대한두경부종양학회지
제 22 권 제 1 호 2006

타액선 종양에서 p53과 Ki-67의 발현

한양대학교 의과대학 이비인후과학교실,* 병리학교실**
민현정* · 태 경* · 김경래* · 박철원* · 이형석* · 백승삼** · 오영하**

= Abstract =

Expression of p53 and Ki-67 in Salivary Gland Tumors

Hyun Jung Min, M.D.,* Kyung Tae, M.D.,* Kyung Rae Kim, M.D.,* Chul Won Park, M.D.,* Hyung Seok Lee, M.D.,* Seung Sam Paik, M.D., Young Ha Oh, M.D.****

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Pathology,**
College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea*

Objectives : The p53 tumor suppressor gene has a key role in cellular control mechanisms involving apoptosis and DNA repair, leading to the G1 arrest following DNA damage. Its mutation is one of the most frequent alterations in human cancers. Ki-67 is identified in replicating cells of both benign and malignant lesions, so it can be the predictor of proliferative activity. The aim of this study is to evaluate the expression of p53 and Ki-67 in salivary gland tumors.

Materials and Methods : Immunohistochemical analysis was used to detect expression of p53 and Ki-67 in paraffin-embedded samples from 31 benign and 27 malignant salivary gland tumors. Results were analyzed between benign and malignant tumors and compared with the clinical parameters such as stage and recurrence in malignant tumors.

Results : p53 overexpression was detected in 19.6% of benign tumors and 40.7% of malignant tumors, but there was no statistical significance. p53 was significantly expressed in Warthin's tumor (45.5%) compared with pleomorphic adenoma (5.9%). Only 5.9% of pleomorphic adenoma were positive for p53, while 60% of carcinoma ex pleomorphic adenoma were positive for p53. Ki-67 was expressed in 3.2% of benign tumors and 51.9% of malignant tumors, which showed significant higher expression in malignant tumors. In malignant tumors, p53 and Ki-67 expressions bore no correlation to stage and recurrence.

Conclusion : p53 overexpression is not associated with the progression of malignant tumors, and Ki-67 overexpression can be used as biologic indicator of malignant salivary gland tumors.

KEY WORDS : p53 · Ki-67 · Salivary gland neoplasms.

서 론

악성종양은 병인론적으로 세포증식 및 성장 조절기전의 실조로 인한 세포의 과증식의 결과라 할 수 있다. 암유전자의 활성화나 종양억제 유전자의 비활성화에 의해 암이 발생하거나 또는 세포의 성장, 분화 및 증식에 관여하는 여러 성장인자와 수용체들의 상호 불균형에 의해 세포의 형질전환이 일어나 종양세포로 발전한다[1].

세포주기 중 G1기는 세포증식에 가장 중요한 시기이며[2], G1-check point에 관여하여 종양의 발생 및 억제에 큰 역할을 하는 유전자들 중 대표적인 유전자가 p53이다. p53은 DNA 보수 및 세포고사에 관여하며, 비정상적인 세포증식을 억제하여 세포증식을 조절하는 기능이 있다[3]. 현재 여러 종류의 암종에서 p53의 유전자 변이나 발현과 임상적 양상 혹은 예후와의 관련성에 대한 많은 연구가 이루어지고 있으며,

교신저자 : 태 경, 471-701 경기도 구리시 교문동 249-1
한양대학교 의과대학 이비인후과학교실
전화 : (031) 560-2363 · 전송 : (031) 566-4884
E-mail : kytae@hanyang.ac.kr

p53이 악성변화 및 암종의 파괴적 양태를 예측할 수 있는 초기 식별인자로 역할이 기대되고 있다. p53의 발현율은 유방암의 경우 10~40%[2], 폐암의 경우 63% 등[4]으로 대부분의 암종의 약 50%에서 발현된다고 알려져 있으며, 두경부암에서도 양성 발현율이 약 40~60%로 보고되고 있다[5].

Ki-67은 세포분열의 G1, S, G2, M phase에서 발현되는 345k Da 또는 395k Da의 증식세포 핵단백으로 분열증인 세포에서만 검출되어 종양의 세포증식지표로 사용할 수 있으며[6] 악성 림프종, 유방암종, 폐암종, 뇌암종, 연골육종 등에서 의미 있는 예후 인자로 보고되었다[7].

p53과 Ki-67의 발현에 대한 연구가 두경부 악성종양을 비롯한 여러 암종에서 국내외로 많이 발표되었지만, 타액선 종양에서는 아직 미흡한 상태이다. 따라서 저자들은 타액선 종양에서 면역조직화학적 방법으로 p53 및 Ki-67의 발현정도를 측정하여 양성과 악성종양에서의 발현정도를 비교하고 그 의의에 대해 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

1990년 3월부터 2004년 6월까지 한양대학교 의료원 이비인후과에서 타액선 종양으로 수술을 받은 환자 중 조직의 파라핀 보관이 양호하였던 58예를 연구대상으로 하였다. 남여비율은 동일하였고, 연령별 분포는 18세에서 69세로 평균연령은 49세였다.

총 58예 중 양성종양이 31예, 악성종양이 27예였다. 양성종양 31예 중 다형선종(pleomorphic adenoma)이 17예, Warthin 종양이 11예, 기저세포샘종(basal cell adenoma)이 3예였다. 악성종양 27예 중에서는 점액표피양암종(mucoepidermoid carcinoma)이 8예, 선양낭성암종(adenoid cystic carcinoma)이 6예, 선암종(adenocarcinoma)이 6예, 다형선종유래암종(carcinoma ex pleomorphic adenoma)이 5예, 기타 2예(편평세포암종, 선방세포암종)였다.

악성종양에서 TNM 병기(American Joint Committee : AJCC. 2002)에 따른 환자의 분포는 제 1 기 2예, 제 2 기 9예, 제 3 기 5예, 제 4 기 11예였으며, 평균추적관찰기간은 45.4개월이었다.

2. 연구방법

1) 면역조직화학적 염색

p53 및 Ki-67 발현정도를 평가하기 위해 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 수술시 절제한 타액선 종괴를 10% 중성 포르말린에 고정한 후 파라핀에 고정하고 조직표본을 4㎛ 두께의 절편으로 박절하여 L-lysine coated slide에

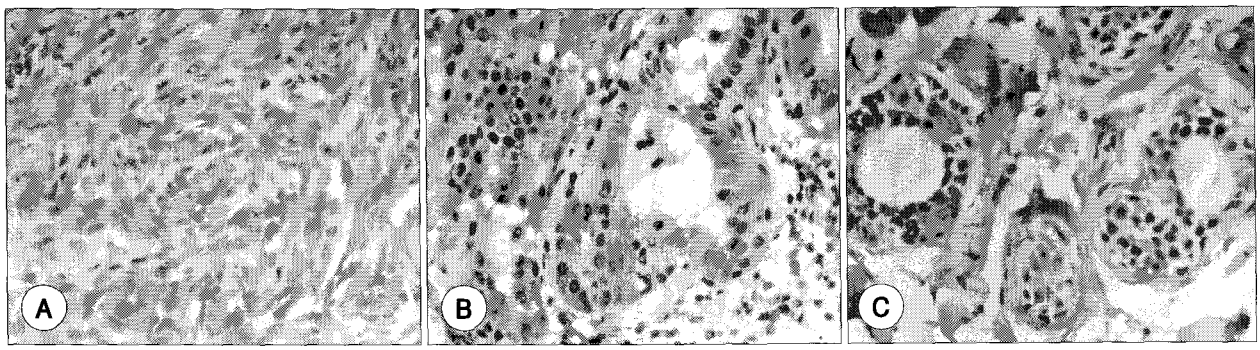

Fig. 1. Immunohistochemical demonstration of p53. Abundant dark-brown staining is identified in nuclei of tumor cells(×400). A : Negative immunoreactivity in pleomorphic adenoma. B : Positive reaction of immunohistochemical stain for p53 in Warthin's tumor. C : Positive reaction of immunohistochemical stain for p53 in adenoid cystic carcinoma.

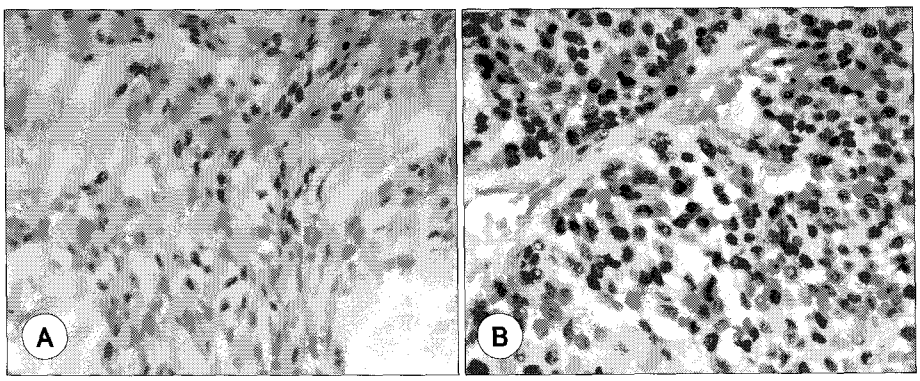

Fig. 2. Immunohistochemical demonstration of Ki-67. Abundant and strong staining of dark-brown color is identified in nuclei of tumor cells(×400). A : Negative staining of Ki-67 in pleomorphic adenoma. B : Positive reaction of immunohistochemical stain for Ki-67 in carcinoma ex pleomorphic adenoma.

고정하여 사용하였다. 슬라이드를 65℃ 보온기에서 밤새 처리하였고, 100% xylene에서 10분간 2회 탈 파라핀 과정을 거쳤으며, 100%, 90%, 70%, 30% 에탄올에 각 10분, 5분, 5분, 5분씩 처리하여 함수화를 유도하였다. 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위하여 메탄올과 과산화수소수를 1 : 4로 혼합된 용액에 15분간 반응시킨 후 phosphate-buffered saline(이하 PBS, pH 7.0)에 3회 세척하였다. 슬라이드는 항원 회복(antigen retrieval)을 위하여 pH 6.0 citric acid 용액에 담가서 microwave에서 15분 정도 가열하고 30분 정도 상온에서 식힌 후 PBS에 3회 세척하였다. Blocking 항체를 도포하여 37℃에서 30분을 반응시킨 후 PBS 용액에 3회 세척하였다. 그 후 p53 단클론항체(DO7, NeoMarkers, CA, USA)와 Ki-67에 대한 단클론항체(NeoMarker, CA, USA)를 각각 37℃에서 2시간 동안 반응시킨 후 PBS에 세척하였다. 이차 항체를 도포하여 37℃에서 30분을 반응시킨 후 재차 세척하였다. ABC(Avidin-biotin complex, Vectastain, CO, USA)를 도포하여 37℃에서 30분을 반응시킨 후 3,3'-diaminobenzidine(DAB)으로 발색시킨 후에 헤마톡실린으로 대조염색을 시행하고 고정한 후 봉입하였다.

2) 면역 조직화학적 염색의 결과 판정

동일한 부위의 다른 슬라이드를 헤마톡실린-에오신으로 염색하고 종양이 있는 부분을 슬라이드에 표시한 후, 항 p53 항체와 항 Ki-67 항체를 이용하여 면역조직화학법으로 염색한 슬라이드를 겹쳐서 종양이 있는 동일한 부분을 표시하고 이 부분에서 결과를 분석하였다.

결과는 광학현미경 100배와 400배 시야에서 판독하였으며 전체 종양세포 중 세포핵이 갈색으로 염색된 양성 세포수의 백분율을 구하였다. 염색된 세포가 전체 종양세포의 10% 이하인 경우를 음성, 11%이상을 양성으로 판정하였다. 양성은 발현정도에 따라 11~40%인 경우를 1+, 41~70%를 2+, 71~100%를 3+로 분류하였다(Fig. 1, 2).

3) 통계처리

환자의 임상기록과 병리기록으로부터 나이, 성별, 임상적 병기, 조직학적 분류, 술후 재발 여부 등을 후향적으로 분석하였다. p53, Ki-67의 양성발현율과 여러 가지 변수들과의 상관성은 Pearson Chi-Square test 및 Fisher's Exact test를 이용하여 분석하였으며, 통계학적 유의수준은 $p<0.05$으로 정하였다.

결 과

1. p53단백의 발현 양상

p53은 31예의 양성종양 중 6예(19.4%)에서 발현되고, 악성종양 중에서는 총 27예 중 11예(40.7%)에서 양성 발현을 보여, 양성종양보다 악성종양에서 발현율이 높았으나 통계학적 의의는 없었다($p=0.090$) (Table 1).

양성종양 중 다형선종의 17예 중 1예(5.9%), Warthin 종양 11예 중 5예(45.5%), 기저세포샘종(basal cell adenoma) 3예 중 0예(0%)에서 p53이 양성 발현을 보여 Warthin 종양에서의 p53 발현율이 유의적으로 높았다($p=0.029$).

악성종양에서는 점액표피양암종(mucoepidermoid carci-

Table 1. Expression of p53 in salivary gland tumors

	p53		Total
	−	+	
Benign(%)	25(80.6%)	6(19.4%)	31
Malignant(%)	16(59.3%)	11(40.7%)	27
Total	41	17	58

p-value 0.090

Table 2. p53 immunoreactivity in 31 benign and 27 malignant salivary gland tumors according to the histological classification

Pathology	No. of cases	p53 immunoreactivity				
		−(0−10)	1+(11−40)	2+(41−70)	3+(71−100)	+(11−100)
Benign tumors						
Pleomorphic adenoma	17	16(94.1%)	1	0	0	1(5.9%)
Warthin's tumor	11	6(54.5%)	4	1	0	5(45.5%)
Basal cell adenoma	3	3(100%)	0	0	0	0(0%)
						p=0.029
Malignant tumors						
Mucoepidermoid ca	8	7(87.5%)	0	0	1	1(12.5%)
Adenoid cystic ca	6	3(50.0%)	2	0	1	3(50.0%)
Adenocarcinoma	6	3(50.0%)	1	1	1	3(50.0%)
Ca ex PA	5	2(40.0%)	3	0	0	3(60.0%)
Acinic cell ca	1	1(100%)	0	0	0	0(0%)
Squamous cell ca	1	0(0%)	0	0	1	1(100%)
Total no. of cases	58	41	11	2	4	17

ca : carcinoma, Ca ex PA : Carcinoma ex pleomorphic adenoma

noma) 8예 중 1예(12.5%), 선양낭성암종(adenoid cystic carcinoma) 6예 중 3예(50%), 선암종(adenocarcinoma) 6예 중 3예(50%), 다형선종유래암종(carcinoma ex pleomorphic adenoma) 5예 중 3예(60%), 편평세포암종(squamous cell carcinoma) 1예 중 1예(100%), 선방세포암종(acinic cell carcinoma) 1예 중 0예(0%)에서 p53이 양성 발현을 보였다(Table 2). 타액선 악성종양에서는 조직학적 각 군의 수가 적어 통계학적 상관성은 시행하지 않았다.

다형선종이 총 17예 중 1예(5.9%)만 p53에 양성 발현을 보인 반면 다형선종유래암종의 경우 5예 중 3예(60%)에서 p53이 양성 발현을 보여 다형선종유래암종에서의 발현율이 통계학적으로 유의하게 높았다(p=0.024).

2. Ki-67의 발현 양상

양성종양은 31예 중 1예(3.2%), 악성종양은 27예 중 14예(51.9%)에서 발현되어, 양성종양보다 악성종양에서 Ki-67의 발현율이 통계학적으로 유의하게 높았다(p=0.001) (Table 3).

Ki-67은 양성종양에서는 기저세포샘종(basal cell adenoma) 1예에서만 양성 발현을 보였다. 악성종양에서는 점액표피양암종(mucoepidermoid carcinoma) 8예 중 5예(62.5%), 선양낭성암종(adenoid cystic carcinoma) 6예 중 5예(83.3%), 선암종(adenocarcinoma) 6예 중 2예(33.3%), 다형선종유래암종(carcinoma ex pleomorphic adenoma) 5예 중 1예(20%), 편평세포암종(squamous cell carcinoma) 1예 중 1예(100%), 선방세포암종(acinic cell carcinoma) 1예 중 0예(0%)에서 Ki-67이 발현되었다(Table 4). 타액선 악성종양에서는 조직학적 각 군의 수가 적어 통계학적 상관성은 시행하지 않았다.

3. p53과 Ki-67 발현의 상관관계

p53 발현과 Ki-67과의 발현 사이에는 유의한 상관관계가 없었다(p=0.334) (Table 5).

4. 악성종양에서 원발병소의 병기와 p53 및 Ki-67의 발현과의 상관관계

각 원발병소의 병기(T 병기)는 T1 2예, T2 10예, T3 5예, T4 10예였다. T 병기에 따른 양성 발현율은 T1, T2를 조기 군으로, T3, T4를 진행 군으로 나누어 비교하였다. p53의 발현율은 조기 군에서 33.3%, 진행 군에서 46.7%로 나타나 통계적인 유의성은 없었다(p=0.696). Ki-67은 조기 군과 진행 군에서 각각 41.7%, 60.0%에서 발현되어 역시 통계학적 의의는 없었다(0.449) (Table 6).

5. 악성종양의 임상적 병기와 p53 및 Ki-67의 발현과의 상관관계

악성종양의 임상적 병기는 제 1 기 2예, 제 2 기 9예, 제 3 기 5예, 제 4 기 11예였다. 조기 병기인 제 1, 2 기와 진행된 병기의 제 3, 4 기의 2군으로 나누어 비교하였다. p53의 양성 발현율은 조기 병기에서 27.3%, 진행된 병기에서 50.0%이고, Ki-67의 양성 발현율은 각각 36.4%, 62.5%였다. p53 및 Ki-67 모두 진행된 병기에서의 발현율이 높았지만 통계학적 의의는 없었다(p=0.427, p=0.252) (Table 6).

6. 악성종양의 재발과 p53 및 Ki-67의 발현과의 상관관계

악성종양 27예 중 13예에서 재발하였다. 악성종양의 재발 여부와 p53 및 Ki-67의 발현율과는 연관성이 없었다(p=0.704, p=0.449) (Table 6).

Table 3. Expression of Ki-67 in salivary gland tumors

	Ki-67		Total
	−	+	
Benign(%)	30(96.8%)	1(3.2%)	31
Malignant(%)	13(48.1%)	14(51.9%)	27
Total	43	15	58

p-value 0.001

Table 5. Correlation between the expression of p53 and Ki-67

	Ki-67(−)	Ki-67(+)	Total
p53(−)	32	9	41
p53(+)	11	6	17
Total	43	15	58

p-value 0.334

Table 4. Ki-67 immunoreactivity in malignant salivary gland tumors according to the histological classification

Pathology	No. of cases	Ki67 immunoreactivity				
		−(0−10)	1+(11−40)	2+(41−70)	3+(71−100)	+(11−100)
Mucoepidermoid ca	8	3(37.5%)	3	1	1	5(62.5%)
Adenoid cystic ca	6	1(16.7%)	0	4	1	5(83.3%)
Adenocarcinoma	6	4(66.7%)	1	0	1	2(33.3%)
Ca ex PA	5	4(50.0%)	0	0	1	1(20.0%)
Acinic cell ca	1	1(100%)	0	0	0	0(0%)
Squamous cell ca	1	0(0%)	0	1	0	1(100%)
Total	27	13(48.1%)	4	6	4	14(51.9%)

ca : carcinoma, Ca ex PA : Carcinoma ex pleomorphic adenoma

Table 6. Expression of p53 and Ki-67 according to clinical features in malignant salivary gland tumors

	p53		Ki-67		total
	−	+	−	+	
T stage					
T1−2	8(66.7%)	4(33.3%)	7(58.3%)	5(41.7%)	12
T3−4	8(53.3%)	7(46.7%)	6(40.0%)	9(60.0%)	15
	p=0.696		p=0.449		
Stage					
I−II	8(72.7%)	3(27.3%)	7(63.6%)	4(36.4%)	11
III−IV	8(50.0%)	8(50.0%)	6(37.5%)	10(62.5%)	16
	p=0.427		p=0.252		
Recurrence					
No recurrence	9(64.3%)	5(35.7%)	8(57.1%)	6(42.9%)	14
Recurrence	7(53.8%)	6(46.2%)	5(38.5%)	8(61.5%)	13
	p=0.704		p=0.449		

고 찰

타액선 종양은 인간 종양의 약 1~4%를 차지하고, 발생 부위별로 보면 이하선 종양이 70% 이상, 악하선 5~10%, 설하선 1%, 소타액선 종양이 5~15%를 차지한다[3]. 타액선 종양 중 양성종양이 약 65%, 악성종양이 35%이며, 양성 중 가장 흔한 종양은 다형선종이며, 악성 중에서는 점액표피양암종이 가장 흔하며 다음으로 선양낭성암종, 다형선종유래암종, 선방세포암종, 선암종 등의 순서이다[3].

종양억제유전자인 p53은 사람의 17번 염색체의 단완(17p13.1)에 위치하며 11개의 exon으로 이루어져 있다[2]. p53은 세포주기 중 세포증식여부에 가장 중요한 시기인 G1-check point에 관여하는 대표적인 유전자이다[2]. p53 단백의 작용은 세포 손상시 G1-S 이행단계에서 세포주기를 지연시켜 DNA 손상을 교정하거나 세포고사에 관여하며, DNA 손상시에 활성화되어 p53에 의해 조절되는 WAF1/Cip1의 발현을 촉진하고 이것은 CDK, PCNA와 결합하여 활성을 억제함으로써 DNA 합성 전에 세포주기를 정지시켜 손상된 DNA를 복구할 시간적 여유를 갖게 한다[8].

p53 유전자의 변이는 재배열(rearrangement), 결손(deletion), 삽입(insertion), 점 돌연변이(point mutation) 등 다양한 양식을 취할 수 있는데, 이 중 제일 빈번한 것은 점 돌연변이이다[9]. Field 등[10]은 두경부 편평세포암종 환자 47명 중 32%에서 p53 유전자의 돌연변이가 엑손(exon) 4에서 9까지의 부위에서 있다 하였으며 codon 238~248부위가 hot spot라 하였다.

p53 유전자의 변이, 비활성화, 결손 등에 의한 기능 소실은 종양발생에서 중요한 역할을 한다. 실험을 통해 p53 유전자 결핍 생쥐에서 출생 후 수주 후에 여러 장기에서 암이 발생하는 것을 확인하였으며, 우성으로 발생하는 유전병으로 육종, 유방암, 뇌종양, 백혈병 및 기타 종양들이 흔히 발생하는 Li-Fraumeni syndrome 환자는 p53 germline mutation을 갖는 것으로 알려져 있다[3]. p53은 인간 암종의 약 20~50%에서 변이가 발견되며, 두경부 편평세포암종, 소세포폐암, 역형성 갑상선 암종에서 변이율이 높다[3]. 타액선 종양에서도 p53에 관한 연구가 발표되었지만은 정상 p53 단백과 변이형 p53 단백이 타액선 종양의 공격성(aggressiveness), 분화, 예후와 연관이 있는지에 대해서는 아직 확실히 알려지지 않았다.

타액선 종양의 p53 발현 빈도는 여러 연구에서 다양한 결과를 보였으나 다른 장기에 비해 상대적으로 낮게 발현된 경우가 많았다. Soini 등[4]의 연구에서 보면 폐암에서는 63%가 양성 발현된 것에 비해 타액선 종양에서는 총 51예 중 8예(15.7%)만이 발현되었고 이 중 3예는 다형선종, 3예는 점액표피양암종, 2예는 미분화암종이었다. 양성인 다형선종에서도 발현되었으므로 악성의 직접적인 표지자가 될 수는 없지만 좀더 악성종양에 과발현하는 것으로 보고하였다. Kiyoshima 등[11]은 구강 편평세포암종의 20~60%, 대장암종의 49~70%, 췌장암종의 30~60%에서 유전자 변이가 있었던 것에 비해 점액표피양암종, 선양낭성암종에서는 각각 14.8%, 17.6%에서만 변이가 있어 다른 종양에 비해서 p53이 타액선 악성종양발생에 결정적인 역할을 하지 않는 것으로 보았고, 전이 및 재발된 선양낭성암종에서 p53 변이가 있어 종양발생보다는 선양낭성암종의 진행에 더 관계가 있을 것이라 보고하였다. Lazzaro와 Cleveland[12]의 연구에서도 악성, 양성 상관없이 조직학적으로 잘 분화된 종양에서는 일반적으로 p53이 낮게 발현되었다. 다형선종의 5.3%(2/38예), 선양낭성암종의 23.5%(4/17예)에서 p53이 양성으로 나타나, 양성과 악성에서 비슷하게 낮은 발현율을 보였기 때문에 p53을 믿을만한 표지자로 사용할 수 없다고 하였다. 반면에 Nordkvist 등[3]은 p53이 양성과 악성을 식별하는데 도움이 되는

유용한 표지자로 보았는데 그 근거로 양성부위를 포함하고 있는 다형선종유래암종(carcinoma ex pleomorphic adenoma) 5예 분석결과 같은 종양의 양성부위에서는 p53이 염색되지 않았으나 악성부위에서는 5예 중 4예에서 10% 이상으로 발현됨을 제시하였다. 또한 두 번의 재발 후 다형선종유래암종이 발생한 환자의 경우에서는 두 번의 다형선종에서는 p53이 음성이었으나, 다형선종유래암종에서는 대부분의 세포에서 p53이 양성 발현을 보였다고 보고하였다. 또한 p53이 기저세포샘종에서는 음성인데 기저세포암종(basal cell carcinoma)에서는 55%에서 양성 발현하였다는 연구도 있다[13].

국내에서는 발암 물질인 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA, Sigma, USA)를 이용하여 실험적으로 백서 동물모델에 악하선암을 유발시킨 연구가 있었는데, p53 단백이 모두 발현되지 않았다. 그러나 사람에게 발생하는 악하선암과는 달리 실험 모델에서는 주로 편평세포암종이 발생하였기 때문에 비교분석하기는 어려운 점이 있다[14].

본 연구에서 p53은 양성종양 총 31예 중 6예(19.4%)에서 양성 발현율을 보였고 악성종양 중에서는 총 27예 중 11예(40.7%)에서 양성 발현을 보여, 악성종양에서 좀더 과발현을 보였으나 통계학적 의의는 없었다(p=0.090). 그러나 다형선종의 경우 총 17예 중 1예(5.9%)만 p53에 양성을 보인 반면 다형선종유래암종의 경우 5예 중 3예(60%)에서 p53이 양성 반응을 보여 다형선종유래암종에서 발현율이 높았으며, 통계학적으로 의의가 있었다(p=0.024). 향후 증례를 보강하여 다형선종유래암종에서의 p53의 역할에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

양성종양 중에서는 다형선종의 17예 중 1예(5.9%)에서 p53이 양성이고, Warthin 종양에서는 11예 중 5예(45.5%)에서 p53이 양성 발현을 보여 Warthin 종양에서의 p53 발현율이 유의하게 높았다(p=0.029). 발표된 대부분의 연구가 양성종양의 다형선종에 국한되어 있어 Warthin 종양에 대한 보고는 많지 않지만 Karja 등[15]은 양성종양 중 다형선종 41% (39/96예), Warthin 종양 12%(2/17예), 기저세포샘종 0% (0/2예)에서 p53이 발현되었다고 하였다. 본 연구의 결과에서 보듯 다형선종에 비해 Warthin 종양에서 유의하게 p53 발현이 높은 원인에 대해서는 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

악성종양의 T 병기와 임상적 병기를 조기 군과 진행 군으로 나누어 p53의 발현율과의 상관관계를 조사한 바로는 진행군일수록 발현율이 증가되는 경향은 있지만 통계학적 의의는 없었다(p=0.427). 또한 악성종양의 재발경향과도 연관성이 없었다(p=0.704). Karja 등[15]의 연구에서도 p53의 발현이 타액선 악성종양의 재발, 전이 및 생존률과 관계가 없었다.

Ki-67과 Proliferating cell nuclear antigen(PCNA)은 세포주기에 관여하며 양성, 악성 관계없이 분열하는 모든 세포에서 발견된다. 종양세포의 증식능은 종양 행태의 예측자로서 측정되어 왔고 좀더 공격적인 종양에서 높게 발현된다.

Ki-67은 세포분열의 G1, S, G2, M phase에서 발현되는 345k Da이나 395k Da의 분자량의 증식세포 핵단백으로 오직 분열중인 세포에서만 검출되나, 아직 그 기능이 확실히 알려져 있지 않다[6]. Ki-67은 종양의 증식능을 측정할 수 있는 간편하고 신뢰성이 높은 방법으로 알려져 있으며, 가장 흔히 사용되고 있는 PCNA와 비교할 때 3H-thymidine labelling index와 더 좋은 상관관계를 보이며 이미 악성 림프종, 유방암종, 폐암종, 뇌암종, 연골육종 등에서 의미 있는 예후 인자로 보고 되었다.[6][7] Lorz 등[16]은 Ki-67이 PCNA와 함께 두경부 편평세포암종의 조직분화도와 밀접한 연관이 있다고 보고하였고, Welkoborsky 등[17]은 40예의 후두암 환자에서 수술 후 평균 37개월간 추적하여 재발여부를 관찰한 결과 Ki-67 index, 조직학적 분화도가 재발과 관련이 있는 것으로 보고하였다.

타액선 종양에 대한 연구로 Hellquist 등[18]은 32예의 선방세포암종 중 Ki-67 발현이 없는 환자에서 발현이 있는 환자에 비해 생존률이 유의있게 좋았다고 하였다. Nordgard 등[19]은 44예의 선양낭성암종 중 치료실패군에서 Ki-67의 발현율이 유의있게 높게 나타나 단기간 예후를 예상하는데 유용하며 이는 점액표피양암종 및 선방세포암종에서도 비슷하다고 하였다. Alves 등[20]의 연구에서는 다형선종의 전례에서 Ki-67이 음성이었던 반면 점액표피양암종에서는 53.3%, 선양낭성암종에서는 20%에서 양성반응을 보였다고 하였다. 반면 Lazzaro와 Cleveland[12]는 p53과 마찬가지로 Ki-67이 다형선종의 0%(38/38예), 선양낭성암종의 11.8%(2/17예)에서 발현되었다고 보고하며 Ki-67 역시 종양의 생물학적 표지자로 사용할 수 없다고 하였다.

본 연구에서는 Ki-67이 양성종양 31예 중 1예(3.2%), 악성종양 27예 중 14예(51.9%)에서 양성 발현을 보여, 악성종양에서 Ki-67의 발현율이 통계학적으로 유의하게 높았다(p=0.001). 특히 점액표피양암종이 8예 중 5예(62.5%), 선양낭성암종이 6예 중 5예(83.3%)에서 높게 발현되었다. 따라서 Ki-67의 과발현은 타액선 악성종양의 의미있는 표지자로 사료된다. 그러나 악성종양의 임상적 병기에 따라서는 조기 병기에서는 36.4%, 진행된 병기에서는 62.5%로 발현되어 진행된 병기에서의 발현율이 높았지만 통계학적 유의성은 없었으며(p=0.252), 악성종양의 재발 경향과도 연관성이 없어(p=0.449) 예후 인자로서는 한계가 있었다.

Ki-67과 p53단백의 발현사이에는 서로 관련성이 없어 p53 과발현이 타액선 종양에서 종양의 증식정도와는 연관이 없는 것으로 사료된다(p=0.334).

본 연구의 결과로 미루어 p53 과발현은 타액선 악성종양

의 표지자로서 한계가 있으며, 세포증식 지표인 Ki-67의 과발현은 타액선 악성종양의 의미있는 표지자로 진단 및 치료에 보조적인 수단으로 활용할 수 있으리라 사료된다.

결 론

타액선 양성 및 악성종양에서 면역조직화학적 염색으로 p53과 Ki-67의 발현율을 측정한 결과, p53의 과발현은 타액선 악성종양의 표지자로 한계가 있으나 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료되며, Ki-67의 과발현은 타액선 악성종양의 세포증식지표로서 의미있는 인자라 사료된다.

중심 단어 : p53 · Ki-67 · 타액선 종양.

References

1) Spandidos DA, Anderson ML: *Oncogenes and onco-suppressor genes: their involvement in cancer. J Pathol. 1989;157:1-10*
2) Bukholm IK, Nesland JM, Karesen R, Jacobsen U, Borresen AL: *Relationship between abnormal p53 protein and failure to express p21 protein in human breast carcinomas. J Pathol. 1997;181: 140-145*
3) Nordkvist A, Roijer E, Bang G, et al: *Expression and mutation patterns of p53 in benign and malignant salivary gland tumors. Int J Oncol. 2000;16:477-483*
4) Soini Y, Kamel D, Nuorva K, Lane DP, Vahakangas K, Paakko P: *Low p53 protein expression in salivary gland tumors compared with lung carcinomas. Virchows Archiv A Pathol Anat. 1992;421: 415-420*
5) Fracchiolla NS, Capaccio P, Carboni N, et al: *Immunohistochemical and molecular analysis of bax, bcl-2 and p53 genes in laryngeal squamous cell carcinomas. Anticancer Res. 1999;19:1043-1051*
6) Brown DC, Gatter KC: *Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. Histopathology. 1990;17:489-503*
7) Pelosi G, Zamboni G: *Proliferation markers and their uses in the study of endocrine tumors. Endocr Pathol. 1996;7:103-119*
8) Cho JH, Suh BD, Jun BC, et al: *Detection of human papillomavirus and Epstein-Barr virus in sinonasal inverted papillomas and its correlation with p53 and proliferating cell nuclear antigen expression. Korean J Otolaryngol. 2000;43:836-843*
9) Milner J: *A conformation hypothesis for the suppressor and promoter function of p53 in cell growth control and cancer. Proc Biol Sci. 1991;245:139-145*
10) Field JK, Pavelic ZP, Spandidos DA, Stambrook PJ, Jones AS, Gluckman JL: *The role of the p53 tumor suppressor gene in squamous cell carcinoma of the head and neck. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1993;119:1118-1122*
11) Kiyoshima T, Shima K, Kobayashi I, et al: *Expression of p53 tumor expression gene in adenoid cystic and mucoepidermoid carcinomas of the salivary glands. Oral Oncol 2001;37:315-322*
12) Lazzaro B, Cleveland D: *p53 and Ki67 antigen expression in small oral biopsy specimens of salivary gland tumors. Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2000;89:613-617*
13) Nagao T, Sugano I, Ishida Y, et al: *Basal cell adenocarcinoma of the salivary glands comparison with basal cell adenoma through assessment of cell proliferation, apoptosis, and expression of p53 and bcl-2. Cancer. 1998;82:439-447*
14) Yoo YS, Seo M, Woo HY, Lee CH, Choi JH: *Expression of p53, PCNA, EGFR in rat submandibular gland tumor induced experimentally. Korean J Otolaryngol. 2000;43:631-637*
15) Karja VJ, Syrjanen KJ, Kurvinen AK, Syrjanen SM: *Expression and mutations of p53 in salivary gland tumours. J Oral Pathol Med. 1997;26:217-223*
16) Lorz M, Meyer-Breiting E, Bettinger R: *Proliferating cell nuclear antigen counts as markers of cell proliferation in head and neck cancer. Eur Arch Otolaryngol. 1994;251:91-94*
17) Welkoborsky HJ, Hinni M, Dienes HP, Mann WJ: *Predicting recurrence and survival in patients with laryngeal cancer by means of DNA cytometry, tumor front grading, and proliferation markers. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1995;104:503-510*
18) Hellquist HB, Sundelin K, Di Bacco A, Tytor M, Manzotti M, Viale G: *Tumour growth fraction and apoptosis in salivary gland acinic cell carcinomas. Prognostic implications of Ki-67 and bcl-2 expression and of in situ end labelling (TUNEL). J Pathol. 1997; 181:323-329*
19) Nordgard S, Franzen G, Boysen M, Halvorsen TB: *Ki-67 as a prognostic marker in adenoid cystic carcinoma assessed with the monoclonal antibody MIB1 in paraffin sections. Laryngoscope. 1997;107:531-536*
20) Alves FA, Pires FR, De Almeida OP, Lopes MA, Kowalski LP: *PCNA, Ki-67 and p53 expressions in submandibular salivary gland tumours. Int J Oral Maxillofac Surg. 2004;33:593-597*