

갑상선 여포상 선종과 암종의 감별진단에서 p27^{KIP1}, MIB-1, bcl-2, p53 발현의 유용성에 대한 연구

인제대학교 의과대학 부산백병원 해부병리학교실,¹⁾ 일반외과학교실²⁾
고신대학교 의과대학 외과학교실,³⁾ 병리학교실,⁴⁾ 동아대학교 의과대학 병리학교실⁵⁾
강미선¹⁾ · 윤혜경¹⁾ · 김상효²⁾ · 윤기영³⁾ · 이충한³⁾
최경현³⁾ · 허 방⁴⁾ · 노미숙⁵⁾ · 홍숙희⁵⁾

= Abstract =

The Significance of p27^{KIP1}, MIB-1, bcl-2 and p53 Expression in the Differential Diagnosis of Follicular Adenoma and Carcinoma of the Thyroid Gland

Mi Seon Kang, M.D.,¹⁾ Hye Kyoung Yoon, M.D.,¹⁾ Sang Hyo Kim, M.D.,²⁾
Ki Young Yoon, M.D.,³⁾ Choong Han Lee, M.D.,³⁾ Kyung Hyun Choi, M.D.,³⁾
Bang Hur, M.D.,⁴⁾ Mi Sook Roh, M.D.,⁵⁾ Sook Hee Hong, M.D.⁵⁾

Department of Pathology¹⁾ and General Surgery,²⁾ Pusan Paik Hospital, Inje University, Busan, Korea
Department of General Surgery³⁾ and Pathology,⁴⁾ Gosin University, Collage of Medicine, Busan, Korea
Department of Pathology,⁵⁾ Dong-A University, Collage of Medicine, Busan, Korea

Objectives : The most important differential point of follicular carcinoma from adenoma is capsular invasion or angioinvasion of follicular cells. Serial sections for examination of levels of tumor margins are necessary to watch the invasion. However, the interpretation of capsular invasion or angioinvasion is sometimes not feasible on the routine staining of tumor tissue. The aim of this study is to evaluate the clinical significance of expressions of p27^{KIP1}, MIB-1, bcl-2 and p53 in differential diagnosis of follicular adenoma and carcinoma.

Materials and Methods : 16 cases of follicular carcinoma and 26 cases of follicular adenoma were entered on study of immunohistochemical stains for p27^{KIP1}, MIB-1, bcl-2 and p53. In carcinoma cases, correlation between the above markers, patient's age, tumor size, infiltration pattern and metastasis was studied.

Results : p27^{KIP1} labelling index (LI) of follicular carcinoma and adenoma was 4.89 ± 6.92 and 14.52 ± 9.17 , respectively, but there was no significant difference between adenoma and carcinoma ($p=0.2560$). MIB-1 LI of carcinoma and adenoma was 4.11 ± 3.89 and 0.80 ± 0.75 , respectively, and MIB-1 LI was significantly higher in carcinoma ($p=0.0000$). bcl-2 expression was seen in 2 (12.5%) of 16 carcinoma cases and 13 (50.0%) of 26 adenoma cases, and bcl-2 expression rate was higher in adenoma than in carcinoma ($p=0.014$). In one adenoma and one carcinoma case, p53 expression was noted. In follicular adenoma with atypia compared to adenoma without atypia, lower p27^{KIP1} LI, higher MIB-1 LI and lower bcl-2 expression rate were seen. In follicular carcinoma, MIB-1 LI was significantly higher in invasive carcinoma ($p=0.045$) and was relatively increased in tumors larger than 3.0cm, showing angioinvasion and distant metastasis. But p27^{KIP1} LI was higher in cases over 40 years old ($p=0.008$) and with conspicuous capsular invasion. There were no positive correlations between expressions of MIB-1, bcl-2 and p53.

Conclusion : MIB-1 labelling index and bcl-2 expression could be helpful for differential diagnosis of follicular adenoma and carcinoma, but p53 showed very low expression rate and no significance in differential diagnosis.

p27^{KIP1} labelling index reveals decreasing tendency in carcinoma compared with adenoma. MIB-1 LI was considered as a poor prognostic marker in follicular carcinoma, but p27^{KIP1} LI was higher in carcinoma cases over 40 years old with showing conspicuous capsular invasion. Further study for the significance of p27^{KIP1} labelling index in follicular neoplasms is necessary to evaluate diagnostic value of follicular carcinoma.

KEY WORDS : Follicular adenoma · follicular carcinoma · p27^{KIP1} · MIB-1 · bcl-2 · p53.

서 론

갑상선에서 발생하는 종양은 다양한 임상적, 병리조직학적 소견을 보인다. 각 종양의 유형별로 진단의 근거가 되는 특징적인 조직학적 소견이 기술되어 있으나 여포상 선종과 여포상 암종의 구분은 쉽지 않다. WHO의 기준에 의하면 여포상 암종의 경우 종양세포들의 세포학적 혹은 구조적인 비정형성은 진단에 도움이 되지 못하며 단지 피막이나 혈관내로 뚜렷한 종양세포들의 침윤이 관찰될 때에만 암종으로 진단할 수 있다고 하였다. 그러나 육안적으로 종괴가 피막을 침윤하는 소견을 관찰할 수 없는 경우에는 현미경 소견상 피막 혹은 혈관을 침윤하는 소견을 찾아야 하므로 진단에 어려움이 따르며 이에 Lang 등¹⁾은 여포상 종양을 진단하기 위하여 최소한 10개 이상의 조직 절편을 만들 것을 제안하기도 하였다. 또한 Evans 등²⁾은 encapsulated type의 여포상 암종으로 진단된 경우에도 암종세포가 다른 장기로 전이된 경우를 보고하여 사실상 종양세포들이 피막이나 혈관을 침윤하는 소견 외에도 양성파 악성의 감별에 도움이 되는 다른 진단기준의 확립이 필요할 것으로 생각된다. 또한 종양세포에서 관찰되는 구조적 또는 세포학적 이형성, 유사분열 등이 암종의 진단에 도움이 되지 못하므로 수술 전에 시행하는 세침흡인 세포학적 검사나 생검 소견상 여포상 종양의 확진이 불가능하여 형태학적 소견의 부가적으로 사용될 수 있는 진단방법이 필요하다. 최근에는 여포상 선종과 여포상 암종을 감별하는데 있어 세포의 증식 및 apoptosis의 조절과 관련된 여러 가지 표지인자에 대한 연구가 진행 중이다³⁻⁶⁾.

암종의 발생은 종양세포의 축적에 의하며 이는 세포의 증식이 증가되거나 혹은 소멸이 감소되는 것과 연관성이 있으며⁷⁾ 세포의 증식은 cyclin의 농도와 활성화에 의해 조절된다. 각각의 cyclin은 특이적인 cyclin dependent kinase (CDK)와 함께 복합체를 형성함으로써 활성화되는데^{8,9)} cyclin B/CDK1 복합체는 세포가 G2기에서 M기로 진입하도록 매개하는 역할을 하며 cyclin D/CDK4, 혹은 cyclin D/CDK6 복합체는 세포가 G1에서 S기로 진입하는데 중요한 역할을 한다⁹⁾. 이들 cyclin과 CDK 복합체는 인산화에 의해 활성화되어 세포분열, DNA 복제 등에 관여하는 일련의 단

백질들을 활성화시킨다. 반면, cyclin과 CDK 복합체는 CDK inhibitor에 의하여 작용이 억제되며 CDK inhibitor는 구조적, 기능적인 면에 따라 두 가지 군으로 나뉜다. p27^{KIP1}은 p27^{CIP1}, p57^{KIP2}와 함께 cip/kip 군에 속하며 cyclin D, E, A-dependent kinase를 각각 방해하여 세포가 증식주기의 G1기에서 S기로 진입하는 것을 막아 세포의 증식을 억제한다고 알려져 있다. 여러 연구들에서 p27^{KIP1}이 분화가 나빠지거나 고등급의 조직학적 형태를 보이는 유방암¹⁰⁾, 대장암¹⁰⁾, 식도암¹¹⁾, 전립선암¹²⁾ 등에서 낮게 발현되었으며 p27^{KIP1}이 낮게 발현되는 경우 환자의 나쁜 예후와 관계된다고 보고되어 있다. Tan 등¹³⁾은 1cm 미만의 크기가 작은 유방암종의 경우에도 p27^{KIP1}의 발현이 감소한 환자에서는 예후가 나쁘다는 연구결과를 보고하기도 하였다. 최근에 Qian 등¹⁴⁾과 Lloyd 등¹⁵⁾은 정상 내분비계 조직의 p27^{KIP1} 발현이 종양 조직에 비해 증가되어 있었으며 이로써 p27^{KIP1}이 내분비계 조직에서 발생한 종양의 진단에 유용한 표지자로 사용될 수 있을 것이라고 보고하였다.

MIB-1은 세포의 증식능을 나타내는 표지자로서 정상 또는 종양세포에서 세포주기의 G1, S, G2 및 M기에 발현되고 휴지기에는 발현되지 않는 비히스톤 단백질의 일종이다¹⁶⁾. MIB-1은 휴기기를 제외한 모든 세포주기에서 발현되므로 cyclin, CDK, CDK inhibitor등과 비교하여 세포의 증식능을 보는데 유용하다. 1992년 Cattoretti 등¹⁷⁾이 파라핀 포매조직에서 MIB-1 항원을 인지하는 새로운 MIB-1 항체를 보고한 이후 MIB-1은 면역조직화학염색으로 다량의 조직표본에 쉽게 적용하여 종양의 악성도나 증식능을 측정하는데 널리 이용되고 있다.

bcl-2와 p53은 apoptosis에 관여하는 중요한 유전자로서 bcl-2는 18번 염색체의 단완에 위치하며 apoptosis를 억제하는 역할을 하며 여포성 림프종과 B림프구성 림프종을 일으키는 유전자로서 처음 발견된 이래¹⁸⁾ 폐¹⁹⁾, 전립선²⁰⁾, 비인두²¹⁾ 등에 발생한 암종에서 의미있는 예후인자로 보고되었다. p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하며 변형된 p53 유전자에 의해 생성된 p53 단백질은 야생형에 비해 매우 안정된 상태로서 세포의 핵에 축적된다. 그러므로 면역조직화학 염색상 야생형의 p53 유전자를 가진 정상세포에서는 p53 단백질이 발현되지 않으나 변이형 p53 유전자를 가진 세포에서는 p53 단백질의 발현을 관찰할 수 있다²²⁾.

p53 유전자 산물은 손상받은 DNA를 인지하여 세포주기를 정지시키므로써 DNA가 복구될 기회를 제공하거나 혹은 더 이상 증식할 수 없도록 apoptosis를 촉진시키므로써 암 억제 유전자로 작용하나 DNA의 손상이 있을 때는 오히려 종양의 발생을 유발하는 것으로 알려져 있으며²²⁾²³⁾ 여러 암종에서 가장 흔히 발견되는 유전자 변이로 알려져 있다. 이에 본 연구는 갑상선에 발생한 여포상 암종과 여포상 선종에서 세포의 증식과 관련된 표지자인 p27^{KIP1}, MIB-1과 apoptosis의 조절에 관여하는 p53, bcl-2 유전자의 발현을 조사하여 이들 표지자가 두질환의 감별진단에 있어서 유용성을 갖는지 알아보고 또한 상기 표지자의 발현이 여포상 암종의 예후에 영향을 미치는 여러 임상소견들과 연관성을 갖는지를 조사해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구 재료

1994년부터 2000년까지 인제대학교 부속 부산 백병원, 동아대학교 부속병원, 고신대학교 부속병원에서 외과적으로 절제되어 여포상 암종으로 진단된 증례들 중 파라핀 블록의 보관상태가 양호한 16예와 1997년부터 2000년까지 인제대학교 부속 부산 백병원에서 외과적으로 절제되어 여포상 선종으로 진단된 증례들 중 파라핀 블록의 보관상태가 양호한 26예를 대상으로 하였다.

2. 연구 방법

1) 임상소견

병력지를 조사하여 환자의 성별, 진단 당시의 연령, 종괴의 크기, 국소 림프절 또는 다른 장기로의 전이 여부를 조사하였다.

2) 병리조직학적 분석

여포상 암종으로 진단된 16예의 H & E 염색 표본을 재검색하였으며 종양세포들이 피막을 완전히 관통하여 피막을 둘러싸는 갑상선 조직으로 침윤하는 경우를 침윤성 암종(invasive carcinoma)으로 구분하였으며³⁶⁾ 피막으로의 침윤은 관찰되나 주변 갑상선 조직으로의 침윤은 관찰되지 않는 경우를 미세침윤성 암종(minimally invasive carcinoma, encapsulated carcinoma)으로 구분하였다. 종양 색전이 종괴의 피막 내에 위치한 혈관내에서 관찰되며 혈관벽에 종양 색전이 유착되어 있으며 종양 색전의 표면을 혈관 내피 세포들이 덮고 있는 소견이 관찰되는 경우를 혈관 침윤으로 판독하였다.

여포상 선종으로 진단된 26예의 H & E 염색 표본을 재검색하여 종괴의 피막이나 피막 내 혈관으로의 침윤 소견

이 관찰되지 않는지 확인하였으며, 종양세포들이 고형성(solid), 육주형(trabecular), 미세 여포상(microfollicular)의 성장 양상을 보이거나 유사분열이 관찰되는 경우는 비정형성 소견을 보이는 것으로 판정하였다.

3) 면역조직화학 염색

각 증례별 가장 대표적인 파라핀 블록으로부터 연속 절편을 얻어 p27^{KIP1}, MIB-1, bcl-2, p53에 대한 일차 항체를 이용하여 면역조직화학염색(LSAB법)을 시행하였다.

각 증례의 파라핀 블록을 4 μ m 두께의 절편을 유리 슬라이드에 부착시키고 파라핀을 녹인 후 100% xylene에서 10분간 2회 탈 파라핀 과정과 계열 알코올로 10분간 흡수 과정을 거친 후 증류수로 세척하였다. 항원성 회복을 위하여 10mM citrate 완충액(pH 6.0)에 슬라이드를 넣고 microwave 오븐을 이용하였다. 메탄올과 30% 과산화수소가 9 : 1의 비율로 섞인 용액에 10분간 처리하여 내인성 peroxidase를 차단한 후 Tris buffered saline(10 mM Tris, 150mM NaCl, pH 7.2, 이하 TBS로 명함)으로 3회 수세하였다. 이후의 과정은 LSAB(Labeled streptavidine biotin) kit를 이용하고 15분간 normal goat serum을 처리한 후 p27^{KIP1} 항체(Dako, Denmark), MIB-1 항체(Zymed, CA), bcl-2 항체(Dako, Denmark), p53 항체(Dako, Denmark)를 각각 1 : 50, 1 : 30, 1 : 50, 1 : 80으로 희석하여 처리한 후 실온에서 60분간 반응시켰다. TBS로 10분간 3차례 수세한 후 2차 항체인 horse biotinylated anti-rabbit IgG (1 : 50 in TBS, Sigma)를 실온에서 30분간 반응시켰다. TBS로 다시 3차례 수세한 후 streptavidin으로 실온에서 30분간 반응시킨 후 TBS로 수세하고 AEC(amino-ethyl-carbazole)로 10~20분간 실온에서 발색시켰다. Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하고 Crystal mount를 사용하여 봉입한 후 검경하였다. 음성 대조 표본은 일차항체 대신 TBS를 사용하여 위와 동일한 방법으로 염색하였다.

4) 면역화학조직 염색의 판독

양성 증식증으로 진단된 편도선 조직을 p27^{KIP1}과 MIB-1, bcl-2 염색의 양성 대조군으로 사용하였으며, p53 단백질의 발현이 관찰되었던 침윤성 유방암종 조직을 p53 염색의 양성 대조군으로 사용하였다. p27과 MIB-1은 모두 종양세포의 핵에 적갈색으로 염색된 경우를 양성으로 판독하였으며 각 증례별로 임의로 선정한 3~4개의 400배 시야에서 1000개의 종양세포를 세어 그 중에서 양성반응을 보인 세포들의 비율을 구하여 표지자수를 산출하였다.

p27^{KIP1}, MIB-1 표지자수(%) =

$$\frac{\text{p27}^{\text{KIP1}} \text{ 또는 MIB-1 염색에 양성인 종양세포의 수}}{\text{관찰된 총 종양세포의 수(1000)}} \times 100$$

bcl-2는 5% 이상의 중양세포들의 세포질에서 적갈색으로 발현되는 경우를 양성으로 판독하였으며, p53은 양성세포의 수에 관계없이 중양세포의 핵에 뚜렷하게 적갈색으로 염색된 경우에 양성으로 판독하였다.

5) 결과 분석 및 통계처리

여포상 암종과 여포상 선종에서 p27^{KIP1} 표지지수와 MIB-1 표지지수의 차이를 t-test를 사용하여 분석하였으며, bcl-2와 p53 단백질의 발현율의 차이를 구하기 위하여 Mantel-Haenszel Chi-Square Test를 이용하였다. 모든 통계 처리는 PC-SAS 프로그램(version 6.12)으로 시행하였다.

연구결과

1. 임상적 소견

여포상 암종과 여포상 선종 총 42예 중 여자가 38예, 남자가 4예로 나타났으며 여포상 암종으로 진단된 환자들과 여포상 선종으로 진단된 환자들의 진단 당시 평균 연령은 각각 38.7세와 40.4세로서 차이를 보이지 않았다.

종괴의 평균 크기는 암종이 3.9cm, 선종은 3.6cm으로 차이가 적었으며 여포상 암종 16예 중에서 수술시 림프절 절제를 시행하였던 3예 모두 암세포의 전이 소견은 관찰되지 않았다.

여포상 암종 16예 중 2예에서 암세포가 인접장기로 직접 전파되거나 다른 장기로 원격전이되었는데, 이중 1예는 종괴 주변부의 경부근육 및 피부부의 전이소견이 관찰되었으며 1예는 골주사검사상 경골로 전이된 소견이 관찰되었다.

2. 병리조직학적 소견

여포상 암종 16예 중 침윤성 암종이 5예이었으며 나머지 11예는 미세침윤성 암종이었다. 16예 중 단지 1예에서 피막 침윤 소견과 동반되어 뚜렷한 혈관 침윤 소견이 관찰되었다. 여포상 선종 26예 중 6예에서 비정형성 소견이 관찰되었다.

3. 면역화학조직 염색 소견

1) p27의 발현

양성 대조군으로 사용한 편도선 조직에서 세포의 증식이 활발히 일어나고 있는 여포중심(germinal center)에서는 p27^{KIP1} 단백질이 발현되지 않았으나 세포의 증식이 별로 없는 맨틀지역(mantle zone)의 소림프구들의 핵에서는 p27^{KIP1} 단백질의 강양성 반응이 관찰되었다.

여포상 선종에서의 p27^{KIP1} 표지지수의 평균은 14.52±9.17(범위: 0.6~33.0)이었다. 여포상 암종에서 p27^{KIP1} 표지지수의 평균은 4.89±6.92(범위: 0.0~21.3)로서 여포상 선종에 비해 현저히 감소하였으나(Fig. 1) 통계학적 유의성은 없었다(p=0.2560). 26예의 여포상 선종 중에서 비정형성 소견을 보이는 경우의 p27^{KIP1} 표지지수가 10.53±7.39(범위: 3.0~20.3)로서 비정형성 소견이 없는 경우의 15.90±9.60(범위: 0.6~33.0)에 비해 감소하였으나 역시 통계학적 유의성은 없었다(Table 1).

2) MIB-1 발현

p27^{KIP1}과는 반대로 양성 대조군으로 사용한 편도선 조직의 여포중심에서 MIB-1의 발현이 빈번히 관찰되었으나

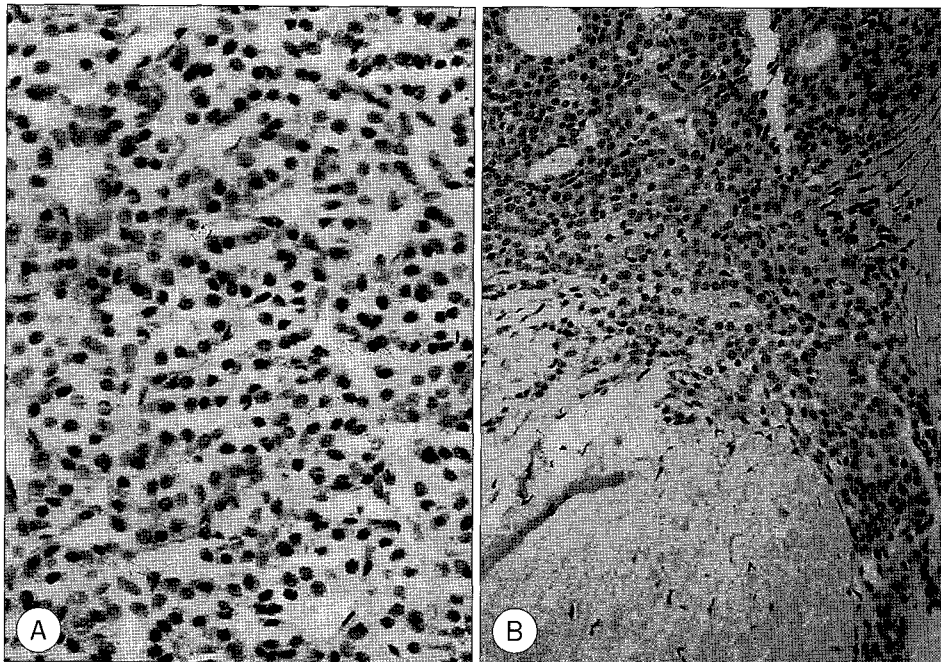


Fig. 1. High p27 (kip1) expression in follicular adenoma (×200) (A), and rare nuclear positivity in follicular carcinoma (×200) (B) (LSAB method).

Table 1. p27^{KIP1} labelling index (LI) and MIB-1 LI in follicular carcinoma and adenoma

Diagnosis	No of case	p27 ^{KIP1}		MIB-1 (%)*	
		Mean ± SD	Range	Mean ± SD	Range
Carcinoma	16	4.89 ± 6.92	0.0-21.3	4.11 ± 3.89	0.4-12.5
Invasive	5	10.90 ± 9.69	0.0-21.3	7.06 ± 4.48	3.0-12.5
Encapsulated	11	2.15 ± 2.83	0.0- 8.3	2.76 ± 2.88	0.4- 8.0
Adenoma	26	14.52 ± 9.17	0.6-33.0	0.80 ± 0.75	0.1- 2.1
With atypia	6	10.53 ± 7.39	3.0-20.3	1.48 ± 0.96	0.4- 2.6
Without atypia	20	15.90 ± 9.69	0.6-33.0	0.60 ± 0.60	0.1- 2.1

* : p<0.05

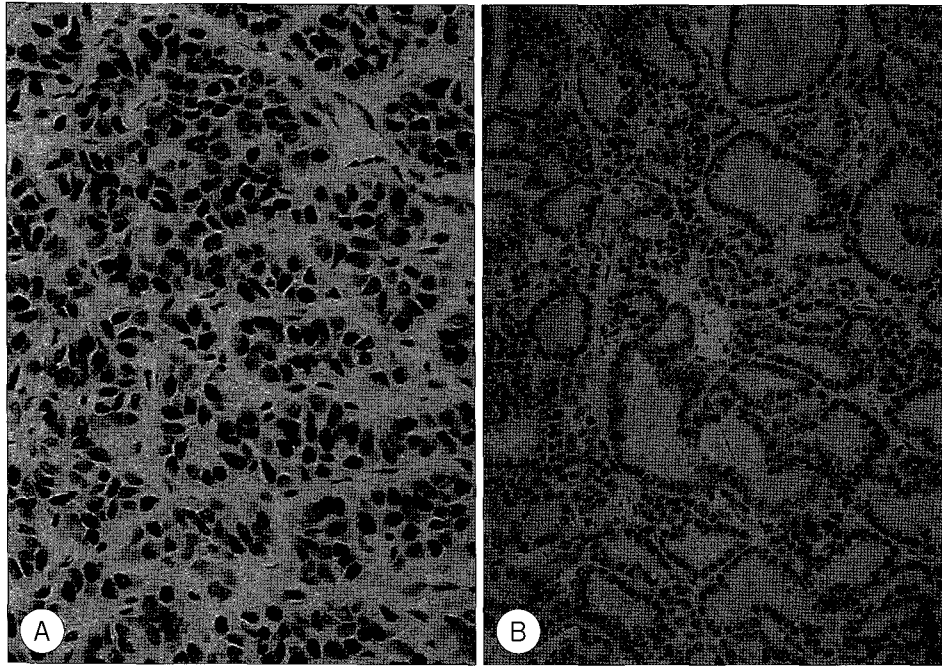


Fig. 2. High mib-1 expression in follicular carcinoma (×200) (A), and rare nuclear positivity in follicular adenoma (×200) (B) (LSAB method).

멘틀지역에서는 발현되는 세포의 수가 적었다.

여포상 암종의 MIB-1 표지지수의 평균은 4.11 ± 3.89 (0.4~12.5)로서 여포상 선종의 평균 0.80 ± 0.75 (0.1~2.6)에 비해 의미있게 높았으며 (p=0.0000) (Fig. 2), 비정형성 소견을 보이는 여포상 선종의 MIB-1 표지지수의 평균은 1.48 ± 0.96 (0.4~2.6)으로 비정형성 소견을 보이지 않는 경우의 평균 0.60 ± 0.60 (0.1~2.1)에 비해 높았으나 통계학적 의의는 없었다 (Table 1).

3) bcl-2 발현

bcl-2는 여포상 암종 16예 중 2예 (12.5%)에서, 여포상 선종 26예 중 13예 (50.0%)에서 양성 반응을 보여 암종에서의 발현율이 현저히 낮았다 (p=0.014) (Fig. 3A, B). 비정형성 소견을 보이는 여포상 선종에서 bcl-2의 발현율이 33.3%로서 비정형성 소견을 보이지 않는 경우의 55.0%에 비해 낮았으나 통계학적 의의는 없었다. 침윤성 암종에서 bcl-2의 발현율이 20.0%로서 미세침윤성 암종에서의

9.1%에 비해 오히려 높았으나, 이 역시 통계학적 의의는 없었다 (Table 2).

4) p53 발현

p53은 여포상 암종 16예와 여포상 선종 26예 중 각각 1예에서만 양성이었다 (Table 2).

5) p27과 MIB-1 표지지수의 상관성

여포상 선종 및 여포상 암종에서 p27^{KIP1} 표지지수는 MIB-1 표지지수와 반비례하는 양상을 보였다 (p=-0.32).

암종에서 p27^{KIP1} 및 MIB-1 발현과 예후인자와의 연관성

1. 환자의 연령에 따른 연관성

진단 당시 환자의 연령이 40세 미만이었다는 경우와 40세 이상이었던 경우에 p27^{KIP1} 표지지수의 평균은 각각 1.4 ±

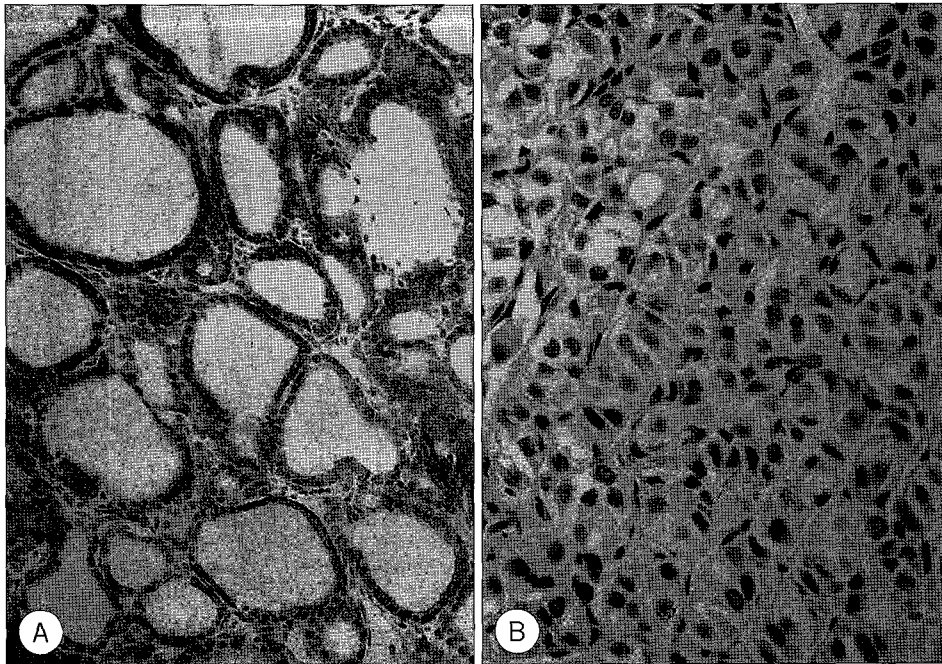


Fig. 3. Bcl-2 expression. Positive reaction in follicular adenoma(A) ($\times 200$), and negative in follicular carcinoma(B) ($\times 200$) (LSAB method).

Table 2. Expressions of bcl-2 and p53 in follicular carcinoma and adenoma

Diagnosis	No. of cases	bcl-2*	p53
		No. of positive cases (%)	No. of positive cases (%)
Carcinoma	16	2(12.5)	1(6.3)
Invasive	5	1(20.0)	1(20.0)
Encapsulated	11	1(9.1)	0(0.0)
Adenoma	26	13(50.0)	1(3.8)
With atypia	6	2(33.3)	0(0.0)
Without atypia	20	11(55.0)	1(5.0)

* : $p < 0.05$

2.1(0.0~6.7)과 10.7 ± 8.4 (1.3~21.3)로서 40세 이상이었던 군에서 높았다($p=0.008$). MIB-1 표지지수는 40세 미만이었었던 군에서 4.1 ± 4.1 (0.4~12.5), 40세 이상이었던 군에서 4.1 ± 3.9 (1.4~11.3)로서 차이가 없었다(Table 3).

2. 종괴의 크기와의 연관성

종괴를 크기에 따라 3.0cm 미만과 3.0cm 이상인 군으로 나누었을때 두 군의 $p27^{KIP1}$ 표지지수가 4.9 ± 7.6 (0.0~21.3), 4.9 ± 6.9 (0.0~21.0)로서 차이를 보이지 않았으며 MIB-1 표지지수는 종괴의 크기가 3.0cm 이상이었던 경우가 4.5 ± 3.8 (0.4~12.5)로서 3.0cm 미만이었었던 경우의 3.6 ± 4.2 (0.4~7.7)에 비하여 높았으나 통계학적 유의성은 없었다(Table 3).

3. 피막 및 혈관침윤과의 연관성

여포상 암종 16예 중 침윤성 암종 5예의 $p27^{KIP1}$ 표지

지수의 평균은 10.9 ± 9.7 (범위 : 0.0~21.3)로서 미세침윤성 암종에서의 2.2 ± 2.9 (0.0~8.3)에 비해 오히려 높았으나 통계학적 의의는 없었다($p=0.122$). MIB-1 표지지수는 침윤성 암종에서 7.16 ± 4.5 (3.0~12.5)로서 미세침윤성 암종(2.8 ± 2.9 , 0.4~8.0)에 비해 유의있게 높았다($p=0.045$). 혈관침윤이 관찰되었던 1예에서 $p27^{KIP1}$ 표지지수는 5.6으로 여포상 암종 전체의 평균 4.9에 비해 약간 높았으며 MIB-1 표지지수는 11.3으로 평균 4.1에 비해 훨씬 높았다(Table 3).

4. 원격전이와의 연관성

16예의 여포상 암종 중에서 원격전이를 보였던 2예의 $p27^{KIP1}$ 표지지수는 21.3과 0.0이었으며, MIB-1 표지지수는 11.3과 12.5로서 여포상 암종 전체의 평균 4.1에 비해 현저히 높았다(Table 3).

고 찰

여포상 암종을 진단하기 위해서는 반드시 종양세포가 종괴의 피막이나 혈관을 침윤하는 소견을 관찰하여야 하며 이를 위해서는 종괴에서 다수의 조직절편을 취하여야 할 뿐만 아니라 여러개의 연속절편을 얻어 검색하여야 한다¹⁾. 그럼에도 불구하고 여포상 암종을 여포상 선종으로 오진하는 경우를 배제하기 어려우며 특히 피막의 침윤이 뚜렷하지 않은 미세침윤성 암종의 경우 진단에 어려움이 있다. 이러한 진단상의 문제점을 극복하기 위해서 여포상 암종을 좀더 정

Table 3. Correlation between prognostic factors and p27^{KIP1} LI and MIB-1 LI in follicular carcinoma

Prognostic factor	No. of cases	p27 ^{KIP1} (%)			MIB-1 (%)		
		Mean ± SD	Range	p value	Mean ± SD	Range	p value
Age							
≥40yrs	6	10.7±8.4	1.3–21.3	0.008	4.1±3.9	0.4–12.5	NS
<40yrs	10	1.4±2.1	0.0–6.7		4.1±4.1	1.4–11.3	
Size							
≥3.0cm	9	4.9±6.9	0.0–21.0	NS	4.5±3.8	0.4–12.5	NS
<3.0cm	7	4.9±7.6	0.0–21.3		3.6±4.2	0.4–7.7	
Encapsulation							
Invasive	5	10.9±9.7	0.0–21.3	NS	7.1±4.5	3.0–12.5	0.045
Encapsulated	11	2.2±2.9	0.0–8.3		2.8±2.9	0.4–8.0	

확하고 객관적으로 진단할 수 있는 부가적인 진단법이 필요하다.

악성 종양의 발생은 조절력이 상실된 세포의 지속적인 성장에 의하여 이는 세포주기를 조절하는 cyclin, CDK(cyclin dependent kinase), CDK inhibitor의 이상과 관계된다. 즉, 세포의 성장을 촉진시키는 cyclin의 발현이 증가하거나 세포의 성장을 억제시키는 CDK inhibitor의 감소가 종양의 발생과 연관성이 있다. p27^{KIP1}은 CDK inhibitor로서 작용하여 세포의 성장을 억제하며, 분열이 정지된 상태의 세포에서 주로 발현되므로 세포를 G0기에 머물게 하는 역할을 할 것으로 예측된다. p27^{KIP1}이 감소하거나 원래의 기능을 상실한 경우에 세포의 성장이 증가하게 되고, 이는 여러 정상 장기의 증식 또는 종양의 발생에 매우 중요한 영향을 미치며 정상 및 종양조직에서 p27^{KIP1} 단백질의 발현과 세포의 증식이 반비례한다고 알려져 있다. Lloyd 등¹⁵⁾은 갑상선 암종에서의 p27^{KIP1} 발현이 양성 질환에 비해 의미있게 감소하였다고 보고하였으며, Wang 등³⁾은 cyclin의 과발현이 양성 종양을 발생시키는 “one hit”로서 작용하며 여기에 p27과 같은 CDK-inhibitor가 “second hit”로서 작용하여 악성변화를 일으킨다는 가설을 제시하였다. Erickson 등⁴⁾은 여포상 암종의 p27^{KIP1} 표지지수가 여포상 선종에 비해 현저히 낮고 MIB-1 표지지수는 높았으므로 p27^{KIP1}과 MIB-1의 발현이 여포상 종양의 감별진단에 도움이 된다고 하였다. Katoh 등⁵⁾은 MIB-1 표지지수가 정상 갑상선 조직에 비해 여포상 선종에서 높았으며, 여포상 선종에 비해 여포상 암종에서 높았고, 또한 미세침윤성 암종에 비해 침윤성 암종에서 높았다고 하였다.

본 연구의 결과 MIB-1 표지지수가 여포상 선종에 비해 여포상 암종에서 의미 있게 높았으므로 세포 증식능의 증가가 여포상 선종 및 암종의 감별진단에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각되었다. 이에 비해 p27^{KIP1} 표지지수는 여포상 선종에 비해 여포상 암종에서 감소하는 양상을 보이는 하였으나 통계학적으로 의미 있는 결과를 나타내지 않

았다. 이는 p27 유전자의 발현이 post-transcriptional level에서 조절되며 transforming growth factor(TGF)- β 와 같은 성장조절인자나 inhibitory cytokine등에 의해 조절되는 것과 연관성을 가질것으로 추정되었는데, West 등⁶⁾은 여포상 암종에서 TGF- β 의 작용에 관여하는 TGF- β 수용체와 Smad 단백질의 발현이 여포상 선종에 비해 감소하였다는 연구결과를 보고하기도 하였다.

여포상 선종에서 세포학적 비정형성 소견을 보인 경우 비록 통계적으로 의미있는 결과는 아니었지만 p27^{KIP1} 표지지수가 비정형성을 보이지 않은 경우에 비해 감소하였으며 MIB-1의 표지지수는 반대로 증가하여 이는 비정형성 소견을 보이는 여포상 선종이 그렇지 않은 경우에 비해 세포의 증식능이 증가하였음을 알 수 있었다. 그러므로 여포상 선종으로 진단된 예에서 조직학적으로 비정형성의 소견이 관찰되는 경우에는 피막 및 혈관 침윤소견을 더욱 면밀히 살펴야 할 것으로 사료되었다.

환자의 나이, 성별, 종양의 크기, 피막 침윤, 혈관 침윤, 수술의 범위등이 여포상 암종의 예후와 연관성을 가지는 가장 중요한 인자들로 알려져 있으며, 여러 악성 종양에서 p27^{KIP1} 및 MIB-1이 환자의 예후와 밀접한 연관성을 보였다는 연구 결과도 있으나¹⁰⁻¹³⁾ Tallini 등²⁴⁾의 연구에 의하면 여포상 암종에서 p27^{KIP1}과 MIB-1의 발현은 예후와 관계된 임상적 인자들, 즉 환자의 나이, 종괴의 크기, 림프절 전이, 원격전이, 병기등과 연관성을 보이지 않았다고 하였다. 본 연구에서는 암종의 증례가 부족한 점으로 p27^{KIP1}, MIB-1 발현과 여러 예후인자들간의 연관성에 대한 통계학적 해석이 어려웠으나 MIB-1 표지지수는 피막 침윤이 뚜렷하였던 경우에 유의있게 증가하였으며, 종괴의 크기가 큰 경우, 혈관 침윤이 있었던 경우, 원격 전이가 있었던 경우에서 높게 나타났으므로 여포상 암종에서 MIB-1 표지지수가 높을수록 환자의 예후는 나쁠 것으로 추정되었다. 그러나 p27^{KIP1} 표지지수는 환자의 연령이 40세 이상인 경우에, 그리고 뚜렷한 피막 침윤 소견이 관찰되는 경우에 오

히려 증가하여 다른 종양에서와는 상반된 결과를 보였으므로 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 사료되었다.

Apoptosis는 갑상선에서 정상 여포세포군의 성장 조절에 관여하며, 실험동물에서 thyrotropin, 혈청, 또는 epidermal growth factor를 제거하였을 때 apoptosis가 증가하였다는 보고가 있다²⁵⁾. bcl-2는 apoptosis를 억제하는 역할을 하며 성인의 정상 외분비 관상 세포, 장상피 세포, 그리고 전립선, 유방, 갑상선과 같이 호르몬의 영향을 받는 장기의 상피세포에서 발현된다. 그러므로 매우 분화가 좋은 여포상 암종이나 유두상 암종의 경우에 bcl-2의 발현이 관찰될 수 있으며 분화가 나쁜 암종에서는 bcl-2가 소실된다. Moore 등²⁶⁾은 정상, 결절성 증식성, 여포상 선종 조직에서는 bcl-2가 발현되며 apoptosis는 관찰되지 않는 반면, 분화가 나쁜 암종에서는 bcl-2가 발현되지 않고 apoptosis는 현저히 증가하였다고 보고하였다. 또한 bcl-2의 발현과 apoptosis간에 유의한 상관관계를 나타내므로 갑상선 종양의 apoptosis를 조절하는데 bcl-2가 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 그러나 Moore 등²⁶⁾의 보고에서는 여포상 암종과 여포상 선종간에 bcl-2 발현율의 차이를 보이지 않았다고 하였으나 본 연구에서 여포상 선종과 여포상 암종의 발현율이 각각 50%, 12.5%로 여포상 암종에서의 bcl-2 발현율이 현저히 감소하여 차이를 보였다.

Moore 등²⁶⁾의 연구에서 변형된 p53 단백질의 발현은 분화가 나쁜 암종에서는 모든 예에서 관찰된 반면 여포상 암종과 유두상 암종에서는 각각 17%와 8%로서 발현율이 낮아 p53 유전자의 변이가 모든 갑상선 암종의 발생에 관여하지는 않으며 단지 분화가 나쁜 암종의 발생에만 관여할 것이라고 추정하였다. Ito 등²⁷⁾도 p53 유전자의 돌연변이가 분화가 좋은 유두상 암종과 여포상 암종에서는 나타나지 않았으며 미분화암종에서만 관찰되므로 p53이 갑상선 암종의 발생과정의 후반부에 주로 작용할 것으로 보고하였다. Lee 등²⁸⁾도 미분화 암종과 유두상 암종에서는 p53 발현율이 각각 100%, 26.7%로 나타났으나 여포상 암종에서는 전혀 발현되지 않았다고 하였으며, p53은 유두상 혹은 여포상 암종에 비해 미분화 암종의 발암 또는 진행과정에 중요한 역할을 하며 여포상 암종의 경우 다른 발암기전이 작용할 것이라고 하였다. 그러나 Czyz 등²⁹⁾은 여포상 선종에서 p53이 발현된 예를 보고하였으며 p53이 발현된 여포상 선종의 경우 다수의 연속절편상에서 피막 또는 혈관 침윤 소견은 관찰되지 않았으나 유세포 분석상 DNA의 비배수성이 관찰되어 이러한 경우는 암종으로 진행되는 전구단계의 병변으로 생각해야 한다고 주장하였다. 본 연구에서도 p53 단백질은 여포상 암종과 여포상 선종의 각각 1예에서만 양성으로 발현되어 p53 유전자의 변이가 여포상 암종의 발생과는 연관성이 적을 것으로 생각되었다. 또한 1예의 여포

상 선종에서 p53 단백질이 발현되었으나 연속절편상에서 피막이나 혈관 침윤소견은 관찰 할 수 없었으며 종양세포의 이형성이나 유사분열 등의 소견도 나타나지 않았다.

결론

본 연구의 결과 종양 세포의 증식능을 반영하는 MIB-1 표지지수는 여포상 선종에 비해 여포성 암종에서 통계학적으로 유의있게 증가하였으므로 두 질환의 감별진단에 도움을 줄 수 있을 것으로 추정되었다. 또한 여포상 암종에서 피막 침윤이 뚜렷한 경우에 MIB-1 표지지수가 의미 있게 증가하여 여포상 암종에서 MIB-1 표지지수가 높을수록 환자의 예후가 나쁠 것으로 추정되었다. p27^{KIP1} 표지지수는 여포상 암종과 여포상 선종간에 뚜렷한 차이를 보이지 않았으며 여포상 암종에서 환자의 연령이 40세 이상인 경우에, 그리고 피막 침윤이 뚜렷한 경우에 오히려 증가하여 앞으로 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각되었다. Apoptosis를 억제하는 것으로 알려져 있는 bcl-2는 여포상 선종에 비해 여포상 암종에서의 발현율이 현저히 감소하여 MIB-1과 함께 두 질환의 감별진단에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대되었다. 그러나 p53은 여포상 선종과 여포상 암종의 각 1예에서만 발현되어 두 질환의 감별에 도움을 주지 못하였으며 분화가 좋은 갑상선 암종의 발생과정에는 p53이 중요한 역할을 하지 않을 것으로 추정되었다.

중심 단어 : 여포상 선종 · 여포상 암종 · p27^{KIP1} · MIB-1 · bcl-2 · p53.

References

- 1) Lang W, Georgii A, Stauch G, Kienzle E : *The differentiation of atypical adenomas and encapsulated follicular carcinomas in the thyroid gland. Vichow Archiv A Path Anat Histol.* 1980 ; 385 : 125-151
- 2) Evans HL : *Follicular neoplasm of the thyroid : an evaluation of the histologic criteria used for diagnosis. Pathol Ann.* 1983 ; 1 : 221-253
- 3) Wang S, Wu J, Savas L, Patwardhan N, Khan A : *The role of cell cycle regulatory proteins, cyclin D1, cyclin E, and p27 in thyroid carcinogenesis. Hum pathol.* 29 ; 11 : 1304-1309
- 4) Erickson LA, Jin L, Wollan PC, Thompson GB, Heerden JV, Lloyd RV : *Expression of p27^{KIP1} and MIB-1 in benign and malignant thyroid tumors. Mod Pathol.* 1998 ; 11 (2) : 169-174
- 5) Katoh R, Bray CE, Suzuki K, Komiyama A, et al : *Growth activity in hyperplastic human thyroid determined by an immunohistochemical staining procedure using monoclonal antibody MIB-1. Hum Pathol.* 26 ; 2 : 139-146
- 6) West J, Munoz-Antonia T, Johnson JG, Klotch D, Muro-Cacho

- CA : *Transforming growth factor- β type II receptors and Smad proteins in follicular thyroid tumors. Laryngoscope.* 110 : 1323-1327
- 7) Sherr CJ : *Cancer cell cycle. Science.* 1996 ; 274 : 1672-1677
- 8) Morgan DO : *Principles of CDK regulation. Nature.* 1995 ; 374 : 131-134
- 9) Cordon-Cardo C : *Mutation of cell cycle regulators : biological and clinical implications for human neoplasia. Am J Pathol.* 1995 ; 147 : 545-560
- 10) Fredersdorf S, Burns J, Milne AM, et al : *High level expression of p27 (kip1) and degree of malignancy in human breast and colorectal cancers. Proc Natl Acad Sci USA.* 1997 ; 94 : 6380-6385
- 11) Singh SP, Lipman J, Goldman H, et al : *Loss or altered sub-cellular localization of p27 in Barrett's associated adenocarcinoma. Cancer Res.* 1998 ; 58 : 1730-1735
- 12) Yang RM, Naitoh J, Murphy M, et al : *Low p27 expression predicts poor disease-free survival in patients with prostate cancer. J Urol.* 1998 ; 159 : 941-945
- 13) Tan P, Cady B, Wanner M, et al : *The cell cycle inhibitor p27 is an independent prognostic marker in small (T1a, b) invasive breast carcinomas. Cancer Res.* 1997 ; 57 : 1259-1263
- 14) Qian X, Jin L, Grande JP, Lloyd RV : *Transforming growth factor- β and p27 expression in pituitary cells. Endocrinology.* 1996 ; 137 : 3051-3060
- 15) Lloyd RV, Jin L, Qian X, Kulig E : *Aberrant p27^{KIP1} expression in endocrine and other tumors. Am J Pathol.* 1997 ; 150 : 401-407
- 16) Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker H-H, Schwab U, Stein H : *Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. J Immunol.* 1984 ; 133 : 1710-1715
- 17) Cattoretti G, Becker MHC, Key G, Dachrow M : *Monoclonal antibody against recombinant parts of Ki-67 antigen (MIB-1 and MIB-3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. J Pathol.* 1992 ; 168 : 357-363
- 18) Reed JC : *Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. J Cell Biol.* 1994 ; 124 : 1-6
- 19) Pezzela F, Turley H, Kuzu I, et al : *Bcl-2 protein in non-small cell lung carcinoma. N Engl J Med.* 1993 ; 329 : 690-694
- 20) Colombel M, Symmans F, Gil S : *Detection of the apoptosis-suppressing oncoprotein Bcl-2 in hormone refractory human prostatic cancers. Am J Pathol.* 1993 ; 143 : 390-400
- 21) Lu QL, Elia G, Lucas S, Thomas JA : *Bcl-2 protooncogene expression in Epstein-Barr virus associated nasopharyngeal carcinoma. Int J Cancer.* 1993 ; 53 : 29-35
- 22) Chang F, Syrjanen S, Kurvinen K, Sci M, Syrjanen K : *The p53 tumor suppressor gene as a common cellular target in human carcinogenesis. Am J Gastroenterol.* 1993 ; 88 : 174-186
- 23) Levine AJ, Momand J, Finlay CA : *The p53 tumor suppressor gene. Nature.* 1991 ; 351 : 453-456
- 24) Tallini G, Garcia-Rostan G, Herrero A, et al : *Downregulation of p27 (kip1) and Ki-67/Mib1 labelling index support the classification of thyroid carcinoma into prognostically relevant categories. Am J Surg Pathol.* 1999 ; 23 : 678-685
- 25) Dremier S, Golstein J, Mosselmans R, Dumont JE, Galand P, Robaye B : *Apoptosis in dog thyroid cells. Biochem Biophys Res Com.* 1994 ; 15 : 52-58
- 26) Moore D, Ohene-Fianko D, Garcia B, Chakrabarti S : *Apoptosis in thyroid neoplasms : relationship with p53 and bcl-2 expression. Histopathology.* 1998 ; 32 : 35-42
- 27) Ito T, Seyama T, Mizuno T, et al : *Genetic alteration in thyroid tumour progression : association with p53 gene mutations. Jpn J Cancer Res.* 1993 ; 84 : 526-533
- 28) Lee CH : *Expression of p53 and MDM2 proteins in thyroid carcinomas. Korean J Pathol.* 1998 ; 32 : 255-260
- 29) Czyz W, Joensuu H, Pylkkanen L, Klemi PJ : *P53 protein, PCNA staining, and DNA content in follicular neoplasia of the thyroid gland. J Pathol.* 1994 ; 174 : 267-274