N	I	++	++	+
F	50	B	R	10.0	8.0	4.0	I	N	I	I	+	+	++
F	34	B	R	13.0	11.0	10.0	N	I	I	I	+	++	++
F	53	B	L	8.5	7.0	5.5	I	I	-	I	-	+	-
M	51	B	L	12.5	9.0	5.0	I	I	I	I	+	+	-
F	50	B	R	7.0	5.5	2.0	I	I	I	I	+	++	+
F	59	B	R	8.5	6.0	5.0	N	I	I	I	+	++	+
F	57	B	R	2.5	2.5	2.0	I	I	-	I	-	+	+
F	30	B	E	4.2	3.8	2.8	N	I	N	N	+	+	+
M	38	B	E	4.5	2.3	2.0	N	I	N	N	+	+	+
M	81	B	E	13.0	10.0	7.0	I	I	I	I	++	++	++
F	44	B	E	6.5	4.5	3.5	N	I	I	I	++	++	+
M	18	M	L	5.0	5.0	4.0	N	I	I	I	++	++	++
F	55	M	R	10.0	8.0	8.0	N	N	-	N	+	++	++
M	34	M	L	8.0	6.0	6.0	I	I	I	I	++	++	-

<sup>1</sup>. Dx: diagnosis (B: Benign, M: Malignant)

<sup>2</sup>. Loc.: Location of tumor (L: left adrenal gland, R: right adrenal gland, E: extraadrenal gland)

<sup>3</sup>. E: Epinephrine, 4. NE: Norepinephrine, 5. MN: Metanephrine

<sup>6</sup>. VMA: Vanillylmandelic acid (I: increased, N: normal, -: not done)

<sup>7</sup>. -: Negative, +: 1~30% positive, ++: >30% positive

24시간 소변내의 카테콜아민과 그 대사산물이 증가한 경우에 *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun* 종양단백질의 양성발현을 보면 Table 4와 같았고, 24시간 소변내의 카테콜아민과 그 대사산물의 배설정도와 종양단백질의 발현과는 유의한 상관성이 없었다.

## 고 찰

종양세포에 대한 분자생물학적 연구가 진행함에 따라 많은 종양유전자가 보고 되었고 대다수는 원종양유

Table 3. Immunohistochemical Results in Patients with Pheochromocytoma

Grade <sup>1</sup>	Immunohistochemistry		
	<i>c-Myc</i> (%)	<i>c-Fos</i> (%)	<i>c-Jun</i> (%)
-	7 (22.6)	2 ( 6.5)	6[1] <sup>2</sup> (19.3)
+	14[1] (45.2)	9 (29.0)	16 (51.7)
++	10[2] (32.2)	20[3](64.5)	9[1] <sup>2</sup> (29.0)

<sup>1</sup>. -: negative, +: 1~30% positive,

++: > 30% positive

<sup>2</sup>. [ ]: number of malignant pheochromocytoma in total cases

Fig. 1. Immunopositivity for *c-Myc* oncoprotein of pheochromocytoma. *C-Myc* oncoprotein was stained in perinuclear cytoplasm (H&E Stain:×200).

Fig. 2. Immunopositivity for *c-Fos* oncoprotein of pheochromocytoma. *C-Fos* oncoprotein was stained in nuclei (H&E Stain:×200).

Fig. 3. Immunopositivity for *c-Jun* oncoprotein of pheochromocytoma. *C-Jun* oncoprotein was stained in nuclei (H&E Stain:×200).

전자로 세포막에서 핵으로 외부 신호를 전달하여 세포 증식을 자극하는 단백질을 생성한다. 세포 종양유전자는 유전자의 점돌연변이(point mutation), 분자구조 결손, 염색체 재배열에 의한 유전자단백구조의 변화와 증폭 또는 전사에 의한 세포내 유전자 단백질의 양적 변동에 의해서 이루어진다. 이들 원종양유전자의 종양발생 잠재능을 활성화시키는 돌연변이가 일어나면 정상적인 세포증식 조절이 깨어질 수 있다. 이러한 원종양유전자를 활성화 시키는 돌연변이나 성장억제 유전자를 억제시키는 돌연변이들이 종양 발생의 기초단계이다[10].

세포내 *myc* 종양유전자에는 avian retrovirus와 MC 29에서 발견된 *v-myc*[11], 신경모세포종에서 발견한 *N-myc*[12], 소세포폐암에서 검출한 *L-myc*[13] 유전자들이 있는 것으로 알려져 있다. *c-myc* 종양유전자는 배양중인 정상세포를 악성세포로 변환시키는 능력이 있음이 알려졌고 이는 종양세포에서 *c-myc* 발현을 조절하는 능력이 상실되어 지속적인 발현으로 종양형성을 일으키는 것으로 생각된다[14]. B세포성 임파선 종양에서 활성화된 *c-myc* 발현이 보고되었고[15,16], 이외에도 갑상선수질암[3], 소세포폐암[17], 유방암[18] 등에서도 보고되었다. *c-Myc* 단백질은 30분의 짧은 반감기를 갖는 DNA와 결합하는 핵단백질로 세포의 전사를 조절한다[19]. *c-Myc*는 helix-loop-helix와 leucine zipper protein(HLH-ZIP)과 결합하여 핵내에서 성장과 관련된 유전자들의 전사를 증가시킴으로 성장에 필요한 단백질의 발현이 증가되어 세포증식을 유발한다[20]. 따라서 정상적으로 급속히 성장하는 조직에서도 *c-Myc* 단백질이 발현되고, 일반적으로 발현이 감소되면 증식

Table 4. Positivity of Immunohistochemistry in Patients with Pheochromocytoma According to the Urinary Catecholamine Excretion

Increased 24hr urinary excretion	n <sup>1</sup>	Immunohistochemistry		
		<i>c-Myc</i> (%)	<i>c-Fos</i> (%)	<i>c-Jun</i> (%)
Epinephrine	14	10 (71.4)	13 (93.0)	11 (78.0)
Norepinephrine	19	16 (84.2)	19(100.0)	15 (78.9)
Metanephrine	14	13 (93.0)	13 (93.0)	12 (85.7)
VMA <sup>2</sup>	24	18 (75.0)	23 (95.8)	20 (83.3)

<sup>1</sup> Number of the patients with high urinary hormone levels among the patients tested

<sup>2</sup> VMA: vanillylmandelic acid

능력의 소실이 일어나며 분화가 시작되는 것으로 알려져 있다[21].

*c-fos*, *c-jun* 종양유전자는 핵종양유전자로 성장 자극에 즉각 반응하는 초기유전자(immediate early genes)로서, 전사 조절에 관여하는 것으로 알려져 있다[22]. 성장이 정지된 세포에서는 *c-fos*, *c-jun* 종양유전자가 발현되지 않으며 호르몬, 유사분열물질(mitogen) 등에 자극을 받으면 30분 이내 mRNA가 최고에 도달하고 90분경에 감소하며 반감기가 약 2시간인 단백질합성이 일어난다[23]. *c-fos*, *c-jun* 종양유전자는 leucine-zipper 이합체화를 이루고, 서로 유사한 구조를 갖는 *fos* 및 *jun* 연관유전자(related genes)와 이합체를 이룬다[24, 25]. 이합체는 AP-1[26], GCN4(yeast transcriptional activator protein)[27]같은 전사인자와 같이 DNA 인식 부위인 TGACTA 부위에 결합하는 것으로 알려져 있고 [26,28,29], 여러가지 종양세포에서 과발현하는 것으로 알려져 있다[3,5]. 인슐린과 인슐린 양성성장인자는 PC12 세포들의 유사분열물질이고 사람의 갈색세포종에서도 IGF-II가 발현되는 것이 발견되었다[30~32]. IGF-II는 Wilm 종양[30], 대장암[33], 지방육종[33], 횡문근육종 [34] 등 종양세포에서 발현되는 것이 관찰되었고, 자분비(autocrine) 또는 축분비(paracrine)방법으로 종양성장을 조절하는 것으로 알려졌다[35]. IGF-II가 갈색세포종의 성장인자중 하나로 *c-myc*, *c-fos* 종양유전자의 구조적인 발현을 유도한다고 추정할 수 있다[4]. 따라서 *c-myc*, *c-fos* 종양유전자의 발현이 그 자체가 갈색세포종의 종양 형성과 관계있을 뿐 아니라 IGF-II의 작용에 관계될 수 있다. 인체의 여러 암종들에서도 *c-fos*

종양유전자가 증폭되어 과발현되며, 특히 자궁경부암에서는 진행기에서 초기보다 유전자의 증폭과 과발현이 더 높다고 한다[36].

본 연구에서 면역조직화학 염색을 이용한 *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun* 종양단백질의 양성 발현율은 각각 77.4%, 93.5%, 80.6%이었으나, Goto 등(1990)이 분자생물학적 방법에 의하여 보고한 결과에 따르면 *c-myc*, *c-fos*의 DNA와 mRNA의 검출은 그 강도의 차이는 있었지만 전 예에서 관찰된다고 한다. 이와 같은 차이는 면역조직화학염색이 조직내의 단백질 검출에 유용하지만 조직의 보존상태에 따라 양성률의 차이를 초래할 수 있겠으며 세포 증식이 매우 느린 경우에도 단백질의 농도가 낮아서 검출하기 어려운 경우가 있을 수 있겠으며 세포 증식이 매우 느린 경우에도 단백질의 농도가 낮아서 검출하기 어려운 경우가 있을 수 있겠다. 또한 DNA나 mRNA 경우보다 단백질은 그 생성보다 대사가 빨리 되는 경우에는 검출하기 매우 어렵기 때문이다. 따라서 종양유전자의 발현을 보기에는 in situ hybridization을 통해 DNA 혹은 mRNA를 검출하거나 immunoblotting이 정확한 방법이다.

갑상선암의 경우에는 종양유전자의 과발현이 예후와 연관이 있다고 하며[3], 자궁경부암에서 진행기경우에 *c-myc*, *c-fos*종양유전자의 과발현이 관찰되었고[36], 악성 갈색세포종 경우에 *c-myc*, *c-fos* 종양유전자가 양성에 비해 높은 수치이었음이 관찰되었으나[4], 본 연구에서는 악성 갈색세포종의 수가 적어 양성률과 유의한 차이를 발견할 수는 없었으나 *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun* 종양단백질이 발현된 경우에는 대부분 30% 이상의 종양

세포에서 양성을 보였다.

이상의 결과를 종합하면 *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun* 종양단백질 발현이 갈색세포종의 종양형성과 증식에 연관성이 있음을 알 수 있었고 향후 종양에 대한 병인을 이해함에 있어 다른 종양유전자 단백질에 대한 면역조직화학염색 뿐만 아니라 mRNA 및 DNA에 대한 분자생물학적인 연구도 필요하다고 생각된다.

### 요 약

저자 등은 연세대학교 의과대학 부속 영동 및 신촌세브란스병원에서 진단 및 치료한 갈색세포종환자 31에서 임상 및 내분비학적 특징을 파악하고 수술을 하여 얻은 조직에서 면역조직화학염색을 시행하여 종양내 함유하고 있는 *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun* 종양단백질을 검출하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 대상 환자 31예중 양성 28예(90.0%), 악성 3예(10.0%)이었다.

2) 면역조직화학염색상 *c-Myc* 종양단백질 24예(77.4%), *c-Fos* 종양단백질 29예(93.5%), *c-Jun* 종양단백질 25예(80.6%)에서 양성하였고, 3가지 종양단백질이 모두 검출된 경우는 21예(67.7%), 2가지 종양단백질이 검출된 경우는 6예(19.4%), 1가지 종양단백질이 검출된 경우가 3예(9.7%)이었고 어느 한가지도 검출되지 않은 경우는 1예(3.2%)이었다.

3) 24시간 소변내 카테콜아민과 그 대사물의 배설정도가 *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun* 종양단백질 양성률과는 상관성이 없었다.

4) 악성 갈색세포종의 수가 적어 양성과 유의한 차이가 없었으나 *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun* 종양단백질이 발현된 경우에는 대부분 30%이상의 종양세포에서 양성을 보였다.

이상의 결과를 종합하면 *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun* 종양단백질 발현이 갈색세포종의 종양형성과 증식에 연관성이 있음을 알 수 있었고 향후 종양에 대한 병인을 이해함에 있어 다른 종양유전자 단백질에 대한 면역조직화학염색 뿐만 아니라, 종양유전자에 대한 분자생물학적인 연구도 필요하다고 생각된다.

### 참 고 문 헌

1. Viallet J, Minna JD: *Dominant oncogenes and tumor suppressor genes in the pathogenesis of lung cancer. Am J Resp Cell Mol Biol* 2:225-232, 1990
2. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL: *Genetic alterations during colorectal tumor development. N Eng J Med* 319: 525-532, 1988
3. Terrier P, Sheng ZM, Schlumberger M, Tubiana M, Caillon B, Travagli JP, Fragu P, Parmentier C, Riou G: *Structure and expression of c-myc and c-fos proto-oncogenes in thyroid carcinomas. Br J Cancer* 57:43-47, 1988
4. Goto K, Ogo A, Yanase T, Haji Mj, Ohashi M, Nawata H: *Expression c-fos and c-myc proto-oncogenes in human adrenal pheochromocytomas. J Clin Endocrinol Metab* 70:353-357, 1990
5. Slamon DJ, de Kernion JB, Verma IM, Cline MJ: *Expression of cellular oncogenes in human malignancies. Science* 224:256-262, 1984
6. Cooper GM: *Oncogenes. 1st ed, Boston, Jones and Bartlett Publishers, 1990, pp141-155*
7. Greenberg ME, Greene LA, Ziff EB: *Nerve growth factor and epidermal growth factor induce rapid transient change in protooncogene transcription in PC12 cells. J Biol Chem* 260: 14101-14110, 1985
8. Kruijer W, Schubert D, Verma IM: *Induction of the proto-oncogene fos by nerve growth factor. Proc Natl Acad Sci USA* 82:7330-7334, 1985
9. Milbrandt J: *Nerve growth factor rapidly induces c-fos mRNA in PC12 rat pheochromocytoma cells. Proc Natl Acad Sci USA* 83:4789-4793, 1986
10. Bishop JM: *Molecular themes in oncogenesis.*

- Cell* 64:235-248, 1991
11. Duesberg PH, Bister K, Vogt PK: *The RNA of avian acute leukemia virus MC29. Proc Natl Acad Sci USA* 74:4320-4324, 1977
  12. Schwab M, Alitalo K, Klempnauer KH, Varmus HE, Bishop JM, Gilbert F, Brodeur G, Goldstein M, Trent J: *Amplified DNA with limited homology to the myc cellular oncogene is shared by human neuroblastoma cell lines and a neuroblastoma tumor. Nature* 305:245-248, 1983
  13. Nau MM, Brooks BJ, Battey J, Sausville E, Gazdar AF, Kirsch IR, McBride OW, Bertness V, Hollis GF, Minna JD: *L-myc, a new myc-related gene amplified and expressed in human small cell lung cancer. Nature* 318:69-73, 1983
  14. Spencer CA, Groudine M: *Control of c-myc regulation in normal and neoplastic cells. Adv Cancer Res* 56:1-48, 1990
  15. Klein G: *Specific chromosomal translocations and the genesis of B-cell-derived tumors in mice and men. Cell* 32:311-315, 1983
  16. Rabbitts TH, Hamlyn PH, Baer R: *Altered nucleotide sequences of a translocated c-myc gene in Burkitt lymphoma cells. Nature* 306:760-765, 1983
  17. Little CD, Nau MM, Carney DN, Gazdar AF, Minna JD: *Amplification and expression of the c-myc oncogene in mouse SEWA tumor cells. Nature* 306:195-198, 1983
  18. Escot C, Theillet C, Lidereau R, Svratos F, Champeme MH, Gest J, Callahan R: *Genetic alterations of the c-myc protooncogene(MYC) in human breast carcinomas. Proc Natl Acad Sci USA* 83:4834-4838, 1986
  19. Luscher B, Eisenman RN: *New light on Myc and Myb. Part I Myc. Gene Dev* 4:2025-2035, 1990
  20. Kato GJ, Dang CV: *Function of the c-Myc oncoprotein. FASEB J* 6:3065-3072, 1992
  21. Lachman HM, Skoultchi AI: *Expression of c-myc changes during differentiation of mouse erythroleukemia cells. Nature* 310:592-594, 1984
  22. Distel RJ, Spiegelman BM: *Protooncogene c-fos as a transcription factor. Adv Cancer Res* 55:37-55, 1990
  23. Curran T, Morgan JI: *Barium modulates c-fos expression and post-translational modification. Proc Natl Acad Sci USA* 83:8521-8524, 1986
  24. Sassone-Corsi P, Ransone LJ, Lamph WW, Verma IM: *Direct interaction between fos and jun nuclear oncoproteins: role of the leucine zipper domain. Nature* 336:692-695, 1988
  25. Kouzarides T, Ziff E: *Leucine zippers of fos, jun and GCN4 dictate dimerization specificity and thereby control DNA binding. Nature* 340:568-571, 1989
  26. Lee W, Mitchel P, Tjian R: *Purified transcription factor AP-1 interacts with TPA-inducible enhancer elements. Cell* 49:741-571, 1987
  27. Hinnebusch AG: *A hierarchy of trans-acting factors modulates translation of an activator of amino acid biosynthetic genes in Saccharomyces cerevisiae. Mol Cell Biol* 5:2349-2360, 1985
  28. Angel P, Imagawa M, Chiu R, Stein B, Imbra RJ, Rahmsdorf HJ, Jonat C, Herrlich P, Karin M: *Phorbol ester inducible genes contain a common cis element recognized by a TPA-modulated trans-acting factor. Cell* 49:729-739, 1987
  29. Raucher FJ, Sambucetti LC, Curran LC, Curran T, Distel RJ, Spiegelman BM: *A common DNA binding site for Fos protein complexes and transcription factor AP-1. Cell* 52:471-480, 1988
  30. Haselbacher GK, Irminger JC, Zapf J, Ziegler WH, Humbel RE: *Insulin-like growth factor II in human adrenal pheochromocytomas and Wulm's tumors: Expression at the mRNA and protein level. Proc Natl Acad Sci USA* 84:1104-1106, 1987
  31. Dahmer MK, Perlman RL: *Insulin and insulin-*



- like growth factors stimulate deoxyribonucleic acid synthesis in PC12 pheochromocytoma cells. Endocrinology 122:2109-2113, 1988*
32. Nielsen FC, Gammeltoft S: *Insulin-like growth factors are mitogens for rat pheochromocytoma PC12 cells. Biochem Biophys Res Commun 154: 1018-1023, 1988*
33. Tricoli JV, Rall LB, Karakousis CP, Herrera L, Petrelli NJ, Bell GL, Shows TB: *Enhanced levels of insulin-like growth factor messenger RNA in human colon carcinomas and liposarcomas. Cancer Res 46:6169-6173, 1986*
34. Scott J, Cowell J, Robertson ME, Priestley LM, Wadey R, Hopkins B, Pritchard J, Bell GI, Rall LB, Graham CF, Knott TJ: *Insulin-like growth factor-II gene expression in Wilms' tumour and embryonic tissues. nature 317:260-262, 1985*
35. Han VKM, D'Ercole AJ, Lund PK: *Cellular localization of somatomedin(insulin-like growth factor) messenger RNA in the human fetus. science 236:193-197, 1987*
36. Riou G, Barrois M, Le MG, George M, Le Doussal V, Haie C: *C-myc proto-oncogene expression and prognosis in early carcinoma of the uterine cervix. Lancet 1(8536):761-763, 1987*
-