

## 임신성 용모성 질환에서 cyclin E의 발현

연세대학교 의과대학 산부인과학교실  
이지원 · 김영태 · 김재욱 · 김성훈 · 김동규

### Expression of cyclin E in gestational trophoblastic disease

Ji Won Yi, M.D., Young Tae Kim, M.D., Jae Wook Kim, M.D.,  
Sung Hoon Kim, M.D., Dong Kyu Kim, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

Gestational trophoblastic disease represents a spectrum of lesions characterized by an abnormal proliferation of trophoblast, including partial mole, complete mole, invasive mole, choriocarcinoma, and placental site trophoblastic tumor, which have varying propensities for local uterine invasion and metastasis. Recent advances have demonstrated various clinicopathologic factors associated with gestational trophoblastic disease. But there are few reports on concerning factors related to persistence or malignant transformation in gestational trophoblastic disease. Increasing evidences have indicated that cyclin E is a nuclear protein essential for the G1-S phase transition and its overexpression has been reported to be correlated with certain cancers. To our knowledge, there has been no published study on the expression of cyclin E in gestational trophoblastic disease.

The current study was conducted not only to examine the expression of cyclin E in a spectrum of gestational trophoblastic disease classified by the pathological diagnosis but also to determine whether there is any relationship between the cyclin E expression and clinical risk factors, such as patient's age, parity, initial serum  $\beta$ -hCG, and its persistence. The immunohistochemical expression of cyclin E was determined in formalin-fixed paraffin-embedded sections of 3 hydropic abortions, 15 partial moles, 33 complete moles, 2 invasive moles and 3 choriocarcinomas. Cyclin E index was defined as the percentage of positively labeled nuclei per 1000 cells.

Choriocarcinoma had a significantly higher cyclin E expression compared to hydropic chages( $p=0.015$ ); although there was a difference in cyclin E expression between complete mole and choriocarcinoma, this had no statistical significance( $p=0.051$ ). In contrast to our expectation, cyclin E expression was the lowest in invasive mole but numbers of cases were too small to draw any conclusion. Comparison of cyclin E expression according to age, parity, initial serum  $\beta$ -hCG, and persistence showed no significant difference.

Our results suggest that expression of cyclin E may play an important role in malignant transformation of gestational trophoblastic disease. However, to examine the potential clinical value of cyclin E as a prognostic marker in gestational trophoblastic disease, prospective studies with a large number of cases are required.

**Key Words:** Gestational trophoblastic disease, trophoblast, cyclins, cyclin E

## 서 론

임신성 용모성 질환은 영양배엽세포의 비정상적인 증식을 특징으로 하며 부분 포상기태, 완전포상기태, 침윤성기태, 태반부착부 용모성종양 및 용모상과암으로 이루어져 있다. 이들 각 질환은 임신과 연관되어 있으며 전이가 심한 상태에서도 화학요법으로 높은 치료성적을 갖는 인간의 종양종 하나이다<sup>1</sup>. 포상기태 임신의 흡입소파술 후 80%에서는 자연 치유가 되나 약 20%의 포상기태 환자가 지속성 용모성 질환으로의 이행을 하며 내과적 및 외과적 치료를 받게된다<sup>2</sup>. 이러한 위험이 있는 환자를 미리 예측하기 위한 여러 논의가 있지만 아직 정확치 않은 실정이다<sup>3-6</sup>. 현재까지는 연속적인 혈중  $\beta$ -hCG(human chorionic gonadotropin, 이하 hCG)값의 추적검사가 가장 신뢰할 수 있고 민감한 방법으로 받아들여지고 있다<sup>7,8</sup>. 즉, 지속성 용모성 질환의 진단은 선행임신의 종결이나 포상기태의 흡입소파술 후 일주간격으로 혈중  $\beta$ -hCG 값을 측정하여 기존 값보다 증가 혹은 지속되거나 전이성 병변을 발견시 할 수 있다. 흡입소파술 후 평균 약 9주 정도면 혈중  $\beta$ -hCG 값이 정상으로 된다<sup>4</sup>. 만약 높은 혈중  $\beta$ -hCG값이 계속적으로 측정되고 부정기적인 질 출혈, 커진 자궁 및 난포막-황체낭종(theca-lutein cyst)의 소견이 있으면 추적검사 동안 지속성 용모성 질환을 의심해야 하는데 아직까지는 조기에 진단 가능한 방법이 없는 형편이다. 그러므로 지속성 용모성 질환의 위험이 있는 환자를 가능한 조기에 발견 할 수 있는 진단 방법이 요구되고 있다.

G1, S, G2, M기로 이루어진 세포주기는 각 기마다 이를 조절하는 관련인자가 있으며 이들의 기능에 따라 세포주기의 진행이 조절된다. 근래의 다양한 동물들에서의 연구에서 진행세포의 세포주기조절에 관한 많은 정보가 밝혀졌는데 이 중 세포분열에 관여하는 중요한 단백질 중의 하나가 cyclins임이 알려졌다<sup>9</sup>. 즉, 세포의 증식은 cyclins와 cyclin-dependent kinases(cdks)의 상호작용과 종양억제유전인자에 의해 조절되어진다<sup>10-13</sup>. Cyclins는 cdks에 결합하여 활성화되어 염색체의 응축, 세포골격의 재정렬, 핵막의 소실 등에 필요한 단백질을 인산화시킨다<sup>14,15</sup>. Cyclins는 세포주기에 그들의 나타나는 시점에 따라 2그룹으로 나뉘는데 mitotic cyclins인 A와 B, G1 cyclins인 cyclin C, D, E 등이 밝혀져 있다<sup>16</sup>. 세포

주기 조절의 결정적인 checkpoint는 G1 기에 있으며 이 시기의 cyclin 중 특히 cyclin D와 cyclin E는 G1 기에 가장 많은 발현을 보이며 G1기에서 S기로의 진행을 조절하는데 중요한 역할을 하며 과발현시 G1기를 단축시키고 가속화시키는 것으로 알려져 있다<sup>17</sup>. 이러한 연구결과와 더불어 cyclin D와 E가 종양발생과 관련됨이 몇몇 연구에서 현재까지 밝혀지고 있다<sup>18-23</sup>. 즉, cyclins의 발현이상과 세포주기 조절의 이상이 연관되어 있으며 종양생성에 cyclins가 관련되어 있다는 것이다. G1 Cyclins의 하나인 cyclin E는 G1-S 전이에 필수적인 조절인자이며 cdk2와 복합체를 형성한 후 S기로 들어가기 직전에 활성화된다고 알려져 있다<sup>24,25</sup>. 핵에 존재하는 단백질인 cyclin E는 G1-S 전이기에 그 발현이 최고치로 증가하며 이러한 소견은 현재 분열하는 세포뿐만 아니라 휴지기에 있다가 다시 세포주기로 재 진입하는 세포에서 모두 발견된다. Cyclin E-cdk2 복합체의 활성화에 따라 G1기의 단축의 정도가 결정되어지며 이는 cyclin E의 발현도에 따른다<sup>26</sup>. 같은 G1 cyclin인 cyclin D는 분열하는 세포에서 항상 존재하지 않으나 cyclin E는 G1기 후반에서 항상 증가하는 양상을 보인다<sup>24,25</sup>. 최근의 연구에서 cyclin E가 암조직에서 그 발현이 증가함이 유방암, 위암, 백혈병 등에서 밝혀지고 있으며 이는 cyclin E가 암세포에서 조절되지 않은 세포의 증식을 반영한다고 할 수 있다<sup>20,23,27</sup>. 암생성은 결국 조직의 정상적인 발생의 이상이 있거나 종양세포가 선택적으로 증식하는 것에 기인하고 이러한 세포의 비정상적인 증식을 cyclin이 반영한다면 임상적으로 큰 효용성이 있을 것이다.

정상 태반조직의 영양배엽세포는 침습성이 강하고 활발하게 분열을 하며 이런 습성은 악성종양에서 보여지는 양상과 유사하다<sup>28</sup>. 그러나, 정상발생에서는 이런 영양배엽세포의 특성은 적절하게 조절되어지고 제한되어진다. 태반형성과정에 대한 연구에서 cyclin E가 분열하는 세포 내에서 그 발현이 증가하며 영양배엽세포의 증식과 분화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>29-31</sup>. 영양배엽세포의 증식을 조절하는 기능이 cyclin E에 있다면 비정상적인 영양배엽세포의 증식을 보이는 임신성 용모성질환에서 cyclin E의 역할이 있을 것으로 예상되며 여러 종류의 암조직에서 cyclin의 과발현이 관찰되었듯이 변화된 발현양상이 관찰될 것이다.

임신성 용모성 질환의 위험도를 예측하기 위한 분자 유

전화적인 여러 시도가 있었으나 뚜렷한 성과를 가져오지는 못하고 있다. 임상적으로 중요한 지속성 임신성 용모성질환으로의 이행을 예측하기 위해 포상기태 임신의 핵형, 영양배엽세포에서의 종양유전자의 발현도, 성장인자의 발현도, 혹은 종양억제유전자의 발현도를 정상태반조직과 임신성 용모성질환에서 비교 연구하였으나 정상태반 조직이 종양세포의 양상을 갖게되는 과정은 아직 의문으로 남아있으며 계속 연구가 진행 중이다<sup>32-37</sup>.

그러므로 본 연구에서는 세포주기 조절의 주요인자인 cyclin E의 발현을 임신성 용모성질환의 조직학적인 분류별로 비교하고 현재 임상적으로 치료 및 예후지표로 쓰이는 혈중  $\beta$ -hCG 값과의 연관성, 지속성 임신성 용모성질환에서의 발현 양상을 비교하여 cyclin E의 임신성 용모성 질환에서의 예후 지표로서의 의미를 알고자 한다.

## 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

연세대학교 의과대학 세브란스 병원 산부인과에서 1987년 5월부터 1996년 3월까지 흡입소파술 혹은 조직생검을 받은 환자 56명의 검체물이었고 파라핀 포매조직을 이용하였다. 총 56명의 파라핀 블록으로부터 Hematoxyline-Eosine(이하 H & E) 염색 상에서 각각의 진단은 완전포상기태 33명, 부분포상기태 15명, 침윤성기태 2명, 용모상피암 3명, 정상태반조직 3명이었다. 11명의 환자가 지속성 임신성용모성질환이었으며 이들 환자는 흡입소파술이나 화학요법 후에도 지속적으로 유지 혹은 상승하는 혈중  $\beta$ -hCG 값과 다른 장기에 전이성 병변이 발견되는 경우 진단되었다.

### 2. 방법

#### 가. 임상기록 검색

연구대상 환자의 의무기록지를 조사하여 임상기록과 병리학적 소견들을 재검토하여 진단명과 환자의 나이, 산과력, 지속성 임신성 용모성질환의 발병 유무, 초기 혈중  $\beta$ -hCG 값 등을 조사하였고 혈중  $\beta$ -hCG 값은 방사성면역법을 이용하였다.

#### 나. 병리조직학적 검색

병리조직학적 검색은 10% 중성 포르말린에 12시간 이상 고정 후 일련의 과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 보관된 조직을 이용하였다. 각 예에서 H&E염색된 유리 슬라이드를 병리과에서 검토를 시행하여 각 진단에 따른 세포형태를 확인하였다.

#### 다. 면역조직화학염색

파라핀 포매괴로부터 4 $\mu$ m 두께의 조직절편을 얻은 다음 poly-L-lysine coated slide에 mounting한 후 xylene으로 파라핀을 제거하고 100%, 95%, 70% 에탄올에서 함수시킨 후 항원성회복을 위하여 10mM sodium citrate 용액에 넣은 후 5분 동안 60°C에서 가열하였다. 이어서 10분 동안 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액에 담갔다. 비특이적인 단백질과의 결합을 방지하기 위하여 모든 슬라이드를 정상 염소 혈청에 30분 동안 배양시켰다. 1:40으로 희석된 cyclin E 일차항체용액(murine monoclonal Ab, Novocastra, UK)에 4°C에서 하룻밤 동안 배양하였다. 다시 30분 동안 실온에서 배양 후 연속하여 30분 동안 실온에서 biotinylated goat antimouse IgG로 ABC reagent(DAKO)와 배양시킨다. 대조 염색으로 hematoxylin 염색과 chromogen으로 aminocarbonylcarbazole(AEC)을 사용하여 핵내에 갈색으로 염색되게 하였다.

#### 라. 면역조직화학염색 판독

2인 이상의 병리 의사들의 도움 하에서 면역조직화학적 염색결과를 판독하였다. 면역조직화학적 염색 슬라이드에서 cyclin E의 발현여부를 판독하였으며, 영양배엽세포의 핵내 갈색으로 염색되는 경우를 양성으로 간주하였으며 고배율하에서 총 1000개의 세포를 세어 양성 세포에 대한 백분율을 구해 cyclin E index(CEI)를 정하였다.

### 3. 통계학적 검색

통계는 SPSS(ver 8.0) 프로그램을 사용하였으며 각 진단별 cyclin E 발현도의 차이를 보기 위해 one way ANOVA test를 사용하였으며 위험인자별 cyclin E 발현도의 차이를 보기 위해 Student t-test로 결과를 분석하

여  $p<0.05$  인 경우를 통계학적으로 유의하다고 정의하였고 혈중  $\beta$ -hCG값과 cyclin E index의 상관관계를 보기 위하여 이변수 상관분석을 사용하였다.

## 결 과

### 1. 임상정보 및 조직학적 소견

병리조직학적 검색결과 총 56 예 중 대조군인 수포성 변화를 보이는 태반조직이 3예(5.4%), 부분포상기태가 15예(26.8%), 완전포상기태가 33예(58.9%), 침윤성기태가 2예(3.6%)였고 용모상피암이 3예(5.4%)였다.

임상적인 예후인자를 고려하기 위하여 환자의 연령을 조사하였으며 연령 범위는 17세에서 51세에 걸쳐 있었고 평균 연령은 30.6세이었다. 40세를 기준으로 환자의 분

포를 조사하여 40세 미만이 43예(76.8%), 40세 이상이 13예(23.2%)였다.

다음으로 환자의 산과력을 조사하여 미산부가 23예(41.1%), 경산부가 33예(58.9%)였다.

방사성면역법을 이용하여 측정한 초기 혈중  $\beta$ -hCG는 100,000mIU/L 미만이 21예(37.4%), 100,000mIU/L 이상이 35예(62.6%)였다.

수술 후 혹은 화학치료 후에 지속적으로 혈중  $\beta$ -hCG의 상승을 보였거나 감소를 하지 않고 유지되거나 전이성 병변이 진단된 경우에 지속성 임신성 용모성 종양(persistent gestational trophoblastic tumor)으로 분류를 하였다. 이 결과 11예(19.6%)가 지속성 임신성 용모성종양으로 나머지 45예(80.4%)가 비지속성 임신성 용모성종양으로 분류되었다 (Table 1).

Table 1. Clinicopathological characteristics of 56 patients with gestational trophoblastic disease

	number of patients	percent(%)
Pathological Diagnosis		
hydropic abortion	3	5.4
partial mole	15	26.8
complete mole	33	58.9
invasive mole	2	3.6
choriocarcinoma	3	5.4
Age(years)		
<40	43	76.8
≥ 40	13	23.2
Parity		
nulliparous	23	41.1
multiparous	33	58.9
Initial hCG (mIU/mL)		
<100000	19	29.5
≥ 100000	37	70.5
Persistence		
persistent GTT	11	19.6
non-persistent GTT	45	80.4
Total	56	100

## 2. 조직학적 분류별로 본 cyclin E 발현

면역조직화학적 검사에서 cyclin E항체에 핵내 염색이 되는 것을 세포성 영양배엽세포와 합포체성 영양배엽세포에서 다 볼 수 있었으며 수포성 변화를 보이는 태반조직에서는 세포성 영양배엽세포에 그 발현이 국한되어 있었으며 완전포상기태는 합포체성 영양배엽세포에 국한이 되어있었으나 용모상피암의 조직에서는 두 가지 영양배엽세포에서 다 볼 수 있었다(Fig. 1, 2, 3 and 4). 조직학적 진단별로 본 cyclin E의 발현은 다음과 같다. 대조군인 수포성 변화를 보이는 태반조직의 cyclin E index는 평균  $24.33 \pm 3.47\%$ , 부분포상기태는 평균  $38.20 \pm 3.69\%$ , 완전포상기태는 평균  $38.36 \pm 2.21\%$ , 침윤성기태는  $19.50 \pm 4.50\%$ , 용모상피암은  $63.00 \pm 5.50\%$ 이었다(Table 2). 침윤성기태를 제외한 임신성 용모성질환의 모든 예에서 대조군인 수포성 변화를 보이는 태반조직보다 높은 cyclin E의 발현도를 보였으며 각 진단간의 cyclin E 발현도의 차이가 통계학적으로 의미 있게 나왔다( $p=0.002$ ). 용모상피암의 경우 가장 높은

cyclin E의 발현도를 보였다. 각 진단별 cyclin E의 발현도를 다중비교시 용모상피암과 대조군간( $p<0.05$ )에서와 용모상피암과 침윤성기태간( $p<0.05$ )에 통계학적으로 유의하게 높은 발현도를 보였다. 통계학적 의미는 없지만 용모상피암과 완전포상기태간에 차이가 있음이 관찰되었다( $p=0.051$ ).

Table 2. Comparison of cyclin E indexes according to pathologic diagnosis

Pathologic diagnosis	No. of cases	cyclin E index(%)
		(mean $\pm$ SE)
hydropic abortion	3	.33 $\pm$ 3.47*
partial mole	15	38.20 $\pm$ 3.69
complete mole	33	38.36 $\pm$ 2.21
invasive mole	2	19.50 $\pm$ 4.50**
choriocarcinoma	3	63.00 $\pm$ 5.50*,**

\* $p<0.05$

\*\* $p<0.05$

### 3. 임상적인 예후인자와 cyclin E의 발현도

임신성 용모성 질환의 위험인자에 속하는 나이, 산과력, 초기 혈중  $\beta$ -hCG를 조사하여 cyclin E의 발현도를 cyclin E index(%)로 본 결과 40세 미만의 경우 평균  $37.74 \pm 2.11$  과 40세 이상의 경우 평균은  $39.77 \pm 4.67$ 로 통계학적으로 차이는 없었다. 산과력은 초산부에

서 평균  $40.87 \pm 3.14$  와 경산부에서 평균  $36.36 \pm 2.42$  로 유의한 차이가 없었고 치료전 혈중  $\beta$ -hCG 값이 100000mIU/mL미만인 경우에 평균  $38.29 \pm 3.10$ 이고 100000mIU/mL이상인 경우는 평균  $38.17 \pm 2.50$ 으로 역시 차이가 관찰되지 않았다(Table 3). 두 연속변수인 cyclin E index 와 초기 혈중  $\beta$ -hCG와 상관관계를 분석결과 유의한 상관관계가 없었다(Fig. 5).

Table 3. Cyclin E expression according to age, parity and initial  $\beta$ -hCG

	No. of cases	Cyclin E index(%)( mean $\pm$ SE)
Age(years)		
<40	43	$37.74 \pm 2.11$
$\geq 40$	13	$39.77 \pm 4.67$
Parity		
nulliparous	23	$40.87 \pm 3.14$
multiparous	33	$36.36 \pm 2.42$
initial $\beta$ -hCG(mIU/mL)		
<100000	21	$38.29 \pm 3.10$
$\geq 100000$	35	$38.17 \pm 2.50$

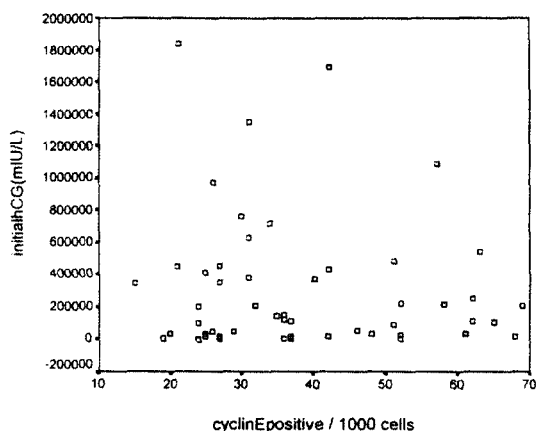


Fig. 5. Correlation between cyclin E index and initial  $\beta$ -hCG

### 4. 지속성 용모성질환에서의 cyclin E의 발현도

흡입소파술이나 화학요법 후에도 지속적으로 유지되거나 상승하는 혈중  $\beta$ -hCG값과 흉부 엑스레이 검사나 골반 초음파검사 혹은 컴퓨터 단층촬영상 자궁이외의 장기에 전이성 병변이 발견되는 경우에 지속성 임신성 용모성질환의 진단을 했으며 지속성 임신성용모성종양으로 진단된 11예에서의 cyclin E index(%)는  $40.82 \pm 5.10$  이었고 나머지 예에서는  $38.52 \pm 2.13$  으로 나왔으며 유의한 차이가 없었다(Table 4).

Table 4. Cyclin E index and persistent GTT(gestational trophoblastic tumor)

	No. of cases	cyclin E index(%)(mean $\pm$ SE)
persistent GTT	11	$40.82 \pm 5.10$
non-persistent GTT	45	$38.52 \pm 2.13$

## 고 찰

진핵세포는 G1, S, G2, M기로 구성되는 세포주기의 중요한 감시체계를 2군데에서 갖고 있으며 그중 하나는 G1기 말기에 존재하는 G1/S checkpoint와 G2기 후반부에 있는 G2/M check point이다. cyclin 단백질과 CDK(cyclin dependant kinase)는 주관하는 세포주기에 최대로 발현을 하여 다음 주기로 진행되는데 필요한 인자를 활성화하며 세포주기 조절에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. Cyclins는 현재까지 10가지 종류가 포유류에서 발견되었는데 세분화된 것까지 포함시키면 15가지 종류이다. 초기에는 G1 cyclins의 하나인 cyclin D1에 대한 관심이 집중되었으나 또 다른 G1 cyclins인 cyclin E에 초점이 맞춰지고 있다. 395 아미노산으로 구성된 단백질로 19번 염색체에 위치하는 cyclin E는 정상세포의 증식과 발생에 중요한 역할을 한다. cyclin E의 과발현이 G1세포주기를 가속화시키며 S기로의 진입을 단축시키며 종양세포에서 cyclin E의 이상발현이 관찰되어 현재 여러 종류의 종양세포에서 연구가 진행되어지고 있다<sup>38</sup>. Cyclin E의 G1기에서 S기로의 진행 기전은 retinoblastoma 유전자(pRB)와 연관된 경로로 pRB를 인산화시켜 불 활성화시킨 다음 세포전사요소인 E2F를 방출케하여 DNA합성을 일으키게 한다<sup>39,40</sup>. 이런 과정은 CKIs(cyclin-dependant kinase inhibitors)에 의하여 조절되어지며 여러 종류의 세포 주기 조절인자와 상호작용을 한다. 최근에는 pRB를 거치지 않는 기전이 제시되어지는데 종양유전자인 Myc 과 Ras 가 관련된다고 한다. 또한 종양 바이러스로 알려진 인유두종 바이러스(human papillomaviruses)와 거대세포 바이러스(CMV, cytomegalovirus)와 cyclin E가 연관되어 있음이 밝혀지고 있다. cyclin E가 세포의 종양화과정에 역할을 담당 할 것이라는 가설이 제기되어 여러 연구가 진행되어 cyclin E가 관련되어 있음이 밝혀진 종양은 유방암, 위암, 대장직장암, 성인성 임파구성 백혈병, 자궁경부 편평상피세포암, 자궁내막암, 난소암, 신장암, 폐암 및 피부암 등이 있다<sup>38</sup>. 특히 유방암에서 cyclin E의 과발현은 암의 진행기수와 등급에 비례함이 보고되어 유용한 예후인자로서 제시되어지고 있다<sup>23,39</sup>. 자궁경부 편평상피암에서는 인유두종 바이러스와 관련하여 유발인자로서 추측되어지며 임상적 예후지표로서의 역할은 아직 확실치 않

다. 자궁내막암에서는 정상조직과 자궁증식증 및 암병변에 이르기까지 cyclin E의 증가양상을 보이고 암생성기전에서 cyclin E의 역할이 제시되어지고 있다. 난소암에서 발생한 투명세포암에서 cyclin E의 발현이 증가하며 윌러리안 기원의 투명세포암을 진단하는데 도움이 될 것으로 보고하였다. 또한, cyclin E의 과발현은 염색체의 불안정성을 야기한다는 보고가 최근 되어 있으며 S기로의 진입이 끝난 세포에서 정상적인 분화에 cyclin E발현의 감소가 필수적이라고 한다.

정상세포에서 종양화세포로 변이되는 과정에서 cyclin E의 정확한 역할기전은 아직 알려져있지 않다. 특정 암세포에서 지금까지 밝혀진 cyclin E의 과발현이 종양생성에서 cyclin E의 직접적인 역할인지 아니면 변이된 암세포에서 보여지는 결과인지는 확실치 않다. 그렇지만 정상세포의 세포주기에서 cyclin E와 CDK 결합체가 중요한 요소라면 종양세포 생성의 기전에서 cyclin E 유전자의 돌연변이나 cyclin 조절인자 단백질의 변이가 큰 영향을 미칠 것이라는 가정을 할 수 있다. cyclins의 종양생성기전에 대한 역할을 계속 연구한다면 암을 치료하는 데 있어서도 cyclins의 유용성을 알아낼 수 있을 것이다. 예를 들면 한 실험실 연구에서는 세포에 anti-cyclin E 항체를 주입함으로 해서 G1 세포주기에서 정지되어 S 세포주기로 진행되지 못함을 보고하여 이런 가능성을 제시했다<sup>26</sup>.

암세포 뿐만 아니라 정상발생의 태반형성과정에 대한 cyclins의 역할에 대한 연구가 이뤄져왔다. 정상 태반조직은 모체의 면역체계로부터 공격을 받지 않고 활발하게 증식을 하고 자궁벽 및 주위조직으로 침습 하는 능력을 지니고 있으나 적절하게 조절되어져 종양화 기전의 연구에 관심의 대상이되고 있다. G1 cyclins 의 태반조직에서의 발현에 대한 몇몇 연구에서 cyclin E에 대한 상반되는 결과가 나와있다. 활발히 증식하는 임신초기 태반조직의 영양배엽세포의 핵에서는 cyclin E의 발현이 관찰된다는 연구보고와 반대로 더 이상 증식치 않고 분화를 마친 세포의 핵내에서 관찰된다는 보고이다<sup>29,31</sup>. cyclin E의 감소된 발현이 영양배엽세포의 분화를 돕는 역할을 한다는 보고가 실험실 연구에서 나와있으며 태반조직세포의 증식과 분화에 cyclin E의 역할이 제시되어지고 있다<sup>30</sup>.

임신성 용모성 질환은 여러 가지 조직병리적인 양상을

가지며 임상적으로는 비정상적인 임신과 종양화의 위험성을 갖는 특징이 있다. 포상기태 임신의 빈도는 지역적 특성이 있으며 아시아와 라틴 아메리카에서 훨씬 더 빈도가 많으며 전 세계적으로 1000임신당 0.2에서 2.1건수에 해당하는 발생율을 보인다. 대부분의 포상기태환자는 흡입소파술 후 자연치유가 되나 20%의 환자에서 지속성으로 이행되며 전이성으로 변화할 수 있다. 조직학적 진단이나 혹은 임상양상만으로는 임신성 용모성 질환의 예후를 확실히 가려내기가 힘들며 예를 들면 부분 포상기태 임신의 경우  $\beta$ -hCG의 높은 치수가 지속적으로 관찰이 잘 되나 자궁 밖으로 전이되는 경우는 극히 드물다.  $\beta$ -hCG 치수는 남아있는 영양배엽세포의 수에 비례하기 때문에 정량적인 혈중  $\beta$ -hCG의 측정이 진단과 치료에 중요한 지표가 되고 있다. 고위험 전이성 용모성질환의 경우 항암제 치료 후 66%에서 치료가 되는 것으로 알려져 있다. 항암제 치료가 필요하게되는 임신성 용모성종양을 조기에 예측하기 위한 방법으로 임신성 용모성질환이 종양화 되는 과정에 대한 연구가 분자유전학적으로 이뤄지고 있다. 대조군과 포상기태 조직에서 종양억제 유전자인 p53의 발현과 종양유전자인 c-fms의 발현의 차이로 포상기태가 종양적인 특성을 갖는다는 보고가 있다<sup>33,36</sup>. 반면 c-myc, c-erb 등의 종양유전자의 발현은 정상태반조직과 비교할 때 포상기태 임신에서 다른 차이를 보이지 않으며 포상기태가 종양의 특성을 갖기보다는 유산의 한 형태라는 보고가 있다<sup>33,34</sup>. 이와 같이 현재까지 분자유전학적으로 임신성 용모성질환의 양상을 예측할 수 있는 지표물질은 없는 실정이다.

cyclin E의 종양화과정에서의 가능한 역할을 임신성 용모성질환에서 관찰하기 위하여 본 실험을 시작하였다. 본 연구에서는 면역조직화학염색법으로 각 조직진단별로 cyclin E의 발현도를 비교하였는데 일단 조직진단별로 cyclin E 발현도의 차이가 있었으며 용모상피암이 그 발현도가 가장 높았고 통계학적으로 유의하였다. 이는 cyclin E가 다른 종류의 암에서 그 악성도에 따라 발현도가 증가한다는 보고와 견주어 볼 때 일치한다<sup>23,27</sup>. 또한 이 결과는 임신성 용모성질환에서 p53 발현도의 증가소견을 보고한 연구와 더불어 세포주기에서 상호작용을 하는 cyclin E와 p53이 영양배엽세포의 악성화 기전에 중요한 역할을 함을 의미한다<sup>37</sup>. 임신성 용모성 질환의 악성화 경향을 비교하여 양극단에 대조군인 수포성 태반조

직과 용모상피암을 놓는다면 침윤성기태는 완전포상기태와 용모상피암의 중간에 놓을 수 있는데 본 연구에서 침윤성기태에서 cyclin E 값이 다른 군에 비해 제일 낮은 것은 예외적으로 생각되어진다. 보통 침윤성 기태의 진단은 과도한 영양배엽세포의 증식과 함께 자궁근층이나 혈관내에서 영양배엽세포와 용모의 침윤을 발견시 할 수 있다. 그러므로 자궁적출술에 의해 얻어진 조직이 아니고는 침윤성 기태의 해부학적 진단을 얻기가 어렵고 예리한 소파술로 얻어진 자궁근육층 조직이라 하더라도 정확한 진단은 힘들다. 본 실험의 경우 침윤성기태에서 cyclin E 발현이 다른군에 비해 낮게 나온 것은 이런 진단적 어려움이 작용하였거나 다른 기전이 관여 할 수도 있으나 그 이유는 확실치 않다. 과거의 여러 연구들을 바탕으로 임신성 용모성질환의 임상양상을 예측하기위해 미국 국립암연구소와 WHO(World Health Organization) 및 FIGO(International Federation of Gynecology and Obstetrics)에서 여러 가지 위험인자를 제시하였으며 연령, 초기 $\beta$ -hCG값, 선행임신부터 발병까지의 기간, 선행임신력, 다른 장기로의 전이, 선행화학치료, 환자와 배우자의 혈액형, 종양의 크기 등이 있다. 본 연구에서는 환자의 나이와 산과력 그리고 초기 혈중  $\beta$ -hCG를 사용하여 cyclin E의 발현도를 조사하여 그 연관성을 보고자 하였으나 유의한 결과는 나오지 않았다. 김등이 발표한 40년간의 한국여성의 임신성 용모성종양의 발생경향을 보고한 연구에서 1990년대 이후 침윤성기태나 용모상피암의 발생은 40세 이상의 여성에서 26배가 많았으며 산과력을 비교시 분만력이 3회이상인 여성에서 13.4배가 많았다고 한다. 나이와 산과력은 서로 밀접한 관계가 있으며 발생율을 반영할 수 있으나 임신성 용모성 질환의 악성화경향에 중요한 영향을 미칠 것으로 생각되지는 않는다. 혈중  $\beta$ -hCG값이 100000mIU/mL 이상인 경우와 미만인 경우에서 각각 cyclin E값을 비교하고 혈중  $\beta$ -hCG값과 cyclin E의 상관관계를 보았으나 의미 있는 결과는 나오지 않았다. 그러나 혈중  $\beta$ -hCG와 cyclin E값의 유의한 연관성이 없음을 다른 식으로 해석 할 수 있다. 즉, 임상적으로 중요한 지표인 혈중  $\beta$ -hCG가 영양배엽세포의 증식과 존재를 의미한다면 여러 종류의 암에서도 계속 제시되어온 가정처럼, cyclin E의 발현도의 차이가 세포종식의 결과만이 아닌 유전자의 증폭이나 돌연변이에 의하며 악성화경향의 주요인자라는 것이다. 지속성 임신성 용모



성 종양은 침윤성기태 또는 용모상피암의 조직과 임상양상을 보이는데 임상적으로는 선행임신 종결 후 혈중  $\beta$ -hCG값이 유지 또는 상승하게 된다. 임신성 용모성 질환은 화학요법치료에 비교적 좋은 효과를 보이는 질환이지만 고위험군인 지속성 임신성 용모성 종양의 경우 치료 실패율이 15%로 알려져 있다. 임상적인 관심은 이런 환자를 미리 예측하고 높은 치료효과를 보기 위한 것에 있다. 흡입소파술 후 자연 치유가 되는 포상기태, 즉 비지속성 임신성 용모성 종양과 계속적인 화학요법 치료를 요구하는 지속성 임신성 용모성 종양의 감별 및 조기진단이 중요한데 혈중  $\beta$ -hCG값의 추적과 전이여부에 대한 진단 검사 이외에는 특이한 방법은 없는 실정이다. 이번 연구에서는 cyclin E가 지속성 임신성 용모성 종양의 진단적 지표로서의 가능성을 알아보고자 지속성 임신성 용모성 종양과 비지속성 임신성 용모성 종양에서 cyclin E의 발현도를 비교하여 보았다. Cyclin E의 발현은 유의한 차이를 보이지 않았으나 42예의 비지속성 임신성 용모성종양에 비해 11예의 지속성 임신성 용모성 종양은 적은 수의 집단으로 의미 있는 결과는 좀 더 많은 수의 집단의 연구가 필요할 것이다.

조직 진단별로 보인 cyclin E의 면역 조직화학적 염색 결과의 유의한 차이는 cyclin E의 과발현이 임신성 용모성 질환에서 영양배엽세포가 악성화 경향을 지니는 것과 관계가 있는 것으로 생각된다. 이런 cyclin E의 발현도의 차이에 어떤 기전이 관여하는지 영양배엽세포가 악성화 하는데 이런 발현도의 차이로 어떻게 다른 결과가 오는가에 관해서는 앞으로 더 연구가 필요할 것이다. 마지막으로, 임신성 용모성 질환에서 cyclin E의 임상적 예후인자로서의 가능성은 좀 더 많은 수의 증례를 바탕으로 한 전향적인 연구가 필요할 것이다.

## 결론

본 연구에서는 임신성 용모성질환에서 cyclin E의 발현을 알아보고자 조직진단별 및 예후인자별로 지속성 임신성용모성종양에서 면역조직화학적 방법을 이용하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 면역 조직화학적염색법을 이용하여 임신성 용모성 질환에서 cyclin E의 발현도를 조사하여 본 결과 cyclin E

index의 평균값은 각각 대조군에서는 24.33%, 부분 포상기태에서는 38.2%, 완전 포상기태에서는 38.36%, 침윤성기태에서는 19.5%, 용모상피암에서는 63% 으로 나왔으며 다중비교에서 용모상피암과 대조군간에서, 또한 용모상피암과 침윤성기태간에서 통계학적으로 의미 있는 차이를 보였다.

2. 임상학적 예후인자인 나이, 산과력, 혈중  $\beta$ -hCG 와 cyclin E의 발현도와는 유의한 상관관계가 없었다.

3. 지속성 임신성 용모성 종양의 유무에 따라 cyclin E의 발현을 비교한 결과 두 군간에는 유의한 차이가 없었다.

결론적으로 임신성 용모성질환에서 cyclin E 발현은 각 조직 진단별로 유의한 차이가 있었으며 용모상피암에서 그 발현이 가장 높았다. 그러나 다른 예후인자인 나이, 산과력, 혈중 $\beta$ -hCG 와 관련하여 cyclin E 발현은 유의한 차이가 없었고 지속성 임신성용모성질환에서도 cyclin E 발현에는 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러므로 cyclin E 발현은 영양배엽세포의 악성화경향에 있어 중요한 역할을 담당하고 있음을 알 수 있었으나 임신성 용모성 질환에서의 예후인자로 사용하기에는 좀더 추가적인 연구가 뒷받침되어야 할 것으로 사료된다.

## References

1. Hancock BW, Newlands ES, Berkowitz RS. Gestational trophoblastic disease. Cambridge, University Press; 1997. p.1-143.
2. Lurain JR, Brewer JI, Torek EE, Halpern B. Natural history of hydatidiform mole after primary evacuation. Am J Obstet Gynecol 1983;145:591-5.
3. Bagshawe KD. Risk and prognostic factors in trophoblastic neoplasia. Cancer 1976;38:1373-85.
4. Genest DR, LaBorde O, Berkowitz RS, Goldstein DP, Bernstein MR, Lage J. A clinicopathologic study of 153 cases of complete hydatidiform mole(1980-1990): histological grade lacks prognostic significance. Obstet Gynecol 1991;78:402-9.
5. Mutter GL, Pomponio RJ, Berkowitz RS, Genest DR. Sex chromosome composition of complete hydatidiform moles: relationship to metastasis. 1993;168:1547-51.
6. La Vecchia C, Franceschi S, Parazzini F, Fasoli M, Decarli A, Gallus G, et al. Risk factors for gestational trophoblastic disease in Italy. Am J Epidemiol

- 1985;121:457-64.
7. Soper JT, Hammomd CB, Lewis JL, Jr. Gestational trophoblastic disease. In: Hoskins WJ, Perez CA, Young RC, editors. Principles and practice of gynecologic oncology. Philadelphia: Lippincott; 1992. p.795-825.
8. Kohorn EI. Evaluation of the criteria used to make the diagnosis of nonmetastatic gestational trophoblastic neoplasia. *Gynecol Oncol* 1993;48:139-47.
9. Evans T, Rosenthal ET, Youngblom J, Distel D, Hunt T. Cyclin: a protein specified by mRNA in sea urchin eggs that is destroyed at each cleavage division. *Cell* 1983;33:389-96.
10. Sherr CJ. Mammalian G1 cyclins. *Cell* 1993;73:1059-65.
11. Sherr CJ. G1 phase progression: cycling on cue. *Cell* 1994;79:551-5.
12. Nurse P. Ordering S phase and M phase in the cell cycle. *Cell* 1994;79:547-50.
13. Karp JE, Broder S. Molecular foundation of cancer: new targets for intervention. *Nat Med* 1995;1:309-20.
14. O' Farrell PH, Edgar BA, Lakich E, Lehner CF. Directing cell division during development. *Science* 1989;246:635-40.
15. Nurse P. Universal control mechanism regulating onset of M-phase. *Nature* 1990;344:503-8.
16. Lew DJ, Dulic V, Reed SI. Isolation of three novel human cyclins by rescue of G1 cyclin function in yeast. *Cell* 1991;66:1197-1206.
17. Resnitzky D, Gossen M, Bujard H, Reed SI. Acceleration of the G1/S phase transition by expression of cyclin D1 and E with an inducible system. *Mol Cell Biol* 1994;14:1669-79.
18. Hunter T, Pines J. Cyclins and cancer. *Cell* 1991;66:1071-4.
19. Bartek J, Staskova Z, Draetta G. molecular pathology of the cell cycle in human cancer cells. *Stem cells* 1993;1 Suppl 1:51-8.
20. Gong J, Ardel T, Tragone F. Unscheduled expression of cyclin B1 and cyclin E in several leukemia and solid tumor cell lines. *Cancer Res* 1994;54:4285-8.
21. Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. *science* 1994;266:1821-8.
22. Lukas J, Muller H, Bartkova J. DNA tumor virus oncoprotein and retinoblastoma gene mutations share the ability to relieve the cell's requirement for cyclin D1 function in G1. *J Cell Biol* 1994;125:625-38.
23. Keyomarsi K, O' Leary N, Molnar G, Lees E, Fingert HJ, Pardee AB. Cyclin E, a potential prognostic marker for breast cancer. *Cancer Res* 1994;54:380-5.
24. Koff A, Giordano A, Desai D. Formation and activation of a cyclin E-cdk2 complex during the G1 phase of the human cell cycle. *Science* 1992;257:1689-94.
25. Dulic V, Lees E, Reed SI. Association of human cyclin E with a periodic G1-S phase protein kinase. *Science* 1992;257:1958-61.
26. Ohtsubo M, Theodoras AM, Schmachter J, Roberts JM, Pagano M. Human cyclin E, a nuclear protein essential for the G1-to-S phase transition. *Mol Cell Biol* 1995;15:2612-24.
27. Yasui W, Akama Y, Kuniyasu H. Expression of cyclin E in human gastric adenomas and adenocarcinomas. *J Exp Ther Oncol* 1996;1:88-94.
28. Yegel S, Parhar RS, Jeffrey JJ. Normal nonmetastatic human trophoblastic cells share in vitro invasive properties of malignant cells. *J Cell Physiol* 1988;136:455-62.
29. DeLoia JA, Burlingame JM, Krasnow JS. Differential expression of G1 cyclins during human placentogenesis. *Placenta* 1997;18:9-16.
30. McKenzie PP, Foster JS, House S, Bukovsky A, Caudle MR, Wimalasena J. Expression of G1 cyclins and cyclin-dependent kinase-2 activity during terminal differentiation of cultured human trophoblast. *Biol Reprod* 1998;58:1283-9.
31. Bamberger AM, Sudahl S, Bamberger CM, Schulte HM, Loning T. Expression patterns of the cell-cycle inhibitor p27 and the cell-cycle promoter cyclin E in the human placenta throughout gestation: implications for the control of proliferation. *Placenta* 1999;20:401-6.
32. Lage JM, Driscoll SG, Yavner DL, Oliver AP, Mark SD, Weinberg DS. Hydatidiform moles: Application of flow cytometry in diagnosis. *Am J Clin Pathol* 1988;89:596-600.
33. Cheung AN, Srivastava G, Pittaluga S, Man TK, Ngan H, Collins RJ. Expression of c-myc and c-fms oncogenes in trophoblastic cells in hydatidiform mole and normal human placenta. *J Clin Pathol* 1993;46:204-7.
34. Cameron B, Gown AM, Tamimi HK. Expression of c-erb B-2 oncogene product in persistent gestational trophoblastic disease. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:1616-22.
35. Ladines-Llave CA, Maruo T, Manalo AM, Mochizuki

- M. Decreased expression of epidermal growth factor and its receptor in the malignant transformation of trophoblasts. *Cancer* 1993;71:4118-23.
36. Cheville JC, Robinson RA, Benda JA. p53 expression in placentas with hydropic change and hydatidiform mole. *Mod Pathol* 1996;9(4):392-6.
37. Fulop V, Mok SC, Genest DR, Gati I, Doszpod J, Berkowitz RS. p53, p21, Rb and mdm2 oncoproteins expression in normal placenta, partial and complete mole, and choriocarcinoma. *J Reprod Med* 1998;43:119-127.
38. Donnellan R, Chetty R. Cyclin E in human cancers. *FASEB J* 1999;13:773-80.
39. Ohtani K, DeGregori J, Nevins JR. Regulation of the cyclin E gene by transcription factor E2F1. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1995;92:12146-50.
40. Geng Y, Eaton EN, Picon M, Roberts JM, Lundberg AS, Gifford A, Sardet C, Weinberg RA. Regulation of cyclin E transcription by E2Fs and retinoblastoma protein. *Oncogene* 1996;12:1173-80.

## ■ 국문요약 ■

### 임신성 용모성 질환에서 cyclin E의 발현

비정상적인 영양배엽세포의 증식을 특징으로 하는 임신성 용모성 질환은 부분포상기태, 완전포상기태, 침윤성기태, 태반 부착부 용모성 종양 및 용모상피암으로 이루어져 있다. 태반조직의 영양배엽세포는 매우 활발하게 분열을 하고 강한 침습성을 보이는데 이런 특성은 암세포의 양상과 유사하다. 정상발생에서 영양배엽세포의 증식과 주위조직으로의 침습은 적절하게 조절되어지는데 임신성 용모성 질환은 이러한 조절이 이루어지지 않는다. 특히 지속성 임신성 용모성 종양은 흡입소파술 이외에 화학치료 혹은 외과적 치료를 요구하기에 임상적인 주된 관심의 대상이며 임신성 용모성 질환에서 악성화 경향을 갖게되는 기전과 이에 대한 예후인자를 밝히려는 노력이 이루어지고 있다. Cyclin E는 근래의 여러 연구에서 보고된 주요한 세포주기 조절인자 중의 하나인 cyclins 중 G1-S 세포주기 전이시 필수적인 G1 cyclins에 속하며 암세포에서 그 발현이 증가되는 것으로 보고되고 있다. 최근에는 cyclin E의 과발현이 암 발생과 관련이 있을 것으로 추측되어지고 있다. 본 연구에서는 임신성 용모성 질환에서 cyclin E의 발현을 면역 조직화학 염색법으로 검색하여 그 발현도를 조직진단, 위험인자로 알려진 환자의 연령, 산과력, 초기 혈중  $\beta$ -hCG값 및 지속성 임신성 용모성 종양 별로 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 면역 조직화학염색법을 이용하여 임신성 용모성 질환에서 cyclin E의 발현도를 조사하여 본 결과 cyclin E index의 평균값은 각각 대조군에서는 24.33%, 부분 포상기태에서는 38.2%, 완전 포상기태에서는 38.36%, 침윤성기태에서는 19.5%, 용모상피암에서는 63%로 나왔으며 다중비교에서 용모상피암과 대조군간에서, 또한 용모상피암과 침윤성기태간에서 통계학적으로 의미 있는 차이를 보였다.
2. 임상학적 위험인자인 환자의 연령, 산과력, 초기 혈중  $\beta$ -hCG 와 cyclin E의 발현도와는 유의한 상관관계가 없었다.
3. 지속성 임신성 용모성 종양의 유무에 따라 cyclin E의 발현을 비교한 결과 두 군간에는 유의한 차이가 없었다.

결론적으로 임신성 용모성질환에서 cyclin E 발현은 각 조직 진단별로 유의한 차이가 있었으며 용모상피암에서는 그 발현이 가장 높았다. 그러나 다른 예후인자인 나이, 산과력, 혈중 $\beta$ -hCG 와 관련하여 cyclin E 발현은 유의한 차이가 없었고 지속성 임신성 용모성 종양에서도 cyclin E발현에는 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러므로 cyclin E발현은 영양배엽세포의 악성화경향에 있어 중요한 역할을 담당하고있음을 알 수 있었으나 임신성 용모성 질환에서의 예후인자로 사용하기에는 좀더 추가적인 연구가 뒷받침되어야 할 것으로 사료된다.

**중심단어:** 임신성 용모성 질환, 영양배엽세포, cyclins, cyclin E