

## Comparisons of C-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$ and PDGFR- $\alpha$ Expressions in Gastrointestinal Stromal Tumors According to Histopathological Risk Classification

Ki-Sung Kim, Hye-Jung Song, Won-Sub Shin and Kang-Won Song

Department of Pathology, National Cancer Center, Ilisan 410-769, Korea

Gastrointestinal stromal tumor (GIST) is a mesenchymal tumor and is associated with a specific immunophenotype index. It is very important to identify the specific immunophenotype and the diagnosis for the treatment GIST patients. Ninety two cases of GIST analyzed in this study were immuno-stained for c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$ , PDGFR- $\alpha$ . The rate of positive staining and statistical significance were then compared. In addition, the GISTs were analyzed as followings: very low risk, low risk, intermediate risk and high risk according to tumor size and nuclear division, and later correlated with clinical parameters. The results of the GIST positive stainings were: DOG1 (95.7%), PKC- $\theta$  (90.2%), PDGFR- $\alpha$  (88.0%), c-kit (87.0%) and CD34 (71.7%). Only DOG1 staining showed a statistical significance of  $p < 0.05$ . It was identified in the classification system of histologic risk that staining expression of DOG1, PKC- $\theta$ , PDGFR- $\alpha$  were significantly increased as histologic risk increases ( $p < 0.05$ ). However, clinical parameters such as age and sex of patients have no correlations with the classification system of histologic risk ( $p > 0.05$ ). Therefore, in this study, the expression of DOG1 showed statistical significance and DOG1, PKC- $\theta$ , PDGFR- $\alpha$  staining increased significantly as the histologic risk increases in histologic classification system. Taken together, the DOG1 staining should be very effective for the diagnosis of GIST patients.

**Key Words** : GIST, C-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$ , PDGFR- $\alpha$

### 서론

위장관 간질성종양(gastrointestinal stromal tumor, GIST)은 위장관 전반에 걸쳐 발생하는 세포기원이 불명확한 방추상세포로 이루어진 종양이다. GIST는 주로 위점막하층에 존재하는 근육, 림프조직, 신경, 섬유조직 및 혈관에서 유래하며 전체 소화관종양 중 약 2%를 차지한다(정 등, 2007).

현재 GIST 진단은 임상 및 조직학적 소견에 근거하고 있

으며, 유전자 돌연변이 검사와 면역조직화학 검사를 통하여 확진되고 있다(Fletcher 등., 2002). 유전자 돌연변이 검사는 종양조직의 DNA를 추출한 후, PCR로 DNA를 증폭시키고, 이에 따른 DNA 염기서열을 분석하여 GIST를 진단하고 항암제 사용 여부 및 항암제 반응효과를 예측하는 데 자료로 활용된다(Jason 등, 2007). 그러나 유전자 돌연변이 검사는 검사과정이 복잡하고 많은 검사비용이 소비되는 단점이 있으며, GIST 종양의 85~90%의 *Kit* 유전자 돌연변이와 5% 정도의 *Pdgfra* 유전자 돌연변이를 제외한 10% 정도는 유전자 돌연변이를 규명하지 못하고 있다. 면역조직화학 검사는 GIST 종양이 특정 면역표현형(immunophenotype) 항체에 양성반응을 나타내어, 유사분열을 보이는 종양을 감별하고, 진단하는 검사이다(Trupiano 등, 2002). 그러나 특정항체인 c-kit, discovered on GIST-1 (DOG1), cluster of differentiation 34 (CD34), protein kinase C- $\theta$  (PKC- $\theta$ ) 및 platelet derived growth factor receptor- $\alpha$  (PDGFR- $\alpha$ )는

Corresponding author: Kim, Ki-Sung. Department of Pathology, National Cancer Center, Ilisan 410-769, Korea.  
Tel: 031-920-1353.  
E-Mail: enjoy0325@ncc.re.kr

Received : 13 May 2011  
Return for modification : 6 June 2011  
Accepted : 20 June 2011

염색을 판정할 때, 항상 100% 양성발현을 보이지 않고 *Kit* 혹은 *Pdgfra* 유전자 돌연변이와 발생부위에 따라 음성으로 발현되어 진단이 정확하지 않다. 따라서 GIST는 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  항체에 대한 객관적인 면역염색 양성률 자료가 필요하며 이러한 자료를 통한 적절한 항체 선택이 요구된다. 그리고 GIST는 환자의 종양크기와 유사분열수에 따라 초저위험군(very low risk), 저위험군(low risk), 중간위험군(intermediate risk) 및 고위험군(high risk)으로 분류된 조직학적 위험도와 항체 간의 반응에 대한 연구된 자료가 없으므로, 이에 관한 연관성 조사가 필요하다고 생각된다.

GIST의 발생빈도는 한국인을 대상으로 한 연구자료는 없지만, 미국에서는 매년 4,500명에서 6,000명이 진단된다고 보고되었고(Nilsson 등, 2005), 발생부위는 위 50~60%, 소장 20~30%, 대장 및 직장 7%, 식도 1%로 발생한다고 한다(Tran 등, 2005). 그리고 GIST 종양의 전이 속도는 다른 종양에 비해 느리지만(Grant 등, 1991), 복강내와 간으로 원격 전이가 발생한다고 보고되었다(Miettinen 등, 2003; Wang 등, 2000). GIST의 발병원인 Cajal 간질세포(Hirota 등, 1998; Rubin 등, 2001; Heinrich 등, 2003)는 *Kit* 또는 *Pdgfra* 유전자 활성 돌연변이이며 이 세포는 위장관의 연동운동과 근육 수축을 조절한다고 밝혀졌다(Sircar 등, 1999). 따라서 GIST는 진단하기 위해서 면역조직화학 검사를 통한 종양의 Cajal 간질세포를 검출하는 것이 매우 중요하다고 생각된다.

C-kit은 *Kit* 활성 유전자 돌연변이에 의한 GIST를 진단할 때 가장 중요한 표지자로(윤 등, 2006) 정상조직의 비만세포, 멜라닌세포 및 Cajal 간질세포에서 발현되며(강 등, 2007), 위장관 간질종양, 골수성 백혈병, 악성 흑색종 및 폐의 소세포암종의 악성종양에서 양성반응을 보인다(장 등, 2006). 따라서 GIST를 진단하기 위해 염색을 판정할 때에는 양성 및 음성대조군을 통하여 위양성 혹은 위음성으로 오진하지 않아야 하며, 다른 특이적 항체인 DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$ 와 함께 염색해야 정확한 진단을 할 수 있다고 생각된다.

DOG1은 식도암, 유방암 및 방광암 환자에서 증폭된 인간 염색체 11q13 위치의 *Ccnd-1-Fms1* 유전자로(Katoh 등, 2003), c-kit 염색에 음성반응을 보이고 *Pdgfra* 유전

자 돌연변이에 의한 GIST에서 36% 양성반응을 보인다(Bernadette 등, 2009). 또한 DOG1 항체는 *Kit* 유전자 돌연변이와 *Pdgfra* 유전자 돌연변이가 원인인 GIST를 진단하는데 매우 민감하고 특이적인 항체이다(Espinosa 등, 2008).

CD34는 조혈줄기세포 항원으로 혈관내피세포, 섬유아세포 및 Cajal 간질세포에서 많이 발현되며(Tazawa 등, 1999) 전체 GIST의 60~70% 양성반응을 보이지만, 직장에서 발생한 GIST 경우 90% 이상 발현된다고 보고하였다(Miettinen 등, 2001). 또한 CD34는 c-kit 음성인 GIST 종양에서도 양성반응을 보여 c-kit과 함께 GIST 진단에 크게 도움이 된다고 하였다(김 등, 2001).

PKC는 근육조직에 존재하며, 위장관 상피세포에서 물질이동, 관문작용, 세포형태 및 세포이동의 중요한 역할을 수행한다(엄, 2003). 최근에 국외에서 Blay 등 (2004)과 Motegi 등 (2005)이 보고한 연구에서는 PKC- $\theta$ 가 GIST에서 상당히 높은 발현율을 보이며, c-kit 염색에서 음성으로 판정된 GIST에도 특징적으로 양성반응을 보인다고 하였다. 따라서 PKC- $\theta$ 는 c-kit 음성에 대한 PKC- $\theta$  양성발현율과 c-kit 음성에 특이적으로 발현되는 DOG1 항체와 PKC- $\theta$  양성발현율을 비교 평가해야 한다고 생각한다.

PDGFR는 c-kit과 함께 대표적 원발암 유전자이며, tyrosine kinase 수용체를 생산하여 조직의 재생과 유지에 기본적인 역할을 담당한다(Ullrich 등, 1990). 그리고 PDGFR- $\alpha$  면역염색은 선행연구 결과는 없지만, 5~10% GIST에서 *Pdgfra* 유전자 돌연변이 때문에 발생하므로 GIST를 진단할 때 매우 유용하다고 생각된다. 따라서 PDGFR- $\alpha$  면역염색은 GIST 종양에서 양성발현율 조사도 함께 이루어져야 한다고 사료된다.

본 연구는 GIST 환자의 조직학적 진단에 도움이 된다고 알려진 항체 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$ 에 대해 면역조직화학 검사를 실시하고 양성발현율을 조사하여 통계학적으로 유의성을 관찰한 것이다. 그리고 조직학적 위험도 분류체계는 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  염색과의 상관관계를 비교 분석하였고 임상적 변수와의 유의성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구재료

2005년부터 2008년까지 국립암센터에서 수술로 절제하여 조직학적 소견이 GIST로 진단된 위 70예, 소장 22예를 연구 대상으로 선별하였다. 종양크기와 핵분열 정도에 따라 GIST의 위험도 분류는 2001년 미국 National Institutes of Health에서 제시한 재발 및 전이 위험도를(Table 1) 기준으로 초저위험군(very low risk) 22예, 저위험군(low risk) 21예, 중간위험군(intermediate risk) 20예 및 고위험군(high risk) 29예로 분류하였다.

### 2. 방법

#### 1) 임상기록

환자의 임상기록과 병리결과 보고서를 검토하여 나이, 성별, 종양크기 및 유사분열수를 분석하였다. 환자의 나이는 20-29세, 30-39세, 40-49세, 50-59세, 60-69세, 70-79세 및 80세 이상으로 분류하였다. 종양의 크기는 가장 큰 장경의 크기를 기준으로 측정하였으며, 유사분열수는 50개의 고배율 시야에서 관찰되는 수로 계상하였다.

#### 2) 조직학적 위험도 분류

Hematoxylin/Eosin 염색을 실시하여 조직학적 등급인 2001 NIH classification 초저위험군, 저위험군, 중간위험군 및 고위험군을 확인하였다. Hematoxylin/Eosin 염색은 파

라핀으로 포매한 조직을 4  $\mu$ m 두께로 박절하여 탈파라핀과 함수과정을 거친 후, Harris hematoxylin 용액에 4분 30초간 핵염색을 실시하였다. 그리고 1% HCl로 4초간 탈색, 0.5% ammonia water에 15초간 중화, eosin에 2분간 침적한 후 수세, 탈수 및 투명과정을 거쳐 봉입 후 광학현미경으로 검경하였다. 위험도는 2001 NIH classification (Table 1)을 기준으로 종양의 크기와 유사분열수에 따라 초저위험군, 저위험군, 중간위험군 및 고위험군으로 분류하였다.

#### 3) 면역조직화학 염색

포르말린에 고정하고 파라핀으로 포매한 GIST 조직을 3  $\mu$ m 두께로 박절한 후 식염수가 도포된 슬라이드(Thermo Scientific, Menzel-Glaser, Germany)에 부착시켜 건조시켰다. 파라핀에 포매된 GIST 조직은 탈파라핀과 함수과정을 거친 후, 항원복구를 위해 DOG1, CD34, PKC- $\theta$ , 및 PDGFR- $\alpha$ 는 pH 8.0 EDTA 완충액에 담근 후 극초음파 장비(T/T MEGA)에서 30분간 처리하였다. 이들 조직은 모두 내인성 과산화효소의 작용을 억제하기 위하여 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액으로 4분간 처리하고, 일차 항체인 c-kit (DAKO, Denmark, polyclonal antibody 1:800), DOG1 (Novocastra, England, clone K9, monoclonal antibody 1:200), CD34 (Novocastra, England, clone QBEnd10, monoclonal antibody 1:500), PKC- $\theta$  (BD Transduction, USA, clone 27, monoclonal antibody 1:100), 및 PDGFR- $\alpha$  (Santacruz, USA, clone C-20, monoclonal antibody 1:100)을 Benchmark XT (Roche, USA)장비로 42 $^{\circ}$ C에서 32분 동안 반응시켰다. 바이오틴이 부착된 IgG로 8분, 2차 항체인 streptoavidin HRP 8분 후 발색제 diaminobenzidine tetrachloride와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 8분간 처리하였다. 그 후 발색증강제인 Copper 용액 4분, 대조염색 hematoxylin 용액 4분 그리고 후 대조염색 Bluing 용액을 4분간 반응시켰다. 그리고 면역조직화학 염색은 세포질과 세포막에 적갈색의 과립이 발견되는 세포를 양성으로 판정하였으며, 이를 400 배율의 광학현미경하에서 검경하였다.

**Table 1.** Histopathological risk classification in gastrointestinal stromal tumors according to tumor size and mitotic count

Proposed classification	Tumor size (cm)	Mitotic count (HPF*)
Very low	<2	<5/50
Low	2~5	<5/50
Intermediate	<5	6~10/50
	5~10	<5/50
High	>5	>5/50
	>10	Any mitotic count
	Any tumor size	>10/50

\* : High power field.

4) 면역조직화학 염색의 평가 및 통계처리

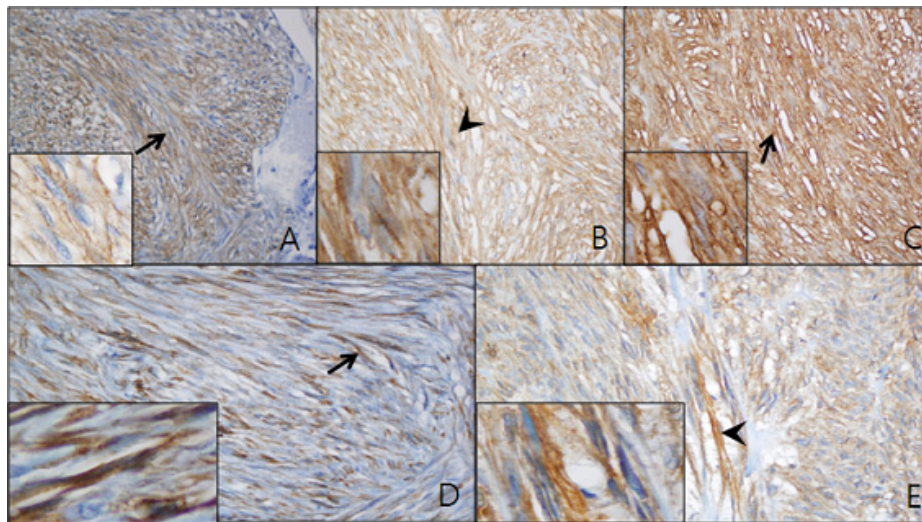
면역조직화학 염색된 슬라이드를 광학현미경하에서 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$ 의 발현유무와 발현양성률을 관찰하였다. c-kit, PKC- $\theta$ 는 종양세포의 세포질에, CD34는 종양세포의 세포막에, DOG1, PDGFR- $\alpha$ 는 종양세포의 세포질과 세포막에 발현되었다. 전체 종양세포의 10% 미만 적갈색으로 발현되었을 경우 약양성(1+), 10~30% 미만 발현되었을 경우 양성(2+), 30% 이상 발현되었을 경우 강양성(3+)으로 판독하였다. 그리고 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  면역염색의 질을 관리하기 위해 양성대조군으로 비만세포와 Cajal 간질세포, 음성대조군으로 평활근세포를 염색하여 위양성 혹은 위음성이 없도록 하였다. 통계학적 분석은 Stata Windows version 10.0 프로그램을 이용하여 성별, 나이에 대한 상관관계는  $\chi^2$ 으로 단변량분석을 하였고, c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$ 의 상관관계는 범주형 이분형 변수로 로지스틱 회귀분석을 사용하였다. 상관관계의 유의성 평가는 p value가 0.05 미만인 경우에만 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

1. 임상변수와 위험도 분류체계의 상관관계

GIST로 진단된 92명의 환자들 중 임상 변수인 환자나이, 성별, 종양크기 및 유사분열수의 상관관계를 분석한 결과는 Table 2에 제시하였다. GIST로 진단된 환자나이의 분포는 28~83세로 다양하였으며, 평균연령은 61.2세로 60~69세 41예(44.6%)로 가장 많은 분포를 보였다. GIST 환자나이와 조직학적 위험도 분류체계의 상관관계 결과는 환자나이 60~69세에서 초저위험군 14예(63.6%), 저위험군 12예(57.1%), 중간위험군 6예(30.0%) 및 고위험군 9예(31.0%)로 나타났다. 따라서 연령분포에 대한 조직학적 위험도 분류체계는 통계학적으로 상관관계가 없는 것으로 나타났다 ( $p>0.05$ ).

GIST로 진단된 환자의 성별은 남자 57명(62%), 여자 35명(38%)으로 남자가 여자보다 1.7배 많았다. 그리고 환자 성별과 조직학적 위험도 분류체계의 상관관계 결과는 초저위험군, 중간위험군 및 고위험군에서는 남자의 성별이 많았으나 저위험군에서는 여성이 남성보다 많은 분포를 나타냈



**Fig. 1.** Immunohistochemical staining of c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$ , and PDGFR- $\alpha$  from GISTs. (A), (D) Immunohistochemical staining for c-kit and PKC- $\theta$  shows positive reaction in the cell cytoplasm of tumor cells (arrow) (x400, x1,000). (B), (E) Immunohistochemical staining for DOG1 and PDGFR- $\alpha$  shows positive reaction in the cell cytoplasm and membrane of tumor cells (arrowhead) (x400, x1,000). (C) Immunohistochemical staining for CD34 shows positive reaction in the cell membrane of tumor cells (arrow) (x400, x1,000).

**Table 2.** Correlation between histopathological risks and clinicopathologic findings of GISTs

	Very low risk (n=22)	Low risk (n=21)	Intermediate risk (n=20)	High risk (n=29)	Total (%)	p value
Age (years)						0.366
20~29	0	0	0	1	1 ( 1.1)	
30~39	0	1	1	2	4 ( 4.3)	
40~49	0	3	1	6	10 (10.9)	
50~59	3	1	7	7	18 (19.6)	
60~69	14	12	6	9	41 (44.6)	
70~79	4	4	4	3	15 (16.3)	
80이상	1	0	1	1	3 ( 3.3)	
Sex (남:여)	17:5	10:11	12:8	19:10	58:34	0.256
Tumor Size Mean±SD (cm)	1.1±1.3	3.5±1.2	6.5±2.9	8.5±6.2	5.2±4.8	0.001*
Mitosis Mean±SD (cm)	0.9±4.3	3.3±9.6	7.0±17.4	36.2±43.2	13.9±30.0	<0.0001*

\* : Correlation is significant ( $p < 0.05$ )

다. 따라서 환자 성별과 조직학적 위험도 분류체계의 상관관계는 위험도가 높을수록 나타나는 성별비는 통계학적인 유의성이 없었다( $p > 0.05$ ).

조직학적 위험도 분류체계와 종양크기 및 유사분열수의 상관관계는 초저위험군 평균장경 1.1±1.3 cm, 유사분열수 0.9±4.3개, 저위험군 평균장경 3.5±1.2 cm, 유사분열수 3.3±9.6개, 중간위험군 평균장경 6.5±2.9 cm, 유사분열수 7.0±17.4개, 고위험군 평균장경 8.5±6.2 cm, 유사분열수 36.2±43.2였다. 결론적으로 종양크기와 조직학적 위험도 분류체계의 상관관계는 위험도가 높을수록 종양이 크다는 통계학적인 유의성이 있었으며( $p < 0.05$ ), 위험도가 높을수록 유사분열수가 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ).

## 2. C-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$ 및 PDGFR- $\alpha$ 의 양성발현 비교

GIST 환자 92예를 대상으로 c-kit, DOG1, CD34, PKC  $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  양성발현의 결과는 Table 3에서 제시하였다.

c-kit 양성발현은 80예(87.0%), DOG1 염색 88예(95.7%), CD34 염색 66예(71.7%), PKC- $\theta$  염색 83예(90.2%) 및 PDGFR- $\alpha$  염색 81예(88.0%)를 차지하였다. 따라서 92명의 GIST 환자와 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  양성발현의 상관관계는 DOG1 염색만이 GIST를 진단하는 데 통계학적으로 유의성이 인정되었다( $p = 0.044$ ).

조직학적 위험도 분류체계에 따른 초저위험군 22예, 저위험군 21예, 중간위험군 20예, 고위험군 29예를 대상으로 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  양성발현의 상관관계는 Table 4에서 제시하였다. 초저위험군은 DOG1 염색이 18예(81.8%)로 가장 높은 양성발현을 보였고 c-kit 17예(77.3%), PKC- $\theta$  16예(72.7%), CD34 15예(68.2%) 및 PDGFR- $\alpha$  15예(68.2%)의 순서로 나타났다. 저위험군은 DOG1 염색과 PKC- $\theta$  염색이 21예(100%)로 모두 양성 발현되었고 PDGFR- $\alpha$  19예(90.5%), c-kit 18예(85.7%) 및 CD34 14예(66.7%)로 나타났다. 중간위험군은 DOG1 염색과 PDGFR- $\alpha$  염색이 20예(100.0%)로 모두 양성 발현되었

**Table 3.** Expressions of c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$ , and PDGFR- $\alpha$  in GISTs

	Total GIST (%)	<i>p</i> value
c-kit		0.650
-	12 (13.0)	
+	80 (87.0)	
DOG1		0.044*
-	4 (4.3)	
+	88 (95.7)	
CD34		0.632
-	26 (28.3)	
+	66 (71.7)	
PKC- $\theta$		0.330
-	9 (9.8)	
+	83 (90.2)	
PDGFR- $\alpha$		0.677
-	11 (12.0)	
+	81 (88.0)	

\* : Correlation is significant ( $p < 0.05$ )

고, c-kit 19예(95.0%), PKC- $\theta$  18예(90.0%) 및 CD34 17예(85.0%)의 순서로 발현되었다. 고위험군은 DOG1 염색이 29예(100.0%)로 가장 높은 양성발현을 보였으며 PKC- $\theta$  28예(96.6%), PDGFR- $\alpha$  27예(93.1%), c-kit 26예(89.7%) 및 CD34 20예(69.0%)로 나타났다. 따라서 조직학적 위험도 분류체계에 따른 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  양성발현의 통계학적인 상관관계는 DOG1 염색( $p=0.007$ ), PKC- $\theta$  염색( $p=0.036$ ) 및 PDGFR- $\alpha$  염색( $p=0.014$ )이 조직학적 위험도가 높을수록 양성발현이 유의하게 증가하였다.

## 고 찰

본 연구는 GIST로 진단된 환자 92예를 임상적인 변수 환자나이와 성별 발생비를 조사한 후 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  양성발현율을 비교하였다. 그리고 GIST로 진단된 환자는 종양크기와 유사분열수를 기준으로

초저위험군, 저위험군, 중간위험군 및 고위험군으로 분류한 후 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  양성발현율을 비교하였다.

본 연구 결과(Table 2) GIST로 진단된 환자의 연령분포는 28~83세로, 평균연령이 61.2세이며, 이 중 60~69세가 41예(44.6%)로 가장 많이 분포하였다. 이러한 결과는 국내에서 류 등(2005), 박 등(2004)이 보고한 61세 평균연령과 유사한 결과를 보였다. 또한 환자의 남성과 여성 발생비는 1.7:1로 남성에게 호발하였고, 김 등(2004)과 이 등(2005)이 보고한 남성과 여성비 1.7:1 및 1.4:1였던 것과 차이가 없었다. 그러므로 GIST 환자는 60세 이상의 남성에게 많이 발생한다고 생각된다.

GIST로 진단된 환자 92예를 대상으로 c-kit 염색한 결과는 80예(87.0%)의 양성발현을 보였고(Table 3), 김 등(2001) 82%, 강 등(2003) 88.5%, Motegi 등(2005) 87.5%로 선행연구자들의 결과와 유사하게 측정되었다. 그러나 Markku 등(2009) 94.9%, Kim 등(2006) 98.0%의 양성발현율이 보고되어 있어 본 연구결과와 발현율 차이가 있었다. 결론적으로 본 실험에서는 GIST 진단에 c-kit 염색의 양성발현이 통계학적으로 유의성이 관찰되지 않았다( $p=0.650$ )(Table 3). DOG1 염색은 88예(95.7%)의 높은 양성발현이 나타났으며(Table 3), Markku 등(2009) 94.8%, Espinosa 등(2008) 87.1%, Bernadette 등(2009) 87.7%, West 등(2004) 97.8%로 선행연구자들의 결과와 비슷하였다. 그러므로 DOG1 염색은 GIST에서 c-kit 염색보다 발현이 유의하게 증가하는 것으로 사료된다( $p < 0.05$ )(Table 3). CD34 염색의 양성발현 결과는 GIST에서 66예(71.7%) 측정되었으며, Kim 등(2006) 82.0%, 김 등(2001) 75.0%, Motegi 등(2005) 79.2%로 선행연구자들의 결과와 유사한 결과가 나타났다. 그러나 CD34 염색의 양성발현은 통계학적인 상관관계는 없었다( $p=0.632$ )(Table 3). PKC- $\theta$  염색은 본 연구에서 83예(90.2%) 양성발현을 보였으며, Motegi 등(2005) 85.4%, Kim 등(2006) 96.3%로 선행연구자들의 결과와 비슷하였다. 결론적으로 PKC- $\theta$ 는 GIST를 진단하는데 DOG1 염색 다음으로 높은 양성발현을 보였으나, 통계학적인 유의성은 관찰되지 않았다( $p=0.330$ )(Table 3). PDGFR- $\alpha$  발현에 대한 선행연구 결과는 없으며, 본 연구에서 81예(88.0%) 양성발현을

**Table 4.** Comparisons of c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  and PDGFR- $\alpha$  expressions according to histopathological risk classification in GISTs

	Very low risk (n=22)	Low risk (n=21)	Intermediate risk (n=20)	High risk (n=29)	Total (%)
<b>c-kit</b>					
-	5	3	1	3	12 (13.0)
+	17	18	19	26	80 (87.0)
<i>p</i> value			0.165		
<b>DOG1</b>					
-	4	0	0	0	4 ( 4.3)
+	18	21	20	29	88 (95.7)
<i>p</i> value			0.007*		
<b>CD34</b>					
-	7	7	3	9	26 (28.3)
+	15	14	17	20	66 (71.7)
<i>p</i> value			0.716		
<b>PKC-<math>\theta</math></b>					
-	6	0	2	1	9 ( 9.8)
+	16	21	18	28	83 (90.2)
<i>p</i> value			0.036*		
<b>PDGFR-<math>\alpha</math></b>					
-	7	2	1	2	11 (12.0)
+	15	19	20	27	81 (88.0)
<i>p</i> value			0.014*		

\* : Correlation is significant ( $p < 0.05$ )

보였으나 통계학적인 상관관계가 없었다( $p=0.677$ )(Table 3). 따라서 DOG1 염색의 양성발현은 통계학적으로 유의성이 존재하며, 이는 GIST 진단에 도움을 준다고 생각된다.

본 연구 결과(Table 4)에서는 초저위험군 22예, 저위험군 21예, 중간위험군 20예 및 고위험군 29예를 대상으로 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  발현 양성률을 비교해 보았다. 초저위험군은 DOG1 염색이 18예(81.8%)로 가장 높은 양성발현을 보였고 저위험군은 DOG1 염색과 PKC- $\theta$  염색이 21예(100%)로 모두 양성으로 발현되었다. 그리고 중간위험군은 DOG1 염색과 PDGFR- $\alpha$  염색이 20예(100.0%)로 모두 양성 발현되었고 고위험군은 DOG1 염색이 29예(100.0%)로 가장 높은 양성발현을 보였다. 따라서 조직학적

위험도 분류체계에 따른 c-kit, DOG1, CD34, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  발현 상관관계는 DOG1 염색( $p=0.007$ ), PKC- $\theta$  염색( $p=0.036$ ) 및 PDGFR- $\alpha$  염색( $p=0.014$ ) 발현이 조직학적 위험도가 높을수록 통계학적으로 유의성이 높게 인정되었다.

결론적으로, 본 연구에서는 GIST를 진단하는 항체 중 DOG1 염색의 양성 발현만이 통계학적으로 유의하게 증가하였다. 그리고 종양크기와 유사분열수에 의한 조직학적 분류체계에서는 DOG1, PKC- $\theta$  및 PDGFR- $\alpha$  염색이 조직학적 위험도가 증가할수록 상관관계가 높게 나타났다. 따라서 GIST 환자는 진단하는데 있어서 DOG1염색이 매우 효과적이라 판단되며, PKC- $\theta$ , PDGFR- $\alpha$  염색을 병행한다면 보

다 정확한 진단을 할 것이라 생각된다.

### 참고문헌

- Blay P, Astudillo A, Buesa JM, Campo E, Abad M, Garcia-Garcia J, Miquel R, *et al.* Protein Kinase C Is Highly Expressed in Gastrointestinal Stromal Tumors But Not in Other Mesenchymal Neoplasias. *Clinical Cancer Research*. 2004, 10:4089-4095.
- Espinosa I, Lee CH, Kim MK, Rouse BT, Subramanian S, Montgomery K, Varma S, *et al.* A Novel Monoclonal Antibody Against DOG1 is a Sensitive and Specific Marker for Gastrointestinal Stromal Tumors. *Am J Surg Pathol*. 2008, 32:210-218.
- Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ, Miettinen M, *et al.* Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors. A consensus approach. *Hum Pathol*. 2002, 33:459-465.
- Grant CS, Kim CH, Farrugia G, Zinsmeister A, Goellner JR. Gastric leiomyosarcoma: prognostic factors and surgical management. *Arch Surg*. 1991, 126:985-990.
- Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, McGreevey L, Chen CJ, Joseph N, Singer S, *et al.* PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science*. 2003, 299:708-710.
- Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, Kawano K, *et al.* Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science*. 1998, 279:577-580.
- Katoh M, Katoh M. FLJ10261 gene, located within the CCND1-EMS1 locus on human chromosome 11q13, encodes the eight-transmembrane protein homologous to C12orf3, C11orf25 and FLJ34272 gene products. *Int J Oncol*. 2003, 22:1375-1381.
- Kim KM, Kang DW, Moon WS, Park JB, Park CK, Sohn JH, Jeong JS, *et al.* PKC $\theta$  expression in gastrointestinal stromal tumor. *Mod Pathol*. 2006, 19:1480-1486.
- Liegl B, Hornick JL, Corless CL, Fletcher CD. Monoclonal antibody DOG1.1 shows higher sensitivity than KIT in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors, including unusual subtypes. *Am J Surg Pathol*. 2009, 33:437-446.
- Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors—definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arch*. 2001, 438:1-12.
- Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors (GIST): definition, occurrence, pathology, differential diagnosis and molecular genetics. *Pol J Pathol*. 2003, 54:3-24.
- Miettinen M, Wang ZF, Lasota J. DOG1 Antibody in the Differential Diagnosis of Gastrointestinal Stromal Tumors: a study of 1840 cases. *Am J Pathol*. 2009, 33:1401-1408.
- Motegi A, Sakurai S, Nakayama H, Sano T, Oyama T, Nakajima T. PKC $\theta$ , a novel immunohistochemical marker for gastrointestinal stromal tumors (GIST), especially useful for identifying KIT-negative tumors. *Pathol Int*. 2005, 55:106-112.
- Nilsson B, Bummig P, Meis-Kindblom JM, Oden A, Dortok A, Gustavsson B, Sablinska K, *et al.* Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era—a population based study in western Sweden. *Cancer*. 2005, 103:821-829.
- Rubin BP, Singer S, Tsao C, Duensing A, Lux ML, Ruiz R, Hibbard MK, *et al.* KIT activation is a ubiquitous feature of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res*. 2001, 61:8118-8121.
- Sircar K, Hewlett BR, Huizinga JD, Chorneyko K, Berezin I, Riddell RH. Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol*. 1999, 23:377-389.
- Tazawa K, Tsukada K, Makuuchi H, Tsutsumi Y. An immunohistochemical and clinico pathologic study of gastrointestinal tumors. *Pathol Int*. 1999, 49:786-798.
- Tran T, Davila JA, El-Serag HB. The epidemiology of malignant gastrointestinal stromal tumors: an analysis of 1458 cases from 1992 to 2000. *Am J Gastroenterol*. 2005, 100:162-168.
- Trupiano JK, Stewart RE, Misick C, Appleman HD, Goldblum JR. Gastric stromal tumors, a clinicopathological study of 77 cases with correlation of features with nonaggressive and aggressive clinical behaviour. *Am J Surg Pathol*. 2002, 26:705-714.
- Ullrich A, Schlessinger J. Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. *Cell*. 1990, 61:203-212.
- Wang L, Vargas H, French SW. Cellular origin of gastrointestinal stromal tumors: a study of 27 cases. *Arch Pathol Lab Med*. 2000, 124:1471-1475.
- West RB, Corless CL, Chen X, Rubin BP, Subramanian S, Montgomery K, Zhu S, *et al.* The novel marker, DOG1, is expressed ubiquitously in gastrointestinal stromal tumors irrespective of KIT or PDGFRA mutation status. *Am J Pathol*. 2004, 165:107-113.
- 강동욱, 김주현, 김동훈, 김경희, 박미자, 강대영. 위장관 간질 종양에서 c-kit 유전자 돌연변이 및 면역조직화학적 발현. 대한병리학회지. 2003, 37:246-254.
- 강일규, 이승훈, 정광윤, 우정수, 백승국, 조승현, 이세우, 등. 비인강암에서 c-kit 단백질의 발현 및 유전자 변이의 임상적 의미. 대한이비인후두경부외과학회지. 2007, 50:519-524.
- 김민기, 이재경, 박은택, 이상혁, 설상영, 정정명, 강미선, 등.



- 위장관 간질성 종양: 임상, 병리학 고찰과 새로운 진단 체계의 유용성. 대한소화기학회지. 2004, 43:341-348.
26. 김종국, 권오준, 김병현. 위장관기질종양의 CD117, CD34, Vimentin, Smooth Muscle Actin에 대한 면역조직화학적 발현. 대한병리학회지. 2001, 35:506-512.
27. 류제석, 이성렬, 최새별, 박성수, 이주한, 김승주, 김종석, 등. 위에 발생한 위장관 간질성 종양의 임상병리학적 특성과 치료 성적. 대한위암학회지. 2005, 5:40-46.
28. 박길춘, 김희철, 박인자, 유창식, 김정선, 김진천. 대장의 위장관 간질성 종양의 임상 병리 및 면역조직화학적 양상. 대한대장항문학회지. 2004, 20:371-377.
29. 엄준원. Role of Protein Kinase C Signaling in intestinal Ischemic Preconditioning. 대한대장항문학회지. 2003, 19:177-191.
30. 윤민영, 최선근, 허윤석, 이건영, 김세중, 조영업, 안승익, 등. 소아의 직장 위장관 간질종양. 대한외과학회지. 2006, 71:161-164.
31. 이우용, 곽금희, 양근호, 배병노, 김기환, 한세환, 김홍주, 등. 위장관 간질종양에서 예후에 영향을 미치는 인자들에 관한 연구. 대한외과학회지. 2005, 69:459-464.
32. 장선희, 주미, 김한성. 비소세포폐암종에서 c-kit와 세포주기 조절인자의 발현. 대한병리학회지. 2006, 40:427-431.
33. 정해빈, 김선영, 박신애, 박상미, 심건호, 김의형, 전은정, 등. 원인 불명의 위장관 출혈에서 진단적 개복술로 진단된 공장의 위장관 간질종양 1예. 대한소화기내시경학회지. 2007, 34:334-338.