

위선암종에서 핵의 Retinoic Acid Receptor (RAR) 및 cAMP Response Element Binding Protein (CREB)의 면역조직화학적 발현양상

중앙대학교 의과대학 외과학교실, ¹병리학교실

한호선 · 김용석 · 박종민 · 최유신 · 차성재 · 김미경¹ · 지경천

목적: 인체 내 여러 조직에서 상피세포의 분화 및 증식에 중요한 역할을 담당한다고 알려진 retinoic acid (RA)와 여러 유전자들에서 전사조절인자로 성장관여 유전자들의 활성화에 관여하며 세포증식 및 분화에 매우 중요한 세포내 조절인자인 CREB의 발현정도 와 위선암종간의 상호 연관성 및 병리학적 인자들과의 관계를 관찰하였다.

대상 및 방법: 중앙대학교 의과대학 용산병원에서 1998년 1월부터 2007년 12월까지 위절제술을 시행 받고 위선암종으로 진단받은 환자의 위조직표본 중 보존상태가 양호한 파라핀 포매체 150예를 연구대상으로 조직 표본에서 면역조직화학적 염색을 통해 관찰하였다.

결과: 1. RAR의 발현은 장형 위선암종(72.2%)에서 미만형 위선암종(40.5%)보다 높게 나타났으며($P < 0.01$), 림프절 전이가 있는 경우(74.7%)가 림프절 전이가 없는 경우(49.2%)보다 의미 있는 발현양상을 나타냈다($P < 0.01$). 2. cAMP response element binding protein (CREB)의 발현은 장형 위선암종(69.4%)에서 미만형 위선암종(38.1%)보다 높게 나타났으며($P < 0.01$), 림프절 전이가 있는 경우(71.1%)가 림프절 전이가 없는 경우(47.8%)보다 높은 발현양상을 나타냈다($P < 0.01$). 3. 총 150예의 위선암종에서 RAR은 63.3% (95/150), CREB은 60.7% (91/150)에서 발현을 나타냈다($P < 0.01$).

결론: 이상의 결과로 RAR과 CREB은 조직학적 분화도 및 종양의 전이와 관련이 있고, 이들의 발현이 장형 위선암종에서의 생물학적 악성도에 관한 예후인자로서 관련이 있으나 이들의 발현이 위선암종에 미치는 생물학적 기전에 대한 추가 연구가 필요하다.

중심 단어: RAR, CREB, 위선암종

서 론

인체 내 여러 조직에서 상피세포의 분화 및 증식에 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있는 RA (retinoic acid)는 특히 점액상피세포에서의 발현양상에 대한 연구가 진행되면서 최근 이에 대한 결과들이 보고되고 있다.(1-13) 이전 연

책임저자: 지경천, 서울시 용산구 한강로 3가 65-207
중앙대학교 의과대학 외과학교실, 140-757
Tel: 02-748-9560, Fax: 02-793-1042
E-mail: kcchi@cau.ac.kr

투고일(2008년 8월 10일), 수정일(1차: 2008년 10월 18일,
2차: 10월 22일), 게재확정일(2008년 10월 22일)

구들에 의하면 폐조직의 형태학적 발달(branching morphogenesis and alveolization)에 깊이 관여한다고 알려져 왔으며,(8) RA deficient mice를 이용한 연구에서는 폐조직의 저형성 및 이형성이 관찰된다고 보고하고 있다. 또한 만성 Vitamin A 결핍으로 정상 폐기관지의 상피세포가 점액성분이 없는 편평세포로 화생화가 된 경우에도 이들 세포에 RA 처리를 하면 다시 정상폐기관지의 상피세포로 형태가 변화한다는 연구결과는 RA가 폐기관지 상피세포의 분화에 중요한 역할을 한다는 사실을 시사하는 소견이라 하겠다.(9-12,14,15) 인체 내 정상위점막에서도 retinoid receptor protein의 발현이 보고되면서 이에 연관된 연구들이 진행되고 있다.(1-7) 또한 RA와 암과의 상관관계에 관한 연구에 의하면 전암성 폐병변 및 폐암에서는 상피세포의 증식과 분화에 관여하는 nuclear retinoid receptor인 RAR과 retinoid X receptor (RXR)의 발현이 현저히 감소하는 것으로 보고되고 있다.(9,10) Cyclic adenosine monophosphate (cAMP)는 여러 유전자들에서 전사조절에 관여하는 세포내 이차적 전령사 역할을 한다고 알려져 있고 c-fos proto-oncogene과 같은 성장조절유전자들을 활성화 시키는 것으로 알려져 있다.(15-23) CREB은 여러 유전자들에서 전사조절인자로 잘 알려져 있고 성장조절유전자들의 활성화에 관여하며 세포 증식, 분화 및 생존에 매우 중요한 세포내 인자이나 암종에서의 연구는 아직 미비한 상태이다.(22-24)

RAR과 CREB 양자는 핵수용체(nuclear receptor)로서 RAR은 염색체의 retinoic acid response element (RARE)를 활성화시키고 CREB은 CREB-binding protein (CBP)과 결합하여 cAMP response element (CRE)를 활성화시켜 기본 전사인자 복합체의 작용을 개시하게 한다. 이때 RAR, CREB과 CBP는 서로 공동활성인자(coactivator)작용을 통해 밀접한 조절관계에 있다. 또한 RA는 protein kinase C, extracellular regulated kinase들을 통해 CREB을 직접 활성화시킨다고 보고되고 있다.(25) 최근에는 암세포에서의 이러한 핵수용체와 공동활성인자의 유전자 발현에 대한 연구가 진행되고 있고(26-29) 유방암, 침샘선암 등에서 이러한 인자들은 서로 밀접하게 전사조절에 관여한다고 알려져 있다.(28,29) 한국인에서 발생하는 악성종양중 발생빈도가 높은 위선암종

은 형태학적 소견, 침윤양상, 임상경과 등에 있어서 이질성을 보인다. 이러한 위선암종의 예후를 예견하기 위해서 많은 인자들의 검색이 진행되고 있다. 최근에는 위암의 발생과 진행에 따른 종양세포의 유전자이상 및 그 역할에 대한 관심이 높아지고 있다. 위선암종은 Lauren의 분류(29)에 따라 장형 선암종과 미만형 선암종으로 분류할 수 있으며 이 두 유형은 형태학적으로나 임상적으로도 차이가 있다.(29,30) 이에 면역조직화학적 방법을 이용하여 위선암종 조직에서 nuclear retinoid receptor 및 CREB의 발현정도를 알아보고 이들 사이의 상관성 및 임상-병리조직학적 예후인자들과 검토하여 예후인자로서의 가능성 및 발암과정에서의 상호작용에 의한 일부 역할수행여부를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1) 연구재료 및 방법

중앙대학교 의과대학 용산병원에서 1998년 1월부터 2007년 12월까지 위절제술을 시행 받고 위선암종으로 진단받은 환자의 위조직표본 중 보존상태가 양호한 파라핀 포매피 150예를 연구대상으로 하였다.

환자의 기록을 검토하여 침윤깊이 및 림프절 전이유무를 조사하였다. 위선암종의 조직학적 분류는 Lauren의 분류법(29)에 따라 종양세포가 주로 선구조로 구성되어 있는 장형과 종양세포가 작고 둥근모양이며 날개로 흩어져 선구조를 형성하지 않으며 경계가 불분명한 미만형으로 분류하였다.

2) 면역조직화학적 염색

각 예의 파라핀 포매 조직에서 4~5 μm 두께의 절편을 박절하고 탈파라핀하고, 무수 알코올, 90%, 75% 및 50% 알코올에서 차례대로 흡수과정을 거쳐서 증류수에 5분간 수세하였다. 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위해 0.5% hydrogen peroxide에 10분간 처리 후 증류수로 수세하였다. 항원성 회복을 위하여 10 mM citrate (pH 6.0) 완충액에 담가 5분간 2회 극초단파 처리 후 실온에서 냉각시키고 50 mM Tris 완충용액(TBS, pH 7.5)으로 수세 하였다. 면역조직화학적 염색의 비특이성 반응을 제거하기 위해 30분간 염소혈청으로 처리하고, 여분의 용액을 제거한 다음 일차항체인 RAR (Zymed Co, USA, mouse monoclonal, 1 : 500)과 CREB (RB01700-PO, Zymed Co, USA, mouse monoclonal, 1 : 500)을 실온에서 24시간 반응시킨 후 TBS로 5분간 3회 수세한 다음 biotin이 부착된 이차항체(Zymed Co. USA)에 20분간 작용 후, streptavidin과 결합한 과산화 효소 복합체를가하여 20분간 반응시킨 후 AEC chromogen (3-amino-9-ethylcarbazole) 용액으로 발색하고 Mayer hematoxylin으로 대조 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다. 면역조직화학적 염색반응의 음성 대조군으로는 위선암종조직에서 일차

항체를 처리하지 않고 음성대조 시약으로 대체하여 이용하였고 양성 대조군으로는 유방암조직(Cell Signaling technology, USA)을 이용하였다.

3) 면역조직화학적 염색 판정 및 분석

RAR과 CREB에 대한 염색의 판정은 종양세포의 핵에 분명한 적갈색으로 염색된 경우를 양성으로 판정하였고 면역조직화학적 반응도의 평가는 전체세포의 10% 이상에서 염색상을 보일 때 양성으로 판정하였고 염색상이 10~30%인 경우를 + (국소적), 30% 이상인 경우를 ++ (다발성)으로 판정하였다.

통계학적 유의성은 chi-square test로 분석하여 P<0.05인 것을 의미있는 것으로 하였다.

결 과

환자의 연령은 25.1세부터 78.1세까지였으며 평균 연령은 51.6세였고 여자가 69예, 남자가 81예였다. 종양의 크기는 0.8 cm부터 10.6 cm까지로 평균 5.7 cm였다. 장형 선암종은 108예, 미만형 선암종은 42예였고, 이중 T1은 24예, T2는 21예, T3는 96예, T4는 9예였다. 67예에서 림프절 전이가 있었으며 83예에서 림프절 전이가 없었다(Table 1).

RAR의 발현양상은 장형 위선암종에서는 전반적으로 발현강도가 높고, 다발성의 발현을 보였으나 미만형에서는 발현을 나타내기는 하나 발현강도도 장형 위선암종에 비해 약하고 국소적 발현을 나타냈다(Fig. 1). 장형 위선암종에서

Table 1. Characteristics of cases

Characteristics		Number of cases (%)
Number of cases		150
Mean age (years)		51.6±26.5
Sex	Male	81 (54)
	Female	69 (46)
Mean tumor size (cm)		5.7±4.9
Histologic type	Intestinal	108 (72)
	Diffuse	42 (28)
Depth of invasion	pT1	24 (16)
	pT2	21 (14)
	pT3	96 (64)
	pT4	9 (6)
LN metastasis	pN0	67 (44.7)
	pN1	83 (55.3)

pT1 = tumor invades lamina propria or submucosa; pT2 = tumor invades muscularis propria or subserosa; pT3 = tumor penetrates serosa (visceral peritoneum) without invasion of adjacent structures; pT4 = tumor invades adjacent structures; LN = lymph node; pN0 = no regional lymph node metastasis; pN1 = metastasis in regional lymph nodes.

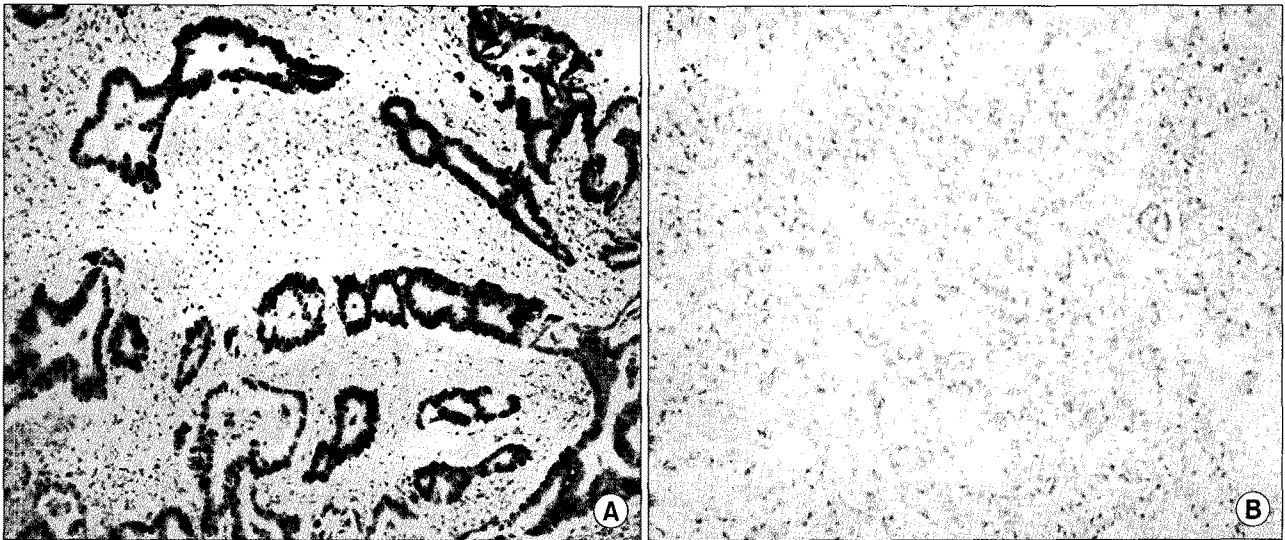


Fig. 1. (A) Immunostain for RAR shows diffuse strong nuclear reaction in gastric adenocarcinoma of intestinal type. (B) Negative nuclear reaction in diffuse type (×200).

는 108예 중 29예(26.9%)에서 국소적 발현을 나타냈고 49예(45.3%)에서 다발성 발현을 보였다. 미만형 위선암종 42예 중 11예(26.2%)에서 국소적 발현을, 6예(14.3%)에서 다발성 발현을 나타냈다. 암의 진행에 있어서는 T1인 경우 24예 중 8예(33.3%)에서 국소적 발현을, 6예(25%)에서 다발성 발현을 보였고 T2인 경우 21예 중 6예(28.6%)에서 국소적 발현을, 7예(33.3%)에서 다발성 발현을 나타냈다. T3인 경우 96예 중 23예(24%)에서 국소적 발현을, 38예(39.5%)에서 다발성 발현을 보였고, T4인 경우 9예 중 3예(33.3%)에서 국소적 발현을, 4예(44.5%)에서 다발성 발현을 나타냈다. 림프절 전이가 있었던 83예 중 23예(27.7%)에서 국소적 발현을, 39예(47%)에서 다발성 발현이 관찰되었고 림프절 전이가 없었던 67예에서는 17예(25.4%)에서 국소적 발현을, 16예(23.8%)에서 다발성 발현을 나타냈다. 따라서 RAR은 미만형 위선암종보다는 장형 위선암종에서 의미 있는 발현양상을 보였고($P < 0.01$), 암의 진행이 있을수록 발현율이 다소 증가하기는 했으나 통계학적 의의는 없었다($P > 0.05$). 림프절 전이가 없는 경우보다 림프절 전이가 있는 경우에서 높은 발현율을 나타냈다($P < 0.01$)(Table 2).

CREB의 발현양상은 장형 위선암종에서는 108예 중 34예(31.5%)에서 국소적 발현을 나타냈고 41예(37.9%)에서 다발성 발현을 보였다. 미만형 위선암종 42예 중 9예(21.4%)에서 국소적 발현을, 7예(16.7%)에서 다발성 발현을 나타냈다. 암의 진행에 있어서는 T1인 경우 24예 중 7예(29.2%)에서 국소적 발현을, 5예(20.8%)에서 다발성 발현을 보였고 T2인 경우 21예 중 5예(23.8%)에서 국소적 발현을, 6예(28.6%)에서 다발성 발현을 나타냈다. T3인 경우 96예 중 28예(29.2%)에서 국소적 발현을, 34예(35.4%)에서 다발성 발현을 보였고, T4인 경우 9예 중 3예(33.3%)에서 국소적

Table 2. RAR expression in gastric adenocarcinomas

	Number of case	RAR (%)			P value
		(-)	(+)	(++)	
Histologic type					<0.01
Intestinal	108	30 (27.8)	29 (26.9)	49 (45.3)	
Diffuse	42	25 (59.5)	11 (26.2)	6 (14.3)	
Depth of invasion					>0.05
pT1	24	10 (41.7)	8 (33.3)	6 (25)	
pT2	21	8 (38.1)	6 (28.6)	7 (33.3)	
pT3	96	35 (36.5)	23 (24)	38 (39.5)	
pT4	9	2 (22.2)	3 (33.3)	4 (44.5)	
LN metastasis					<0.01
pN0	67	34 (50.8)	17 (25.4)	16 (23.8)	
pN1	83	21 (25.3)	23 (27.7)	39 (47)	

RAR = retinoic acid receptor; Histologic type = lauren's classification; pT1 = tumor invades lamina propria or submucosa; pT2 = tumor invades muscularis propria or subserosa; pT3 = tumor penetrates serosa (visceral peritoneum) without invasion of adjacent structures; pT4 = tumor invades adjacent structures; LN = lymph node; pN0 = no regional lymph node metastasis; pN1 = metastasis in regional lymph nodes.

발현을, 3예(33.3%)에서 다발성 발현을 나타냈다. 림프절 전이가 있었던 83예 중 31예(37.4%)에서 국소적 발현을, 28예(33.7%)에서 다발성 발현이 관찰되었고 림프절 전이가 없었던 67예에서는 12예(17.9%)에서 국소적 발현을, 20예(29.9%)에서 다발성 발현을 나타냈다. 따라서 CREB은 미만

형 위선암종보다는 장형 위선암종에서 의미있는 발현양상을 보였고($P < 0.01$), 암의 진행에 따른 발현의 차이는 통계학적 의의가 없었으며($P > 0.05$). 림프절 전이가 없는 경우보다 림프절 전이가 있는 경우에서 높은 발현율을 나타냈다($P < 0.01$)(Table 3, Fig. 2). 또한 총 150예의 위선암종에서

Table 3. CREB expression in gastric adenocarcinomas

	Number of case	CREB (%)			P value
		(-)	(+)	(++)	
Histologic type					<0.01
Intestinal	108	33 (30.6)	34 (31.5)	41 (37.9)	
Diffuse	42	26 (61.9)	9 (21.4)	7 (16.7)	
Depth of invasion					>0.05
pT1	24	12 (50)	7 (29.2)	5 (20.8)	
pT2	21	10 (47.6)	5 (23.8)	6 (28.6)	
pT3	96	34 (35.4)	28 (29.2)	34 (35.4)	
pT4	9	3 (33.3)	3 (33.3)	3 (33.3)	
LN metastasis					<0.01
pN0	67	35 (52.2)	12 (17.9)	20 (29.9)	
pN1	83	24 (28.9)	31 (37.4)	28 (33.7)	

CREB = cAMP response element binding protein; Histologic type = Lauren's classification; pT1 = tumor invades lamina propria or submucosa; pT2 = tumor invades muscularis propria or subserosa; pT3 = tumor penetrates serosa (visceral peritoneum) without invasion of adjacent structures; pT4 = tumor invades adjacent structures; LN = lymph node; pN0 = no regional lymph node metastasis; pN1 = metastasis in regional lymph nodes.

RAR은 63.3% (95/150), CREB은 60.7% (91/150)에서 발현을 나타냈다($P < 0.01$)(Table 4).

고찰

인체 내 상피세포의 분화와 증식에 중요하다고 알려진 retinoic acid는 폐조직에서 진행된 많은 연구결과 조직의 성숙 및 상피세포의 구조유지에 필수적인 요소이며 특히 점액상피세포의 분화에 중요한 역할을 담당한다고 보고되고 있다.(8-11) 최근 들어 인체 내 정상위조직에서의 연구가 진행되고 있고 위점막내 분포 및 세포분화에 대한 연구결과가 보고되고 있다.(1-7) 암종에 관한 연구로는 폐암, 유방암, 침샘암 등에서 nuclear retinoid receptor인 RAR의 발현을 보고하면서 발암과정에서 일부 역할을 수행할 것이라고 시사하고 있다.(27,28) 위선암종은 발암기전에 대한 연구가 절실히 요구되고 있고 또한 위암의 예후를 예견하기 위해서 많은 인자들의 검색이 진행되고 있다. 본 연구에서는 장형 위선암종에서 72.2%, 미만형 위선암종에서 40.5%의 발현율을 보여 통계학적으로 의미 있는 차이를 나타냈다. 발현강도도 미만형의 경우, 다발성 발현을 보이더라도 발현강도가

Table 4. Comparison of expression between RAR and CREB in gastric adenocarcinomas

		RAR (-)	(+)	(++)
CREB	(-)	40 (26.7)	9 (6)	10 (6.6)
	(+)	9 (6)	28 (18.7)	6 (4)
	(++)	6 (4)	3 (2)	39 (26)

() = % of positive cells.

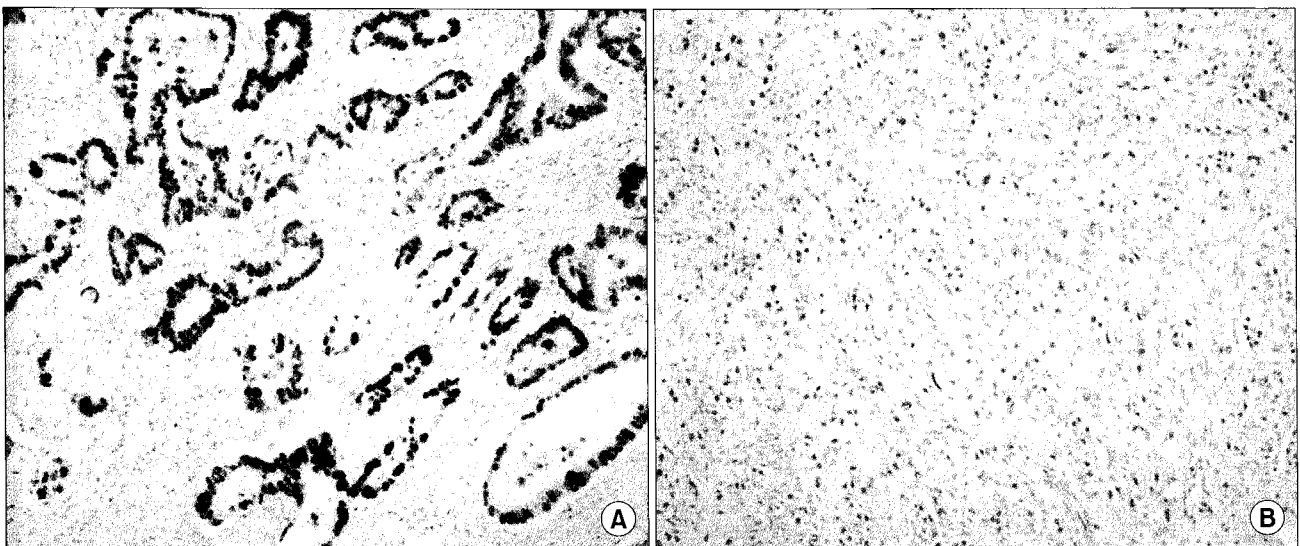


Fig. 2. (A) Immunostain for CREB shows diffuse strong nuclear reaction in gastric adenocarcinoma of intestinal type. (B) Negative nuclear reaction in diffuse type ($\times 200$).

약한 반면, 장형 위선암종의 경우 45.3%에서 다발성 발현과 함께 종양세포 핵내에 강한 발현강도를 나타내었다. 이는 조직학적 등급에 따른 발현양상의 차이를 의미하며 특히 점액을 분비하는 상피세포의 분화 및 증식과 관련이 있고 아울러 장형 선암종의 발암과정에서의 일부 역할관련가능성을 시사하는 소견으로 생각되었으나 이를 뒷받침하기 위해서는 여러 분자병리학적 연구가 병행되어야 할 것으로 사료되었다. 암의 진행에 따른 RAR의 발현은 통계학적 유의성은 없었으나 암이 진행할수록 다소 높은 발현율을 나타내었으며, 림프절 전이유무에 따른 RAR의 발현은 통계적으로 의미있는 발현율의 차이를 나타냈다.

CREB은 DNA와 결합하는 여러 특이적 전사인자들의 활성인자(transcriptional co-activator)로 DNA 복구, 세포증식 및 분화 등의 세포내 활동에 관여한다.(17,18) 특히 이전 보고들에 의하면 유방암 등 암종 및 전암성 병변에서 CREB이 높은 발현율을 보여 발암과정에서의 CREB의 역할을 시사하고 있다.(21-24,26) 본 연구에서 CREB은 RAR과 유사한 결과를 나타냈다. 장형 위선암종에서 69.4%, 미만형 위선암종에서 38.1%의 발현율을 보여 통계학적으로 의미있는 차이를 나타냈고 발현강도도 미만형보다 장형 위선암종에서 높은 다발성 발현률과 함께 강한 발현강도를 나타내었다. 이러한 분화도에 따른 발현의 차이는 RAR과 마찬가지로 점액을 분비하는 상피세포의 분화 및 증식과 관련이 있고 또한 장형 선암종의 발암과정에서의 CREB의 일부 역할관련가능성을 시사하는 소견으로 생각되었으나 이 또한 보다 세밀한 분자병리학적 연구의 뒷받침이 필요하다 하겠다. 암의 진행에 따른 CREB의 발현은 통계학적 유의성은 없었으나, 림프절 전이유무에 따른 CREB의 발현은 통계학적으로 의미있는 발현율의 차이를 나타냈다. 이상의 결과로 위선암종에서 RAR과 CREB은 조직학적 분화도 및 종양의 진행과 관련이 있으며 예후인자로서 도움을 줄 수 있으며 발암과정에서의 상호작용에 의한 일부 역할수행이 있을 것으로 생각된다. 하지만 예후인자로서의 가치를 증명하기 위해서는 대상환자들을 추적관찰하여 얻어진 자료에서의 비교연구가 이루어져야 하겠다. 현재까지 RAR이나 CREB의 경우 정상세포나 조직에서 연구보고는 있었으나 두경부 암종 등 일부 암종에서의 보고만 있을 뿐 암종에서의 연구가 미비한 상태이고 몇몇 분자유전학적 실험자료는 있으나 인체조직을 이용한 연구는 거의 없다. 이러한 점에서 본 연구가 위선암종에서만 국한되었으며 병리조직학적 측면의 연구라는 점에서 의의가 있고 본 연구 결과를 토대로 이러한 소견들을 뒷받침하기 위한 보다 세밀한 분자생물학적 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

인체 내 여러 조직에서 상피세포의 분화 및 증식에 중요

한 역할을 담당한다고 알려진 retinoic acid와 여러 유전자들에서 전사조절인자로 성장관여 유전자들의 활성화에 관여하며 세포증식 및 분화에 매우 중요한 세포내 조절인자인 CREB의 발현정도를 위선암종으로 수술받은 환자 150예를 대상으로 조직표본에서 면역조직화학적 염색을 통해 관찰하고 이들 간의 상호 연관성 및 병리학적 인자들과의 관계를 조사하여 결과를 얻었으며, 본 연구의 결과로 RAR과 CREB은 조직학적 분화도 및 종양의 전이와 관련이 있고, 이들의 발현이 장형 위선암종에서의 생물학적 악성도에 관한 예후인자로서의 가능성을 보였으며, 또한 이들 단백질 발현부위도 통계학적으로 의미 있는 일치양상을 나타내어 발암과정 중 상호작용에 의한 일부 역할을 수행하리라 생각된다.

REFERENCES

- Gropp FN, Greger DL, Morel C, Sauter S, Blum JW. Nuclear receptor and nuclear receptor target gene messenger ribonucleic acid levels at different sites of the gastrointestinal tract and in liver of healthy dogs. *J Anim Sci* 2006;84:2684-2691.
- Wang Z, Dollé P, Cardoso WV, Niederreither K. Retinoic acid regulates morphogenesis and patterning of posterior foregut derivatives. *Dev Biol* 2006;297:433-445.
- Karam SM, Hassan WM, John R. Expression of retinoid receptors in multiple cell lineages in the gastric mucosae of mice and humans. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:1892-1899.
- Matsumoto M, Yokoyama H, Suzuki H, Shiraishi-Yokoyama H, Hibi T. Retinoic acid formation from retinol in the human gastric mucosa: role of class IV alcohol dehydrogenase and its relevance to morphological changes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005;289:G429-433.
- John J, Mallia AK, Cama HR. Metabolism and biological activity of retinoyl amide in rat. *Int J Vitam Nutr Res* 1971; 41:5-11.
- Karam SM, John R, Alpers DH, Ponery AS. Retinoic acid stimulates the dynamics of mouse gastric epithelial progenitors. *Stem Cells* 2005;23:433-441.
- Karam SM, Ansari HR, Al-Dhaheri WS, Alexander G. Retinol enhances differentiation of the gastric parietal cell lineage in developing rabbits. *Cell Physiol Biochem* 2004;14:333-342.
- Bogue CW, Jacobs HC, Dynia DW, Wilson CM, Gross I. Retinoic acid increases surfactant protein mRAN in fetal rat lung in culture. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1996; 271:L862-L868.
- Shenai JP, Chytil F, Stahlman MT. Vitamin A status of neonates with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res* 1985; 19:185-188.
- Shenai JP, Kennedy KA, Chytil F, Stahlman MT. Clinical trial of Vitamin A supplementation in infants susceptible to bron-

- chopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1987;111:269-277.
11. Whitsett JA, Noguee LM, Weaver TE, Horowitz AD. Human surfactant protein B: structure, function, regulation, and genetic disease. *Physiol Rev* 1995;75:749-757.
 12. Xu L, Lavinsky RM, Dasen JS, Flynn SE, McInerney EM, Mullen TM, Heizel T, Szeto D, Korzus E, Kurokawa R, et al. Signal-specific coactivator domain requirements for Pit-1 activation. *Nature* 1998;395:301-306.
 13. Mu YM, Yanase T, Nishi Y, Hirase N, Goto K, Takayanagi R, Nawata H. A nuclear receptor system constituted by RAR and RXR induces aromatase activity in MCF-7 human breast cancer cells. *Mol Cell Endocrinol* 2000;166:137-145.
 14. Yan C, Ghaffari M, Whitsett JA, Zeng X, Sever Z, Lin S. Retinoic acid-receptors activation of SP-B gene transcription in respiratory epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1998;275:L239-L246.
 15. Mangelsdorf DJ, Evans RM. The RXR heterodimers and orphan receptors. *Cell* 1995;83:841-850.
 16. Naltner A, Ghaffari M, Whitsett JA, Yan C. Retinoic acid stimulation of surfactant-associated protein B promoter is thyroid transcription factor 1 site-dependent. *J Biol Chem* 2000;275:56-62.
 17. Sassone-Corsi P. Transcription factors responsive to cAMP. *Annurev Cell Dev Biol* 1995;11:355-377.
 18. Abdel-Hafez HA, Chen CY, Marcell T, Kroll DJ, Hoeffler JP. Structural determinants outside of the leucine zipper influence the interactions of CREB and ATF-2: interaction of CREB with ATF-2 blocks E1a-ATF-2 complex formation. *Oncogene* 1993;8:1161-1174.
 19. Arias J, Alberts AS, Brindle P, Claret FX, Smeal T, Karin M, Feramisco J, Montminy M. Activation of cAMP and mitogen responsive genes relies on a common nuclear factor. *Nature* 1994;370:226-229.
 20. Benbrook DM, Jones NC. Heterodimer formation between CREB and JUN proteins. *Oncogene* 1990;5:295-302.
 21. Deak M, Clifton AD, Lucocq LM, Alessi DR. Mitogen- and stress-activated protein kinase-1 (MSK1) is directly activated by MAPK and SAPK2/p38, and many mediate activation of CREB. *EMBO J* 1998;17:4426-4441.
 22. De Cesare D, Fimia GM, Sassone-Corsi P. Signaling routes to CREM and CREB: plasticity in transcriptional activation. *Trends Biochem Sci* 1999;24:281-285.
 23. De Cesare D, Jacquot S, Hanauer A, Sassone-Corsi P. Rsk-2 activity is necessary for epidermal growth factor-induced phosphorylation of CREB protein and transcription of c-fos gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:12202-12207.
 24. Desdouets C, Matesic G, Molina CA, Foulkes NS, Sassone-Corsi P, Brechot C, Sobczak-Thepot J. Cell cycle regulation of cyclin A gene expression by the cyclic AMP-responsive transcription factors CREB and CREM. *Mol Cell Biol* 1995;15:3301-3309.
 25. Aggarwal S, Kim SW, Cheon K, Tabassam FH, Yoon JH, Koo JS. Nonclassical action of retinoic acid on the activation of the cAMP response element-binding protein in normal human bronchial epithelial cells. *Mol Biol Cell* 2006;17:566-575.
 26. Hai T, Curran T. Cross-family dimerization of transcription factors Fos/Jun and ATF/CREB alters DNA binding specificity. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:3720-3724.
 27. Vienoneon A, Miettinen S, Manninen T, Altucci I, Wilhelm E, Ylikomi T. Regulation of nuclear receptor and cofactor expression in breast cancer cell lines. *Eur J Endocrinol* 2003;148:469-479.
 28. Kyakumoto S, Kito N, Sato N. Expression of cAMP response element binding protein (CREB)-binding protein (CBP) and the implication in retinoic acid-inducible transcription activation in human salivary gland adenocarcinoma cell line HSG. *Endocr Res* 2003;29:277-289.
 29. Lauren P. The two histologic main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal type carcinoma. *Acta Oath Microbiol Scand* 1965;64:31-49.
 30. Munoz N, Correa P, Cuello E. Histologic types of gastric carcinoma in high- and low-risk areas. *Int J Cancer* 1968;3:809-818.

= Abstract =

The Immunohistochemical Expression of Nuclear Retinoid Receptor and CREB in Gastric Adenocarcinoma

Ho Sun Han, M.D., Yong Seok Kim, M.D., Joong Min Park, M.D., Yoo Shin Choi, M.D., Seong Jae Cha, M.D., Mi Kyung Kim, M.D.¹ and Kyung Choun Chi, M.D.

Departments of Surgery and ¹Pathology, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul, Korea

Purpose: Transcriptional factors of CREB (cAMP response element binding protein) are involved in regulating the gene expression in response to a variety of signaling pathways. The proteins produced by the CREB genes play key roles in many physiological processes, including memory and long-term potentiation. The retinoic acid receptor (RAR) axis mediates epithelial cell differentiation and proliferation in many tissues. This study examined the expressions of RAR and CREB and their relationship with the clinicopathologic factors and their significance.

Materials and Methods: The levels of the RAR and CREB expressions were measured in 150 gastric adenocarcinomas by performing immunohistochemical staining.

Results: 1. An RAR protein expression was found in 63.3% of the adenocarcinomas (95/150) and a CREB expression was found in 60.7% (91/150) of the adenocarcinomas. 2. An RAR protein expression was found in 72.2% (78/108) of the intestinal type adenocarcinomas and in 40.5% (17/42) of the diffuse type adenocarcinomas ($P < 0.05$). Based on the depth of invasion, an RAR protein expression was found in 58.3% (14/24) of the T1 adenocarcinomas, in 61.9% (13/21) of the T2 adenocarcinomas, in 63.5% (61/96) of the T3 adenocarcinomas, in 77.8% (7/9) of the T4 adenocarcinomas and in 74.7% (62/83) of the adenocarcinomas with lymph node metastasis and in 49.2% (33/67) of the adenocarcinomas without lymph node metastasis ($P < 0.01$). 3. A CREB expression was found in 69.4% (75/108) of the intestinal type and in 38.1% (16/42) of the diffuse type ($P > 0.05$). Based on the depth of invasion, a CREB expression was found in 50% (12/24) of the T1 adenocarcinomas, in 52.4% (11/21) of the T2 adenocarcinomas, in 64.6% (62/96) of the T3 adenocarcinomas, in 66.6% (6/9) of the T4 adenocarcinomas, in 71.1% (59/83) of the adenocarcinomas with lymph node metastasis and in 47.8% (32/67) of the adenocarcinomas without lymph node metastasis ($P < 0.01$). 4. The RAR protein and CREB expressions coincided in 71.4% of the gastric adenocarcinomas, and a significant correlation between them was found ($P < 0.05$).

Conclusion: We found a significant relationship between the expression of RAR and CREB and the histology and lymph node metastasis of gastric cancer. Further studies are needed to confirm their biologic meaning in gastric carcinogenesis. (J Korean Gastric Cancer Assoc 2008;8:182-188)

Key Words: RAR, CREB, Stomach, Adenocarcinoma