대한병리학회지: 제 35 권 제 3 호 2001
The Korean Journal of Pathology. 2001; 35: 220-5

난소의 장액성 종양에서의 $p27^{kip1}$과 Cyclin D1 발현에 대한 조사

권선영 · 장은숙 · 권건영 · 박관규
김수경[1]

계명대학교 의과대학 병리학교실
[1]약리학교실

접 수 : 2001년 3월 26일
게재승인 : 2001년 5월 7일

책임저자 : 권 선 영
우 700-712 대구시 중구 동산동 194
계명의대 병리학교실
전화: 053-250-7212
Fax: 053-250-7852
E-mail: patho72@hanmail.net

Expression of $p27^{kip1}$ and Cyclin D1 in Serous Epithelial Ovarian Tumors

Sun Young Kwon, Eun Sook Chang, Kun Young Kwon, Kwan Kyu Park and Soo Kyung Kim[1]

Departments of Pathology, [1]Pharmacology and Institute for Medical Science Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

Background : $p27^{kip1}$ is a member of the Cip/Kip family of the cyclin-dependent kinase inhibitors and is a potential tumor suppressor gene. Decreased expression of $p27^{kip1}$ is associated with high histologic grade and poor prognosis in a variety of human tumors. **Methods :** Sixty-six cases of serous epithelial ovarian tumors were investigated by immunohistochemical staining for $p27^{kip1}$, cyclin D1, and Ki-67. Clinicopathologic parameters (WHO classification, histologic grade and FIGO stage) were compared with the incidence of $p27^{kip1}$, cyclin D1 and Ki-67 protein expression in ovarian serous tumors. **Results :** Reduced expression of $p27^{kip1}$ was found more freguently in serous cystadenocarcinoma than in serous cystadenoma and borderline malignancy ($p<0.05$). The decreased expression of $p27^{kip1}$ was correlated with a high histologic grade and an advanced FIGO stage. Overexpression of cyclin D1 is associated with borderline malignancy and grade I serous cystadenocarcinoma. An inverse relationship was observed between the $p27^{kip1}$ protein and the Ki-67 labeling index within serous cystadenocarcinoma, but it was not significant. **Conclusions :** Reduced expression of $p27^{kip1}$ protein plays an important role in the biologically aggressive behavior of serous epithelial ovarian tumors and might represent a useful prognostic marker for predicting the recurrence in primary ovarian tumors.

Key Words : p27, Cyclin D1, Ovarian neoplasms, Epithelial

포유류의 세포 주기는 cyclin/cyclin-dependent kinase (CDKs) 복합체와 cyclin dependent kinase inhibitors (CDKIs)의 연합 작용에 의해 조절된다. Cyclin/CDKs 복합체는 세포주기 조절에 중요한 역할을 하며, CDKIs는 복합체의 kinase 역할을 억제함으로써 세포 주기의 이행을 차단하는 작용을 한다.[1,2] 암화 진행에 관여하는 세포 주기 조절 단백 중에서 G1기에서 S기로 이행하는 데 관여하는 단백이 중요하다. 특히 세포 증식 촉진 단백인 cyclin D1은 CDK4/6와 결합하여 Rb 항암단백을 인산화시키고, 이로 인해 Rb 항암단백과 결합하고 있던 전사 조절인자인 E2F를 유리시켜서 G1기에서 S기로 이행하도록 유도한다.[3] 따라서 이러한 세포 주기 조절 인자의 이상이 다양한 종양들의 발생과 연관이 있다는 보고가 많이 있고 현재 이에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

CDKIs는 구조와 기능적인 면에서 크게 p21을 원형으로 하는 cip/kip군과 p16을 원형으로 하는 ink4군으로 나뉜다. Cip/kip 군에는 $p21^{waf/cip1}$, $p27^{kip1}$, $p57^{kip2}$가 있고[4] ink4군에는 $p15^{ink4B}$, $p16^{ink4A}$, $p18^{ink4C}$와 $p19^{ink4D}$가 있다.[5] 특히 $p27^{kip1}$ 유전자는 12번 염색체의 단완에 위치하며, cyclin E/CDK2, cyclin D/CDK4와 cyclin A/CDK2 복합체에 결합하여 이들을 억제해서 G1기에서 S기로 이행하는 과정을 차단함으로써 세포분열을 중단시키는 기능을 한다.[6] 따라서 $p27^{kip1}$의 소실은 암 세포의 세포분열 억제 능력의 소실을 의미하며, 암의 급속한 성장과 연관이 있으리라고 생각한다.

난소 종양은 부인과 암 중에서 사망률이 가장 높은 질환으로, 그 중 상피성 난소 종양이 전체 난소 종양의 60% 이상을 차지하며, 이 중 장액성 종양이 40-50%로 높은 비중을 차지한다. 장액성 종양 중 50-70%는 양성인 장액성 낭선종(serous cystadenoma)이며, 경계영역성 장액성 낭선종(borderline malig-

nancy of serous tumor)은 5-15%를 차지하고, 20-35%는 악성인 장액성 낭선암종(serous cystadenocarcinoma)으로 구성된다.[7] 과거 30년간 진단법과 치료법이 발전했음에도 불구하고, 난소암의 5년 생존율은 호전되지 않았다. 따라서 난소 종양의 예후를 미리 추측할 수 있는 보다 객관적인 지표가 필요하게 되었고, 현재 세포 주기 조절 억제자인 $p27^{kip1}$에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 추세이다.

이에 저자는 난소의 가장 흔한 상피성 종양인 장액성 종양에서 면역조직화학 염색 방법으로 $p27^{kip1}$과 cyclin D1의 발현 정도를 각각 관찰하고 이들이 조직학적 분류에 따라 어떤 상관성이 있는지 비교해 보고자 한다. 또한 장액성 낭선암종에서 조직학적인 분화도와 임상병기별 $p27^{kip1}$과 cyclin D1의 발현 정도의 상관 관계를 비교하여 두 단백의 예후 인자로서의 가치를 알아보고자 한다. 그리고 세포 증식 표지자인 Ki-67의 조직화학염색을 병행하여 세포 증식 억제자로 알려져 있는 $p27^{kip1}$ 발현과의 연관성도 알아보고자 한다.

재료와 방법

재료

1995년부터 1999년까지 계명대학교 동산의료원에서 병리조직학적으로 진단된 난소의 장액성 종양 중에서 조직 보관 상태가 양호하며 임상 기록의 검토가 가능한 66예의 파라핀 포매 조직을 선택하였다.

임상소견 및 병리조직학적 검색

장액성 난소 종양은 WHO 분류에 의해 장액성 낭선종 10예, 경계영역성 장액성 낭선종 15예 및 장액성 낭선암종 41예로 구분하였다. 장액성 낭선암종은 다시 조직학적인 분화도에 의해 등급 I (well-differentiated)은 7예, 등급 II (moderately differentiated)는 14예, 등급 III (poorly differentiated)은 20예로 분류되었다. FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) 병기는 병기 I은 6예, 병기 II는 12예, 병기 III과 IV가 합하여 23예였다. 환자의 나이 분포는 21세부터 74세 사이로서 평균 49.7세였다.

면역조직화학 염색

파라핀 포매된 종양 조직을 5 μm 두께로 박절하여 유리 슬라이드에 부착시키고 100% xylene으로 파라핀을 제거한 후 100%, 90% 및 75%의 에탄올로 각각 5분간 3회 재함수하였다. 그리고 3% 과산화수소수로 내인성 과산화효소를 차단하고, phosphate buffered saline (PBS)로 수세하였다. 그 후 항원성 회복을 위하여 citrate 완충 용액(0.01 M, pH 6.0)에 넣고 전자오븐에서 5분간 2회 가열한 후 실온에서 냉각하였고 그 다음 PBS로 수세하였다. 일차 항체인 $p27^{kip1}$ (DAKO, U.S.A.), cyclin D1 (Novocastra, U.K.)와 polyclonal Ki-67 (DAKO, U.S.A.)을 각각 1:40, 1:30과 1:100으로 희석하여 37℃에서 2시간 동안 반응시킨 후 PBS로 수세하였다. 그 후 이차 항체인 biotinylated link antibody (DAKO, U.S.A.)를 가하여 37℃에서 30분간 둔 후 PBS로 수세하고, streptavidin biotin complex (DAKO, U.S.A.)로 37℃에서 15분간 반응시켰다. Imidazole buffer와 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) chromogen (DAKO, U.S.A.)을 1:1로 혼합하여 발색시킨 후 수세하고 Mayer's hematoxylin으로 대조염색을 실시한 후 광학현미경 하에서 관찰하였다.

$p27^{kip1}$과 cyclin D1의 면역염색의 양성 판정은 무작위로 선택한 다섯 시야의 400배 배율에서 관찰하여 핵이 분명하게 갈색으로 염색이 된 종양 세포가 전체 종양 세포의 10% 이상일 때 양성으로 판정하였다. 세포 증식 표지자인 Ki-67은 염색이 잘 된 부위에서 종양 세포 1,000개를 세어 분명한 핵내 염색을 보이는 세포를 백분율로 구하였고, 이 때 50% 이하를 저증식 지수군, 50%를 초과하는 경우를 고증식 지수군으로 나누었다.

장액성 종양의 $p27^{kip1}$과 cyclin D1의 발현 정도와 유의성을 WHO 분류에 따라서 조사하고, 장액성 낭선암을 다시 분화도 등급(I, II, III)별로, 그리고 FIGO 병기별로 $p27^{kip1}$과 cyclin D1의 발현 정도를 조사하여서 각각 통계적 유의성을 조사하였다. 난소의 장액성 종양에서 $p27^{kip1}$과 cyclin D1의 동시 발현 정도와 유의성을 알아 보았으며, 세포 증식 지수인 Ki-67의 발현과 $p27^{kip1}$의 발현의 상관관계도 조사하였다.

통계학적 분석

통계 처리는 SPSS version 7.5 (SPSS Inc.,Chicago, U.S.A.) 프로그램을 사용하였고, Chi-square test, Fisher's exact test로 p값이 0.05 미만인 경우를 유의하다고 판정하였다.

결 과

$p27^{kip1}$의 발현

$p27^{kip1}$의 발현은 장액성 낭선종 10예 중 9예(90%), 경계영역성 장액성 낭선종 15예 중 13예(86.7%), 장액성 낭선암종 41예 중 17예(41.5%)로 나타났고, 악성으로 진행할수록 $p27^{kip1}$의 발현이 감소하였으며(Table 1, Fig. 1), 이 때 통계적으로 유의하였다. 또 장액성 낭선암종 중 고분화군과 중등도 분화군의 $p27^{kip1}$ 양성 발현율이 저분화군의 것보다 높았으며(Table 1) 통계적으로 유의하였다. FIGO 병기별 $p27^{kip1}$의 발현은 병기가

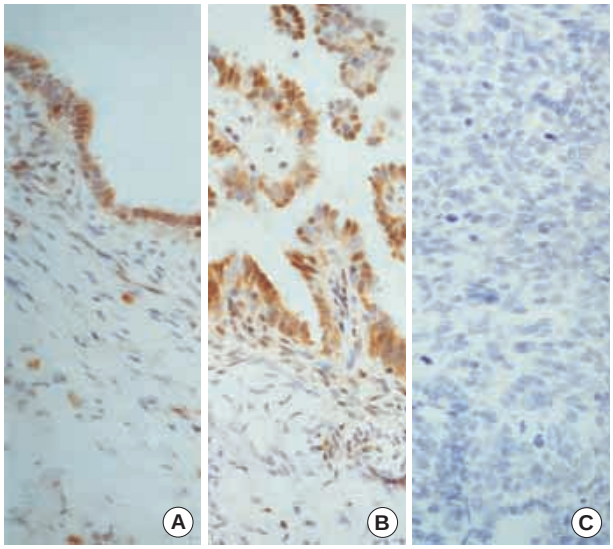

Fig. 1. The immunohistochemical stainings for $p27^{kip1}$. (A) High expression of $p27^{kip1}$ is found in the tumor nuclei of serous cystadenoma. (B) The tumor cells in the borderline malignancy of serous tumor show positive expression. (C) No expression in the serous cystadenocarcinoma is found.

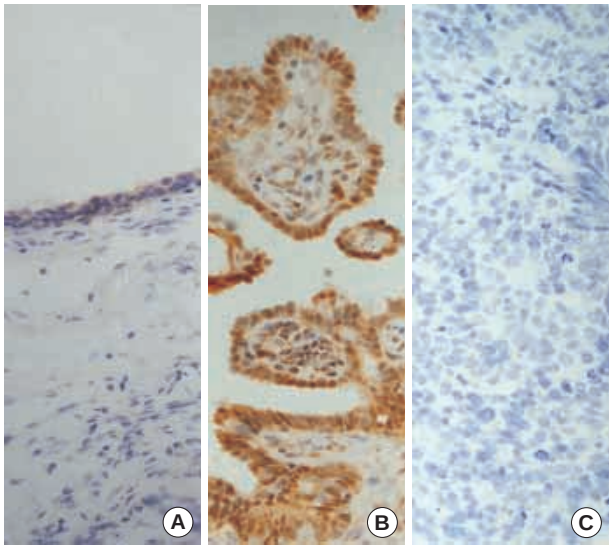

Fig. 2. The immunohistochemical stainings for cyclin D1. (A) Cyclin D1 overexpression is not found in serous cystadenoma. (B) The tumor cells in the borderline malignancy of serous tumor show positive expression. (C) No expression in serous cystadenocarcinoma is found.

Table 1. Relationship between $p27^{kip1}$ expression and pathologic parameters in serous epithelial ovarian tumors

		No. of cases	$p27^{kip1}$ expression	
			+ (%)	−
Histologic type*	Benign	10	9 (90.0)	1
	Borderline	15	13 (86.7)	2
	Malignant	41	17 (41.5)	24
Grade of serous cystadenocarcinoma	I	7	6 (85.7)	1
	II	14	8 (57.1)	6
	III	20	3 (15.0)	17
FIGO† Stage of serous cystadenocarcinoma	I	6	4 (66.7)	2
	II	12	7 (58.3)	5
	III&IV	23	6 (26.1)	17

*: p<0.05, FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics, Benign: serous cystadenoma, Borderline: borderline malignancy of serous tumor, Malignant: serous cystadenocarcinoma.

Table 2. Relationship between cyclin D1 expression and pathologic parameters in serous epithelial ovarian tumors

		No. of cases	Cyclin D1 expression	
			+ (%)	−
Histologic type*	Benign	10	3 (30.0)	7
	Borderline	15	12 (80.0)	3
	Malignant	41	17 (41.5)	24
Grade of serous cystadenocarcinoma	I	7	6 (85.7)	1
	II	14	6 (42.9)	8
	III	20	5 (25.0)	15
FIGO Stage of serous cystadenocarcinoma	I	6	5 (83.3)	1
	II	12	5 (41.7)	7
	III&IV	23	7 (30.4)	16

*: p<0.05, FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics, Benign: serous cystadenoma, Borderline: borderline malignancy of serous tumor, Malignant: serous cystadenocarcinoma.

높아질수록 감소하였고, 통계적으로 유의한 역상관 관계를 나타내었다(Table 1).

Cyclin D1의 발현

Cyclin D1의 발현은 장액성 낭선종 10예 중 3예(30.0%), 경계영역성 장액성 낭선종 15예 중 12예(80.0%)였고 장액성 낭선암종 41예 중 17예(41.5%)로 나타났다(Table 2). 또한 장액성 낭선암종의 조직학적 분화도와 FIGO 병기에 따른 cyclin D1의 발현은 분화도가 낮을수록 발현이 감소함을 확인할 수 있었다(Table 2). 특징적으로 경계영역성 장액성 낭선종과 등급 I의 분화도가 좋은 장액성 낭선암종에서 cyclin D1의 발현이 잘 되었고, 분화도가 낮을수록 cyclin D1의 발현이 잘 되지 않았다(Fig. 2).

$p27^{kip1}$과 cyclin D1 발현의 상관 관계

전체 장액성 난소 종양 66예 중에서 $p27^{kip1}$의 발현이 양성인

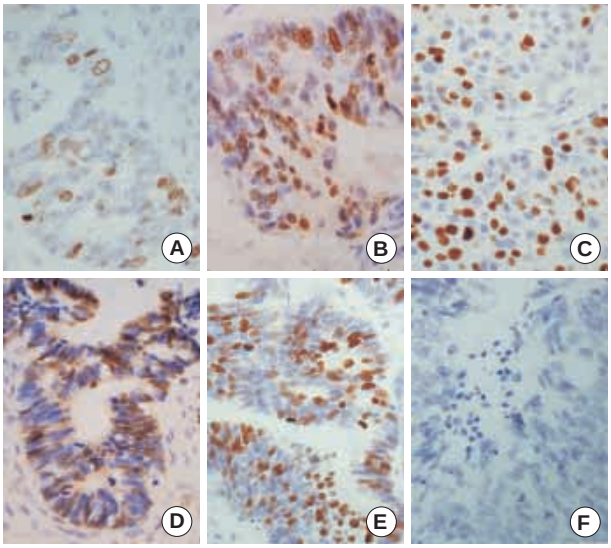

Fig. 3. The Immunohistochemical stainings for Ki-67 (A: grade I, B: grade II, C: grade III) and $p27^{kip1}$ (D: grade I, E: grade II, F: grade III) show inverse relationship in serous cystadenocarcinoma.

Table 3. Concurrent expression of $p27^{kip1}$ and cyclin D1 in serous epithelial ovarian tumors

		$p27^{kip1}$ expression	
		+ (%)	-
Cyclin D1	+	29*	3
	-	10	24

*: $p<0.05$.

Table 4. Relationship between $p27^{kip1}$ expression and Ki-67 status in serous cystadenocarcinoma

		$p27^{kip1}$ expression		p-value
		+	-	
Ki-67	LI > 50%	10	18	NS
	LI ≤ 50%	7	6	

LI: Labeling index.

경우 cyclin D1이 양성으로 발현되는 경우는 29예(43.9%)였고, 반대로 $p27^{kip1}$의 발현이 음성인 경우 cyclin D1도 음성으로 발현되는 경우는 24예(36.4%)였다(Table 3).

Ki-67과 $p27^{kip1}$ 발현의 상관 관계

장액성 낭선암종에서 세포 증식 지수인 Ki-67 염색을 시행한 결과 분화도 등급이 높아질수록 발현율은 높았고, 반면 $p27^{kip1}$은 등급이 높아질수록 발현율이 낮았다(Fig. 3). 그러나 세포 증식 지수인 Ki-67과 종양 증식 억제자인 $p27^{kip1}$의 발현을 비교해 보았을 때 통계적인 유의성은 없었다(Table 4).

고 찰

세포 주기의 조절은 cyclin과 CDK로 구성된 kinase 복합체에 의해 조절된다.[1,2] CDKIs는 cyclin 복합체의 kinase 활성화를 억제함으로써 G1기에서 S기로 이행하는 과정을 차단하여 세포 분열을 중단시키며, G1기 조절이 소실됨으로써 세포의 악성화 진행을 조장시킨다.

난소 종양은 진단 당시 75% 이상의 환자가 이미 FIGO 병기 3기 이상의 진행된 상태로 발견되며 그에 따라 사망률도 높다. 그동안 진단법과 치료법이 많이 발전했음에도 불구하고, 난소 종양의 5년 생존율은 1976년 36%에서 1990년 39%로 큰 호전이 없었다.[8] 난소 종양의 조직학적인 유형은 매우 다양하지만, 그 중 60% 이상이 장액성 상피성 종양이다.[7] 상피성 난소 종양의 생존율에 영향을 주는 인자는 진단 당시의 FIGO 병기와 수술 후 남은 종양의 유무 및 조직학적인 등급 등이 있다. 그러나 이러한 인자들만으로는 난소 종양의 생물학적인 특징을 완전히 이해하는 것은 어렵기 때문에 예후를 추측하고 인지할 수 있는 보다 객관적인 지표가 필요하게 되었고, 최근 세포주기 조절 단백질을 예후 지표로 응용하는 것에 대한 연구가 활발하다.[9-11]

$p27^{kip1}$은 198개의 아미노산으로 구성된 단백질로, 유전자는 12번 염색체의 단완(12p13)에 위치하며,[6] 인체 종양에서 ink4군의 CDKIs와는 달리 유전자 상의 돌연변이나 소실이 거의 없다고 한다. $p27^{kip1}$은 cyclin E/CDKs, cyclin D/CDK4와 cyclin A/CDK2 복합체에 결합되어 kinase 활성화를 억제함으로써 세포 주기 중 G1기에서 S기로의 진행을 차단해서 세포를 G1기에 멈추게 한다. 따라서 $p27^{kip1}$의 소실은 암 세포의 세포분열 억제 능력의 소실을 초래해서 급속한 성장을 유발시킨다고 생각된다. 많은 실험 보고에 의하면 $p27^{kip1}$ 유전자를 제거한 생쥐에서 다양한 장기가 과형성 되는 것을 확인할 수 있었고, 이를 통해 $p27^{kip1}$의 감소는 세포의 증식과 관계가 있다고 설명하였다.[12] 또한 Fero 등[13]은 $p27^{kip1}$의 감소로 인해 뇌하수체 종양이 유발되며, 난소의 여포 발달의 불균형을 초래해서 여성의 불임이 발생할 수 있다고 보고하였다. 이러한 점에서 $p27^{kip1}$의 발현이 세포 성장의 음성 조절자로서 중요한 역할을 하고 있음을 알 수 있다. $p27^{kip1}$은 CDK의 억제 외에도 다른 여러 가지 기능을 가지고 있다. 첫째, $p27^{kip1}$은 세포 주기를 조절하는 universal CDK 억제 인자로 작용하며, 둘째, 세포 증식 억제자로서 궁극적으로는 종양 억제 유전자로 작용한다.[12] 셋째, 세포자멸사의 촉진자로 작용하고,[14] 넷째, 고형성 종양의 일부에서 약물 내성을 조절하는 기능이 있다.[15] 다섯째, 근육, 희돌기세포(oligodendrocyte), 골모세포와 과립상세포(granulosa cell) 등의 조직에서 분화를 조절하는 역할을 하기도 하며,[16] 여섯째, 염증성 손상에 대해 방어 작용을 한다.[17]

인체 종양에서 여러 종양 억제 유전자의 점 돌연변이는 많이 발견할 수 있지만, $p27^{kip1}$의 유전자의 소실이나 돌연변이는 거의 발견할 수 없다. 이는 아마도 ubiquitin-proteasome pathway에 의하여 매개되는 단백 분해 기전에 의하여 후전사단계에서 $p27^{kip1}$이 조절되기 때문으로 생각한다.[18] Castaneda 등[6]은 $p27^{kip1}$ 유전자의 소실이나 점 돌연변이를 찾기 위해 147예의 인체 원발성 고형성 종양들을 대상으로 선별 검사를 시행하였으나 각 종양에 특이적인 돌연변이는 없었다. 또 $p27^{kip1}$의 발현 저하가 유방암,[9] 위암,[10] 대장암,[19] 전립선암[20]과 폐암[21] 등에서 나쁜 예후 및 높은 재발률과 연관성이 있다는 보고들이 있다. 그리고 $p27^{kip1}$ 발현이 대장암과 전립선암에서 종양의 조직학적 분화도가 낮아질수록 감소한다는 보고도 있다.[19,20]

Cyclin D1은 G1기의 진행에 필수적인 세포 주기 조절 단백이며 과발현은 암의 발생 기전에 관여한다.[1,2] 본 연구에서는 cyclin D1이 특징적으로 경계영역성 장액성 낭선종과 조직학적 분화도가 좋은 장액성 낭선암종에서 발현이 잘 된 데 반하여, 조직학적인 분화도가 나쁜 장액성 낭선암종에서는 cyclin D1의 발현이 거의 없었다. 이는 Worlsey 등[22]의 연구와 동일한 결과였다. 즉 cyclin D1의 발현이 경계영역성 낭선종과 조직학적 분화가 좋은 낭선암종에서 증가되는 것은 난소의 상피성 종양의 발생 과정에서 cyclin D1 발현의 조절붕괴(deregulation)가 시기적으로 초기에 일어난다는 점이다. Cyclin D1의 발현이 장액성 낭선암종에서 조직학적 등급이 높을수록 감소하는 이유는 아직 정확하게 알려져 있지는 않지만, 난소 종양의 암화 과정에 많은 다양한 경로들이 존재하기 때문으로 생각한다. 현재 난소 종양과 관련된 많은 세포 주기 단백이 알려져 있으나, 정확한 상호 작용은 아직 연구 중에 있다.

대부분의 난소 종양은 세포의 증식과 분화에 관여하는 다양한 종양유전자 및 종양 억제 유전자와 관련 있고, CDKIs 역시 난소 종양과 관련이 있다.[23] 본 연구에서는 난소의 장액성 종양에서 $p27^{kip1}$과 cyclin D1의 발현 정도와 병리학적인 예후 인자인 등급 및 FIGO 병기와의 관계를 면역조직화학 염색을 통해 조사하였다. $p27^{kip1}$ 발현의 판정은 보고된 논문마다 다른 방법을 사용했다. Porter 등[24]은 염색 강도와 영역에 따라 6단계로 구분하여 0-1을 저발현군, 2-6을 고발현군으로 구분하여 발표하였고, Catzavelos 등[9]은 염색된 종양 세포가 전체의 50% 이하일 때를 저발현군, 50%를 초과하는 경우를 고발현군으로 구분하여 보고하였다. Sui 등[25]은 10%를 기준으로 양성과 음성으로 양분하여 연구했으며 본 연구에서도 10%를 기준으로 하였다. $p27^{kip1}$이 핵내에 갈색으로 염색될 때 양성으로 판정하였고, 비특이적으로 세포질에 염색이 되는 경우는 양성으로 분류하지 않았다. 난소 종양에서 세포질 내 염색을 다른 종양에서보다 빈번히 볼 수 있는데, Soucek 등[26]에 의하면 tuberin 등의 종양 억제 유전자의 소실로 인해 $p27^{kip1}$이 불활성화 되기 때문이라고 주장했고, Tomoda 등[27]은 세포질 내 전사 조절인자인 Jab1의 결함으로 인해 $p27^{kip1}$이 불활성화 된다고 했지만 기전이 아직 정확하게 알려져 있지는 않다. $p27^{kip1}$의 발현은 양성 장액성 낭선종과 경계영역성 장액성 낭선종에서는 발현율이 높았으나, 장액성 낭선암종으로 진행된 경우에서는 발현율이 저하되었다. 또한 조직학적 분화도가 낮아지고, FIGO 병기가 진행될수록 $p27^{kip1}$의 발현이 감소하였고, 이는 Masciullo 등[23]과 Sui 등[25]이 보고한 결과와 동일하였다. $p27^{kip1}$의 발현과 다른 여러 분자생물학적인 예후 인자들과의 연관성은 현재까지도 지속적으로 연구중이다. Cyclin D1은 양성인 장액성 낭선종에서는 발현되지 않았으나, 경계영역성 장액성 낭선종과 분화도가 좋은 장액성 낭선암종에서는 발현율이 높았고, 중등도 및 저분화도의 장액성 낭선암종에서는 거의 발현되지 않았다. Cyclin D1은 장액성 낭선암종의 등급과 FIGO 병기가 악성화로 진행할수록 발현이 잘 되지 않았다. Han 등[28]은 cyclin D1의 발현이 세포의 증식을 억제하며, 나아가 세포 분화 및 세포자멸사를 강화시키며 과발현을 초래한다고 보고하였다. 즉 $p27^{kip1}$과 cyclin D1의 관계는 $p27^{kip1}$의 발현이 높은 경우 종양 세포가 cyclin D1을 과량 생산하여 $p27^{kip1}$의 역할을 상쇄함으로써 상호 조절 작용을 한다고 설명할 수 있다.[10,25] 본 연구에서도 $p27^{kip1}$의 발현이 높은 경우 cyclin D1이 잘 발현하였다. $p27^{kip1}$이 반대 역할을 하는 cyclin D1과 비례하여 발현하는 점으로 미루어 보아 이 두 가지 신호의 절대적인 수준보다는 둘 사이의 균형이 세포 증식을 결정하는 주요 인자로 작용한다고 생각된다. 또한 세포 증식 지표로 사용되는 Ki-67의 발현 조사를 병행함으로써 세포 증식 억제자인 $p27^{kip1}$과의 상호 연관성을 관찰하고자 하였는데, Nakazumi 등[29]이 $p27^{kip1}$과 Ki-67 사이에는 유의한 역상관 관계를 형성하며, 이를 기초로 이 두 지표를 악성과 양성 종양을 구별하는 지표로 사용할 수 있다고 발표했다. 그러나 본 연구에서는 Palmqvist 등[11]의 결과와 마찬가지로 $p27^{kip1}$과 Ki-67 사이에 통계적 유의성이 없었다. 만약 $p27^{kip1}$이 세포 증식 억제자로의 단순한 기능만 있다면 이론적으로는 역상관 관계가 이루어져야 하겠지만, $p27^{kip1}$이 증식 억제 외에도 여러 가지 다양한 기능을 가지고 있기 때문에 통계적인 유의성이 없었던 것으로 생각한다. 따라서 $p27^{kip1}$과 Ki-67과의 비연관성에 대해서는 좀 더 많은 증례를 대상으로 한 보다 세분화된 연구가 시행되어야 할 것으로 생각한다.

Steeg와 Abram[30]은 $p27^{kip1}$이 병리학적인 예후 기준보다 더 나은 독립적인 정보를 제공할 수 있으며, 치료 방법의 변경에 대한 정보도 제공할 수 있고, 무엇보다도 이 지표에 대한 연구가 재현성이 있다는 점에서 $p27^{kip1}$의 통상적인 임상 사용을 주장했다. 본 연구에서 환자의 예후를 반영할 수 있는 조직학적인 등급 및 FIGO 병기와 $p27^{kip1}$의 발현은 통계학적으로 의미 있는 관계가 있었다. 이를 통해서 $p27^{kip1}$의 발현율이 높을수록 보다 예후가 좋은 것과 연관성이 있고, $p27^{kip1}$의 발현율이 낮을수록 예후가 나쁘다는 것을 간접적으로 알 수 있다.

본 연구를 통해 세포 주기 조절 억제자인 $p27^{kip1}$은 종양 증식 억제자의 기능이 있어 종양의 예후를 간접적으로 알 수 있는 지

표로 사용될 수 있을 것으로 생각한다. 또한 $p27^{kip1}$이 단순히 종양 증식 억제자로서의 기능뿐 아니라, 다른 여러 가지 기능을 함께 가짐으로써 세포 증식 표지자인 Ki-67 발현과 이론적인 역상관 관계를 형성하지 않음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Sherr CJ. Cancer cell cycles. Science 1996; 274: 1672-7.
2. Morgan DO. Principles of CDK regulation. Nature 1995; 374: 131-4.
3. Adams PD, Kaelin WG. Transcriptional control by E2F. Semin Cancer Biol 1995; 6: 99-108.
4. Nobori T, Miura K, Wu DJ, Lois A, Takabayashi K, Carson D. Deletions of the cyclin-dependent kinase-4 inhibitor gene in multiple human cancers. Nature 1994; 368: 753-6.
5. Hirai H, Roussel MF, Kato J, Ashmun RA, Sherr CJ. Novel INK4 proteins, p19 and p18, are specific inhibitors of the cyclin D-dependent kinases CDK4 and CDK6. Mol Cell Biol 1995; 15: 2672-81.
6. Castaneda MV, Lee MH, Latres E, *et al.* $p27^{kip1}$: chromosomal mapping to 12p12-12p13.1 and absence of mutations in human tumors. Cancer Res 1995; 55: 1211-4.
7. Kurman RJ. Pathology of the female genital tract. In: Russel P. Surface epithelial-stromal tumors of the ovary. 4th ed. London: Springer-Verlag, 1994; 705-23.
8. Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA: Cancer statics. CA cancer J Clin 1996; 46: 5-27.
9. Catzavelos C, Bhattacharya N, Ung UC, *et al.* Decreased levels of the cell-cycle inhibitor $p27^{kip1}$ protein: prognostic implications in primary breast cancer. Nature Med 1997; 3: 227-30.
10. Mori M, Mimori L, Shiraishi T, *et al.* p27 expression and gastric carcinoma. Nature Med 1997; 3: 593-7.
11. Palmqvist R, Stenling R, Oberg Å, Landberg G. Prognostic significance of p27 expression in colorectal cancer. A clinico-pathologic characterization. J Pathol 1999; 188: 18-23.
12. Nakayama K, Ishida N, Shirane M, *et al.* Mice lacking $p27^{kip1}$ display increased body size, multiple organ hyperplasia, retinal dysplasia, and pituitary tumors. Cell 1996; 85: 707-20.
13. Fero ML, Rivkin M, Tasch M, *et al.* A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumor genesis and female sterility in $p27^{kip1}$-deficient mice. Cell 1996; 85: 733-44.
14. Katayose Y, Kim M, Rakkar ANS, Li Z, Cowan KH, Seth P. Promoting apoptosis: a novel activity associated with the cyclin-dependent kinase inhibitor p27. Cancer Res 1997; 57: 5441-5.
15. St Croix B, Florenes VA, Fak JW, *et al.* Impact of the cyclin-dependent kinase inhibitor $p27^{kip1}$ on resistance of tumor cells to anticancer agents. Nature Med 1996; 2: 1204-10.
16. Lloyd RV, Erickson LA, Jin L, *et al.* $p27^{kip1}$: A multifuctional cyclin-dependent kinase inhibitor with prognostic significance in human cancers. Am J Pathol 1999; 154: 313-23.
17. Ophascharoensuk V, Fero ML, Hughes J, Roberts JM, Shankland SJ. The cyclin-dependent kinase inhibitor, $p27^{kip1}$ safeguards against inflammatory injury. Nature Med 1998; 4: 575-80.
18. Pagano M, Tam SW, Theodoras AM, *et al.* Role of the ubiquitin-proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27. Science 1995; 269: 682-5.
19. Lee HI, Kim DH, Nam ES, *et al.* Expression of $p27^{kip1}$ protein in colorectal adenocarcinoma. Korean J Pathol 2000; 34: 132-7.
20. Kim KK, Kim JR. Expression of $p27^{kip1}$ protein in carcinoma of the urinary bladder. Korean J Pathol 2000; 34: 341-8.
21. Kawana H, Tamaru J, Tanaka T, *et al.* Role of $p27^{kip1}$ and cyclin-dependent kinase 2 in the proliferation of non-small cell lung cancer. Am J Pathol 1998; 153: 503-13.
22. Worsley SD, Ponder BAJ, Davies BR. Overexpression of cyclin D1 in epithelial ovarian cancers. Gynecol Oncol 1997; 64: 189-95.
23. Masciullo V, Sgambato A, Pacilio C, *et al.* Frequent loss of expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in epithelial ovarian cancers. Cancer Res 1999; 59: 3790-4.
24. Porter PL, Malone KE, Heagerty PJ, *et al.* Expression of cell-cycle regulator $p27^{kip1}$ and cyclin E, alone and in combination, correlate with survival in young breast cancer patients. Nature Med 1997; 3: 222-5.
25. Sui L, Tokuda M, Ohno M, Hando T. The concurrent expression of $p27^{kip1}$ and cyclin D1 in epithelial ovarian tumors. Gynecol Oncol 1999; 73: 202-9.
26. Soucek T, Yeung RS, Hengstschlager M. Inactivation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 upon loss of the tuberous sclerosis complex gene-2. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 15653-8.
27. Tomoda K, Kubota Y, Kato J. Degradation of the cyclin-dependent kinase inhibitor $p27^{kip1}$ is instigated by Jab 1. Nature 1999; 398: 160-5.
28. Han EK, Begeann M, Sagambato A, *et al.* Increased expression of cyclin D1 in a murine mammary epithelial cell line induces $p27^{kip1}$, inhibits growth, and enhances apoptosis. Cell Growth Differ 1996; 7: 699-710.
29. Nakazumi H, Sasano H, Iino K. Expression of cell cyclin inhibitor p27 and Ki-67 in human adrenocortical neoplasms. Mod Pathol 1998; 11: 1165-70.
30. Steeg PS, Abram JS. Cancer prognostics: post, present, and p27. Nature Med 1997; 3: 152-4.