대 한 골 관 절 종 양 학 회 지
J. of Korean Bone & Joint Tumor Soc.
Volume 9, Number 2, December, 2003

p21, p27 단백질의 발현과 골육종 예후와의 관련성

서울대학교 의과대학 정형외과학교실, 분당서울대학교병원 정형외과*,
서울특별시립 보라매병원 병리학교실**

오주한* · 이상훈 · 조환성 · 유광현 · 김진삼 · 공현식 · 서성욱 · 김지은 · 김한수**

목적: 골육종 환자에서 p21, p27 단백질의 발현과 국소 재발, 원격 전이 및 생존율과의 상관 관계에 대해 알아보고자 하였다.

대상 및 방법: 골육종 환자 40명의 종양학적 결과를 후향적으로 조사하였으며, 이들의 파라핀에 포매된 조직을 실험 재료로 사용하였다. 단백질 발현은 조직 배열법을 이용한 면역염색 화학법으로 측정하였다.

결과: 40례의 골육종에서 p21은 38례에서 발현되었고 p27은 14례에서 발현되었다. p21은 많이 발현될수록 화학요법에 대한 조직의 반응도가 나빴고(p=0.002), 원격 전이가 유의하게 많았다(p=0.024). p27 양성군에서는 음성군에 비해 원격 전이의 발생이 유의하게 적어(p=0.028), p27의 발현이 안될수록 예후가 좋지 않았다.

결론: p21, p27은 서로 상반된 결과를 보였으며, 환자의 예후와 밀접한 관계를 가짐을 알 수 있었다. 하지만, 두 인자의 작용 기전은 명확하지 않아 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

색인 단어: 골육종, p21, p27, 예후 인자

서 론

골육종은 우리나라에서 가장 흔한 원발성 악성 골종양으로 영상 기법의 발달, 수술 기법의 향상 및 화학요법의 발전으로 5년 생존율이 60%~80%로 향상되었다. 골육종 환자의 예후는 진단시의 병기로 어느 정도는 예측할 수 있지만 같은 병기의 환자들에서도 그 치료 결과는 다양하게 나타난다. 이러한 이유로 골육종 환자에서 국소 재발, 원격 전이 및 생존율을 예측하기 위한 예후 인자를 찾기 위하여 많은 노력이 있었다[1-7]. 이러한 연구들을 종합해 보면 가장 중요한 예후인자는 진단시의 원격 전이와 술전 항암화학요법에 따른 종양 괴사의 정도이고, 연령, 성별, 조직학적 유형, 종양의 위치 등이나, 생화학적 지표인 SAP, LDH 등에 관해서는 아직 이견이 있다[4,5].

악성 종양이 발생되는 대표적인 기전으로는 종양유전자(proto-oncogene)의 활성이나 종양억제유전

※통신저자: 김 한 수
서울시 종로구 연건동 28번지
서울대학교 의과대학 정형외과학교실
Tel: 02) 760-2362, Fax: 02) 764-2718, E-mail: hankim@snu.ac.kr

* 본 논문의 요지는 2002년도 대한정형외과학회 추계학술대회에서 발표되었음.
* 본 논문은 2002년도 서울특별시립보라매병원 임상연구비의 지원에 의해 이루어진 것임.

자(tumor suppressor gene)의 비활성이 있다. 이러한 기전들로 인해 유전자의 변이가 다발적으로 발생하여 결국에는 악성 형질이 발현되게 된다. 이중 세포주기(cell cycle)를 조절하는 여러 인자들의 변이는 악성 육종의 발생과 깊은 관계가 있다[8]. 세포주기의 정확한 조절은 외부의 자극에 대해 세포의 정상 성장을 유지하기 위해 필수적이다. 이러한 조절이 실패했을 때 세포들은 비정상적으로 증식하게 되고 결국에는 종양이 발생하게 된다. 세포주기는 cyclin과 cyclin-dependent kinase (CDK)간의 세밀한 균형에 의해 조절되며, cyclin D와 cyclin dependant kinase 4 (CDK 4), CDK 6을 통한 경로, cyclin E와 CDK 2를 통한 경로, 그리고, p53을 통한 경로 등이 있다[8]. CDK 억제인자(CDK inhibitors)가 cyclin-CDK 복합체나 CDK의 활성을 억제하는데, CDK 억제인자는 크게 Cip/Kip 군(p21, p27, p57)와 INK 군($p16^{INK4A}$/$p14^{ARF}$, p15, p18)으로 나뉘며, p21과 p27은 cyclin E-CDK 2 결합체를 통한 조절을 담당한다[10]. 하지만 이러한 인자들이 골육종에서 어떠한 역할을 하는 지에 대한 연구는 미미한 실정이어서, 저자들은 세포 주기의 G1에서 S 주기로 이행하는데 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 p21, p27 단백질의 발현 양상과 임상적 특징을 분석하고 종양의 국소 재발, 원격 전이 및 생존율과의 상관 관계에 대하여 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

1988년 1월부터 2001년 4월까지 저자들의 병원에 입원하여 치료받은 골육종 환자 중, 항암요법을 시행하기 전 절개 생검으로 적절한 병리 조직을 얻을 수 있었고, 양질의 병리 파라핀 포매 블록을 얻을 수 있었으며, 지속적인 추시 관찰이 가능하였던 40례의 파라핀에 포매된 조직을 실험 재료로 사용하였고, 이들의 종양학적 결과를 후향적으로 조사하였다. 추시 기간은 최종 추시상 최소 1년 이상이 경과하거나 사망한 시점을 기준으로 하였다. 정상 골조직은 골절 환자나 장골 이식편에서 구하였고, 최종 절제 조직 표본의 정상 부분을 같은 환자에서의 정상 대조군으로 삼았다.

2. 조직 배열법(Tissue array)을 이용한 파라핀 포매 블록의 제작

임상 정보를 모르는 병리의가 골육종의 조직 슬라이드를 검토하여, 괴사가 되어 종양 세포가 없는 부위나 종양 세포가 밀집되어 있지 않은 구역은 배제하고, 종양의 가장 대표적인 두 부분을 지정한 후, 직경 4 mm의 중심성 조직생검 침(core tissue biopsy needle)을 이용하여 각 공여 파라핀 블록에서 새로운 조직배열 파라핀 블록(tissue array block)으로 조직을 재배열하였다(Fig. 1).

3. 면역조직화학법(Immunohistochemistry)을 이용한 단백질 발현의 분석

면역조직화학염색에 사용된 항체와 시약은 Table 1과 같았고, avidin-biotin complex(ABC) immunoperoxidase 방법으로 면역조직화학염색을 시행하였다. 조직 배열법을 이용해서 만든 파라핀에 포매된 조직을 4 μm두께로 잘라 poly-L-lysine-coated slide (DAKO slide)에 놓아 염색 중 조직의 이탈을 방지하였다. 조직 슬라이드는 건조한 오븐(dry oven)에서 60℃로 1시간 배양시킨 후 사용하였다. 탈 파라핀 과정은 5회에 걸쳐 xylene 용액으로 4분간 세척하였고 100%, 95%, 75% 알코올 용액으로 3분간 각각 2회씩, 단계적으로 재수화(rehydration)하였다. 이후 조직을 실온에서 증류수로 5분간 세척하여 재수화가 완전히 이루어질 수 있게 하였다. 포르말린 고정 후 파라핀에 포매된 조직의 염색 예민도를 높이기 위한 항원 복원 방법(antigen retrieval technique)을 이용하였다[11]. 즉, 포르말린 고정으로 조직 내에 감추어진 항원을 노출시키기 위하여 0.01 M citrate buffer(pH 6.0)에 담가 microwave를 이용하여 700~800 W에서 5분씩 2번 가열하고, 차가운 PBS (phosphate buffer saline)에 담가두었다. 조직 내에 존재하는 내인성 과산화 효소(peroxidase)의 저지를 위해 조직 절편을 3% 과산화수소(H_2O_2) 용액에 6분간 처리하였다. 그 후 PBS에 5분간 3회 수세하였다. 비 특이적인 항원-항체 결합을 억제하기 위해 blocking solution (2차 항체와 같은 종인 동물의 3% 정상 혈장; 3~5% casein; 3~5% horse

Table 1. The antibodies and reagents for the immunohistochemistry

항체 및 시약	내 용
p21 항체	• mouse antihuman monoclonal IgG1 antibody • cat. No. sc-817, Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, 미국
p27 항체	• mouse antihuman monoclonal antibody • cat. No. NA35, Oncogene Research Products, Boston, MA, 미국
Vestastain Elite ABC kit	• Vector laboratory, Burlingame, CA, 미국 • PK-6101 (goat anti-rabbit antibodies coupled to dextan peroxidase) • PK-6102 (goat anti-mouse antibodies coupled to dextan peroxidase) • blocking solution
DAB solution in DAB substrate kit	• Vector laboratory, Burlingame, CA, 미국 • DAB chromogen (3,3 ’-diaminobenzidine tetrahydrochloride) • buffered substrate

serum albumin)으로 30분간 처리하고 남아 있는 여분의 용액을 떨어버린 후, 일차 항체를 반응시켰다. p21, p27 항체는 1:100으로 희석하여 실온에서 2시간 동안 반응시킨 후, PBS에 5분간 3회 수세하였다. biotin-conjugated 이차 항체로 실온에서 30분간 반응시킨 뒤 PBS로 5분간 3번 세척하였다. Avidin-Biotin complex를 가하고 실온에서 30분간 반응시킨 후 PBS로 5분간 3번 세척하였다. 발색은 DAB (diaminobenzidine) 용액에 2분간 반응시켰는데, 증류수 1 ml 당 buffer solution, diaminobenzidine 및 20% H_2O_2 용액을 각각 5 μl씩 넣고 잘 섞은 후 슬라이드를 반응시켰다. 발색 반응 시간은 2분 정도로 하였으며, 각각의 슬라이드를 현미경으로 확인하여 갈색의 반응이 보이면 슬라이드를 증류수 용액으로 옮겨 발색 반응을 중단하였다. 대조 염색은 Meyer’s hematoxylin으로 10초간 염색하였다. 염색이 끝난 슬라이드는 75%, 80%, 95%, 100%의 에탄올로 각각 1분씩 탈수한 후 xylene 용액으로 5분씩 4회 처리하여 Permount를 이용하여 봉입을 시행하였다.

4. 결과 분석

염색성의 판정은 임상적인 내용을 모르는 병리의에 의해 시행되었으며, 조직배열 슬라이드에 있는 직경 4 mm의 각 조직을 모두 광학 현미경으로 판독하였고, 핵 염색 세포의 백분율을 측정하였다. 즉, 전 시야에서 보이는 세포들 가운데 핵에 면역염색이 된 세포들의 백분율을 기술하여 양성 및 음성을 판정하였다. 또한 p21의 경우에는 50%를 기준으로 하여 50% 미만인 경우를 저발현군, 50% 이상은 고발현군으로 나누어 분석하였다.

5. 통계적 분석

각 인자의 발현 정도와 환자의 나이, 성별, 종양의 조직학적 종류, 화학요법에 대한 반응도, 국소 재발, 전이성과의 연관성을 분석하기 위하여 Pearson chi square test 및 Fisher exact test를 시행하였다. 각 인자의 발현 양상에 따른 생존율의 비교는 Kaplan-Meier 분석과 log-rank 방법을 사용하여 단변량 분석을 시도하였다. 통계 분석은 윈도우형 SPSS 10.0(SPSS Institute, Chicago, IL, 미국)을 이용하였다.

결 과

1. 종양학적 결과

남자가 25례, 여자가 15례였다. 환자의 연령 분포는 평균 23세(6세~56세)이었고, 추시 기간은 최소 6개월에서 최장 137개월까지 평균 36개월이었다. 종양이 발생한 위치는 대퇴골이 20례로 가장 많았고 경골 10례, 상완골 4례, 골반골 2례, 비골 2례, 요

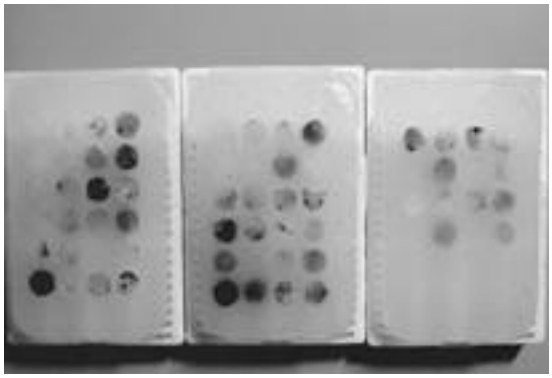

Fig. 1. The tissue array blocks were shown. The core biopsy needle (4 mm of diameter) was used to deliver osteosarcoma tissues to the tissue array blocks, in which tissues from 23 cases were embedded.

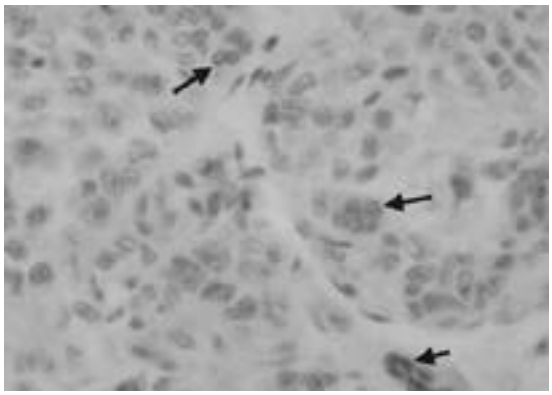

Fig. 3. Immunohistochemical staining of p27 was shown. Arrow indicates the expression of p27 in the tumor nuclei (x 400).

골 1례, 거골 1례였다. 골육종의 병기는 IIB가 32례로 가장 많았고 IIA가 2례, I과 III이 각각 3례이었다. 수술적 치료시의 절제연으로는 병소내 절제가 1례, 변연부 절제가 5례, 광범위 절제 및 근치적 절제가 34례였다.

국소 재발은 5례(12.5%)에서 발생하였는데 병소내 절제가 1례, 광범위 절제가 4례였다. 원격전이는 18례(45%)에서 발생하였고 골반부에 전이한 1례를 제외하고는 전부 폐로 전이되었다. 최종 추시시의 환자의 상태는 무병 생존이 24례(60%), 유병 생존이 6례(15%), 골육종으로 인한 사망이 10례(25%)이었으며, Kaplan-Meier법에 의한 환자의 5년 누적 생존율은 62.2%이었다.

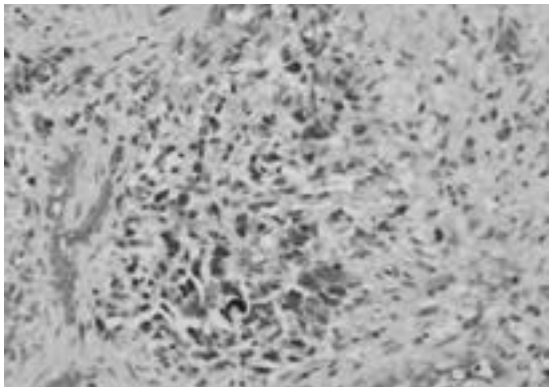

Fig. 2. Strong immunohistochemical staining of p21 was found in most of tumor nuclei (x 200). The expression of p21 was prominent in more than 50% of tumor cells so, that was regarded as high-expression.

2. p21, p27 단백질의 발현 정도와 국소 재발, 원격 전이 및 생존율과의 연관성

p21은 95%(38/40)에서 발현되었고, p27은 35%(14/40)에서 발현되었다. 또한 p21은 저발현군이 19례, 고발현군이 21례이었다(Fig. 2).

각 인자의 발현과 나이, 성별, 조직학적 분류와는 유의한 상관 관계는 없었다. 하지만 화학요법에 대한 반응도를 측정할 수 있었던 24례에서 p21의 발현이 높을수록 화학요법에 대한 반응도는 좋지 않았다(p=0.002, Table 2).

p21 고발현군에서는 14.3%(3/21)가 국소 재발을 한 반면, 저발현군에서는 10.5%(2/19)에서 재발을 하였다. 또한, p27 양성인 군에서는 21.4%(3/14)에서 재발을 하였고, 음성인 군에서는 7.7%(2/26)에서 재발을 하였다. 하지만, 각 인자의 발현과 국소 재발과는 통계적으로 유의성이 없었다. 하지만, 각 인자의 발현과 원격 전이와는 유의한 상관 관계를 보였는데 p21 고발현군에서는 61.9%(13/21)에서 원격 전이가 있었고 저발현군에서는 26.3%에서 전이가 발생하여 통계적인 유의성이 있었다(p=0.024). 즉, p21 고발현군에서 원격 전이가 더 많이 발생하였다. 반면에 p27 에서는 다른 양상을 관찰할 수 있는데, p27 양성군에서는 21.4%(3/14)에서 원격 전이가 있었고(Fig. 3), 음성군에서는 57.7%(14/25)

Table 2. Correlation of p21, p27 expression and clinical features

	p21			p27		
	Low	High		(-)	(+)	
Age						
<15	7	7		12	14	
≥15	12	14	p=0.816	7	7	p=0.08
Sex						
M	13	12		14	12	
F	6	9	p=0.462	12	2	p=0.06
Histologic Type						
osteoblastic	15	11		19	7	
chondroblastic	0	3		3	0	
fibroblastic	3	3		2	4	
telangiectatic	0	2		1	1	
others	1	1	p=0.210	1	2	p=0.163
Histologic Response						
Good	7	1		5	3	
Poor	3	13	p=0.002	10	6	p=1

Table 3. Correlation of p21, p27 expression and local recurrence, distant metastasis

	p21			p27		
	Low	High		(-)	(+)	
Local Recurrence						
(-)	17	18		24	11	
(+)	2	3	p=0.720	2	3	p=0.210
Distant Metastasis						
(-)	14	8		11	11	
(+)	5	13	p=0.024	15	3	p=0.028

에서 전이가 일어나 p27의 발현이 원격 전이를 억제함을 알 수 있었다(p=0.028, Table 3).

각 인자의 발현과 누적 생존율을 log rank test로 분석한 결과 유의한 상관 관계는 없었지만 서로 상반된 경향을 보였다. 즉, p21 고발현군은 저발현군에 비해 생존율이 낮았고(각각 65.2%, 59.2%, p=0.735), p27 양성군은 음성군에 비해 생존율이 높은 경향을 보였다(각각 68.8%, 58.9%, p=0.254).

고 찰

p21은 cyclin-dependant kinase 억제인자로 6번 염색체 p21에 존재하며[12,13] CDK 2, 3, 4 및 6을 억제하여 세포가 G1 주기에 머무르게 한다[14]. p21의 발현은 p53에 의해 활성화되는 것으로 알려져 있으나[15] 최근에는 p53과 관련없는 다른 기전에 의해서도 활성화된다는 보고가 있었다[16,17]. p21과 악성 종양과의 임상적 결과에 대해서는 서로 상반된 보고들이 있다. 예를 들면, 췌장암[18]이나 방광암[19]에서는 p21의 발현이 좋은 예후를 보이는 반면, 유방암[20]이나 간암[21]에서는 그 예후가 좋지 않았다고 한다. 이러한 차이가 생기는 이유로는 종양의 발생 기원 세포가 서로 다르고 면역 조직 화학 염색의 차이 및 그 발현 양상을 정의하는 데 있어 차이가 있기 때문으로 생각된다.

저자들의 실험에서 p21은 40례의 골육종 중 38례에서 발현을 보였다. 또한, p21의 발현 정도와 환자의 연령, 성별, 종양의 조직학적 유형과는 유의한 상관 관계를 보이지 않았다. 하지만, p21 단백질의 발현이 높을수록 화학 요법에 대한 반응이 좋지 않았

다. 전술한 바와 같이 골육종의 예후에 가장 중요한 것으로 알려진 인자는 술전 화학요법에 대한 종양 조직의 괴사 정도이다. 따라서, p21의 발현이 높을수록 예후가 좋지 않음을 짐작할 수 있다. p21의 발현 양상과 골육종의 재발, 전이 및 생존율과의 관계를 분석해 보면, 국소 재발과는 유의한 상관 관계가 없었다. 이는 국소 재발된 경우가 전체적으로 5례로 그 수가 적고, 국소 재발은 주로 수술시 그 절제연에 의해 영향을 받게 되는 데, 본 논문에서는 광범위 이상의 절제가 34례로 이의 영향을 많이 받았기 때문으로 사료된다. 하지만 원격 전이와는 유의한 상관 관계가 있었다. 즉, p21의 발현이 높을수록 원격 전이가 많았고 이는 통계적으로도 유의하였다 (p=0.024). 이러한 사실은 전술한 바와 같이 p21 고발현군에서 화학요법에 대한 반응도가 좋지 않았던 것으로 설명할 수 있다. 또한, p21의 발현 양상에 따른 생존율에 있어서는 통계적으로 유의한 상관 관계가 있지는 않았으나, p21 고발현군의 생존율이 저발현군보다 낮은 경향을 보였다. 세포 증식이 활발한 골육종 세포에서 증식을 억제하기 위해 p21의 발현이 증가되었지만 우리가 알지 못하는 어떤 기전에 의해 p21의 억제 작용에 종양 세포가 반응하지 않을 가능성도 한 원인으로 생각할 수 있다. 즉, 예후가 나쁜 골육종에서 p21의 고발현은 종양의 증식에 의한 2차적인 결과일 수 있는 것이다.

p27 역시 p21과 같이 CDK inhibitor중 CIP군에 속한다. 이 단백질은 transforming growth factor-β (TGF-β에 의해 성장이 억제된 세포에서 처음으로 발견되었다[22,23]. p27은 주로 세포 주기의 G0와 G1 초기에 작용하여 cyclin E-CDK 2 복합체를 억제한다. 세포 증식을 유발하는 신호에 의해 p27은 감소하고, 여러 다른 신호에 의해 증가되기도 한다[24,25]. p27의 발현 양상과 다른 암종과의 관계를 살펴보면, 상피세포에서 기원한 폐암[26], 대장암[27], 유방암[28], 전립선암[29] 모두에서 p27 발현의 감소는 환자의 예후에 좋지 않은 결과를 유발했다. 상피세포에서 기원한 악성 종양 이외에도 뇌종양[30], 림프종[31] 등에서도 p27 발현의 감소는 환자의 예후에 좋지 않은 결과를 미쳤다. 이처럼 p21과는 달리, 현재까지 보고된 바에 따르면 모든 악성 종양에서 p27은 다양한 정도로 감소되어 있었다.

본 논문에서 p27 발현과 환자의 나이, 성별, 조직학적 유형, 화학요법에 대한 조직의 반응도와, 국소 재발 및 생존율과는 유의한 상관 관계가 없었다. 하지만, p27의 발현과 골육종의 원격 전이와는 유의한 상관 관계를 보였는데, p27 발현군에서 21.4% (3/14)의 전이가 발생한 반면, p27이 발현되지 않은 군에서는 57.7%(14/25로 현저히 많은 전이가 발생했다 (p=0.028). 이는 전술한 바와 같이 골육종에서도 다른 암종과 같이 p27 발현의 소실 및 감소가 환자의 예후에 좋지 않은 결과를 미침을 알 수 있다. 비록 통계적인 유의성은 없었지만 p27 양성군에서 생존율이 높은 경향을 보였다.

p21과 p27은 모두 세포주기의 G1에서 S로의 진행을 조절하는 단백질이다. p21과 p27은 모두 CIP군에 속하는 단백질로 골육종에서 그 역할이 비슷할 것이라고 생각되었다. 하지만, 본 논문에서 보면 서로 상반된 결과를 가져왔는데, p21은 그 발현이 많을수록 골육종의 예후에 좋지 않은 결과를 유발한 반면, p27은 발현이 안될수록 좋지 않은 결과를 유발했다. 이처럼 p21과 p27이 서로 상반된 결과를 보이는 것은 악성 종양에서 세포주기를 억제하는 기전이 서로 다르기 때문이라고 생각할 수 있다. 두 인자의 작용 기전이 무엇인지는 아직 정확히 밝혀지지 않아 이에 대한 연구가 더 필요하리라 생각된다. 아직까지 두 인자의 발현 양상에 대한 명확한 기준점은 없는 실정으로 문헌에 보고된 바에 따르면 유의한 결과를 얻기 위하여 각각 다른 기준점으로 통계적인 검증을 시도하였다. 향후 이 두 인자의 발현 양상에 대한 명확한 기준점을 구하기 위한 연구도 계속 필요할 것으로 사료되었다.

REFERENCES

1) **Taylor WF, Ivins JC, Unni KK et al**: Prognostic variables in osteosarcoma: A multi-institutional study. *J Natl Cancer*, 81:21-30, 1989.
2) **Hudson M, Jaffe MR, Jaffe N et al**: Pediatric osteosarcoma:Therapeutic strategies, results and prognostic factors derived from a 10-year experience. *J Clin Oncol*, 8:1988-1997, 1990.
3) **Petrilli AS, Gentil FC, Epelman S et al**: Increased survival, limb preservation, and prognostic factors for osteosarcoma. *Cancer*, 68:733-737, 1991.
4) **Meyers PA, Heller G, Healey J et al**: Chemotherapy for nonmetastatic osteogenic sarco-

ma: The Memorial Sloan-Kettering experience. *J Clin Oncol*, 10:5-15, 1992.
5) **Davis AM, Bell RS, Goodwin PJ**: Prognostic factors in osteosarcoma: A critical review. *J Clin Oncol*, 12:423-431, 1994.
6) **Bieling P, Rehan N, Winkler P et al**: Tumor size and prognosis in aggressively treated osteosarcoma. *J Clin Oncol*, 14:848-858, 1996.
7) **Le Cense A, Delord JP, Le Deley MC et al**: Localized osteosarcoma in adults: the experience of the Institut Gustave Roussy (IGR). *Proc Am Soc Clin Oncol*, 17(A):509, 1998.
8) **Sherr CS**. Cancer cell cycles. *Science*, 274:1672-1677, 1996.
9) Sellers WR, Kaelin WG: Role of the retinoblastoma protein in the pathogenesis of human cancer. *J Clin Oncol*, 15:3301-3312, 1997.
10) **Grana X, Reddy EP**: Cell cycle control in mammalian cells: role of cyclins, cyclin dependant kinases (CDKs), growth suppressor genes and cyclin-dependant kinase inhibitors (CKIs). *Oncogene*, 11:211-219, 1995.
11) **Shi SR, Key ME, Kalra KL**: Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. An enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem*, 39:741-748, 1991.
12) **Xiong Y, Zhang H, Beach D**: D type cyclins associate with multiple protein kinases and the DNA replication and repair factor PCNA. *Cell*, 71:505-514, 1992.
13) **El-Deiry WS, TokinoT, Velculescu VE et al**: A potential mediator of tumor suppression. *Cell*, 75:817-825, 1993.
14) **Harper JW, Adami GR, Wei N, Keyomarsi K, Elledge SJ**: The p2 cdk-interacting protein cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependant kinase. *Cell*, 75:805-816, 1993.
15) **El-Deiry WS, Harper JW, O'Connor PM et al**: WAF1/CIP1 is induced in p53 mediated G1 arrest and apoptosis. *Cancer Res*, 54:1169-1174, 1994.
16) **Michiel P, Chedid M, Lin D, Pierce JW, Mercer WE, Givol D**: Induction of WAF1/CIP1 by a p53-independant pathway. *Cancer Res*, 54:3391-3395, 1994.
17) **Datto MB, Li Y, Panus JF, Howe DJ, Xiong Y, Wang XF**: Transforming growth factor beta induces the cyclin-dependant kinase inhibitor p21 through a p53 independant mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:5545-5549, 1995.
18) **Dergham ST, Dugan MC, Joshi US, Chen YC, Du W, Smith DW**: The clinical significance of p21waf1/cip1 and p53 expression in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer*, 80:372-381, 1997.
19) **Stein JP, Ginsberg DA, Grossfeld GD et al**: Effect of p21 waf1/cip1 expression on tumor progression in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst*, 90:1072-1079, 1998.
20) **Caffo O, Doglioni C, Veronese S, Bonzanini M, Marchetti A, Buttitta F**: Prognostic value of p21 waf1 and p53 expression in breast carcinoma: an immunohistochemical study in 261 patients with long-term folow-up. *Clin Cancer Res*, 2:1591-1599, 1996.
21) **Qin LF, Ng IO, Fan ST, Ng M**: p21/WAF1, p53 and PCNA expression and p53 mutaion status in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*, 79:424-428, 1998.
22) **Koff A, Ohtsuki M, Polyak K, Roberts JM, Massague J**: Negative regulation of G1 in Mammalian cells: inhibition of cyclin-E-dependant kinase by TGF-β *Science*, 260:536-539, 1993.
23) **Slingerland JM, Hengst L, Pan CH, Alexandr D, Stampfer MR, Reed SI**: A novel inhibitor of cyclin-Cdk activity detected in Transforming Growth Factor βarrested epithelial cells. *Mol Cell Biol*, 14:3683-3694, 1994.
24) **Chen Y, Robles AI, Martinez LA, Liu F, Gimenez-Conti IB, Conti CJ**: Expression of G1 cyclins, cyclin-dependant kinases, and cyclin-dependant kinase inhibitors in androgen-induced prostate proliferation in castrated rats. *Cell Growth Differ*, 7:1571-1578, 1996.
25) **Durand B, Gao FB, Raff M**: Accumulation of the cyclin-dependant kinase inhibitor p27/kip1 and the timing of oligodendrocyte differentiation. *EMBO J*, 16:306-317, 1997.
26) **Esposito V, Baldi A, De Luca A et al**: Prognostic role of the cyclin-dependant kinase inhibitor p27 in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*, 57:3381-3385, 1997.
27) **Palmqvist R, Stenling R, Oberg A, Landberg G**: Prognostic significance of p27(Kip1) expression in colorectal cancer: a clinicopathological characterization. *J Pathol*, 188:18-23, 1999.
28) **Tan P, Cady B, Wanner M et al**: The cell cycle inhibitor p27 is an independant prognostic marker in small (T1a,b) invasive breast carcinomas. *Cancer*

Res, 57:1259-1263, 1997.

29) **Yang RM, Naitoh J, Murphy M et al**: Low p27 expression predicts poor disease-free survival in patients with prostate cancer. *J Urol*, 159:941-945, 1998.

30) **Piva R, Cavalla P, Bortolotto et al**: p27/kip1 expression in human astrocytic gliomas. *Neurosci Lett*, 234:127-130, 1997.

31) **Erlanson M, Portin C, Linderholm B, Lindh J, Roos G, Landberg G**: Expression of cyclin E and the cyclin-dependant kinase inhibitor p27 in malignant lymphomas: prognostic implication. *Blood*, 92:770-777, 1998.

Abstract

Expression of p21, p27 in Osteosarcoma and Its Prognostic Significance

Joo Han Oh, M.D.*, Sang Hoon Lee, M.D., Whan Seong Cho, M.D., Kwang Hyun Yoo, M.D., Jin Sam Kim, M.D., Hyun Sik Gong, M.D., Sung Wook Suh, M.D., Ji-Eun Kim, M.D., Han-Soo Kim, M.D.**

Department of Orthopaedic Surgery,
Seoul National University College of Medicine,
Seoul National University Bundang Hospital,*
*Department of Pathology, Seoul Municipal Boramae Hospital**, *Seoul, Korea*

Purpose: The purpose of the current study is to evaluate the correlation between the expressions of p21 and p27 in osteosarcoma, and prognostic impact such as local recurrence, distant metastasis and survival rate.

Materials and methods: Between 1988 and 2001, forty patients who underwent surgery, followed more than 12 months, and whose pathologic blocks were available, were evaluated retrospectively. Their formalin-fixed and paraffin-embedded tumor specimens were investigated. The correlation between expressions of p21, p27, local recurrence, distant metastasis and survival rate was statistically evaluated.

Results: p21 protein was expressed in 38 (95%) patients. p27 protein was expressed in 14 (35%) patients. Patients with high expression of p21 had more frequent metastasis and poorer results (p=0.024). In contrast with these findings, patients with positive staining of the p27 had the significant lower distant metastasis (p=0.028).

Conclusion: The prognosis of the osteosarcoma according to the expression level of p21 and p27 had inverse relationship which had unknown mechanism. Further work will be needed to define the relationship between p21 and p27.

Key Words: Osteosarcoma, p21, p27, Prognosis

Address reprint requests to
Han-Soo Kim, M.D.
Department of Orthopaedic Surgery, Seoul National University College of Medicine
#28 Yeongeon-dong, Jongno-gu, Seoul, 110-744, Korea
TEL: 82-2-760-2362, FAX: 82-2-764-2718, E-mail: hankim@snu.ac.kr