

인체 방광이행상피세포암의 임상병리학적 특성과 Clusterin 및 Ki-67 발현과의 관계

The Relationship of Clusterin Expression and Ki-67 Labeling Index with Clinicopathologic Factors in Human Transitional Cell Carcinoma

Won Hee Chon, Sang Don Lee, Jeong Zoo Lee, Kyung Woon Choi¹

From the Departments of Urology and ¹Pathology, College of Medicine, Pusan National University, Busan, Korea

Purpose: This study examined the expression of clusterin and Ki-67 in human transitional cell carcinoma (TCC). In addition, the relationship of clusterin and Ki-67 expression with the clinicopathological factors and prognosis of human TCC was investigated.

Materials and Methods: 149 human TCC tissues were obtained from 149 patients who underwent a radical cystectomy (n=81) or transurethral resection (n=68). The expression of clusterin and Ki-67 was analyzed using immunohistochemical staining. The results were evaluated with respect to the clinicopathological factors.

Results: Positive clusterin expression was observed in 21.1% of the total TCC tissues. The expression of clusterin was not significantly related to age, gender, tumor stage and grade. However, recurrence-free survival rate of the patients with positive clusterin expression was significantly lower than that of patients with negative clusterin expression (p=0.02). The expression level of Ki-67 in the TCC tissues was associated with the tumor stage (p<0.001) and grade (p<0.001), but not with age and gender. Furthermore, the recurrence-free survival rate of patients with strong Ki-67 expression was significantly lower than that of patients with weak Ki-67 expression (p<0.001). The expression of clusterin was not significantly related to the level of Ki-67 expression. However, in the patients showing strong Ki-67 expression, the recurrence-free survival rate of the patients with positive clusterin expression was significantly lower than that of the patients with negative clusterin expression (p<0.001).

Conclusions: These results suggest that the expression of clusterin and Ki-67 can be used as a useful predictor of the prognosis of patients with human TCC. (Korean J Urol 2008;49:688-695)

Key Words: Transitional cell carcinoma, Clusterin, Ki67

대한비뇨기과학회지
제 49 권 제 8 호 2008

부산대학교 의과대학 비뇨기과학교실,
¹병리학교실

천원희 · 이상돈 · 이정주 · 최경운¹

접수일자 : 2008년 3월 10일
채택일자 : 2008년 6월 18일

교신저자: 이정주
부산대학교 의과대학
비뇨기과학교실
부산시 서구 아미동 1가 10번지
☎ 602-739
TEL: 051-240-7351
FAX: 051-247-5443
E-mail: toohotman@hanmail.net

서 론

방광암은 비뇨기종양 중 가장 흔한 종양으로서 종양의 재발 또는 진행 및 수술 전이를 미리 예측하여 적절히 대응하는 것이 환자의 치료 및 생존을 향상에 매우 중요하다. 현재까지는 방광암 예후를 예측하는 객관적인 인자로 조직학적 분화도와 병기와 같은 임상지표들이 있으나 치료방법

의 선택이나 재발률과 진행을 정확히 예측하지 못하고 있다.¹ 일반적으로 종양의 발생과 재발 또는 진행에 암유전자의 활성화나 종양억제유전자의 비활성화 등의 유전자의 변이가 작용하며 종양 환자의 예후 및 종양 악성도와 종양 유전자 및 종양억제유전자의 발현유무 사이에 밀접한 관계가 있다.²

Clusterin은 sulfated glycoprotein-2 (SGP-2)로 알려져 있으며 apolipoprotein J, 보체분해억제제 (complement lysis inhibi-

tor), SP 40-40, gp80 및 T54 등의 다양한 이름을 가진 단백질이다.^{3,4} Clusterin은 포유류의 Sertoli 세포 및 부고환 상피세포에서 정상적으로 생성 분비되는 당 단백질의 일종으로 거세한 쥐의 전립선에서 그 분비가 증가한다는 사실에 근거하여 호르몬 변화에 영향을 받는 물질로 간주되고 있다.^{3,4} 또한 clusterin은 세포응집, 보체억제와 지질의 수송, 면역조절, 정자의 성숙, 상피세포분화 및 세포고사 등 여러 생화학적 과정에 관여한다. 특히 clusterin이 세포주기를 진행시키고 세포고사를 유도하는 매개물질임이 알려지면서, 다양한 양성종양 및 악성 종양조직에서 세포고사의 표지자로서 중요한 의미를 갖는 단백질로 알려지게 되었다.⁵

Clusterin은 전립선암에서 세포고사의 억제자로 tumor necrosis factor-alpha와 같은 세포고사의 자극에 대해 보호하는 역할을 하며 유방암에서는 질병의 진행을 예측할 수 있는 인자이기도 하다.^{6,7} 방광암에서는 clusterin의 발현이 표재성암에 비해 침윤성 암에서 그리고 조직학적 분화도가 나쁠수록 유의하게 높다는 국내외의 보고가 있다.⁸⁻¹¹ 또한 clusterin 발현이 높을수록 재발이 흔하며 방광암에서 예후의 예측인자가 될 수 있을 것이라는 국외의 연구 결과가 있으나 아직 이에 대한 국내의 연구는 보고되지 않고 있다.^{8,9}

Ki-67은 G0를 제외한 모든 주기에서 발현되는 항원으로 면역조직화학염색법을 통해 다양한 종류의 종양에서 세포증식의 척도로 사용되고 있으며 Ki-67과 종양의 분화도, 병기 및 재발의 관계에 대한 여러 보고가 있다.¹² 방광암에서 Ki-67의 발현이 병리학적 병기와 조직학적 분화도와 유의한 상관관계가 있으나 방광암의 재발 및 진행 예측인자에 대해서는 많은 연구가 이루어지지 않은 상태이다.^{1,12}

이에 저자는 방광이행상피세포암 조직에서 clusterin의 발현 양상 및 Ki-67 표지지수를 측정하고, 병리학적 병기 및 조직학적 분화도와와의 상관관계 및 종양의 재발과의 관계에 대해 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 실험대상

1999년 3월부터 2005년 6월까지 본원에서 방광이행상피세포암으로 경요도적방광종양절제술 (n=68) 또는 근치적방광절제술 (n=81)을 시행한 총 149례 (남자 99례, 여자 50례, 평균나이 67.8±9.9세)를 대상으로 하였다. 조직에서 종양이 침범된 부위를 방광이행상피세포암 조직으로 하였고, 근치적 방광절제술로 적출된 방광 중 방광이행상피세포암에서 변연 2cm 이상 떨어진 정상방광조직을 대조군 (n=27)으로 하였다. 임상지표로서 병기는 TNM 분류법을, 조직적 분화도는 WHO 분류법을 이용하였다. 평균 추적 관찰기간은

48.6±26.6개월이었으며 모든 환자는 3, 6, 12개월 간격으로 신체검사, 검사실 검사, 방광내시경검사 및 방사선검사를 시행하여 재발 유무를 추적 관찰하였다.

2. 면역조직화학염색

경요도적방광종양절제술 또는 근치적방광절제술로 적출된 149개의 방광이행상피세포암 조직 및 27개의 정상 방광조직을 10% 중성 포르말린으로 고정된 파라핀 포매 조직에서 4 μm 두께의 절편을 제작하였다. 60°C에서 30분간 보온 후 xylene으로 파라핀을 제거하고 단계적으로 알코올을 처리하여 함수화 과정을 거쳤다. 메탄올에 3% 과산화수소를 사용하여 내인성 과산화효소 활성을 억제하였다. 항원 노출을 위하여 파라핀 절편을 10mM의 구연산 완충액에서 10분 동안 부란기에 보관 후 실온에서 식히고 Tris buffer에 세척하였다. 비특이적 반응을 억제하기 위해 정상 차단 양혈청을 전처리하고, 일차 항체를 상온에서 3시간동안 처리하였다. 일차 항체는 clusterin (rabbit polyclonal, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA)은 1:100으로 희석하고 Ki-67 (clone MIB-1, DAKO, Carpinteria, USA)은 1:50으로 희석하여 사용하였다. 절편은 biotinylated goat antimouse 또는 rabbit IgG (Vector Laboratories, Burlingame, USA)와 함께 30분간 부란기에 보관하였다. Avidin-biotin peroxidase complex와 30분간 부란기에 보관한 후, 샘플을 diaminobenzidine hydrochloride solution에 노출시키고 haematoxylin과 함께 대조염색을 시행하였다. Clusterin 면역조직화학염색의 양성 대조군은 인체 편도조직을 이용하였다.

3. 결과판독

방광이행상피세포암 조직의 염색결과는 동일 연구자에 의하여 해석되었으며 현미경 200배 시야에서 1,000개의 세포 중 염색에 양성인 세포의 수를 세어 평균값으로 하였다. Clusterin은 종양세포의 세포질에 적갈색으로 염색된 경우 양성으로 판독하였고, 염색의 염색 정도는 음성 (5% 미만), 양성 (5% 이상)으로 분류하였다 (Fig. 1). Ki-67 표지지수는 종양세포의 핵에 분명히 적갈색으로 염색된 경우 양성으로 판독하고, 5% 미만, 5-25% 및 25% 이상으로 분류하였다 (Fig. 2).

4. 통계분석

대상 환자들의 임상병리학적 요소들은 Pearson's chi-square test, Mantel-Haenszel chi-square test 및 Fisher's exact test를 이용하여 분석하였다. Clusterin 발현과 Ki-67 표지지수에 따른 단변량 생존분석은 Kaplan-Meier curve 및 log-rank test를 이용하였고, 다변량 생존분석은 Cox's proportional hazard

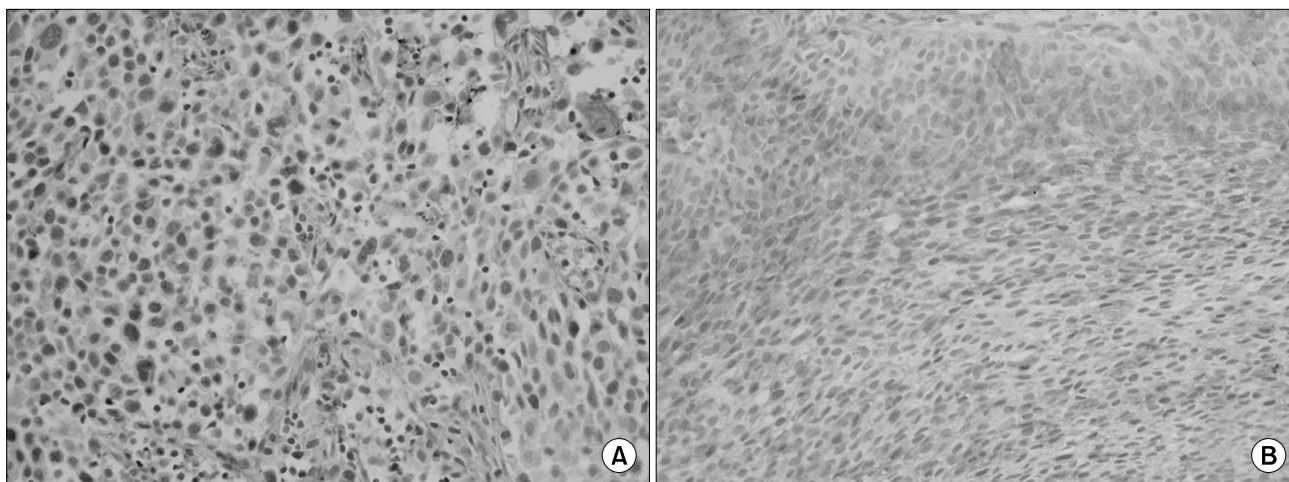


Fig. 1. Immunohistochemical staining of clusterin. (A) Negative, (B) Positive (x200).

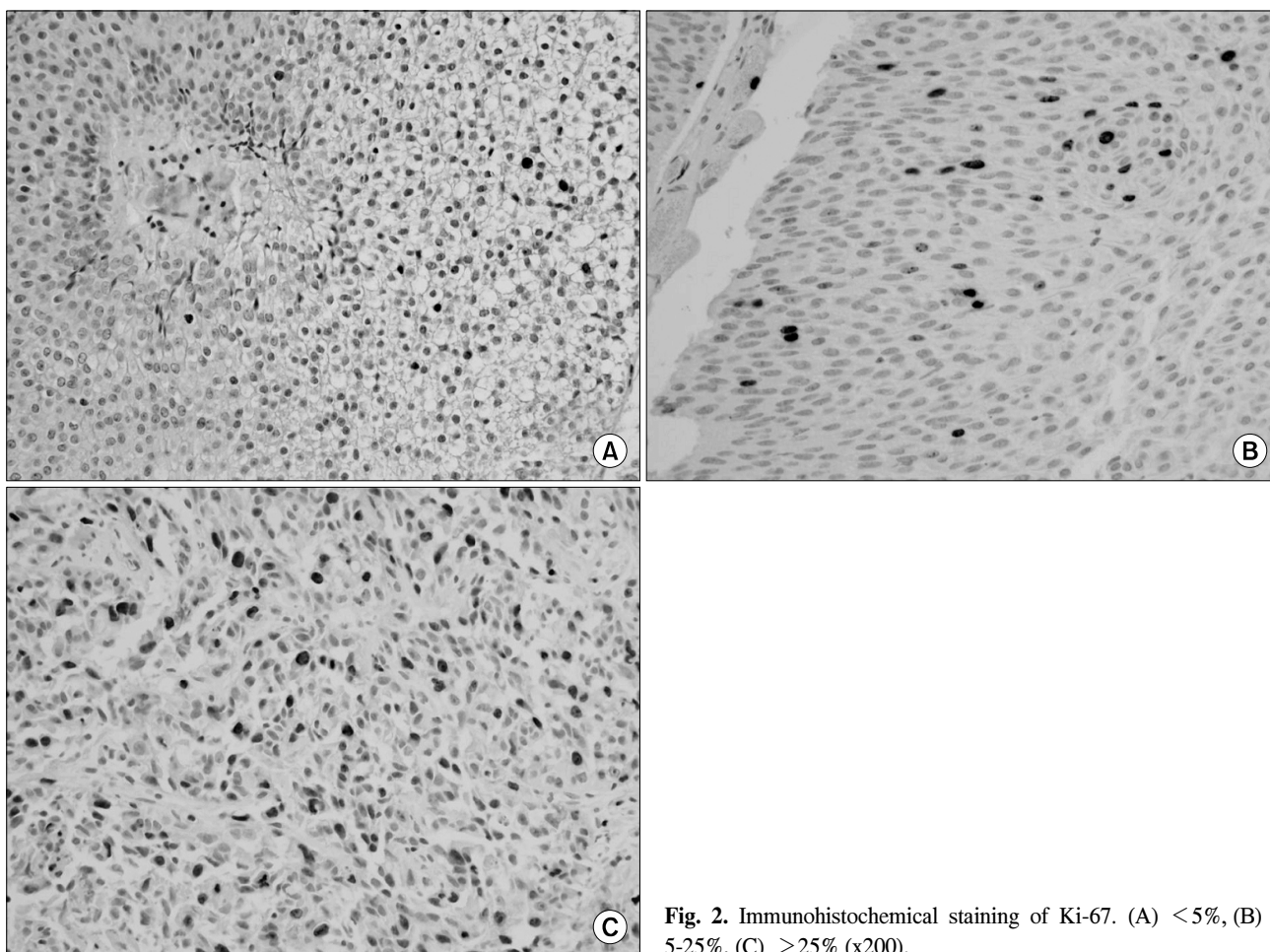


Fig. 2. Immunohistochemical staining of Ki-67. (A) <5%, (B) 5-25%, (C) >25% (x200).

regression model에 연령, 성별, 병리학적 병기 및 조직학적 분화도를 포함시켜 분석하였다. 통계분석에는 SPSS 12.0K

for window와 SAS 9.0 프로그램을 사용하였으며 p값이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. Clusterin 발현과 임상병리학적 특성과의 관계

경요도적방광종양절제술 또는 근치적방광적출술을 시행 받은 149례의 환자로부터 얻어진 방광이행상피세포암 조직 및 정상 방광조직을 대상으로 면역조직화학염색을 시행하였다. 전체 149례 중 26례 (21.1%)에서 clusterin의 염색 정도가 5% 이상의 양성 소견을 보였으며 양성군과 음성군의 환자에서 연령, 성별, 병리학적 병기 및 조직학적 분화도에 따른 유의한 차이는 관찰되지 않았다 (Table 1). 그리고 정상 방광조직은 27례의 전 예에서 clusterin 염색이 음성 소견을 보였다 ($p < 0.001$) (Table 2).

Table 1. The correlation of clusterin expression in transitional cell carcinoma tissues, with the clinicopathological factors and cell proliferative activity

Variables	n	Clusterin staining extents, n (%)		
		Negative	Positive	p-value
Age (years)				0.753*
≤ 60	47	38 (80.9)	9 (19.1)	
> 60	102	85 (83.3)	17 (16.7)	
Gender				0.545*
Male	99	81 (81.8)	18 (18.2)	
Female	50	42 (84.0)	8 (16.0)	
Stage				0.092 [†]
pTa, pT1	74	61 (82.4)	13 (17.6)	
pT2	43	32 (74.4)	11 (25.6)	
pT3	32	30 (93.8)	2 (6.2)	
WHO classification				0.473 [†]
Grade 1	23	21 (91.3)	2 (8.7)	
Grade 2	76	62 (81.6)	14 (18.4)	
Grade 3	50	40 (80.0)	10 (20.0)	

*: Pearson's chi-square test, [†]: Mantel-Haenszel chi-square test

Table 2. Results of clusterin immunohistochemical staining in the normal bladder and transitional cell carcinoma tissues

Clusterin staining extents	Normal bladder		TCC		p-value
	n	%	n	%	
Negative (<5%)	27	100.0	123	78.9	
Positive (≥5%)	0	0.0	26	21.1	
Total	27	100.0	149	100.0	0.016*

TCC: transitional cell carcinoma, *: Fisher's exact test

2. Clusterin 발현과 무병생존율 및 재발률과의 관계

대상환자 149례 중 clusterin 발현이 음성을 보인 123례 중 46례 (37.4%)에서 재발을 보인 반면 양성을 보인 26례 중 20례 (76.9%)가 재발하여 양성군에서 높은 재발률을 보였다 ($p < 0.001$). 76.7±3.7개월의 중앙생존기간 동안 무병생존율은 clusterin 음성군에서 62.5%, 양성군에서 23.0%로 양성군에서 유의하게 낮았다 ($p=0.02$) (Fig. 3).

그리고 술 후 재발에 대한 다변량 생존분석에서 clusterin 발현이 양성인 군에서 재발이 유의하게 높았으나 ($p=0.045$), 병리학적 병기 ($p=0.015$)와 조직학적 분화도 ($p=0.011$)가 술 후 재발과 더 높은 상관관계를 보였다 (Table 3).

3. Ki-67 표지지수와 임상병리학적 특성과의 관계

방광이행상피세포암 조직에서 병기가 T1 이하인 경우 Ki-67 표지지수는 5% 미만인 23례 (31.0%), 5% 이상 25% 미만인 42례 (56.8%)였으며 25% 이상이 9례 (12.2%)였다.

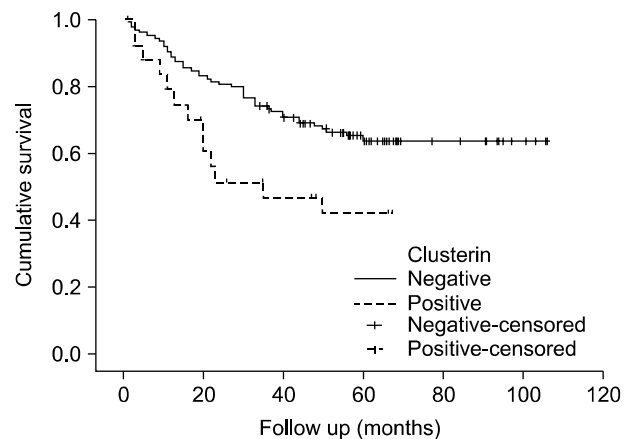


Fig. 3. Recurrence-free survival of the patients with a transitional cell carcinoma according to the clusterin expression status ($p=0.02$).

Table 3. Multivariate analysis of the recurrence-free survival according to various factors using the Cox's proportional hazard regression model

Variables	Hazard ratio	95% confidence interval	p-value
Grade (G1, G2 vs G3)	2.61	1.24-5.48	0.011
Stage (pTa, pT1 vs pT2, pT3)	3.26	1.26-8.41	0.015
Clusterin (negative vs positive)	2.11	1.02-4.38	0.045
Sex (male vs female)	0.47	0.16-1.36	0.162
Age (<61 vs ≥61)	1.29	0.52-3.22	0.587

병기가 T2인 경우는 각각 7례 (16.2%), 26례 (60.5%) 및 10례 (23.3%), 병기가 T3인 경우는 2례 (6.2%), 10례 (31.3%) 및 20례 (62.5%)로 높은 병기에서 Ki-67 표지지수가 높게 나타났다 ($p<0.001$). WHO 분류법에 의한 세포의 악성도에 따라 분류하였을 때 grade 1인 경우 Ki-67 표지지수는 5% 미만인 12례 (52.2%), 5-25%가 10례 (43.5%)였으며 25% 이상이 1례 (4.3%)였다. Grade 2인 경우는 각각 11례 (14.4%), 48례 (63.2%), 17례 (22.4%), grade 3인 경우는 각각 9례 (18.0%), 20례 (40.0%), 21례 (42.0%)로 악성도가 높을 경우 Ki-67 표지지수가 유의하게 높았다 ($p<0.001$) (Table 4). 정상 방광 조직 (n=27)에서의 Ki-67 표지지수는 5% 미만, 5-25%, 25% 이상이 각각 24례 (88.9%), 3례 (11.1%), 0례 (0.0%)로 방광이행상 피세포암 조직에 비해 유의하게 낮았다 ($p<0.001$) (Table 5).

Table 4. The correlation of the Ki-67 labeling index in transitional cell carcinoma tissues with the clinicopathological factors and cell proliferative activity

Variables	n	Ki-67 labeling index, n (%)			p-value
		<5%	5-25%	>25%	
Age (years)					0.066*
≤60	47	8 (17.0)	31 (66.0)	8 (17.0)	
≥61	102	24 (23.5)	47 (46.1)	31 (30.4)	
Gender					0.409*
Male	99	23 (23.2)	48 (48.5)	28 (28.3)	
Female	50	9 (18.0)	30 (60.0)	11 (22.0)	
Stage					<0.001*
pTa, pT1	74	23 (31.0)	42 (56.8)	9 (12.2)	
pT2	43	7 (16.2)	26 (60.5)	10 (23.3)	
pT3	32	2 (6.2)	10 (31.3)	20 (62.5)	
WHO classification					<0.001*
Grade 1	23	12 (52.2)	10 (43.5)	1 (4.3)	
Grade 2	76	11 (14.4)	48 (63.2)	17 (22.4)	
Grade 3	50	9 (18.0)	20 (40.0)	21 (42.0)	

*: Mantel-Haenszel chi-square test

Table 5. Ki-67 labeling index in the normal bladder and transitional cell carcinoma tissues

Ki-67 labeling index	Normal bladder		TCC		p-value
	n	%	n	%	
<5%	24	88.9	32	21.5	
5-25%	3	11.1	78	52.3	
>25%	0	0.0	39	26.2	
Total	27	100.0	149	100.0	<0.001*

TCC: transitional cell carcinoma, *: Mantel-Haenszel chi-square test

4. Ki-67 표지지수와 무병생존율 및 재발률과의 관계

대상환자 149례 중 Ki-67 표지지수가 5% 이상 25% 미만인 78례 중 30례 (38.5%)에서 재발을 보인 반면 25% 이상으로 관찰된 39례 중 25례 (64.1%)가 재발하여 높은 재발률을 보였다 ($p=0.009$). 그리고 30.0 ± 4.5 개월의 중앙생존기간동안 무병생존율은 Ki-67 표지지수가 5% 이상 25% 미만군은 61.4%로 관찰되었으나, 25% 이상군에서 35.8%로 유의하게 낮았다 ($p=0.003$) (Fig. 4).

5. Clusterin 발현과 Ki-67 표지지수와와의 관계 및 무병생존율 및 재발률

대상환자 149례 중 clusterin 발현이 음성인 123례에서 Ki-67 표지지수가 5% 미만은 26례 (21.1%), 5-25%는 64례 (52.1%), 25% 이상은 33례 (26.8%)였으며 clusterin 발현이 양성인 경우는 각각 6례 (23.1%), 14례 (53.8%) 및 6례 (23.1%)로 clusterin 발현에 따른 Ki-67 표지지수는 유의한 차이가 없었다 (Table 6).

Ki-67 표지지수가 25% 이상인 39례의 환자에서 18.0 ± 3.7

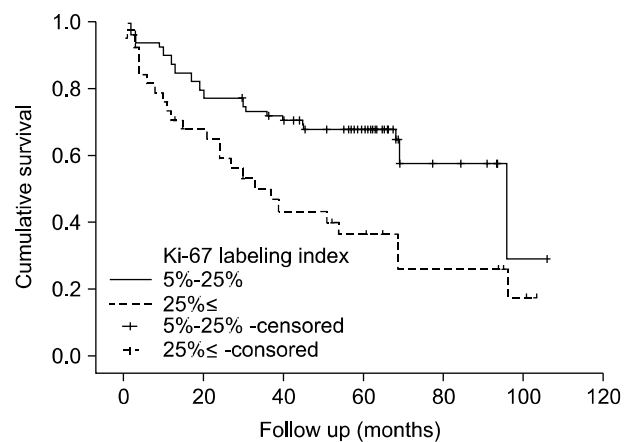


Fig. 4. Recurrence-free survival of patients with transitional cell carcinoma according to the Ki-67 labeling index ($p=0.003$).

Table 6. The correlation of the Ki-67 labeling index with clusterin expression in transitional cell carcinoma tissues

Variables	n	Ki-67 labeling index, n (%)			p-value
		<5%	5-25%	>25%	
Clusterin staining extents					0.92*
Negative	123	26 (21.1)	64 (52.1)	33 (26.8)	
Positive	26	6 (23.1)	14 (53.8)	6 (23.1)	

*: Mantel-Haenszel chi-square test

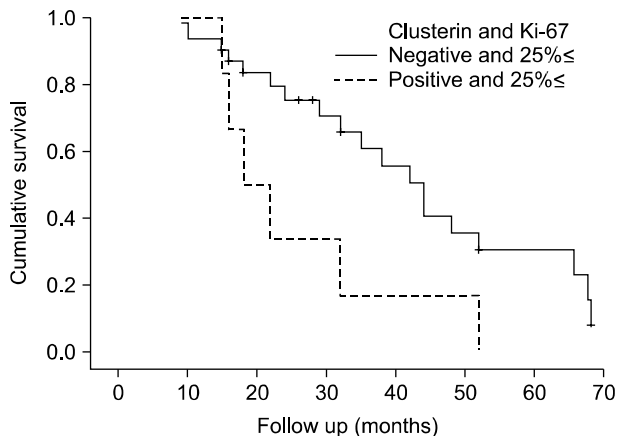


Fig. 5. Recurrence-free survival of the patients with a transitional cell carcinoma according to the Ki-67 labeling index and clusterin expression ($p=0.019$).

개월의 중앙생존기간동안 clusterin 발현이 음성인 33례 중 19례 (57.6%)에서 재발을 보였으며 clusterin 발현이 양성인 6례는 전 예에서 재발하여 유의하게 높은 재발률을 보였고 ($p=0.046$), 무병생존율은 clusterin 발현이 음성인 군에서 27.2%로 Ki-67 표지指수가 25% 이상인 군에서 clusterin 발현이 양성일 경우 유의하게 낮았다 ($p=0.019$) (Fig. 5).

고 찰

SGP-2, TRPM-2, apolipoprotein J 등의 다양한 명칭으로 불리는 clusterin은 α 쇄와 β 쇄 두 개의 소단위와 449개 아미노산으로 구성된 분비형 heterodimeric 이황화물 결합 당단백 (disulphide-linked glycoprotein)으로 분자량은 약 75kDa이다.¹³ Clusterin이 처음 발견된 것은 1983년 양의 고환망이였으며 이후 고환, 부고환, 뇌, 신장, 심장, 폐, 자궁, 난소, 유선, 전립선 등 다양한 조직에서 발견되었고, 세포고사, 세포주기 조절, DNA 복구, 세포부착, 조직 리모델링, 세포막 재생, 면역 체계 조절 등 다양한 기능을 한다고 알려져 있다.¹³ Clusterin은 55kDa의 비당화 (non-glycosylated) 핵형 clusterin인 nuclear clusterin (nCLU)과 40kDa의 당화 분비형 clusterin인 secretory clusterin (sCLU)의 두 아형이 있다.¹⁴ 종양 세포의 생존은 sCLU의 과발현과 nCLU의 손실과 관련이 있고, 분화도가 나빠고 전이가 될수록 nCLU에서 sCLU로 변화한다는 보고가 있으나 아직 세포주기에 있어 clusterin의 역할에 대해서는 보다 많은 연구가 필요하다.¹⁴

종양과 clusterin의 관계에 대한 연구에서는 유방암, 폐암, 대장암에서는 발현이 증가하나 췌장암에서는 발현이 감소하였으며 전립선암의 경우에는 상반되는 결과들이 보고되어 아직 명확히 정립되어 있지는 않다.^{8,15-17} 방광암에서

clusterin의 발현에 관한 연구는 Kruger 등⁸이 132례의 침윤성 방광이행상피세포암의 25%에서 clusterin 발현이 양성을 보였다고 보고하였고, Miyake 등⁹은 89례의 방광이행상피세포암에서 침윤성 암이 표재성 암보다 clusterin 발현이 4배 이상 높다고 보고하였다. 국내의 연구에서도 Yoon 등¹⁰과 Park 등¹¹이 방광이행상피세포암에서 침윤성 암이 표재성 암에 비해 clusterin의 발현이 유의하게 증가하나 조직학적 분화도와는 통계학적 상관관계를 보이지 않았다고 보고하였다. 이러한 clusterin의 발현과 종양과의 연관성은 clusterin을 전달감염 (transfection) 시킨 인체 신장암세포에서 clusterin의 과발현이 Fas 관련 세포고사 신호전달체계에 저항하였다는 이전 연구결과로 미루어 clusterin의 항고사 효과와 관련이 있을 것이라 생각되나 아직까지 clusterin이 항고사 작용을 하는 분자단계에서의 명확한 기전은 밝혀지지 않았다.¹⁸

본 연구에서는 clusterin의 발현이 5% 이상일 경우 양성이라고 정의하였고 이에 따른 분석결과, 정상 방광조직에서는 clusterin의 발현을 관찰할 수 없었다. 그리고 149례의 방광이행상피세포암 조직 중 26례에서 발현 양성 소견을 보여 21.1%의 발현율로 이전 연구에 비해 비교적 낮은 결과를 나타냈는데 이는 판독기준의 차이에 기인한 것으로 생각한다. Clusterin의 발현 유무와 방광이행상피세포암의 병리학적 병기와 조직학적 분화도와는 유의한 상관관계를 확인할 수 없었고 양성군에서 발현 정도에 따른 상관관계는 수가 적어서 통계적인 평가가 어려웠다. 향후 clusterin 발현 정도와 방광이행상피세포암과의 상관관계에 대한 추가연구가 필요하다.

종양의 재발률 및 생존율과 clusterin 발현과의 상관관계에 대해서 Steinberg 등¹⁹은 clusterin의 upregulation과 전립선암의 조직분화도와 세포 내 clusterin 발현이 전립선암의 생물학적 악성도에 의해 결정되며 생존율의 감소에 영향을 미치는 것으로 보고하였고, Kurahashi 등²⁰은 신세포암에서는 clusterin 발현이 강양성인 군에서 생존율이 현저히 낮았다고 보고하였다. 방광암의 경우 Miyake 등¹⁸은 방광암 환자에서 clusterin이 강양성인 군에서 생존율이 유의하게 낮았으며 침윤성 암에서 clusterin이 과표현될 경우 재발이 흔하였다고 보고하였다. 또한 인체 방광암 모델 실험에서 clusterin의 발현이 방광암의 진행이나 림프전 전이와 연관성을 근거로 세포단계의 운동성이나 침윤성과 관련이 있을 것이라 보고도 있다.²¹ 본 연구에서도 clusterin의 발현이 양성을 보였던 방광이행상피세포암 환자군이 음성을 보였던 환자군에 비해 종양의 재발이 유의하게 높게 관찰되었으며 생존율에 대한 단변량 및 다변량 분석에서도 유의한 생존율의 차이를 보였다. 이를 토대로 clusterin의 발현 정도가

병리학적 병기나 조직학적 분화도와는 연관 없이 방광이행상피세포암의 임상적 예후의 예측에 있어 중요한 수단이 될 수 있을 것으로 생각한다.

단클론항체인 Ki-67은 다양한 종양에서 증식 능력을 결정하는데 중요한 DNA replicase 결합체를 구성하는 핵단백질을 인지함으로써 종양 증식에 관여한다고 알려져 있으며 Gerdes 등²²에 의해 세포증식에 연관된 핵 내 항원과 반응한다고 보고된 이후 종양세포의 증식활성도를 나타내는 척도로 사용되어왔다.²³ Ki-67의 증가는 S-phase 세포의 분획과 이수체 개체수의 증가를 반영하는 것으로 종양의 병기, 분화도, 재발, 진행, 생존율의 감소와 연관이 있으며, Ki-67 발현 정도가 높은 경우에는 재발률이 높다.^{24,25} Oosterhuis 등²⁶은 Ta, T1과 같은 저병기의 방광암에서는 Ki-67 표지지수는 병기 및 분화도보다 우수한 독립적 예후 인자라고 하였으며, Asakura 등²⁷은 Ki-67 표지지수가 표재성 방광암 환자에서 종양의 재발과 종양의 진행의 독립적 예후 인자라고 보고하였다. 본 연구에서도 방광이행상피세포암의 병기가 높을수록 Ki-67의 발현이 유의하게 증가하였으며 종양의 악성도와도 유의한 상관관계를 나타냈다. 그리고 Ki-67 표지지수가 높을수록 재발률이 유의하게 높게 관찰되어 이전 연구들과 비슷한 결과를 보였다.

Ki-67 표지지수와 clusterin 발현과의 관계에 대한 연구는 많지 않은데 Park 등²⁸은 신세포암에서 Ki-67 염색정도가 증가함에 따라 clusterin 발현 정도가 유의하게 증가하고 재발률도 증가한다고 보고하였다. 본 연구에서는 clusterin 발현에 따른 Ki-67 표지지수의 유의한 차이는 관찰되지 않았으나 Ki-67 표지지수가 높은 군 중 clusterin 발현이 음성인 군에 비해 양성인 군에서 재발이 유의하게 높게 관찰되어 신세포암과 비슷한 결과를 보였다. 이는 clusterin 발현이 세포의 증식능과는 직접적인 연관성이 없으며 항고사 효과 등의 다른 기전으로 종양의 재발에 관여함을 나타내는 것으로 이에 대한 향후 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각한다.

결 론

본 연구 결과 방광이행상피세포암 조직에서 clusterin 발현은 병리학적 병기 및 분화도와는 유의한 상관관계를 보이지 않았다. 그러나 clusterin의 발현은 방광이행상피세포암의 재발과 유의한 상관관계를 보여 병리학적 병기, 조직학적 분화도 등과 함께 예후 예측인자로서의 가치가 있을 것으로 생각한다. Ki-67 표지지수의 경우 병리학적 병기가 높거나 조직학적 분화도가 나쁠수록 유의하게 높아졌으며 Ki-67 표지지수는 질병의 재발과 유의한 상관관계를 나타냈다. 그러나 clusterin은 Ki-67 표지지수와는 유의한 상관관

계를 보이지 않아 세포의 증식능에 대한 작용과는 다른 기전을 통해 방광이행상피세포암의 재발에 관여할 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. Joung JY, Seo HK, Chung JS, Hwang HS, Hong EK, Lee KH. Clinical efficacy of Ki-67, apoptotic index, bcl-2, and p53 in bladder tumor: correlation with stage, histologic grade and recurrence rate. *Korean J Urol Oncol* 2003;1:376-81
2. Weinberg RA. Oncogenes, antioncogenes, and the molecular bases of multistep carcinogenesis. *Cancer Res* 1989;49:3713-21
3. Sylvester SR, Morales C, Oko R, Griswold MD. Localization of sulfated glycoprotein-2 (clusterin) on spermatozoa and in the reproductive tract of the male rat. *Biol Reprod* 1991;45:195-207
4. Fritz IB, Burdzy K, Setchell B, Blaschuk O. Ram rete testis fluid contains a protein (clusterin) which influences cell-cell interactions in vitro. *Biol Reprod* 1983;28:1173-88
5. Parczyk K, Pilarsky C, Rachel U, Koch-Brandt C. Gp80 (clusterin; TRPM-2) mRNA level is enhanced in human renal clear cell carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol* 1994;120:186-8
6. Sensibar JA, Sutkowski DM, Raffo A, Buttyan R, Griswold MD, Sylvester SR, et al. Prevention of cell death induced by tumor necrosis factor alpha in LNCaP cells by overexpression of sulfated glycoprotein-2 (clusterin). *Cancer Res* 1995;55:2431-7
7. Leskov KS, Klokoy DY, Li J, Kinsella TJ, Boothman DA. Synthesis and functional analyses of nuclear clusterin, a cell death protein. *J Biol Chem* 2003;278:11590-600
8. Kruger S, Mahnken A, Kausch I, Feller AC. Value of clusterin immunoreactivity as a predictive factor in muscle-invasive urothelial bladder carcinoma. *Urology* 2006;67:105-9
9. Miyake H, Gleave M, Kamidono S, Hara I. Overexpression of clusterin in transitional cell carcinoma of the bladder is related to disease progression and recurrence. *Urology* 2002;59:150-4
10. Yoon JH, Lee JH, Yeom BW, Won NH, Yoon DK. Expression of osteopontin and clusterin in transitional cell carcinoma of the bladder: comparison to the pathologic stage. *Korean J Urol* 2005;46:341-6
11. Park HJ, Lee HJ, Yum YH, Kang JY, Yoo TK. Clusterin expression and apoptosis in transitional cell carcinoma of the bladder. *Korean J Urol* 2007;48:402-7
12. Mellon K, Neal DE, Robinson MC, Marsh C, Wright C. Cell cycling in bladder carcinoma determined by monoclonal antibody Ki67. *Br J Urol* 1990;66:281-5
13. Lakins J, Bennett SA, Chen JH, Arnold JM, Morrissey C, Wong P, et al. Clusterin biogenesis is altered during apoptosis in the

- regressing rat ventral prostate. *J Biol Chem* 1998;273:27887-95
14. Pucci S, Bonanno E, Pichiorri F, Angeloni C, Spagnoli LG. Modulation of different clusterin isoforms in human colon tumorigenesis. *Oncogene* 2004;23:2298-304
15. July LV, Beraldi E, So A, Fazli L, Evans K, English JC, et al. Nucleotide-based therapies targeting clusterin chemosensitize human lung adenocarcinoma cells both in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther* 2004;3:223-32
16. Zellweger T, Kiyama S, Chi K, Miyake H, Adomat H, Skov K, et al. Overexpression of the cytoprotective protein clusterin decreases radiosensitivity in the human LNCaP prostate tumour model. *BJU Int* 2003;92:463-9
17. Scaltriti M, Brausi M, Amorosi A, Caporali A, D'Arca D, Astancolle S, et al. Clusterin (SGP-2, ApoJ) expression is downregulated in low- and high-grade human prostate cancer. *Int J Cancer* 2004;108:23-30
18. Miyake H, Hara S, Zellweger T, Kamidono S, Gleave ME, Hara I. Acquisition of resistance to Fas-mediated apoptosis by overexpression of clusterin in human renal-cell carcinoma cells. *Mol Urol* 2001;5:105-11
19. Steinberg J, Oyasu R, Lang S, Sintich S, Rademaker A, Lee C, et al. Intracellular levels of SGP-2 (clusterin) correlate with tumor grade in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 1997;3:1707-11
20. Kurahashi T, Muramaki M, Yamanaka K, Hara I, Miyake H. Expression of the secreted form of clusterin protein in renal cell carcinoma as a predictor of disease extension. *BJU Int* 2005;96:895-9
21. Miyake H, Hara I, Kamidono S, Gleave ME. Synergistic chemosensitization and inhibition of tumor growth and metastasis by the antisense oligodeoxynucleotide targeting clusterin gene in a human bladder cancer model. *Clin Cancer Res* 2001;7:4245-52
22. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983;31:13-20
23. Burger PC, Shibata T, Kleihues P. The use of the monoclonal antibody Ki-67 in the identification of proliferating cells: application to surgical neuropathology. *Am J Surg Pathol* 1986;10:611-7
24. Cohen MB, Waldman FM, Carroll PR, Kerschmann R, Chew K, Mayall BH. Comparison of five histopathologic methods to assess cellular proliferation in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Hum Pathol* 1993;24:772-8
25. Okamura K, Miyake K, Koshikawa T, Asai J. Growth fractions of transitional cell carcinomas of the bladder defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Urol* 1990;144:875-8
26. Oosterhuis JW, Schapers RF, Janssen-Heijnen ML, Smeets AW, Pauwels RP. MIB-1 as a proliferative marker in transitional cell carcinoma of the bladder: clinical significance and comparison with other prognostic factors. *Cancer* 2000;88:2598-605
27. Asakura T, Takano Y, Iki M, Suwa Y, Noguchi S, Kubota Y, et al. Prognostic value of Ki-67 for recurrence and progression of superficial bladder cancer. *J Urol* 1997;158:385-8
28. Park HC, Kim JM, Lee CL, Lee W, Lee SD, Lee JZ, et al. The relationship of clusterin expression with Ki-67 expression and clinicopathological factors in human renal cell carcinoma. *Korean J Urol* 2007;48:244-51