

갑상선 유두암에서 p53, p21과 bcl-2 단백질 발현과 임상적 의미

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 내분비-대사내과, 삼성생명과학연구소¹, 병리과²

정태식 · 김근숙¹ · 오영훈² · 정정화 · 이은영 · 정혜승 · 민용기 · 이명식 · 이문규 · 김광원 · 정재훈

p53, p21 and bcl-2 Protein Expressions and the Clinical Significance in Papillary Thyroid Carcinoma

Tae Sik Jung, Keun-Sook Kim¹, Young Lyun Oh², Jung Hwa Jung, Eun-Young Lee, Hye Seung Jung, Yong-Ki Min, Myung-Shik Lee, Moon-Kyu Lee, Kwang-Won Kim, Jae Hoon Chung

Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Medicine, Samsung Biomedical Research Institute¹, Department of Pathology², Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine

ABSTRACT

Background: There have been some investigations concerning the role of p53, p21 and bcl-2 protein expressions for the tumorigenesis of thyroid cancer. It had been debated that these protein expressions were associated with aggressive features of papillary thyroid carcinoma. We studied to evaluate the prevalence of these protein expressions and their clinical significances in papillary thyroid carcinoma.

Methods: We selected 49 patients with papillary thyroid carcinoma who had been operated on at Samsung Medical Center during the last 10 years. Immunohistochemical staining for p53, p21 and bcl-2 was done by the use of paraffin embedded tissues. We analyzed the results of immunohistochemical staining for p53, p21 and bcl-2 and the correlation with the patients' age, gender, tumor size, multifocality, tumor invasion to both lobes, extrathyroidal invasion, cervical lymph node invasion, distant metastasis and the clinical outcomes.

Results: Immunohistochemical staining for p53 was positive in 10 patients (20%), p21 was positive in 36 patients (73%) and bcl-2 was positive in 18 patients (37%). The p53 and bcl-2 expressions were not associated with the clinical parameters. Tumor multifocality and extrathyroidal invasion were significantly higher in the p21 positive group (both $P < 0.05$).

Conclusion: This study showed that the p21 protein expression was associated with tumor multifocality and extrathyroidal invasion in the patients with papillary thyroid carcinoma. Immunohistochemical stains for p21 may be used as a parameter for tumor aggressiveness in papillary thyroid carcinoma. (J Kor Endocrine Soc 22:98~104, 2007)

Key Words: bcl-2, Immunohistochemistry, Papillary thyroid carcinoma, p21, p53

서 론

p53은 세포 주기의 조절, DNA 수복 그리고 세포사멸 등에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[1]. p53 돌연변

이는 분화가 좋지 않은 갑상선 저분화암과 미분화암에서 그 빈도가 증가하며, 일반적으로 갑상선 유두암에서는 돌연변이가 발견되지 않는 것으로 알려져 있다[2,3]. 그러나 갑상선 유두암에서 면역조직화학염색에 의한 p53의 발현이 관찰되며 임상 양상이나 예후와도 연관되어 있다는 보고가 있다[4~7].

p21은 세포 주기를 조절하는 cyclin-의존성 키나아제를 억제하는 단백질로 주로 DNA 손상에 대한 p53의 활성화에

접수일자: 2006년 9월 22일

통과일자: 2006년 11월 09일

책임저자: 정재훈, 성균관대학교 의과대학 내분비-대사내과

의해서 유도된다고 하며[8,9], p53에 의존하지 않고 독립적으로 활성화되기도 한다[10,11]. p21은 DNA 손상 시 세포 주기의 G1에서 S 시기로 가는 것을 차단함으로써 증식 억제 작용을 하여 종양의 발달을 차단하는 역할을 주로 한다. 갑상선암의 발달에 p21은 중요한 역할을 하지 않는다는 병리 조직학적 연구가 있었으나[12~14], 갑상선 유두암에서 임상 특성과 함께한 연구에서는 면역조직화학염색에서 p21 양성인 경우 임상 경과가 좋지 않다는 보고도 있다[14~16].

bcl-2는 세포사멸을 조절하는 역할을 하고 있으며, 갑상선암에서 bcl-2의 발현은 종양의 진행을 억제시키는 역할을 하여서 임상 양상을 좋게 한다는 연구가 있다[4,17,18]. 하지만, 갑상선 유두암에서 bcl-2의 발현과 예후와는 직접적인 관계는 없는 것으로 알려져 있다[17,18].

갑상선 유두암에서 p53, p21과 bcl-2 종양 단백질의 발현과 임상 양상과의 연관성에 관해서는 충분히 밝혀지지 않았다. 이에 본 연구에서는 갑상선 유두암에서 종양 단백질로 알려져 있는 p53, p21과 bcl-2의 발현 정도를 면역조직화학염색을 통해 알아보고 임상적 의미에 관해 알아보려고 한다.

대상 및 방법

1. 대상 환자

환자는 1994년 12월부터 2004년 12월까지 삼성서울병원에서 갑상선절제술 후 갑상선 유두암으로 진단된 49명을 대상으로 하였다. 갑상선 유두암 중 전형적인 유두암만 포함하였고, 갑상선 유두암의 다른 아형들은 대상에서 제외하였다. 환자들의 나이는 평균 43 ± 16 세(16~79세)였고, 성별은 남자가 7명, 여자가 42명이었다. 43명은 갑상선전절제술을, 4명은 갑상선아전절제술을, 그리고 2명은 엽절제술을 시행하였다. 수술 후 방사성요오드 스캔은 44명에서 시행하였는데, 이 중 36명 환자의 방사성요오드 총량이 100 mCi 이상되었고, 평균 방사성요오드 총량은 129 ± 85 mCi (10~350 mCi)였다. 환자들은 모두 수술 후 갑상선호르몬 보충으로 TSH 억제 요법을 시행 받았으며, 평균 추적기간은 60 ± 36 개월(10~130개월)이었다. 환자들의 임상 정보는 후향적으로 병력 기록을 분석하였다. 갑상선 종양의 크기는 1.6 ± 1.0 cm (0.3~5.5 cm)이었다. 종양의 개수가 1개인 경우가 29명, 2개 이상인 경우가 20명이었다. 종양이 한 쪽 엽만 침범한 경우가 33명, 양엽을 모두 침범한 경우가 16명이었다. 조직 병리검사에서 갑상선외 조직 침범이 있는 경우가 31명이었고, 기관침범은 없었다. 경부 림프절 침범은 19명에서 관찰되었고, 2002년 AJCC (American Joint Committee on Cancer)의 정의에 따른 경부 중심 림프절전이(N1a)는 10명, 경부 측면 림프절전이(N1b)는 9명에서 관찰되었다[19]. 원격전이는 1명에서 폐 전이가 있었는데 방사성요오드 스캔으로 진단하였다. AJCC에 의한 TNM병기에 따르면 I기가 28

명, II기는 0명, III기가 18명 그리고 IV기가 3명이었다. 추적관찰 기간 동안 41명에서 잔여 종양 없이 관찰 중이었고, 5명이 방사성요오드 스캔에서 잔여 조직이 일부 남아 있었다. 3명의 환자에서 재발하였는데 한 명은 수술 후 100개월 만에 경부림프절에서 재발하여 조직 검사로 확인하였고, 또 한 명은 수술 후 17개월째에 실시한 방사성요오드 스캔에서 갑상선 기저부와 종격동에 재발이 확인되었다. 나머지 한 명은 수술 후 46개월에 혈청 갑상선글로불린 농도가 증가하였으나 갑상선 초음파와 방사성요오드 스캔에서는 병소가 발견되지 않았고, 대신 PET 스캔에서 발견되어 수술을 통하여 조직학적 확인을 받았다.

잔여 종양 없이 생존의 정의는 혈청 갑상선글로불린 농도가 2 ng/mL 미만이고, 방사성요오드 스캔에서 잔여 갑상선 조직이 보이지 않는 경우로 하였다. 방사성요오드 스캔을 시행하지 않은 환자는 경부 초음파, 흉부 방사선 촬영, 골 스캔 또는 PET 검사에서 잔여 병소가 발견되지 않는 경우로 하였다. 갑상선암의 재발이나 원격전이는 조직학적으로 확진 되는 경우로 하였으나, 방사성요오드 스캔에서 갑상선암의 특징적인 소견을 보이는 경우도 포함하였다.

환자들을 p53, p21과 bcl-2 면역조직화학염색 결과에 따라 두 군으로 나누어 나이, 성별, 종양의 크기, 종양의 다발성, 양엽 침범 유무, 갑상선외 조직 침범, 경부 림프절전이, 원격전이, TNM의 병기를 비교하였고, 임상 양상으로는 잔여 종양 없이 생존, 잔여 종양이 남은 경우, 재발률 그리고 사망률을 비교하였다.

두 군 사이의 비교는 Pearson의 카이-제곱 검정을 통한 교차분석을 하였고, 기대 빈도가 5 이하인 경우 Fisher's exact 검정을 하였다. 통계적인 유의성이 있는 군에서는 각 인자들의 독립적인 영향력을 평가하기 위해서 다중 로지스틱 회귀분석을 이용하였다. 통계분석은 SPSS 11.0 프로그램 (SPSS Inc., Chicago, IL, SPSS Base 11.0 for Windows)을 이용하였고, P 값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

2. 면역조직화학염색 검사 방법

면역조직화학염색에 사용한 조직은 수술 후 파라핀으로 처리하여 보관 중인 조직을 4 μ m의 두께로 잘라서 사용하였다. 조직을 xylene 용액에 3회 처리 후 100%, 90%, 70%, 50% 그리고 30% 알코올을 단계적으로 이용하여 파라핀을 제거하였다. 0.2 M의 glycine이 함유된 aldehyde 용액에 30분간 처리한 후 인산염 식염수(phosphate buffered saline)에 3분 간격으로 2회 세척하였다. 이후 pH 6.0의 0.1 M의 citrate 용액에 3분간 극초단파로 가열한 뒤 일반 실험실 온도에서 식혔다. 이후 4.2 M 염산에 15분간 처리 후 인산염 식염수로 3회 세척하였다. 조직을 10% 염소 혈청에 30분간 담근 후 일차 항체로 p53 rabbit 단클론 항체(sc-6243, Santa

Cruz Biotechnology, CA, USA)를 1:50으로 희석하여 60분간 처리한 뒤 인산염 식염수로 3분 간격으로 2번 세척하였다. 이차 항체로 biotinylated goat anti-rabbit IgG (81-6140, Zymed Laboratories, CA, USA)를 1:100으로 희석하여 처리 후 3분 간격으로 2번 세척하였다. p21의 일차 항체로는 mouse 단클론 항체(sc-817, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA)를 1:500으로 희석하여 사용하였고, 이차 항체로 biotinylated anti-mouse IgG (BA-9200, Vector Laboratories, CA, USA)를 1:300으로 희석하여 사용하였다. bcl-2의 일차 항체로 mouse 단클론 항체(ab692, Abcam Laboratories, UK)를 1:100으로 희석하여 사용하였고, 이차 항체로 biotinylated goat anti-mouse IgG (BA-9200, Vector Laboratories, CA, USA)를 1:300으로 희석하여 사용하였다. 조직을 메탄올에 1% hydrogen hydroxide을 섞은 용액에 15분간 담근 뒤 인산염 식염수로 3분 간격으로 2번 세척하였다. Peroxidase 복합 용액인 ABC 키트(PK-6200, Vector Laboratories, CA, USA)를 이용하여 30분간 처리 후 인산염 식염수를 이용하여 3분 간격으로 3회 세척하였다. 일반 실험실 온도에서 조직슬라이드에 DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride)을 처리하여 발색 처리한 후 인산염 식염수로 3분 간격으로 4회 세척하였다. Meyer의 hematoxylin 대조 염색을 한 후 수돗물로 3분 간격으로 3회 세척하였다. 조직 슬라이드에 coverslip을 씌운 뒤 고정을 완료하였다.

p53, p21의 양성 대조군으로 대장암 환자의 조직을 사용하였고, bcl-2의 양성 대조군으로는 편도 조직을 이용하였다. 음성 대조군으로는 일차 항체 대신 인산염 식염수를 사용한 대장암 조직과 편도 조직을 이용하였다. 각 면역조직화학 검사의 양성 기준은 이전 논문의 양성 기준을 인용하여서 p53은 전체 암세포에서 1% 이상[4], p21은 5% 이상[20] 그리고 bcl-2는 10% 이상[18] 염색된 경우로 정의하였다.

결 과

갑상선 조직의 p53 면역화학염색에서 양성으로 나온 경우가 20% (10명/49명)이었다. p53 염색이 1~9% 사이인 경우가 1명(10%), 10~30%가 9명(90%)이었다. 폐 전이가 있는 환자에서 p53 염색 음성이었고, 재발한 환자 3명 중 1명에서만 p53 염색 양성이었다. p53 염색 양성군과 음성군으로 나누어 임상 양상을 분석한 결과 환자의 나이, 성별, 종양의 크기, 종양의 다발성, 갑상선 양엽의 침범, 갑상선 조직 외 침범, 경부 림프절 침범, 원격전이, TNM병기 그리고 재발률에 대한 통계적인 의미는 없었다(Table 1).

갑상선 조직의 p21 면역화학염색에서 양성으로 나온 경우가 73% (36명/49명)이었다. p21 염색이 5~29% 사이인 경우가 10명(28%), 30~49%가 0명(0%), 50~74%가 8명(22%) 그리고 75% 이상이 18명(50%)이었다. 폐 전이가 있는 환자와 재발한 환자의 3명 중 2명이 p21염색에 양성이었다. p21염색 양성군과 음성군으로 나누어 임상 양상을 분석한 결과 환자의 나이, 성별, 종양의 크기, 갑상선 양엽의 침범, 경부 림프절 침범, 원격전이, TNM병기 그리고 재발률에 통계적인 차이는 없었으나, p21양성 군에서 종양의 다발성 (50% vs. 15%, $P < 0.05$)과 갑상선외 조직 침범(72% vs. 39%, $P < 0.05$) 이 통계적으로 유의하게 높았다(Table 2). 그러나 다중 로지스틱 회귀분석에서 종양의 다발성과 갑상선외 조직 침범을 포함한 모든 인자에서 통계적인 의미는 없었다.

갑상선 조직의 bcl-2 면역화학염색에서 양성으로 나온 경우가 37% (18명/49명)이었다. bcl-2 염색이 10~29% 사이인 경우가 6명 (33%), 30~49%가 10명 (56%), 50~74%가 1명 (6%) 그리고 75% 이상이 1명 (6%)이었다. 폐 전이가 있었던 환자는 bcl-2 염색 양성이었다, 재발한 환자 3명 중 2명에서 bcl-2 염색 양성이었다. bcl-2 염색 양성군과 음성군으

Table 1. Analysis of clinicopathologic data according to the p53 immunohistochemical stains in papillary thyroid carcinoma

	p53 (+)	p53 (-)
Number	10 (20%)	39 (80%)
Age	42 ± 17	43 ± 16
Sex (male)	0/10 (0%)	7/39 (18%)
Size	1.9 ± 0.8	1.6 ± 1.1
Multifocality	4/10 (40%)	16/39 (41%)
Location	4/10 (40%)	12/39 (31%)
Extrathyroidal invasion	8/10 (80%)	23/39 (59%)
Lymph node invasion	5/10 (50%)	14/39 (36%)
Distant metastasis	0/10 (0%)	1/39 (3%)
TNM III or IV stage	5/10 (50%)	16/39 (41%)
Recurrence	1/10 (10%)	2/39 (5%)

Table 2. Analysis of clinicopathologic data according to the p21 immunohistochemical stains in papillary thyroid carcinoma

	p21 (+)	p21 (-)
Number	36 (73%)	13 (27%)
Age	45 ± 17	36 ± 10
Sex (male)	4/36 (11%)	3/13 (23%)
Size	1.7 ± 0.9	1.5 ± 1.4
Multifocality*	18/36 (50%)	2/13 (15%)
Location	14/36 (39%)	4/13 (31%)
Extrathyroidal invasion*	26/36 (72%)	5/13 (38%)
Lymph node invasion	14/36 (39%)	5/13 (38%)
Distant metastasis	1/10 (10%)	0/39 (0%)
TNM III or IV stage	18/36 (50%)	3/13 (23%)
Recurrence	2/36 (6%)	1/13 (8%)

* P value < 0.05 by Pearson's chi-square test.

Table 3. Analysis of clinicopathologic data according to the bcl-2 immunohistochemical stains in papillary thyroid carcinoma

	bcl-2 (+)	bcl-2 (-)
Number	18 (37%)	31 (63%)
Age	43 ± 13	43 ± 18
Sex (male)	3/18 (17%)	4/31 (13%)
Size	1.62 ± 1.30	1.7 ± 0.9
Multifocality	6/18 (33%)	14/31 (45%)
Location	6/18 (33%)	10/31 (32%)
Extrathyroidal invasion	10/18 (56%)	21/31 (68%)
Lymph node invasion	6/18 (33%)	13/31 (42%)
Distant metastasis	0/18 (0%)	1/31 (3%)
TNM III or IV stage	7/18 (39%)	14/31 (45%)
Recurrence	1/18 (6%)	2/31 (7%)

로 나누어 임상 양상을 분석한 결과 환자의 나이, 성별, 종양의 크기, 종양의 다발성, 갑상선 양엽의 침범, 갑상선 조직외 침범, 경부 림프절 침범, 원격전이, TNM병기 그리고 재발률에 대한 통계적인 의미는 없었다(Table 3).

p53 양성인 환자의 90% (9명/10명)에서 p21 염색 양성이었고, p53 염색 음성인 환자 중 69% (27명/39명)에서 p21 염색 양성이었다. 전체 49명의 환자에서 p53과 p21에 모두 염색되지 않은 환자가 24% (12명)이었다. 전체 49명의 환자 중 86% (42명/49명)은 p53, p21 또는 bcl-2 중 하나 이상의 단백질 발현이 있었다.

고찰

갑상선암의 면역조직화학염색에서 종양 단백질 발현의 빈도가 종양 유전자 돌연변이의 빈도보다 더 높는데, 이는 면역

조직화학염색에서는 정상 종양유전자의 단백질과 돌연변이가 있는 종양단백질이 구별이 되지 않고 모두 같이 염색이 되기 때문이다. 갑상선 유두암에서는 일반적으로 p53 유전자의 돌연변이가 거의 없는 것으로 알려져 있지만[2,3], 면역조직화학염색에서의 발현 빈도는 6~17%로 보고되고 있다[5-7]. p53의 발현은 갑상선 분화암에서 저분화암 또는 미분화암으로 진행할수록 그 빈도가 증가하여 분화암에서 미분화암으로 진행하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[3-5]. Omar 등[7]은 53명의 갑상선 유두암 환자의 p53 면역조직화학염색 결과와 환자의 나이, 성별, 증상의 기간, 갑상선 조직외 침범, 경부 림프절전이 그리고 원격전이 여부를 분석하였는데, 그 중 갑상선 조직외 침범과 경부 림프절전이가 통계적으로 유의한 결과를 보였다. 또한 평균 46.2개월을 추적 관찰한 결과 p53 양성군에서 통계적으로 유의하게 생존율이 좋지 않았다. Godballe 등[6]은 갑상선 유두암 174명과 여포

암 57명을 합한 231명의 환자를 평균 10.2년간 추적 관찰하였는데 p53 면역조직화학염색 양성 군에서 통계적으로 유의하게 생존율이 좋지 않았다. 그러나 본 연구에서는 p53 양성군과 갑상선 유두암의 임상 양상과의 차이가 없었는데, 이는 본 연구의 환자 수가 적고 추적 관찰 기간이 짧으며, 사망 환자가 없는 임상적으로 양호한 군이기 때문이라고 생각한다.

Ras 유전자군은 21-킬로달톤의 단백질을 발현시키고, p21 단백질은 구아닌 핵산과 결합하고 GTPase 활성화를 통해 세포막에서 핵으로의 신호 전달체계에 관여하여 세포의 증식과 종양의 발생에 관여한다[21]. 갑상선 여포세포에서 p21의 면역조직화학염색 검사의 양성 소견은 세포가 활발하게 분화하는 정상 세포나 여포성 종양 등에서도 관찰되어 갑상선암 발생의 초기와 관련되어 있는 것으로 보인다[13,22]. 갑상선 유두암에서 ras 암유전자의 발현율을 69% 정도라고 발표한 연구도 있지만 대체로 10~20% 정도로 낮게 보고하고 있으나[22~24], 면역조직화학염색에서 p21양성률은 53~78%로 상대적으로 높다[13,15,16,18]. 이것은 p21 단백질의 발현이 ras 암유전자의 활성화에만 유도되는 것이 아니라, 표피성장인자, 섬유아세포 성장인자, 혈소관 유도 성장인자와 같은 사이토카인도 p21 단백질을 발현을 유도하기 때문으로 생각한다[8,26].

갑상선 저분화암이나 미분화암에서 p21 면역조직화학염색이 갑상선 분화암과 별 차이가 없어 갑상선 종양의 발달에 중요한 역할을 하지 않는다는 보고가 있었다[12,13,20,27]. 그러나 Okayasu 등[14]은 여포 선종 44명, 유두암 34명, 저분화암 14명 그리고 미분화암 6명을 p21 면역조직화학염색을 한 결과 종양의 분화가 나뉠수록 양성률이 높아진다고 하여 위와는 다른 결과를 보고하였다.

갑상선 유두암에서 p21 면역조직화학염색을 한 뒤 임상 양상과의 비교 연구는 지금까지 4편의 연구가 있었는데, 그 중 Mizukami 등[13]의 연구를 보면 14명의 갑상선 유두암 환자 중 12명에서 p21 면역조직화학염색 검사에서 양성으로 나왔다. p21 단백질의 염색과 갑상선 유두암의 아형, 종양의 크기 그리고 경부 림프절 침범과의 관계를 보았으나 특별한 연관성은 없었다.

Akslen과 Varhaug[15]은 127명의 갑상선 유두암 환자를 종양기간 137개월 동안 관찰 하였는데 이 중 16명이 갑상선암으로 사망하였다. p21 면역조직화학염색 검사에서 53%가 양성으로 나왔으며, 환자들의 10년 생존율을 보면 p21 염색 양성인 군이 87.4%, 음성인 군이 91.0%로 통계적인 차이는 없었다. 임상 양상에서는 경부림프절의 침범이 p21 염색 양성군이 p21 음성군에 비해 더 많았다(52% 대 41%, $P < 0.05$). 본 연구에서는 p21 염색 결과와 경부 림프절전이가 연관성이 없었으나, p21 염색 양성이 갑상선 유두암의 공격성 중 하나인 갑상선 조직의 침범 및 다발성 종양과 연관되

어 있다는 점에서 의미가 있다.

Basolo 등[16]은 45명의 갑상선 유두암 환자를 평균 73개월 동안 관찰하였으며 이 중 14명이 갑상선 유두암으로 사망하였다. p21 면역조직화학염색 검사에서 64.4%가 양성으로 나왔다. 이 중 5년 생존율을 보면 갑상선암 세포의 대부분이 p21에 염색된 환자의 65% (11/17)가 사망한 반면 p21에 염색이 되지 않거나 암세포의 40% 미만에서 양성인 군에서는 28명 중 3명만이 사망하여 p21 단백질의 발현 정도가 환자의 생존율에 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었다 ($P < 0.01$). 본 연구에서는 사망 환자가 없어서 생존율과의 연관성을 볼 수는 없었다.

Siironen 등[18]은 108명의 갑상선 유두암 환자를 p21 면역조직화학염색을 한 결과 78명(72%)에서 양성 소견을 보였다고 하였다. p21 양성 소견이 종양의 갑상선외 조직 침범 ($P < 0.01$)과 종양의 크기($P = 0.01$)에 비례하여 증가하여 p21 단백질의 발현과 갑상선 유두암의 공격성이 관련 있다고 보고하였다. 본 연구에서도 p21 면역조직화학염색 검사에서 양성으로 나온 군에서 갑상선외 조직 침범이 더 많았다는 점에서 Siironen 등의 연구 결과와 일치하였다. 그러나 본 연구에서 의미 있게 나온 종양의 다발성은 Siironen 등의 연구 계획에는 포함되어 있지 않아서 직접적인 비교는 할 수 없었다. 본 연구의 제한점으로 다변량 분석에서 종양의 다발성과 갑상선 조직의 침범이 독립적인 변수가 아닌 것으로 나왔는데, 이는 표본 수가 적은 점 등이 그 원인이 될 수 있으리라 생각하며 추후 더 많은 환자를 대상으로 추가 연구가 필요하리라 생각한다. 그 외 본 연구에서는 p21 양성 군에서 환자의 나이, 종양의 크기, 갑상선 양엽의 침범, 원격전이, TNM 병기 III 또는 IV기가 통계적으로 차이는 없었지만 좀 더 높은 경향을 보였다.

갑상선 유두암에서 bcl-2 면역조직화학염색 양성률은 26~79%로 알려져 있다[4,5,18]. bcl-2의 발현율이 갑상선 분화암에서는 미분화암으로 진행할수록 낮아져서 bcl-2가 양성인 경우 좀 덜 공격적인 임상양상과 관계하리라 추측한다[4,5,17]. 갑상선 유두암 환자를 대상으로 bcl-2 면역조직화학염색을 하였는데, bcl-2 양성군에서 세포사멸의 빈도가 통계적으로 유의하게 낮아서 bcl-2의 발현이 세포사멸을 억제한다는 것을 알 수 있다[4,5]. 하지만 bcl-2의 면역조직화학염색과 환자의 나이, 성별, 종양의 병기와 종양의 크기와 같은 임상병리적 소견과의 분석에서는 유의한 연관성이 없었다[18]. 갑상선 유두암에서 bcl-2 단백질의 발현이 양호한 예후와 관계하리라 추측하지만 상기 연구와 본 연구 모두 임상 양상과는 통계적인 의미가 없어서 갑상선 유두암의 임상 경과에 중요한 역할을 하는 종양 단백질은 아닌 것으로 생각한다.

일반적으로 p53 단백질이 p21 단백질의 발현을 유도하여 세포주기 G1기에서 종양의 발달을 억제하는 것으로 알려져

있어서 갑상선 유두암에서 p53과 p21 단백질의 공동 발현이 많을 것이라 추정하였다[8,9]. 본 연구에서 p53 양성인 10명의 환자 중 9명에서 p21 양성으로 나왔지만, p53 염색되지 않고 p21염색에만 양성으로 나온 환자가 27명으로 69%를 차지하였다. 따라서 갑상선 유두암에서 p21 단백질의 발현이 p53의 발현에 의존하지 않고 다른 기전에 의한 발현도 많다는 것을 알 수 있다.

본 연구에서는 p53과 bcl-2 면역조직화학염색 결과와 임상 양상과는 통계적인 의미가 없었다. p21 단백질의 발현이 갑상선 유두암의 공격성을 나타내는 인자 중 갑상선의 조직 침범과 종양의 다발성과 연관되어 있었으며, p21의 면역조직화학염색 검사가 갑상선 유두암의 공격적인 임상 양상을 예측하는데 도움이 될 것이라 생각한다. 향후 더 많은 갑상선 유두암 환자를 대상으로 p21 면역조직화학염색 검사와 임상 양상과의 관계에 대한 연구가 필요하리라 생각한다.

요 약

연구배경: 갑상선암의 발생에 있어서 p53, p21 및 bcl-2 단백질들의 역할에 대한 연구가 있어 왔다. 본 연구에서는 갑상선 유두암에서 p53, p21과 bcl-2 단백질들의 발현과 임상적 의미에 대해 알아보려고 하였다.

방법: 10년간 삼성서울병원에서 갑상선 유두암으로 수술한 환자들 중 외래 추적 관찰 중인 환자 49명을 대상으로 임상 기록을 분석하였다. 환자들의 p53, p21과 bcl-2 단백질의 발현 여부는 보관 중이던 파라핀 조직을 이용하여 면역조직화학염색을 하였다. p53, p21 그리고 bcl-2의 면역조직화학염색 결과와 환자의 나이, 성별, 종양의 크기, 종양의 다발성, 갑상선 양양의 침범, 갑상선의 조직 침범, 경부 림프절 침범, 원격전이 그리고 임상 경과를 비교하였다.

결과: 환자들의 추적 기간은 평균 60 ± 36개월이었고, 49명의 환자 중 3명이 재발하였으나 사망 환자는 없었다. 갑상선 조직의 p53 면역조직화학염색에서 양성으로 나온 경우가 20% (10명/49명)이었고, bcl-2는 37% (18명/49명)이었다. p53과 bcl-2의 발현은 임상 양상과 통계적인 연관성이 없었다. p21의 면역조직화학염색 검사에서 49명의 환자 중 73%인 36명이 양성으로 나왔다. p21 면역조직화학염색 양성군에서 종양의 다발성이 높고 갑상선의 조직 침범이 통계적으로 유의하게 높았다. 하지만 다변량 분석에서 종양의 다발성과 갑상선 조직의 침범은 독립적인 인자는 아니었다.

결론: 본 연구에서 갑상선 유두암의 공격성을 나타내는 인자인 종양의 다발성이나 갑상선의 조직 침범이 p21염색 양성군에서 통계적으로 의미 있게 증가하였다. 갑상선 유두암에서 p21의 면역조직화학염색 검사를 통해 종양의 공격성을 예측하는데 도움을 줄 수 있으리라 생각한다.

참 고 문 헌

1. Farid NR, Shi Y, Zou M: Molecular basis of thyroid cancer. *Endocr Rev* 15:202-232, 1994
2. Ito T, Seyama T, Mizuno T, Tsuyama N, Hayashi T, Hayashi Y, Dohi K, Nakamura N, Akiyama M: Unique association of p53 mutations with undifferentiated but not with differentiated carcinomas of the thyroid gland. *Cancer Res* 52:1369-1371, 1992
3. Patel KN, Singh B: Genetic considerations in thyroid cancer. *Cancer Control* 13:111-118, 2006
4. Basolo F, Pollina L, Fontanini G, Fiore L, Pacini F, Baldanzi A: Apoptosis and proliferation in thyroid carcinoma: correlation with bcl-2 and p53 protein expression. *Br J Cancer* 75:537-541, 1997
5. Moore D, Ohene-Fianko D, Garcia B, Chakrabarti S: Apoptosis in thyroid neoplasms: relationship with p53 and bcl-2 expression. *Histopathology* 32:35-42, 1998
6. Godballe C, Asschenfeldt P, Jorgensen KE, Bastholt L, Clausen PP, Hansen TP, Hansen O, Bentzen SM: Prognostic factors in papillary and follicular thyroid carcinomas: p53 expression is a significant indicator of prognosis. *Laryngoscope* 108:243-249, 1998
7. Omar E, Madhavan M, Othman NH: Immunohistochemical localisation of RET and p53 mutant protein of thyroid lesions in a North-Eastern Malaysian population and its prognostic implications. *Pathology* 36:152-159, 2004
8. Harper JW, Adami GR, Wei N, Keyomarsi K, Elledge SJ: The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. *Cell* 75:805-816, 1993
9. el-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, Levy DB, Parsons R, Trent JM, Lin D, Mercer WE, Kinzler KW, Vogelstein B: WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* 75:817-825, 1993
10. Michieli P, Chetid M, Lin D, Pierce JH, Mercer WE, Givol D: Induction of WAF1/CIP1 by a p53-independent pathway. *Cancer Res* 54:3391-3395, 1994
11. Parker SB, Eichele G, Zhang P, Rawls A, Sands AT, Bradley A, Olson EN, Harper JW, Elledge SJ: p53-independent expression of p21Cip1 in muscle and other terminally differentiating cells. *Science* 267:1024-1027, 1995
12. Johnson TL, Lloyd RV, Thor A: Expression of ras oncogene p21 antigen in normal and proliferative

- thyroid tissues. *Am J Pathol* 127:60-65, 1987
13. Mizukami Y, Nonomura A, Michigishi T, Noguchi M, Nakamura S, Hashimoto T: Differential (Ha-, K- and N-) ras p21 expression in benign and malignant human thyroid tumors: an immunohistochemical study. *Anticancer Res* 15:755-759, 1995
 14. Okayasu I, Osakabe T, Onozawa M, Mikami T, Fujiwara M: p53 and p21 (WAF1) expression in lymphocytic thyroiditis and thyroid tumors. *Clin Immunol Immunopathol* 88:183-191, 1998
 15. Akslen LA and Varhaug JE: Oncoproteins and tumor progression in papillary thyroid carcinoma: presence of epidermal growth factor receptor, c-erbB-2 protein, estrogen receptor related protein, p21-ras protein, and proliferation indicators in relation to tumor recurrences and patient survival. *Cancer* 76:1643-1654, 1995
 16. Basolo F, Pinchera A, Fugazzola L, Fontanini G, Elisei R, Romei C, Pacini F: Expression of p21 ras protein as a prognostic factor in papillary thyroid cancer. *Eur J Cancer* 30:171-174, 1994
 17. Pilotti S, Collini P, Rilke F, Cattoretti G, Del Bo R, Pierotti MA: bcl-2 protein expression in carcinomas originating from the follicular epithelium of the thyroid gland. *J Pathol* 172:337-342, 1994
 18. Siironen P, Nordling S, Louhimo J, Haapiainen R, Haglund C: Immunohistochemical expression of bcl-2, Ki-67, and p21 in patients with papillary thyroid cancer. *Tumour Biol* 26:50-56, 2005
 19. AJCC cancer staging manual: 6th ed. pp77-79, New York, Springer-Verlag Press, 2002
 20. Goto A, Sakamoto A, Machinami R: An immunohistochemical analysis of cyclin D1, p53, and p21waf1/cip1 proteins in tumors originating from the follicular epithelium of the thyroid gland. *Pathol Res Pract* 197:217-222, 2001
 21. Hay ID: Papillary thyroid carcinoma. *Endocrinol Metab Clin North Am* 19:545-576, 1990
 22. Furth ME, Aldrich TH, Cordon-Cardo C: Expression of ras proto-oncogene proteins in normal human tissues. *Oncogene* 1:47-58, 1987
 23. Suarez HG, Du Villard JA, Caillou B, Schlumberger M, Tubiana M, Parmentier C, Monier R: Detection of activated ras oncogenes in human thyroid carcinomas. *Oncogene* 2:403-406, 1988
 24. Wright PA, Lemoine NR, Mayall ES, Wyllie FS, Hughes D, Williams ED, Wynford-Thomas D: Papillary and follicular thyroid carcinomas show a different pattern of ras oncogene mutation. *Br J Cancer* 60:576-577, 1989
 25. Namba H, Rubin SA, Fagin JA: Point mutations of ras oncogenes are an early event in thyroid tumorigenesis. *Mol Endocrinol* 4:1474-1479, 1990
 26. Konishi N, Enomoto T, Buzard G, Ohshima M, Ward JM, Rice JM: K-ras activation and ras p21 expression in latent prostatic carcinoma in Japanese men. *Cancer* 69:2293-2299, 1992
 27. Ito Y, Kobayashi T, Takeda T, Komoike Y, Wakasugi E, Tamaki Y, Tsujimoto M, Matsuura N, Monden M: Expression of p21 (WAF1/CIP1) protein in clinical thyroid tissues. *Br J Cancer* 74:1269-1274, 1996