

편평세포폐암에서 p53 돌연변이의 발현과 TNM 병기와의 상관관계

계명대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실*

전영준 · 한승범 · 이상숙*

서 론

폐암은 전세계적으로 악성종양중 그 빈도가 매우 높으며 우리나라에서도 점차 증가하는 추세를 보여 남자에서는 남성암 발생율 2위를 차지하고 있다(보사부, 1987). 폐암의 원인으로 가장 잘 알려져 있는 흡연은 폐암의 조직분류중 편평상피폐암 및 소세포암과 특히 관련이 높은 것으로 밝혀져 있으며 우리나라에서는 아직 편평상피암이 원발성 폐암중 가장 흔한 조직형으로 알려져 있다(김효진 외, 1994).

종양의 발생기전은 분자생물학적으로 ras나 myc과 같은 유전자들이 직접 세포를 증식시켜서 암을 유발하는 우성암유전자(dominant oncogene)와 Rb나 p53 유전자와 같이 정상적으로는 세포의 증식을 억제하여 암발생을 막는 억제유전자(suppressor oncogene)가 비활성화되어 종양이 유발되는 것으로 설명되고 있다(Viallet and Minna, 1990; Perkins and Woude, 1993).

염색체 17p13.1에 위치하는 p53 유전자의 정상기능은 두가지로 나눌 수 있는데 첫째로는 DNA의 일정부위에 결합하여 c-myc등 세포분열에 작용하는 물질들의 전사를 억제시킴으로써 세포를 G1기에 고정시켜서 일시적으로 가역적인 세포주기정지를 일으키고(Driller et al, 1990; Levine et al, 1991; Martinez et al, 1991; Kern et al, 1992), 둘째로는 아폽토시스(apoptosis)를 일으켜서 세포사망을 일으키는 비가역적인 기전을 통하여 세포증식을 억제함으로써 암발생을 억제하는 기능을 가진다(Yonish-Rouach et al, 1991; Shaw, 1992; Lowe and Ruley, 1993; Clarke et al, 1993). 그러나 돌연변이에 의해 p53 유전자의 정상기능을 상실하게 되면 세포증식기능이 소실되어 암세포의 증식을 초래하게 된다(Yokoda et al, 1987; Takahashi et al, 1989;

Levine et al, 1991). p53 유전자의 변이는 대부분이 missense mutation(60%)에 의해서 일어나며 non-sense와 splicing 착오에 의해서가 각각 20% 정도를 차지한다(Minna et al, 1992). 그러나 암이 발생되는 데에는 여러 단계의 유전자 변화가 일어나는데 ras 유전자의 변화는 초기에, p53 유전자의 변화는 후기에 발생하는 것으로 알려져 있다(Baker et al, 1990; Prives, 1993).

p53 유전자는 폐암, 대장암, 유방암, 위암 등에서 유전자 돌연변이가 관찰되고 있는데(Levine et al, 1991) 수술에 의해 적출된 비소세포폐암 조직의 45~75%에서 p53 유전자 돌연변이가 나타난다고 보고되고 있다(Chiba et al, 1990; Minna et al, 1992; Mitsudomi et al, 1992). p53 유전자의 돌연변이와 암 환자의 예후와의 관련성에 대해서 논란이 많은데 폐암환자에서는 Mitsudomi et al(1992)과 McLaren et al(1992)은 p53 유전자 돌연변이 유무와 환자의 생존기간과는 유의한 상관관계가 없다고 보고하였으나 Quinlan et al(1992)과 Carbone et al(1993)은 p53 유전자의 돌연변이가 있으면 환자의 생존기간이 짧았다는 보고를 하여 아직 논란이 많으며 TNM 병기와의 상관관계에 대한 연구는 드물다. 또 최근에는 erb B나 ras 유전자 변화가 있는 암은 예후가 나쁘다는 보고도 있다(Gazdar, 1992; Kern et al, 1990; Rodenhuis et al, 1987).

이에 저자들은 우리나라에서 비소세포폐암중 가장 흔한 조직형인 편평세포폐암환자에서 수술치료를 받은 48예의 조직블록과 진단당시 원격전이된 10예의 환자에서 기관지내시경 생검으로 얻은 편평세포폐암 조직블록을 대상으로 조직내에서 p53 단일클론항체를 이용하여 p53 단백의 발현을 면역조직화학 염색법으로 관찰하여 TNM 병기와의 상관관계를 조사연구하였다.

재료 및 방법

1. 재료

수술적 절제로 써 얻은 평평세포폐암 조직블록 48 예와 기관지내시경하 조직생검으로 얻은 진단당시 원격전이 병소가 확인된 조직블록 10예를 대상으로 하였다.

2. 면역 조직화학 염색

포로발린으로 고정되고 파라핀으로 포매된 조직을 5μm 두께로 잘라 유리슬라이드에 부착해서 60°C에서 30분내지 1시간 정도 둘 후, 100% xylene으로 5분씩 3번 파라핀을 제거하고 100% 알코올에 각각 5분씩 3회 처리한 후 90%, 70% 알코올에 각 5분씩 처리해서 탄수 및 합수하였다. 비특이적 결합을 배제하기 위해 30% normal horse serum으로 처리한

후 30분간 실온에 두었고 일차 항체로 자연형과 돌연변이형 모두에 반응을 보이는 Novocastra사의 항p53 단클론항체 DO 7을 TBS(Tris buffered saline)로 희석하여 2시간동안 37°C에서 반응시킨 후, pH 8인 TBS로 수세후 2차 항체인 Vector사의 biotinylated anti mouse IgG로 처리후 37°C에서 30분간 반응시켰다.

TBS로 다시 수세후 streptoavidin-alkaline phosphatase conjugate(DAKO, USA)로 처리후 37°C에서 30분간 반응하고 TBS로 수세후 new fuchsin (DAKO, USA)으로 발색시켜 검경하였다.

3. 면역 조직화학적 염색 판정

모든 면역염색된 조직절편에서 최소 400개이상의 암세포를 임의로 선정하여 400배에서 검경하였다. p53 면역반응정도는 면역조직학적 염색 유무에 따라 양성 혹은 음성으로 구분하였다(Fig 1).

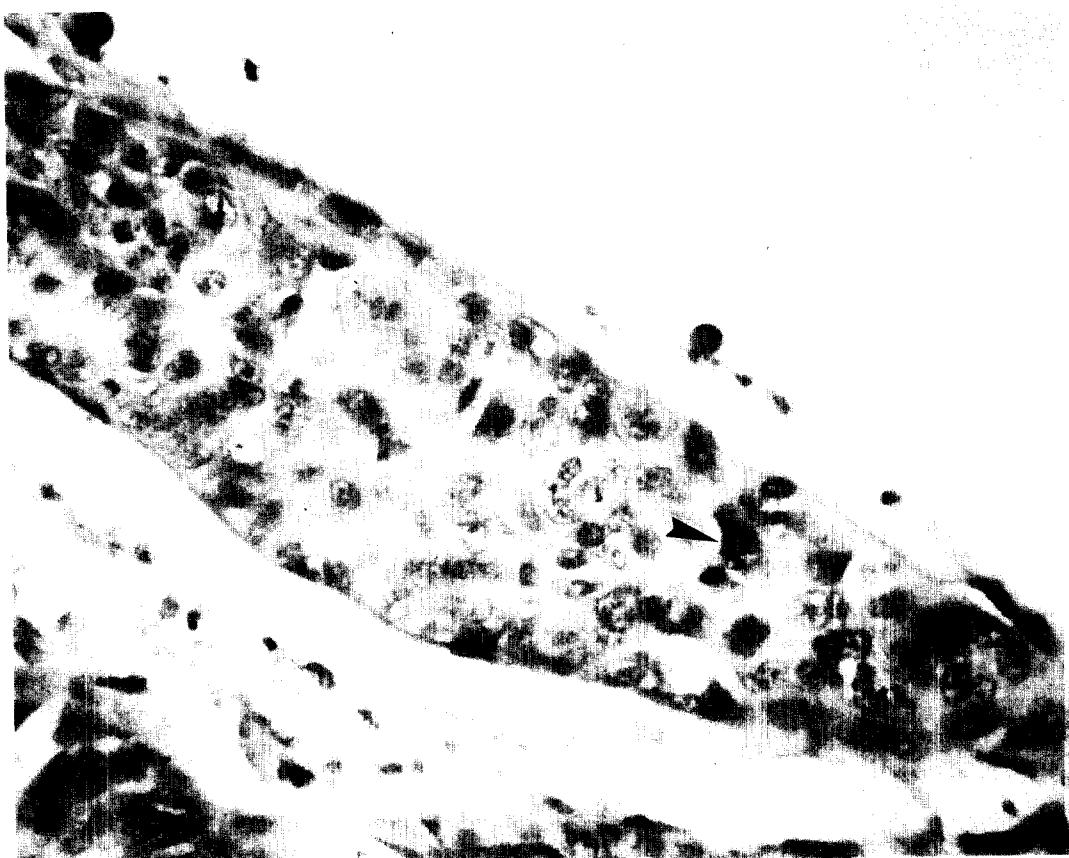


Fig. 1. Microphotograph showing diffuse positive(red) nuclear staining in sheet of anaplastic squamous cells(Immunohistochemistry for p53 DO 7 monoclonal antibody, x400).

결 과

본 연구에 포함된 대상환자는 남자 53예 여자 5명 총 58명으로 평균나이는 59.4세(42~75)였다.

병기결정은 TNM 분류에 근거한 International Staging System에 따랐고 병기에 따른 환자 수는 1기 17예 2기, 6예 3A기, 18예 3B기, 7예 4기 10예였다(Table 1). 원격전이가 있는 4기 환자의 원격전이 병소는 늑골, 흉추, 요추, 편측폐와 되었다(Table 2). 편평세포폐암 58예 중 30예(60.3%)에서 면역염색발현 양성이었고 정상조직에서는 모두 음성이었다(Fig 2). TNM 분류에 따른 병기별 p53 발현율은 1기가 9예(52.9%)에서 양성, 2기는 5예(83.3%)에서 양성, 3A기는 13예(72.2%)에서 양성, 3B기는 3예(42.9%)에서 양성, 4기가 5예(50.0%)에서 양성으로 TNM 병기에 따른 발현율의 차이는 통계학적 유의

성이 없었다($P=NS$, Fig 3).

T 병기에 따른 p53 발현율은 T2 31례 중 20례(60.8%), T3 14례 중 8례(57.1%), T4 13례 중 7례(53.8%)로 p53발현율과 T 병기사이의 통계학적 유의성은 없었다($P=NS$)(Fig 4).

N 병기에 따른 발현율은 N0 26례 중 13례(50.0%), N₁ 10례 중 7례(70.0%), N₂ 21례 중 14례(66.7%)에서 양성이었고 N₃ 1례는 음성으로 림프절전이가 없는 군(N₀)과 림프절전이가 있는 군(N₁, N₂, N₃)의 양성율은 각각 50.0%, 66.0%로 림프절전이가 있는 군에서 발현율이 높은 경향을 보였으나 N병기와 발현율의 통계학적 유의성은 없었다($p=NS$) (Fig. 5, Table 3).

원격전이 유무(M 병기)에 따른 발현율의 차이는 M0 48례 중 30례(62.5%)가 양성이고 M1 10례 중 5례(50.0%) 양성으로 M병기와 발현율 사이에는 통계학적 유의성이 없었다(Fig 6, Table 4).

Table 1. Distribution of patients by TNM stage

TNM stage	I	II	III A	III B	IV	Total
Number of patients	17	6	18	7	10	58

Table 2. Characteristics of patients with distant metastasis

Case No.	Sex / Age	TNM stage	Distant metastasis
1	F / 69	T2N0M1	Ribs
2	M / 49	T2N2M1	L-spine
3	M / 50	T3N2M1	T-L spine
4	M / 66	T4N2M1	L-spine
5	M / 65	T4N2M1	T-spine
6	M / 62	T4N3M1	Contralateral lung
7	M / 54	T4N0M1	Contralateral lung
8	M / 48	T4N2M1	Contralateral lung
9	M / 57	T3N3M1	Brain
10	M / 70	T4N2M1	Brain

Table 3. Relationship between P53 alteration and clinical parameters in squamous lung cancer

	P53 positive	P53 negative	P value
Nodal involvement			
Free from tumor(No)	13	13	
Metastasis(N ₀ , N ₁ , N ₃)	21	11	NS

Table 4. Relationship between P53 alteration and clinical parameters in squamous cell lung cancer

	P53 positive	P53 negative	P value
TNM stage			
I	9	8	
II	5	1	
III A	13	5	
III B	3	4	
IV	5	5	NS
T			
T2	20	11	
T3	8	6	
T4	7	6	NS
N			
N0	13	13	
N1	7	3	
N2	14	7	
N3	1	0	NS
M			
M0	30	18	
M1	5	5	NS

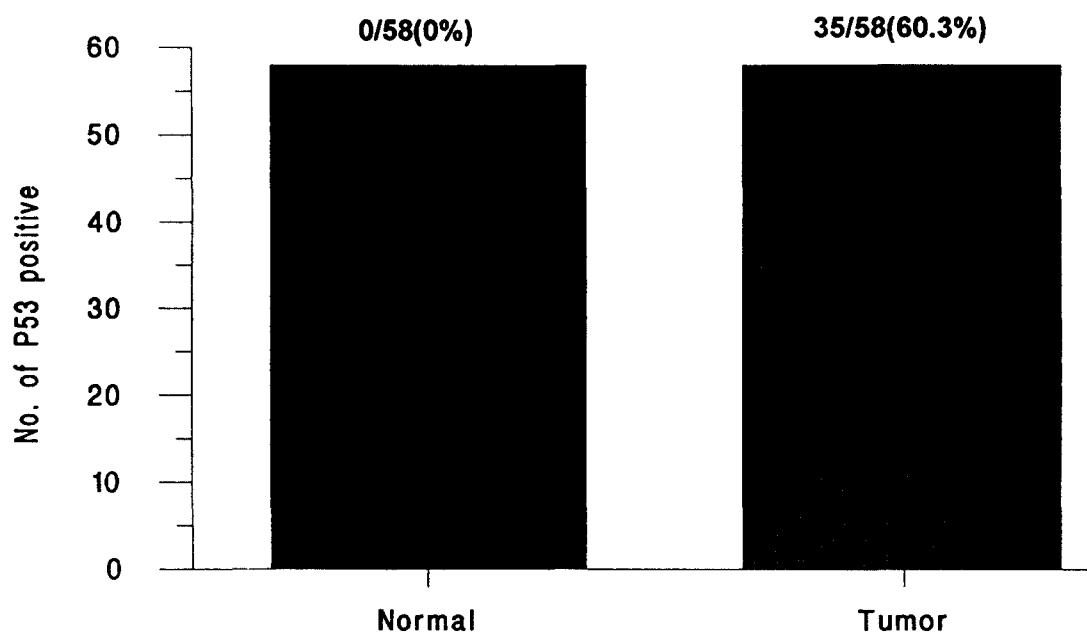


Fig. 2. Number(No.) & percentage of P53 positive in tumor & adjacent normal tissue

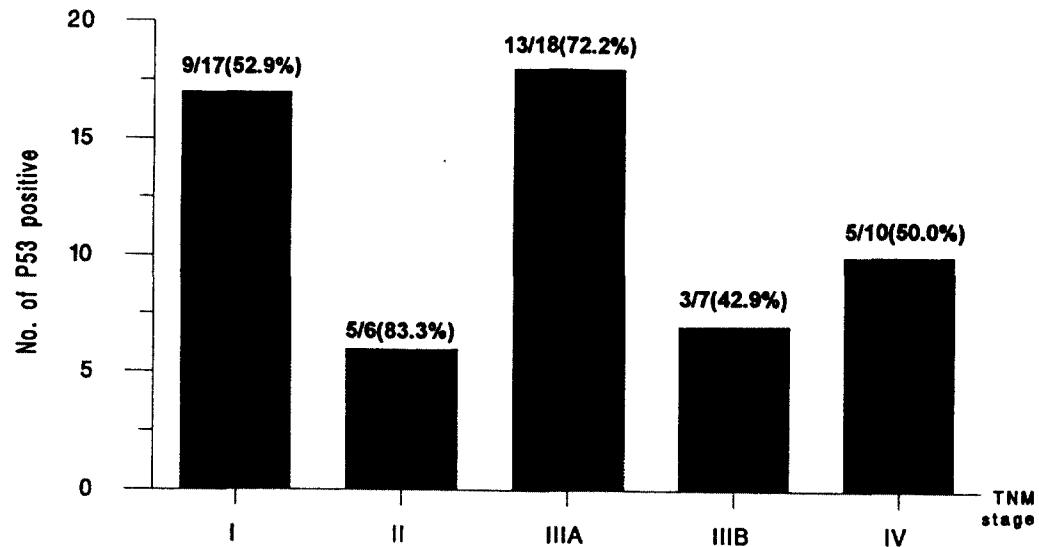


Fig. 3. Number(No.) & precentage of P53 positive according to TNM stage

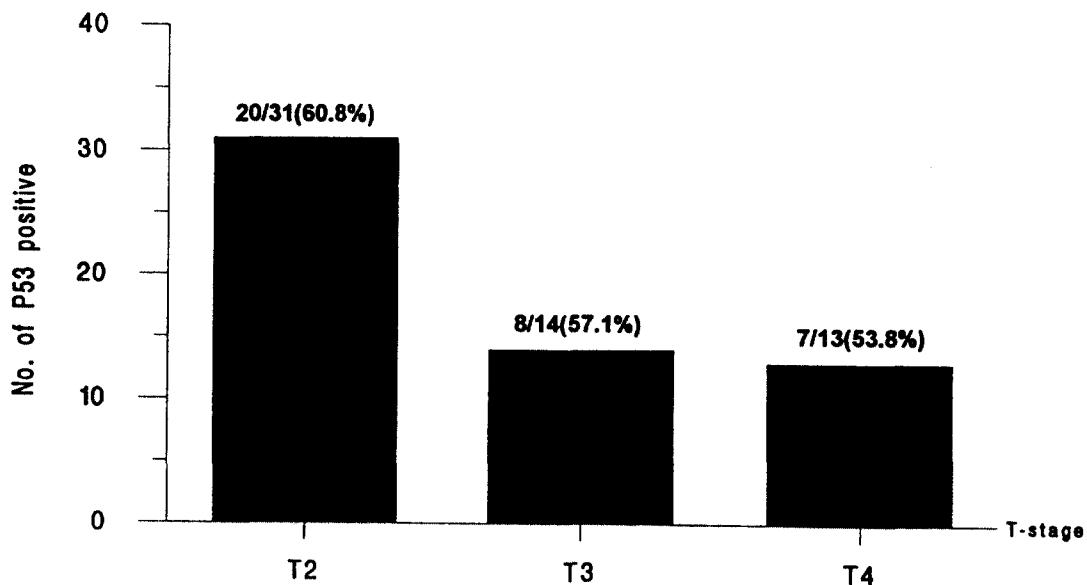


Fig. 4. Number(No.) & percentage of P53 positive according to T-stage

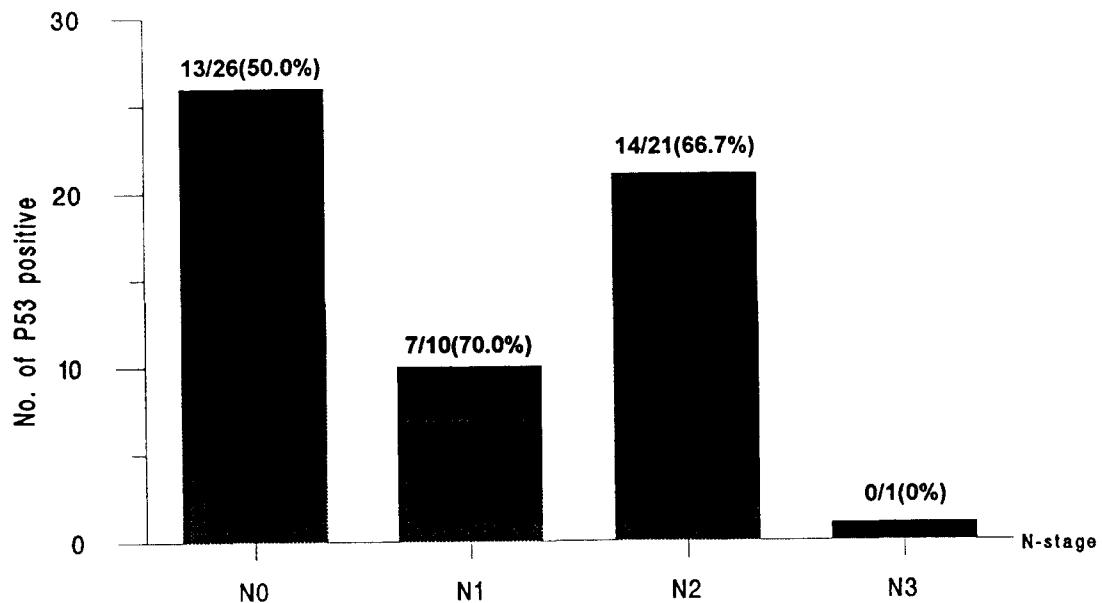


Fig. 5. Number(No.) & precentage of P53 positive according to N-stage

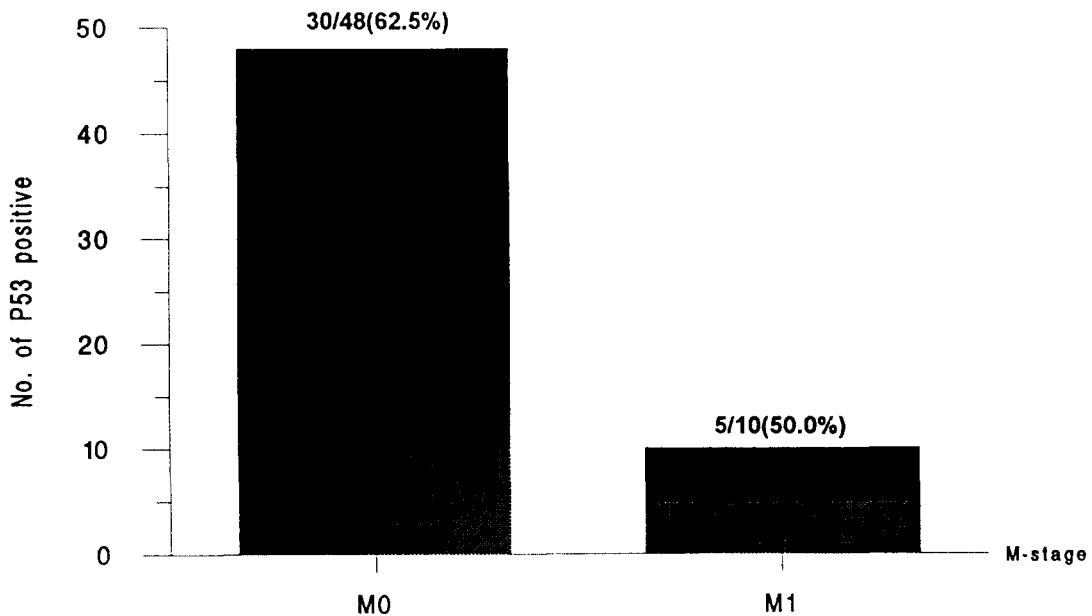


Fig. 6. Number(No.) & percentage of P53 positive according to M-stage

고 츠

p53 유전자는 53kDa의 해인단백질로서 1979년에 발견되었으며(Linzer et al., 1979; Lane et al., 1979), 처음에는 우성암유전자로 생각되었으나 최근 여러 연구 결과 정상 p53 유전자(wild type)는 돌연변이형 p53 유전자(mutant type)와 ras 유전자에 의한 세포변성을 억제하여 현재는 암발생을 억제하는 암억제유전자(anti-oncogene, tumor suppressor gene)로 알려져 있다(Finlay et al., 1989; Hinds et al., 1989; Chen et al., 1990). p53 유전자의 종양억제 기전은 정확하게 밝혀지지는 않았지만 쥐의 배아 섬유모세포의 실험을 통해서 밝혀진 것으로 G1기에서 성장을 중지시켜서 S기로 진행되는 것을 방지함으로써 세포증식을 억제하는 것으로 알려져 있다(Driller et al., 1990; Levine et al., 1991).

반면에 돌연변이형 p53는 세포배양시 세포가 계속 생존하게 하며(Jenkins et al., 1984) ras oncogene과 작용해서 세포변형을 일으키며(Eliyahu et al., 1984; Parada et al., 1984; Jenkins et al., 1984; Finlay et al., 1988), 종양세포의 기능을 갖게 한다(Wolf et al., 1984; Eliyahu et al., 1985). 정상 p53 유전자가 돌연변이형으로 되는 데에는 몇 가지 단백질과 결합이 되어야 하는데 그 예로서 SV40, 아데노바이러스, 인체파필로마바이러스와 같은 DNA 종양바이러스의 종양유발성물질이 결합되어 p53 유전자가 기능을 상실하여 세포를 변형시키거나 종양이 생기게 하는 것으로 알려져 있다(Linzer and Levine, 1979; Lane and Crawford, 1979; Sarnow et al., 1982; Werness et al., 1990). 그 외에 hsc70과 같은 단백질과 P34 cdc2 kinase와 casein kinase II와 같은 protein kinase가 p53 유전자와 관련이 있는 것으로 밝혀졌으며(Pinhasi-Kimhi et al., 1986; Hinds et al., 1987; Milner et al., 1990), 최근에는 90kb의 P90이라는 세포단백이 정상 또는 돌연변이 p53 단백과 같이 분리되었다(Hinds et al., 1990). 이것을 mdm-2(murine double minute 2) 암 유전자 산물이라고 하였으며, p53 유전자가 기능을 조절하는 것으로 밝혀졌다. 즉 mdm-2는 p53에 의해서 매개된 transactivation을 억제하는 것으로 보아 p53에 의해서 조절되는 세포증식이 mdm-2에 의해서 제거될 수 있다는 것을 의미한다. 또 최근에는 mdm-2 종양유전자는 p53의 성장억제 특성을 적어도 부분적으로

는 저해할 수 있다는 보고도 있다(Finlay, 1993).

p53 유전자의 정확한 작용기전을 밝혀지지 않았으나 p53 유전자를 완전히 파괴시킨 생쥐는 정상적으로 태어나지만 자연발생적인 암이 잘 생기는 것으로 보아서 개체발생에 필수적인 것은 아니고(Donehower et al., 1992) 정상 p53는 DNA와 결합하여 c-myc등 세포분열에 관여하는 물질들의 전사를 억제하여 G1기에 고정시켜서 S기로 넘어가는 것을 방지하고(Kern et al., 1992; Kern et al., 1992) 아톱토시스에도 관여하며(Yonish-Rouach et al., 1991; Shaw et al., 1992) 세포성 유전자인 mdm-2 유전자는 p53와 결합하여 p53의 transactivation gene의 기능을 방해하여 p53의 세포증식 억제기능을 제거하는 것으로 알려졌다(Momand et al., 1992). 또 실제로 사람의 육종에서 상당한 양의 mdm-2 유전자 증폭이 증명되었으며 mdm-2 유전자의 과별현이 p53 유전자의 기능을 저하시킬 수 있다고 주장한다(Oliner et al., 1992).

p53 유전자의 돌연변이의 대부분이 exon 5-8사이에서 일어나며(Nigro et al., 1989; Takahashi et al., 1989), p53 유전자 이상을 검사하는 방법으로는 PCR-SSCP(polymerase chain reaction-single strand conformational polymorphism)(Orita et al., 1989; Spinardi et al., 1991; Mazars et al., 1992; Mitsudomi et al., 1992)와 p53 단백에 대한 단일항체를 이용한 면역조직화학염색법이 많이 이용되고 있으며(Gannon et al., 1990; Cook & Milner 1990). 직접 염기서열분석방법이 있다(Miller et al., 1990; Martin et al., 1992). PCR-SSCP법은 유전자의 구조적 변형 유무를 검색하는데는 매우 유용한 방법이지만 p53 유전자의 돌연변이가 한 부위에만 국한되어 있지는 않으므로 염기서열분석보다는 면역조직화학염색법이 p53 유전자의 돌연변이를 검색하는데 더 좋다는 보고(Iggo et al., 1990)도 있다. PCR-SSCP와 면역조직화학염색법을 이용한 p53 유전자 이상의 일치율은 채체로 Carbone et al(1993)은 65%라고 보고하였다.

돌연변이형 p53 단백은 정상 p53 단백에 비해서 반감기가 무척 길기 때문에(Hinds et al., 1990) 변형된 세포나 종양조직에서 많은 양이 발견되며 구조가 다른 정상 p53과 돌연변이형 p53의 구조가 다르기 때문에 단일항체를 만들어서 손쉽게 조직에서 p53 단백의 발현을 관찰할 수 있게 되었다(Gannon et al., 1990; Cook & Miller, 1990).

면역조직화학염색법과 염기서열법에 의한 돌연변이 p53 단백의 검색 결과에는 차이가 있을 수 있는데 위음성의 원인으로서 조직을 고정할 때 생기는 기술적 결합외에도 missense point mutation이 아니고 gross deletion인 경우 p53 단백 생산이 전혀되지 않아서 위음성으로 나올 수 있고 point mutation인 경우 면역조직화학염색법으로 검출될 정도로 단백을 안정화시키지 못하기 때문으로 보고 있다. 위양성은 주로 clonal cell line(A549, A427 등의 폐암세포주와 JW 같은 대장암세포주)에서 발견되고 있다(Wynford-Thomas, 1992).

본 연구에서는 편평세포폐암의 60.3%에서 면역조직화학염색상 p53 단백의 발현을 보였는데 이는 Mitsudomi et al(1992)의 75%, Iggo et al(1990)의 70%보다는 낮았고 Quinlan et al(1992)의 55%, Hiyoshi et al(1992)의 49%보다는 높았으며, 한국인에서는 51%(이이형 외, 1994) 내지 56%(김동순 외, 1993)로 본 연구에서 양성을 약간 높았다. 이러한 차이는 사용된 항체의 민감도, 종족에 따른 차이, 절제된 조직의 보관상태 등에 따라 차이가 있을 수 있겠으나, 조직형에 따른 돌연변이의 빈도는 평평상피암이 선암에 비해서 높다고 보고되었는데(김선영 외 1993, 김동순 외 1993) 외국의 보고에서도 같은 발현빈도를 보여주고 있다(Chiha et al, 1990; Suzuki et al, 1992). 또 Mitsudomi et al(1992)과 Hiyoshi et al(1992)은 돌연변이와 환자의 성별, 흡연정도, 조직학적 분류와는 상관관계가 없으며 화학요법 유무, 환자의 생존과도 무관하다고 보고하였고, McLaren 등(1992)도 p53는 악성종양의 유발에는 상당한 관계가 있을 지라도 일단 종양이 발생된 후에는 생존기간과는 무관하다고 보고하였다. 그러나 Quinlan et al(1992)과 김동순 외(1993)는 p53 단백질의 과발현이 환자의 예후에 나쁜 인자라는 것을 확인했다고 보고하였다.

저자들의 연구에서는 TNM 분류에 의한 병기와 p53 돌연변이의 발현사이에는 유의한 상관관계가 없었고 또한 이를 TNM 병기로 구분해서 각각의 병기별 p53 발현율의 차이를 조사한 결과 통계학적 유의성은 없었으나 림프절 전이가 없는 군보다 림프절전이가 있는 군에서 p53 돌연변이 발현율이 높은 경향을 보였다. Hiyoshi et al(1992)은 편평세포폐암에서는 p53 단백질의 과발현이 환자의 예후와는 상관이 없지만 선암에서는 병기가 진행할수록 과발현정도가 증가하여 선암의 불량예후인자라고 보고하였

고 Quinlan et al(1992)은 원발병소에서는 p53 발현이 되지 않았으나 전이림프절에서는 양성으로 나타났고 이런 환자는 전이림프절에서 음성인 환자에 비해서 생존기간이 짧았다고 보고하여 보고자에 따라서 차이가 있어서 p53 발현과 TNM 병기 및 예후와의 상관관계는 아직 정립되어 있지 못한 실정이다. Thor et al(1992)은 유방암에서 p53 발현은 예후와 관계가 있다고 보고하였다. 또 최근에는 편평상피화생부위에서도 p53 단백이 발현된다고 보고하여 폐암의 발생은 여러 단계의 유전자 이상을 거칠 것이라는 것을 시사하고 있다(Vahakangas et al, 1992; Klein et al, 1993).

본 연구결과 p53 유전자의 과발현은 폐암의 병기와는 뚜렷한 상관관계를 찾을 수 없었으며 p53 유전자의 과발현이 폐암의 발생에는 기여하나 예후에 미치는 영향에 대해서는 더 많은 예에서 장기간 추적 관찰을 요할 것으로 사료되며, 최근 p53 유전자 돌연변이가 있는 pre-B cell line(L12)(Shaulsky et al, 1991)과 급성 erythroid CML cell line(K562)(Feinstein et al, 1992)에서 정상 p53 유전자(wild type p53)를 주입하면(transfect) 세포들의 증식을 억제시킬 수 있었다는 보고가 있어서 p53 유전자 주입을 이용한 치료법도 기대될 수 있으며 정상 p53 유전자가 없는 암세포는 방사선치료, fluorouracil, etoposide와 doxorubicin과 같은 항암치료에 반응하지 않으며 정상 p53 유전자가 있는 세포는 이를 항암치료에 반응하여 아폽토시스에 의해서 세포 사망에 이르게 된다고 하여(Lowe et al, 1993) 항암치료에도 응용될 가능성을 시사해 주고 있고, p53 유전자 기능을 회복시킬 수 있는 방법으로 종양세포의 증식을 막거나 흔히 사용되고 있는 항암제에 반응이 좋도록 하는 치료법도 기대되고 있다.

요 약

제명의대 동산의료원에서 1989년 1월부터 1993년 6월까지 수술로 써 절제한 48예의 편평세포폐암 조직블록과 진단당시 원격전이된 10예에서 기관지내시경 생검으로 얻은 편평세포폐암 조직블록을 대상으로 조직내에서 p53 단일클론항체를 이용하여 p53 단백의 발현을 면역조직화학염색법으로 관찰하여 TNM 병기와의 상관관계를 조사하였다. 조사대상군은 남자가 53예 여자가 5예였고, 진단당시 평균나이는 59.4세(42~75세)였다.

- 1) TNM 분류에 따른 병기는 1기가 17예, 2기가 6예, 3A기가 18예, 3B기가 7예였으며 4기기가 10예였다.
- 2) 정상조직에서는 모두 음성이었고 편평세포폐암 58예 중 35예(60.3%)에서 p53 돌연변이 발현이 양성이었다.
- 3) TNM 분류에 따른 병기별 p53 발현율은 1기가 9예(52.9%)에서 양성, 2기는 5예(83.3%)에서 양성, 3A기는 13예(72.2%)에서 양성, 3B기는 3예(42.9%)에서 양성, 4기는 5예에서 양성(50%)으로 TNM 병기에 따른 p53 발현율의 차이는 통계학적으로 유의성이 없었다($P > 0.1$).
- 4) T 병기에 따른 p53 발현율은 T2 31예 중 20예(60.8%), T3 14예 중 8예(57.1%), T4 13예 중 7예(53.8%)로 p53 발현율과 T 병기 사이의 통계학적 유의성은 없었다($P > 0.1$).
- 5) N 병기에 따른 p53 발현율은 N₀ 26예 중 13예(50%), N₁ 11예 중 8예(72.7%), N₂ 21예 중 14예(66.7%)에서 양성이었고, N₃ 1예는 음성으로 림프절 전이가 없는 군(N₀)과 림프절 전이가 있는 군(N₁, N₂, N₃) 사이에는 양성율이 각각 50%와 67%로 림프절 전이가 있는 군에서 p53 발현율이 높은 경향을 보였으나, 병기와 p53 발현율의 사이에는 통계학적 유의성은 없었다($P > 0.1$).
- 6) M 병기에 따른 p53 발현율의 차이는 원격전이가 없는 N₀ 48예 중 30예(62.5)가 양성이었고 원격전이가 있는 M₁ 10예 중 5예가 양성(50%)으로 M 병기와 p53 발현율 사이에는 통계학적 유의성이 없었다($P > 0.1$).

이상으로서 편평세포폐암 조직블록에서 TNM 분류에 의한 병기와 p53 돌연변이 발현사이에는 유의한 상관관계가 없었고, 또한 이를 T, N, M 병리로 구분해서 각각의 병리별 p53 발현율의 차이를 조사한 결과 통계학적 유의성은 없었으나, 림프절 전이가 없는 군보다 림프절 전이가 있는 군에서 p53 돌연변이 발현율이 높은 경향을 보였다.

참 고 문 헌

- 대한민국 보건사회부: 한국인 암등록 조사자료 분석 보고서 1992; 3.
- Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, et al: p53 gene mutations occur in combination with allelic deletions as late events in colorectal

- tumorigenesis. *Cancer Res* 1990; 50: 7717-7722.
- Carbone DP, Mitsudomi T, Rusch V, et al: p53 protein overexpression, but not gene mutation, is predictive of significantly shortened survival in resected non-small-cell lung cancer(NSCLC) patients. *Proc ASCO* 1993; 12: 334.
- Chiba I, Takashi T, Nau MM, et al: Mutations in the p53 gene are frequent primary resected non-small cell lung cancer. *Oncogene* 1990; 5: 1603-1610.
- Clarke AR, Purdie CA, Harrison DG, et al: Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways. *Nature* 1993; 362: 849-852.
- Cook A, Milner J: Evidence for allosteric variants of wild-type p53, a tumor suppressor protein. *Br J Cancer* 1990; 61: 548-552.
- Diller L, Kassel J, Nelson E, et al: p53 functions as a cell cycle control protein in osteosarcoma. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 5772-5781.
- Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, et al: p53-deficient mice are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. *Nature* 1992; 356: 215-221.
- Eliyahu D, Raz A, Gruss P, Givol D, Oren M: Participation of p53 cellular tumor antigen in transformation of normal embryonic cells. *Nature* 1984; 312: 646-649.
- Eliyahu D, Michalovitz D, Oren M: Overproduction of p53 antigen makes established cells highly tumorigenic. *Nature* 1985; 316: 158-160.
- Feinstein E, Gale RP, Reed J, Canaani E: Expression of the normal p53 gene induces differentiation of K562 cells. *Oncogene* 1992; 7: 1853-1857.
- Finlay CA, Hinds PW, Tan T-H, Eliyahu D, Oren M, Levin AJ: Activating mutations for transformation by p53 produce a gene product that forms an hsp 70-p53 complex with an altered half-life. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 531-539.
- Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ: The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 1989; 57: 1083-1089.
- Finlay CA: The mdm-2 oncogene can overcome

- wild-type p53 suppression of transformed cell growth. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 301-306.
- Gannon JV, Greaves R, Iggo R, Lane DP: Activationg mutations in p53 produce a common conformational effect. A monoclonal antibody specific for the mutant form. *EMBO J* 1990; 9: 1595-1602.
- Hinds PW, Finlay CA, Frey AB, Levine AJ: Immunological evidence for the association of p53 with heat shock protein, hsc 70, in p53-plus-ras-transformed cell lines. *Mol Cell Biol* 1987; 7: 2863-2869.
- Hinds PW, Finlay CA, Levine A: Mutation is required to activate the p53 gene for cooperation with ras oncogene and transformation. *J Virol* 1989; 63: 739-746.
- Hinds PW, Finlay CA, Quartin RS, et al: Mutant p53 cDNAs from human colorectal carcinomas can coorperate with ras in transformation of primary rat cells. *Cell Growth Diff* 1990; 1: 571-580.
- Hiyoshi H, Matsuno Y, Kato H, Shimosato Y, Hirohashi S: Clinicopathological significance of nuclear accumulation of tumor suppressor gene p53 product in primary lung cancer. *Jap J Cancer Res* 1992; 83: 101-106.
- Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harri AL: Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335: 675-679.
- Jenkins JR, Rudge K, Currie GA: Cellular immortalization by a cDNA clone encoding the transformation of normal embryonic cells. *Nature* 1984; 312: 651-654.
- Kastan MB, Onyekwere O, Sidransky D, Vogelstein B, Craig RW: Participation of p53 protein in the cellular resspone of DNA damage. *Cancer Res* 1991; 51: 6304-6311.
- Kern S, Kinzler KW, Bruskin A, et al: Indentification of p53 as a sequence-specific DNA-binding protein. *Science* 1992; 252: 1708-1711.
- Kern S, Pientenpol JA, Thiagalingam S, Seymour A, Kinzler KW, Vogelstein B: Oncogenic forms of p53 inhibit p53-regulated gene expression. *Science* 1992; 256: 827-830.
- 김동순, 성영주, 염호기, 이봉준, 서언림, 주종은: 원 발성폐암에서의 p53단백의 발현 양상과 예후와의 관계. *대한내과학회지* 1993; 45: 736-743.
- 김선영, 홍석천, 한표성 등: 비소세포폐암에서의 p53 단백의 발현양상. 결핵 및 호흡기질환 1993; 40: 659-674.
- 김효진, 정만표, 허대석 등: 한국인의 폐암(1980년 ~1984년). *대한내과학회지* 1994; 46(2): 221-228.
- Kinzler KW, Vogelstein B: Clinical implication of basic research-cancer therapy meets p53. *N Engl J Med* 1994; 331: 49-50.
- Klein N, Vignaud JM, Sadmi M, et al: Squamous metaplasia expresson of protooncogenes and p53 in lung cancer patients. *Lab Invest* 1993; 68: 26-34.
- Lane DP, Crawford V: T antigen is bound to a host protein in SV 40-transformed cells. *Nature* 1979; 278: 261-263.
- 이이형, 신동화, 김주항 등: 비소세포폐암에서 p53유 전자의 구조적이상 및 담백질 발현이 예후에 미치는 영향. 결핵 및 호흡기질환 1994; 41: 339-353.
- Levine AJ, Momand J, Finlay CA: The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-456.
- Linzer DIH, Levine AJ: Characterization of a 54K dalton cellular SV 40 tumor antigen present in SV 40-transformed cells and uninfected embryonal carcinomas. *Cell* 1979; 17: 43-52.
- Lowe SW, Ruley HE: Stabilization of the p53 tumor suppressor is induced by adenovirus EIA and accompanies apoptosis. *Genes Dev* 1993; 7: 535-545.
- Lowe SW, Ruley HE, Jacks T, Housman DE: p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. *Cell* 1993; 74: 957-967.
- Martinez J, Georgoff I, Martinez J, Levine AJ: Cellular localization and cell cycle regulation by a temperature-sensitive p53 protein. *Genes & Dev* 1991; 5: 151-159.
- McLaren R, Kuzu I, Dunnill M, Harris A, Lane D, Gatter KC: The relationship of p53 im-

- munostaning to survival in carcinoma of the lung. *Br J Cancer* 1992; 66: 735-738.
- Milner J, Cook A, Mason J: p53 is association with p34 cdc2 in transformed cells. *EMBO J* 1990; 9: 2885-2889.
- Minna JD, D'Amico D, Bodner S, et al: p53 mutations in human lung cancer. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1992; 33: 596-602.
- Mitsudomi T, Steinberg SM, Nau MM, et al: p53 gene mutations in non-small-cell lung cancer cell lines and their correlation with the presence of ras mutations and clinical features. *Oncogene* 1992; 7: 171-180.
- Monard J, Zambetti GP, Olsen C, George D, Levine AJ: The mem-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53 mediated transactivation. *Cell* 1992; 69: 1237-1245.
- Oliner JD, Kinzler KW, Meltzer PS, George D, Vogelstein B: Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas. *Nature* 1992; 358: 80-83.
- Parada LF, Land H, Weinberg RA, Wolf D, Rotter V: Cooperation between gene encoding p53 tumor antigen and ras in cellular transformation. *Nature* 1984; 312: 649-651.
- Perkins AS, Woude GFV: Principles of molecular cellular biology of cancer: Oncogenes. *Philadelphia, J B Lippincott Co*, 1993, pp 35-39.
- Pinhasi-Kimhi O, Michalovitz D, Ben-Ze'ev A, Oren M: Specific interaction between the p53 cellular tumor antigen and major heat shock protein. *Nature* 1986; 320: 182-185.
- Prives C: Doing the right thing: Feed back control and p53. *Current Opinion Cell Biol* 1993; 5 (2): 214-218.
- Quinlan DC, Davidson AG, Summers CL, Warren HE, Doshi HM: Accumulation of p53 protein correlates with a poor prognosis in human lung cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 4828-4831.
- Shaw P, Bovey R, Tardy S, Sahli R, Sordat B, Costa J: Induction of apoptosis by wild-type p53 in a human colon tumor-derived cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 4495-4499.
- Sarnow P, Hoy S, Williams J, Levine AJ: Adenovirus Elb-58kd tumor antigen and SV 40 large tumor antigen are physically associated with the same 54 Kd cellular protein in transformed cells. *Cell* 1982; 28: 387-394.
- Shaw P, Bovey R, Tardy S, Sahli R, Sordat B, Costa J: Induction of apoptosis by wild-type p53 in a human colon tumor-derived cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 4495-4499.
- Shaulsky G, Goldfinger N, Peled A, Rotter V: Involvement of wild-type p53 in pre-B cell differentiation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 8982-8986.
- Suzuki H, Takahashi T, Kuroishi T, Suyama M, Anyoshi Y, Takahashi T: p53 mutations in non-small cell lung cancers in Japan: association between mutations and smoking. *Cancer Res* 1992; 52: 734-736.
- Takahashi T, Nau M, Chiba I, et al: P53: a frequent target for genetic abnormalities in lung cancer. *Science* 1989; 246: 491-494.
- Thor AD, Moore DH, Edgerton SM, et al: Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis of breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 845-855.
- Vahakangas KH, Samet JM, Metcalf RA, et al: Mutations of p53 and ras genes in radon-associated lung cancer from uranium miners. *Lancet* 1992; 339: 576-587.
- Viallet J, Minna JD: Dominant oncogenes and tumor suppressor genes in the pathogenesis of lung cancer. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990; 2: 225-232.
- Wernes BA, Levine AJ, Howley PM: Association of human papilloma virus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990; 248: 76-79.
- Wolf D, Harris N, Rotter V: Reconstitution of p53 expression in a nonproduct Ab-MnLV-transformed cell line by transfection of a functional p53 gene. *Cell* 1984; 38: 119-126.
- Wynford-Thomas D: p53 in tumor pathology: can we trust immunocytochemistry. *J Pathol* 1992; 166: 329-330.

Yokoda A, Wad M, Shimosato Y, Terada H, Sugimura T: Loss of heterozygosity on chromosomes 3, 13, 17 in small cell carcinoma and on chromosome 3 in adenocarcinoma of the lung. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 9252-9256.

Yonish-Rouach E, Resnitzky D, Lotem J, Sachs L, et al: Wild-type p53 induces apoptosis of myeloid leukemic cells that is inhibited by interleukin-6. *Nature* 1991; 352: 345-347.

=Abstract=

p53 Gene Mutations in Squamous Cell Carcinoma of the Lung and Their Correlation with TNM Stages

Young June Jeon, MD; Seung Beom Han, MD; Sang Sook Lee, MD*

*Departments of Internal Medicine and Pathology**

Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

Primary lung cancer is now recognized as a major cause of cancer death in Korea as well as the whole world. Non-small-cell lung cancers(NSCLC) comprise about 75% of lung cancer and squamous cell carcinoma is the most common type in Korea. Mutations of p53 gene are common in variety of human cancers, including lung cancer.

The p53 gene appears to inhibit the proliferation of cells from the G1 to the S phase of cell cycle and is able to suppress the transformations of cells by other oncogenes, to inhibit the growth of malignant cells *in vitro* and suppress the tumorigenic phenotype of transformed cells.

Alteration or inactivation of p53 by mutation, or by its interactions with oncogene products of DNA tumor viruses, can lead to cancer. These mutations seems to be the most common genetic changes in human cancers. p53 gene mutation is known to be a poor prognostic marker in breast cancer and has significant association with lymph node involvement. But in human lung cancer the association of p53 mutations and TNM stages are controversial.

Immunohistochemical staining can detect only mutant p53 protein because of markedly prolonged half life of mutant p53 protein.

We performed the immunohistochemical staining on 48 surgically resected and 10 bronchoscopically biopsized specimens of primary squamous cell carcinoma of the lung with monoclonal antibody(DO 7) and analyzed the relationship between the expression of p53 protein and clinical TNM stages.

p53 protein was detected in 60.3% of total 58 cases. p53 protein was positive in 52.9% of stage I(17 cases), 83.3% of stage II(6 cases), 72.2% of IIIA(18 cases), 42.9% of IIIB(7 cases) and 50% of stage IV(10 cases) which revealed no significant correlation between p53 protein detection and stages. There was no significant correlation between p53 protein detection and N₀ and N₁₋₃ as well as M₀ and M₁.

In conclusion, we couldn't find any significant correlation between p53 protein detection and TNM stages which suggests p53 mutation is frequent in squamous cell carcinoma of the lung but play different role in progression of clinical stages.

Key Words: Squamous cell carcinoma of the lung, p53, TNM stages, Immunohistochemistry