

ORIGINAL ARTICLE

대장 톱니샘종에서 p53, Bcl-2, Ki-67 단백질의 면역조직화학 발현

정진환, 권현주¹, 김태정², 조형준, 김혜강, 정대영, 김진일, 김재광

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실, 성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 영상의학교실¹, 가톨릭대학교 의과대학 병원병리학교실²

Immunohistochemical Expression of p53, Bcl-2, and Ki-67 Proteins in Traditional Serrated Adenomas of Colon

Jin Hwan Jung, Heon-Ju Kwon¹, Tae-Jung Kim², Hyung Jun Cho, Hye Kang Kim, Dae Young Cheung, Jin Il Kim and Jae Kwang Kim

Department of Internal Medicine, The Catholic University of Korea, College of Medicine, Department of Radiology, Kangbuk Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine¹, Department of Hospital Pathology, The Catholic University of Korea, College of Medicine², Seoul, Korea

Background/Aims: Serrated adenomas of the colon show mixed characteristics of both hyperplastic and adenomatous polyps. Serrated adenomas are known to progress via the serrated pathway than the adenoma-carcinoma pathway. The aim of this study was to evaluate the characteristics of traditional serrated adenomas compared to hyperplastic polyps and tubular adenomas by using immunohistochemical staining for p53, Bcl-2, and Ki-67.

Methods: Age, sex, location, size and the immunoexpression of p53, Bcl-2, and Ki-67 were retrospectively analyzed in 20 traditional serrated adenomas, 20 hyperplastic polyps, and 20 tubular adenomas from January 2007 to December 2012 at The Catholic University of Korea, Yeouido St. Mary's Hospital.

Results: There was no difference in Bcl-2 and p53 expression between traditional serrated adenomas and hyperplastic polyps. Ki-67 Expression of traditional serrated adenomas was higher than that of hyperplastic polyps ($p=0.001$). Ki-67 and p53 expression was similar between traditional serrated and tubular adenomas. Bcl-2 expression of traditional serrated adenomas was lower than that of tubular adenomas ($p=0.001$). Regarding the expression of p53, Bcl-2, and Ki-67 in traditional serrated adenomas, there were no statistical differences among age, sex, location, and size.

Conclusions: Our study suggested that Ki-67 may be helpful in distinguishing traditional serrated adenomas from hyperplastic polyps, and p53 expression may be ineffective in distinguishing between traditional serrated and tubular adenomas. From Bcl-2 expression, it is suggested that the tumorigenesis of traditional serrated adenomas is lower than that of tubular adenomas. (Korean J Gastroenterol 2013;62:336-343)

Key Words: Serrated adenoma; p53; Bcl-2; Ki-67

서 론

톱니샘종(serrated adenoma)은 증식폴립(hyperplastic polyp)과 샘종폴립(adenomatous polyp)의 특성을 동시에 가지고 있다. 증식폴립은 악성화로 잘 진행하지 않고, 샘종폴립은 악성화로 잘 진행한다. 증식성과 선종성이 혼합된 폴립에서 대

장암의 발생이 보고되면서 톱니샘종이 주목을 받게 되었다.¹ 톱니샘종이란 용어는 1990년에 Longacre와 Fenoglio-Preiser²에 의해서 처음 제안되었고, 이후 톱니모양폴립은 다음과 같이 4가지로 분류되었다.³ 톱니모양폴립(serrated polyp)은 증식폴립, 목 없는 톱니샘종(sessile serrated adenoma), 전통 톱니샘종(traditional serrated adenoma), 증식폴립과 샘종의

Received September 14, 2013. Revised October 21, 2013. Accepted November 5, 2013.

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

교신저자: 김진일, 150-713, 서울시 영등포구 63로 10, 가톨릭대학교 여의도성모병원 내과

Correspondence to: Jin Il Kim, Department of Internal Medicine, The Catholic University of Korea, Yeouido St. Mary's Hospital, 10, 63-ro, Yeongdeungpo-gu, Seoul 150-713, Korea. Tel: +82-2-3779-1519, Fax: +82-2-3779-1331, E-mail: jikim@catholic.ac.kr

Financial support: None. Conflict of interest: None.

혼합 폴립(mixed adenomatous and hyperplastic polyp)으로 구분되며, 이들은 모두 병리학적으로 샘와를 구성하는 상피세포가 톱니모양의 구조를 가진다.^{3,5} 이중에서 톱니샘종은 형태적으로는 톱니모양 구조의 증식폴립 형태를 가지고 있으나, 샘와를 구성하는 상피세포가 증식성과 선종성 상피의 특징을 동시에 가지고 있다.^{1,6}

대장암의 발생에는 두 가지 가설이 있다. 하나는 기존의 샘종암종연쇄(adenoma-carcinoma sequence) 경로로 adenomatous polyposis coli (APC) 유전자의 불활성화에 의한 염색체 불안정성으로 k-RAS, deleted in colorectal carcinoma (DCC), p53 유전자의 돌연변이가 발생하는 것이다. 두 번째는 톱니모양경로(serrated neoplastic pathway)로 DNA 현미위성체 불안정(microsatellite instability), b-RAF 돌연변이와 DNA 메틸화를 통해 암으로 진행되는 것이다.^{7,8} 그러나 최근에 제시된 톱니모양경로에서는 하나의 병변 안에 뚜렷이 구분되는 증식성의 비이형성 성분과 샘종의 이형성 성분으로 구성된 혼합 폴립을 토대로, 톱니샘종이 새로운 독립된 암화 경로를 거치는 것으로 설명하고 있다.^{3,9} 특히 최근에는 대장암의 약 10-15%는 복제 오류 교정유전자 결손이 높은 현미위성체 불안정 기전으로 발생한다고 설명하고 있다. p53은 여러 종류의 암에서 가장 흔히 돌연변이가 발생하는 종양억제유전자이다. p53의 돌연변이는 샘종에서 샘암종으로 전환되는 시점에 발생한다고 알려져 있다.¹⁰ 야생형 p53 단백질은 세포의 증식을 억제하며 자멸사를 유발한다고 알려져 있고,¹¹ 저도이형성보다 고도이형성에서 p53의 발현이 증가하여 샘종-암종 단계의 후기 단계에 작용한다는 보고도 있다.^{12,13} Bcl-2 단백질은 세포자멸사를 억제시키며, 저도샘종에서 암으로 진행할수록 발현이 증가한다.¹⁴ 세포의 자멸사에 관여하는 Bcl-2와 p53은 여러 가지 암종에서 관계가 있음이 증명되었지만, 아직까지 톱니샘종에서 어떤 발현양상을 보이는지 잘 알려져 있지 않다.^{15,16} 샘종-암종 과정에 관여하는 p53 유전자의 돌연변이가 톱니샘종의 8%에서와¹⁷ 47%에서¹⁸ 나타난다는 서로 상반된 보고도 있다. Ki-67단백은 세포주기의 S기와 M기에 제한되어 표현되는 특성이 있어서 세포의 증식을 나타내는 단백질이며, 여러 종양에서 진단에 유용하게 이용되고 있다.^{19,20}

그러므로 p53, Bcl-2, Ki-67의 발현을 조사하면 톱니샘종은 암화 과정에 있어서 증식폴립보다는 강하게 발현하고 대통샘종보다는 약하게 발현할 것이라는 가설을 세울 수 있다. 아직까지 국내에서는 톱니샘종에 대한 인식이 부족하며, 이에 대한 보고가 많지 않은 실정이다. 이번 연구에서는 전통 톱니샘종, 증식폴립, 대통샘종에서 p53, Bcl-2, Ki-67의 발현을 면역조직화학 염색법을 이용하여 분자유전학적인 특징을 비교하여 톱니샘종 암화 과정의 특성을 규명하는 데 도움이 되고자 한다.

대상 및 방법

1. 대상

2007년 1월부터 2012년 12월까지 가톨릭대학교 여의도성모병원에서 대장내시경검사를 통해 폴립이 발견되어 내시경 폴립절제술로 절제된 병소 중 전통 톱니샘종으로 진단된 20예 전부를 대상으로 하고, 대조군으로는 크기와 모양이 유사한 증식폴립 20예와 대통샘종 20예를 선택하였다. 대상 폴립은 전통 톱니샘종과 대조군을 합쳐 총 60예에서 p53, Bcl-2, Ki-67의 발현을 알아보았다. 폴립의 위치는 맹장, 상행결장과 가로결장을 근위부로, 하행결장, 구불결장과 직장을 원위부로 구분하였다. 이번 연구의 연구 계획서는 가톨릭대학교 여의도성모병원 윤리위원회의 승인을 받았다(SC13SISI0166).

2. 방법

1) 면역조직화학적 염색

포르말린으로 고정하고 파라핀에 포매된 절제조직으로부터 4 µm 두께의 조직 절편을 만들었다. 파라핀 제거를 위해 xylene으로 5분간 4회 처리 후, 95% 알코올로 4회 흡수하였다. 내인성과산화 효소의 작용을 차단하기 위하여 methanol과 3% 과산화수소용액에서 10분간 처리하고, phosphate buffered saline으로 세척하였다. 조직항원과 항체 간의 비특이적 결합을 억제하기 위해 3% 정상 면역 혈청으로 10분간 반응시켰다. p53의 발현을 알아보기 위해서 1 : 50으로 희석한 mouse anti-p53 (clone:BP53.12) (Zymed Laboratories Inc., San Francisco, CA, USA), Bcl-2의 발현은 mouse anti-Bcl-2 (clone:Bcl-2-100) (Zymed Laboratories Inc.), Ki-67의 발현은 1 : 50으로 희석한 anti-Ki-67 (DAKO, Carpinteria, CA, USA)을 1차 항체로 사용하였다.^{20,22} 1차 항체를 사용하여 실온에서 60분 동안 반응시킨 후 완충액(Tris buffered saline and Tween 20; LabVision, Fremont, CA, USA)으로 3회 세척하였다. 이후 biotin과 결합한 이차항체(labelled streptavidin-biotin kit; DAKO)를 실온에서 10분간 작용시켜 biotin-avidin 특이결합을 유도하고, AEC (3-amino-9-ethyl carvazole; Zymed Laboratories)를 가하여 적색반응을 확인한 후에 헤마톡실린으로 대조염색을 시행하였다. 이를 Universal Mount (Research Genetics, Huntsville, AL, USA)로 봉인하고, 광학현미경으로 관찰하였다.

2) 결과 판독

조직 표본은 400배율로 관찰하였으며, p53은 폴립의 상피세포 핵의 10% 이상에서 염색이 되는 경우를 양성, Bcl-2는 세포질에서 50% 이상 염색이 되지 않을 때를 음성으로 판정했다. Ki-67 표지지수는 원주상피에서 염색된 세포의 밀도가 높은 3-5개의 연속 400배 시야에서 1,000개의 원주상피 세포

가운데 핵 내에 명확한 적갈색 과립이 보인 세포수를 세어 백분율을 구하였다.²⁰⁻²³

3. 통계 분석

통계 분석은 윈도우용 PASW Statistics 프로그램 version 18.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA)을 이용하였다. 전통 톱니샘종의 나이, 성별, 폴립의 위치와 크기, p53, Bcl-2, Ki-67의 발현 빈도를 각각 증식폴립군 및 대롱샘종군과 Student's t-test와 Fisher's exact test를 이용하여 분석하였다. 전통 톱니샘종과 증식폴립의 감별에서 Ki-67 단백질의 유용성을 판단하기 위해, receiver operating characteristic (ROC) 분석을 시행하였다. 유의수준은 $p < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

결 과

1. 임상적 특징

전통 톱니샘종의 나이, 성별, 폴립의 위치 및 크기를 증식폴립군 및 대롱샘종군과 각각 비교하였다. 평균연령은 전통 톱니샘종군에서 59.4세, 증식폴립군에서 65.9세, 대롱샘종군

에서 62.1세이며, 전통 톱니샘종군과 증식폴립군의 비교 및 전통 톱니샘종군과 대롱샘종군의 비교에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1). 남녀의 비율은 전통 톱니샘종군에서 12 : 8, 증식폴립군에서 13 : 7, 대롱샘종군에서 11 : 9이며, 전통 톱니샘종군과 각각의 군과의 비교에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1). 근위부와 원위부의 비율은 전통 톱니샘종군에서 4 : 16, 증식폴립군에서 4 : 16, 대롱샘종군에서 8 : 12이며, 전통 톱니샘종군과 각각의 군과의 비교에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1). 크기가 1 cm 이하인 예와 초과하는 예의 비율은 전통 톱니샘종군에서 11 : 9, 증식폴립군에서 14 : 6, 대롱샘종군에서 10 : 10이며, 전통 톱니샘종군과 각각의 군과의 비교에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1).

2. 전통 톱니샘종, 증식폴립 및 대롱샘종에서 p53, Bcl-2, Ki-67의 발현

전통 톱니샘종군, 증식폴립군, 대롱샘종군에서 p53, Bcl-2, Ki-67에 대한 면역조직화학 검사를 하였다. p53의 면역조직화학염색에서 전통 톱니샘종과 대롱샘종에서 진한 핵의 염색이 관찰되었으며, 증식폴립에서는 p53 단백질의 과발현이 관찰

Table 1. Clinicopathologic Features of Patients with Traditional Serrated Adenomas, Tubular Adenomas, and Hyperplastic Polyps

Feature	Traditional serrated adenomas (n=20)	Hyperplastic polyps (n=20)	p-value	Tubular adenomas (n=20)	p-value
Age (yr)	59.4±11.5	65.9±12.2	0.091	62.1±8.1	0.397
Sex			< 1.000		< 1.000
Male	12 (60.0)	13 (65.0)		11 (55.0)	
Female	8 (40.0)	7 (35.0)		9 (45.0)	
Location			< 1.000		0.301
Proximal	4 (20.0)	4 (20.0)		8 (40.0)	
Distal	16 (80.0)	16 (80.0)		12 (60.0)	
Size (cm)	1.13±0.32	1.06±0.21	0.514	1.07±0.18	< 1.000
≤ 1	11 (55.0)	14 (70.0)		10 (50.0)	
> 1	9 (45.0)	6 (30.0)		10 (50.0)	

Values are presented as mean±SD or n (%).

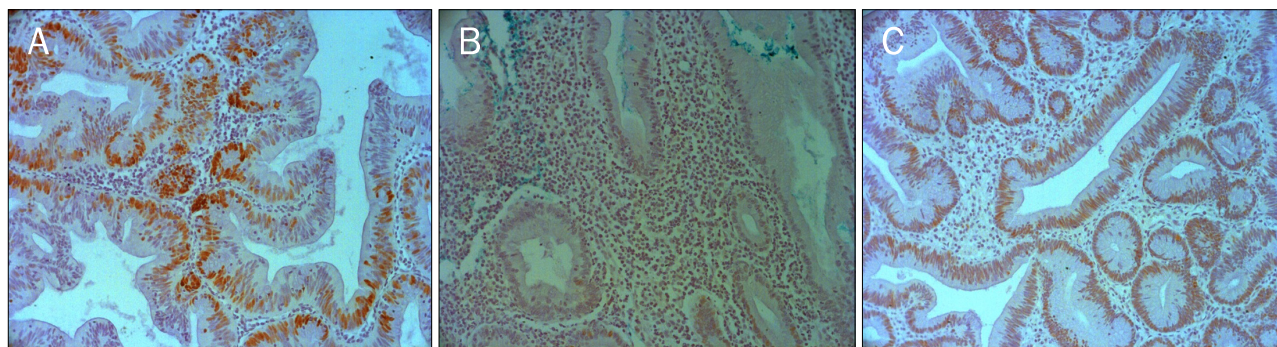


Fig. 1. Immunohistochemical staining of p53 in traditional serrated adenoma, hyperplastic polyp, and tubular adenoma. Intense nuclear staining of p53 is seen in traditional serrated adenoma (A, ×200) and tubular adenoma (C, ×200). However, p53 protein overexpression is not observed in hyperplastic polyp (B, ×200).

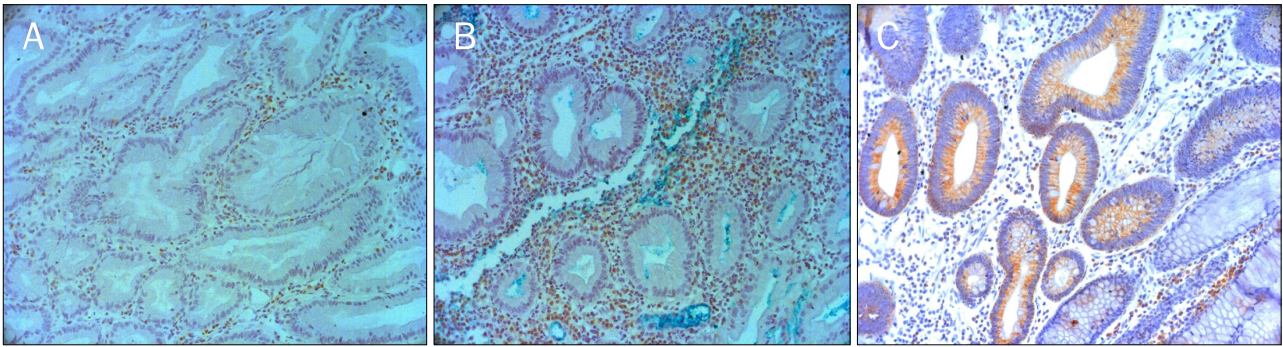


Fig. 2. Immunohistochemical staining of Bcl-2 in traditional serrated adenoma, hyperplastic polyp, and tubular adenoma. Traditional serrated adenoma (A, $\times 200$) and hyperplastic polyp (B, $\times 200$) show loss of Bcl-2 expression. Tubular adenoma (C, $\times 200$) shows cytoplasmic immunoreactivity for Bcl-2. Small lymphocytes in the lamina propria are internal control of Bcl-2 immunostaining.

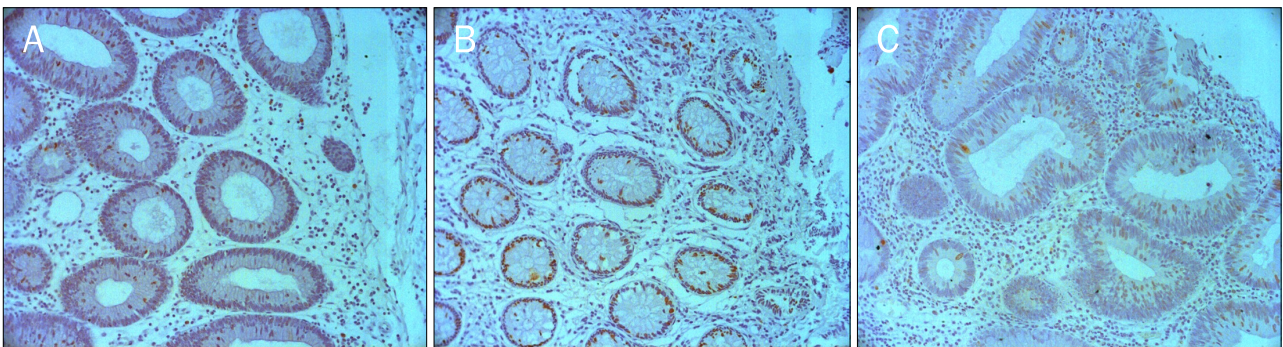


Fig. 3. Immunohistochemical staining of Ki-67 in traditional serrated adenoma, hyperplastic polyp, and tubular adenoma. Ki-67 positive cells (brown color) are seen at the bottom and on the surface of individual crypts of traditional serrated adenoma (A, $\times 200$), hyperplastic polyp (B, $\times 200$), and tubular adenoma (C, $\times 200$).

Table 2. Expressions of p53, Bcl-2, Ki-67 in Patients with Traditional Serrated Adenomas, Tubular Adenomas, and Hyperplastic Polyps

	Traditional serrated adenomas (n=20)	Hyperplastic polyps (n=20)	p-value	Tubular adenomas (n=20)	p-value
p53 expression			0.487		< 1.000
Positive	2 (10.0)	0 (0)		3 (15.0)	
Negative	18 (90.0)	20 (100.0)		17 (85.0)	
Bcl-2 expression			0.342		0.001
Positive	4 (20.0)	1 (5.0)		15 (75.0)	
Negative	16 (80.0)	19 (95.0)		5 (25.0)	
Ki-67 labeling index (%)	14.85 \pm 12.45	4.45 \pm 3.43	0.001	16.15 \pm 16.84	0.783

Values are presented as n (%) or mean \pm SD.

되지 않았다(Fig. 1). Bcl-2의 면역조직화학염색에서 전통 톱니샘종과 증식폴립에서 Bcl-2의 발현이 관찰되지 않았고, 대롱샘종에서는 세포질에서 Bcl-2의 면역반응성이 관찰되었다(Fig. 2). Ki-67의 면역조직화학염색에서 Ki-67 양성인 세포(갈색)가 전통 톱니샘종, 증식폴립 및 대롱샘종 각각의 샘와의 기저부와 상피에서 관찰되었다(Fig. 3).

전통 톱니샘종군과 증식폴립군에서 p53과 Bcl-2의 발현은 차이가 없었다. Ki-67의 발현은 전통 톱니샘종군에서 14.85 \pm 12.45%, 증식폴립군에서 4.45 \pm 3.43%로 전통 톱니

샘종군에서 더 높았다($p=0.001$) (Table 2). 전통 톱니샘종군과 대롱샘종군에서 p53과 Ki-67의 발현은 차이가 없었다. Bcl-2의 발현에서 전통 톱니샘종군은 4예(20%)에서 양성이고, 대롱샘종군은 15예(75%)에서 양성으로 대롱샘종군에서 발현이 높았다($p=0.001$) (Table 2).

증식폴립과 감별하여 전통 톱니샘종을 진단하기 위한 Ki-67 단백질 발현의 절단점을 알아보려고 ROC 분석을 시행하였다(Fig. 4). ROC 곡선 아래의 면적(area under the ROC curve, AUC)은 0.808 (95% CI, 0.672-0.943)로 유의했다($p=0.001$).

Ki-67 단백질 발현에 대한 절단점은 6.0%이었고, 민감도는 60%, 특이도는 80%였다.

3. 전통 톱니샘종에서 임상병리학적 인자들과 p53, Bcl-2, Ki-67 발현의 상관관계

전통 톱니샘종군에서 나이, 성별, 폴립의 위치, 폴립의 크기 등 임상 특성과 p53, Bcl-2, Ki-67 발현에는 차이가 없었다 (Table 3).

4. 전통 톱니샘종에서 저도이형성과 고도이형성의 비교

전통 톱니샘종군에서 저도이형성과 고도이형성을 보이는 조직을 서로 비교하였다(Table 4). 전통 톱니샘종군에서 저도이형성은 12예, 고도이형성은 8예였다. p53의 발현은 저도이형성에서 0예(0%), 고도이형성에서 2예(25%)가 양성으로 차

이가 없었다($p=0.147$). Bcl-2의 발현은 저도이형성에서 0예(0%), 고도이형성에서 4예(50%)가 양성으로 고도이형성에서 더 높게 나타났다($p=0.014$). Ki-67의 발현은 저도이형성에서 12.83 ± 10.50 , 고도이형성에서 17.88 ± 15.16 로 차이가 없었다($p=0.389$).

5. 대롱샘종에서 저도이형성과 고도이형성의 비교

대롱샘종군에서 저도이형성과 고도이형성을 보이는 조직을 서로 비교하였다(Table 5). 대롱샘종군에서 저도이형성은 10예, 고도이형성은 10예였다. p53의 발현은 저도이형성에서 0예(0%), 고도이형성에서 3예(30%)가 양성으로 고도이형성에서 더 많았지만 통계적으로 의미있는 차이는 없었다($p=0.211$). Bcl-2의 발현은 저도이형성에서 7예(70%), 고도이형성에서 8예(80%)가 양성으로 차이가 없었다($p < 1.000$). Ki-67의 발현은 저도이형성에서 9.30 ± 11.26 , 고도이형성에서 23.00 ± 19.18 로 차이가 없었다($p=0.067$).

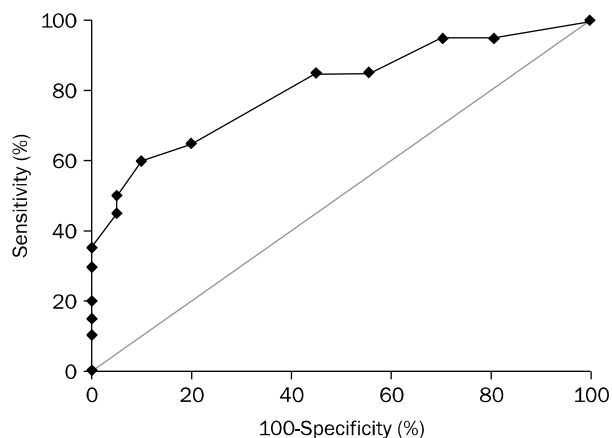


Fig. 4. Receiver operating characteristic analysis of Ki-67 level to identify traditional serrated adenomas. Area under the curve (AUC) was 0.808 (95% CI, 0.672-0.943) with cutoff point of 6%. Sensitivity=65%, specificity=80%.

Table 4. Expressions of p53, Bcl-2, Ki-67 in Traditional Serrated Adenomas with Low and High Grade Dysplasia

	TSALD (n=12)	TSAHD (n=8)	p-value
p53 expression			0.147
Positive	0 (0)	2 (25.0)	
Negative	12 (100.0)	6 (75.0)	
Bcl-2 expression			0.014
Positive	0 (0)	4 (50.0)	
Negative	12 (100.0)	4 (50.0)	
Ki-67 labeling index (%)	12.83 ± 10.50	17.88 ± 15.16	0.389

Values are presented as n (%) or mean \pm SD.

TSALD, traditional serrated adenomas with low grade dysplasia; TSAHD, traditional serrated adenomas with high grade dysplasia.

Table 3. Relationship between Clinicopathological Features and Expressions of p53, Bcl-2, Ki-67 in Traditional Serrated Adenomas

	n (%)	p53	p-value	Bcl-2	p-value	Ki-67 labeling index (%)	p-value
Age (yr)			0.495		0.619		0.483
< 60	12 (60.0)	2 (10.0)		3 (15.0)		16.50 ± 12.44	
≥ 60	8 (40.0)	0 (0)		1 (5.0)		12.38 ± 12.87	
Sex			0.495		0.619		0.667
Male	12 (60.0)	2 (10.0)		3 (15.0)		13.83 ± 12.09	
Female	8 (40.0)	0 (0)		1 (5.0)		16.38 ± 13.65	
Location			< 1.000		0.538		0.261
Proximal	4 (20.0)	0 (0)		0 (0)		21.25 ± 14.36	
Distal	16 (80.0)	2 (10.0)		4 (20.0)		13.25 ± 11.89	
Size (cm)			0.479		0.591		0.120
≤ 1	11 (55.0)	2 (10.0)		3 (15.0)		10.91 ± 8.64	
> 1	9 (45.0)	0 (0)		1 (5.0)		19.67 ± 15.07	

Values are presented as n (%) or mean \pm SD.

Table 5. Expressions of p53, Bcl-2, Ki-67 in Tubular Adenomas with Low and High Grade Dysplasia

	TALD (n=10)	TAHD (n=10)	p-value
p53 expression			0.211
Positive	0 (0)	3 (30.0)	
Negative	10 (100.0)	7 (70.0)	
Bcl-2 expression			<1.000
Positive	7 (70.0)	8 (80.0)	
Negative	3 (30.0)	2 (20.0)	
Ki-67 labeling index (%)	9.30±11.26	23.00±19.18	0.067

TALD, tubular adenomas with low grade dysplasia; TAHD, tubular adenomas with high grade dysplasia.

고 찰

툽니모양폴립이란 샘와의 모양이 툽날모양과 같은 형태로서 붙여진 명칭이다. 샘와 상피세포의 세포자멸이 일어나지 않아서 노화된 세포가 축적됨에 따라 좁은 공간에 세포가 쌓이면서 샘와의 구조가 툽니와 같은 형태로 변한 것이다. 툽니모양폴립의 분류는 여러 가지가 있지만 2010년 세계보건기구(World Health Organization)의 분류는 다음과 같다. 툽니모양폴립은 형성이상과 비형성이상으로 나누고, 비형성이상은 다시 증식폴립과 목 없는 툽니샘종으로, 형성이상은 전통 툽니샘종과 증식폴립과 샘종의 혼합폴립으로 분류한다. 툽니샘종은 형태적으로는 증식폴립 형태를 가지고 있으나, 샘와의 상피세포가 증식성과 선종성 상피의 특징을 동시에 가지고 있다.^{1,6} 목 없는 툽니샘종은 조직학적으로 샘와가 점막근층과 평행하게 성장하여 T-자 또는 L-자 형태를 보이는 것이 특징이며, 증식폴립과는 다르게 툽니모양 상피가 샘와 기저부에서 관찰되고, 샘와의 확장과 분지화가 관찰된다.³ 전통 툽니샘종은 샘와의 20% 이상에서 툽니모양 상피가 관찰되며, 표면 상피의 이행성을 동반한다. 증식폴립은 샘와의 기저부가 좁고, 툽니모양 상피가 샘와의 상부에 존재한다. 이중 가장 흔한 형태는 증식폴립이고 그 중에서도 소낭포 형태이다.

국내에서 대장암은 위암보다 그 빈도가 낮지만 위암은 감소하고 있는 반면 대장암의 빈도는 증가하고 있으며 이는 식생활이 서구화되면서 생기는 현상으로 생각된다. 생존율의 향상을 위해서는 조기 진단이 필요하며, 이를 위해 대장암의 발생과정에 대한 연구가 필요하다.

최근에 대장암의 약 10-15%는 복제오류 교정유전자 결손이 높은 현미위성체 불안정 기전으로 발생한다고 설명하고 있다. 이러한 복제오류 교정유전자 결손을 확인하는 방법으로 유전자 검사나 면역조직화학 염색을 이용한다. 이중 면역조직화학 염색은 유전자 검사에 비해 민감도와 특이도가 낮지만, 가격이 저렴하고 특수 장비나 실험실이 없어도 시행 가능하여 널리 이용되고 있다. p53은 여러 종류의 암에서 가장 흔히

돌연변이가 발생하는 종양억제유전자이다. 이와 같은 p53의 돌연변이는 샘종에서 샘암종으로 전환되는 시점에 발생한다고 알려져 있다.¹⁰

이번 연구에서는 대장의 증식폴립 및 대롱샘종과 구분되는 툽니샘종의 특성을 규명하여, 대장폴립의 암화 과정을 밝히는 데 도움이 되고자 하였다. 즉, 전통 툽니샘종의 p53, Bcl-2, Ki-67 발현이 증식폴립과 대롱샘종의 면역 염색과 비교하여 어느 쪽에 가까운지를 비교하고자 하였다. 전통적으로 대장암은 대롱샘종, 용모샘종 등의 전구병변으로부터 샘종-샘암종 경로를 통해 샘암으로 진행하고, 증식폴립은 암으로 진행하지 않는 병변으로 여겨졌다. 그러나 최근에는 증식폴립-툽니샘종-샘암종 경로가 제시되었고, 증식폴립에서 툽니샘종으로 변형될 수도 있음이 제시되고 있다.^{24,25} Cunningham과 Riddell²⁵은 툽니샘종은 증식폴립과 비교하여 p53, Ki-67이 더 높게 나타나며, 대롱샘종과 비교하여 p53이 더 낮게 나타난다고 보고하였고, Fujimori 등²⁰은 툽니샘종에서 증식폴립보다 Ki-67이 더 높게 나타나서 Ki-67의 면역염색이 툽니샘종과 증식폴립을 구분하는 데 유용하다고 하였다. 이번 연구에서는 p53의 발현이 전통 툽니샘종군에서 10.0% (2/20), 증식폴립군에서 0% (0/20), 대롱샘종군에서 15.0% (3/20)로 나타나 이전의 연구들과 유사하게 전통 툽니샘종의 p53의 발현이 대롱샘종보다는 낮고 증식폴립보다는 높았지만, 통계적으로 의미있는 차이는 없었다. 전통 툽니샘종을 저도이형성과 고도이형성으로 나누어 비교했을 때, 저도이형성보다 고도이형성에서 p53의 발현이 증가하는 이전의 연구와 유사하게^{12,13} 이번 연구에서도 p53의 발현이 고도에서 더 높게 나타났지만 통계적으로 의미있는 차이는 없었다(0 vs. 2, p=0.147). 대롱샘종을 저도이형성과 고도이형성으로 나누어 비교했을 때, p53의 발현이 고도에서 더 높게 나타났지만 통계적으로 의미있는 차이는 없었다(0 vs. 3, p=0.211).

Ki-67단백은 세포의 증식을 나타내는 단백질로, Ki-67단백의 발현은 전통 툽니샘종군에서 14.85±12.45%, 증식폴립군에서 4.45±3.43%, 대롱샘종군에서 16.15±16.84%로 나타났다. 전통 툽니샘종군과 증식폴립군 사이에는 통계적으로 유의한 차이를 보였고, 전통 툽니샘종군과 대롱샘종군 사이에는 통계적으로 유의한 차이가 없어서 이전 연구들의 결과와 유사했다. 전통 툽니샘종과 증식폴립에서 Ki-67단백 발현에 대한 ROC 분석에서는 AUC는 0.808이고 절단점은 6.0%로 Ki-67단백이 전통 툽니샘종과 증식폴립의 감별에 이용될 수 있음을 시사하였다.

Bcl-2 계열의 단백질은 세포의 자멸사를 억제하는 Bcl-2, Bcl-xL과 세포의 자멸사를 촉진하는 Bak, Bax가 있다.²⁶ Bcl-2단백의 발현은 저도의 샘종에서 암종으로 진행하면서 발현이 증가한다고 알려져 있다.¹⁴ 이번 연구에서는 Bcl-2의

발현이 전통 톱니샘종군에서 20.0% (4/20), 증식폴립군에서 5% (1/20), 대롱샘종군에서 75.0% (15/20)로 나타나서, 이전의 연구들과 유사하게 전통 톱니샘종군의 Bcl-2 발현이 대롱샘종군에서보다는 낮고, 증식폴립군에서보다는 높게 나타났다. 그러나 전통 톱니샘종군과 증식폴립군의 비교에서는 통계적인 유의성이 없었고, 전통 톱니샘종군과 대롱샘종군 간에는 통계적으로 유의하게 대롱샘종군의 Bcl-2 발현이 더 높았다. 전통 톱니샘종군과 대롱샘종군을 저도이형성과 고도이형성으로 분류하여 분석했을 때는 Bcl-2의 발현이 전통 톱니샘종에서는 고도이형성에서 더 높았고(0 vs. 4, $p=0.014$), 대롱샘종에서는 고도이형성에서 더 높았지만 통계적으로 유의한 차이가 없었다(7 vs. 8, $p<1.000$). 따라서 전통 톱니샘종의 중앙형성이 대롱샘종보다 낮을 것으로 판단된다.

톱니샘종의 위치는 Yao 등²⁷은 70% 이상에서 좌측대장에 주로 호발한다고 하였고, Kim 등²⁸의 보고서나 Hawkins 등²⁹의 보고서에서는 톱니샘종은 구불결장과 직장에서 호발한다고 하였다. 또한 Kim 등²⁸은 톱니샘종, 증식폴립과 대롱샘종이 모두 좌측대장에 호발하며, 톱니샘종은 특히 구불결장과 직장에서 호발한다고 하였다. 이번 연구에서도 전통 톱니샘종은 좌측대장에 주로 호발하여서 기존의 보고들과 일치하였다.

이번 연구에서는 대장의 전통 톱니샘종이 대롱샘종이나 증식폴립과 임상적, 병리적으로 어떤 차이를 보이는지를 분석하여, 대장폴립의 암화과정에 있어서 어떤 차이가 있는지 알고자 하였다. 그러나 샘암종이나 정상점막과의 비교가 이루어지지 않아서, 암화과정에서의 각각의 유전자의 역할을 규명하는데 일부 제한이 있었다.

결과적으로, p53의 발현은 세 군간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으며, 특히 전통 톱니샘종과 대롱샘종의 구분에 유용하지 않을 수도 있음을 시사했다. Ki-67의 발현은 전통 톱니샘종에서 증식폴립보다 높아서, Ki-67단백이 전통 톱니샘종과 증식폴립의 감별에 유용하게 이용될 수 있음을 시사하였다. 전통 톱니샘종은 대롱샘종보다 Bcl-2 발현이 낮아서 전통 톱니샘종의 중앙형성률이 대롱샘종보다 낮을 것으로 보인다.

임상적으로 톱니모양폴립은 납작하고 경계가 명확하지 않아 대장조영술이나 CT colonography로는 발견이 거의 불가능하고, 대장내시경검사로도 놓치기 쉽다. 출혈하는 경우도 매우 드물어서 대변잠혈검사로 발견하기도 어렵다. 암으로 이행하는 속도가 빠르긴 느리긴 간에 이와 같이 발견하기 어려운 것이 중간암의 속성을 가지고 있다고 생각한다. 그러므로 대장의 내시경검사 시에는 톱니모양폴립의 존재를 염두에 두고 좀 더 세심하게 관찰할 필요가 있다.

요 약

목적: 대장의 톱니샘종은 증식폴립과 샘종폴립의 특성을 동시에 가지는 샘종으로 기존의 샘종암중연쇄경로와는 다른 톱니모양경로를 통해 암으로 진행한다. 전통 톱니샘종은 대롱샘종이나 증식폴립과 비교하여 어떤 분자유전학적인 특징이 있는지 알아보려고 하였다.

대상 및 방법: 2007년 1월부터 2012년 12월까지 가톨릭대학교 여의도성모병원에서 폴립절제술로 절제된 전통 톱니샘종, 증식폴립, 대롱샘종 각각 20예를 대상으로 나이, 성별, 위치, 크기 및 p53, Bcl-2, Ki-67단백의 면역조직화학적 발현을 비교하였다.

결과: 전통 톱니샘종과 증식폴립의 비교에서 p53, Bcl-2의 발현에 있어서 차이가 없었고, Ki-67의 발현은 전통 톱니샘종에서 더 높았다. 전통 톱니샘종과 대롱샘종의 비교에서는 p53과 Ki-67의 발현에는 유의한 차이가 없었고, Bcl-2의 발현은 대롱샘종에서 더 높았다. 전통 톱니샘종에서 p53, Bcl-2, Ki-67 발현은 나이, 성별, 위치 및 크기에 있어서 통계적으로 의미있는 차이가 없었다.

결론: p53의 발현은 세 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없어서, 전통 톱니샘종과 대롱샘종의 구분에 유용하지 않을 수도 있음을 시사했다. Ki-67의 발현은 전통 톱니샘종에서 증식폴립보다 높아서, Ki-67단백이 전통 톱니샘종과 증식폴립의 감별에 도움이 될 수도 있음을 보여주었다. 전통 톱니샘종은 대롱샘종보다 Bcl-2 발현이 낮아서 전통 톱니샘종의 중앙형성이 대롱샘종보다 낮을 것으로 나타났다.

색인단어: 톱니샘종; p53; Bcl-2; Ki-67

REFERENCES

1. Mäkinen MJ, George SM, Jernvall P, Mäkelä J, Vihko P, Karttunen TJ. Colorectal carcinoma associated with serrated adenoma—prevalence, histological features, and prognosis. *J Pathol* 2001;193:286-294.
2. Longacre TA, Fenoglio-Preiser CM. Mixed hyperplastic adenomatous polyps/serrated adenomas. A distinct form of colorectal neoplasia. *Am J Surg Pathol* 1990;14:524-537.
3. Leggett B, Whitehall V. Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 2010;138:2088-2100.
4. Hong SN, Yang DH, Kim YH, et al; Multi-Society Task Force for Development of Guidelines for Colorectal Polyp Screening, Surveillance and Management. Korean guidelines for post-polypectomy colonoscopic surveillance. *Korean J Gastroenterol* 2012;59:99-117.
5. Terdiman JP, McQuaid KR. Surveillance guidelines should be updated to recognize the importance of serrated polyps. *Gastroenterology* 2010;139:1444-1447.
6. Jass JR. Serrated adenoma of the colorectum: a lesion with

- teeth. *Am J Pathol* 2003;162:705-708.
7. Pap Z, Pávai Z, Dénes L, Brînzanu K, Jung I. Hyperplastic polyps and serrated adenomas: precancerous lesions with mixed immunophenotype. *Rom J Morphol Embryol* 2011;52:797-802.
 8. Jass JR, Baker K, Zlobec I, et al. Advanced colorectal polyps with the molecular and morphological features of serrated polyps and adenomas: concept of a 'fusion' pathway to colorectal cancer. *Histopathology* 2006;49:121-131.
 9. Snover DC, Jass JR, Fenoglio-Preiser C, Batts KP. Serrated polyps of the large intestine: a morphologic and molecular review of an evolving concept. *Am J Clin Pathol* 2005;124:380-391.
 10. Takayama T, Miyanishi K, Hayashi T, Sato Y, Niitsu Y. Colorectal cancer: genetics of development and metastasis. *J Gastroenterol* 2006;41:185-192.
 11. Ozawa A, Konishi F, Fukayama M, Kanazawa K. Apoptosis and its regulation in flat-type early colorectal carcinoma: comparison with that in polypoid-type early colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 2000;43(10 Suppl):S23-S28.
 12. Purdie CA, O'Grady J, Piris J, Wyllie AH, Bird CC. p53 expression in colorectal tumors. *Am J Pathol* 1991;138:807-813.
 13. Kaklamanis L, Gatter KC, Mortensen N, et al. p53 expression in colorectal adenomas. *Am J Pathol* 1993;142:87-93.
 14. Ladas SD, Kitsanta P, Triantafyllou K, Tzathas C, Spiliadi C, Raptis SA. Cell turnover of serrated adenomas. *J Pathol* 2005;206:62-67.
 15. Sinicrope FA, Ruan SB, Cleary KR, Stephens LC, Lee JJ, Levin B. bcl-2 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 1995;55:237-241.
 16. Popescu RA, Lohri A, de Kant E, et al. bcl-2 expression is reciprocal to p53 and c-myc expression in metastatic human colorectal cancer. *Eur J Cancer* 1998;34:1268-1273.
 17. Sawyer EJ, Cerar A, Hanby AM, et al. Molecular characteristics of serrated adenomas of the colorectum. *Gut* 2002;51:200-206.
 18. Hiyama T, Yokozaki H, Shimamoto F, et al. Frequent p53 gene mutations in serrated adenomas of the colorectum. *J Pathol* 1998;186:131-139.
 19. Daniel P, Wagrowska-Danilewicz M, Danilewicz M, Stasikowska O, Malecka-Panas E. Transforming growth factor beta 1 and metalloproteinase-9 overexpression in colorectal cancer (CC) and adenoma. *Int J Colorectal Dis* 2007;22:1165-1172.
 20. Fujimori Y, Fujimori T, Imura J, et al. An assessment of the diagnostic criteria for sessile serrated adenoma/polyps: SSA/Ps using image processing software analysis for Ki67 immunohistochemistry. *Diagn Pathol* 2012;7:59.
 21. Choi KW, Jang BI, Eun JR, Lee JH, Bae YK, Kim TN. Expression of β -catenin, hMLH1, p53, Bcl-2, Bax and COX-2 in serrated adenomas of colon. *Korean J Gastrointest Endosc* 2007;34:19-27.
 22. Bellizzi AM, Rock J, Marsh WL, Frankel WL. Serrated lesions of the appendix: a morphologic and immunohistochemical appraisal. *Am J Clin Pathol* 2010;133:623-632.
 23. Fu B, Yachida S, Morgan R, Zhong Y, Montgomery EA, Iacobuzio-Donahue CA. Clinicopathologic and genetic characterization of traditional serrated adenomas of the colon. *Am J Clin Pathol* 2012;138:356-366.
 24. Harvey NT, Ruszkiewicz A. Serrated neoplasia of the colorectum. *World J Gastroenterol* 2007;13:3792-3798.
 25. Cunningham KS, Riddell RH. Serrated mucosal lesions of the colorectum. *Curr Opin Gastroenterol* 2006;22:48-53.
 26. Krajewska M, Fenoglio-Preiser CM, Krajewski S, et al. Immunohistochemical analysis of Bcl-2 family proteins in adenocarcinomas of the stomach. *Am J Pathol* 1996;149:1449-1457.
 27. Yao T, Kouzuki T, Kajiwarra M, Matsui N, Oya M, Tsuneyoshi M. 'Serrated' adenoma of the colorectum, with reference to its gastric differentiation and its malignant potential. *J Pathol* 1999;187:511-517.
 28. Kim HJ, Kim TH, Lim BL, et al. Clinical Features of Colorectal Serrated Adenomas. *J Korean Soc Coloproctol* 2006;22:91-96.
 29. Hawkins NJ, Bariol C, Ward RL. The serrated neoplasia pathway. *Pathology* 2002;34:548-555.