

# 산발성 자궁내막양 자궁내막선암에서 현미부수체 불안정성 (Microsatellite Instability)과 hMLH1, hMSH2, Bax의 발현에 관한 연구

이화여자대학교 의과대학 산부인과학교실, 병리학교실\*, 강릉아산병원 산부인과학교실<sup>†</sup>  
박지은 · 박한희<sup>†</sup> · 류해정 · 이시원 · 한운섭\* · 김승철

## Analysis of Microsatellite Instability and hMLH1, hMSH2 and Bax Expression in Sporadic Endometrioid Endometrial Adenocarcinoma

Ji Eun Park, Han Moie Park<sup>†</sup>, Hae Jung Ryu, Si Won Lee, Woon Sup Han\*,  
Seung Cheol Kim

*Department of Obstetrics and Gynecology,*

*\*Department of Pathology, College of Medicine, Ewha Womans' University, Seoul, Korea,*

*<sup>†</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Gangneung Asan Hospital, Gangneung, Korea*

**Objective :** We aimed to assess the incidence and clinicopathologic significance of microsatellite instability (MSI) and to analyze the loss of protein expression of hMLH1, hMSH2 and Bax gene in endometrioid endometrial adenocarcinoma.

**Methods :** A total of 30 patients with pure endometrioid type of endometrial adenocarcinoma were examined. MSI analysis was done using five polymorphic markers (BAT26, D5S346, BAT25, D17S250, D2S123) and the protein expression of hMLH1, hMSH2 and Bax gene was determined using immunohistochemical staining.

**Results :** MSI was detected in 30% (9/30) of endometrioid endometrial adenocarcinoma. There was a significant correlation between MSI status and loss of hMLH1, hMSH2 and Bax expression ( $p < 0.05$ ). No significant association was found between MSI status and clinicopathologic factors, such as age, grade, stage, depth of myometrial invasion, lymphovascular space invasion, lymph node involvement and peritoneal cytology ( $p > 0.05$ ). But there were significant correlations between loss of hMLH1 and histological grade and lymphovascular space invasion of endometrial adenocarcinoma ( $p < 0.05$ ). No significant association was found between hMSH2, Bax and clinicopathologic factors ( $p > 0.05$ ).

**Conclusions :** According to the results, MSI and loss of protein expression of hMLH1, hMSH2 and Bax could be associated with the pathogenesis of sporadic endometrioid endometrial adenocarcinoma. In addition, hMLH1 might have a role as a prognostic parameter. Further prospective study with a large number of cases is needed in future.

**Key Words :** Sporadic endometrioid endometrial adenocarcinoma, Microsatellite instability, hMLH1, hMSH2, Bax, Clinicopathologic factors

## 서 론

자궁내막선암을 비롯한 고형암의 발생에는 다단계의 발암과정이 필요하다.<sup>1,3</sup> 정상 자궁내막 세포가 악성 세포로 전환되기 위해서는 다양한 유전적 변화가

요구되는 반면,<sup>4</sup> 정상 세포에서는 이러한 복합적인 유전자 결함이 소수에서만 관찰된다. 따라서 정상 세포의 유전자 결함을 감지하고 이를 교정하는 기능이 저하되면 세포가 악성화된다는 발암 과정의 가설이 제기되었다.<sup>5</sup>

세포 주기를 조절하는 유전자의 돌연변이나 유전자 결함을 교정하는 DNA mismatch repair (MMR) 유전자의 돌연변이는 광범위한 유전자 변화를 초래하게 된다.<sup>6-8</sup> 대표적인 MMR 유전자로는 hMLH1, hMLH6, hMSH2, hMSH3 그리고 PMS3가 있으며, 이러한 MMR 유전자들이 합성하는 단백질은 유전적인 결함을 감지하고 이를 교정하여 DNA 복제의 안정성을 유지한다. 그러나 MMR 유전자에서 돌연변이가 발생하는 경우에는 유전체 전반에 광범위하게 분포하는 DNA 염기서열의 반복 즉, 현미 부수체(microsatellite)의 변화로 표현되며, 이러한 현상을 현미 부수체 불안정성(microsatellite instability: MSI) 또는 복제 오류 형태(replication error phenotype: REP)라고 한다.<sup>9</sup> 현미부수체 불안정성은 가족성 비용종성 대장암(HNPCC) 환자에서 최초로 보고된 이래,<sup>10</sup> 유방암과 위암 등에서 활발한 연구가 이루어졌으며,<sup>11</sup> 부인암 분야에서는 가족성 난소암과 자궁내막선암 등을 대상으로 연구되어 왔다.

자궁내막선암은 가족성 비용종성 대장암 가계에서 두 번째로 흔한 악성 종양으로 이러한 유전성 자궁내막선암의 유전자 분석을 시행한 결과 현미부수체 불안정성이 약 75%의 환자에서 발현되는 것으로 보고되었다.<sup>12</sup> 현미부수체 불안정성은 산발성(sporadic) 악성 종양에서도 발견되어 산발성 대장암의 17%, 산발성 자궁내막선암의 20-30%에서 현미부수체 불안정성이 발현된다.<sup>13-15</sup> 유전성 자궁내막선암에서 발생하는 현미부수체 불안정성은 hMLH1과 hMSH2 유전자의 배아세포 돌연변이가 직접적인 원인으로 알려져 있다. 반면, 산발성 자궁내막선암에서 현미부수체 불안정성의 발현은 유전성인 경우에 비하여 현저히 낮고 그 발현의 다양성도 매우 광범위하다는 점에서 산발성 자궁내막선암의 발생에 미치는 현미부수체 불안정성과 MMR 유전자간의 관련성 여부는 여전히 논란이 되고 있다.<sup>16-18</sup>

최근 산발성 자궁내막선암에서 현미부수체 불안정성과 hMLH1, hMSH2 유전자 발현 사이에 관련성이 있음을 주장한 연구들이 보고되었으나 대부분 부분적인 관련성을 입증하는데 그쳤다.<sup>19-21</sup> 대장암이나 직장암에 비해서 자궁내막선암에서는 현미부수체 불안정성 발현과 임상 및 병리학적 인자(clinicopathologic factor)와의 관련성이 아직 명확히 밝혀지지 않은 상태이다.<sup>17,22,23</sup> 또한 현미부수체 불안정성과 hMLH1, hMSH2 등의 MMR 유전자의 발현이 자궁내막선암의

예후와 관련이 있는지에 대해서도 여전히 논란이 되고 있다.<sup>22-25</sup> 최근 연구에 의하면 산발성 자궁내막선암의 조직병리학적 유형 중에서 자궁내막양 자궁내막선암이 비자궁내막양 자궁내막선암에 비하여 현저히 높은 현미부수체 불안정성을 보고하고 있어, 자궁내막선암의 조직병리학적 유형에 따라 발암과정의 차이가 있을 것으로 생각된다.<sup>26,27</sup>

Bax는 pro-apoptotic 단백질을 합성하는 bcl-2 유전자의 하나이다. Bax는 p53의 transcriptional target으로 Bax의 transcription은 돌연변이 p53에 의해서 활성화가 억제된다. 혈액 종양과 대장 및 직장암의 세포주에서 Bax의 발현이 현저하게 감소되어 있는데,<sup>28-30</sup> 이는 Bax를 합성하는 염기서열 내의 삽입 혹은 결손으로 인한 것으로 알려져 있다. 현미부수체 불안정성은 자궁내막선암의 발생 과정 초기에 발생하며 Bax를 합성하는 염기서열은 이러한 현미부수체 불안정성의 표적이 된다. 따라서 Bax의 frameshift mutation이 자궁내막선암의 발생과정에 관여할 것이라는 가설이 제기되고 있다.<sup>14,31</sup> 그러나 산발성 자궁내막선암에서 현미부수체 불안정성과 hMLH1, hMSH2를 포함하는 MMR 유전자의 발현이 pro-apoptotic 유전자인 Bax의 발현과 상관관계가 있는지 알아보고자 하는 연구는 극히 드문 실정이다.

이에 본 연구에서는 유전성이 아닌 산발성 자궁내막양 자궁내막선암에서 현미부수체 불안정성과 hMLH1, hMSH2, Bax의 발현율을 알아보고, 현미부수체 불안정성과 hMLH1, hMSH2, Bax 발현 사이의 연관성을 알아보려고 하였다. 또한 현미부수체 불안정성과 hMLH1, hMSH2, Bax 발현이 자궁내막암의 예후 인자인 임상적 병기나 조직학적 유형, 림프절 전이, 림프혈관계 침범 등의 임상 및 병리학적 인자와 상관관계가 있는지 알아보려고 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

1998년 3월부터 2003년 11월까지 이화의료원 부속 목동병원을 내원하여 조직 생검으로 자궁내막선암 진단을 받은 환자 중, 수술적 병기 설정술 및 자궁적출술, 양측 부속기 절제술, 대방절제술, 골반 림프절 절제술 및 부대동맥 림프절 절제술을 시행하였으며 수술 후 조직병리 학적으로 순수 자궁내막양 자궁내막선암으로 진단된 30명의 환자를 대상으로 하였다. 의

무기록과 문진 및 가계도 조사를 통해 가족성 비용종성 대장암을 포함한 유전성 악성 종양 가계의 일원이 아닌 산발성 자궁내막선암으로 확인된 환자만을 대상으로 하였다.

## 2. 현미부수체 불안정성의 분석

### 1) Genomic DNA의 분리

포르말린과 파라핀에 포매된 자궁내막양 자궁내막선암 조직을 homogenizer로 파쇄 후 100 mg의 조직 당 1 mL의 extraction solution [10 mM Tris-Cl (pH8.0), 0.1 mM EDTA (pH8.0), 20 g/mL pancreatic RNAase, 0.5% SDS]을 넣고 37°C에서 한 시간 반응시킨 뒤 다시 30 µL의 proteinase K (20 mg/mL)를 첨가한 후 50°C 항온 수조에서 3시간 동안 반응시켰다. 반응물을 phenol-chloroform으로 정제한 후 10 mM ammonium acetate와 isopropanol을 첨가하여 침전시키고 마지막으로 TE buffer (10 mM Tris-1 mM EDTA, pH 8.0)에 녹인 후 흡광도를 측정하여 A260/A280이 1.8 이상인 것을 사용하였다.

### 2) 현미부수체 불안정성 측정

현미부수체 불안정성의 분석을 위해 1998년 National Cancer Institute Workshop에서 표준 현미부수체 표지자로 추천된 D2S123, D5S346, Mfd15, BAT25, BAT26 등의 5개 현미부수체 표지자를 이용하였다.<sup>32</sup> 이들 표지자는 MMR 유전자중에서 주요 유전자인 hMLH1과 hMSH2 유전자에서 발생한 MMR 유전자

결함으로 인한 종양을 검색하기 위해 선택된 현미부수체 표지자이다. 분석하려는 현미부수체 표지자의 시발체는 GIBCO사(USA)에서 제작된 것을 사용하였으며 염기 서열은 Table 1과 같다.

자궁내막선암 조직으로부터 분리한 약 25 ng의 genomic DNA를 주형으로 하여 각각 PCR을 시행하였으며, 각각의 PCR 용액은 주형 DNA 1 µL, 0.2 mM dNTP, 10x buffer, 10 pmol/µL primer, 1 U Taq polymerase에 증류수를 가하여 12 µL로 되게 하였고, PCR은 각 표본에 대하여 35주기를 반복 실시하였다. 모든 반응은 thermal cycler (Perkin Elmer Cetus 9700, USA)에서 시행하였다. 기본적으로 각 주기 당 변성 반응은 94°C에서 30초, 결합반응은 55-60°C에서 30초, 연장 반응은 72°C에서 40초씩 시행하고 마지막 주기의 연장 반응은 72°C에서 10분간 반응시키고, 증폭된 PCR 산물 3 µL를 2% agarose gel 전기영동으로 확인하였다. 이후 3 µL의 PCR 산물과 formamide loading dye (95% formamide, 20 mM EDTA, 10 mM NaOH, 0.05% bromophenol blue, 0.05% xylene cyanol) 3 µL를 취해 98°C에서 5분간 끓여 변성시킨 후 얼음으로 급히 냉각시킨 다음 3 µL를 취해 전기영동에 사용하였다. 전기영동을 1,400 V에서 1시간 반 동안 시행한 후 gel을 염색하였다. 은 염색은 binding solution에 의해 gel이 붙어 있는 유리판 쪽을 염색용기에서 10% acetic acid로 30분 간 고정시킨 후, 증류수로 3분씩 2회 반복 후 세척하고 silver nitrate 용액에서 30분간 반응시킨 다음 증류수에서 신속히 세척하였다. 이후 sodium carbonate

Table 1. DNA sequences of the primers for microsatellites

Locus symbol	Chromosome	5' end to 3' end	Sequence
D2S123	2p16	Upstream	AAACAGGATGCCTGCCTT
		Downstream	GGACTTTCCACCTATGGG
D5S346	5q21-22	Upstream	ACTCACTCTAGTGATAAATCG
		Downstream	AGCAGATAAGACAGTATTACTAGTT
D17S250	17q11.2-12	Upstream	GGAAGAATCAAATAGACA
		Downstream	GCTGGCCATATATATATTTAAA
BAT25	4q12	Upstream	TCGCCTCCAAGAATGTAA
		Downstream	TCTGCATTAACTATGGC
BAT26	17q	Upstream	TGACTACTTTTGACTTCAG
		Downstream	AACCATTCAACATTTTAAAC

용액에서 띠가 뚜렷이 보일 때까지 발색시킨 후, 앞 과정에서 사용한 고정액 10% acetic acid를 혼합하여 반응을 중지시킨 후 띠의 소실 여부를 관찰하였다.

### 3) 현미부수체 불안정성의 판정

gel 상의 band를 밀도 측정기를 이용하여 측정하였고 정상 조직의 DNA에 비해 종양 조직의 DNA에서 추가적인 band가 더 나타날 때 현미부수체 불안정으로 판정하였다. 이때 5개의 유전자 중에서 2개 이상(>40%)에서 현미부수체 불안정성이 나타나면 고빈도 현미부수체 불안정(high frequency MSI, MSI-H)으로 판정하였고, 5개의 유전자 중 1개에서만 현미부수체 불안정성이 나타나는 경우에는 저빈도 현미부수체 불안정(low-frequency MSI, MSI-L), 전혀 현미부수체 불안정성이 나타나지 않은 경우는 현미부수체 안정(microsatellite stable, MSS)으로 판정하였다(Fig. 1).

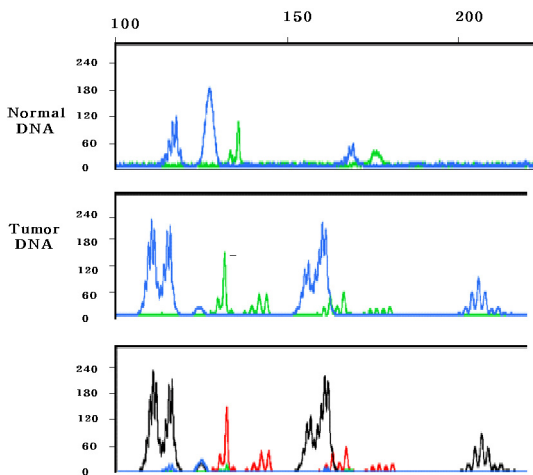


Fig. 1. Examples showing high frequency microsatellite instability (MSI-H) in endometrioid endometrial adenocarcinoma. Peaks correspond to normal DNA and tumor DNA. Sizes are indicated at the bottom of each peak in base pairs along with the computer-calculated area under the peak.

### 3. hMLH1, hMSH2와 Bax단백의 면역조직화학 검사

#### 1) 면역조직화학 염색 방법

hMLH1, hMSH2와 Bax의 면역조직화학염색을 위해 통상적인 포르말린과 파라핀에 포매된 자궁내막선암 조직을 4  $\mu$ m 두께의 연속 절편을 만들어 hMLH1,

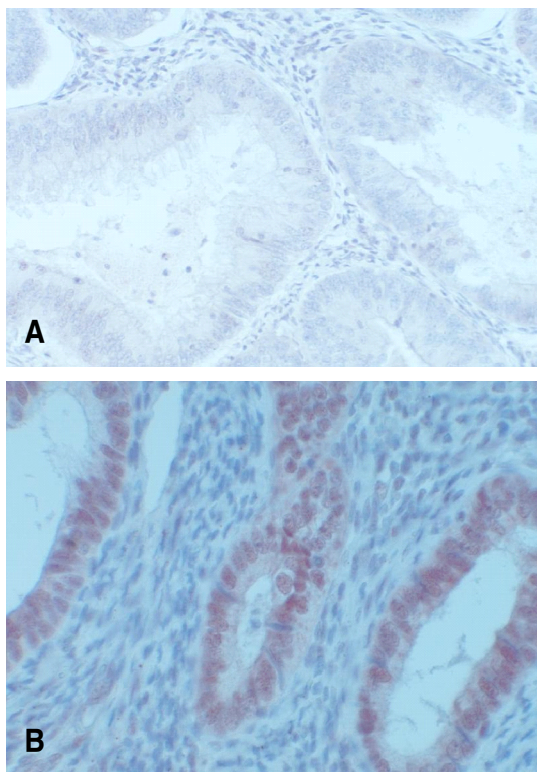
hMSH2, Bax에 대하여 labeled streptavidin biotin (LSAB) 방법을 이용한 면역조직화학 염색을 시행하였다. 즉, xylene으로 3-5분간 탈 파라핀하고 100%, 95%, 75% 알코올에 차례로 처리한 후, 증류수에 담귀 함수시켰다. 3% 과산화수소로 내인성 peroxidase를 차단하고 증류수로 수세하였다, 항원의 표출을 증가시키기 위하여 pH 6의 citrate 완충액에 담귀 121  $^{\circ}$ C autoclave에서 20분간 처리한 후 세척했다. 절편을 blocking reagent에 5분간 두어 비특이성 반응을 억제시켰다. hMLH1 (Serotec, Raleigh, NC), hMSH2 (Oncogen Research Products, Cambridge, MA)에 대한 단클론성 항체를 각각 1:40과 1:200으로 희석하였으며, Bax (Santa Cruz, CA)에 대한 다중클론성 항체를 1:200으로 희석하여 조직에 가한 후 상온에서 overnight 동안 반응시켜 세척한 후에 biotin과 결합된 이차항체에 5분씩 3회 반응시켰다. 세척 후 streptavidine과 peroxidase가 결합된 용액에 15분간 반응시킨 다음 3,3'-diaminobenzidine (DAB)으로 발색하고 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색을 한 후 봉입하였다.

#### 2) 면역조직화학적 염색의 판정

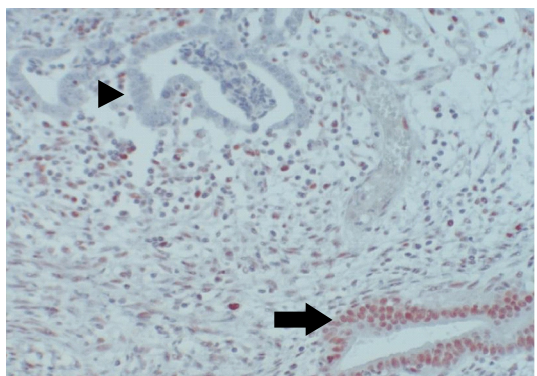
hMLH1, hMSH2와 Bax의 발현은 세포핵이 갈색으로 염색되는 세포를 양성으로 판정하였으며 광학 현미경을 이용하여 염색된 세포의 조직학적인 분포를 관찰하고, 염색되는 종양 세포의 수에 따라 0% (0), <10% (1), <50% (2), >50% (3)으로 분류하였다. 또한 염색의 강도는 음성(-), 약 양성(1+), 중등도 양성(2+), 강 양성(3+)으로 판정하였다. 각 종양에서 위의 두 parameter를 곱하여 최종 평가하였고, 범위는 0부터 12 사이로 하였다. 동일한 환자에서 채취하였으나 종양 세포가 전혀 포함되지 않은 일부 자궁내막조직이나 자궁내막 기질, 자궁 근층 등을 포함한 조직 절편을 내부적 양성 대조군(internal positive control)으로 이용하였다. 최종적으로 현미부수체 불안정성과의 관련성 및 자궁내막선암의 임상 및 병리학적 인자와의 관련성을 알아보기 위하여 시행한 면역조직화학염색 결과는 저발현(양성세포 <50%, 혹은 1-6점), 고발현(양성세포 >50%, 혹은 6-12점)으로 분류하였다.

#### 4. 통계분석

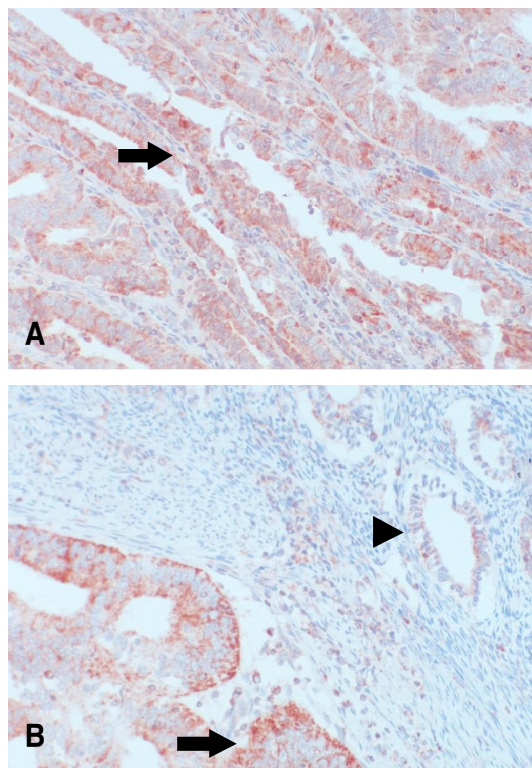
통계분석은 SPSS 11.0을 이용하여 Fisher's exact test와 Spearman correlation test를 하였고, p값이 <0.05에서 통계적으로 유의하다고 보았다.



**Fig. 2.** hMLH1 expression detected by immunohistochemistry in a same patient with MSI-H (grade 1 tumor). hMLH1 expression is absent in tumor cell as in A (X200), while neighboring noncancerous glandular cells show distinct nuclear staining for hMLH1 as in B (X 400).



**Fig. 3.** hMSH2 expression detected by immunohistochemistry in endometrioid endometrial adenocarcinoma with MSI-H (grade 2 tumor). hMSH2 expression is absent in tumor cells (arrowhead), while neighboring noncancerous glandular cells (arrow) show distinct nuclear staining for hMSH2 (X200).



**Fig. 4.** Bax protein expression detected by immunohistochemistry in endometrioid endometrial adenocarcinoma. Bax expression in tumor cell and surrounding stromal cells show distinct nuclear and cytoplasmic staining for Bax (grade 2 tumor with MSS), especially cytoplasmic localization is significant (arrow) as in A (X400). Bax expression is absent in tumor cell (arrowhead), while neighboring noncancerous glandular cells (arrow) show distinct nuclear and cytoplasmic staining for Bax (grade 2 tumor with MSI-H) as in B (X200).

## 결 과

산발성 자궁내막양 자궁내막선암에서 고빈도 현미부수체 불안정성(MSI-H)은 30% (9/30), 저빈도 현미부수체 불안정성(MSI-L)은 한 예도 없었으며, 현미부수체 안정(MSS)은 70% (21/30)에서 관찰되었다. hMLH1, hMSH2, Bax 단백질의 발현은 각각 56.7% (17/30), 46.7% (14/30), 43.0% (13/30)에서 소실됨을 보였다(Fig. 2-4).

hMLH1 발현이 소실된 17예 중 8예(47.1%)에서 MSI-H가 관찰되었으며, 9예(52.9%)는 MSS이었다. 이에 비해서 hMLH1이 정상적으로 발현된 13예 중에서는 12예(92.3%)가 MSS 이었으나 단 1예에서만 MSI-

H가 관찰되었다( $p<0.05$ , Table 2). hMSH2의 경우, 발현이 소실된 14예에서는 MSI-H와 MSS가 각각 7예(50.0%)로 관찰되었으나, hMSH2가 정상적으로 발현된 16예 중에서는 14예(87.5%)가 MSS를 나타내었고 2예(12.5%)에서만 MSI-H가 관찰되었다( $p<0.05$ , Table 2). MSI-H가 관찰된 9예 중에서 Bax의 발현이 감소된 경우는 8예(88.9%)이었고, Bax의 발현이 정상적으로 이루어진 경우는 1예(11.1%)에 그쳤다. 또한 MSS이 관찰된 21예 중에서 Bax의 발현이 감소된 경우는 5예(23.8%), Bax가 정상적으로 발현된 경우는 16예(76.2%)이었다( $p<0.05$ , Table 3). 따라서 hMLH1와 hMSH2 그리고 Bax 단백질 발현 소실은 현미부수체 불안정성과 모두 유의한 상관관계를 보였다( $p<0.05$ , Table 2, 3).

**Table 2.** MSI, hMLH1 and hMSH2 expression in sporadic endometrioid endometrial adenocarcinoma

	N	MSI-H	MSI-L	MSS	P value
hMLH1 <50%	17	8 (47.1%)	0	9 (52.9%)	0.019*
≥50%	13	1 (7.7%)	0	12 (92.3)	
hMSH2 <50%	14	7 (50%)	0	7 (50%)	0.025*
≥50%	16	2 (12.5%)	0	14 (87.5%)	

MSI-H high frequency microsatellites instability

MSI-L; Low frequency microsatellite instability

MSS; microsatellite stable

\* Fisher's exact test, statistically significant ( $p<0.05$ )

**Table 3.** MSI and Bax expression in sporadic endometrioid endometrial adenocarcinoma

	N	Bax<50%	Bax ≥50%
MSI-H	9	8 (88.9%)	1 (11.1%)
MSI-L	0	-	-
MSS	21	5 (23.8%)	16 (76.2%)

MSI-H; high frequency microsatellites instability

MSI-L; Low frequency microsatellite instability

MSS; microsatellite stable

\* Fisher's exact test, statistically significant ( $p<0.05$ )

현미부수체 불안정성은 병기, 조직학적 등급, 림프혈관계 침범, 자궁 근층 침범 등의 임상 및 병리학적 인자와 상관관계가 없었으나( $p>0.050$ ), hMLH1은 조직학적 등급 및 림프혈관계 침범과 통계적으로 유의

한 상관관계를 보였다( $p<0.05$ ). hMSH2와 Bax는 자궁내막선암의 임상 및 병리학적 인자와 상관관계가 없었다( $p>0.05$ , Table 4).

**Table 4.** Relationship between clinicopathologic factors and MSI, hMLH1, hMSH2 and Bax protein expressions

Clinicopathologic factors	N	MSI	hMLH1	hMSH2	Bax
Age (year)					
<50	11	NS	NS	NS	NS
≥50	19				
FIGO stage					
I	24	NS	NS	NS	NS
II to IV	6				
Histological grade					
1	16	NS	P=0.026	NS	NS
2	10				
3	4				
LVI					
Absent	27	NS	P=0.038	NS	NS
Present	3				
Depth of invasion in myometrium					
No invasion	3	NS	NS	NS	NS
<50%	20				
≥50%	7				
Lymph node					
Negative	28	NS	NS	NS	NS
Positive	2				
Cytology					
Negative	24	NS	NS	NS	NS
Positive	5				

NS; not significant, LVI; lymph-vascular invasion

by Fisher's exact test and Spearman's Correlation test

Statistically significant ( $p<0.05$ )

## 고 찰

정상 자궁내막 세포가 악성 세포로 전환되는 분자생물학적 기전은 아직 완전히 밝혀지지 않았으나, 최



근 정상 세포보다 악성 종양세포에서 유전자 복제 과정 중에 오류가 훨씬 빈번히 발생하며, 특히 종양억제 유전자나 원종양유전자(proto-oncogene) 등 세포의 악성화와 관련된 유전자 부위에서의 현미부수체 불안정성(microsatellite instability)에 대한 연구들이 다수 보고된 바 있다. 현미부수체 불안정성은 짧은 일련의 현미부수체 DNA에서 복제과정의 결함으로 인하여 체세포변이가 생기는 것을 말하는데, 되풀이되는 di-, tri-, tetranucleotide 반복 부위에서 복제 과정의 이상으로 이 반복 단위들이 확장 또는 축소되기 때문인 것으로 생각된다.<sup>33</sup> 그 결과 단순히 반복되는 염기 서열 내의 CA, TA, GT 혹은 A, G 등의 염기 반복에 의한 DNA의 확장 혹은 축소 현상이 나타나며 이러한 microsatellite loci에서의 유전자 불안정성은 암의 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 여겨지고 있다.

지금까지 보고된 대장암과 직장암에서의 현미부수체 불안정성의 발현율은 대략 15-20%이다.<sup>34,35</sup> 이 중 현미부수체의 불안정성이 임상적인 특징과 관련이 있다고 보고한 결과에서 현미부수체 불안정성이 많이 발현될수록 낮은 병기 및 젊은 발병 연령과 관련이 있었으며, 대장암과 직장암에서 현미부수체 불안정성이 있는 경우에는 5년 생존율이 76%이었던 반면, 현미부수체 불안정성이 나타나지 않은 경우에는 5년 생존율이 54%로, 현미부수체 불안정성은 병기와 무관하게 보다 좋은 생존율과 연관성이 보고되었다.<sup>36</sup> 위암에서도 현미부수체 불안정성이 고빈도(MSI-H)로 발현된 위암이 저빈도로 발현된 위암보다 예후가 좋은 것으로 보고되었다.<sup>37</sup>

자궁내막선암은 현미부수체 불안정을 보이는 악성 종양의 하나로, 현재까지 보고된 바에 의하면 산발성 자궁내막선암에서는 약 20-30%의 발현율을 보이는 것으로 알려져 있다. 그러나 이들 대부분의 결과에서 조직학적인 등급이나 자궁 근층의 침윤 등 임상 및 병리학적인 인자와 현미부수체 불안정성의 상관관계는 없으나, 자궁내막양 자궁내막선암에서 현미부수체 불안정성의 발현율이 현저히 높았다.<sup>38</sup> 또한 현미부수체 불안정성은 좋은 예후와 관련이 있는 것으로 보고되고 있으나,<sup>17,39</sup> 현미부수체 불안정성의 발현이 조직학적 고등급과 나쁜 예후와 관련되어 있다는 연구 결과도 있어,<sup>24</sup> 현미부수체 불안정성과 자궁내막선암의 예후 사이의 연관성은 아직 확실하지 않은 상태이다.

본 연구에서는 산발성 자궁내막양 자궁내막선암만을 대상으로 하였으며, 현미부수체 불안정성의 발현

율은 30%이었다. 이는 기존의 다른 연구 결과와 부합되었으며 특히 비자궁 내막양 자궁내막선암에 비해서 자궁내막양 자궁내막선암에서 높은 발현율을 보인 연구들과 유사한 결과였다.<sup>38</sup> 그러나 현미부수체 불안정성과 연령, 세포 분화도, 자궁 근층의 침윤정도, 림프혈관계 침범 여부 등의 임상 및 병리학적인 인자와는 상관관계가 없었다. 이는 본 연구 대상 환자 30명 중 FIGO stage I인 환자가 24명(80.0%)인 반면에 FIGO stage II부터 stage IV인 환자는 6명(20.0%)에 불과하여 림프절 전이나 림프혈관계 침범 등의 인자들을 분석하는 데 있어 환자군의 분포가 고르지 못하고 대상 환자가 적어 이러한 결과에 영향을 미쳤을 것으로 추정된다.

현미부수체 불안정성은 MMR 유전자의 결함으로 인하여 발생하는 것으로 알려져 있는데 이러한 MMR 유전자 결함은 자궁내막선암의 발생과도 밀접한 관련이 있다.<sup>16,40-42</sup> 최근에는 MMR 유전자에 대한 단클론 항체(monoclonal antibody)가 개발되어 현미부수체 불안정성과 관련된 고형암에서 이러한 유전자의 발현여부를 검사하는 것이 상용되고 있다. 이전의 면역 조직화학적 염색 방법을 이용한 연구 결과를 분석한 결과, MMR 유전자의 발현 소실은 MMR 유전자의 결함을 강력히 시사하는 것으로 판단되었고, 이러한 MMR 유전자의 결함은 대장암과 유방암 등 다양한 고형암에서 현미부수체 불안정성을 유도할 것이라는 가설이 제안되었다.<sup>42-45</sup> 그러나 기능적으로 온전한 단백질을 합성하기 위해서는 적어도 하나의 정상 allele이 존재해야 하므로 면역조직화학적 검사에서 발현이 소실되기 위해서는 돌연변이가 발생이나 promoter 부위의 hypermethylation으로 인하여 반드시 양쪽 allele(biallelic)의 비활성화가 필수적이다. 반면 단백질이 발현된다는 것이 반드시 정상적인 유전자의 기능을 의미하는 것은 아니며, 현미부수체 불안정성이 발현되는 고형암의 극히 일부에서만 유전자 결함 및 돌연변이를 나타내기 때문에, 실제로 이러한 가설은 아직 완전한 단계에는 도달하지 못하고 있다.<sup>16,19,43</sup>

hMLH1 유전자 promoter의 hypermethylation은 대장과 자궁내막에 국한되어 발생하는 현상으로 가족성 비용종성 대장암 가계에서 흔히 발생한다.<sup>46-48</sup> 최근에는 자궁내막선암 뿐만 아니라 자궁내막선암 세포주에서도 높은 발생율을 보여, 현미부수체 불안정성의 발현과 강력한 상관관계가 있음이 보고되었다.<sup>16,25,40,42,46</sup> Hypermethylation으로 인한 hMLH1 유전

자의 비활성화는 현미부수체 불안정성을 유발하는 원인으로 여겨지고 있으며,<sup>48</sup> 이러한 현미부수체 불안정성은 다른 중요한 성장 조절 유전자의 비활성화를 초래할 것으로 생각된다.<sup>16,31,42,46,47,49</sup> 현미부수체 불안정성이 발현된 자궁내막선암에서 hMLH1 발현 소실율은 53.8%,<sup>50</sup> 60.0%,<sup>27</sup> 81.8%,<sup>51</sup> 60.0%,<sup>52</sup> 64.0%<sup>53</sup>로, 60-80%의 비교적 높은 소실율을 보였다. hMLH1 발현 소실은 특히 점액성 분화를 동반한 자궁내막양 자궁내막선암에서 현저하였고, 다른 환자군에 비해서 통계적으로 유의한 생존율의 증가를 보였다.<sup>38</sup>

본 연구에서 hMLH1 발현 소실은 현미부수체 불안정성과 유의한 상관관계를 보였고, 현미부수체 불안정성을 보이는 경우의 88.9% (8/9)에서 hMLH1의 소실이 발견되었다. hMLH1의 소실에 따라 현미부수체 불안정성도 현저한 차이를 보여 [hMLH1 소실 시 MSI 발현 47.1% (8/17), hMLH1 발현 시 MSI 발현 7.7% (1/13)], 자궁내막선암에서도 MMR 유전자인 hMLH1 결함이 현미부수체 불안정성에 대한 원인 제공 인자라는 가설을 확인할 수 있었다. 또한 본 연구의 결과에서는 hMLH1의 소실이 자궁내막양 자궁내막선암의 임상 및 병리학적 인자 중, 세포의 분화도와 림프혈관계 침범 여부와 연관성이 있음을 알 수 있었다. 이는 Peiro (2001) 등이 hMLH1은 임상 및 병리학적 인자와 통계적으로 유의한 관련성은 없었으나 자궁내막암의 생존율에 영향을 주는 독립적인 인자로 발표한 것을 직접적으로 입증한 것이라고 하겠다.<sup>27</sup> 따라서 hMLH1은 산발성 자궁내막양 자궁내막선암의 예후 인자로서의 가능성이 있을 것으로 생각된다.

hMSH2의 biallelic 비활성화는 배아세포 변이와 체세포 변이의 합작으로 발생하며,<sup>47</sup> 이로 인해 기능적인 단백질의 합성이 저해된다.<sup>44</sup> hMSH2는 증식률이 매우 높은 정상 세포 및 악성 세포에서 발현이 되어 hMSH2 발현은 종양의 증식율에 대한 지표로 여겨지고 있다.<sup>44,54</sup> 산발성 대장암에서는 hMSH2 단백질 발현 소실이 있는 경우 세포분화도가 좋고(well differentiated), 생존율도 더 높은 것으로 보고된 바 있으나, transitional cell 방광암에서는 hMSH2 발현소실이 있는 경우, 세포분화도가 나쁘고(poorly differentiated), 재발과 연관성이 있는 것으로 보고되었다.<sup>55</sup> 자궁내막선암에서의 hMSH2 발현 소실은 보고자에 따라 1.1-18%로 큰 폭의 차이를 보이는데,<sup>27,53</sup> 자궁내막양 자궁내막선암에서는 비자궁내막양 자궁내막선암에 비하여 hMSH2 발현 소실이 더 낮게 나타나는

경향이 있었고,<sup>53</sup> 현미부수체 불안정성이 발현된 자궁내막선암에서의 hMSH2 발현 소실은 23.1%,<sup>50</sup> 11.1%,<sup>27</sup> 5.1%,<sup>52</sup> 16.7%<sup>53</sup> 등 다양한 결과가 보고되었다. 본 연구에서 hMSH2 발현 소실이 현미부수체 불안정성과 유의한 상관관계를 보였고, 현미부수체 불안정성을 보이는 경우의 77.8% (7/9)에서 hMSH2 발현 소실이 발견되어 기존의 결과보다 높게 나타났다. hMSH2 발현 소실에 따라 현미부수체 불안정성도 현저한 차이를 보여 [hMSH2 소실 시 MSI 발현 50.0% (7/14), hMSH2 발현 시 MSI 발현 12.5% (2/16)], 자궁내막선암에서도 hMSH2 발현 소실이 현미부수체 불안정성과 통계적으로 유의한 상관관계를 보였다( $p < 0.05$ ). 그러나 본 연구 결과에서도 hMSH2 발현 소실은 연령, 병기, 세포분화도, 림프혈관계 침범 등의 임상 및 병리학적 인자와 유의한 상관관계는 없었다( $p > 0.05$ ). 따라서 산발성 자궁내막양 자궁내막선암에서는 대장암과는 달리 hMSH2 발현 소실이 종양의 증식율이나, 세포의 분화도에 따라 차이가 없는 것으로 생각되며, hMSH2의 발현 소실은 다른 고형암 보다도 가족성 비용종성 대장암 가계의 표지인자로 판단하는 것이 합당할 것으로 생각된다.<sup>19,56</sup>

현미부수체 불안정성이 발현되는 종양에서는 특정 유전자내의 coding 부분에 위치한 현미부수체의 반복 부분에서 frameshift 변이가 일어나고, 이러한 변이의 결과로 유전자가 비활성화되어 발암과정을 유발하는 것으로 알려져 있다. 현미부수체 불안정성의 표적이 되는 대표적 인 유전자는 type II transforming growth factor beta receptor (TGF- $\beta$ RII), type II insulin-like growth factor (IGFRII), Bax, MSH3, MSH6 등이 있다. 현미부수체 불안정성으로 인하여 발생한 대장암, 직장암 보다 자궁내막선암에서 TGF- $\beta$ RII, IGFRII 변이가 낮게 발현된다는 부분적인 결과가 있었으나,<sup>29</sup> 또 다른 연구에서는 현미부수체 불안정성이 발현된 자궁내막선암에서 Bax 및 TGF- $\beta$ RII, IGFRII, hMSH3, hMSH6의 발현을 관찰한 결과, Bax만이 45.8%에서 발현 소실이 있었으며 그 외 유전자에서는 발현의 소실이나 감소가 통계적으로 유의하지 않은 것으로 보고되었다.<sup>57</sup> 다른 연구에서도 대체적으로 현미부수체 불안정성이 발현된 자궁내막선암에서는 다른 현미부수체 표적 유전자에 비해 Bax의 발현이 많이 소실(11.5-55.6%)되는 것으로 보고되었다.<sup>25,29,57-59</sup> Bax 유전자 변이와 현미부수체 불안정성과의 상관관계에 대해서 Catusus 등(2000)은 자궁내막선암의 진행에는 현미



부수체 불안정성 뿐 아니라 Bax의 frameshift mutation이 중요한 역할을 하고 있다고 보고하였다.<sup>57</sup> 위암에서는 Bax 유전자 변이는 현미부수체 불안정성과는 독립적이며, Bax 유전자 변이에 의한 Bax 발현 소실은 주로 저빈도 현미부수체 불안정성(MSI-L)인 위암에서 관찰되었다.<sup>36</sup> 또한 현미부수체 불안정성이 발현된 위암에서는 p53 유전자 변이가 전혀 나타나지 않았지만 Bax 유전자 변이가 있는 위암에서 p53 유전자 변이가 동시에 발현될 경우, 종양이 공격적인 특성(aggressive tumor biology)과 나쁜 예후를 나타낸다고 보고하였다.

본 연구에서 현미부수체 불안정성이 있는 산발성 자궁내막양 자궁내막선암에서는 88.9% (8/9)에서 Bax 발현 소실이 있어 통계적으로 유의한 상관관계를 보여( $p < 0.05$ ), 산발성 자궁내막양 자궁내막선암에서 Bax 유전자가 현미부수체 불안정성의 표적임을 제시한 결과라고 하겠다. 그러나 Bax 단백질의 발현 소실은 연령, 병기, 세포분화도, 림프혈관계 침범 여부 등의 임상 및 병리학적 인자와의 상관관계는 없었고( $p > 0.05$ ), 이러한 본 연구의 결과로 볼 때, 위암과는 달리 산발성 자궁내막양 자궁내막선암에서 Bax 유전자 변이는 나쁜 예후나 종양의 공격적인 특성과 연관성이 없는 것으로 생각된다.

결론적으로 본 연구의 결과를 통해 산발성 자궁내막양 자궁내막선암에서 현미부수체 불안정성의 발현은 30%에 국한되었으나 이러한 현미부수체 불안정성은 hMLH1, hMSH2 유전자의 변이와 상관관계를 가지고 있었다. 그러나 hMSH2 유전자 변이에 비해 hMLH1 유전자 변이와의 관련성이 큰 것으로 생각된다. 현미부수체 불안정성과 임상 및 병리학적 인자 사이에 유의한 상관관계는 볼 수 없었지만, 현미부수체 불안정성과 밀접한 관련을 갖는 hMLH1 유전자의 변이는 산발성 자궁내막양 자궁내막선암의 예후 인자와 상관관계를 보여 새로운 예후인자로서의 가능성을 보였다. 자궁내막선암에서 현미부수체 불안정성의 표적 인자로 생각되었던 Bax 유전자는 다른 연구와 같이 본 연구에서도 Bax 유전자 변이와 현미부수체 불안정성간의 상관관계를 입증할 수 있었다. 따라서 저자는 현미부수체 불안정성을 중심으로 한 발암과정에 있어서 MMR유전자나, 현미부수체 불안정성의 표적 유전자가 산발성 자궁내막 양 자궁내막선암에서는 위암 및 대장암과 차이가 있음을 알 수 있었다. 향후 현미부수체 불안정성이 관련된 종양에서 현미부수체 불안정성의 표적이 되는 정확한 유전자를 규명하고, 현미

부수체 불안정성으로 인한 발암 과정과 세포고사(apoptosis) 억제를 통한 발암과정의 연속성을 알아내 고자 하는 다각적인 연구가 필요 할 것으로 생각된다.

## 참고문헌

1. Devilee P, Cornelisse CJ. Somatic genetic changes in human breast cancer. *Biochem Biophys Acta* 1994; 1198: 113-30.
2. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell population. *Science* 1976; 194: 23-8.
3. Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 1993; 9: 138-41.
4. Weinberg RA. A tumor suppressor genes. *Science* 1991; 254: 1138-46.
5. Loeb LA. Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis. *Cancer Res* 1991; 51: 3075-9.
6. Kuerbitz SJ, Plunkitt BS, Walsh WV, Kastan MB. Wild-type p53 is a cell cycle check point determinant following irradiation. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89: 7491-5.
7. Jhnwar-Uniyal M. BRCA1 in cancer, cell cycle and genomic stability. *Front Biosci* 2003; 8s: 1107-17.
8. Lavia P, Mileo AM, Giodarno A, Paggi MG. Emerging roles of DNA tumor viruses in cell proliferation: new insights into genomic instability. *Oncogene* 2003; 22(42): 6508-16.
9. Kolodner R. Biochemistry and genetics of eukaryotic mismatch repair. *Genes Dev* 1996; 10: 1433-42.
10. Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS, Sistonen P, Pylkkanen L, Mecklin JP, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science* 1993; 260: 812-6.
11. De leeuw WJ, Dierssen J, Vasen HF. Prediction of a mismatch repair gene defect by microsatellite instability and immunohistochemical analysis in endometrial tumors from HNPCC patients. *J Pathol* 2000; 192: 328-35.
12. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993; 260: 816-9.
13. Doggan BD, Felix JC, Muderspach LI, Tourgeman D, Zheng J, Shibata D. Microsatellite instability on sporadic endometrial carcinoma. *J Natl cancer Inst* 1994; 86: 1216-21.
14. Burks RT, Kessiss TD, Cho KR, Hendrick L. Microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Oncogene* 1994; 9: 1163-6.
15. Hellend A, Borresen-dale AL, Peltomaki P, Hekton M, Kristensen GB, Nesland JM, et al. Microsatellite instability in cervical and endometrial carcinoma. *Int J Cancer* 1997; 70: 499-501.
16. Esteller M, Levin R, Baylin SB. hMLH1 promoter

- methylation is associated with the microsatellite instability phenotype in sporadic endometrial carcinomas. *Oncogene* 1998; 16: 2413-7.
17. Tibiletti MG, Furlan D, Taborelli M. Microsatellite instability in endometrial cancer: Relation to histological subtypes. *Gynecol Oncol* 1999; 155: 1767-72.
18. MacDonald ND, Salevesen HB. Methylation of hMLH1 in a population based series of endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3607-13.
19. Lim PC, Tester D, Cliby W. Absence of mutations in DNA mismatch repair genes in sporadic endometrial tumors with microsatellite instability. *Cancer* 1996; 148: 1671-8.
20. Kowalski LD, Mutch DG, Herzog TJ. Mutational analysis of MLH1 and MSH2 in 25 prospectively-acquired RER+ endometrial cancers. *Gene Chromosomes Cancer* 1997; 18: 21027-33.
21. Kondo E, Furukawa T, Yoshinaga K. Not hMSH2 but hMLH1 is frequently silenced by hypermethylation in endometrial cancer but rarely silenced in pancreatic cancer with microsatellite instability. *Int J Oncol* 2000; 17: 535-41.
22. Risinger JI, Berchuck A, Kohler MF, Watson P, Lynch HT, Boyd J. Genetic instability of microsatellite in endometrial carcinoma. *Cancer Res* 1993; 53: 5100-12.
23. Salvesen HB, McDonald N, Ryan A. Methylation of hMLH1 in a population based series of endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3607-13.
24. Caduff RF, Johnston CM, Svoboda SM. Clinical and pathological significance of microsatellite instability in sporadic endometrial carcinomas. *Cancer Res* 1995; 55: 5556-60.
25. Schwartz S, Yamamoto H, Narvarro M. Frameshift mutations at mononucleotide repeats in caspase-5 and other target genes in endometrial and gastrointestinal cancer of the microsatellite mutator phenotype. *Cancer Res* 1999; 59: 2995-3002.
26. Basil JB, Goodfellow PJ, Rader JS, Mutch DG, Herzog TJ. Clinical significant of microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Cancer* 2000; 89: 1758-64.
27. Peiro G, Diebold J, Mayer D, Baretton GB, Kimming R, Schimdt M. Prognostic relevance expression in endometrial carcinoma. *Mod Pathol* 2001; 14(8): 773-83.
28. Brimmell M, Mendiola R, Mangion J, Packham G. BAX frameshift mutations in cell lines derived from human hematopoietic malignancies are associated with resistance to apoptosis and microsatellite instability. *Oncogene* 1998; 16: 1803-12.
29. Ouyang H, Frukawa T, Abe T, Kato Y, Horii A. The bax gene, the promoter of apoptosis is mutated in genetically unstable cancers of the colorectum, stomach, and endometrium. *Clin cancer Res* 1998; 4: 1071-4.
30. Yagi OK, Akiyama Y, Nomizu T, Iwama T, Endo M, Yuasa Y. Proapoptotic gene BAX is frequently mutated in hereditary nonpolyposis colorectal cancers but not in adenomas. *Gastroenterology* 1998; 114: 268-74.
31. Catusus L, Matias-Guiu X, Machin P, Munoz J, Prat J. BAX somatic frameshift mutations in endometrial adenocarcinomas of the endometrium: Evidence for a tumor progression role in endometrial carcinomas with microsatellite instability. *Lab Invest* 1998; 78: 1439-44.
32. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR. National Cancer Institute workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial prediction: Development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998; 58: 5248-57.
33. Thara E. Molecular biology of gastric cancer. *World J Surg* 1995; 19: 484-8.
34. Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, Shibata D, Perucho M. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism of colonic carcinogenesis. *Nature* 1993; 363: 558-61.
35. Millar AL, Pal T, Madlensky L, Sherman C, Temple L, Mitri A, et al. Mismatch repair gene defects contribute to the genetic basis of double primary cancers of the colorectum and endometrium. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 823-9.
36. Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Eng J Med* 2000; 342: 69-77.
37. Mrozek A, Petrowsky H, Sturm I, Kraus J, Hermann S, Hauptmann S, et al. Combined p53/Bax mutation results in extremely poor prognosis in gastric carcinoma with low microsatellite instability. *Cell Death Differ* 2003; 10: 461-7.
38. Peiro G, Diebold J, Lohse P, Ruebsamen H, Lohse P, Bareppon GB, et al. Microsatellite instability, loss of heterozygosity and loss of hMLH1 and hMSH2 protein expression in endometrial carcinoma. *Human Path* 2002; 33: 347-54.
39. Honchel R, Halling KC, Thibodeau SN. Genomic instability in neoplasia. *Semin Cell Biol* 1995; 6: 45-52.
40. Umar A, Boyer J, Thomas C, Nguyen DC, Risinger JI, Boyd J, et al. Defective mismatch repair in extracts of colorectal and endometrial cancer cell lines exhibiting microsatellite instability. *J Biol Chem* 1994; 155: 1767-70.
41. Katabuchi H, van Rees B, Lamvers AR, Ronnett BM, Blazes MS, Leach FS, et al. Mutations in DNA mismatch repair genes are not responsible for microsatellite instability in most sporadic endometrial carcinomas.

- Cancer Res 1995; 55: 5556-60.
42. Gurin CC, Federici MG, Kang L, Boyd J. Cause and consequences of microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 462-6.
43. Liu B, Nicoladis NC, Markowitz S. Mismatch repair gene defects in sporadic colorectal cancers with microsatellite instability. *Nature Genet* 1995; 9: 48-55.
44. Leach FS, Nicoladis NC, Papadopoulos N. Mutations of a mutS homolog on hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* 1993; 75: 1215-35.
45. Kim WH, Lee HW, Park SH, Kim YI, Chi JG. Microsatellite instability in young patients with colorectal cancer. *Pathol Int* 1998; 48: 586-94.
46. Kane MF, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, et al. Methylation of the hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair defective human tumor cell lines. *Cancer Res* 1997; 57: 808-11.
47. Cuningham JM, Christensen ER, Tester D, Burgart LJ, Roche PC, et al. Hypermethylation of the hMLH1 promoter in colorectal cancer with microsatellite instability. *Cancer Res* 1998; 58: 3455-60.
48. Herman JG, Umar A, Polyark K, Graff JR, Ahuja N, Issa JP, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 6870-5.
49. Leung SY, Yuen ST, Chung LP, Chu KM, Chan AS, Ho JC. hMLH1 promoter methylation and lack of hMLH1 expression in sporadic gastric carcinomas with high frequency microsatellite instability. *Cancer Res* 1999; 59: 159-64.
50. Staebler A, Lax SF, Ellenson LH. Altered expression of hMLH1 and hMSH2 protein in endometrial carcinomas with microsatellite instability. *Hum Pathol* 2000; 31: 354-8.
51. Balduin P, Cossu A, Manca A, Satta P, Pisano M, Casula M, et al. Microsatellite instability and mutation analysis of candidate genes in unselected sardinian patients with endometrial carcinoma. *Cancer* 2002; 94: 3457-68.
52. Chiaravalli AM, Furlan D, Facco C, Tibiletti MG, Dionigi A, Casati B, et al. Immunohistochemical pattern of hMSH2/hMLH1 in familial and sporadic colorectal, gastric, endometrial and ovarian carcinomas with instability in microsatellite sequences. *Virchows Arch* 2001; 438: 39-48.
53. Hardisson D, Moreno-Bueno G, Sanchez L, Sarrio D, Suarez A, Calero F, et al. Tissue microarray immunohistochemical expression analysis of mismatch repair(hMLH1/hMSH2 genes) in endometrial carcinoma and atypical endometrial hyperplasia; Relationship with microsatellite instability. *Mod Pathol* 2003; 16: 1148-58.
54. Maeda K, Nishiguchi Y, Onoda N, Otani H, Nakata B, Yamada S, et al. Expression of th mismatch repair gene hMSH2 in sporadic colorectal cancer. *Int J Oncol* 1998; 13: 1147-51.
55. Jin TX, Furihata M, Yamasaki I, Kamada M, Liang SB, Ohtsuki Y, et al. Human mismatch repair gene(hMSH2) product expression in relation to recurrence of transitional cell carcinoma of urinary bladder. *Cancer* 1999; 85: 478-84.
56. Park YR, Halling KC, Burgart LJ, McDonnell SK, Schaid D, Thibodeau S, et al. Microsatellite instability and hMLH1/hMSH2 expression in young endometrial carcinoma patients: association with family history and histopathology. *Int J Cancer* 2000; 86: 60-6.
57. Catusus L, Matias X, Machin P, Zannoni F, Scambia G, Benedetti-Panici P, et al. Frameshift mutations at coding mononucleotide repeat microsatellites in endometrial carcinoma with microsatellite instability. *Cancer* 2000; 88: 2290-7.
58. Furlan D, Casati B, Cerutti R, Facco C, Terracciano L, Capella C, et al. Genetic progression in sporadic endometrial and gastrointestinal cancers with high microsatellite instability. *J Pathol* 2002; 197: 603-9.
59. Peiro G, Lophse P, Mayr D, Diebold J. Insulin-like growth factor-I receptor and PTEN protein expression in endometrial carcinoma. Correlation with bax and bcl-2 expression, microsatellite instability status, and outcome. *Am J Clin Pathol* 2003; 120: 78-85.

## 국문초록

**목적** : 산발성 자궁내막양 자궁내막선암에서 현미부수체 불안정성과 hMLH1, hMSH2, Bax의 발현율을 알아보고, 현미부수체 불안정성과 hMLH1, hMSH2, Bax 발현 사이의 연관성을 알아보고자 하였다. 또한 현미부수체 불안정성과 hMLH1, hMSH2, Bax 발현이 자궁내막암의 예후인자인 임상적 병기나 조직학적 유형, 림프절 전이, 림프혈관계 침범 등의 임상 및 병리학적 인자와 상관관계가 있는지 알아보고자 하였다.

**연구 방법** : 1998년 3월부터 2002년 6월까지 산발성 자궁내막양 자궁내막선암으로 진단된 30명의 환자를 대상으로 하였다. 현미부수체 불안정성을 검출하기 위해 5개의 표준 현미부수체 표지자(BAT26, D5S346, BAT25, D17S250, D2S123)를 시발체로 하는 PCR검사를 시행하여, 현미부수체 불안정성을 분석하였다. hMLH1, hMSH2 및 Bax 단백질의 발현을 알아보기 위해 면역조직화학 염색을 이용하여 발현 정도를 관측하였다.

**결과** : 산발성 자궁내막양 자궁내막선암에서 고빈도 현미부수체 불안정성(MSI-H)은 30% (9/30), 저빈도 현미부수체 불안정성(MSI-L)은 한 예도 없었으며 현미부수체 안정(MSS)은 70% (21/30)에서 관찰되었다. hMLH1, hMSH2, Bax 발현 각각 56.7% (17/30), 46.7% (14/30), 43.0% (13/30)에서 소실됨을 보였다. hMLH1과 hMSH2 그리고 Bax 단백질의 발현 소실은 현미부수체 불안정성과 모두 유의한 상관관계를 보였다( $p < 0.05$ ). 현미부수체 불안정성은 자궁내막선암의 임상 및 병리학적 인자인 병기, 조직학적 등급, 림프혈관계 침범, 자궁 근층 침범 등과 상관관계가 없었으나( $p > 0.05$ ), hMLH1은 조직학적 등급 및 림프혈관계 침범과 통계적으로 유의한 상관관계를 보였다( $p < 0.05$ ). hMSH2와 Bax는 자궁내막선암의 임상 및 병리학적 인자와 상관관계가 없었다( $p > 0.05$ ).

**결론** : 이상의 결과로 볼 때, 현미부수체 불안정성은 hMLH1, hMSH2 및 Bax 유전자의 변이와 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 결론적으로 현미부수체 불안정성과 hMLH1, hMSH2 그리고 Bax 유전자 변이는 산발성 자궁내막양 자궁내막선암의 분자유전학적 발암 기전에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 또한 hMLH1은 새로운 예후 인자로서의 가능성을 보였다.

**중심단어** : 산발성 자궁내막양 자궁내막선암, 현미부수체 불안정성, hMLH1, hMSH2, Bax, 임상 및 병리학적 인자