

위암에서 Microsatellite Instability와 Thymidylate Synthase의 상관관계

포천중문의과대학교 분당차병원 외과학교실, ¹병리학교실, ²내과학교실

고현석 · 안창욱 · 강혜윤¹ · 김광일¹ · 홍성표² · 안대호

목적: 대장암에서 microsatellite instability high (MSI-H)를 보인 환자가 microsatellite stable (MSS) 또는 microsatellite instability low (MSI-L)를 가진 그룹보다 예후가 좋은 것으로 되어 있으나 II기, III기 대장암에서 MSI-H를 보인 환자가 MSS 또는 MSI-L를 가진 그룹보다 5-fluorouracil (5-FU)에 대한 효과가 떨어진다는 연구 보고가 있다. Thymidylate synthase (TS)는 DNA 합성에 필요한 물질임과 동시에 5-FU의 표적물질이며, 암 환자에서 TS 발현율이 높을수록 5-FU에 의한 항암치료 효과가 감소한다. 이와 같이 MSI가 높을수록, TS 발현이 높을수록 5-FU에 대한 감수성이 떨어지기 때문에 MSI와 TS간의 상관관계를 밝히려는 연구가 대장암 환자를 대상으로 시도되었으나 현재까지의 결과는 상관관계가 있다는 보고와 없다는 보고가 있어서 일정하지 않다. 위암 환자에서는 MSI와 TS의 관계에 대한 연구는 없다. 따라서 본 연구에서는 위암 환자에서의 MSI와 TS 발현정도의 상관관계를 분석하였다.

대상 및 방법: 2004년 1월부터 2006년 5월까지 분당차병원에서 위암으로 근치적 위절제술을 시행 받은 환자 중 99명을 대상으로 MSI 및 TS 발현 정도를 비교 분석하였다. MSI는 5개의 표지자(BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, D17S250)에 대해서 분석하였고 TS는 면역조직화학 염색으로 그 발현 정도를 측정하였다.

결과: 전체 99예의 환자에서 MSS/MSI-L 및 MSI-H인 경우가 각각 92 (92.9%), 7 (7.1%)였었고 TS에 대한 면역조직화학 염색 정도에 따라 negative, low TS 및 high TS인 경우는 각각 46 (46.5%), 33 (33.3%), 20 (20.2%)이었다. MSS/MSI-L 92예에서 TS의 negative, low TS, high TS는 각각 46 (50%), 30 (32.6%), 16 (17.4%)였었고 MSI-H인 7예에서는 TS의 negative, low TS, high TS가 0 (0%), 3 (42.9%), 4 (57.1%)으로 MSI-H 7예 모두에서 TS를 발현하였고 검정 결과 통계적으로 유의하게 MSI-H와 high TS 간에는 상관관계가 있었다.

결론: 위암환자에서 MSI-H를 보인 경우가 MSS/MSI-L를 보인 경우보다 더 높은 TS의 발현을 보였다.

중심 단어: Microsatellite instability, Thymidylate synthase, 위암

책임저자: 안대호, 경기도 성남시 분당구 야탑동 351
포천중문의과대학교 분당차병원 외과, 463-712
Tel: 031-780-5265, Fax: 031-780-5259
E-mail: dhahn@cha.ac.kr

투고일(2008년 7월 15일), 수정일(1차: 2008년 9월 29일),
재제정일(2008년 10월 8일)

서론

Microsatellite는 유전자 전체에 산재하는 단순 서열이 반복하는 DNA 부위를 일컫는 것인데 DNA 복제가 정상적으로 이루어지지 못하고 오류가 있는 경우 microsatellite의 길이가 길어지거나 짧아지게 되는데 이를 microsatellite instability (MSI)라고 하며,(1,2) 이의 기전은 부적합하게 배열된 DNA를 교정하는데 관여하는 부정합 보수 유전자 (mismatch repair gene)의 결함 또는 이상에 의한 것으로 밝혀졌다.(3) Ionov 등(1) 및 Thibodeau 등(2)은 유전성 대장암의 가계 연구 중 microsatellite의 길이가 수축 또는 팽창되는 예상치 않았던 단층변이를 일부 대장암 환자의 암세포에서 관찰하였다. 일반적으로 대장암에서 microsatellite instability high (MSI-H)를 보인 환자가 microsatellite stable (MSS) 또는 microsatellite instability low (MSI-L)를 가진 그룹보다 예후가 좋은 것으로 되어 있으나 Ribic 등(4)은 stage II, III 대장암에서 MSI-H를 보인 환자가 MSS/MSI-L 그룹보다 5-fluorouracil (5-FU)에 대한 효과가 떨어진다는 보고를 하였으나 그 이유는 설명하지 못하였다.

Thymidylate synthase (TS)는 deoxyuridine monophosphate (d-UMP)를 deoxy-thymidine monophosphate (d-TMP)로 변환시키는 효소로 DNA 생성과 보수에 반드시 필요한 물질임과 동시에 5-FU의 표적물질이며,(5) 암 환자에서 TS 발현율이 높을수록 경쟁적 억제 기전에 의해서 5-FU에 의한 항암 치료 효과가 감소한다.(6,7) 이와 같이 MSI가 높을수록, TS 발현이 높을수록 5-FU에 대한 감수성이 떨어지기 때문에 MSI와 TS간의 상관관계 및 연관성을 밝히려는 연구가 대장암 환자를 대상으로 시도되었으나, 현재까지의 결과에서 Okon 등(8) 및 Ricciardiello 등(9)은 MSI-H를 보인 대장암이 MSS/MSI-L 그룹보다 더 높은 TS의 발현을 보인다고 보고하였으나 반대의 결과보고도 있어서(10) 상관관계가 명확하지 않다. MSI가 위암의 일부에서도 관찰되고 있으며, 전반적인 인체 유전자의 불안정성이 위암종화의 중요한 기전 중의 하나일 것으로 생각되고 있다. 현재까지 위암 환자에서 MSI와 TS의 관계에 대한 연구는 없다. 따라서 본 연구에

서는 위암 환자에서 MSI와 TS 발현정도의 상관관계를 분석하였다.

정의하였다(Fig. 1).(11)

대상 및 방법

1) 연구 대상

2004년 1월부터 2006년 5월까지 분당차병원에서 위암으로 근치적 위절제술을 받은 환자 중 99명을 대상으로 임상 기록을 검토하고 이 환자를 대상으로 MSI 정도 및 TS 발현 정도를 비교분석하였다.

2) MSI 분석

MSI 분석은 파라핀 포맷한 정상 조직과 위암 조직을 대상으로 이수 앵프스사에 의뢰하여 정상과 종양 조직에서 각각 추출한 DNA를 이용하여 5개 현미 부수체 유전자 자리에서 증합효소반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 이용하여 증폭을 시행하였다. 10X buffer (Roche, Mannheim, Germany)의 2 ul, MgCl₂의 1.7에서 2.5 mmol/L, 각 primer pairs의 0.3 uM, deoxynucleotide triphosphate의 250 uM 그리고 DNA polymerase (Roche)의 2.5 units 혼합물에 DNA 50 ng을 첨가하여 증폭반응을 시행하였다. 증폭은 5분간 95°C에서 변성 후 95°C에서 1분간 변성, 60°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분간 연장하는 과정을 30 cycle 반복하였다. 증폭에 사용한 primer는 5' 부위가 FMA 또는 NED로 표지된 것을 사용하였다. 증폭된 샘플 0.7 ul을 0.3 μl의 GeneScan 500 Size Standard와 HiDi Formamide의 9 μl 혼합액에 첨가하여 ABI Prism 3100 Genetic Analyzer를 이용하여 분석하였다.

MSI에 대한 판정은 미국 국립 암 연구소에서 권장하는 5개의 microsatellite 표지자(BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, D17S250)를 이용하였다. 5개의 표지자 중 2개 이상에서 불안정성을 보일 경우를 MSI-H, 5개 중 1개에서만 불안정성을 보일 경우를 MSI-L, 불안정성이 없는 경우를 MSS으로

3) TS 발현에 대한 면역조직화학 염색 및 결과 판정

TS 발현은 파라핀 포맷된 종양조직과 정상조직을 면역조직화학 염색하여 그 발현정도를 측정하였다. 먼저 파라핀 포맷된 절편을 3~4 μm 두께로 잘라 slide에 부착시키고 58°C에서 1시간 방치한 후 Xylene으로 각 10분씩 3회에 걸쳐 파라핀을 제거한 후, 100%, 100%, 95%, 80%, 70%의 알코올로 함수화 시켰고 흐르는 수돗물에 5분간 수세하였다. 3% 과산화수소수로 10분간 처리하고 수세 3분 후 증류수로 세척하였다. 항원성 회복을 위하여 10 mM Citrate 용액에 넣고 microwave 오븐을 이용하여 가열하였다. 흐르는 물에 용기체로 식힌 후 조직 표본 위에 Peroxidase-Blocking solution을 떨어뜨려 10분간 두어 내인성 Peroxidase를 저지시키고, PBS 용액으로 씻은 다음 비특이적인 결합을 막기 위해서 non-immune serum과 실온에서 10분간 반응시킨 후 1 : 200으로 희석한 TS 106 clone에 대한 mouse anti-thymidylate synthase monoclonal antibody (Chemicon, Temecula, CA, USA)를 37°C에서 4시간 동안 반응시켰다. TBS 용액으로 씻고 발색 시약인 DAB로 5분간 반응시킨 후 물로 세척하였다. Hematoxylin으로 20초간 봉입한 후 현미경으로 검경하였다. 면역조직화학 염색의 평가는 low TS 그룹은 25% 미만의 암세포가 염색된 그룹이고, high TS 그룹은 25% 이상의 암세포가 염색된 그룹으로 구분하였고 전혀 염색이 되지 않은 그룹은 negative로 분류하였다(Fig. 2).(12)

4) 임상 및 병리적 검색

환자의 임상 기록과 조직 표본을 검토하여 연령, 성별, 분화도, 조직학적 유형, 침윤도, 림프절의 전이, 림프관 침윤여부 및 병기를 분석하였다. 분화도는 조직학적 분류에 따라서 분화(differentiated)와 미분화(undifferentiated)로, 조직학적 유형은 Lauren의 분류에 따라 diffuse, intestinal 및 mixed type으로 하였고, Ming의 분류에 따라서 infiltrating,

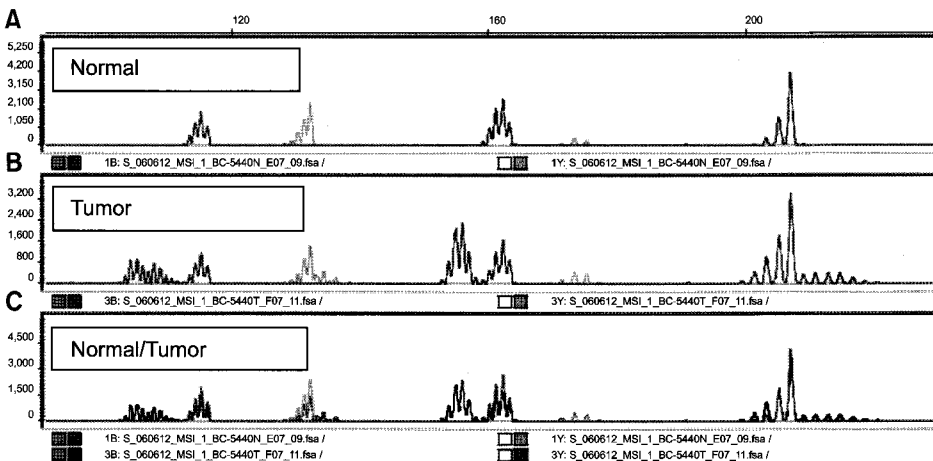


Fig. 1. Graphs of five microsatellite markers in a normal (A) and a tumor tissue (B). Overlapping two graphs enlightens the differences between them (C). MSI analysis shows instability for all 5 markers; MSI-high phenotype.

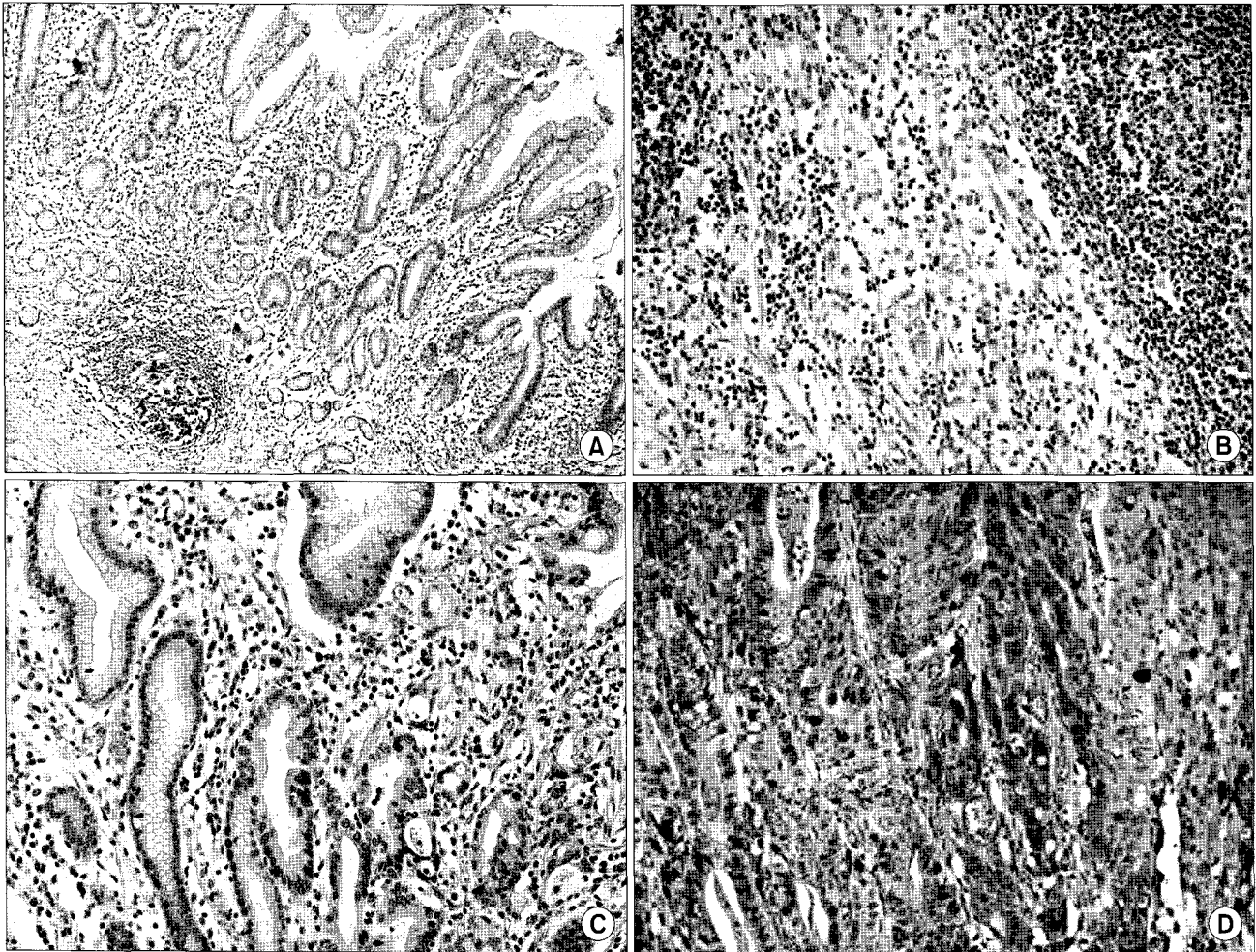


Fig. 2. Immunohistochemical stain of TS. Normal gastric tissue (A), $\times 100$. Negative TS (B), low TS (C), high TS (D) in tumor cell, $\times 200$.

expanding 및 infiltrating and expanding으로 분류하였다.

5) 통계학적 분석

MSI 발현의 정도(MSS/MSI-L, MSI-H)와 TS에 대한 면역조직화학 염색 정도에 따른 발현 정도(negative, low TS, high TS)의 비교 통계학적 분석은 crosstab을 이용하여 Pearson chi-square test 또는 Fisher exact test로 하였고 $P < 0.05$ 인 경우에 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1) MSS/MSI-L, MSI-H인 위암 환자의 임상 및 병리학적 소견

92예의 MSS/MSI-L과 7예의 MSI-H인 위암환자의 임상 및 병리학적 소견을 Table 1에 요약하였다. 연령, 성별, 분화도, 조직학적 유형, 침윤도, 림프절의 전이, 림프관 침윤여부 및 병기에 있어서 MSI 발현정도에 따라서 분류한 두 그

룹 간에 차이는 없었다.

2) Negative/low TS, high TS인 위암 환자의 임상 및 병리학적 소견

79예의 negative/low TS 및 20예의 high TS인 위암환자의 임상 및 병리학적 소견을 Table 2에 요약하였다. TS 발현은 Lauren분류의 intestinal type과 Ming분류의 expanding type에서 통계적으로 유의하게 높았다.

3) 위암 조직에서 MSI와 TS 발현의 빈도

99예의 위암 환자에서 MSS/MSI-L 및 MSI-H인 경우가 각각 92 (92.9%), 7 (7.1%)에였고 TS에 대한 면역조직화학 염색 정도에 따라 negative, low TS, high TS인 경우는 46 (46.5%), 33 (33.3%), 20 (20.2%)에였다. MSS/MSI-L 92예에서는 TS의 negative, low, high가 각각 46 (50%), 30 (32.6%), 16 (17.4%)에에서 관찰되었고 MSI-H인 7예에서는 TS의 negative, low, high가 각각 0 (0%), 3 (42.9%), 4 (57.1%)에로

Table 1. Clinicopathologic findings in patients with gastric cancer according to the MSI status

	Total (n=99)	MSS/ MSI-L (%) (n=92)	MSI-H (%) (n=7)	P value
Age				
≤ 60	43	42 (92.7)	1 (2.3)	0.315
> 60	56	50 (89.3)	6 (10.7)	
Sex				
Male	56	54 (96.4)	2 (3.6)	0.234
Female	43	38 (88.4)	5 (11.6)	
Histologic type				
Differentiated	37	35 (94.6)	2 (5.4)	0.709
Undifferentiated	62	57 (91.9)	5 (8.1)	
Lauren's classification				
Diffuse	42	41 (97.6)	1 (2.4)	0.207
Intestinal	49	44 (89.8)	5 (10.2)	
Mixed	4	3 (75)	1 (25)	
Unclassified	4	4 (100)	0	
Ming's classification				
Infiltrating	62	60 (96.8)	2 (3.2)	0.097
Expanding	30	25 (83.3)	5 (16.7)	
I&E	4	4 (100)	0	
Unclassified	3	3 (100)	0	
Depth of invasion				
T1	35	30 (85.7)	5 (14.3)	0.176
T2	41	39 (95.1)	2 (4.9)	
T3	20	20 (100)	0	
T4	3	3 (100)	0	
LN metastasis				
Negative	49	44 (89.8)	5 (10.2)	0.269
Positive	50	48 (96)	2 (4)	
Lymphatic invasion				
Negative	66	61 (92.4)	5 (7.6)	1.000
Positive	33	31 (93.9)	2 (6.1)	
TNM stage				
I	49	44 (89.8)	5 (10.2)	0.311
II	18	16 (88.9)	2 (11.1)	
III	13	13 (100)	0	
IV	19	19 (100)	0	

Table 2. Clinicopathologic findings in patients with gastric cancer according to the expression of TS

	Total (n=99)	Negative/ low TS (%) (n=79)	High TS (%) (n=20)	P value
Age				
≤ 60	43	35 (81.4)	8 (18.6)	0.468
> 60	56	44 (78.6)	12 (21.4)	
Sex				
Male	56	41 (73.2)	15 (26.8)	0.079
Female	43	38 (88.4)	5 (11.6)	
Histologic type				
Differentiated	37	29 (78.4)	8 (21.6)	0.801
Undifferentiated	62	50 (80.6)	12 (19.4)	
Lauren's classification				
Diffuse	42	41 (97.6)	1 (2.4)	0.003
Intestinal	49	33 (67.3)	16 (32.7)	
Mixed	4	3 (75)	1 (25)	
Unclassified	4	2 (50)	2 (50)	
Ming's classification				
Infiltrating	62	55 (88.7)	7 (11.3)	0.018
Expanding	30	20 (66.7)	10 (33.3)	
I&E	4	3 (75)	1 (25)	
Unclassified	3	1 (33.3)	2 (66.7)	
Depth of invasion				
T1	35	28 (80)	7 (20)	0.348
T2	41	30 (73.2)	11 (26.8)	
T3	20	18 (90)	2 (10)	
T4	3	3 (100)	0	
LN metastasis				
Negative	49	38 (77.6)	11 (22.4)	0.624
Positive	50	41 (82)	9 (18)	
Lymphatic invasion				
Negative	66	53 (80.3)	13 (19.7)	1.000
Positive	33	26 (78.8)	7 (21.2)	
TNM stage				
I	49	38 (77.6)	11 (22.4)	0.900
II	18	14 (77.8)	4 (22.2)	
III	13	11 (84.6)	2 (15.4)	
IV	19	16 (84.2)	3 (15.8)	

MSI-H 7예에서 양의 차이는 있으나 전 예에서 모두 TS를 발현하였다(Table 3).

검정 결과 MSI-H인 경우에서 high TS발현이 통계적으로 유의하게 높았다(P=0.007).

참고로 TS는 면역조직화학 염색에서 일부의 정상 위조직(위상피 증식대, 점막과 연관된 림프성 조직, 일부의 술잔 세포)에서도 염색되어 관찰되나 종양에서는 분명하게 종양 세포의 파립세포질이 염색되었다. MSI-H인 7예의 정상 조직에서는 전예에서 TS가 발현되지 않았고 MSS/MSI-L인 경우의 정상 조직에서는 TS의 negative, low, high가 각각 80 (80.8%), 11 (11.1%), 1 (1.0%)예에서 관찰되었으나 통계적으

Table 3. Relationship between MSI status and TS expression in tumor cell

MSI status	MSS/ MSI-L (%)	TS expression			Total (%)
		Negative (%)	Low (%)	High (%)	
MSI-H (%)		46 (50)	30 (32.6)	16 (17.4)	92 (100)
MSI-L (%)		0 (0)	3 (42.9)	4 (57.1)	7 (100)

로 유의한 차이는 없었다.

고 찰

위암 및 위암의 전구 병변에 대한 분자생물학적 연구의 발전으로 유전자 수준에서 위암의 원인을 규명하려는 많은 연구가 이루어져 여러 가지 종양유전자 및 종양억제유전자의 결손 현상과 성장인자의 변형을 관찰하였으나, 유전적 변화 및 발암 기전의 연관 분석은 아직까지 미흡하다. 불안정한 종양유전자가 세포의 증식과 분화에 필요한 정보 전달 및 유전자 발현 조절에 관여하는 단백을 합성하고 이들의 활성화에 의해서 정상적인 세포의 증식과 분화가 저해되어서 암이 발생하는 것으로 생각되어지고 있다.(13)

부정합보수유전자는 DNA 복제 시 오류가 발생하는 경우 이를 수정하여 정상적인 복제가 일어나도록 작용하나 결함이 발생하였을 때에 유전변이의 오류가 수정되지 않고, 지속적인 변이의 축적은 암 발생을 유도하게 된다. 부정합보수유전자의 결함 및 기능 이상이 있는 경우 microsatellite instability라는 유전자형으로 표현되며, 이는 비교적 짧은 서열의 염기가 반복되는 부위가 불안정성을 나타낸다.(3) Tahara(14)는 위암의 발생과정에서 유전자 불안정성은 미분화 위암의 발생초기에 밀접한 연관이 있다고 주장하였다.

위암에서 MSI-H의 빈도는 Lee 등(15)은 9.5%, Rhyu 등(16)은 22.7%, Han 등(17)은 39%, Chong 등(18)은 32.8%로 다양하게 보고하였고, 사용된 표지자의 종류나 개수에 따라 차이가 있지만 약 10~40%로 다양하다. 본 연구에서는 MSI-H가 7.1%로 타 연구결과에 비해서 약간 낮은 비율을 나타냈다.

Nakajima 등(19)은 연령이 증가할수록 부정합보수유전자의 기능 이상과의 관련이 높을 가능성이 있어 MSI가 많이 나타난다고 보고하였다. 본 연구에서 MSI-H가 60세 이상에서는 10.7%, 60세 이하에서는 2.3%로 나왔으나 증례수가 적어서 통계적으로 유의하지는 않았다.

Han 등(18)은 미분화 위암에서 MSI가 흔히 관찰되고, Secura 등(20)은 MSI인 위암환자 중에서 81.8%가 위 전정부에 위치하며, 미분화암, 고령의 환자에서 흔히 발생하며 조직학적으로 심한 림프구의 침윤을 보이고 예후가 비교적 좋은 것으로 보고하였다. 본 연구에서는 MSI-H가 미분화암에서는 8.1%, 분화암에서는 5.4%로 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

위암의 조직학적 유형과 MSI와의 관계에 대한 연구에서 Lin 등(21)은 diffuse type (32%)과 intestinal type (33%)에 따라 차이가 없다고 보고한 반면에 Chong 등(18)은 intestinal type에서 MSI가 매우 높은 빈도를 보여 intestinal type에서 MSI가 위암발생에 관여할 것으로 보고하였다. 본 연구에서는 MSI-H가 intestinal type에서는 10.2%, diffuse type에서는

2.4%로 나타났으나 유의성은 없었다. Ming분류에서는 MSI-H가 infiltrating type에서 3.2%, expanding type에서 16.7%로 expanding type에서 통계적으로 높게 나왔으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

위암환자에서 Lin 등(21)은 조기 위암에서 21.4%, 진행성 위암에서는 41.5%의 MSI-H의 빈도를 보고 하면서 위암 발생에 있어서 유전자 변화는 위암의 초기에 발생하여 위암의 진행과정에 관여한다고 하였고 본 연구에서는 MSI-H가 조기 위암에서는 14.3%, 진행성 위암에서는 3.1%의 빈도를 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 림프절 전이, 림프관 침윤 여부 및 병기에 따른 MSI의 차이도 없었다.

TS는 dUMP를 dTMP로의 환원성 메틸화를 촉매 하는 효소이며 dTMP는 DNA 합성에 있어 필수적인 요소이다. 이와 같이 TS는 DNA 합성과정에서 thymidine을 제공할 뿐만 아니라 5-FU의 중요한 공격 목표도 된다. 5-FU는 5-fluoro-2'-deoxyuridine-5'-mono phosphate (FdUMP)로 대사되어 5, 10-methylene-tetrahydrofolate (CH₂-THF), TS와 함께 3차 복합체를 형성함으로써 TS 활성도를 낮추어 DNA 합성을 억제하는 기전에 의해서 TS는 5-FU의 공격 목표가 된다.(22) 최근에 TS-binding assay를 이용한 연구에 따르면 종양 내의 TS 발현이 높으면 5-FU에 대한 약물의 저항성이 증가하고 예후가 불량하다고 한다.(6)

위암 환자에 대한 TS의 연구는 아직 미흡하다.(12) TS 발현과 위암환자의 임상 및 병리학적 인자를 비교 분석한 본 연구의 결과에 의하면 high TS군이 Lauren분류의 intestinal type에서는 32.7%, diffuse type에서는 2.4%로 intestinal type이 통계적으로 유의하게 높았으며(P=0.003) Ming분류에서는 infiltrating type에서 11.3%, expanding type에서 33.3%로 expanding type에서 통계적으로 유의하게 높았으나(P=0.018) 위암 분화도를 비롯한 그 이외의 임상 병리학적 인자에서는 차이가 없었다.

MSI-H와 MSS의 대장암이 5-FU에 대해 각각 다른 반응을 나타낸다. 즉 II, III기 대장암에서 MSS 또는 MSI-L를 가진 그룹이 일반적으로 예후가 더 좋다고 알려진 MSI-H를 가진 그룹보다 5-FU에 대해서는 효과가 높다고 보고되었다. 이러한 차이의 기전은 밝혀지지 않았지만 아마도 TS 발현에 따른 5-FU 감수성의 차이와 관련이 있을 것으로 추측된다. 이와 같이 MSI가 높을수록, TS 발현이 높을수록 5-FU에 대한 감수성이 떨어지기 때문에 MSI와 TS간의 상관관계 및 연관성을 밝혀려는 연구가 대장암 환자를 대상으로 시도되었으나 현재까지의 연구 결과는 일정하지 않아서 결론을 내릴 수 없다.

위암 환자에서 MSI와 TS의 관계에 대한 연구는 없으며 MSI와 위암환자의 예후와의 관계도 불확실하고 MSI의 정도에 따른 5-FU에 대한 감수성의 차이에 관한 연구도 아직 없다. 본 연구에서는 위암 환자에서의 MSI와 TS 발현의 상관관계를 알아보았으며 연구의 결과에서 MSI-H인 경우에

보다 높은 TS 발현을 나타냈으며 통계적으로도 의의가 있었다. 그러나 이러한 결과가 위암환자에서 5-FU에 대한 감수성 및 예후에 어떠한 영향을 미치는지에 대해서는 추가 연구가 필요하리라고 생각되며 그 결과는 항암 치료 여부 결정 및 약제선택에 도움이되리라 사료된다.

결론

본 연구는 위암의 발생 및 진행과정에 관여하는 MSI와 TS 발현사이에 상호 상관관계가 있는지를 알아보고자 하여 위암 환자를 대상으로 MSI 및 TS 발현정도를 비교 분석하였다. MSI-H인 경우에서 통계적으로 유의하게 높게 TS가 발현되어 두 변수간의 상관관계가 증명되었다.

REFERENCES

1. Ionov M, Peinado MA, Malkhosyan S, Shibata D, Perucho M. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 1993;363:558-561.
2. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993;260:816-819.
3. Mironov NM, Aquelon AM, Potapova GI, Omori Y, Gorbunov OV, Klimenkov AA, Yamasaki H. Alterations of (CA)_n DNA repeats and tumor suppressor genes in human gastric cancer. *Cancer Res* 1994;54:41-44.
4. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, Hamilton SR, Laurent-Puig P, Gryfe R, Shepherd LE, et al. Tumor microsatellite instability status as predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003;349:247-257.
5. Danenberg PV. Thymidylate synthetase-a target enzyme in cancer chemotherapy. *Biochim Biophys Acta* 1977;473:73-92.
6. Lenz HJ, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Groshen S, Cohen H, Laine L, Crookes P, Silberman H, Baranda J, et al. Thymidylate synthase mRNA level in adenocarcinoma of the stomach: a predictor for primary tumor response and overall survival. *J Clin Oncol* 1996;14:176-182.
7. Tajima Y, Shimoda T, Nakanishi Y, Yokoyama N, Tanaka T, Shimizu K, Saito T, Kawamura M, Kusano M, Kumagai K. Association of gastric and intestinal phenotypic marker expression of gastric carcinomas with tumor thymidylate synthase expression and response to postoperative chemotherapy with 5-fluorouracil. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003;129:683-690.
8. Okon K, Klimkowska A, Wojcik P, Osuch C, Papla B, Stachura J. High thymidylate synthase expression is typical for sporadic MSI-H colorectal carcinoma. *Pol J Pathol* 2006; 57:29-33.
9. Ricciardiello L, Ceccarelli C, Angiolini G, Pariali M, Chieco P, Paterini P, Biasco G, Martinelli GN, Roda E, Bazzoli F. High thymidylate synthase expression in colorectal cancer with microsatellite instability: implications for chemotherapeutic strategies. *Clin Cancer Res* 2005;11:4234-4240.
10. Frank AS, Rafaela LR, Kevin CH, Nathan RF, Daniel JS, Betsy LP, Amy JF, Carmen JA, Richard MG, Thomas EW, et al. Thymidylate synthase expression in colon carcinomas with microsatellite instability. *Clin Cancer Res* 2006;12: 2738-2744.
11. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5248-5257.
12. Kuniyasu T, Nakamura T, Tabuchi Y, Kuroda Y. Immunohistochemical evaluation of thymidylate synthase in gastric carcinoma using a new polyclonal antibody. *American Cancer Society* 1998;83:1300-1306.
13. Peddanna N, Holt S, Verma RS. Genetics of gastric cancer. *Anticancer Res* 1995;15:2055-2064.
14. Tahara E. Molecular mechanism of stomach carcinogenesis. *J Cancer Res Clin Oncol* 1993;119:265-272.
15. Lee HS, Choi SI, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kang GH, Kim YI, Lee BL, Kim WH. Distinct clinical features and outcomes of gastric cancers with microsatellite instability. *Mod Pathol* 2002;15:632-640.
16. Rhyu MG, Park WS, Meltzer SJ. Microsatellite instability occurs frequently in human gastric carcinoma. *Oncogene* 1994;9:29-32.
17. Han HJ, Yanagisawa A, Kato Y, Park JG, Nakamura Y. Genetic instability in pancreatic cancer and poorly differentiated type of gastric cancer. *Cancer Res* 1993;53:5087-5089.
18. Chong JM, Fukayama M, Hayashi Y, Takizawa T, Koike M, Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Miyaki M. Microsatellite instability in the progression of gastric carcinoma. *Cancer Res* 1994;54:4595-4597.
19. Nakajima T, Akiyama Y, Shiraishi J, Arai T, Yanagisawa Y, Ara M, Fukuda Y, Sawabe M, Saitoh M, Kamiyama R, et al. Age-related hypermethylation of the hMLH1 promoter in gastric cancer. *Int J Cancer* 2001;94:208-211.
20. Seruca R, Santos NR, David L. Sporadic gastric carcinomas with microsatellite instability display a particular clinicopathologic profile. *Int J Cancer* 1995;64:32-36.
21. Lin JT, Wu MS, Shun CT. Occurrence of microsatellite instability in gastric carcinoma is associated with enhanced expression of erbB-2 oncoprotein. *Cancer Res* 1995;55:1428-1430.
22. Peters GJ, van der Wilt CL, van Triest B, Codacci-Pisanelli G, Johnston PG, van Groeningen CJ, Pinedo HM. Thymidylate synthase and drug resistance. *Eur J Cancer* 1995;31:1299-1305.

= Abstract =

The Relation between Microsatellite Instability and the Thymidylate Synthase Expression in Gastric Cancer

Hyun Seok Ko, M.D., Chang Wook Ahn, M.D., Hae Youn Kang, M.D.¹, Kwang Il Kim, M.D.¹, Sung Pyo Hong, M.D.² and Dae Ho Ahn, M.D.

Departments of Surgery, ¹Pathology and ²Internal Medicine, College of Medicine, Pochon CHA University, Seongnam, Korea

Purpose: The main target of 5-fluorouracil (5-FU) is thymidylate synthase (TS). A high TS expression has been identified as promoting resistance to 5-FU. For colorectal cancers, the response to 5-FU based adjuvant chemotherapy is different according to the microsatellite instability (MSI) status. The reports on the relationship between MSI and the TS expression in colorectal cancer have been inconsistent. No data is available for gastric cancer regarding the relationship between MSI and the TS expression. Therefore, we studied the relationship between MSI and the TS expression in gastric cancer.

Materials and Methods: Ninety-nine consecutive patients who underwent radical gastrectomy for gastric cancer from January 2004 to May 2006 at Bundang CHA hospital were studied. MSI was assessed for five markers (BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, and D17S250) by PCR and with using an ABI prism 3100 Genetic analyzer. The TS expression was analyzed by immunohistochemistry with using mouse anti-thymidylate synthase monoclonal antibody to the TS 106 clone.

Results: Out of the ninety-nine patients, MSS/MSI-L was detected in 92 (92.1%) cases and 7 cases (7.1%) were MSI-H. A negative TS expression was found in 46 (46.5%) cases, a low TS expression was found in 33 (33.3%) and a high TS expression was found in 20 (20.2%). Out of 92 MSS/MSI-L patients, the number of patients with negative, low and high TS expressions were 46 (50%), 30 (32.6%) and 16 (17.4%), respectively. Out of the 7 MSI-H patients, the number of patients with negative, low and high TS expressions were 0 (0%), 3 (42.9%) and 4 (57.1%), respectively. The relationship between MSI-H and a high TS expression was statistically significant.

Conclusion: Gastric cancer with MSI-H showed higher levels of a TS expression compared to the gastric cancer with MSS/MSI-L. (J Korean Gastric Cancer Assoc 2008;8:169-175)

Key Words: Microsatellite instability, Thymidylate synthase, Gastric cancer