

방광암에서 p53 및 Rb의 면역조직화학적 연구

이광주, 이명환*, 윤내영**

충북의대해부병리과, *대전보건대학 임상병리과, **포천중문의대 강남차병원 산부인과

Immunohistochemical study on the p53 and Rb in bladder tumor

Kwang-Ju Lee, Myung-Hwan Lee*, Nae-Young Youn**

Dept. of Anatomic Pathology, Chungbuk National University

*General Hospital, Taejon Health Sciences Collage

**Dept. of Obstetrics and Gynecology, Pochon CHA University, Gangnam CHA General Hospital

Abstract. This study was performed to evaluate whether the loss or overexpression of Rb, and overexpression of p53 were prognostic indicators for bladder neoplasia. 52 tumor specimens from transitional cell carcinoma of the urinary bladder were from 42 male and 10 female patients whose age ranged from 30 to 83 years old(mean age; 63.5 years old). This group included 36 superficial and 16 invasive stage bladder tumors, and grades 16-25. p53 was significantly associated with tumor stage and grade($p < 0.05$ in each), but not with tumor recurrence. Loss of Rb gene expression or Rb overexpression was correlated with stage, but not grade. These results suggested that changes of Rb and p53 expression might play an important role in assessing the aggressiveness of human bladder neoplasms.

Key words : bladder tumor, Rb, p53

서론

종양의 발생과 재발 또는 진행에는 종양 유전자의 활성화나 종양억제유전자의 비활성화 등과 같은 유전자 수준의 변이가 작용한다는 것은 이미 주지의 사실이다. 또한 일반적으로 종양 환자의 예후 및 종양악성도가 종양 유전자 및 종양 억제 유전자의 발현유무사이에 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되고 있다.(Weinberg, 1989; Land and Parada, 1983) 방광암은 비뇨기 영역에서 가장 많이 발생하는 종양으로서 임상적, 실험적, 역학적 연구를 통하여 그 원인의 일부가 밝혀지기 시작하고 있다.

방광암을 포함한 인체종양에서 p53과 Rb 유전자 변이는 비교적 자주 나타나는 것으로 알려져 있다(Malkin 등, 1990; Kornblan 등, 1992; Corton-Cardo 등, 1994) 표재성 방광암의 경우 종양 재발 또는 진행이 예상되는 환자군, 침윤성 암인 경우 방광전적출술 시행 후 전이가 예상되는 환자군을 미리 예측하여 적절히 대응하는 것이 환자 치료 및 생존율 향상에 매우 중요한 요소이다. 일반적으로 방광종양진행 또는 예후에는 종양 병기 및 분화도가 예측지표로써 가장 자주 이용되고 또한 종양재발도 분화도가 나쁜 방광종양에서 더 빈번히 발생하나 예외가 자주 발생하여 이것이 문제로 제기되고 있다. 표재성 방광암에서 종양 재발, 진행에 관여하는 인

자에 관한 여러 보고가 있으나 아직 확정적이고 객관적인 예측인자는 발견되지 않았다(Kinemenev 등, 1993; Loening 등, 1980; Koch 등, 1986).

p53 및 Rb유전자 변이가 방광암 환자에서 생존율을 감소시키는 요소로 작용한다고 알려져 있다(Sarkis 등, 1993; Ishikawa 등, 1991; Cordon-Cardo 등 1992; Logothetis 등, 1992). 또한 p53과 Rb유전자 변이가 동시 발생시 종양성장을 촉진시키고 이 두 유전자가 상호 협력작용으로 종양발생 및 진행에 관여한다는 보고도 있다(Williams 등, 1994) 이러한 p53, Rb유전자 변이를 밝히기 위해 PCR-SSCP, PCR-Direct sequencing 등 여러 분자생물학적 방법과 각각의 유전자에 대한 단일 클론 항체를 이용한 면역조직화학적 염색법 등을 시행하고 있다. 이중 파라핀 포매 조직을 이용한 면역조직화학적 검사방법은 다량의 조직 검체를 비교적 쉽고 빠르게 후향적 조사가 가능하므로 많이 이용하고 있다. 이에 저자들은 방광암 파라핀 포매 조직에서 면역조직화학적 염색법을 시행하여 p53, Rb의 염색상태의 정도를 측정하였다. 이를 통하여 p53, Rb 각각의 상호연관 관계를 조사하였고 또한 이들과 종양병기 및 분화도와의 연관성을 비교 분석하고, p53, Rb 각각의 방광암에서의 역할 또는 종양재발 및 악성도의 예측 지표로서의 효용가능치를 알고자 이 실험을 시행하였다.

재 료 및 방 법

대 상

충북대학병원 비뇨기과에서 1992년 5월부터 1998년 4월까지 방광의 이행상피세포암으로 진단된 환자중 경요도적 방광암절제술 또는 방광전적출술을 통해 얻은 파라핀 조직을 대상으로 하였다. 환자의 재발 및 종양의 진

행을 알기 위해서 여러번 재발할 경우는 가장 최초 발병 시점의 조직을 사용하였다. 전체 52명의 환자를 대상으로 실시하였고 남자는 42명, 여자는 10명이었다. 또한 환자의 나이는 평균 63.5세(30~83세)이었다. 모든 방광암 환자에서 수술후 약 3개월 간격으로 요세포검사와 방광내시경으로 2년간 추적검사를 시행하였고 그 이후에는 6개월 간격으로 추적 조사하였다. 전체 표재성 방광암 환자중 1명에서 종양 진행이 발견되어 방광전적출술을 시행하였고 종양재발은 12명(12/36, 33%)에서 발견되었다.

방 법

조직학적 검색. 통상적인 방법으로 처리하여 H-E 염색을 시행한 슬라이드의 검색 및 검사실 소견에 따라 TNM분류법에 의해서 병기를 정하고 분화도는 WHO에서 분류한 방법에 따라 등급을 정하였다. 방광암은 36명이 표재성이었고 16명은 이미 근육층을 침범한 침윤성 방광암이었다. 그 각각의 종양 병기 및 분화도는 Table 1과 같다.

면역조직화학적 염색. p53은 인체 p53(wild and mutant form)에 대한 NCL-p53-Do-7 anti p53 oncoprotein 생쥐단클론 항체(DO-7, Novocastra Lab, UK)를 Rb는 인체 Rb 유전자 단백질에 대한 NCL-RB anti Rb oncoprotein 생쥐 단클론 항체(NCL-RB, Novocastra Lab, UK)를 사용하였다. ScyTek사로부터 Ultra Tek HRP(Anti-polyvalent)를 수입하여 염색하였으며 발색제로는 amino-ethylcabazole(AEC)을 사용하였다. 각각의 염색 방법은 Table 2에 기술한 방법에 따라 시행하였다.

염색 반응의 결과 판정. p53은 세포핵이 진하게 염색되는 곳이 있는 경우를 양성, 즉 p53 변이 단백질의 과발현이 존재하는 것으

로 판독하였다. Rb는 일반적으로 wild type 이 mutant type에 비해 반감기가 긴 유전자 이므로 전체 세포에서 세포핵이 진하게 염색 되는 상태가 균질하고 그 비율이 50% 정도 인 것을 정상으로 세포핵이 전혀 염색되지 않거나 그 염색되는 상태가 세포핵내에 되지 않고 세포질에 불균질하게 염색되는 경우를 양성으로 판독하였다.

통계학적 분석. 종양의 병기, 분화도,

p53, Rb, 종양재발 등의 5개 변량 각각의 상관관계를 알아 보기 위해 Spearman's rank correlation coefficient 및 Fisher's exact test, Chi-square test 등을 각각의 변량간의 상황에 따라 적용하였다. 또한 종양재발, 종양병기, 종양분화도에 대한 p53, Rb의 상관관계를 다변량으로 각각의 공헌도를 알아보기 위해 multiple logistic regression analysis를 시행하였으며, p value가 0.05미만인 경우를 통계적으로

Table 1. Distribution according to stage and grade in bladder tumor

Grade \ Stage	Stage					Total
	Ta	T1	T2	T3	T4	
I	8	2	0	0	0	10
II	2	20	1	0	1	25
III	0	4	1	5	3	17
Total	10	26	2	5	4	52

Table 2. Staining procedure of ultra Tek HRP

- ① Deparaffinization
- ② Digested with 0.1% pepsin for 10min
- ③ Wash with TBS(tris buffer solution pH7.4) for 5min
- ④ Block nonspecific binding with blocking reagent for 5min
- ⑤ Incubate slides with primary Ab(1:100 diution) at R-T
- ⑥ Wash with TBS for 10min
- ⑦ Incubate slide with linking Ab for 10min
- ⑧ Wash with TBS for 5min
- ⑨ Incubate slide with streptavidin for 10min
- ⑩ Wash with TBS for 5min
- ⑪ Develop in working chromogen(AEC) solution for 5min
- ⑫ Wash with distilled water
- ⑬ Counter stain with Meyer's hematoxylin for 1min
- ⑭ Wash with distilled water
- ⑮ Ammonia water for 2min
- ⑯ ⇒ Wash with distilled water for 2min
- ⑰ ⇒ Mounting

유의한 것으로 간주하였다.

결 과

p53 면역조직화학적 검색

일반적으로 wild type p53은 그 반감기가 매우 짧아 면역조직화학적 염색에서 대부분 나타나지 않는다. Mutant p53은 그 반감기가 wild type에 비해 4~20배정도 긴 것으로 알려져 있다(Finlay 등, 1988). 그러므로 이번이 p53단백이 세포핵내에 축적되어 면역조직화학적 염색시 핵이 진하게 염색되는 형태로 나타난다(Fig. 1).

이번 조사에서 전체 52명의 환자중 8명(8/52, 15.4%)의 환자에서 p53양성으로 나타났다. 이것은 침윤성 방광암과 표재성으로 나누면 침윤성에선 6명(6/16, 37.5%) 표재성 2명(2/36, 5.6%)으로 나타나 통계적 유의성이 있는 것으로 나타났다($p < 0.01$). 또한 종양병기별로 보면 grade I에서 p53양성이 한 명도 발견되지 않았고, grade II에서는 2명(2/26, 8%), grade III에서는 6명(6/17, 35.3%)로 나타나 역시 종양 분화도가 나쁠수록 p53단백 과발현이 증가하는 것으로 통계

적으로도 유의하였다($p < 0.01$). 또한 표재성암 환자에서 종양 재발은 33.3%(12/36)에서 나타났다고, 재발한 표재성암 환자 1명에서만 p53 양성이 나타나 본 조사에서는 종양 재발과 p53유전자와는 연관 관계가 없는 것으로 조사되었다($p = 1.00$).

환자의 추적 관찰기간이 짧고 종양이 진행된 환자가 1명에 불과해 환자의 생존율과 종양진행과의 각 유전자와의 연관 관계는 본 조사에서는 알 수 없었다.

Rb 면역조직화학적 검색

Rb는 정상 세포의 핵내에서 강하게 염색되는 것이 정상(wild type)이다(Fig. 3). 저자들이 사용한 항체도 역시 underphosphorylated form과 phosphorylated form 모두에 작용하였는데, Rb는 유전자 변이가 나타나면 면역조직화학적염색에서 정상적인 균일한 핵염색이 전혀 나타나지 않거나, 핵내 침착되는 신호전달의 상실로 세포질에 불균일하게 염색(Fig. 4)되는 형태로 나타난다(Cordon-Cardo 등, 1992; Logothetis 등, 1992).

저자들의 조사에서는 Rb는 48.1%(25/52)에서 양성으로 나타났다. 이것은 다시 표재

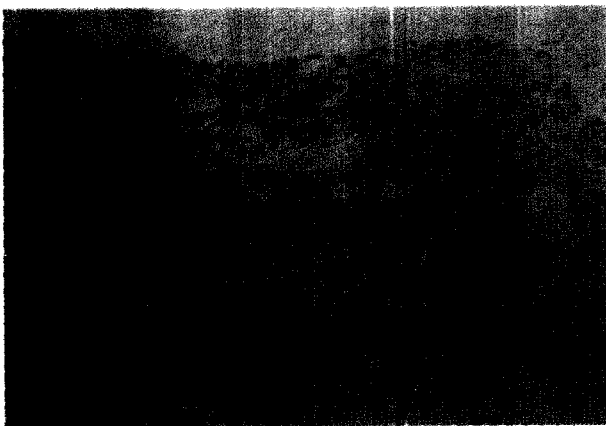


Fig.1. Immunohistochemical stain of mutant type p53, the dark brown in the Nuclei of malignant cells($\times 200$)

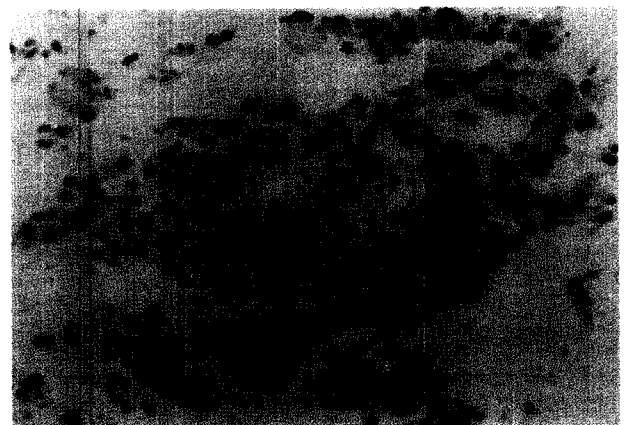


Fig.2. High magnification of an area in Fig.1 ($\times 400$)

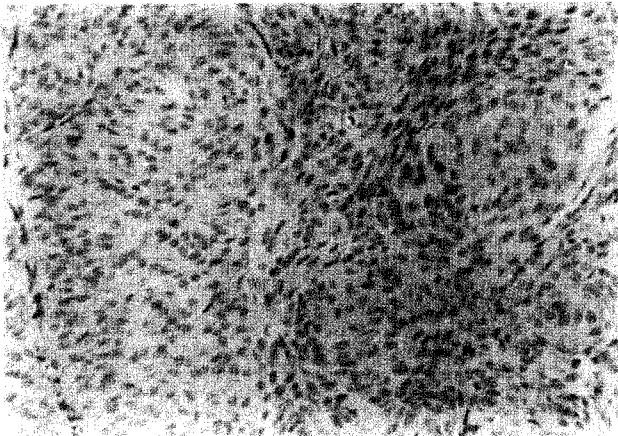


Fig.3. Immunohistochemical stain of Rb(Wild type)(×200)

성과 침윤성 방광암에서 각각 33.3%(12/36), 81.3%(13/16)로 나타나 침윤성 방광암일 때 표재성 방광암에 비해 Rb가 발현이 안되거나 비정상 과발현이 증가하는 것으로 나타났다($p < 0.01$). 또한 종양 분화도로는 grade I, II, III에서 각각 30%(3/10), 44%(11/25), 69%(11/17)로 종양의 분화도가 나뉠수록 Rb 양성율이 증가하는 것으로 나타났으나 통계적 유의성은 없었다($p = 0.169$). 또 Rb 양성인 환자가 전체 종양 재발 환자중 41.7%(5/12)에서 나타났으나 이것도 통계적 유의성은 없었다($p = 0.709$).

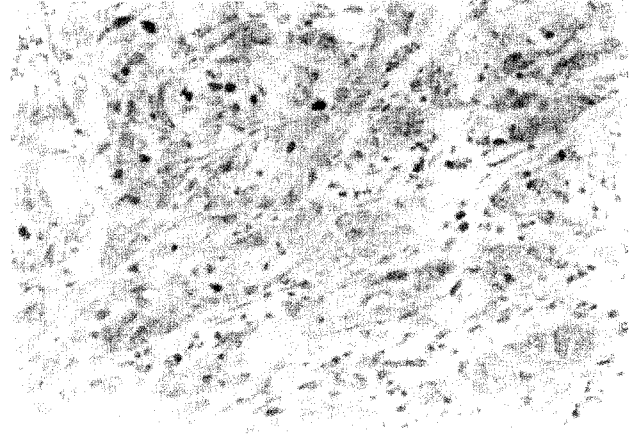


Fig.4. Immunohistochemical stain of mutant type Rb, showing unevenly stained nucleus and cytoplasm(×400)

Rb, p53 각각의 상관관계(단변량비교)

Rb, p53, 종양분화도, 종양병기 등의 4가지 변수의 각각의 상관관계가 연관성을 보기 위해 단변량으로 시행한 Spearman's correlation rank test 결과는 Table 3과 같다. 상관계수를 기준으로 볼 때 p53은 나머지 3개의 변수 모두와 통계적 유의성이 있는 상관관계를 나타냈고 Rb 양성인 환자는 p53, 종양병기와 상관관계가 있고 이중 종양병기와의 상관계수가 0.443으로 가장 높은 것으로 나타났다. 그러나 Rb 이상은 종양분화도와

Table 3. Spearman's correlation between variables that are related to bladder tumor

		RB	p53	STAGE	GRADE
RB	상관계수	1.000	0.336	0.443	0.232
	p-value	.	0.015	0.001	0.098
p53	상관계수	0.336	1.000	0.409	0.385
	p-value	0.015	.	0.003	0.005
STAGE	상관계수	0.443	0.409	1.000	0.690
	p-value	0.001	0.003	.	0.000
GRADE	상관계수	0.232	0.385	0.690	1.000
	p-value	0.098	0.005	0.000	.

는 상관관계가 유의하지 않았고 다른 변수들과의 상관계수 또한 상대적으로 낮아 4개 변수들 중 가장 다른 변수와 상관관계가 낮은 것으로 나타났다. 또한 단변량 변수로 각각 비교시 종양분화도는 종양병기($r=0.690$)와 가장 상관관계가 높은 것으로 나타났다(Table 3).

Rb, p53, 나이, 종양병기, 종양분화도 및 종양재발(다변량비교)

Rb, p53, 성별, 종양병기, 종양분화도, 환자의 나이 등 6개의 변수를 동시에 대입하여 종양재발과의 연관관계를 보기 위해 시행한 multiple logistic regression analysis 결과 어느 변수도 종양재발과 통계적 유의성을 나타내는 변수는 없었다. 다만 종양병기, 종양분화도가 통계적으로 유의하지는 않으나 다른 변수들에 비해 월등하게 종양 재발과의 상관관계가 다변량 비교에서 높게 나타났다.

고 찰

종양은 세포의 성장, 발육조절에 이상 발생시 나타나는 것으로 알려져 있다. 유전적 변화는 세포성장 및 증식에 관여하는 여러 종류와 유전자들의 변형에 의해 이루어지고 원종양유전자(proto-oncogene)는 점돌연변이나 증폭의 과정을 통해 활성화되고 종양억제 유전자(tumor suppressor gene)는 점돌연변이, 재정렬(rearrangement) 또는 결손에 의해 비활성화된(Bishop, 1990).

방광이행상피암도 다른 고형 종양과 마찬가지로 일련의 유전적 변화과정을 통하여 진행되는 병변이다(Sidransky and Messing, 1992). 방광암환자에서 종양의 재발과 진행에 대한 정확한 예측이 환자의 예후를 좋게 하고 생존율을 증가시킨다는 것은 주지의 사

실이다. 지금까지 종양병기와 분화도가 예측 지표로써 가장 좋은 것으로 되어 있으나 이 또한 여러 문제를 내재하고 있다. 이런 이유로 많은 연구자들이 보다 정확하고 실용성이 있는 방광암 예측 지표를 찾고자 노력하고 있다.

p53 종양억제유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하는 11개의 exon으로 구성된 유전자로 처음에는 핵내에서 SV40의 large T antigen과 함께 발견되어 종양항원으로 분류되었으나 이 유전자의 wild type은 세포증식을 억제하는 역할이 있어 나중에 종양 억제 유전자로 밝혀졌다.(Milner and Watsin, 1990) 방광종양에서의 p53은 종양의 성장과정에서 중요하며 종양이 생물학적 활성도를 획득하는데 기여하여 p53발현정도가 의미있는 예후적 정보를 제공한다고 알려져 있다(Sarkis 등, 1993).

정상형의 p53 단백질은 세포의 성장과 분열을 억제하는 기능을 가지며, 종양세포의 억제조절기능을 갖고 있는데, p53 유전자 변이는 일반적인 암종과 관련된 유전자 이상 중 가장 빈도가 높다(Vogelstein and Kinzler, 1992). Wild type p53은 DNA손상시 apoptosis 또는 cell cycle arrest에 관여하고(Kustan 등, 1991) 또한 전사조절에도 관여하는 것으로 알려져 있다(Zambetti 등, 1991). p53의 중요한 목표유전자는 억제인자로 작용하는 p21/WAF1이다(EL-Deity 등, 1993). 이에 반해 mutant type p53 유전자는 정상 p53 단백질과 결합하여 종양성장을 억제시키는 기능을 상실시키고 또한 여러 세포주들의 악성화(malignant transformation)와 관련이 있고 또한 단독으로도 발암기능을 가지는 것으로 보고되고 있다(Eliyahu 등, 1985; Jenkins 등, 1985).

면역조직화학적 염색에서 p53변이단백 과

발현에 대한 해석은 아직도 많은 상반되는 주장이 있다. p53이 양성으로 나타나는 경우는 표재성 방광암에서 종양진행의 위험성을 나타낼 뿐 아니라 침윤성 방광암 환자에서 환자 생존율의 예측지표로 작용한다는 보고가 있다(Kuczyk 등, 1995). 이에 반해 면역조직화학적 염색에서 발견된 p53이상 방광암 환자군은 종양재발과는 상관관계가 적고 단지 종양병기와 종양분화도와 연관이 있으나 이것이 기존의 병기나 분화도 같은 예측지표보다 우수할 것이 없다는 보고도 있다(Underwood 등, 1996). 국내에서도 정 등(1997)의 보고에 의하면 방광암에서 p53 유전자 변이는 종양분화도가 나쁠수록 높게 나타나고($p < 0.05$) 종양병기와는 통계적 유의성은 없으나 고병기일수록 p53양성율이 높게 나타난다고 보고하였다. 또한 종양전이, 종양재발, 생존율 등과는 통계적으로 유의한 상관관계를 보이지 않는다고 보고하였다. 저자들의 연구에서는 p53양성 표재성 방광암 환자군에서 종양재발과는 연관이 없는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 하지만 종양병기, 종양분화도와는 높은 상관관계가 나타나서 후자의 보고와 비슷한 결과를 나타내었다. 반면 이 등(1997)에 의하면 p53은 종양의 분화도, 종양의 병기, 종양재발과의 상관관계가 통계적으로 유의하지 않다는 보고도 있다. 또한 p53은 Rb와도 높은 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 이로 미루어 p53 유전자 변이가 표재성 방광암에서 종양재발 예측지표보다는 종양의 악성화와 침윤성, 이에 따른 생존율의 감소와 연관될 것으로 생각된다.

Rb유전자는 13q14에 위치하는 종양억제 유전자로서 전사 인자인 ATF-2를 활성화시킴으로써 세포성장조절에 간접적으로 관여하며 ATF-2의 활성화는 TGF- β 2 발현을 유도시킨다. 또한 Rb는 cyclin-CDK(cyclin

dependant kinase) 결합체의 효소활성에 관여한다(DeCaprio 등, 1989; Buchkovich 등, 1989). Rb는 G1과 초기 S phase에서는 underphosphorylated form으로 존재하며 G2 phase로 세포주기가 진행되면 phosphorylated 또는 highly phosphorylated form으로 존재한다. Underphosphorylated form의 Rb는 기능적으로 활성화된 형태로 이때 E2F family 등의 DNA 접합단백질과 결합체를 형성해 세포주기의 억제 조절자 역할을 한다(Mitmacht and Weingerg, 1991; Chellappan 등, 1991) 이런 Rb와 방광암과의 관계에 대해선 다양한 연구가 진행되고 있고 특히 종양진행과 예후와의 연관성에 관해 많은 연구가 진행되고 있다(Malkin 등, 1990; Kornblan 등, 1992; Corton-Cardo 등, 1994).

Cordon-Cardo 등(1997)의 연구에서는 표재성 방광암에서 Rb양성이 19%에서 발견되었으나 저자들이 조사에서는 34.3%로 비교적 높게 나타났다. 또한 종양 병기와 종양분화도, 종양진행, 생존율 감소 등과 Rb가 연관성이 있다고 하나 본 연구에서는 종양병기($p < 0.05$, $r = 0.443$)에서만 연관이 있었고, 종양재발, 종양분화도와는 연관이 없는 것으로 나타났다. Rb양성 판정은 p53에 비해 판독자에 따른 주관성이 많이 개입되고 Cordon-Cargo 등(1997)과 Hollstein 등(1991)의 논문에서도 Rb양성은 방광암세포 핵내에서 Rb단백에 의한 발색이 되지 않는 것으로 보고하였고 세포질 등에 불균질하게 발색되는 경우는 1례도 없었다고 보고하고 있다. 저자들의 조사에 참여한 2명의 병리학자들의 판독결과는 세포핵은 발색되지 않았으나 세포질 등에 불균질하게 발색되는 경우는 있었다.

많은 연구자들에 의해 p53과 Rb 변이가 서로 협력 작용하여 방광암에서 두 단백질상이 동시에 존재할 때 종양세포증식의 활성화

와 apoptosis rate의 감소 등이 원인이 되어 종양 진행, 생존률 저하 등 종양 악성화에 큰 영향을 미친다고 보고되고 있다(Corton-Cardo 등, 1994; Kiemeney 등, 1993; Logothetis 등, 1992; Cordon-Cardo 등, 1997)

저자들의 조사에서도 p53과 Rb 모두 양성인 환자는 13.5%(7/52)로 이중 1명을 제외하고는 모두 진단 당시 침윤성 방광암이었고 표재성 방광암으로 진단된 1명의 환자도 종양재발을 하였다. 또한 5명에서 종양분화도가 grade III이었고 나머지 2명도 grade II로 판명되었다. 대상환자가 적어 통계처리는 불가능하나 다른 보고자들과 저자들의 결과도 일치한다고 할 수 있겠다.

위의 면역조직화학적 염색에서 p53 및 Rb단백의 이상소견이 관찰될 경우 일반적으로 p53유전자 및 Rb유전자 돌연변이가 있다고 생각하나 이보다 정확한 정보를 얻기 위해서는 PCR-SSCP, 또는 direct sequencing을 통해 각 유전자의 어느 부위에 어떤 돌연변이가 발생하는지를 조사해야 할 것이다. 또한 인체에서는 매우 드물지만 p53 유전자의 nonsense 돌연변이의 경우 면역조직화학적 염색에서 위음성으로 나타낼 수 있다고 하지만(Struzbecher 등, 1990) 위에서도 언급한 대로 위음성은 비교적 드물고, 또한 면역조직화학적 염색 결과가 실제 유전자 변이를 찾아내는데는 실제와 큰 차이가 없으므로 많은 조직의 후향적 연구에 적용이 비교적 용이할 것으로 생각된다.

저자들은 면역조직화학적 검색을 통해 p53, Rb 및 방광암의 여러요인(재발, 병기, 분화도 등)과의 연관 관계 및 p53, Rb 자체가 방광암에서 어떠한 상관관계와 의미로 작용하는지를 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

p53 양성율은 종양분화도가 나뉠수록 종양병기가 높을수록 높게 나타났고 종양재발

과는 연관성이 없는 것으로 미루어 p53 단백질의 과발현은 종양의 악성도나 침윤도와 주로 연관이 있는 것으로 생각된다. Rb 이상발현은 주로 침윤성 방광암에서 나타나지만 종양분화도와는 유의하지 않았고 또한 종양 재발과도 연관이 없었다. p53, Rb 지표 모두 표재성 방광암환자에서 재발을 예측하는 지표로는 사용하기 어렵고 단지 지표가 양성인 경우 재발이 더 빈번한 경향이 있었다. 방광암 재발 예측 인자를 알고자 p53, Rb 병기, 분화도, 성별을 대입한 다변량 분석에서도 역시 유의한 예측 인자는 없었다. 다만 종양병기, 분화도가 비교적 상관관계가 높게 나타났다. p53, Rb 지표는 서로 상관관계가 있었고, 세포 증식의 활성도와 apoptosis 사이에 매우 밀접한 연관이 있는 것으로 추측되며 이에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 향후 p53, Rb 유전자변이 이후의 지표를 서로 유기적으로 활용시 방광종양 환자의 예후예측 및 재발예측에 좋은 지표로 활용할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 p53 및 Rb 유전자 변이가 종양세포 증식의 활성화와 연관이 있고 이것이 방광암의 악성화와 침윤암으로의 진행에 중요한 역할을 담당하리라 추정되므로 계속적으로 추적 연구할 계획이다.

References

- Bartek J, Vojtesek B, et al. Cellular localization and T antigen binding of the retinoblastoma protein. *Oncogene* 7:101-8, 1992.
- Buchkovich K, Duffy JA, et al. The retinoblastoma protein is phosphorylated during specific phases of the cell cycle. *Cell* 58:1097-105, 1989.

- Chellappan SP, Riebert S, et al. The E2F transcription factor is a cellular target for the Rb protein. *Cell* 65:1051-61, 1991.
- Cohen SM, Molecular themes in oncofenesis. *Cell* 64:235-48, 1991.
- Corton-Cardo C, Dalbagni D, et al. p53 mutations in human bladder cancer: genotypic versus phenotypic patterns. *Int. J Cancer* 56:347-53, 1994.
- Cordon-Cardo C, Wartinger D, et al. Altered expression of the retinoblastoma gene product: prognostic indicator in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 84:1251-56, 1992.
- Cordon-Cardo C, Zhang ZF, et al. Cooperative effects of p53 and Rb alterations in primary superficial bladder tumors. *Cancer Res* 57:1217-21, 1997.
- Decaprio JA, Ludlow JW, et al. The product of the retinoblastoma susceptibility gene has properties of a cell cycle regulatory element. *Cell* 58:1085-95, 1989.
- EL-Deity WS, Tokino T, et al. A potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* 75:817-25, 1993.
- Eliyahu D, Michalovitz D, et al. Overproduction of p53 antigen makes established cell highly tumorigenic. *Nature* 316: 158-60, 1985.
- Finlay CA, Hinds PW, et al. Activating mutations for transformation by p53 produce a gene product that forms an liso70-p53 complex with an altered half-life. *Mol Cell Biol* 8: 531-539, 1988.
- Hollstein M, Sidransky D, et al. p53 mutations in human cancer. *Science* 253:49-83, 1991.
- Ishikawa J, Xu HJ, et al. Inactivation of the retinoblastoma gene in human bladder and renal cell carcinoma. *Cancer Res* 51: 5736-40, 1991.
- Jenkins JR, Rudge K, et al. The cellular oncogene p53 can be activated by mutagenesis. *Nature* 317: 816-8, 1985.
- Kiemeney LALM, Witjes JA, et al. Predictability of recurrent and progressive disease in individual patients with primary superficial bladder cancer. *J Urol* 1509: 60-64, 1993.
- Koch M, Hill GB, et al. Factors affecting recurrence rates in superficial bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 76:1025, 1986.
- Kornblan SM, Xu, UL, et al. Clinical implicatuins of decrease retinoblastoma protein expression in acute myelofenous leukemia. *Cancer Res* 1992; 52: 4587-90.
- Kuczyk MA, Bokemeyer C, et al. p53 overexpression as a prognostic factor for advanced stage bladder cancer. *Eur J Cancer* 31A: 2243-7, 1995.
- Kustan M, Onkyokwero O, et al. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res* 51; 6304-11, 1991.
- Land H, Parada LF, et al. Cellullar oncogenes and multistep carcinogenesis. *Science* 222: 771-8, 1983.
- Loening S, Narayana A, et al. Factors influencing the recurrence rate of bladder cancer. *J Urol* 123: 29, 1980.
- Logothetis CJ, Xu HJ, et al. Altered expression of retinoblastoma protein and known prig bistability variables in locally advanced bladder cancer. *J Natl Cancer*

- Inst. 84: 1256-61, 1992.
- Malkin D, strong JC, et al. Germ line p53 mutatuions in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas and other neoplams. Science 250:1233-8, 1990.
- Milner J, and Watsin JV. Addition of fresh medium induces cell cycle and conformational changes in p53, a tumor suppressor protein. Oncogene 5: 1680-90, 1990.
- Mitmacht S, and Weinberg RA. G1/S phosphorylation of the retinoblastoma protein is associated with an altered affinity of the nuclear compartment. Cell 65: 381-93, 1991.
- Sarkis A, Daibagni G, et al. Detection of p53 mutations in superficial (T1) bladder carcinomas as a marker of disease progression. J Natl Cancer Inst 85: 53-9, 1993.
- Sarkis AD, Dalbagni G, et al. Nuclear expression of p53 protein in transitional cell bladder carcinoma: A marker for disease progression. J Nat Cancer Inst 85:53-9, 1993.
- Sidransky D, and Messing E. Molecular genetics and biochemical mechanisms in bladder cancer: Oncogenes, tumor suppressor genes and growth factors. Urol Clin North Am 19: 629-39, 1992.
- Struzbecher HW, Maimets T, et al. The p53 nuclear localization signal is structrually linked to a p34 kinase motif. Oncogene 5:432-6, 1990.
- Underwood MA, Reeves J, et al. Overexpression of p53 protein and its significance for recurrent progressive bladder tumors. Br J Urol 77(5): 659-66, 1996.
- Vogelstein B, and Kinzler KW. p53 function and dysfunction. Cell 70: 523-6, 1992.
- Weinberg RA. Oncogenes, antioncogenes, and the molecurl bases of multistep n carcinogenesis. Cancer Res 49: 3713-21, 1989.
- Williams BO, Reminton L, et al. Cooperative tumorigenic effects of germline mutations in Rb and p53. Nat Genet 7:480-4, 1994.
- Zambetti G, Bargonetti J, et al. Wild-type p53 mediates positive regulation of gene expression through a specific DNA sequence element. Genes Dev 6: 1143-9, 1991.
- 정진수, 김수웅 등. 방광전적출술을 시행한 방광이행상피세포 암환자에서 예후인자로서 p53 단백질 과발현의 의의. 대한 비뇨회지 38(3): 250-258, 1997.
- 이병권, 정순희 등. 방광이행상피세포암에서 p53 단백질 발현양상과 그 임상적 의의에 관한 연구. 대한 비뇨회지 38(11): 1137-1146, 1997.