

위암에서 RUNX3 발현의 임상적 의의

서울의료원 외과, ¹병리과, ²서울의료원 부설 임상의학연구소, ³동부시립병원 외과

장성화 · 신동규 · 김일명 · 유병욱 · 윤진 · 박상수 · 강성구 · 이윤경¹ · 허수학² · 조익행³

목적: Runt-related transcription factor 3 (RUNX3)는 새로운 tumor suppressor로써 최근 많은 연구들이 여러 암을 대상으로 진행되고 있다. 그러나 위암에 대한 임상연구는 아직까지 보고가 많지 않은 상태이다. 이에 저자들은 본 연구에서 위암조직에서의 RUNX3의 발현율과 임상적 의의에 대해 분석을 시행하였다.

대상 및 방법: 2001년 1월부터 2005년 12월까지 서울의료원에서 위암으로 근치적 수술을 시행 받은 124명을 대상으로 하였다. 이들 환자에서 적출된 위 조직으로 만들어진 파라핀 블록을 이용해 위암조직 124예를 채취하여 RUNX3 발현을 면역조직화학염색으로 확인한 후 비교분석 하였다. RUNX3 염색결과는 핵과 세포질에서 양성과 음성으로 나누어 각각 판독하였으며 통계분석은 SPSS 11.0을 사용하였다.

결과: 대상 환자의 평균 연령은 61세(33~87세)였으며 남자 81명(65.3%), 여자 43명(34.7%)으로 1.9 : 1이었다. 위암조직에서 RUNX3의 발현율은 59.7% (74/124명)이었으며 위암세포에서 주로 세포질에 발현되었다. 위암조직의 분화도에 따른 RUNX3 발현의 차이에서 분화도가 양호한 경우의 발현율(핵내: 9.1%, 세포질: 57.6%)에 비해 분화도가 나쁜 경우 발현율(핵내: 5.2%, 세포질: 46.6%)이 낮았으나 통계적 유의성은 없었다(P=0.133). 위암조직에서의 RUNX3 발현 유무와 생존율 사이에 통계적 유의성은 없었다(P=0.626). 5년 생존율과 연관지어 단변량, 다변량 분석 통계에서 의미가 있었던 것은 UICC TNM 병기뿐이었다(P<0.001). TNM 병기별 5년 생존율은 IA-93.6%, IB-90.9%, II-81.7%, IIIA-30.8%, IIIB-31.3%, IV-22.7%였다.

결론: 위암조직에서 RUNX3 핵 내 발현이 위암조직의 분화도가 좋을수록 발현율이 높았다. RUNX3의 핵 내 발현율이 생존율에 미치는 영향은 단변량, 다변량 분석에서는 유의성이 없어 향후 이에 대한 좀 더 많은 증례로 유의성을 찾는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

중심 단어: 위암, 예후, RUNX3

서 론

위암은 전세계적으로 폐암 다음으로 많이 발생하는 암이

책임저자: 신동규, 서울시 강남구 삼성동 171-1번지
서울의료원 외과, 135-740
Tel: 02-3430-0665, Fax: 02-554-3736
E-mail: shinedk@hanmail.net

접수일 : 2007년 10월 15일, 게재승인일 : 2007년 10월 29일

며 우리나라에서는 전체 암 발생 중 약 20.8%를 차지하고 있는 가장 많이 발생하고 있는 암이다(1). 전이성 위암의 성질은 다양한 종양유전자와 종양억제유전자의 돌연변이와 몇몇 성장인자와 그 성장인자에 대한 수용체의 이상과 연관이 있다(2-5). 이전의 연구에서 위암의 발생과 진행에 여러 가지 종양억제유전자의 역할이 밝혀졌는데, E-cadherin/CDH1 gene, TP53, p15,16,21 등이 밝혀졌고 최근에는 Rb, gene과 runt-related (RUNX) gene도 포함되었다(6,7). Polyoma virus enhancer binding protein 2/core binding factors (PEBP2/CBF)라고 불리는 Runt 도메인 전사효소는 TGF-β superfamily signaling의 목표가 되고 포유류의 발생 중에 중요한 역할을 한다. Runt family는 RUNX1 (PEBP2aB/CGFA2/AML1), RUNX2 (PEBP2aA/CBFA1/AML3) 및 RUNX3 (PEBP2aC/CBFA3/AML2)로 이루어져 있다. 이 3가지의 RUNX family는 정상적인 발달과정과 종양화 과정에서 중요한 역할을 한다(8). RUNX는 위암 1기와 4기에서 promoter region의 hemizygous deletion과 DNA methylation에 의해 불활성화되며 TGF-β 매개 종양 억제 경로를 통해 위암 억제에 역할을 한다(9). Runx3의 기능 손상 시 위 상피 세포가 장 유형 세포로 분화할 수 있다(10). 따라서, Runx3의 비 정상적인 발현(기능 이상)이 정상 위 세포가 암세포로 전환하는데 참여하는 것으로 보인다. 위암 세포 연구를 토대로 Runx3의 발현이 위 조직에 어떠한 영향을 미치는지 알아볼 필요가 있다. 그러나 아직까지 인체 위암에서 RUNX3 발현유무와 임상적 의의에 대한 연구는 부족한 실정이다. 본 연구의 목적은 인체 위암 조직에서 RUNX3의 발현과 그것의 임상적 의의에 대해 알아보려고 하였다.

방 법

1) 대상

본 연구는 2001년 1월부터 2005년 12월까지 서울의료원에서 위암으로 근치적수술을 시행 받은 124명을 대상으로 하였다. 위암 환자에서 위 절제후 제작된 조직의 Paraffine block으로부터 위암 조직을 채취하여 RUNX3 protein 발현을 면역조직화학염색으로 확인한 후 비교분석 하였다. 위암의 병기는 수술 후 병리학적 TNM 분류로 최종 확인하여 결정하였다.

2) 면역조직화학염색 검사

각 증례에서 H&E slide를 모두 재검사하여 병기를 확인하였고, 정상조직과 종양부위가 동시에 있으면서 종양을 대표하고 보관상태가 좋은 조직을 택하여 면역조직화학염색

검사를 시행하였다. Paraffin block을 3 μ m두께로 박절하여 charged and precleaned slide에 부착시켜 60°C에서 건조시킨 후 58°C dry oven에서 하룻밤 동안 두었다. 크실렌으로 탈과라핀 하고 100%, 95%, 80%, 70% 알코올로 순차적으로 각각 2분간 처리한 후 증류수로 5분간 세척하여 합수시켰다. 증

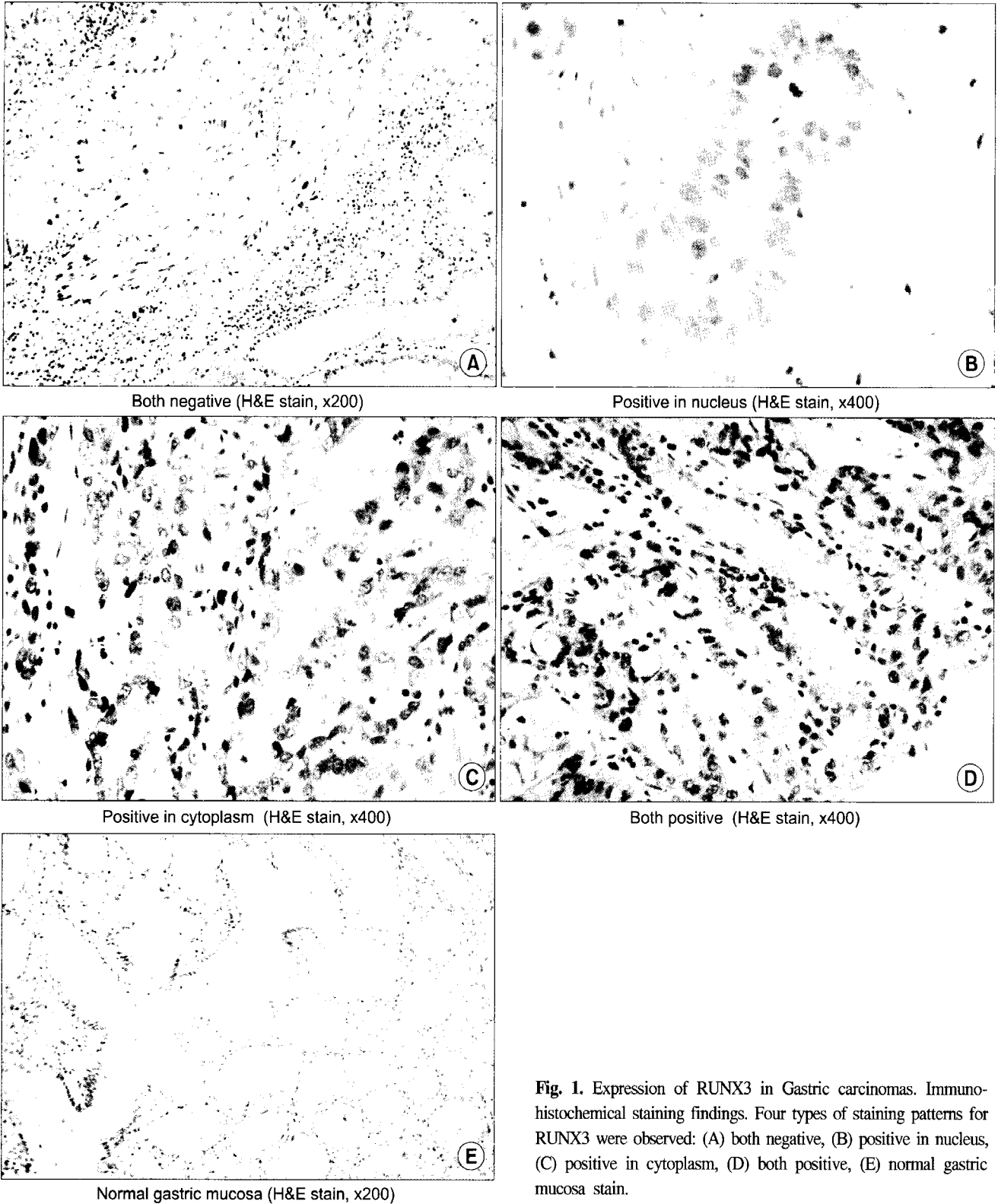


Fig. 1. Expression of RUNX3 in Gastric carcinomas. Immunohistochemical staining findings. Four types of staining patterns for RUNX3 were observed: (A) both negative, (B) positive in nucleus, (C) positive in cytoplasm, (D) both positive, (E) normal gastric mucosa stain.

류수로 희석한 20% citrate buffer를 끓여 슬라이드를 넣고 10분간 마이크로파로 전처리하였다. 세척완충액으로 4회 세척하고, 조직 내의 내인성 과산화효소를 제거하기 위해 과산화수소 용액에 45°C에서 5분간 반응시켰다. 세척완충액으로 다시 4회 세척한 후 비특이단백의 결합을 제거하기 위하여 protein blocking 용액에 45°C에서 5분간 반응시켰다. 일차 항체로는 RUNX-3 (AMC-2/RUNX3 Rabbit Polyclonal antibody, Active Motif[®])를 1 : 200으로 희석하여 하룻밤 동안 둔 것을 사용하였다. 일차 항체는 45°C에서 20분간 반응시키고 세척완충액으로 4회 수세한 후 biotin이 부착된 이차 항체를 45°C에서 5분간 반응시켰다. 세척 완충액으로 4회 수세하고 streptavidin-HRP로 45°C에서 5분간 방치하여 biotin-avidin특이결합을 유도하여 증류수로 4회 세척한 후

DAB로 3~5분간 발색시켰다. 완충액과 증류수로 1회씩 수세한 후 mayer's hematoxylin으로 대조염색을 하였다.

3) 면역조직화학염색 검사의 판독

결과는 병리의사가 1주간의 간격을 두고 2회 판독하였다. 세포질에서만 적갈색으로 발현되는 경우(+ in cytoplasm), 세포핵에서만 발현되는 경우(+ in nucleus), 세포질 및 세포핵에서 동시에 발현되는 경우(+ in both)와 모두 발현되지 않는 경우(-)를 관찰하여 판정하였다(Fig. 1).

4) 통계 분석

생존율과 관련된 인자를 분석하기 위해 환자의 병력 기록, 수술 기록 및 병리 기록을 검토하여 분석 하였다. 환자

Table 1. Clinicopathologic characteristics of patients and 5 year survival rates

Variables	No. of case	5YSR* (%)	P value		
			Univariate	Multivariate	
Age	< 60 yr	55	81.5	0.096	0.043
	≥ 60 yr	69	67.3		
Sex	Male	81	70.3	0.349	
	Female	43	77.6		
Stage	IA	50	93.6	<0.001	0.000
	IB	16	90.9		
	II	26	81.7		
	IIIA	13	30.8		
	IIIB	8	31.3		
	IV	11	22.7		
Size (cm)	0 < < 5	65	92.7	<0.001	0.306
	5 ≤ < 10	52	50.6		
	10 ≤	7	57.1		
Borrmann	B 1	2	Cannot be computed	<0.001	0.783
	B 2	9	66.7		
	B 3	50	59.2		
	B 4	9	37.0		
	EGC [†]	53	94.0		
	Unclassified	0.0			
Histology	Differentiated	66	79.1	0.270	0.319
	Undifferentiated	58	66.2		
Location	Upper third	1	Cannot be computed	0.806	0.482
	Middle third	26	73.1		
	Lower third	96	72.1		
	Entire stomach	1	Cannot be computed		
RUNX3 (tumor)	(-) both	50	65.3	0.712	0.626
	(+) in cytoplasm	65	76.1		
	(+) in nucleus or both	9	88.9		

*5YSR = 5 year survival rate; [†]EGC = early gastric cancer.

측 요인으로는 성별, 나이를 조사하였으며, 암종 요인으로 는 위암의 위치, 크기, TNM stage, Borrmann형, 조직학적 분 화도를 각각 조사하였다. 환자의 연령은 60세를 전후로 나 누어 분석하였다. 환자의 추적은 의무기록, 전화통화를 통 해 재발여부, 재발일자, 생존여부, 사인, 사망일자를 파악한 뒤 생존율 통계분석을 하였다. 위암조직에서의 RUNX3 발 현의 존재를 비교하였고, 위암조직에서의 RUNX3 발현의 유무와 생존율의 연관성을 비교분석 하였다. 나이, Borrmann형, 위치, 크기, 조직학적 종류, 분화도, TNM stage에 따른 생존율의 차이를 단변량, 다변량 분석을 통해 조사하 였다. 통계분석은 SPSS 11.0 for windows program[®]을 사용 하여 단변량 분석에는 chi-square test, 다변량 분석에는 logi- stic regression test를 이용하였고, 생존률의 분석은 Kaphlan- Meier법과 Cox proportion hazard법을 이용하였다.

결 과

1) 대상환자의 임상적 특징

전체 124명에 대한 평균 추적기간은 43개월(3~80개월)이 었다. 위암 환자의 평균 연령은 61세, 60세 이상은 70명, 60 세 미만은 55명이었다. 남자 81명(65.3%), 여자43(34.7%)명 으로 1.9 : 1이었다. 수술 후 병리학적 병기가 II기 이상으로 나온 군에서 대해서는 전신상태 고려하여 술 후 보조항암 치료를 시행하였다. 위암의 병기는 제 6판 UICC (Inter-

Table 2. RUNX3 expression rate according to differentiation of gastric carcinoma (P=0.133).

	Well to Moderately differentiated	Poorly differentiated	Total
Negative	22 (33.3%)	28 (48.3%)	50 (40.3%)
Positive in nucleus or both	6 (9.1%)	3 (5.2%)	9 (7.3%)
Positive in cytoplasm	38 (57.6%)	27 (46.6%)	65 (52.4%)
Total	66	58	124 (100%)

Table 3. Difference of RUNX3 expression according to UICC stage (P=0.414)

	Negative	Positive in nucleus or both	Positive in cytoplasm	Total
IA	19 (38.0%)	4 (8.0%)	27 (54.0%)	50 (100%)
IB	5 (31.3%)	2 (12.5%)	9 (56.3%)	16 (100%)
II	10 (38.5%)	2 (7.7%)	14 (53.8%)	26 (100%)
IIIA	7 (53.8%)	0	6 (46.2%)	13 (100%)
IIIB	4 (50.0%)	1 (12.5%)	3 (37.5%)	8 (100%)
IV	5 (45.5%)	0	6 (54.5%)	11 (100%)
Total	50 (40.3%)	9 (7.3%)	65 (52.4%)	124 (100%)

national Union Against Cancer)분류에 따라 분류하였는데 TNM 병기별 5년 생존율이 IA (50명)-93.6%, IB (16명)- 90.9%, II (26명)-81.7%, IIIA (13명)-30.8%, IIIB (8명)-31.3%, IV (11명)-22.7%로 나타났다(Table 1).

2) 위암조직에서의 RUNX3 발현의 비교

RUNX3의 발현을 핵 내와 세포질 내에서의 양성과 음성 으로 분류하여 위암조직에서 비교 분석하였다. 위암조직에 서의 RUNX3의 핵 내 발현은 7.3% (9명), 세포질에서만 발 현된 것은 52.4% (65명), 전혀 발현되지 않은 것은 40.3% (50명)이었다. 위암조직의 분화도에 따른 RUNX3발현의 차 이에서 분화도가 양호한 경우의 발현율(핵내: 9.1%, 세포 질: 57.6%)이 분화도가 나쁜 경우 발현율(핵내: 5.2%, 세포 질: 46.6%)보다 높았으나 통계적 유의성은 없었다(Table 2, P=0.133). TNM병기 별 RUNX3의 핵내 발현율을 비교해보 면 IA (4명/50명)-8.0%, IB (2명/16명)-12.5%, II (2명/26명)- 7.7%, IIIA (0명/13명)-0%, IIIB (1명/8명)-12.5%, IV (0명/11 명)-0%였고 통계적 유의성은 없었다(Table 3, P=0.414).

3) RUNX3 발현 유무와 5년 생존율 비교

RUNX3가 핵에 발현되는 것이 중요하기 때문에 세포질 발현 여부에 관계없이 핵에 발현된 군(핵±세포질 양성염색 군)과 세포질만 발현된 군, 그리고 양쪽 음성인 군으로 이렇 게 세군으로 나누어 5년 생존율을 비교해 보았다. 핵±세포 질 양성염색군에서 5년 생존율은 88.9%로 세포질에서만 발 현된 군(76.1%)과 발현 음성인 군(65.3%)에 비해 생존율이 나았지만 통계적 유의성은 없었다(Fig. 2, P=0.626).

4) 5년 생존율과 연관된 인자의 단변량, 다변량 분석

단변량 분석에서 의미가 있는 것들은 UICC TNM 병기, 종양크기, Borrmann 분류 등이었으나 다변량 분석에서 통 계적으로 의미가 있었던 것은 UICC TNM 병기뿐이었다 (Table 1, Fig. 3).

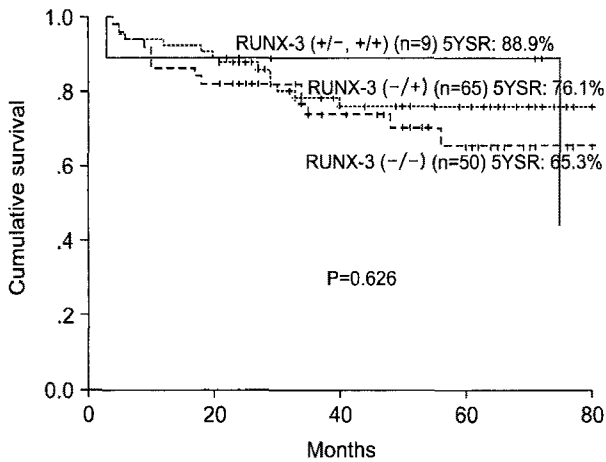


Fig. 2. 5-year survival rates according to RUNX3 expression on cancer tissue of gastric cancer patients. *RUNX-3 (nucleus/cytoplasm): RUNX3 expression on gastric cancer tissue.

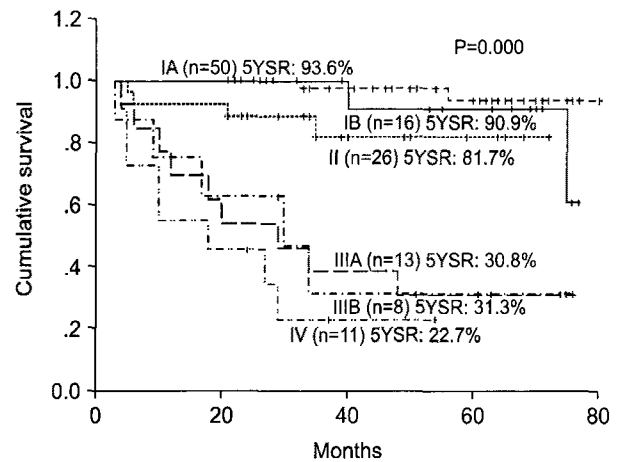


Fig. 3. 5-year survival rates according to UICC staging of gastric cancer.

고찰

위암에서 근치적 절제수술 후의 재발은 40~60% 정도이고, 그 중에서 복막재발이 31.5~53.5%로 재발의 가장 흔한 양상으로 보고되고 있다.(11,12) 비록 최근 조기발견 및 근치적 위절제술, 항암요법 및 면역치료 등 다양한 치료방법이 적용되어 치료성적의 향상을 가져왔으나 이러한 수술 후 전이 및 재발에 대한 치료는 아직까지는 여전히 부족한 상태이다. 조기위암인 경우 수술적 치료가 환자의 예후에 결정적인 결과를 가져오지만 진행성 위암은 수술 후 많은 환자에서 재발을 경험하고 일부 재발에의 경우에는 근치적 절제를 통해 생존의 기회를 갖지만 복막재발이나 혈행성 전이가 된 경우는 생존의 위협에서 벗어날 수가 없게 된다. 이러한 진행성 위암의 공격성은 다양한 발암유전자와 종양억제유전자들의 변이와 연관된 것으로 생각되고 있다. 따라서 질환의 정확한 예후 예측인자를 찾고 효과적인 치료의 목표를 찾아내는 것은 위암의 치료에 있어서 결정적인 역할을 할 것으로 생각된다.

종양억제유전자로 알려진 RUNX3의 발현 상실은 위암의 원인과 관련이 있을 것으로 생각되며 위암세포주와 위암조직의 45~60%에서 RUNX3 promoter 영역의 과메틸화에 기인한 RUNX3 단백질 발현이 되지 않는 것으로 보고되고 있다.(13,14)

Runt family는 RUNX1 (PEBP2aB/CGFA2/AML1), RUNX2 (PEBP2aA/CBFA1/AML3) 및 RUNX3 (PEB-P2aC/CBFA3/AML2)로 이루어져 있다. 이 3가지의 RUNX family는 정상적인 발달과정과 종양화 과정에서 중요한 역할을 한다.(8) 조혈과정에 중요한 역할을 하는 RUNX1은 백혈병에서 염색체 전좌가 가장 빈번하게 일어나는 주 목표가 되고, 급성 백혈병의 원인 중 약 30%를 차지한다.(15) RUNX2는 골 발생에 필수적이고 인간의 상염색체 우성 골질환인 빗장뼈머

리뼈 형성이상(cleido-cranial dysplasia)과 연관이 있다.(16) 1p36.11-1p36.13에 위치한 RUNX3는 위암 억제유전자로 확인 되었다.(8,17)

RUNX3가 위암을 포함한 다른 여러 종류의 암에 종양억제자로서 관련이 있는 것은 밝혀졌지만(18,19) 병의 진행에 대한 영향력을 알거나 치료에 이용하기에는 아직 부족한 것이 많다. 본 연구에서는 여러 가지 위암의 인자와 RUNX3 발현 정도를 연관 지어 병의 진행에 대한 영향력을 알아보려 했다. Wei 등(20)에 따르면 RUNX3의 발현을 세포에서 음성, 약양성, 강양성으로 보았을 때 정상점막(0% : 33.3% : 66.7%)에 비해 위암조직(30.2% : 53.5% : 16.3%)에서 발현율이 유의하게 낮아지며(P<0.0001), 위암세포에서 RUNX3 발현이 되지 않을수록 환자의 평균생존기간이 유의하게 줄어든다고 보고하였다. 또한 Wu 등(21)은 위암조직에서 RUNX3의 발현율이 60.6% (40/66)이라고 보고하였고, 주로 핵보다는 세포질에 발현된다고 보고하였다. 또한 RUNX3의 발현이 종양의 분화도와 상관이 있으며(P=0.025), 발현된 군이 음성인 군에 비해 중앙생존기간 값이 2478일:2187일로 유의하게 나음을 보고하였다(P=0.016). 본 연구에서는 아쉽게도 정상점막과 RUNX3 발현율을 비교하지는 못했지만 위암조직에서 RUNX3의 전체적인 발현율은 59.7%로 타 연구와 비슷하였다. RUNX3가 핵내에서 발현된 것이 세포질에서 발현된 것 보다 예후가 좋을 것이란 생각을 할 수 있었는데, 이는 Ito 등(14)의 연구에서 RUNX3는 정상 위점막세포의 핵에서 거의 대부분 강하게 발현되는 반면 위암세포의 경우 44%(43/97)에서는 발현이 되지 않으며 38%에서는 세포질에서만 발현되고, 18%에서만 핵내에서 발현되는 것을 보고하였다. 또한 RUNX3의 핵전위(nuclear translocation)유도자로 TGF-β가 작용할 것으로 추측하였으며 암세포의 세포질에 발현된 RUNX3는 암억제단백질로서는 불활성 상태라고 제시하였다. 따라서 저자들도 RUNX3의 위암세포에서의 염색정도를 핵내±세포질 내 양성, 세포질

양성, 핵+세포질 음성 이렇게 세군으로 나누어 분화도에 따른 발현율과 생존율을 살펴보았다. Ito 등의 실험과 일치하게 또한 분화도가 양호한 군의 발현율이 67.7% (44/65)로 나쁜군의 50.9% (30/59)에 비해 발현율이 높은 것을 관찰할 수 있었다. 5년 생존율에 있어서 RUNX3가 핵+세포질에서 발현되는 군은 88.9%로 세포질에서만 발현된 군(76.1%)과 발현 음성인 군(65.3%)에 비해 생존율이 나왔지만 통계적 유의성은 없었다($P=0.626$). 위암 조직에서 RUNX3의 발현율은 핵보다 세포질에서 약 7배 정도 강하게 보이며 이는 RUNX3가 핵에서는 Runt domain의 carboxy terminus와 binding 하여 염색체의 교정 및 전사조절자의 역할을 하고 세포질에서는 다른 단백질과 결합하여 염색체의 교정뿐만 아니라 세포사멸 및 종양억제에 관여해서 그런 것으로 보인다. 최근에는 RUNX3가 염색체 교정 단백질과의 상호작용이 밝혀지고 있다(22).

UICC TNM staging처럼 병리적 예측인자가 현재까지 위암의 재발과 진행에 가장 중요하다고 알려져 있지만, 본 실험을 계기로 RUNX3 발현의 정도가 어느 정도 종양의 진행에 영향을 미치는 인자로서의 가능성을 제시하였다고 생각한다. RUNX3는 TGF- β 신호 전달 경로에 중요 참여자이므로 위암 발생 단계별로 RUNX3의 발현 차이, 세포 생존율, 그리고 사이토카인 발현 등을 조사하여 위암 형성과정에서 RUNX3 역할을 규명해야 할 것이다. 더 나아가 위암과 연관된 질환(예, 장상피화생, 만성위축성위염 등)들과의 관계에 대해서도 조사가 필요할 것으로 보인다.

결 론

2001년 1월부터 2005년 12월까지 서울의료에서 위암으로 진단 받고 근치적 위절제술을 시행 받은 환자 124명을 대상으로 적출한 위조직으로 제작된 파라핀 블록을 이용하여 위암조직에 면역화학염색방법을 통한 RUNX3 발현을 조사하여 관련인자들을 비교 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 위암 조직에서 RUNX3의 발현율은 핵내에서 7.3%, 세포질에서만 발현율은 52.4%였다. 조직분화도에 따라 RUNX3 발현율을 비교하여 위암 조직 분화가 좋을수록 발현율이 높았으나 통계적 유의성이 없었다($P=0.133$). TNM 병기 별 RUNX3의 발현도를 비교해 보았으나 통계적 유의성이 없었다. 위암조직에서 RUNX3 발현 유무와 생존율 사이에는 통계적 유의성이 없었다. 5년 생존율에 대한 분석에서 단변량, 다변량 분석 모두에서 통계적 의미가 있었던 것은 림프절 전이와 UICC TNM 병기뿐이었다.

REFERENCES

1. Lee HY, Yang HK, Ahn YO. Gastric cancer in Korea. *Gastric Cancer* 2002;5:177-182.

2. Ushijima T, Sasako M. Focus on gastric cancer. *Cancer Cell* 2004;5:121-125.
3. Chan AO, Luk JM, Hui WM, Lam SK. Molecular biology of gastric carcinoma: from laboratory to bedside. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:1150-1160.
4. Fenoglio-Preiser CM, Wang J, Stemmermann GN, Noffsinger A. TP53 and gastric carcinoma: a review. *Hum Mutat* 2003; 21:258-270.
5. Sud R, Wells D, Talbot IC, Delhanty JD. Genetic alterations in gastric cancers from British patients. *Cancer Genet Cytogenet* 2001;126:111-119.
6. Huang C, Ida H, Ito K, Zhang H, Ito Y. Contribution of reactivated RUNX3 to inhibition of gastric cancer cell growth following suberoylanilide hydroxamic acid (vorinostat) treatment. *Biochemical Pharmacol* 2007;73:990-1000.
7. Li QL, Ito K, Sakakura C, Fukamachi H, Inoue K, Chi XZ, Lee KY, Nomura S, Lee CW, Han SB, et al. Causal relationship between the loss of RUNX3 expression and gastric cancer. *Cell* 2002;109:113-124.
8. Lund AH, van Lohuizen M. RUNX: a trilogy of cancer genes. *Cancer Cell* 2002;1:213-215.
9. Ito Y, Miyazono K. RUNX transcription factors as key targets of TGF- β superfamily signaling. *Curr Opin Genet Dev* 2003; 13:43-47.
10. Fukamachi H, Ito K, Ito Y. *Runx3*^{-/-} gastric epithelial cells differentiate into intestinal type cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;321:58-64.
11. Yoo CH, Noh SH, Shin DW, Choi SH, Min JS. Recurrence following curative resection for gastric carcinoma. *Br J Surg* 2000;87:236-242.
12. Maehara Y, Hasuda S, Koga T, Tokunaga E, Kakeji Y, Sugimachi K. Postoperative outcome and sites of recurrence in patients following curative resection of gastric cancer. *Br J Surg* 2000;87:353-357.
13. Bangsow C, Rubins N, Glusman G, Bernstein Y, Negreanu V, Goldenberg D, Lotem J, Ben-Asher E, Lancet D, Groner Y. The RUNX3 gene-sequence, structure and regulated expression. *Gene* 2001;279:221-232.
14. Ito K, Liu Q, Manuel ST, Yano T, Tada K, Ida H, Huang C, Shoh N, Inoue M, Rajnakova A, et al. RUNX3, A novel tumor suppressor, is frequently inactivated in gastric cancer by protein mislocalization. *Cancer Res* 2005;65:7743-7750.
15. Look AT. Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias. *Science* 1997;278:1059-1064.
16. Mundlos S, Otto F, Mundlos C, Mulliken JB, Aylsworth AS, Albright S, Lindhout D, Cole WG, Henn W, Knoll JH, et al. Mutations involving the transcription factor CBFA1 cause cleidocranial dysplasia. *Cell* 1997;89:773-779.
17. Bae SC, Takahashi E, Zhang YW, Ogawa E, Shigesada K, Namba Y, Satake M, Ito Y. mapping and expression of PEBP2 alpha C, a third gene encoding the mammalian Runt domain. *Gene* 1995;159:245-248.

18. Oshimo Y, Oue N, Mitani Y, Nakayama H, Kitadai Y, Yoshida K, Ito Y, Chayama K, Yasui W. Frequent loss of RUNX3 expression by promoter hypermethylation in gastric carcinoma. *Pathobiology* 2004;71:137-143.
19. Kim TH, Lee HJ, Hwang KS, Lee M, Kim JW, Bang YJ, Kang GH. Methylation of RUNX3 in various type of human cancers and premalignant stages of gastric carcinoma. *Lab Invest* 2004;84:479-484.
20. Wei D, Gong W, Oh SC, Li Q, Kim WD, Wang L, Le X, Yao J, Wu TT, Huang S, et al. Loss of RUNX3 expression significantly affects the clinical outcome of gastric cancer patients and its restoration causes drastic suppression of tumor growth and metastasis. *Cancer Res* 2005;65:4809-4816.
21. Wu BW, Zhnang J, Fei XF, Zhu ZG, Cao WX. Reappraisal of the impacts of human Runt-related transcription factor gene 3 expression on differentiation and prognosis of gastric cancer. *Chinese J Gastrointest Surg* 2007;10:165-168.
22. Tanaka Y, Imamura J, Kanai F, Ichimura T, Isobe T, Koike M, Kudo Y, Tateishi K, Ikenoue T, Ijichi H, et al. Runx3 interacts with DNA repair protein Ku70. *Experimental Cell Research*. 2007; 313:3251-3260.

= Abstract =

Expression of RUNX3 in Human Gastric Cancer

Sung Hwa Jang, M.D., Dong Gue Shin, M.D., Il Myung Kim, M.D., Byung Ook You, M.D., Jin Yoon, M.D., Sang Su Park, M.D., Sung Gu Kang, M.D., Yun Kyung Lee, M.D.¹, Su Hak Heo, Ph.D.² and Ik Hang Cho, M.D.³

Departments of Surgery, ¹Pathology and ²Research Institute, Seoul Medical Center and ³Department of Surgery, Seoul Municipal Dongbu Hospital, Seoul, Korea

Purpose: RUNX3, a novel tumor suppressor, is frequently inactivated in gastric cancer. In the present study, we examined the pattern of RUNX3 expression in gastric cancer cells from gastric cancer specimens and the impact of its alteration on clinical outcome.

Materials and Methods: A total of 124 samples of both gastric cancer and normal tissue were obtained from 124 patients who underwent curative gastrectomy at the Seoul Medical Center from January 2001 to December 2005. RUNX3 expression was determined by immunohistochemical staining, and the results were analyzed. Statistical analysis was based on clinicopathological findings and differences in survival rates.

Results: The mean age of the patients was 61 years, and the male:female ratio was 1.9:1. The expression rate of RUNX3 was 59.7% (74/124). The expression rate was higher in differentiated gastric cancers (nucleus: 9.1%, cytoplasm: 57.6%) than in the undifferentiated types (nucleus: 5.2%, cytoplasm: 46.6%) (P=0.133). The 5-year survival rates according to RUNX3 expression determined from cancer tissue were 88.9% for the nucleus ± cytoplasm(+) group of patients, 76.1% for the cytoplasm only (+) group of patients, and 65.3% for the RUNX3 negative expression group of patients (P=0.626). Only UICC TNM staging showed statistical significance related to the survival rate, as determined by multivariate analysis.

Conclusion: The RUNX3 expression rate was higher in differentiated gastric cancer than in the undifferentiated types without significance. Although RUNX3 expression predicted better survival, based on multivariate analysis, the finding was not statistically significant. More cases should be further evaluated. (**J Korean Gastric Cancer Assoc 2007;7:185-192**)

Key Words: Gastric cancer, Prognosis, RUNX3