대한병리학회지 1999; 33: 179~186

다발성 골수종과 비종양성 형질세포에서의 bcl-2 및 p53 단백의 발현

-예후와의 연관성에 관한 연구-

계명대학교 의과대학 병리학교실 및 [1]의과학연구소

강유나 · 박관규 · 권건영 · 이상숙 · 장은숙 · 이영재[1]

bcl-2 and p53 Protein Expression in Multiple Myeloma and Non-tumorous Plasma Cells

-A study related to survival-

Yu Na Kang, Kwan Kyu Park, Kun Young Kwon, Sang Sook Lee, Eun Sook Chang, and Young Jae Lee[1]

Department of Pathology and [1]Institute for Medical Science, College of Medicine, Keimyung University, Taegu 700-310, Korea

The gene product of bcl-2 (B-cell leukemia/lymphoma-2) was suggested to suppress programmed cell death (apoptosis) of tumor cells and be involved in the development of multiple myeloma. However, the normal plasma cells also express the protein. It is unclear whether the expression of bcl-2 in multiple myeloma is of normal character or of regulatory adaptation in association with neoplastic transformation. p53 was also suggested to be involved in tumor progression since mutations on p53 were found in multiple myeloma. In order to find the relationship between the expression patterns of bcl-2 and p53 in tumor cells of multiple myeloma and non-neoplastic plasma cells, we examined 38 cases of multiple myeloma and 10 cases of nasal polyp immunohistochemically. Furthermore, expression of bcl-2 and p53, mitosis, clinical stage and infiltrative pattern of tumor cells in bone marrow were also evaluated in association with the survival of patients. By immunostaining with anti-bcl-2 and p53 monoclonal antibody, 37 out of 38 cases of multiple myeloma and all of 10 cases of nasal polyp were positive for bcl-2 but only 7 cases of multiple myeloma were positive for p53. Marked dysplasia, low percentage of bcl-2 expression, and increased mitoses were correlated with poor prognosis. Based on these observations, we suggest that bcl-2 and p53 are involved in tumorigenesis of multiple myeloma and the survival of patients would be influenced by dysplastic change, mitosis and degree of bcl-2 expression. **(Korean J Pathol 1999; 33: 179~186)**

Key Words: Multiple myeloma, bcl-2, p53, Survival

서 론

다발성 골수종은 형질세포의 악성 종양으로, 단일 클론성 면역 글로블린의 생산, 뼈의 통증, 골절 및 고칼슘혈증, 빈혈, 출혈 등과 함께 파종성 골수 침범을 특징으로 하는 질환이다.[1] 임상 소견이나 혈청내 단일 클론성 면역 글로블린을 확인하는 이외에 골수 생검에서 조직학적 소견만으로는 형질세포의 반응성 증식성 병변인지, 혹은 종양성 증식인지의 감별에 어려움이 있을 때도 있으나 지금까지 세포 형태에 따라 진단하고 또 예후를 추정하고자 하는 노력이 계속되어 왔다. 1994년 Sukpanichnant 등[1]은 골수 생검에서 관찰되는 종양 세포의 형태 즉, 이형성의 정도에 따라 고, 중, 저분화로 나누었고,[2~6] 형질세포의 분화도에 따라 예후가 달라진다는 결

접 수: 1998년 10월 9일, 게재승인: 1999년 1월 20일
주 소: 대구광역시 중구 동산동 194번지, 우편번호 700-310
계명대학교 의과대학 병리학교실, 강유나
E-mail: yunina@taegu.net
ISSN : 0379-1149
*이 연구는 계명대학교 대학원 학생 학술연구장학금으로 이루어졌음.

과를 보고하였다.[7~9]

다발성 골수종에서 지금까지 밝혀진 명료한 발병 원인이나 뚜렷한 예후 인자는 없지만 많은 분자 병리학적 연구를 통해 N-ras, K-ras,[10~15] c-myc,[14~21] bcl-2[14,17,18,22~26] 등의 종양 단백과 p53,[11,14,15,18,27,28] Rb[14,27] 등의 종양 억제 유전자의 돌연변이 등이 다발성 골수종의 다단계 암발생 과정에 관여하는 것으로 알려지고 있다. 그 중에서 bcl-2 유전자는 1984년 여포성 B세포 림프종에서 14번 염색체와 18번 염색체의 전위와 함께 처음으로 밝혀졌다.[29] bcl-2 유전자의 산물인 bcl-2 단백은 세포내 미토콘드리아의 내막에 위치하며 계획된 세포사를 억제함으로써 세포의 수명을 연장시켜 종양 발생에 관여할 것으로 생각된다.[30] 1991년 Hamilton[23]은 정상 형질세포, 다발성 골수종, 형질세포주에서 bcl-2 단백이 발현된다고 보고했다. 또 1994년 Jonathan[31]은 bcl-2 단백의 발현 정도에 따라 양성과 악성의 형질세포의 분화 정도를 짐작할 수 있다고 하였다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하는 종양 억제 유전자로서 bcl-2 유전자의 기능 조절에 관여하고 있다고 알려져 있다.[32] 즉, wild type p53은 bcl-2의 감소를 초래하고 세포사를 증가시키며, 변이형 p53 유전자는 bcl-2의 조절 능력을 가지고 있어 세포의 수명 연장과 종양 세포의 지속적 생존에 중요한 역할을 함으로써 여러 종양의 발생과 분화에 관여하고 있다. 1992년 Portier 등,[11] 1994년 Corradini 등,[27] 그리고 1995년 Yasuga[15]는 암억제 유전자 p53 돌연변이는 다발성 골수종 환자의 10~20% 정도에서 보통 말기 또는 백혈병기에서 관찰된다고 하였다.

이런 이론적 배경을 근거로 저자들은 다발성 골수종과 정상 형질세포의 bcl-2와 p53 단백 발현 양상을 비교하여 다발성 골수종 발생 단계에 관계하는지의 여부를 알아보고자 다발성 골수종으로 진단된 38예의 골수 생검 조직과 비강의 용종으로 진단된 10예의 대조군을 선정하여 형질세포의 이형성의 정도에 따라 저, 중, 고도로 분류하고, 다발성 골수종의 형질세포와 정상 형질세포를 비교하여 bcl-2와 p53 단백 발현 정도를 조사하였다. 또 예후와의 연관성을 알고자 유사분열 수, 임상적 병기, 골수 침범 형태 등을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

1991년부터 1997년까지 다발성 골수종으로 진단된 파라핀 포매 골수 조직 38예를 연구 대상으로 하였다. 그리고 만성 염증의 소견을 보이는 비강의 용종으로 진단된 파라핀 포매조직 10예를 대조군으로 하였다.

2. 방 법

1) 다발성 골수종의 진단의 확진: 다양한 임상적 자료는 다발성 골수종으로 진단된 환자의 차트와 결과지의 재검토를 통해 분석하였다. 즉, 환자의 발병 당시의 나이, 성별, 임상 증상, 병적 골절 유무, 혈중 및 골수 형질세포의 빈도, 혈중 및 뇨중 단클론 단백의 분석, 혈중 및 뇨중 M 단백의 유무, 헤모글로빈치, 혈중 칼슘치, 골융해성 병변의 유무와 위치, 뇨중 Bence Jones 단백의 유무 등을 조사하였다. 또한 임상적으로 다발성 골수종으로 진단된 38예의 파라핀 포매조직으로 단일 클론성 종양의 검정을 위해 kappa, lambda light chain, IgG/A/M/E 염색을 시행하였고, 그리고 림프종을 배제하기 위하여 LCA, T/B cell 염색을 함께 실시하였다.

2) 다발성 골수종 종양세포의 이형성 정도의 분류: 세포 소견상 이형성은 정상 형질세포와 다르게 세포 및 핵의 크기가 다양하고 핵이 편측성을 유지하지 않고, 핵/세포질 비율이 크며, 응집된 염색질과 크고 뚜렷한 핵소체를 가지는 변화를 말한다. 다발성 골수종의 조직학적 이형성 정도는 이형성 세포의 수가 전체 종양 세포의 10% 미만이고 나머지 대부분은 정상 형질세포와 닮은 모양을 하고 유사분열이 전혀 관찰되지 않으면 저도의 이형성(no/minimal dysplasia), 이형성 세포가 전체 종양 세포에서 10% 이상 50% 이하를 차지하고 10개의 고배율 시야에서 한 개 이상 5개 미만의 유사분열이 관찰될 때는 중등도의 이형성(moderate dysplasia), 그리고 이형성 세포가 전체 종양 세포의 50% 이상을 차지하고 10개 고배율 시야에서 5개 이상의 유사분열이 관찰될 때를 고도의 이형성(marked dysplasia)으로 분류하였다.[1]

3) bcl-2와 p53 단백질에 대한 면역조직화학 염색: 총 38예의 파라핀 포매된 조직을 4 μm 두께로 조직 절편을 만들어 통상의 방법에 따라 탈 파라핀 한 후 탈수시켰다. 내재성 과산화수소의 활성을 억제하기 위해 3% 과산화수소에 실온에서 20분간 처리한 후 phosphate 완충액 (pH 7.2)에 3회 세척하였다. 그 후 citrate buffer (10 mM, pH 6.0)에 10분간 microwave로 가열 처리한 후 phosphate 완충액으로 또 다시 세척하였다. 일차항체인 bcl-2 (DAKO, U.S.A.)를 1 : 100으로 희석한 용액을 37°C 항온기에서 1~2시간 동안 반응시킨 후 phosphate 완충액으로 세척하였다. 그 다음 제 2차 항체인 biotinylated anti-mouse immunoglobulin (DAKO, U.S.A.)을 조직절편에 가해 실온에서 15분간 반응시키고 phosphate 완충액으로 세척하였다. Streptavidin peroxidase (DAKO, U.S.A.)를 가해 실온에서 15분간 반응시키고 다시 phosphate 완충액으로 세척하였다. 그 후 DAB (3,3'-diaminobenzidine)을 조직절편에 가하고 현미경하에서 염색 여부를 판단한 다음 증류수로 세척하고 Mayer's hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. 같은 방법으로 p53 단클론항체 (DO7, Novocastra, U.K.)의 면역 염색을 시행하였다.

4) 면역조직화학 염색 결과의 판정: bcl-2와 p53 염색된 세포의 수를 판정함에 있어서 임의로 정한 10군데 400배 고배율 현미경 시야에서 양성으로 인지되는 세포의 수를 세어 평균한 백분율로 표시하였다. bcl-2 염색

은 세포질내 염색을, p53 염색은 핵내 염색을 양성으로 인지하였다.

5) 통계학적 분석: 다발성 골수종의 형질세포의 이형성 정도와, bcl-2 단백 발현 및 p53 단백 발현의 관계 분석은 카이제곱 검정(Chi-square test) 방법을 사용하였고, 유의수준은 $p<0.05$로 하였다. 또한 예후 관계분석은 진단 이후 추적 관찰된 생존 개월 수를 조사하였고, 이형성 정도, bcl-2와 p53 단백 발현정도, 골수 침범 양상, 유사분열 수, 그리고 병기 등 각각 변수에 대해 Kaplan-Meier 생존 곡선을 그려 비교 분석하였다. 유의수준은 $p<0.05$로 하였다.

결 과

다발성 골수종으로 진단된 38예의 환자는 44세에서 87세의 분포를 보이고 평균 58.9세였다. 남자 21명, 여자 17명이었다. 진단 이후 추적 관찰이 되지 않았던 4예는 예후 관계분석에서 제외하였다. 31예에서 시행한 kappa 및 lambda light chain 결과 kappa 단일 클론 종양이 15예, lambda 단일 클론 종양이 16예였다.

1. 이형성 정도와 예후와의 관계

다발성 골수종의 종양 세포의 이형성(dysplasia) 정도에 따라 저도 (none-10%), 중등도 (10~50%), 고도 (50% 이상)로 나누어 보면 (Fig. 1~3), 저도의 이형성 변화는 38예 중 17예, 중등도의 이형성 변화는 5예, 나머지 16예는 고도의 이형성 변화를 보였다. 예후 추적이 가능했던 34예 중 이들 각각의 집단에서의 경과를 관찰한 결과, 저도의 이형성을 보일수록 예후가 좋고 고도의 이형성을 보일수록 예후가 보다 나쁜 결과를 얻었다. 이는

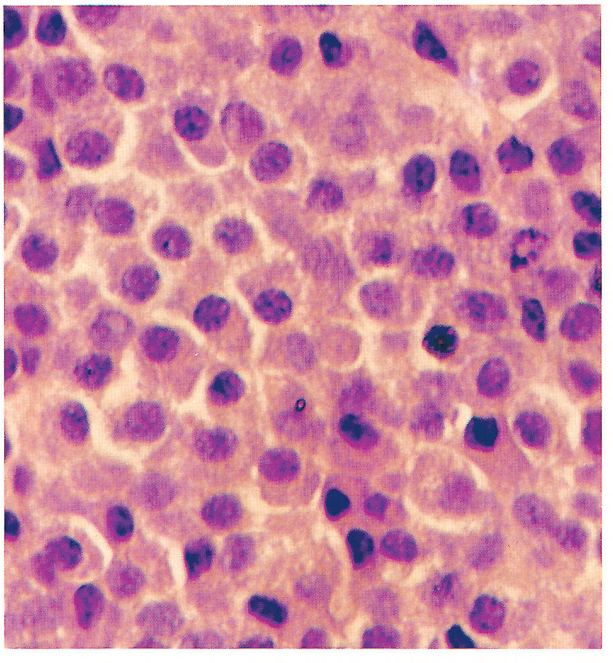

Fig. 2. Moderate dysplasia. Tumor cells show many dysplastic cells with distinct nucleoli but no mitosis.

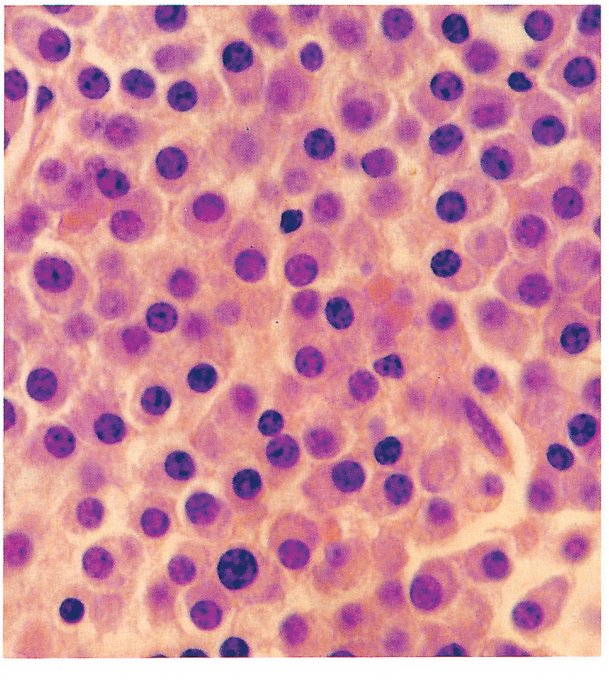

Fig. 1. Mild dysplasia. Tumor cells show increased nuclear to cytoplasmic ratio, dispersed nuclear chromatin and mild hyperchromatism.

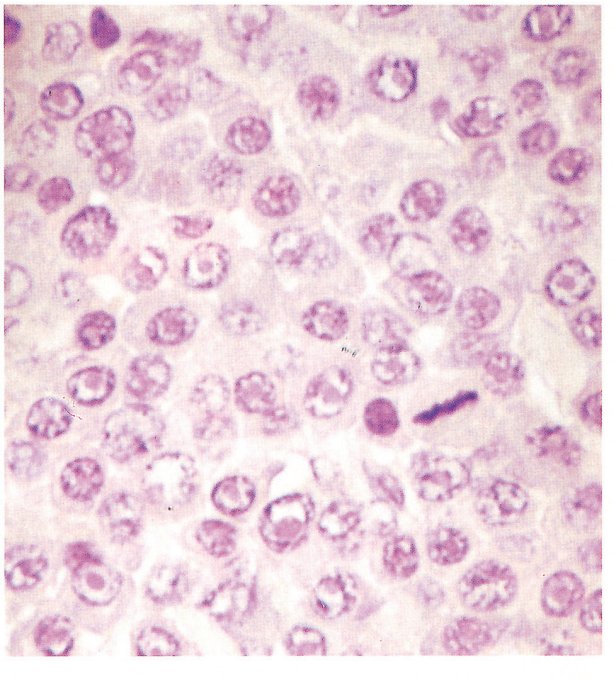

Fig. 3. Marked dysplasia. Almost all tumor cells are dysplastic plasma cells with a high nuclear to cytoplasmic ratio, dispersed nuclear chromatin, and large nucleoli. Mitoses are also seen.

통계학적 유의성이 있었다 (Log Rank test p=0.005) (Fig. 4).

2. bcl-2 단백 발현과 예후와의 관계

bcl-2 단백의 면역조직화학 염색 결과, 만성 염증 소견을 보이는 비강의 용종 10예 모두와 다발성 골수종의 38예 중 37예 (97%)에서 bcl-2 단백이 발현되었다 (Fig. 5). bcl-2 단백이 발현되는 모든 예에서 bcl-2 염색 양성 세포 수는 전체 종양 세포의 5%에서 95% 정도로 다양하였다. 이들 각각의 분포를 살펴보면, 25% 미만인 경우 3예, 25% 이상 50% 미만인 경우 4예, 50% 이상 75% 미만인 경우 10예, 75% 이상인 경우가 17예였다. 이들 bcl-2 단백이 발현되는 세포수와 종양 세포의 이형성 정도와는 상관관계가 없었다 (p=0.463). 또, 다발성 골수종에서 종양 세포의 bcl-2 단백 발현이 낮은 집단의 예후는 좋지 않았고, 반대로 bcl-2 단백 발현이 높은 집단의 예후는 전반적으로 좋았다. 이는 통계학적 유의성이 있었다 (Bleslow test p=0.04) (Fig. 6).

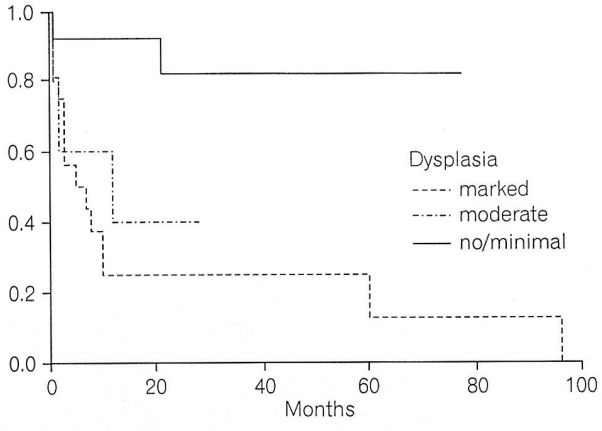

Fig. 4. The relationship between grade of dysplasia and survival. Higher degree of dysplasia is correlated with shorter survival.

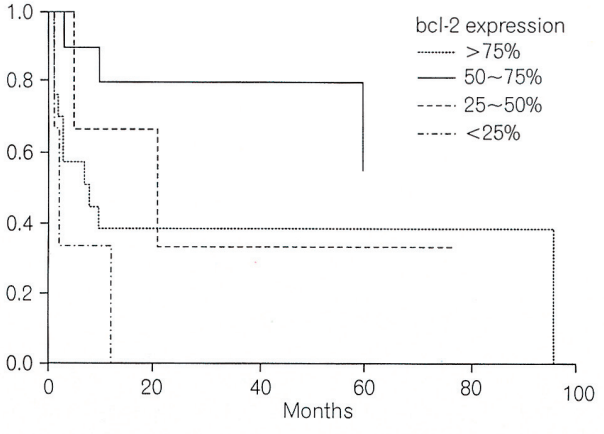

Fig. 6. The relationship between positivity for bcl-2 and survival. Lower degree of bcl-2 expression is correlated with shorter survival.

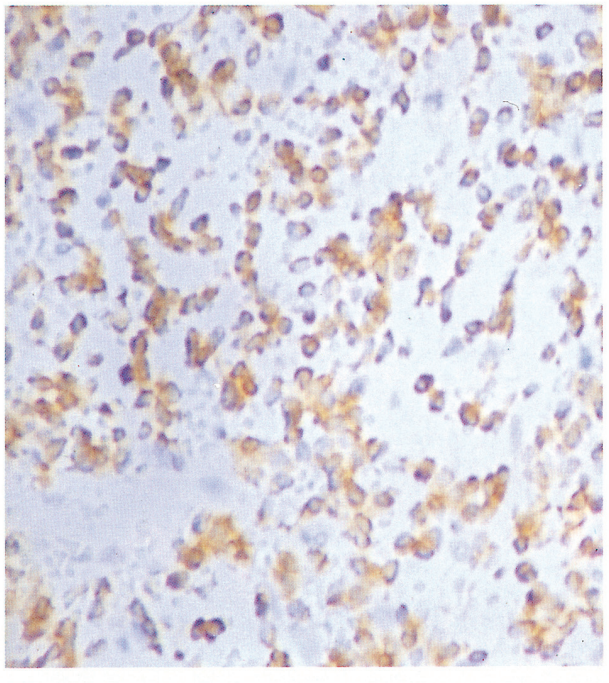

Fig. 5. In mild dysplasia, nearly all of tumor cells are diffusely positive for bcl-2 immunostaining.

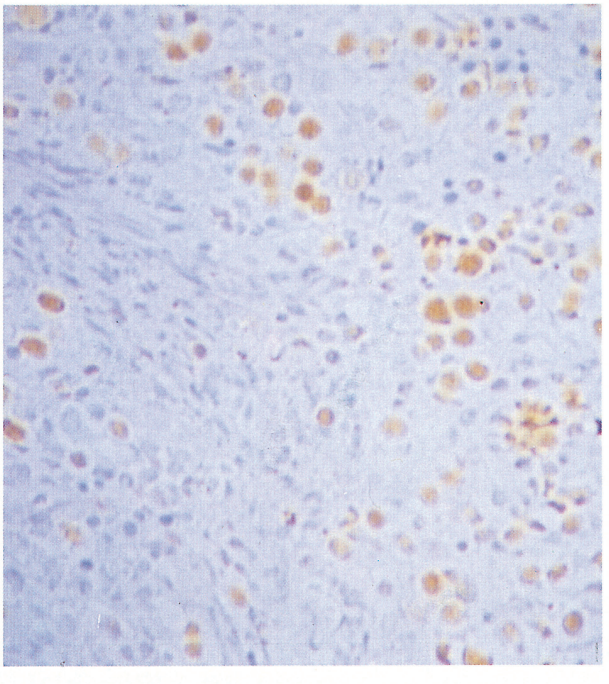

Fig. 7. In marked dysplasia, nearly half of tumor cells are positive for p53 immunostaining in the nuclei.

3. p53 단백의 발현과 예후와의 관계

p53 단백은 만성 염증 조직의 형질세포에서는 단 한 예에서도 발현되지 않았다. 다발성 골수종의 종양 세포에서는 발현되지 않거나, 발현되는 7예 (18.4%)에서는 종양 세포의 5%에서 60%까지의 다양한 정도의 발현을 보였다 (Fig. 7). 그 중 4예는 고도의 이형성을 보이는 종양에서 발현되었다. 그러나 상관 분석을 한 결과, 다발성 골수종의 종양 세포의 이형성 정도와 p53 단백 발현과는 연관이 없었다 (p=0.411). 또한, 다발성 골수종의 종양 세포의 p53 단백 발현이 있는 집단에서는 p53 단백 발현이 없는 집단과 비교할 때 예후가 더 좋지 않은 경향을 보이나 통계학적 유의성은 없었다 (Log Rank test p=0.439).

4. 골수 침범 양상과 예후와의 관계

골수 조직 생검이 없거나 부적절한 검체 6예를 제외한 32예에서 다발성 골수종의 골수 침범 양상을 조사하였다. 국소적 결절성, 침윤성, 혼합성 그리고 미만성으로 구분하였고, 각각 3예, 14예, 2예, 13예였다. 각각의 항목별 사망자 수는 1예, 7예, 1예, 7예로 이들 집단과 예후간의 통계학적 유의성은 없었다 (Bleslow test p=0.747).

5. 유사분열 수와 예후와의 관계

다발성 골수종의 종양 세포에서 유사분열이 10개의 고배율 시야에서 관찰되지 않는 경우 17예 중 6예가 사망하였고, 하나 이상 다섯개 미만으로 관찰되는 경우 5예 중 1예가 사망하였으며, 다섯 이상 관찰되는 경우 16예 중 12예가 사망하였다. 유사분열 수가 많을수록 예후가 좋지 않았고 이는 통계학적 유의성이 있었다 (Log Rank test p=0.006) (Fig. 8).

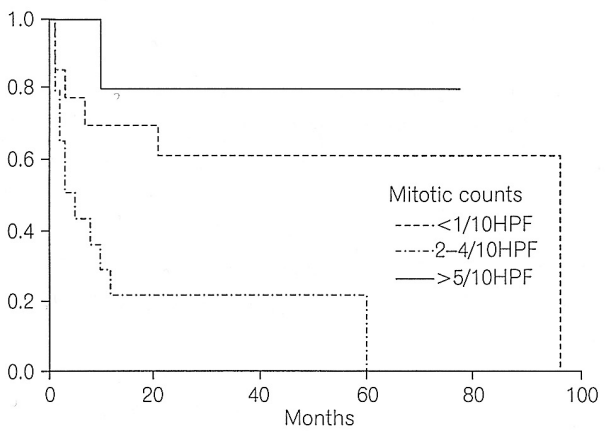

Fig. 8. The relationship between the number of mitosis and survival. Higher mitotic counts are well correlated with shorter survival.

6. 임상적 병기와 예후와의 관계

임상적 병기는 1975년 Brian 등[33]이 제시한 혈중 혈색소치, 혈중 칼슘치, 골 융해성 병변의 유무, M 단백질의 정도에 따른 임상적 병기 책정 기준을 이용하였다. 제 1병기에 해당하는 3예 중 2예가 사망한 반면, 제 2병기에 해당하는 2예는 모두 생존하였고, 또 제 3병기에 해당하는 나머지 33예 중 17명이 사망하였다. 이는 통계학적 유의성이 없었다 (Log Rank test p=0.323). 임상적 병기에 해당하는 항목별 개체 분포도가 고르지 않고 편중되어 있었을 뿐만 아니라 종양 세포의 양을 감안하지 않은 점이 통계적 의의를 가지지 못한 원인이 되었을 것으로 생각된다.

고 찰

bcl-2 (B-cell leukemia/lymphoma-2) 유전자는 18번 염색체의 장완에 위치하는 유전자로서, 종양 세포의 계획된 세포사(apoptosis)를 억제하고 세포의 수명을 연장시켜 종양 발생에 관여할 것으로 알려져 있다.[34] 다발성 골수종에서 면역 조직학적으로 bcl-2 단백 발현의 증거가 지금까지 많이 밝혀져 오고 있다. 1991년 Hamilton[23]은 정상 형질세포 뿐만 아니라, 다발성 골수종의 악성 형질세포와 골수종 세포주에서도 bcl-2 단백의 발현이 관찰된다고 하였다. 그후 1992년 Pettersson 등[35]은 인간의 다발성 골수종 세포주와 정상 골수와 림프절의 형질세포에서 bcl-2 단백이 발현됨을 밝혔다. 또 1995년 Sangfelt[36]는 63명의 다발성 골수종을 가진 환자의 골수 조직을 이용한 면역조직화학 염색에서 환자의 43%에서 bcl-2 단백이 발현됨을 관찰하였다. Ong 등[26]은 다발성 골수종 환자에서 상당수가 (median 91%, range 74~100%) bcl-2 단백 발현을 보였다고 하였다. 지금까지 문헌을 통해 살펴보면 많은 예의 다발성 골수종에서 bcl-2 단백 과발현이 특징적으로 수반되어 다발성 골수종 발생의 독특한 기전을 시사한다. 본 연구에서도 10예의 만성 염증 조직의 형질세포 모두와 다발성 골수종으로 진단된 38예 중 37예 (97%)에서 bcl-2 단백이 발현되었고, 또 발현되는 세포의 수도 종양세포 전체의 5%에서 95%에 이르기까지 다양하게 발현되었다.

1992년 Jernberg[17]와 Ladanyi 등[22]은 다발성 골수종의 bcl-2 단백 발현의 기전으로 bcl-2 전구암 유전자의 전위와 연관된 변형이 있을 가능성을 의심하고 major breakpoint region (MBR), minor cluster region (MCR), 5'cDNA (pB16) breakpoint probes, bcl-1 major translocation cluster (MTC) breakpoint probe, 그리고 myc-associated MLVI-4 region (PA1.3SB)에 대한 probe를 이용하여 17예의 다발성 골수종을 포함한 형질세포 질환을 조사한 결과 유전자의 재배열을 발견할 수 없었다. 즉, 다발성 골수종에서는 bcl-2 단백의 과발현과 연관된 t(14;18)의 존재를 밝히지 못했다. 그리고 염색체의 전위가 없는 다발성 골수

종이나 림프종에서도 bcl-2 단백의 과발현이 발견되었고, Epstein-Barr 바이러스에 의해서도 bcl-2의 발현이 유도된다는 보고도 있다.[37] 이는 bcl-2 단백의 과발현이 염색체 전위에 의해서만 일어나는 변화가 아니라 또 다른 기전에 의해서도 일어날 수 있음을 암시하며 bcl-2 단백의 과발현은 다발성 골수종의 종양 세포 뿐 아니라 정상 형질세포에서도 관찰되므로 정상 형질세포에서 발견되는 bcl-2 단백이 종양에서도 유지되고 있을 가능성도 배제할 수 없다.

그러나 일부 다발성 골수종에서 myc이나 ras 유전자의 돌연변이와 bcl-2 종양단백의 과발현이 연구되었고,[10,12,13] 또한 TNF-alpha, IL-1, 그리고 IL-6 같은 많은 cytokine들은 다발성 골수종의 악성 클론의 형성에 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 다발성 골수종의 골성 그리고 신체 전반의 질환을 야기하는 데에 관여한다고 알려져 있다. 또 bcl-2 단백이나 IL-6는 공통적으로 계획된 세포사를 억제하여 다발성 골수종의 독특한 발병 기전으로 작용할 가능성이 대두되었다.[25] 이로써 과거에 다발성 골수종을 완전히 분화된 형질세포의 종양으로 여겨 왔던 초기 종양 발생 기전에 대한 개념들에 수정이 필요하게 되었다. 즉, 다발성 골수종의 종양성 변화는 만성적인 항원성 자극의 결과로 B 세포의 분화 과정 중 세포가 악성 세포로 변화하거나, 형질세포 이전의 B 세포 분화 초기에서 종양성 변화가 일어난다고 생각하게 되었고, 또 이를 뒷받침하는 증거가 밝혀지고 있다. Vaux 등[38]은 체외에서 bcl-2와 c-myc 유전자가 상호 연관되어 B 세포 전구체의 증식을 초래하고, nude mice에서는 B 세포 림프종으로 성장할 수 있음을 관찰하였다.[39] 또한 Fremiotti[40]는 다발성 골수종 세포가 외부 항원에 대해 형질세포에서 유래된 것인지 아니면 그 자체가 자가반응성 클론인지에 대한 의문이 있지만 이 모두가 정상 조절체제의 결함으로 인한 것이고, 이 클론의 성장 과정 중 어느 단계에서 결손이 있는지에 따라 다발성 골수종의 표현형을 분석해 보면 많은 수의 B 세포 항원 뿐만 아니라 non-B 세포 항원도 존재할 수 있다고 하였다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하는 종양억제 유전자로서 bcl-2 유전자의 기능 조절에 관여하고 있다고 알려져 있다.[32] 1992년 Mazars 등[28]은 10개의 인간의 골수종 세포주중 8개에서 p53 유전자의 돌연변이를 PCR-SSCP (Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism) 방법으로 관찰하였다. 이들 모두의 돌연변이는 G : C가 A : T로 전이되는 단일 염기의 치환이었다. 1992년 Portier[11] 역시 p53 유전자의 돌연변이를 30예의 다발성 골수종의 환자 중 6예 (20%)에서 관찰하였다. 1994년 Corradini[27]는 Rb1 단백 결손과 함께 p53 exon 5-9의 돌연변이를 진행된 다발성 골수종에서 발견하여 종양의 유발기전이라기 보다는 종양 진행 과정과 연관되어 있을 것으로 추정하였다. 본 연구에서는 만성 염증 조직의 형질세포에서는 p53 단백이 단 한 예에서도 발현되지 않았다. 또 다발성 골수종의 종양세포에서는 p53 단백 발현이 없거나 또 발현되는 7예에서는 종양 세포의 5%에서 60%까지의 다양한 정도의 발현을 보였다. 그 중 4예는 고도의 이형성이 관찰되는 종양에서 발현되었다.

p53 단백의 발현과 bcl-2 단백의 발현의 생존 곡선을 비교하면 p53 단백이 발현되는 집단에서 대체적으로 예후가 좋지 않았으며 p53 단백의 발현과 bcl-2 단백의 발현은 통계적 의의는 없었으나 서로 상반된 결과를 보였다. 이상의 결과는 bcl-2의 조절 능력을 가지고 있는 변이형 p53 유전자와 bcl-2 유전자가 다발성 골수종의 발생과 분화에 관여하고 있을 가능성을 시사한다. bcl-2 단백의 발현과 암억제 유전자 p53 이외에도 c-myc, ras 암유전자,[14,15] Rb1 유전자[14] 등이 다발성 골수종의 종양형성 과정에서 다발적으로 관여하고 있을 가능성이나 유전자의 복잡한 상호 연관의 가능성도 예상할 수 있다.

Greipp[7]와 Anna Carter 등[41]은 다발성 골수종의 형질세포의 형태에 따라 성숙, 미성숙, 그리고 형질모세포 형태로 나누어 진단하고, 각각의 예후를 비교 관찰하였다. 그 결과 형질모세포 형태가 미성숙이나 성숙한 형태보다도 더 예후가 좋지 않음을 밝혔다. 또 1994년 Sanya Sukpanichnant 등[1]은 176예의 다발성 골수종에서 예후를 비교하여 심한 이형성이 존재하고 유사분열 수가 많거나 임상적 병기가 높거나 광범위한 골수 침범이 있을 때에 예후가 좋지 않다고 하였다. 이처럼 지금까지 조직학적 형태 이외에 골수 침범 양상이나, 유사분열 수, 임상적 병기, 형질모세포의 존재, 그리고 형질세포 증식의 정도 등에 따라 예후의 차이가 있는지를 밝히려는 시도가 있어왔다. 본 연구에서도 다발성 골수종으로 진단된 38예 중에서 추적 관찰이 가능했던 34예를 대상으로 종양세포의 이형성 정도와 골수 침범 양상, 유사분열 수, 임상적 병기에 따른 예후를 관찰하였다. 그 결과 이형성이 심할수록, bcl-2 단백 발현이 낮을수록, 그리고 유사분열 수가 많을수록 예후가 나빴으며 이는 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다.

결 론

다발성 골수종으로 진단된 38예의 병리 조직학적 소견을 바탕으로 종양세포의 이형성 정도에 따라 저, 중, 고도로 분류하고, 다발성 골수종의 형질세포를 만성 염증 조직의 형질세포와 비교하여 bcl-2와 p53 단백 발현 정도를 조사하였다. 또 이형성 정도, bcl-2와 p53 단백 발현 이외에 유사분열 수, 임상적 병기, 골수 침범 형태 등과 예후와의 관련성을 조사한 결과 다음의 결과를 얻었다.

1. bcl-2 단백은 만성 염증 조직 10예 모두의 형질세포와 다발성 골수종 38예 중 37예 (97%)의 종양세포에서 5%에서 95%의 다양한 정도로 발현되었다.

2. p53 단백은 만성 염증 조직의 형질세포에서는 단 한 예에서도 발현되지 않았으나, 다발성 골수종의 종양

세포에서는 7예 (18.4%)에서 다양한 정도의 발현을 보였고, 그 중 4예는 고도의 이형성이 관찰되는 종양에서 발현되었다.

3. 다발성 골수종의 종양 세포의 이형성의 정도가 심할수록, bcl-2 단백 발현이 낮을수록, 유사분열 수가 많을수록 예후가 나빴으며, 이는 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다 (p=0.005, p=0.04, p=0.006).

4. 다발성 골수종의 종양 세포의 p53 단백 발현은 bcl-2 단백 발현과 상반되는 경향을 보였으나 예후와는 통계학적으로 유의한 상관관계를 보이지 않았다 (p> 0.05).

이상의 결과는 bcl-2 단백과 p53 단백이 다발성 골수종의 종양 발생 및 분화에 관여하고 있을 가능성을 시사하며 bcl-2 및 p53 유전자의 상호 연관성 및 작용기전을 밝히기 위해서는 향후 분자생물학적 실험 방법을 사용한 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Sukpanichnant S, Cousar JB, Leelasiri A, Graber SE, Greer JP, Collins RD. Diagnostic criteria and histologic grading in multiple myeloma: histologic and immunohistologic analysis of 176 cases with clinical correlation. Hum Pathol 1994; 25: 308-18.
2. Durie BGM, Wiernik PH, Canellos GP, et al. Staging and kinetics of multiple myeloma. Neoplastic disease of the blood (ed2). New York, NY, Churchill Livingstone, 1991; 439-52.
3. Bartl R, Frisch B, Diem H, et al. Histologic, biochemical and clinical parameters for monitoring multiple myeloma. Cancer 1991; 68: 2241-50.
4. Bartl R, Frisch B, Diem H, Mundel M, Fateh-Moghadam. Bone marrow histology and serum beta 2 microglobulin in multiple myeloma-a new prognotic strategy. Eur J Haemat Suppl 1989; 51: 88-98.
5. Bartl R, Frisch B, Fateh-Moghadam A, Kettner G, Jaeger K, Sommerfeld W. Histologic classification and staging of multiple myeloma. Am J Clin Path 1987; 87: 342-55.
6. Sailer M, Vykoupil KF, Peest D, Coldewey R, Deicher H, Georgii A. Prognostic relevance of a histologic classification system applied in bone marrow biopsies from patients with multiple myeloma: a histopathological evaluation of biopsies from 153 untreated patients. Eur J Haemat 1995; 54: 137-46.
7. Greipp PR, Raymond NM, Kyle RA, O'Fallon WM. Multiple myeloma: significance of plasmablastic subtype in morphological classification. Blood 1985; 65: 305-10.
8. Bennett JM, Greipp PR, Kalish LA, Oken MM, Kyle RA. Confirmation of plasmablastic subtype as a poor prognostic indicator in plasma cell mteloma: An ECOG study (EST 9487). Blood 1992; 80: 361.
9. Peest D, Coldewey R, Deicher H, et al. Prognostic value of clinical, laboratory, and histological characteristics in multiple myeloma: Improved definition of risk groups. Eur J Cancer 1993; 29A: 978-83.
10. Corradini P, Ladetto M, Inghirami G, Boccadoro M, Pileri A. N-and K-ras oncogenes in plasma cell dyscrasias. Leuk Lymphoma 1994; 15: 17-20.
11. Portier M, Moles JP, Mazars GR, et al. p53 and RAS gene mutations in multiple myeloma. Oncogene 1992; 12: 2539-43.
12. Corradini P, Ladetto M, Voena C, et al. Mutational activation of N-and K-ras oncogenes in plasma cell cyscrasias. Blood 1993; 81: 2708-13.
13. Tanaka K, Takechi M, Asaoku H, Dohy H, Kamada N. A high frequency of N-ras oncogene mutations in multiple myeloma. Int J Hematol 1992; 56: 119-27.
14. Brown RD, Pope B, Luo XF, Gibson J, Joshua D. The oncoprotein phenotype of plasma cells from patients with multiple myeloma. Leuk Lymphoma 1994; 16: 147-56.
15. Yasuga Y, Hirosawa S. Molecular analysis of multiple myeloma cells. Nippon-Rinsho 1995; 53: 564-7.
16. Skopelitou A, Hadjiyannakis M, Tsenga A, et al. Expression of C-myc p62 oncoprotein in multiple myeloma: an immunohistochemical study of 180 cases. Anticancer Res 1993; 13: 1091-5.
17. Jernberg WH. Growth regulation and proto-oncogene expression in human multiple myeloma cell lines in vitro. Diss Abstr Int (C) 1992; 53: 305.
18. Durie BG. Cellular and molecular genetic features of myeloma and related disorders. Hematol Oncol Clin North Am 1992; 6: 463-77.
19. Greil R, Fasching B, Loidl P, Huber H. Expression of the C-myc proto-oncogene in multiple myeloma and chronic lymphocytic leukemia: an in situ analysis. Blood 1991; 78: 180-91.
20. Smith MR, Mohamed A, Al KA. C-myc RNA and protein levels in multiple myeloma (MM) cells. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1991; 10: A179.
21. Nobuyoshi M, Kawano M, Tanaka H, et al. Increased expression of the C-myc gene may be related to the aggressive transformation of human myeloma cells. Br J Hematol 1991; 77: 523-8.
22. Ladanyi M, Wang S, Niesvizky R, Feiner H, Michaeli J. Proto oncogene analysis in multiple myeloma. Am J Pathol 1992; 141: 949-53.
23. Hamilton MS, Barker HF, Ball J, Drew M, Abbot SD, Franklin IM. Normal and neoplastic human plasma cells express bcl-2 antigen. Leukemia 1991; 5: 768-71.
24. Sangfelt O, Osterborg A, Grander D, et al. Response to interferon therapy in patients with multiple myeloma cor-

relates with expression of the bcl-2 oncoprotein. Int J Cancer 1995; 63: 190-2.
25. Lichtenstein A, Tu Y, Fady C, Vescio R, Berenson J. Interleukin-6 inhibits apoptosis of malignant plasma cells. Cell Immunol 1995; 162: 248-55.
26. Ong F, van Nieuwkoop JA, de Groot Swings GM, et al. bcl-2 protein expression in not related to short survival in multiple myeloma. Leukemia 1995; 9: 1282-4.
27. Corradini P, Inghirami G, Astolfi M, et al. Inactivation of tumor suppressor genes, p53 and Rb1, in plasma cell dyscrasias. Leukemia 1994; 8: 758-67.
28. Mazars GR, Portier M, Zhang XG, et al. Mutations of the p53 gene in human myeloma cell lines. Oncogene 1992; 7: 1015-8.
29. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM: Cloning of the chromosomae breakpoint of neoplastic B cell with t(14:18) chromosome translocation. Science 1984; 226: 1097-9.
30. Hockenbery D, Nunez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ: bcl-2 in an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. Nature 1990; 348: 334-6.
31. Jonathan M, Ben-Ezra JM, King BE, Harris AC, Todd WM, Kornstein MJ. Staining for bcl-2 protein helps to distinguish benign from malignant lymphoid aggregates in bone marrow biopsies. Modern Pathol 1994; 7: 560-4.
32. Haldar S, Negrini M, Monne M, et al. Down-regulation of bcl-2 by p53 in breast cancer cells. Cancer Res 1994; 54: 2095-7.
33. Brian GM, Durie, SydneyES. A clinical staging system for multiple myeloma: Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment and survival. Cancer 1975; 36: 842-54.
34. Compton MM. A biochemical hallmark of apoptosis. Internucleosomal degradation of the genome. Cancer Metastasis Rev 1992; 11: 105-19.
35. Pettersson M, Jernberg-Wiklund H, Larsson LG, et al. Expression of the bcl-2 gene in human multiple myeloma cell lines and normal plasma cells. Blood 1992; 79: 495-502.
36. Sangfelt O, Osterborg A, Grander D, et al. Response to interferon therapy in patients with multiple myeloma correlates with expression of the bcl-2 oncoprotein. Int J Cancer 1995; 63: 190-2.
37. Henderson S, Rowe M, Gregory C, et al. Induction of bcl-2 expression by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 protects infected B cells from programmed cell death. Cell 1991; 65: 1107-15.
38. Vaux DL, Cory S, Adams JM. bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. Nature 1988; 335: 440-2.
39. McDonnel TJ, Korsmeyer SJ. Progression from lymphoid hyperplasia to high grade malignant lymphoma in mice transgenic for the t(14:18). Nature 1991; 349: 254-6.
40. Fremiotti A. The biology and pathogenesis of multiple myeloma (editorial). Rocenti Prog Med 1992; 83: 35-7.
41. Carter A, Hocherman I, Linn S, Cohen Y, Tatarsky I. Prognostic significance of plasma cell morphology in multiple myeloma. Cancer 1987; 60: 1060-5.