

위암 환자에서 p53과 HSP27의 임상병리학적 의의

한양대학교 의과대학 외과학교실, ¹조직병리학교실

이 하 균 · 권 성 준 · 백 승 삼¹

Clinicopathological Significance of p53 and HSP27 in Gastric-cancer Patients

Ha Gyoon Lee, M.D., Sung Joon Kwon, M.D. and Seung Sam Baek, M.D.¹

Departments of Surgery and ¹Pathology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

Purpose: The tumor suppressor gene p53 has been shown to be a factor in the carcinogenesis or progression of gastric cancer. The mutant p53 has been reported to cause a higher risk of lymph-node metastasis. Furthermore, mutation of the p53 has been linked to a poor prognosis for gastric cancer. The heat shock protein-27 (HSP27), a stress protein, has also been reported to be a poor prognostic factor in ovarian and breast cancers. However, in gastric-cancer patients, controversies exist as to its influence on the prognosis. In the present study, we used an immunohistochemical stain to observe the effects of p53 and HSP27 on the clinicopathological factors and on the prognosis for gastric-cancer patients.

Materials and Methods: To evaluate the significance of p53 and HSP27 in gastric cancer patients, we analyzed 212 cases of gastric cancer (stage I~IV). Tissue samples of 212 patients were stained immunohistochemically for the mutant p53 protein and for HSP27. The correlations between protein expression and the clinicopathological factors were investigated.

Results: The overall expression rates for p53 and HSP27 were 36.9% and 27.8%, respectively. p53 and HSP27 were correlated to each other because the HSP27 expression rate was higher in the p53-positive group (P=0.046). Statistically, the p53 and the HSP27 expression rates were significantly increased in the case of tumor invasiveness, lymphatic

metastasis and vessel involvement. Therefore, they play a role in cancer progression. The 5-year survival rates of the p53-positive and the p53-negative groups were 62.8% and 60.1%, respectively (P=0.793) while the 5-year survival rates for the HSP27-positive and HSP27-negative groups were 54.2% and 63.1%, respectively (P=0.090).

Conclusion: p53 and HSP27 were correlated to each other in our immunohistochemical study of gastric carcinomas and they were not independent prognostic factors in gastric-cancer patients. However, further studies are needed to determine their prognostic values for gastric-cancer patients. (J Korean Gastric Cancer Assoc 2004;4:169-175)

Key Words: p53, Heat shock protein 27, Gastric cancer
중심 단어: p53, Heat shock protein 27, 위암

서 론

위암종의 발생 및 진행과 관련있는 것으로 알려져 있는 종양 유전자는 여러 가지가 있으며 종양 억제 유전자로는 APC (adenomatous polyposis coli), DCC (deleted in colon cancer)와 p53 등이 보고되고 있다.(1) 불활성화된 p53 종양 억제유전자는 사람에게서 발생하는 종양의 반 수에서 발견되며 세포 분열 시에 세포가 G1기에서 S기로 진행하는 것을 방해하여 손상된 유전자의 복구 및 apoptosis를 유발할 시간을 연장해주는 p53 단백질 본래의 기능을 상실하여 암 발생 기전에 관여하는 것으로 보인다.(2)

돌연변이 p53 단백질은 정상형에 비하여 단백질의 반감기가 길어지게 되어 전환된 세포나 악성 종양에서 많은 양이 발견된다. 최근 p53 단백질에 대한 단클론 항체를 이용한 면역조직화학 염색법으로 p53의 과표현을 발견하고 이러한 과표현이 있을 경우 p53 형성에 관여하는 유전자의 변이를 확인하는 p53과 관련된 활발한 연구가 여러 암에서 진행되고 있다. p53 단백질의 과표현은 대장암(3), 폐암(4), 유방암(5) 등에서 흔히 관찰되며 특히 유방암에서는 p53유전자의 증폭이 호르몬수용체, 림프절 전이 및 병기와 연관이 있는 것으로 알려져 있어 중요한 예후인자로 평가받고 있다.(5) 위

책임저자 : 권성준, 서울시 성동구 행당동 17
한양대학교 의과대학 외과학교실, 133-792
Tel: 02-2290-8453, Fax: 02-2281-0224
E-mail: sjkwon@hanyang.ac.kr

접수일 : 2004년 8월 11일, 게재승인일 : 2004년 8월 18일

암에서 p53의 과표현은 통계적으로 유의하게 낮은 5년 생존율을 보여 p53의 과표현이 위암의 예후지표로 중요하다 는 보고가 있으나(6) p53이 암의 진행도와 관계가 없다는 보고도 있다.(7) 또 다른 연구에서는 암의 침습정도가 증가 할수록 p53 표현도 증가되는 경향이 있으므로 p53은 간접 적으로 예후 판정에 도움이 될 것이라고 하였다.(8)

Heat shock protein (HSP)은 정상 세포에서 낮은 농도로 존재하면서 다양한 자극에 노출된 세포에서 합성이 증가하여 세포손상으로 변성된 단백질의 복구와 면역체계에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.(9) HSP의 발현은 유방암 (35~50%), 췌장암 (57%), 대장암 (77.3%)에서 다양하게 보고되고 있다.(10-12) 지금까지 HSP에 대한 연구는 고분자량 HSP (HSP 100, 90, 70, or 60)에 초점이 맞추어져 있었으나 27 kDa인 HSP27은 저분자량 HSP로 관심이 모아지고 있다. 분자 생물학적으로 HSP는 하나의 molecular chaperone의 역할을 하며 다른 세포의 조절인자들의 신호전달체계로서 cytotoxic drug을 포함해서 스트레스가 되는 조건들에 대한 저항성을 증가시키는 것으로 알려져 있다.(17) 위암에서 HSP27의 발현은 암이 진행되었을 때 그 발현율이 증가하고 HSP27이 발현될 경우 생존율이 감소하는 것으로 보아 예후 인자로서의 의미가 있다는 보고가 있으며(13) 항암화학요 법에 대한 저항성에도 기여하는 것으로 보고되어 있다.(14) HSP family 중에서 HSP70은 위암의 예후와는 관련이 없다는 보고가 있으며(15) 다른 연구에서는 HSP27이 유방암과 난소암에서 나쁜 예후인자로 작용한다는 보고를 하기도 하였다.(16) 임상적으로 모든 에스트로젠 양성 유방암에서는 아니지만 유방암 예후에 긍정적인 또는 부정적인 영향을 주고 있으며, 자궁내막암에 있어서는 암의 분화도와 관계 있는 것으로 보인다.(18) 자궁경부암에서는 고분화도, 중분화도 편평상피암에서 현저히 증가된 양상을 보였다.(19)

인간의 골육종 세포주인 HOS-SL에서 비교적 잘 알려진 p53단백과 HSP70의 상호면역침강(coimmunoprecipitation)을 관찰한 이후로 백서 및 원숭이의 종양세포에서 돌연변이형 p53단백과 결합된 HSP70을 관찰하면서 p53단백과 HSP70의 상관성에 관한 연구들이 진행되고 있다.(20) p53단백과 HSP27과의 상관성에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이며 p53과 HSP27이 모두 암화단계에 관여한다는 점에서 주목 이 되고 있다. 이에 저자들은 p53과 HSP27의 상호 연관성을 알아보고 위암 환자에서 예후인자로서 적용될 수 있는지 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

방 법

1993년 1월부터 1998년 6월까지 5년 6개월 동안 한양대 병원에서 위암으로 수술받은 212명의 환자를 대상으로 p53단백 및 HSP27에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 양성그룹과 음성그룹으로 나누어 임상병리학적 인자들

과의 관계를 비교 분석하였다. 면역조직화학적 염색은 파라핀에 포매된 조직을 약 4 μ m 두께로 박절하여 통상의 헤마톡실린-에오신 염색으로 병변을 확인하고, 연속절편을 poly-L-lysine (Sigma, St Louis, MO, U.S.A.)으로 처리한 유리 슬라이드에 부착시켜 60°C 부란기에 넣어 1시간 동안 열처리 한 후 표본을 xylene과 알코올을 이용해 탈파라핀 및 합수과정을 거치고 흐르는 물로 세척하였다. 3% 과산화수소 수로 5분간 처리하여 내재성 과산화효소를 제거한 후 증류수로 5분간 세척하였다. Tris 완충액(pH 7.6)에 5분간 중화시킨 후, 구연산 완충액(citrate buffer, pH 6.0)에 넣어 전자오븐에서 5분간 3회 전 처리한 후 실온에서 20분간 냉각시키고 증류수로 세척하였다. Tris 완충액으로 5분간 2회 씻은 후 차단혈청으로 10분간 작용시키고 각각 1 : 20과 1 : 100으로 희석한 단클론항체(Novocastra, Newcatle, UK)를 사용하여 1시간 동안 습윤상자 안에서 반응시켰다. 그 후 Tris 완충액으로 5분간 3회 세척하였다. 이차 항체로 biotinylated rabbit anti-mouse IgG link antibody (DAKO, Carpinteria, CA, U.S.A.)에 약 20분간 작용시키고 다시 Tris완충액으로 5분간 3회 세척하였다. 발색제로 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)을 이용하였고 Mayer's hematoxylin에 10초간 대조염색하여 탈수한 후 Canada balsam으로 봉입하여 검경하였다. 면역조직화학염색의 판정은 HSP의 경우는 세포질에 적갈색의 과립이 보이는 세포를 양성으로 판정하였고 p53 단백질의 경우는 세포의 핵에 적갈색의 과립이 보이는 세포가 10% 미만일 때 음성, 10% 이상일 때를 양성으로 판정하였다. 병기 분류체계는 위암의 가장 중요한 예후 결정 인자인 위벽 침윤도(T), 국소 림프절 전이도(N) 및 원격 전이(M)를 바탕으로 한 UICC TNM의 병기 분류(21)로 하였으며 조직학적 분류는 WHO 분류상(22) 유두상피선암, 고분화형 및 중분화형 관상선암은 분화암, 저분화형 관상선암, 인환 세포암, 점액선암은 미분화형으로 분류하였다. 통계검정은 Chi Square test를 사용하였고 결과의 유의성 판정에는 0.05 이하의 P value를 유의수준으로 판정하였다.

결 과

1) 임상병리학적 인자

환자의 평균연령은 54.9+11.5세(mean+SD)였으며, 남/녀의 비율은 6.7 : 3.2였다. TNM 병기에서 Ia는 16명(7.5%), Ib는 31명(14.6%), II는 50명(23.6%), IIIa는 27명(12.7%), IIIb는 40명(18.9%), IV는 48명(22.6%)이었다. 조직육안형 분류에서 type 3가 127명(59.9%)으로 가장 많았으며 조직형에서는 undifferentiated type이 158명으로 74.5%, differentiated type이 54명으로 25.5%를 차지하였다. Median tumor size는 6 cm이었으며 6 cm 이상인 환자가 112명(52.8%), 6 cm 미만인 환자는 100명(47.2%)이었다(Table 1).

2) p53 돌연변이 단백질 발현율과 임상병리학적 소견과의 관계

p53 발현율은 전체 212명 중 78명으로 36.8%였다. Stage I/II군에서는 29.9%, Stage III/IV군에서는 42.6%의 발현율을 보였으나 통계적으로 경계적 유의도 ($0.05 < P < 0.1$)를 보였다. 통계적으로 유의성을 보인 경우는 종양의 위벽침윤도, 장막침윤, 혈관침윤이었다. EGC 그룹에서는 20.6%, AGC 그룹에서는 39.9%의 발현율을 보였고($P=0.032$), 장막침윤 양성그룹에서는 42.6%, 음성그룹에서는 28.9%였으며($P=0.040$), 혈관침윤 양성그룹에서는 50.9%, 음성그룹에서는 31.8%의 발현율을 보였다($P=0.012$). 또한 림프절전이 양성 및 음성 그룹에 있어 p53 발현율은 각각 25.9% 및 40.5%로 림프절전이 양성 그룹이 경계적 유의도($P=0.055$)를 보이며 높은 양성률을 나타냈다(Table 2).

Table 1. Clinicopathological factors

Clinicopathologic factor	Case (n=212)	Percent (%)
Age (yr)	169	79.7
< 65	43	20.3
> 65		
Sex		
Male	143	67.5
Female	69	32.5
Borrmann's type		
1	6	2.8
2	31	14.6
3	127	59.9
4	14	6.6
Tumor size (cm)		
< 6	100	47.2
> 6	112	52.8
EGC/AGC		
EGC*	34	16.0
AGC*	178	84.0
Nodal status		
Nodal metastasis (-)	54	25.5
Nodal metastasis (+)	158	74.5
TNM stage		
I/II	97	45.8
III/VI	115	54.2
Serosal invasion		
Yes	149	70.2
No	63	29.8
Vascular invasion		
Yes	55	25.9
No	157	74.1
Histologic type		
Differentiated	54	25.5
Undifferentiated	158	74.5

*EGC = early gastric cancer; * AGC = advanced gastric cancer.

3) HSP27의 발현율과 임상병리학적 소견과의 관계

HSP27의 경우는 212명 중 59명으로 27.8%의 발현율을 보였다. TNM Stage (I/II VS. III/IV)에 따른 HSP27 발현율 빈도는 유의한 차이를 보이지 않았으나 종양의 위벽침윤도, 장막침윤 그룹에서 통계적으로 유의하게 다른 발현 빈도를 보였다(Table 3).

4) p53과 5년 생존율과의 관계

p53 발현군의 5년 생존율은 62.8%, 비발현군의 5년 생존율은 60.1%였으며 통계적인 유의성은 없었다($P=0.793$) (Fig. 1). EGC를 제외한 5년 생존율 비교에 있어서는 비발현군에서 52.3%, 발현군에서 59.1%로 통계적인 유의성은 없었다($P=0.393$). p53에서 통계적으로 유의한 5년 생존율을 보인 경우는 Stage III/IV 그룹으로, p53 발현군의 5년 생존율이 48.9%, 비발현군의 5년 생존율이 31.8%로 발현군에서 높은 5년 생존율을 보였다($P=0.028$). 또한 종양의 크기가 6 cm 이상인 경우엔 p53 양성군, 6 cm 미만인 경우엔 p53 음성군에서 그 반대의 경우보다 의미 있게 좋은 생존율을 보여 주었다(Table 4).

Table 2. Correlation between p53 expression and clinicopathologic factors

Clinicopathologic factor	p53 expression				P value
	-		+		
	No	%	No	%	
EGC/AGC					0.032
EGC*	27	79.4	7	20.6	
AGC*	107	60.1	71	39.9	
Nodal status					0.055
Nodal metastasis (-)	40	74.1	14	25.9	
Nodal metastasis (+)	94	59.5	64	40.5	
Tumor size(cm)					NS*
< 6	65	65.0	35	35.0	
> 6	69	61.6	43	38.4	
TNM stage					0.056
I/II	68	70.1	29	29.9	
III/IV	66	57.4	49	42.6	
Histologic type					NS
Differentiated	30	55.6	24	44.4	
Undifferentiated	103	65.2	55	34.8	
Serosal invasion					0.040
Yes	85	57.0	64	43.0	
No	49	77.8	14	22.2	
Vascular invasion					0.012
Yes	27	49.1	28	50.9	
No	107	68.2	50	31.8	

*NS = not significant; * EGC = early gastric cancer; * AGC = advanced gastric cancer.

5) HSP27과 5년 생존율과의 관계

HSP27에 있어서 발현군의 5년 생존율은 54.2%, 비발현군의 5년 생존율은 63.1%로 통계적인 유의성은 없었다(0.090) (Fig. 1). EGC를 제외한 5년 생존율에 있어서는 비발현군에

Table 3. Correlation between HSP27 expression and clinicopathologic factors

Clinicopathologic factor	HSP27 expression				P value
	-		+		
	No	%	No	%	
EGC/AGC					NS*
EGC [†]	31	91.2	3	8.8	
AGC [‡]	122	68.5	56	31.5	
Nodal status					0.007
Nodal metastasis (-)	39	72.2	15	27.6	
Nodal metastasis (+)	114	72.2	44	27.8	
Tumor size(cm)					NS
<6	73	73.0	27	27.0	
>6	80	70.8	32	28.6	
TNM stage					NS
I/II	75	78.9	20	21.1	
III/IV	78	66.7	39	33.3	
Histologic type					NS
Differentiated	37	68.5	17	31.5	
Undifferentiated	116	73.4	42	26.6	
Serosal invasion					0.029
Yes	98	65.8	51	34.2	
No	55	87.3	8	12.7	
Vascular invasion					NS
Yes	35	63.6	20	36.4	
No	118	75.2	39	24.8	

*NS = not significant; [†]EGC = early gastric cancer; [‡]AGC = advanced gastric cancer.

서 54.7%, 발현군에서 51.7%로 비발현군에서 더 높은 5년 생존율을 보여 주었으나 통계적으로 유의성은 없었다(P=0.362). HSP27에서는 림프절전이 양성 그룹에서 통계적으로 유의한 5년 생존율을 보였으며(P=0.036), 발현군(40.9%)보다 비발현군(55.8%)에서 더 높은 생존율을 보여 주었다 (Table 4).

6) p53과 Hsp27과의 연관성

p53과 HSP27이 서로 연관되어 생존율에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구에 있어서는 5년 생존율이 p53(+)/HSP27(+) 그룹에서 67.8%로 가장 높게 나왔으며 p53(-)/HSP27(+) 그룹에서 41.9%로 가장 낮게 나왔으나 통계적인 유의성은 없었다(P=0.082). 또한 p53 양성군에서의 HSP27 발현율이 p53 음성군에서의 HSP27의 발현율보다 통계적으로 유의하게 높아 두 단백질간의 상호 연관성이 있음을 보여 주었다(P=0.046)(Table 5).

고찰

정상적인 p53 단백질 기능 소실을 일으키는 방법으로는 1) p53 유전자의 변화: 배선 돌연변이(gemline mutation), 체성 돌연변이 (somatic mutation), small and large deletion, structural rearrangement, genomic insertion, 2) 바이러스성 종양 단백질과 결합: SV40 T antigen, adenovirus E1B, papilloma virus E6, Epstein-Barr virus (EBV), 3) cellular product (mdm2)와의 결합이 있다. 이 중 가장 흔한 것은 p53 유전자의 missense mutation이고 다양한 암종에서 이러한 변이가 발견된다. p53 유전자의 변이는 폐암, 유방암, 식도암, 방광암, 갑상선암, 신경계종양, 백혈병, 림프종 등에서 발견된다. p53 단백질은 정상조직에서는 아주 적은 양이 존재하며 반감기가 짧기 때문에 측정하기 곤란하지만, 암 세포에서는 파오 돌연변이가 일어나 반감기가 6~20분, 최고 6시간까지 증가해

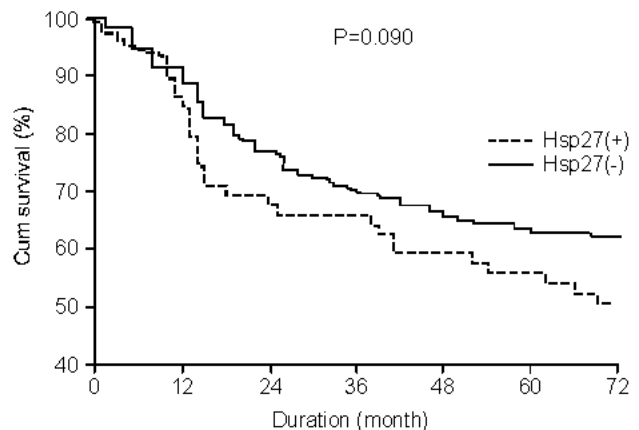
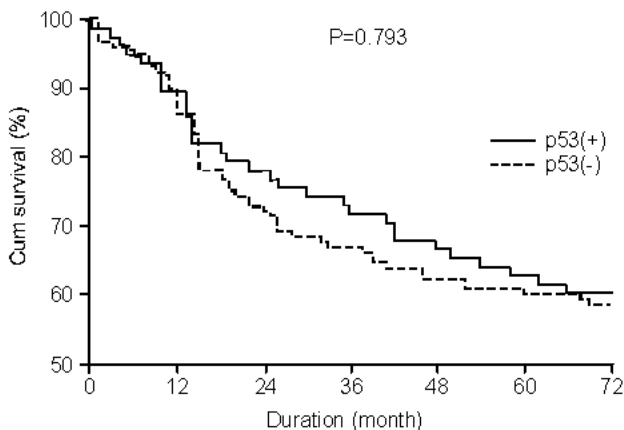


Fig. 1. Five-year survival rate according to the expression of p53 and HSP27 in gastric cancer patients.

Table 4. Correlation between p53 and HSP27 expression in 5-year survival rate

Clinicopathologic factor	5-yr survival rate					
	p53			HSP27		
	+	-	P value	+	-	P value
EGC/AGC						
EGC [†]	100	92.3	NS	100	93.3	NS*
AGC [‡]	59.1	52.3	NS	51.7	55.7	NS
Nodal status						
Nodal metastasis (-)	85.7	87.5	NS	93.3	84.6	NS
Nodal metastasis (+)	56.2	48.4	NS	40.9	55.8	0.036
Tumor size (cm)						
<6	54.2	81.5	0.005	59.2	75.3	NS
>6	65.5	39.7	0.007	43.7	50.9	NS
TNM stage						
I/II	82.7	88.1	NS	90.0	85.5	NS
III/IV	48.9	31.8	0.028	35.9	40.7	NS
Histologic type						
Differentiated	76.9	61.2	NS	64.7	70.2	NS
Undifferentiated	53.8	59.8	NS	50.0	60.7	NS
Serosal invasion						
Yes	48.0	34.2	NS	39.0	40.7	NS
No	88.4	88.9	NS	88.8	87.3	NS
Vascular invasion						
Yes	42.8	38.1	NS	40.0	44.0	NS
No	70.0	64.0	NS	68.6	68.6	NS

*NS = not significant; [†]EGC = early gastric cancer; [‡]AGC = advanced gastric cancer.

면역조직화학 염색, ELISA로 측정이 가능하다. 위암에서 p53 단백질 발현율에는 연구자들에 따라서 차이가 있었는데 Shiao 등(23)의 연구에서는 60%의 발현을 보였고, Sasano 등(24)은 33%, Uchino 등(25)의 연구에서는 68%, Martin 등(9)의 연구에서는 57%를 보고하고 있다. 본 연구에서는 36.8%의 발현율을 보였다. 이러한 발현율의 차이는 대상 환자의 수, 사용한 항체의 차이와 실험상의 차이(항체 처리시간, 온도 등)에서 비롯된 것으로 생각된다.

위암에서 p53 단백질 발현과 Borrmann씨 육안적 분류, 크기, 조직병리학적 분류와의 비교를 통해 예후인자로서의 p53 단백질 발현이 의미있는지를 알아보려는 많은 연구들이 있다. Martin 등(6)은 p53 돌연변이 단백질의 발현이 림프절 전이 및 침윤의 깊이와 연관성이 깊고 위암의 생물학적 악성도에 영향을 준다고 주장한 반면, Uchino 등(25)은 p53 돌연변이 단백질의 발현과 침윤 정도, 림프절 전이, 혈관 침범, 림프관 침범 등과는 아무런 연관성이 없다고 하여 여전히 논쟁의 대상이 되고 있다. 김 등(26)의 연구에 의하면

Table 5. Relation between HSP27 and p53 expression in gastric cancer

Factor	p53 negative (n=134)	p53 positive (n=78)	P value
HSP27 expression			
Negative (n=159)	103 (76.9%)	50 (64.1%)	0.046
Positive (n=59)	31 (23.1%)	28 (35.9%)	

염색체 17의 allele의 소실은 원발 병소보다 전이 병소에서 흔하게 볼 수 있으며, p53 유전자의 돌연변이를 원발성 위암조직 4예 중 25%에서, 전이성 위암세포주 6예 중 83%에서 발견하여, p53 유전자의 돌연변이가 위암의 발생단계에 관여하기보다는 위암의 진행과정에 관여한다고 주장하였다. 오 등(27)의 발표에 의하면 위암의 병기가 진행해 가면서 발현 양성군의 5년 생존율이 음성군에 비해 떨어지는 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이를 보여주지는 못하여 예후인자로서 의미가 없음을 보고하였다. 본 연구에서는 p53 단백질의 발현율이 암의 침윤도, 림프절 전이, 혈관 침범도 등 암이 진행할수록 통계적으로 유의하게 또는 경계적으로 유의하게 높게 나타나서 위암의 생물학적 악성도에 영향을 주고 있는 것으로 나타났다. 그러나 암의 침윤도나 림프절 전이 등의 상태를 동일 조건으로 하여 비교한 5년 생존율에서는 TNM stage 그룹에서만 p53 발현여부에 따른 생존율이 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

HSP의 합성을 유발하는 자극들에는 heat shock 뿐만 아니라 자외선, 중금속, 아미산염 등의 환경적인 stress, virus 감염, 염증반응, 허혈, 항암제의 투여 등과 같은 생리적인 stress가 있다. 몇 개의 HSP들은 정상적으로 세포 내에 존재하며 특히 호르몬에 의해서 세포주기 동안 표현되고 조절된다. Heat shock protein family는 몇 개의 공통된 특징들이 있는데, 첫째는 다른 단백질들은 heat shock 이라는 자극에 의해서 그 표현이 억제되는 데 반해 이들은 heat shock에 의해 표현이 오히려 잘된다는 것이다. 둘째는 이들이 진핵생물이건 원핵생물이건 모든 살아있는 세포에서 발견된다는 점이다. 셋째는 그들 아미노산 배열이 진화를 통해서 저분자량 HSP를 제외하고는 보존이 잘된다는 점이다. HSP는 인간의 조직 중에서 에스트로젠에 영향 받는 여성의 생식기 관에 주로 분포하는 것으로 보이며 피부의 상피조직에서도 많이 관찰된다. 이러한 HSP의 중요성은 첫째 이들이 세포들의 열에 대한 내성에 관여한다는 것이다. 세포들이 이전에 노출되지 않았던 정도의 열 자극을 받았을 때 HSP를 합성함으로써 외부의 자극을 조절할 수 있게 되는 것이다. 둘째는 molecular chaperone으로서의 역할이다. 치명적이지는 아닐 정도의 heat shock 이라는 자극은 기존에 존재하던 단백질에게 불활성화나 변성이라는 변화를 일으키게 한다. HSP

은 이렇게 변성된 단백질에 붙어서 재변성의 과정을 시작 하든지 변화된 단백질을 탈락시키든지의 과정을 견제 한다. 이러한 현상을 설명하기 위해서 도입된 것이 molecular chaperone의 개념이라 할 수 있다.(17)

임상적인 적용에 있어서 HSP27은 유방암의 부정적인 예 후인자로 보고되었으나 다른 연구자들에 의한 보고에서는 HSP27 양성을 보인 유방암의 경우에서 더 좋은 결과를 보여 주었다. Thor 등(28)은 HSP27의 과표현과 에스트로젠 수용체 양성, 림프절 또는 혈관 전이, 진행된 T분류, 더 짧은 생존율과 밀접한 관계가 있음을 발견하였다. 그러나 다변량분석에서는 통계적으로 유의하게 독립적인 예후 결정인자는 아니었다. 자궁내막암에 있어서 HSP27은 암의 분화 정도와 관련이 있었으며 에스트로젠, 프로게스테론 수용체와 깊은 관련이 있었다.(33) 그러나 최근 연구에 의하면 HSP27은 호르몬에 의해 조절되지만 몇몇 조직들(유방이나 자궁내막)에서만 에스트로젠 수용체와 관련이 있는 것으로 보고 되었다. Harrison 등(29)에 의하면 위암에 있어서 HSP27은 독립적인 부정적 예후인자로 보고되었다. 본 연구에서도 진행된 위벽침윤도, 장막침범, 혈관침범 양성인 경우에 통계적으로 유의하게 높은 발현율을 보여 주었다. 그러나 5년 생존율의 경우에 있어서는 양성발현군이나 음성발현군이나 모두 통계학적으로 의미있는 차이를 보여주지 못하여 Harrison의 경우와는 다른 결과를 보여 주었다. 즉 HSP27은 p53의 경우와 마찬가지로 암의 진행 정도와는 의미있는 연관성을 보여주기는 있으나 통계적으로 유의한 예후인자로서는 적합치 않음을 보여주었다. 본 연구에서 위벽침윤도에 따른 HSP27 발현율이 AGC 그룹에서 EGC 그룹보다 통계적으로 높은 양성률을 보였으며, 생존율에 미치는 분석에서는 림프절전이 양성 그룹에서 HSP27 비발현군의 5년 생존율이 HSP27 발현군보다 의미있게 좋은 예후를 보였다.

두 단백질의 상호 관계에 대한 본 연구에서의 분석결과 p53 단백질의 발현이 양성인 경우에서의 HSP27의 발현율이 p53 단백질의 발현이 음성인 경우의 HSP27의 발현율보다 높았으며 통계적으로 의미있게 높아 p53과 HSP27과는 상호 연관성이 있는 것으로 나타났다. 5년 생존율에 있어서는 p53양성/ HSP27양성 그룹에서 67.8%로 가장 높게 나왔으나 통계적으로 유의하지는 않았다(P=0.082).

현재까지의 위암의 예후인자로 거론되고 있는 것은 종양의 발생부위, 위벽의 침윤도 및 침윤양상, 병리학적 형태와 분화정도, 림프절 전이, 원격 전이 그리고 DNA ploidy 등이 있다. 최근에는 종양 억제유전자의 돌연변이나 암유전자의 과발현 등이 암종병인론 및 예후인자에서 중요한 것으로 인식되고 있으나 아직까지는 확실한 예후인자로 인정되고 있지는 못한 실정이다. 이런 맥락에서 HSP에 대한 연구는 의미가 클 것으로 생각되며 이를 이와 함께 기존에 연구가 계속되어져 왔던 암 억제 유전자인 p53과의 관계를 알아보는 것 또한 의미가 있을 수 있겠다.

결 론

1993년 1월부터 1998년 6월까지 5년 6개월 동안 한양대 학병원에서 위암으로 수술받은 212명 환자를 대상으로 p53 및 HSP27에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) p53의 발현율은 36.8%였고 HSP27의 발현율은 27.8%였다.
- 2) p53 양성군에서의 HSP27 발현율이 p53 음성군에서의 HSP27의 발현율보다 통계적으로 유의하게 높아 두 단백질 간에 상호 연관성이 있음을 보여 주었다.
- 3) 여러 임상병리학적 인자들 중에서 암의 침윤도 특히 장막침범, 림프절 전이양성, 혈관침범이 있는 경우에 p53, HSP27의 발현율이 그렇지 않은 경우에 비하여 통계적으로 유의 있게 높게 나와 이들이 암의 진행단계와 관계가 있음을 보여주었다.
- 4) 5년 생존율에 있어서 두 단백질 발현된 경우와 발현이 안 된 경우에 통계적으로 유의한 차이는 p53의 경우 stage III/IV 그룹, HSP27의 경우 림프절전이 양성 그룹에서만 한정적으로 나타나 이들 단백질 발현 여부의 독립된 예후인자로서의 가치는 향후 보다 많은 예에서의 연구가 필요하다고 하겠다.

REFERENCES

1. Tahara E. Gene alterations in human gastrointestinal cancers. The application to molecular diagnosis. *Cancer* 1995;75:1410-1417.
2. Kuerbits SJ, Plunkett BS, Walsh WV, et al. Wild type p53 is a cell cycle check point determinant following irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:7491-7495.
3. Rodrigues NR, Rowan A, Smith MEF. p53 mutations in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:7555-7559.
4. Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harris AL. Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990;335:675-679.
5. Thor AC, Moore DH, Edgerton SM, et al. Accumulation p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker prognosis in breast cancer. *J Natl Cancer* 1992;84:845-855.
6. Martin HM, Filipe MI, Moris RW, Lane DP, Silvestre F. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1992;50:859-862.
7. Koiki Motojima, Junichiro Furui, Takashi Kanematsu, Ito T, Kanematsu T. Expression p53 protein in gastric carcinoma is not independently prognostic. *Surgery* 1994;116:890-895.
8. Yang JP, Cha SJ, Park SJ, Lim HM, Park SI, Park UP. Immunohistochemical study of p53 gene protein and bcl-2 gene protein expression in gastric adenocarcinoma. *J Korean Surg*

- Soc 1988;54:353-360.
9. Lindquist S, Craig EA. The heat shock proteins. *Annu Rev Genet* 1988;22:631-677.
 10. Iwaya K, Tsuda H, Fujita S, Suzuki M, Hirohashi S. Natural state of mutant p53 protein and heat shock protein 70 in breast cancer tissues. *Lab Invest* 1995;72:707-714.
 11. Lee CS, Montebello J, Rush M, Georgiou T, Wawryk S, Rade J. Overexpression of heat shock protein (HSP) 70 associated with abnormal p53 expression in cancer of pancreas. *Zentralbl Pathol* 1994;140:259-264.
 12. Lazaris AC, Theodoropoulos GE, Davaris PS, et al. Heat shock protein 70 and HLA-DR molecules tissue expression. Prognostic Implication in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1995;38:739-745.
 13. Kapranos N, Kominea A, Savva S, et al. Expression of the 27-kDa heat shock protein in gastric carcinomas and adjacent normal, metaplastic and dysplastic gastric mucosa and its prognostic significance. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:426-432.
 14. Shinsuke T, Tsuyoshi N, Ryuichi K, Tetsuro S, Yuzo U, Shigeo Y. Analysis of the survival period in resectable stage IV gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2000;8:215-221.
 15. Maehara Y, Oki E, Abe T, et al. Overexpression of heat shock protein HSP 70 family and p53 protein and prognosis for patients with gastric cancer. *Oncology* 2000;58:144-151.
 16. Arts HJ, Hollema H, Lemstra W, et al. HSP27 expression in ovarian carcinoma. Relation in response to chemotherapy and prognosis. *Int J Cancer* 1999;79:468-475.
 17. Hightower LE. Heat shock, stress proteins, chaperones and proteotoxicity. *Cell* 1991;66:191-197.
 18. Ciocca DR, Puy LA, Fasoli LC. Study of estrogen receptor, progesterone receptor and the estrogen-regulated Mr 24,000 protein in patients with carcinomas of the endometrium and cervix. *Cancer Res* 1989;49:4298-4304.
 19. Puy LA, Lo Castro G, Olcese JE, et al. Analysis of a 24-kilodalton (KD) protein in the human uterine cervix during abnormal growth. *Cancer* 1989;64:1067-1073.
 20. Finlay CA, Hinds PW, Tan TH, Eliahu D, Oren M, Levine AJ. Activating mutations for transforming by p53 produce a gene product than forms an hsc70-p53 complex with an altered half-life. *Mol Cell Biol* 1988;8:531-539.
 21. Sobin LH, Wittekind C. UICC TNM Classification of Malignant Tumors 5th ed. International Union Against Cancer (UICC). New York, Wiley, 1997.
 22. Oota K, Sobin LH. Histological typing of gastric and oesophageal tumors. WHO International Histological Classification of Tumors. WHO Geneva, 1977.
 23. Shiao YH, Lehmann HP, Scheer WD. p53 alteration in gastric precancerous lesion. *AJP* 1994;144:511-517.
 24. Sasano H, Date F, Imatani A, Asaki S, Nagura H. Double immunostaining for c-erbB-2 and p53 in human stomach cancer cells. *Human Pathol* 1993;24:584-589.
 25. Uchino S, Noguchi M, Ochiai A, Saito T, Kobayashi M, Hirohashi S. p53 mutation in gastric cancer: a genetic model for carcinogenesis in common gastric and colorectal cancer. *Int J Cancer* 1993;54:759-764.
 26. Kim JH, Noh SH, Roh JK. Comparison of p53 gene mutation in paired and metastatic gastric tumor tissues. *J Korean Med Sci* 1993;8:187-189.
 27. Oh ST, Kim JP, Whang TS. The prognostic significance of c-erbB-2 and p53 protein expression in gastric carcinoma. *J Korean Surg Soc* 1994;47:634-648.
 28. Thor A, Benz C, Moore II D, et al. Stress response protein (srp-27) determination in primary human breast carcinomas: clinical, histologic and prognostic correlations. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:170-178.
 29. Harrison JD, Jones JA, Ellis IO, Morris DL. Oestrogen receptor D5 antibody is an independent negative prognostic factor in gastric cancer. *Br J Surg* 1991;78:334-336.