

위암 주변 점막의 장화생 유형 및 위암의 *bcl-2*, *p53*, *c-erbB-2* 단백질 발현

¹전국대학교 의과대학 병리학교실, ²제명대학교 의과대학 병리학교실

조 승 제¹ · 권 건 영²

Type of Intestinal Metaplasia in the Surrounding Mucosa of Gastric Carcinoma and Expression of *bcl-2*, *p53* and *c-erbB-2* Protein in Gastric Carcinoma

Seung Che Cho, M.D.¹ and Kun Young Kwon, M.D.²

¹Department of Pathology, College of Medicine, Konkuk University, Chungju;
²Department of Pathology, Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

Purpose: This study was carried out to clarify significance of types of intestinal metaplasia and roles of *bcl-2*, *p53* and *c-erbB-2* protein in the development of gastric carcinoma.

Materials and Methods: Total one hundred fifty nine cases of surgically resected stomachs with benign ulcer (n=21), dysplasia (n=18) and gastric carcinoma (n=120) were studied histologically, histochemically and immunohistochemically.

Results: Type III intestinal metaplasia was significantly more common in the carcinoma patients in older age group. *Bcl-2* expression was found in 94.4% cases of dysplasia and 75.0% cases of carcinoma. Positivity for *bcl-2* protein was significantly higher in intestinal type carcinomas than in diffuse type carcinomas (p=0.000). The expression of *p53* protein showed 50.0% cases of dysplasia and 49.2% cases of carcinoma. The expression of *p53* protein was significantly correlated with depth of invasion (p=0.000), regional lymph node metastasis (p=0.001), and tumor size (p=0.001). *C-erbB-2* protein was only expressed in 15.0% cases of carcinoma. The expression of *c-erbB-2* protein was found more often in advanced carcinomas (p=0.001) and carcinomas with regional lymph node metastasis (p=0.003).

Conclusion: Type III intestinal metaplasia was associated with age, but not with types of gastric carcinoma. *Bcl-2* protein is probably involved in dysplastic lesion of gastric carcinogenic sequence and associated with intestinal type carcinoma, and *p53* protein is also involved in dysplasia. *p53* protein and *c-erbB-2* protein may have a role of tumor invasion and nodal metastasis as poor prognostic factors.

Key Words: Intestinal metaplasia, Gastric carcinoma, *bcl-2* protein, *p53* protein, *c-erbB-2* protein

서론

우리 나라에서의 위암 발생 빈도는 인구 10만 명당 약 53~55명으로, 전 악성 종양 중 1위를 차지하고 있다. 외과적 치료의 발달에도 불구하고 위암의 예후는 여전히 불량하다. 위암의 발생과정에 대하여 최근 여러 연구자들에 의해 많은 연구가 이루어져 왔다. Correa는 위암 발생의 사람모델을 제시하여 표재성 위염, 만성위축성 위염, 소장화생(small intestinal metaplasia), 대장화생(colonic metaplasia) 및 이형성(dysplasia)의 전암단계의 순서를 거쳐 장형(intestinal type) 위선암종으로 발전한다는 가설을 내놓았다(1). 그 후 다시 사람의 위암 발생을 다단계 과정으로 제시하여, 초기단계로 만성 위염과 위축, 중간단계로 장화생(intestinal metaplasia), 그리고 최종단계로 소장형 및 대장형 장화생을 거쳐 이형성 및 위암으로 발전한다고 설명하였다(2).

위암의 전구과정으로 알려진 만성위염, 장화생, 용종, 위장절제 후 남은 위, Menetrier씨 병, 만성 소화성 궤양 및 이형성 병변들 중에서 장화생은 내시경적 조직검사에서 흔히 발견된다. 이는 만성 위염의 한 형태학적 표현으로서 위암종의 발생이 높은 지역에서 발생빈도가 높고 위암 주변에서 다른 병변보다 광범위하게 존재한다. 실험적으로 발암물질을 약하게 투여하면 선암종 발생에 앞서 장화생이 먼저 생기며(3), 또한 최근 *Helicobacter pylori* 감염이 만성 위염 및 장화생의 과정을 거쳐 위암종의 발생에 기여한다는 보고가 있다(4). 이러한 위장의 장화생 유형을 조직화학적 특성에 따라 I형(완전, I형), II형(불완전, IIa형) 및 III형(불완전, IIb형)으로 분류하는데(5~7) 특히 III형 장화생이 장형 위암의 암화과정에 관여된다고 알려져 있다(5,8). 그러나 Matsukuma등은 위장의 선암종과 장화생은 상관관계가 없으며 단지 종양의 주변에서 나타나는 반응성 현상으로 부종양성 병변으로 설명하고 있다(9). 이와 같이 많은 연구들에서 위암과 장화생과의 관계에 대한 논란이 지

금까지 계속되고 있으며, 이러한 장화생이 위암의 전구단계인지 염종의 지속된 자극에 대한 세포의 단순한 형태의 변화인지를 밝히는 것이 위암의 암화과정에서의 역할을 이해하는 데 도움이 될 것이다. 위장의 내시경적 조직검사에서 장화생 유형의 판단이 환자의 위암 치료 및 질병의 예측에 도움이 될 것이다.

그리고 위암의 발생과정중에서 질산화 유도물과 같은 발암물질의 노출 및 방사선 조사 등은 사람의 세포에서 유전자의 돌연변이, 전좌, 재배열 및 증폭들을 일으키고 p53과 같은 종양억제유전자들의 돌연변이를 일으켜, 만성 표재성 위염뿐만 아니라 장화생과 같은 일련의 초기 과정에서도 관찰될 수 있다(2). 그 밖에 다양한 종양관련 유전자들이 위암의 암화단계에 관여한다고 보고되어 왔는데, 특히 p53, *bcl-2*, *c-erbB-2* 등은 여러 장기의 종양에서 암화 과정의 단계적 역할 및 예후에 관한 인자로서의 연구가 이루어져왔다.

따라서 본 연구는 종양 주변 및 이형성 주변에서의 장화생의 유무 및 장화생의 유형을 조직화학적 방법을 통해 분류하고 종양의 분화도 및 Lauren 분류(10) 및 종양의 침윤 깊이 및 성별, 연령에 따른 관계를 조사하였다. 각 종양유전자의 단백질에 대한 면역조직화학적 방법으로 위암의 진행 단계로서의 장화생, 이형성 및 위암의 분화도, Lauren의 분류, 종양 세포의 침윤 깊이, 국소 림프절 전이 유무에 따라 종양단백질의 발현을 관찰하여 위장의 암화과정 및 예후에 관련되는 인자들을 살펴보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1) 연구 대상

1995년에서 1996년까지 계명대학교 동산의료원 외과에서 절제한 91예의 조기 위선암과 29예의 진행성 위선암 및 선종 9예를 포함한 18예의 이형성 병변 및 21예의 양성 위궤양 환자의 조직 표본을 무작위로 선정하여 실험 재료로 사용하였다. 평균 연령은 58.5세였으며, 남녀 각각 112명과 47

명이었다. 전체 위암 120예의 평균 연령은 58.8세였으며, 남녀 각각 82명과 38명이었다. 조기 위암은 평균 연령이 58.1세였으며, 남녀 각각 61명과 30명이었다. 진행성 위암은 평균 연령이 60.7세였으며, 남녀 각각 21명과 8명이었다. 전체 위암의 종양크기는 평균 3.0 cm였으며, 종양값은 2.1 cm였다. 조기 위암 및 진행성 위암의 종양의 평균 크기는 각각 2.3 cm와 5.0 cm였다. 2예(1.7%)에서 종양의 크기를 알 수 없었다.

위암 120예 중 고분화 암종이 18예(15.0%), 중등도 분화 암종은 60예(50.0%) 저분화 암종은 22예(18.3%) 그 외의 인환암종은 20예(16.7%)였다. Lauren 분류에 따라 장형이 88예(73.3%), 미만형이 32예(26.7%)였다. 점막에만 국한된 예가 52예(43.3%), 점막하층까지 침윤된 예는 39예(32.5%), 근육층 및 장막하층까지 침윤된 예는 12예(10.0%), 장막층을 넘어 위장주변 지방조직으로의 침윤이 있는 예가 17예(14.2%)였다. 주변 림프절 전이의 유무에 따라 전이가 없는 예가 88예(73.3%), 전이가 있는 예는 32예(26.7%)였다.

2) 실험 방법

(1) 광학현미경적 관찰: 10% 중성 포르말린으로 12시간 이상 고정하고 제열 에탄올로 탈수한 후 파라핀으로 침투과정을 거쳐 파라핀 포매된 조직으로 통상적인 염색방법으로 H&E염색을 한 슬라이드를 재 검색하였다. 위암은 분화도에 따라 고분화도, 중등도, 저분화도 및 인환형으로 분류하고 이들을 다시 고등도 및 중등도 분화군을 분화군으로, 저분화군 및 인환형 세포암종을 미분화군으로 분류하였다. Lauren 분류(18)에 따라 장형, 미만형으로 나누고, 종양세포의 침윤깊이에 따라 조기위암, 진행성 위암으로 분류하였으며, 종양주변 위점막의 장화생의 유형을 형태학적으로 구분하였다. 조직화학적 및 면역조직화학적 염색을 위하여 종양 및 이형성병변이 포함된 블록 1개를 선택하였으며, 위궤양 조직의 경우는 궤양 주변이나 만성위염의 소견이 보이는 블록을 1개 선택하였다.

(2) 조직화학적 염색: 선택된 파라핀 블록을 4 μ m 두께의 절편을 만들어 alcian blue (AB), pH 2.5, diastase-treated periodic acid Schiff (D-PAS), high iron-diamine/alcian blue, pH 2.5 (HID/AB) 염색을 하였다. D-PAS염색에서는 중성 점액이 심홍색으로 염색되고, AB염색에서는 타액점액(sialomucin) 및 약산성 점액이 청색으로 염색되고, HID/ AB염색에서는 황화점액(sulphomucin)은 검게, 타액 점액은 청색으로 염색되는 특성을 사용하였으며 양성 대조군으로 소장과 대장의 점막을 사용하였다.

(3) 면역조직화학적 방법: 면역조직화학적 염색에는 *bcl-2* (DAKO, Denmark), *p53* (Novocastra, UK), *c-erbB-2* (Novocastra, UK) 단백질에 대한 단클론항체를 사용하였다.

10% 중성 포르말린에 고정되고 파라핀으로 포매된 조직을 4 μ m 두께로 박절한 후, xylene으로 탈파라핀화하고 계열 에탄올(100%, 90%, 75%; 각각 5분간 3회)로 재함수하였다. 그리고 3% 과산화수소수로 내인성 peroxidase를 차단하고, phosphate-buffered saline (PBS)으로 수세한 후 항원 표출을 위하여 구연산 완충액(citrate buffer, pH 6.0)에 넣고 전자오븐에서 10분간 전처리한 후 실온에서 냉각시키고 PBS으로 수세한 후, *bcl-2*는 1 : 40, *p53*은 1 : 100, *c-erbB-2*는 1 : 40으로 희석한 일차 항체에 37°C에서 1시간동안 반응시켰다. 그리고 LSAB kit (DAKO, USA)를 이차항체로 사용하였으며, 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) chromogen (DAKO, USA)으로 발색한 후 Mayer's hematoxylin으로 30초간 대조염색한 후 Canada balsam으로 봉입하였다. 염색된 표본에서 *bcl-2* 단백질은 세포질에 뚜렷하게 염색된 것을 양성으로 판정하였다. *p53* 단백질은 세포의 핵에서 분명하게 염색된 세포의 조직학적 분포를 관찰하고 염색이 잘 된 지역에서 광학현미경 400배에서 종양 세포중 핵에 염색된 세포가 10% 이상 양성인 경우를 양성으로 판정하였다. *C-erbB-2* 단백질은 세포막을 따라 과립상으로 염색된 것을 양성으로 판정하고 염색된 종양세포의 조직학적 분포를 관찰하였다.

(4) **통계학적 분석:** 종양 주변의 장화생의 유형과 *bcl-2*, *p53*, *c-erbB-2* 종양단백질 발현과 이형성 병변, 조기위암, 진행성 위암, 장형 및 미만형 위암종과의 관계를 SPSSWIN software를 이용하여 Chi square test로 분석하였다.

결 과

1) 병리조직학적 및 특수염색에 따른 장화생 유형 검색

조직학적으로 규칙적이고, 끝은 선와의 구조를 가지고 세포 표면에 성숙된 채자연(*brush border*)을 가진 원주상의 흡수세포와 배상세포로 구성되어 주로 타액점액을 분비하여 조직화학염색에서 AB에서 청색으로 염색되고, Paneth 세포가 흔히 관찰되는 형을 완전형 혹은 I형 장화생으로 분류하였다(Fig. 1A-C). 불규칙적인 선와의 구조를 가지고 산성 점액(대개 타액점액, 드물게 황화점액)을 분비하여 조직화학염색에서 HID/AB염색에 양성으로 청색 혹은 검은 색으로 염색되는 배상세포와 중간중간에 중성점액과 산성 타액점액을 분비하는 채자연이 뚜렷하지 않는 원주상의 점액세포로 구성되고 Paneth 세포가 많지 않은 소견의 장화생을 불완전형의 장화생으로 II형 혹은 IIa형으로 분류하고(Fig. 2A-C), 조직학적으로 II형과 유사한 소견의 불완전 화생으로 타액점액 또는 황화점액을 분비하는 배상세포와 황화점액을 분비하여 HID/AB염색에서 검게 염색되는 원주상 점액세포로 구성된 유형을 III형 혹은 IIb형 장화생으로 분류하였다(Fig. 3A-C).

본 연구에서 I형 장화생은 양성, 이형성 병변 및 위암 주변 점막에서 가장 흔히 나타나는 소견이었으나, II형 및 III형 장화생 등이 흔히 함께 관찰되었다. 조직학적 및 조직화학적으로 I형 장화생만 관찰되면 I형으로, III형 장화생없이 II형 장화생이 관찰될 때는 II형으로, III형 장화생이 존재하면 I형 및 II형 장화생과 함께 관찰되더라도 III형 장화생으로 분류하였다.

위선암종 120예 중 110예(91.7%)에서 종양 주변

점막에서 장화생이 관찰되었고 그중 I형은 19예(15.8%), II형은 33예(20.8%), III형 장화생은 58예(48.3%)로 나타났다. 조기 암과 진행성 암에서는 I형을 보인 예가 15예(16.5%)와 4예(13.8%), II형이 26예(28.6%)와 7예(24.1%), III형이 41예(45.1%)와 17예(58.6%), 장화생을 보이지 않은 예가 각각 9예(9.9%)와 1예(3.4%)였다. 분화군과 미분화군에서는 I형이 9예(11.5%)와 10예(23.8%), II형이 23예(29.5%)와 10예(23.8%), III형이 41예(52.6%)와 17예(40.5%), 장화생을 보이지 않은 예는 각각 5예(6.4%)와 5예(11.9%)였으며 Lauren의 분류에 따른 장형 암종과 미만형 암종에서는 I형이 11예(12.5%)와 8예(25.0%), II형이 25예(28.4%)와 8예(25.0%), III형이 47예(53.4%)와 11예(34.4%), 장화생을 보이지 않은 예는 각각 5예씩(5.7%, 15.6%)였다. 따라서 III형 장화생이 위선암종 전체 군과 세분화된 조기암, 진행성암, 분화군, 미분화군, 장형 암종 및 미만형 암종 모두에서 높게 관찰되었다.

이형성 병변 주변에서의 장화생은 18예 모두에서 나타났으며 I형 장화생이 2예(11.1%), II형 장화생이 5예(27.8%), III형 장화생이 11예(61.1%)로 역시 III형 장화생이 높게 관찰되었다. 양성 병변에서는 21예 중 19예(90.5%)에서 장화생이 관찰되었으며 장화생을 보이지 않은 예는 2예(9.5%), I형과 II형 장화생이 각각 6예(28.6%)와 7예(33.3%)였으며 III형 장화생은 6예(28.6%)에서 관찰되었다. 이들은 양성, 이형성 병변 및 위암 주변 점막에서의 III형 장화생과 장화생이 나타나지 않은 군, I형 및 II형 장화생만 관찰된 비III형 장화생 군과의 비교에서 통계학적 의미는 나타나지 않았다. 그리고 위암의 분화도에 따라 III형과 비III형 발생군의 비교에서 역시 통계학적 의미는 나타나지 않았으나, Lauren 분류에 따른 장형암 주변의 III형 장화생의 발생빈도가 높아 통계학적으로 경계유의성을 보였다(Table 1).

60세 미만군과 60세 이상군으로 나누어 전 예의 연령별 장화생 유형의 분석에서 III형 장화생의 발생빈도는 저연령군에서 27예(34.2%), 고연령군에서는 48예(60.0%)로 연령이 증가할수록 III형

Fig. 1. Type I intestinal metaplasia: Straight crypts lined by goblet cells secreting neutral and sialomucins, mature non- secreting absorptive cells in between (1A: H&E, $\times 200$; 1B: D-PAS $\times 200$; 1C: HID/AB, $\times 200$).

Fig. 2. Type II intestinal metaplasia: Tortuous crypts lined by goblet cells secreting sialomucins and occasionally sulphomucins, and columnar mucous cell secreting neutral and sialomucins (2A: H&E, $\times 200$; 2B: D-PAS $\times 200$; 2C: HID/AB, $\times 200$).

Fig. 3. Type III intestinal metaplasia: Irregular crypts lined by goblet cells secreting neutral, sialomucins or sulphomucins and columnar mucous cells secreting predominantly sulphomucins (A: H&E, $\times 200$; B: D-PAS; $\times 200$; C: HID/AB, $\times 200$).

Table 1. Types of intestinal metaplasia in gastric carcinomas and other benign gastric lesions

	Intestinal metaplasia (%)				p value [†]
	Type I	Type II	Type III	None	
Benign	6 (28.6)	7 (33.3)	6 (28.6)	2 (9.5)	0.112
Dysplasia	2 (11.1)	5 (27.8)	11 (61.1)	—	
Carcinoma	19 (15.8)	33 (27.5)	58 (48.3)	10 (8.3)	
Carcinoma					
EGC	15 (16.5)	26 (28.6)	41 (45.1)	9 (9.9)	0.203
AGC	4 (13.8)	7 (24.1)	17 (58.6)	1 (3.4)	
Diff.*	9 (11.5)	23 (29.5)	41 (52.6)	5 (6.4)	0.206
Undiff.†	10 (23.8)	10 (23.8)	17 (40.5)	5 (11.9)	
Intestinal	11 (12.5)	25 (28.4)	47 (53.4)	5 (5.7)	0.065
Diffuse	8 (25.0)	8 (25.0)	11 (34.4)	5 (15.6)	

*Differentiated carcinoma, †Undifferentiated carcinoma, † Comparison of type III and non-type III intestinal metaplasia groups

장화생 발생빈도는 증가하여 통계학적 의의를 보였다. 위암의 분류별로 조기암, 진행성 암, 장형 암종, 분화 암종 및 미분화 암종에서 고연령층군

일수록 III형 장화생이 나머지 장화생군과 비교하여 통계학적 의의가 있었으나, 양성, 이형성 병변과 미만형 암종에서는 통계학적 의의가 없었다

Table 2. Type of intestinal metaplasia of gastric carcinoma and other benign gastric lesions according to age groups

	Age	Intestinal metaplasia (%)				p value*
		Type I	Type II	Type III	None	
Carcinoma	< 60	10 (16.7)	21 (35.0)	19 (31.7)	10 (16.7)	0.003
	≥ 60	10 (15.0)	12 (20.0)	39 (65.0)	0	
EGC	< 60	7 (15.2)	16 (34.8)	14 (30.4)	9 (19.6)	0.005
	≥ 60	8 (17.8)	10 (22.2)	27 (60.0)	0	
AGC	< 60	3 (21.4)	5 (35.7)	5 (35.7)	1 (9.1)	0.016
	≥ 60	1 (6.7)	2 (13.3)	12 (80.0)	0	
Diff.	< 60	3 (8.3)	15 (41.7)	13 (36.1)	5 (13.9)	0.007
	≥ 60	6 (14.3)	8 (19.0)	28 (66.7)	0	
Undiff.	< 60	7 (29.2)	6 (25.0)	6 (25.0)	5 (20.8)	0.018
	≥ 60	3 (16.7)	4 (22.2)	11 (61.1)	0	
Intestinal	< 60	5 (12.2)	17 (41.5)	14 (34.1)	5 (12.2)	0.001
	≥ 60	6 (12.8)	8 (17.0)	33 (70.2)	0	
Diffuse	< 60	5 (26.3)	4 (21.1)	5 (26.3)	5 (26.3)	0.246
	≥ 60	3 (23.1)	4 (30.8)	6 (46.2)	0	
Dysplasia	< 60	1 (14.3)	1 (14.3)	5 (71.4)	0	0.474
	≥ 60	1 (9.1)	4 (36.4)	6 (54.5)	0	
Benign	< 60	5 (41.7)	2 (16.7)	3 (25.0)	2 (16.7)	0.676
	≥ 60	1 (11.1)	5 (55.6)	3 (33.3)	0	
Total	< 60	16 (20.3)	24 (30.4)	27 (34.2)	12 (15.2)	0.001
	≥ 60	11 (13.8)	21 (26.3)	48 (60.0)	0	

*Comparison of type III and non-type III intestinal metaplasia groups

(Table 2).

연령 요인이 위암 주변 점막의 III형 장화생에 영향을 주는 인자로 나타나 이를 보정하기 위해 60세 미만 및 이상 군의 층화분석에서 이들의 결과는 각각의 연령군에서 양성, 이형성 병변과 암종 및 위암의 분류에 따른 III형 장화생 발생빈도의 통계학적 의미는 관찰되지 않았다.

2) 면역조직화학적 검색

(1) *bcl-2* 단백질의 발현: *bcl-2* 단백질은 세포질에 염색된 것을 양성으로 판정하였는데, 각 예에서 림프구의 침윤이 관찰되었고, 특히 맨틀지역의

림프구의 세포질에서 균질하게 염색되어 이것을 내부 양성 대조염색으로 삼았다. 양성 병변 전 예의 위점막의 기저부의 고유선 및 장화생의 소낭선에서 국소적으로 약하게 발현되었으며(Fig. 4A), 이형성 병변 18예 중 17예(94.4%)에서 다양한 분포로 발현되었으며(Fig. 4B) 위암 120예 중에서 90예(75.0%)에서 다양한 분포 및 강도로 염색되었다(Fig. 4C). 조기암 및 진행성 암에서는 각각 65예(71.4%)와 25예(86.2%), 분화 암종과 미분화 암종에서는 각각 78예(84.6%)와 24예(57.1%), 장형과 미만형 암종에서는 74예(84.1%)와 16예(50.0%), 남녀 각각 64예(78.0%)와 26예(68.4%), 60세 미만

Fig. 4. Expression of *bcl-2* protein in normal gastric mucosa, dysplasia and adenocarcinoma: 4A; The positive staining is noted at the base of gastric antral mucosal glands and lymphocytes, 4B; Cytoplasmic *bcl-2* protein expression is found in dysplastic glands and mantle zones of lymphoid follicle, 4C: Expression of *bcl-2* protein in the intestinal type gastric adenocarcinoma is strong positive in the cytoplasms (4A: $\times 100$, 4B and C: $\times 200$).

Fig. 5. Immunohistochemical staining of p53 protein: Strong positive nuclear staining of p53 protein in tubular adenoma (5A) and adenocarcinoma (5B) is seen ($\times 200$).

Table 3. Expression of *bcl-2*, *p53* and *c-erbB-2* protein in gastric carcinomas

	No. of cases	<i>bcl-2</i>	<i>p</i> *	<i>p53</i>	<i>p</i> *	<i>c-erbB-2</i>	<i>p</i> *
Carcinoma	120	90 (75.0%)		59 (49.2%)		18 (15.0%)	
EGC	91	65 (71.4%)	0.109	35 (38.5%)	0.000	8 (8.8%)	0.001
AGC	29	25 (86.2%)		24 (82.8%)		10 (34.5%)	
Diff.	78	66 (84.6%)	0.001	38 (48.7%)	0.893	13 (16.7%)	0.486
Undiff.	42	24 (57.1%)		21 (50.0%)		5 (11.9%)	
Intestinal	88	74 (84.1%)	0.000	44 (50.0%)	0.762	15 (17.0%)	0.298
Diffuse	32	16 (50.0%)		15 (46.9%)		3 (9.4%)	
Lymph node metastasis							
Absent	88	67 (76.1%)	0.634	35 (39.8%)	0.001	8 (9.1%)	0.003
Present	32	23 (71.9%)		24 (75.0%)		10 (31.3%)	
Tumor Size							
< 2.1 cm	63	46 (73.0%)	0.516	22 (34.9%)	0.001	9 (14.3%)	0.754
≥ 2.1 cm	55	43 (78.2%)		36 (65.5%)		9 (16.4%)	
Undesignated	2						
Dysplasia	18	17 (94.4%)		9 (50.0%)		0 (0.0%)	
Benign	21	21 (100%)		0 (0.0%)		0 (0.0%)	

*Comparison between oncoprotein positive and negative cases

군과 60세 이상군에서 각각 46예(76.7%)와 44예(73.3%), 림프절 전이가 있는 군과 없는 군에서 각각 23예(71.9%)와 67예(76.1%), 종양의 크기에 따라 2.1 cm 미만군과 2.1 cm 이상의 군에서 각각 46예(73.0%)와 43예(78.2%)에서 양성 발현을 나타냈으며 이들중 분화도 및 Lauren 분류에 따른 비교에서 통계학적으로 유의하였다(Table 3).

(2) **p53 단백질의 발현:** p53 단백질은 양성 병변 21예 전 예에서 음성을 나타내었고 이형성 병변 18예 중 9예(50.0%)에서 이형성 세포에서 다양한 강도와 빈도로 핵에서 단백질 발현을 보였다(Fig. 5A). 위선암종 120예 중 59예(49.2%)에서 핵에서 강양성으로 발현되었다(Fig. 5B). 조기암 및 진행성 암에서는 각각 35예(38.5%)와 24예(82.8%), 분화 암종과 미분화 암종에서는 각각 38예(48.7%)와 21예(50.0%), Lauren의 분류에 따른 장형과 미만형 암종에서는 44예(50.0%)와 15예(46.9%), 남녀 각각 43예(52.4%)와 16예(42.1%), 60세 미만군과 60세 이상군에서 각각 30예(50.0%)와 29예(48.3%), 림프절 전이가 있는 군과 없는 군에서 각각 24예

Fig. 6. Immunohistochemical staining of *c-erbB-2* protein in gastric carcinoma: Most of the tumor cells reveal intense granular staining along the cytoplasmic membrane, and some of tumor cells show diffuse staining within the cytoplasm ($\times 400$).

(75.0%)와 35예(39.8%), 종양의 크기가 2.1 cm 미만 군과 2.1 cm 이상의 군에서 각각 22예(34.9%)와 36예(65.5%)에서 양성으로 발현되었다. 이들중 종양의 침윤 깊이에 따른 분류군인 조기암 및 진행성 암과 림프절 전이 유무에 따른 군과 종양의 크기에 따른 군의 비교에서 통계학적으로 의의를 나타냈으나, 분화도 및 Lauren 분류에서는 통계학적 유의성이 없었다(Table 3).

(3) *C-erbB-2* 단백질의 발현: *C-erbB-2* 단백질은 종양의 세포막을 따라 갈색으로 과립상으로 염색되었으며 일부의 종양세포에서는 세포질 내에도 양성반응을 나타냈다(Fig. 6). 종양단백질은 다양한 형태 및 강도로 미만성 혹은 국소적으로 염색되었다. 양성 및 이형성 병변에서는 *c-erbB-2* 종양 단백질의 발현은 관찰되지 않았으며, 위선암종 120예 중에서 18예(15.0%)에서만 양성으로 판독되었다. 침윤 깊이에 따른 조기암 및 진행성 암에서는 각각 8예(8.8%)와 10예(34.5%), 분화 암종과 미분화 암종에서는 각각 13예(16.7%)와 5예(11.9%), 장형 암종과 미만형 암종에서는 15예(17.0%)와 3예(9.4%), 남녀 각각 14예(17.1%)와 4예(10.5%), 60세 미만군과 60세 이상군에서 각각 7예(11.7%)와 10예(16.7%), 림프절 전이가 있는 군과 없는 군에서 각각 10예(31.3%)와 8예(9.1%), 종양의 크기가 2.1 cm 미만 군과 2.1 cm 이상의 군에서 각각 9예(14.3%)와 8예(14.5%)에서 양성 발현을 나타냈다. 이들중 종양 침윤 깊이에 따른 분류인 조기암 및 진행성 암과 림프절 전이 유무에 따라 통계학적인 의의를 나타냈으며, 분화도, Lauren 분류 및 종양의 크기에 따라서 통계학적 유의성이 없었다(Table 3).

(4) *Bcl-2*, *p53* 및 *c-erbB-2* 단백질 발현 사이의 연관성 비교: *Bcl-2*와 *p53* 두 종양단백질 모두 양성 및 음성 발현을 보인 예는 각각 55예 및 18예였으며, *bcl-2*와 *c-erbB-2* 두 종양단백질 모두 양성 및 음성 발현을 보인 예는 각각 55예 및 28예로 상호간의 관련성은 나타나지 않았다. 그러나 *p53*과 *c-erbB-2* 종양단백질에 모두 양성 및 음성인 예는 각각 14예 및 87예로 두 종양단백질 사이의

교차분석에서 통계학적인 유의한 관련성이 있었다($p=0.001$).

고 찰

위장의 장화생은 위점막의 상피세포가 배상세포(goblet cell), 흡수세포(absorptive 혹은 brush border cell), Paneth 세포 및 다양한 내분비 세포를 포함하는 소장 혹은 대장형의 상피세포로의 치환을 의미한다. Morson(11)은 장화생 부위로부터 위암이 발생할 수 있다고 지적한 이래 장화생이 위암의 전구병변이라고 믿어왔다. 장화생은 Jass등(5)에 의하면, I형, IIa형 및 IIb형으로 나누는데, IIb형은 Huang등(7)에 의해서는 sulphomucin 대장형으로 Filipe등(6)에 의해서는 III형으로 불려왔다.

본 연구에서 위궤양 주변 점막에서 나타난 장화생의 각 유형의 분포는 비슷하였으나, 이형성병변이나 위암 주변 점막에서는 III형의 장화생이 우월하게 많이 관찰되었다. 양성, 이형성 병변 및 위암군, 위암의 침윤도, 분화도 및 Lauren 분류에 따른 III형 장화생의 상관관계는 보이지 않았으며, 단지 Lauren 분류에 의한 장형 위암종 주변에서의 III형 장화생의 높은 발생빈도는 장형 위암종과의 상관성을 시사하고 있다. 그러나 연령과 III형 장화생과의 상관관계가 관찰되어 연령이 증가함에 따라 III형 장화생의 발생 빈도가 증가하는 것으로 나타났다. 60세 미만 군과 60세 이상 군의 층화분석에서 각 병변과 III형 장화생의 발생과는 상관관계를 보이지 않았으며, Lauren 분류에서도 역시 상관관계는 관찰되지 않았다. 그러나 60세 미만 군에서 양성, 이형성 병변 및 위암과의 비교에서 III형 장화생의 발생빈도가 낮아 경계유의성을 보였으나 이형성 병변 주위에서 오히려 높은 발생빈도를 보였다. 이는 60세 미만 군에서 이형성 병변의 발생 연령이 양성 및 암종보다 높아 이들보다 III형 장화생의 발생빈도가 높은 것으로 생각된다. 따라서 III형 장화생은 위암과의 상관관계보다는 연령에 따른 변화를 시사해주는 것으로

생각된다. 이는 Matsukuma등(9)의 절제된 위장의 선암종과 장화생과의 연관성에 관한 연구에서 III형의 장화생과 위암 특히 장형의 위암 주변에서 높은 빈도를 보이지만 연령이 많아짐에 따라 III형의 장화생이 증가하여 연령과의 상관관계를 고려하여야 하며 이는 III형 장화생과 위암과는 무관하다는 연구 결과와 부합된다.

한편 *bcl-2* 종양단백질은 26 Kd의 단백질로서 apoptosis를 일으키는 조직에서 세포의 핵막, 소포체 및 미토콘드리아의 막에 위치하며 발암과정에서 세포의 증식을 활성화시키기보다는 세포의 수명을 연장시키고 apoptosis를 억제함으로써 종양 발생에 관여한다. 본 연구에서 *bcl-2* 종양단백질은 위점막의 기저부의 고유선 및 장화생의 소낭선에서 국소적으로 약하게 발현되고 표면으로 갈수록 발현되지 않아 위장점막의 상피세포의 분화과정에서 *bcl-2* 종양단백질 발현의 소실은 정상적인 현상임을 알 수 있다. 이형성 병변에서는 94.4%에서 발현을 보였다. 이는 Bronner등(12)이 위선종에서 92%가 발현한다는 연구와 유사한 결과를 보였으나, Lauwers등(13)의 이형성 병변에서 81%의 발현 빈도를 나타낸다는 연구보다는 높은 발현율을 보였다. 본 연구의 위암조직에서는 75%의 *bcl-2* 단백질 발현을 보였으며 이는 Lauwers등(14)이 위암에서 72%의 발현 빈도를 보인다는 연구결과와 유사하다. 이와같이 양성 위병변의 모든 예에서 발현되고 이형성 병변을 거쳐 위암으로 갈수록 발현율이 낮아지는 것은 발암과정의 초기 단계인 이형성 병변에 관여하여 세포의 수명을 연장시켜 여러 종류의 유전자 변이가 축적되어 암화과정에 관여하지만 위암의 진행에는 중요한 역할을 하지 않음을 시사해준다. 조기위암 및 진행성 위암과의 비교에서도 통계학적인 상관관계가 보이지 않았으며 이는 역시 위암의 진행과는 무관한 것으로 생각된다. 그러나 Lauren 및 분화도에 따른 분류에서 장형 암종 및 분화 암종에서 더 높은 발현율을 보여 통계학적으로 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 이는 Lauwers등(14)의 *bcl-2* 종양단백질의 발현은 장형 암종과 관계 있다는

결과와 일치하는 소견이다. 그러나 그들은 장형 암종중에서 분화도가 나쁜 암종에서 더 높은 발현을 보였으나 본 연구의 경우에는 장형 암종중에서는 분화도와 상관관계는 보이지 않았으며, 전 예의 위암에서는 분화가 좋은 군의 암종에서 더 높은 발현율을 보여 이는 장형 암종에서 더 높은 발현을 보이는 점과 유사한 결과라고 해석하였다. 그리고 *bcl-2* 종양단백질은 성별, 연령별, 림프절 전이 유무 및 종양의 크기와 상관관계는 없는 것으로 나타나 Lauwers등(14)의 위암에서의 *bcl-2* 종양단백질 발현의 실험에서 종양의 병기, 림프절 상태 및 생존율과 무관하다는 결과와 유사한 결론을 얻었다.

한편 p53의 변이는 인체암중에 가장 흔히 발견되는 유전자 이상 중의 하나이며, 정상형 p53 유전자는 DNA 상해여부를 확인하여 DNA 상해가 있는 세포를 G₁기에서 세포순환을 정지시켜 DNA 수복을 유도하고 수복이 불가능한 경우에 apoptosis를 일으키지만, 변이형 p53은 apoptosis를 억제한다고 알려져 있다. 본 연구에서 p53 단백질에 대한 면역조직화학적 염색은 양성병변에서는 전 예에서 음성으로, 이형성 병변에서는 50%에서, 위암에서 49.2%의 발현율을 보여 이형성병변에서부터 p53 유전자의 관련성을 시사한다. 이형성 병변의 p53 단백질의 발현은 Hurlimann등(15)과 오등(16)의 결과에 따르면 선종의 경우 이형성의 정도와 무관하게 음성을 보였으나, 4%에서 60%에 이르는 양성률을 보고한 연구자들(15,16)도 있으며, 이는 본 연구의 결과와 부합된다. 위암종의 p53 단백질 발현은 4%에서 64%까지 보고자에 따라 다양한 양성률을 보였다. 이와 같이 다양한 결과는 p53 돌연변이를 검색하는데 정상형 p53 단백질이 세포질의 다른 단백질과 결합하여 반감기가 증가하거나, p53의 조절유전자에 변이가 생겨서 과발현될 수 있음에 기인한다. 따라서 p53 유전자의 암화과정에 대한 연구는 앞으로 분자생물학적인 연구가 뒷받침되어야 할 것으로 생각된다. 본 연구에서 진행성 위암, 국소 림프절 전이가 있거나 종양의 크기가 클 때 더 높은 p53 단백질 발

현을 보였으며 이는 통계학적 유의성 있게 위암의 진행 및 전이 등에 관여하며 역시 크기, 침윤도 및 림프절 전이 등의 불량한 예후와도 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 그러나 Lauren 분류, 종양의 분화도, 성별 및 연령과는 상관관계는 나타나지 않았으며, 이는 오등(16)과 Tahara등(17)의 *p53* 단백질의 발현은 종양의 분화도와 무관하다는 결과와 일치했으나, Hurlimann등(15), 오등(16)과 이등(18)의 Lauren 분류의 장형 암종과의 상관관계가 있다는 결과와는 다르게 통계학적인 의의는 없었으며, 단지 장형 암종에서 조금 더 높은 발현율을 보였다.

위암의 증식과 침윤에 중요한 역할을 한다고 알려진 *c-erbB-2* 종양 유전자는 ethylnitrosourea로 유발시킨 백서의 신경아세포종에서 점돌연변이에 의해서 생성된 암유전자 *neu*와 같은 것으로 알려져 있었으며(19), 정상 성장이나 종양의 분화에 있어서의 이 유전자의 기능은 아직까지 확실하지 않다. 그러나 여러 장기의 선암세포들에서 그 증폭이 증명되고 있으며, 특히 유방암(20), 위암(21)과 난소암(22)에서 유전자의 증폭과 환자의 예후와 상관성이 깊다고 보고되고 있다. 본 연구에서 *c-erbB-2* 종양단백질은 위암 15%에서 악성 종양 세포막을 따라 강한 갈색의 과립으로 관찰되었으나 양성 및 이형성 병변에서는 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 Yonemura등(23)의 12.2% 및 Mizutani등(24)의 14%의 발현율과 유사한 결과였다. *c-erbB-2* 종양단백질은 종양의 침윤도에 따른 진행성 위암 및 지역 림프절 전이가 있는 위암에서 높은 발현율로 통계학적 의의를 보였으나 종양의 분화도, Lauren 분류, 성별, 연령 및 종양의 크기 등과는 상관관계를 보이지 않았다. 이러한 결과 역시 Yonemura등(23)과 Mizutani등(24)의 *c-erbB-2* 종양단백질의 발현이 종양의 침윤 깊이와 상관관계를 보인 결과와 일치되었다. 또한 Yonemura등(23)의 림프절 전이와 통계학적 유의성을 보인 결과와 비슷한 결과를 나타내었으며, Mizutani등(24)의 *c-erbB-2* 종양단백질의 발현과 림프절 전이와는 통계학적 유의성은 없지만 림프절 전이가 없

는 경우보다는 더 높은 발현율을 보인다는 결과와 유사하였다. 따라서 *c-erbB-2* 종양단백질의 발현은 종양의 침윤 및 전이에 상관관계가 있으며 종양의 분화도, Lauren 분류, 성별, 연령 및 종양의 크기와는 무관하다는 결과를 얻었다.

각 종양단백질간의 상관관계에 대한 연구로 *p53* 종양단백질과 *bcl-2* 종양단백질의 발현사이의 관련성에 대해서 Quinn등(25)의 유방암에서는 역상관관계를 보인다고 하였고 김등(26)의 대장종양에서는 무관한 결과를 보였다. *bcl-2*와 *c-erbB-2* 단백질의 발현과의 관계는 Quinn등(25)은 역상관관계를 보였다. 그리고 *p53* 단백질과 *c-erbB-2* 단백질 발현의 연관성은 Isola등(27)은 관련성이 있다고 하였으나, Davidoff등(28)은 관련성이 없다고 하여 두 종양단백질의 상호 연관성에 대해 논란이 많다. 본 연구에서는 *p53*과 *bcl-2* 및 *bcl-2*와 *c-erbB-2* 두 종양단백질사이의 연관성은 나타나지 않았고 단지 *p53* 단백질과 *c-erbB-2* 단백질 발현사이의 관련성이 있는 것으로 나타났다. 따라서 *p53*과 *bcl-2* 및 *bcl-2*와 *c-erbB-2* 유전자들은 위암의 발생에 있어 독립적인 작용을 하고 *p53*과 *c-erbB-2* 유전자는 서로 의존적 관련성이 있을 것으로 생각되었다. 그러나 이들의 관련성에 대한 보고는 대개 유방암에서의 이루어져 있으며 위암에 대한 보고는 거의 없는 실정이어서 위암에서 이들 종양 유전자간의 상호관계는 추후에 더 규명되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

위장의 III형(대장형) 장화생 발생의 의미는 위암의 진행과정보다는 연령에 따른 변화를 시사해 주었으며, 위암의 암화과정에 관련되는 종양유전자인 *bcl-2*과 *p53* 유전자는 암화의 초기인 이형성 병변에 관련되고 암화후에는 *p53* 및 *c-erbB-2* 유전자들이 관여하여 위암의 침윤 및 전이에 역할을 하는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1988; 48: 3554-3560.
- Correa P. Human gastric carcinogenesis: A multistep and multifactorial process-First American cancer society award lecture on cancer epidemiology and prevention. *Cancer Res* 1992; 52: 6735-6740.
- Watanabe H, Ito A. Relationship between gastric tumorigenesis and intestinal metaplasia in rats given X-radiation and/or N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *J Natl Cancer Inst* 1986; 76: 865-870.
- Solcia E, Fiocca R, Luinetti O, Villani L, Padovan L, Calistri D, Ranzani GN, Chiaravalli A, Capella C. Intestinal and diffuse gastric cancers arise in a different background of *Helicobacter pylori* gastritis through different gene involvement. *Am J Surg Pathol* 1996; 20(Suppl 1): S8-S22.
- Jass JR. Role of intestinal metaplasia in the histogenesis of gastric carcinoma. *J Clin Pathol* 1980; 33: 801-810.
- Filipe MI, Potet F, Bogomoletz WV, Dawson PA, Fabiani B, Chauvenic P, Fenzy A, Gazzard B, Goldfain D, Zeegen R. Incomplete sulphomucin-secreting intestinal metaplasia for gastric cancer. Preliminary data from a prospective study from three centres. *Gut* 1985; 26: 1319-1326.
- Huang CB, Xu J, Huang JF, Meng XY. Sulphomucin colonic type intestinal metaplasia and carcinoma in the stomach. *Cancer* 1986; 57: 1370-1375.
- Rokkas T, Filipe MI, Sladen GE. Detection of an increased incidence of early gastric cancer in patients with intestinal metaplasia type III who are closely followed up. *Gut* 1991; 32: 1110-1113.
- Matsukuma A, Mori M, Enjoji M. Sulphomucin-secreting intestinal metaplasia in the human gastric mucosa: An association with intestinal-type gastric carcinoma. *Cancer* 1990; 66: 689-694.
- Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; 64: 31-49.
- Morson BC. Carcinoma arising from areas of intestinal metaplasia in the gastric mucosa. *Br J Cancer* 1955; 9: 377-385.
- Bronner MP, Culin C, Reed JC, Furth EE. The *bcl-2* proto-oncogene and the gastrointestinal epithelial tumor progression model. *Am J Pathol* 1995; 146: 20-26.
- Lauwers GY, Scott GV, Hendricks J. Immunohistochemical evidence of aberrant *bcl-2* protein expression in gastric epithelial dysplasia. *Cancer* 1994; 73: 2900-2904.
- Lauwers GY, Scott GV, Karpeh MS. Immunohistochemical evaluation of *bcl-2* protein expression in gastric adenocarcinomas. *Cancer* 1995; 75: 2209-2213.
- Hurlimann J, Saraga EP. Expression of p53 protein in gastric carcinomas; association with histologic type and prognosis. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 1247-1253.
- Oh SY, Kang MJ, Lee DG, Choi HY, Kim SH. Expression of p53 protein in gastric adenoma and carcinoma. *Korean J Pathol* 1996; 30: 886-892.
- Tahara E, Kuniyasu H, Yasui W, Yokizaki H. Gene alterations in intestinal metaplasia and gastric cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1994; 1: 97-102.
- Lee SS, Kim SP, Sohn SS. Overexpression of p53 protein in early gastric carcinoma of intestinal type. *J Korean Cancer Assoc* 1996; 28: 632-638.
- Padhy LC, Shih C, Cowing D, Finkelstein R, Weinberg RA. Identification of a phosphoprotein specifically induced by the transforming DNA of rat neuroblastomas. *Cell* 1982; 28: 865-871.
- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ulrich A, McGuire WL. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the *HER-2/neu* oncogene. *Science* 1987; 235: 177-182.
- Yonemaru Y, Sugiyama K, Fujimura T. Correlation of DNA ploidy and proliferative activity in human gastric cancer. *Cancer* 1988; 62: 1497-1502.
- Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA. Studies of the *HER-2/neu* proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 702-712.
- Yonemura Y, Ninomiya I, Ohoyama S, Kimura H, Yamaguchi A, Fushida S, Kosaka T, Miwa K, Miyazaki I, Endou Y, Tanaka M, Sasaki T. Expression of *c-erbB-2* oncoprotein in gastric carcinoma. Immunoreactivity for *c-erbB-2* protein is an independent indicator of poor short-term prognosis in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 1991; 67: 2914-2918.
- Mizutani T, Onda M, Tokunaga A, Yamanaka N, Sugisaki Y. Relationship of *C-erbB-2* protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. *Cancer* 1993; 72: 2083-2088.
- Quinn CM, Ostrowski JL, Harkins L, Rice AJ, Loney DP. Loss of *bcl-2* expression in ductal carcinoma in situ of the breast relates to poor histological differ-

- entiation and to expression of *p53* and *c-erbB-2* proteins. *Histopathology* 1998; 33: 531-536.
26. Kim AR, Cho SJ, Won NH, Chae YS. Expression of *bcl-2* protein colorectal adenoma and adenocarcinoma and its relationship with *p53* and apoptosis. *Korean J Pathol* 1997; 31: 417-426.
27. Isola J, Visacopi T, Holli K, Kallioniemi O. Association of overexpression of tumor suppressor protein *p53* with rapid cell proliferation and poor prognosis in node negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1109-1114.
28. Davidoff AM, Herndon JE, Glover NS, Kerns BJ, Pence JC, Iglehart JD, Marks JR. Relation between *p53* overexpression and established prognostic factors in breast cancer. *Surgery* 1991; 110: 259-264.