

## 피부 멜라닌세포질환에서 악성 진행에 따른 세포자멸사 관련 단백들(Apaf-1, Caspase-9, Bcl-2, p53, and Survivin)의 변화

강여주 · 정지한 · 임광일 · 이교영  
이연수 · 강석진 · 강창석 · 김시용<sup>1</sup>

가톨릭대학교 의과대학 병원병리학교실 및  
<sup>1</sup>피부과학교실

### Alteration of Apoptosis-Related Proteins (Apaf-1, Caspase-9, Bcl-2, p53, and Survivin) According to Malignant Progression in Cutaneous Melanocytic Lesions

Yeo-Ju Kang · Ji-Han Jung · Kwnag Il Yim · Kyo-Young Lee · Youn Soo Lee  
Seok Jin Kang · Chang Suk Kang · Si Yong Kim<sup>1</sup>

Departments of Hospital Pathology and <sup>1</sup>Dermatology, The Catholic University of Korea College of Medicine, Suwon, Korea

**Background:** Apoptosis protease activating factor-1 (Apaf-1), caspase-9, Bcl-2, p53, and survivin are important factors in the pathway of apoptosis, but their clinicopathologic significance remains unclear in human cutaneous melanoma. We investigated the expression of these proteins and their clinical value in human cutaneous melanocytic lesions. **Methods:** We performed an immunohistochemical analysis to examine the expression and distribution of Apaf-1, caspase-9, Bcl-2, p53, and survivin in 36 cases of malignant melanoma (22 cases of primary melanoma and 14 cases of metastatic melanoma) and 41 cases of melanocytic nevus. **Results:** The expression of p53 was significantly higher in malignant melanoma than in melanocytic nevus ( $p < 0.01$ ), however the expressions of Apaf-1 and caspase-9 were significantly lower in malignant melanoma compared with melanocytic nevus ( $p < 0.01$  and  $p = 0.027$ , respectively). Also, there was a significant difference for Bcl-2 staining between primary melanomas and metastatic lesions ( $p = 0.004$ ). Nuclear staining for survivin were absent in nevus, but were positive in 14 of 36 melanomas ( $p < 0.01$ ).

**Conclusions:** The altered expression of Apaf-1, caspase-9, p53, and survivin are considered to be related to malignant progression in human cutaneous melanocytic lesions. Loss of Bcl-2 can be considered as a prognostic marker of malignant melanomas.

**Key Words:** Apaf-1; Caspase-9; Bcl-2; p53; Survivin; Malignant melanoma

접 수: 2011년 2월 28일  
게재승인: 2011년 4월 27일

책임저자: 강석진  
우 442-723 경기도 수원시 팔달구 지동 93-6  
성빈센트병원 병리과  
전화: +82-31-249-7591  
Fax: +82-31-244-6786  
E-mail: sjkang@catholic.ac.kr

악성흑색종은 성장속도가 빠르고 사망률이 높은 악성 종양으로 백인종에게는 흔하게 발생되지만, 황인종이나 특히 흑인종인 경우에는 발생 빈도가 매우 낮은 편이다. 그러나 최근 생활양식 및 환경적 변화로 동서양을 막론하고 점차 증가하는 추세에 있다.

악성흑색종이 치명적인 주된 이유는 화학요법에 저항성이 있어 20% 미만의 환자에게서만 약물 반응을 보이기 때문이다. 약물 저항성에 관한 기전은 아직 밝혀지지 않았지만 세포자멸사의 결함에 의한 것으로 생각되고 있다.<sup>1</sup> 또한 세포자멸사에 대한 결함은 피부 악성흑색종의 진행 및 전이와 연관이 있다고 알려져 있다.<sup>2,3</sup>

일반적으로 세포에서 세포자멸사를 일으키는 신호는 간접적으로 세포막 수용체-조절단백-유발 카스파이제를 통하여거나, 미토콘드리아의 기능 조절 물질-유발 카스파이제의 활성화로 실행 카스파

아제를 활성화시켜서 전달된다. 즉 세포에 DNA 손상이 생기거나 스트레스를 받아 p53 등이 활성화되면 Bcl-2 또는 Bcl-x가 소실된다. 그리고 Bcl-2/Bcl-x의 농도가 감소하면 미토콘드리아막의 투과력이 증가하여 cytochrome-c 등 일부 특수 단백이 유리되고, 이는 Apaf-1과 결합하여 Apaf-1을 활성화시킨다. 이어 caspase-9 등의 유발 카스파이제와 실행 카스파이제가 연속적으로 활성화되어 세포 골격과 핵기질 단백 그리고 DNA 복제 및 수복에 관여하는 단백질을 파괴하는 것이다.<sup>1,2</sup>

세포자멸사에 관련하는 Bcl-2 단백군은 세포자멸사를 억제시키는 작용과(Bcl-2, Bcl-x) 세포자멸사를 촉진시키는(Bax, Bak) 두 가지 가능 모두를 가지는데, Bcl-2와 Bax는 이합체를 형성하며 이러한 Bcl-2/Bax 비율에 의해 세포사가 조절된다.

Survivin은 inhibitor of apoptosis의 한 구성원으로 세포주기 중 G2/M기에 발현되어 유사분열 시 방추단백과 반응하여 세포자멸사를 억제한다. 또한 세포자멸사 경로 중 Bcl-2 단백에 의한 세포자멸사 차단 부위보다 더 아래쪽에 있는 caspase 3, 7, 9에서도 직접 세포자멸사를 억제하는 작용을 하므로, Bcl-2 단백보다 세포자멸사를 억제하는 기능이 더 강한 것으로 알려져 있다.<sup>1,2</sup>

지금까지 전 세계적으로 악성흑색종에서 이 단백들의 발현과 임상적 관련성에 대한 연구가 몇몇 있었는데, Apaf-1은 악성흑색종의 진행 및 약물 저항성과 관련성이 있으며,<sup>4-8</sup> survivin은 멜라닌세포 질환에서 악성 세포로의 전환을 예측할 수 있는 인자로 보고되었다.<sup>9-13</sup> 그러나 아직 한국인에게 발생한 악성흑색종을 대상으로 한 단백 발현에 대한 연구는 없으며, 유발 카스파이제인 caspase-9이 멜라닌세포질환에서 어떠한 유용성을 가지는지에 대해서 전 세계적으로 보고된 바도 없다. 악성흑색종의 진행과 전이, 그리고 약물 저항성이 세포자멸사와 관련이 있는 것으로 생각되므로 이를 예측 할 수 있는 표지자가 있으면 질환의 진행과 예후를 예측할 수 있을 것으로 생각된다. 이에 저자들은 양성 멜라닌 세포모반과 전이가 없는 악성흑색종 및 림프절에 전이된 악성흑색종에서 세포자멸사와 관련된 단백들(Apaf-1, Bcl-2, p53, survivin)의 발현 양상을 비교 분석하여 악성 세포로의 전환 및 예후 예측 인자로서의 유용성을 연구하고자 한다. 또한 본 연구에서는 멜라닌세포 병변에서 아직까지 보고된 바가 없는 caspase-9 단백의 발현 양상과 임상적 관련성도 함께 제시하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 연구 재료

가톨릭대학교 의과대학부속 서울성모병원에서 2000년 1월부터 2009년 12월까지 생검 혹은 절제술을 시행한 멜라닌세포모반 41예, 전이가 없는 악성흑색종 22예, 그리고 림프절에 전이가 있는 악성흑색종 14예(총 77예)를 연구대상으로 하였다. 수술 검체는 10% 중성 포르말린에 고정한 후 통상적인 방법으로 파라핀 블록을 제작하여 혜마톡실린-에오신 염색을 시행하였다. 연구는 대상의 병리진단 보고서를 참조하여 나이, 성별 등의 임상 양상을 조사하였고, 해당 종례의 병리학적 소견은 유리슬라이드를 모두 재검토하여 확인하였다.

### Tissue array block 제작

대상 종례의 혜마톡실린-에오신 염색 슬라이드를 재검하여 각 종례의 조직학적 소견을 대표할 수 있는 부위를 표시하고, 각 종례의 파라핀포매 조직에서 그에 해당하는 부위를 tissue array block 제작기구를 이용, 조직을 채취하였다. 또 조직 배열블록 제작을 위해 조직이 없는 파라핀 블록에 지름 2 mm의 구멍을 뚫어 6열 10행

으로 총 60개의 구멍을 뚫고 각 종례의 파라핀포매 조직에서 채취한 조직 조각을 심을 수 있게 하였다. 그리고 가장자리의 구멍들은 대조군 블록에서 채취한 조직을 삽입하고 가운데 부분은 실험군 조직 조각을 삽입하여 조직블록을 제작하였다.

### 면역조직화학염색

Tissue array block으로부터 5 μm 두께의 절편을 얻어 다음과 같이 면역조직화학염색을 시행하였다. 즉 조직절편을 특수 처리된 슬라이드(poly-L-lysin coated, probe on plus slides, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA)에 부착시킨 후 80°C 오븐에 15분간 넣고 자일렌으로 실온에서 2분간 4회 반복 처리하여 파라핀을 제거하였다. 그리고 100% 알코올로 10초간 3회 처리한 다음, 10% citrate buffer (Zymed, San Francisco, CA, USA)에 담근 후 121°C의 고압 멸균기에서 15분간 방치하고 다시 실온에서 20분간 방치하였다. 그런 후 세척 완충액으로 3분씩 3회 세척하고, 조직 내의 내인성 과산화효소를 제거하기 위하여 실온에서 3% 과산화수소 용액에 5분간 반응시켰다. 이어서 세척 완충액으로 3회 수세한 후 비특이 단백의 결합을 제거하기 위해 실온에서 비면역 염소혈청(Zymed)에 10분간 작용시켰다.

Apaf-1, survivin 단백은 1:200, caspase-9과 p53 단백은 1:100, Bcl-2 단백은 1:50으로 희석한 후 실온에서 90분간 반응시킨 다음 biotin이 부착된 이차항체(biotinylated anti-mouse immunoglobulin antibody, Dako Co., Ltd., Kyoto, Japan)를 30분간 반응시켰다. 그리고 세척 완충액으로 3분씩 3회 수세한 후, streptavidin peroxidase detection system (Zymed)으로 실온에서 10분간 방치하여 biotin-avidin 특이 결합을 유도하고, 다시 수세한 후 3-amino-9-ethyl carbamate를 이용, 10분간 발색하였다. 그런 다음 중류수로 세척, Mayer's hematoxylin (Zymed)으로 대조 염색을 하여 glycerol-gelatin으로 봉입한 후 광학 현미경으로 관찰하였다.

### 판독 및 통계학적 분석

면역조직화학염색 결과는 병리의사 두 명(YJK, SJK)이 독립적으로 판정하되, 판정이 일치하지 않을 때는 광학현미경으로 재검하였다. 염색 판독은 Apaf-1 단백과<sup>4</sup> caspase-9 단백의 경우<sup>14</sup> 종양세포의 10% 이상에서 세포질에 강하게 갈색으로 발현하는 경우를, Bcl-2 단백은<sup>15</sup> 종양세포의 10% 이상에서 세포막 혹은 세포질에 발현한 경우를, p53 단백은 10% 이상 종양세포의 핵에 강하게 발현한 경우를, 그리고 survivin 단백은<sup>10</sup> 종양세포의 25% 이상에서 세포질 혹은 핵에 발현한 경우를 각각 양성이라고 판정하였다. 멜라닌세포 모반 및 악성흑색종의 임상·병리적 지표에 따른 단백발현의 차이에 대한 통계학적 처리는 SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)의 chi-square 검정으로 분석하여 유의성을 검증하고 유의수준은  $p < 0.05$ 로 하였다.

## 결 과

### 임상병리적 특성

41예의 멜라닌세포모반 환자들의 평균연령은 33세였는데, 이 중 남자는 21명, 여자는 19명(남자:여자=1.1:1)이었다. 총 36예의 악성 흑색종 환자들의 연령은 33세에서 88세까지 분포하였고, 남자는 13명, 여자는 23명(남자:여자=1:1.8)이었다. 이 중 전이가 없는 악성 흑색종은 23예, 림프절에 전이가 있는 악성 흑색종은 13예였다.

### 멜라닌세포모반과 악성 흑색종에서의 발현 양상

Apaf-1 단백은 멜라닌세포모반 41예 중 29예(72%)에서 양성을 보였으나, 악성 흑색종에서는 36예 모두에서 발현되지 않았다( $p = 0.000$ ) (Table 1). Caspase-9 단백은 멜라닌세포모반 41예 중 38예(95%)에서 양성을 보인 반면 악성 흑색종에서는 36예 중 28예(78%)에서 양성을 보여 멜라닌세포모반에 비해 악성 흑색종에서의 발현이 적었고, 이는 통계적으로 의의가 있었다( $p = 0.027$ ) (Table 1). 그러나 Bcl-2 단백은 멜라닌세포모반 41예 중 33예(92%)에서 양성을 보였고, 악성 흑색종에서는 36예 중 26예(74%)가 양성을 보여 두 질환 간에 뚜렷한 차이점이 없었다( $p = 0.456$ ) (Table 1). 또 p53 단백은 멜라닌세포모반 41예 모두에서 발현되지 않았으나, 악성 흑색종의 경우는 36예 중 10예(29%)에서 양성을 보여, Apaf-1 단백, caspase-9 단백과 달리 악성 흑색종에서 높은 발현을 보였다( $p = 0.000$ ) (Table 1). 그리고 survivin 단백은 세포질 발현과 세포질과 핵이 동시에 발현되는 경우로 나누어 보았을 때, 멜라닌세포모반에서는 41예 모두에서 세포질만 발현하는 양상을 보였으나, 악성 흑색종에서는 전체 36예 중 14예(39%)에서 세포질과 핵이 동시에 발현되었다( $p = 0.000$ ) (Table 1, Fig. 1).

**Table 1.** Apaf-1, caspase-9, Bcl-2, p53, and survivin expression in melanocytic nevus and malignant melanoma

	Melanocytic nevus	Malignant melanoma	p-value
Apaf-1			<b>0.000</b>
Negative	11 (28)	36 (100)	
Positive	29 (72)	0 (0)	
Caspase-9			<b>0.027</b>
Negative	2 (5)	8 (22)	
Positive	38 (95)	28 (78)	
Bcl-2			0.456
Negative	8 (8)	9 (26)	
Positive	33 (92)	26 (74)	
p53			<b>0.000</b>
Negative	41 (100)	25 (71)	
Positive	0 (0)	10 (29)	
Survivin			<b>0.000</b>
C	41 (100)	22 (61)	
NC	0 (0)	14 (39)	

Values are presented as number (%).  
C, cytoplasm; NC, nuclear and cytoplasm.

### 전이가 없는 악성 흑색종과 전이가 있는 악성 흑색종에서의 발현 양상

전체 36예 중에서 전이가 없는 악성 흑색종은 24예였으며, 림프절에 전이가 있는 악성 흑색종은 12예였다. Apaf-1 단백은 전이가 없는 악성 흑색종 24예와 전이가 있는 악성 흑색종 12예 모두에서 음성이었고, caspase-9 단백은 전이가 없는 악성 흑색종의 19예(80%)에서, 그리고 전이가 있는 악성 흑색종의 9예(75%)에서 양성을 보여 통계적 의의가 관찰되지 않았다( $p = 0.777$ ) (Table 2). 그러나 Bcl-2 단백은 전이가 없는 악성 흑색종 24예 중 22예(92%)에서 양성을 보였으나, 전이가 있는 악성 흑색종에서는 5예(41%)만이 발현되어 전이가 있는 악성 흑색종에서 발현 감소가 관찰되었다( $p = 0.001$ ) (Table 2, Fig. 2).

p53 단백은 전이가 있는 24예 중 8예(33%)에서, 전이가 없는 11예 중 2예(18%)에서 양성이었으나, 통계적 의의가 없었고( $p = 0.357$ ) (Table 2), survivin 단백도 전이가 없는 악성 흑색종은 핵과 세포질에 11예(46%)가 양성, 세포질에 13예(54%)가 양성이었고, 전이가 있는 악성 흑색종은 핵과 세포질에 3예(25%)가 양성, 세포질에 9예(75%)가 양성이었으나 이 또한 통계적 의의는 없었다( $p = 0.227$ ) (Table 2).

### 세포자멸사 단백들 간의 상호 연관성(Table 3)

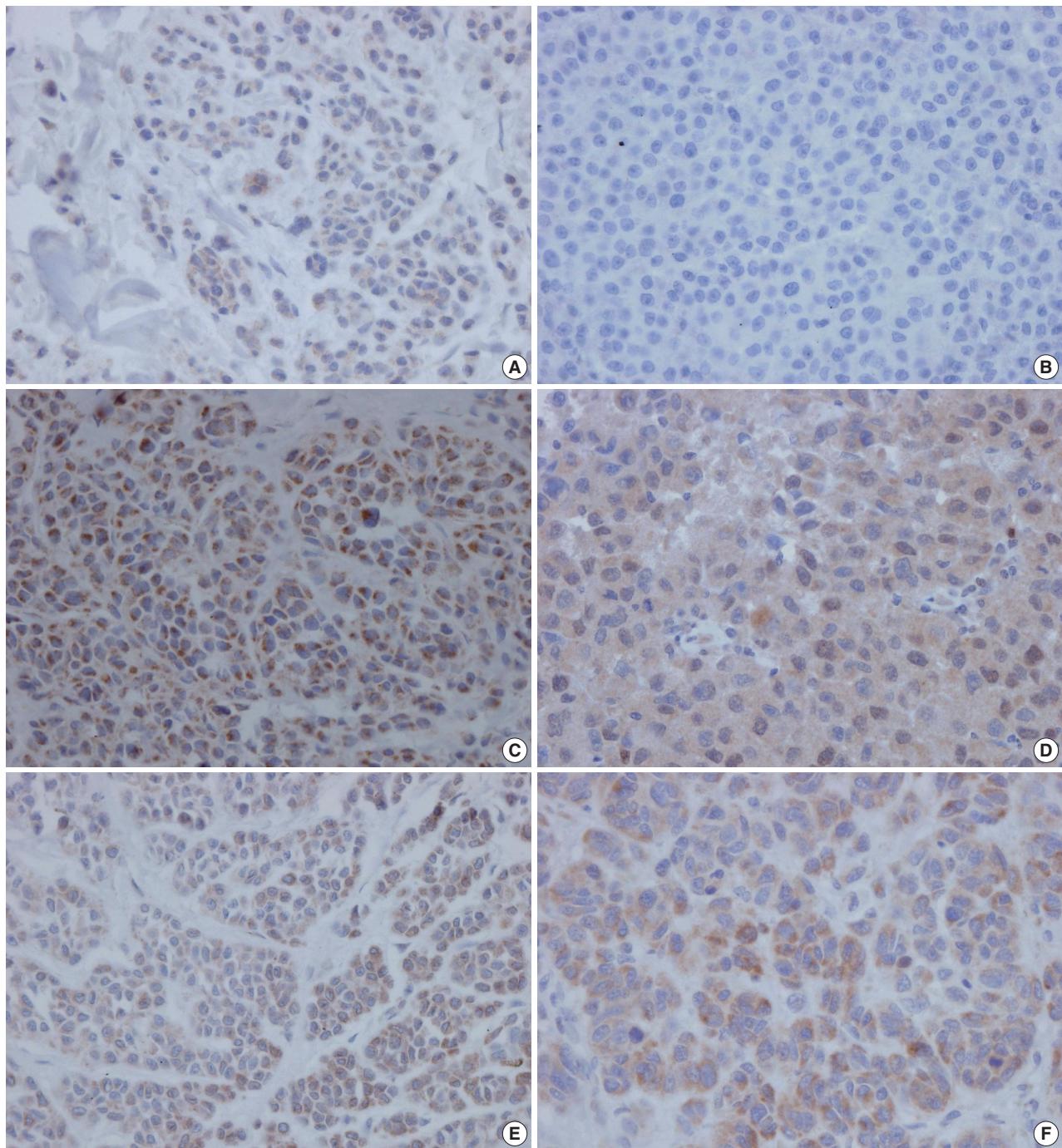
Apaf-1 단백과 나머지 단백들과의 연관성을 보면 Apaf-1 단백 발현이 감소할수록 caspase-9 단백 및 p53 단백 발현이 감소하였고 ( $p = 0.029$ ,  $p = 0.004$ ), survivin 단백의 핵 발현이 증가하였다( $p = 0.000$ ). 그러나 Bcl-2 단백과는 연관성이 없었다.

또 survivin 단백의 핵 발현이 증가할수록 p53 단백 및 Bcl-2 단백 발현이 증가되는 유의한 상관관계를 보였다( $p = 0.000$ ,  $p = 0.035$ ). 그러나 그 외 다른 인자들은 연관성이 없었다.

**Table 2.** Apaf-1, caspase-9, Bcl-2, p53, and survivin expression in primary melanoma and metastatic melanoma

	Primary melanoma	Metastatic melanoma	p-value
Apaf-1			
Negative	24 (100)	12 (100)	
Positive	0 (0)	0 (0)	
Caspase-9			0.777
Negative	5 (20)	3 (25)	
Positive	19 (80)	9 (75)	
Bcl-2			<b>0.001</b>
Negative	2 (8)	7 (59)	
Positive	22 (92)	5 (41)	
p53			0.357
Negative	16 (67)	9 (82)	
Positive	8 (33)	2 (18)	
Survivin			0.227
C	13 (54)	9 (75)	
NC	11 (46)	3 (25)	

C, cytoplasm; NC, nuclear and cytoplasm.



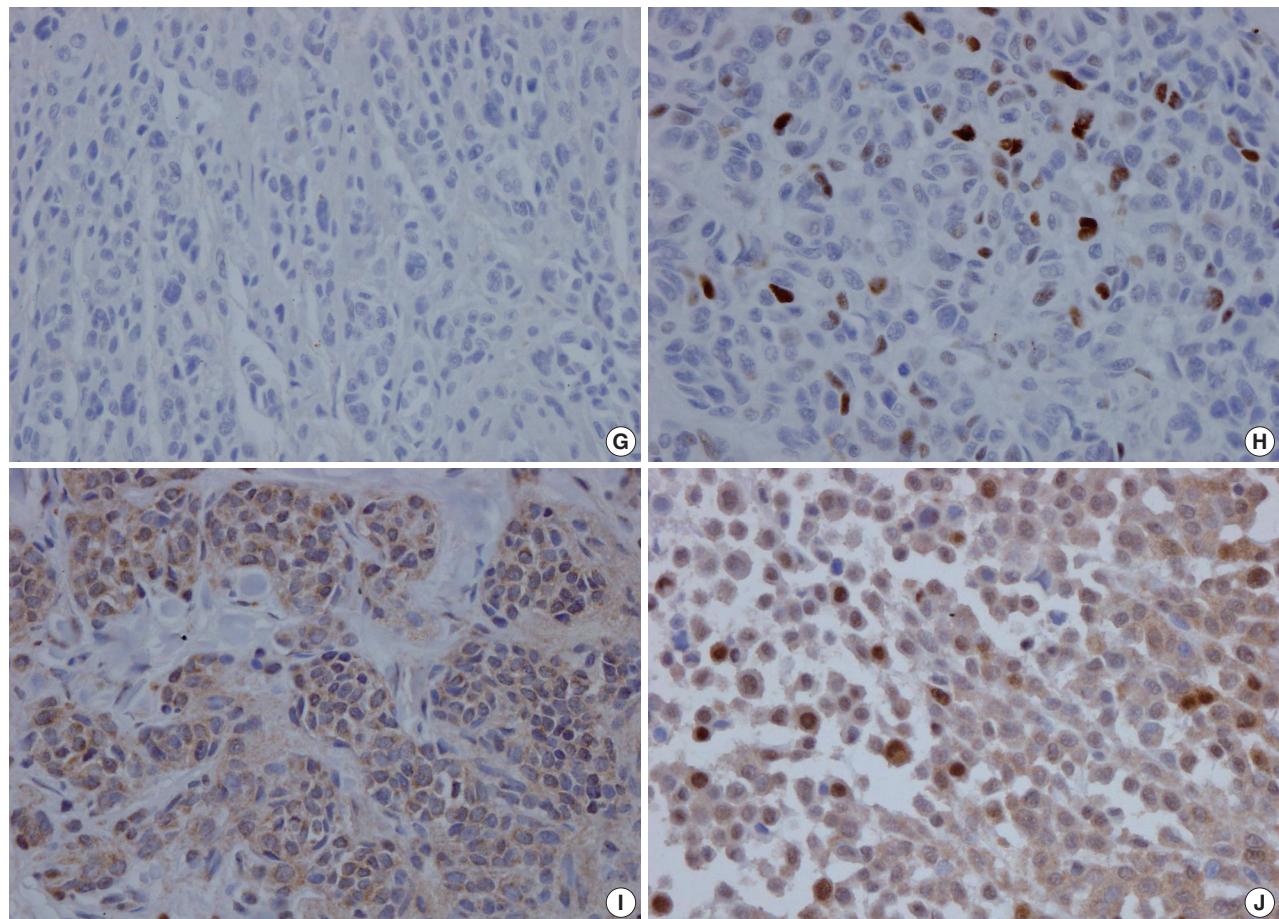
**Fig. 1.** Immunohistochemical staining for Apaf-1, caspase-9, Bcl-2, p53, and survivin in melanocytic lesions. (A) Apaf-1 expression in melanocytic nevus. (B) No expression of Apaf-1 in malignant melanoma. (C) Caspase-9 expression in melanocytic nevus. (D) Caspase-9 expression in malignant melanoma. (E) Bcl-2 expression in melanocytic nevus. (F) Bcl-2 in malignant melanoma. (Continued to the next page)

## 고 찰

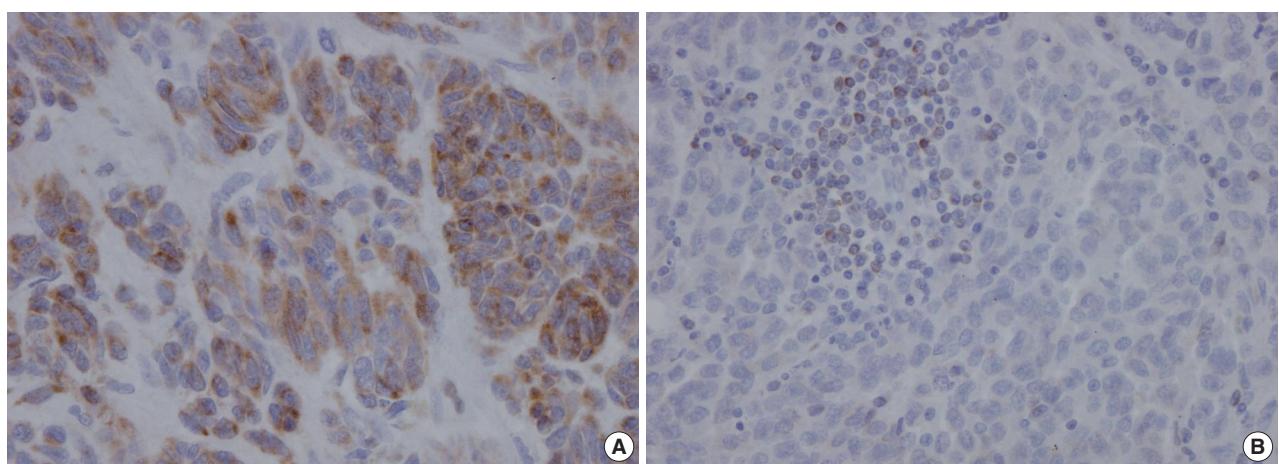
일반적으로 악성 종양의 특징인 증식 조절 능력의 상실은 유전적 변화에 기인한 종양유전자의 활동성 증가 또는 종양억제유전자의 활동성 감소에 의해 나타나는데 이러한 과정은 세포자멸사와

관련되어 있다.

세포자멸사를 조절하는 유전자가 종양발생 시에 결합이 생겨 영양분이 제한되고 저산소증인 상태에서도 종양세포가 증식할 수 있게 하고, 항암제에 의한 세포독성에서도 살아남게 한다. 이러한 과정은 악성흑색종이 매우 치명적이는데, 이는 치료에 반응성이 떨어지



**Fig. 1.** (Continued from the previous page) (G) p53 expression in melanocytic nevus. (H) p53 expression in malignant melanoma. (I) Survivin expression in melanocytic nevus. (J) Survivin expression in malignant melanoma.



**Fig. 2.** Immunohistochemical staining for Bcl-2 in malignant melanoma. (A) Primary melanoma. (B) Metastatic melanoma.

는 것과도 관련성이 있다.<sup>1,2,16</sup>

전 세계적으로 악성흑색종에서 세포자멸사와 관련된 여러 단백에 대한 연구는 끊임없이 시도되고 있다. Apaf-1 단백 발현에 관한

연구에서 Baldi 등<sup>4</sup>과 Dai 등<sup>8</sup>은 Apaf-1 단백 발현이 멜라닌세포모반에서보다 악성흑색종에서 현저히 감소하기 때문에 Apaf-1이 멜라닌세포질환에서 악성으로의 전환을 예측하는 데 중요한 단서를

**Table 3.** Relationship of the expression patterns among apoptosis-related proteins in cutaneous melanocytic lesions

	Apaf-1		p-value	p53		p-value	Survivin		p-value	Bcl-2		p-value
	-	+		-	+		C	NC		-	+	
p53	-	36	34	<b>0.004</b>								
	+	10	0									
Survivin	C	33	34	<b>0.000</b>	63	4	<b>0.000</b>					
	NC	14	0		8	6						
Bcl-2	-	12	6	0.464	16	2	0.912	17	1	<b>0.035</b>		
	+	34	28		54	8		51	12			
Caspase-9	-	9	1	<b>0.029</b>	9	1	0.798	9	1	0.515	3	7
	+	38	33		61	9		58	13		15	55
												0.773

C, cytoplasm; NC, nuclear and cytoplasm.

제공한다고 하였다.

본 연구에서도 멜라닌세포모반 40예 중 29예(72%)에서 Apaf-1 단백이 양성을 보였으나, 악성흑색종 36예 모두에서는 발현을 보이지 않아 Apaf-1 단백 소실이 피부 멜라닌세포질환의 악성화에 역할을 할 것이라고 생각되었다. 하지만 악성흑색종 간의 Apaf-1 단백 발현 비교에서는 전이가 없는 악성흑색종과 전이가 있는 악성흑색종 모두에서 Apaf-1 음성 소견을 보여 두 질환을 비교할 수 없었다.

악성흑색종에서 caspase-9 단백 발현에 관한 연구에 관해선 아직 보고된 바가 없으나, 본 연구에서는 멜라닌세포모반 40예 중 38 예(95%)에서 caspase-9 단백이 양성을 보였다. 그러나 악성흑색종 36예 중에서는 28예(78%)에서 양성을 보여 Apaf-1 단백과 마찬가지로 caspase-9 단백 소실도 악성흑색종으로의 진행에 중요한 요인으로 될 가능성이 있다고 생각되지만, 추후 더 많은 증례들을 통한 연구가 필요하리라 생각한다. 그러나 전이가 없는 악성흑색종과 전이가 있는 악성흑색종에서의 caspase-9 단백 발현은 유의한 차이가 없었다.

악성흑색종에서 Bcl-2 단백 발현에 관한 연구는 학자에 따라 차이를 보이고 있는데, Tron 등<sup>17</sup>은 멜라닌세포모반에 비해 원발성 및 전이성 악성흑색종 모두에서 Bcl-2 단백의 양성률이 감소한다고 하였고, Collins와 White<sup>18</sup>는 전이성 악성흑색종에서도 원발성 악성흑색종과 차이가 없이 높게 발현된다고 하였다. 이에 반해 van den Oord 등<sup>19</sup>과 Ilmonen 등<sup>20</sup>은 전이성 악성흑색종의 경우는 약하게 발현되거나 발현되지 않는다고 하였다.

본 연구에서는 Bcl-2 단백이 멜라닌세포모반과 악성흑색종에서 차이를 보이지 않고 높게 발현되었다. 그러나 전이가 없는 악성흑색종과 전이가 있는 악성흑색종을 비교했을 때, Ilmonen 등<sup>20</sup>에서와 같이 전이가 없는 악성흑색종에서보다 전이가 있는 악성흑색종에서 양성률이 현저히 감소되었다. 이러한 결과는 종양의 파종단계 이후, 즉 질환의 진행 단계에서는 세포자멸사를 억제하는 Bcl-2 단백의 역할이 적은 것으로 생각되지만, 정확한 기전은 후속적 연구를 통해 밝혀지리라 생각된다.

멜라닌세포모반과 악성흑색종에서 p53 단백 발현에 관한 연구에서, McGregor 등<sup>21</sup>은 악성흑색종 36예 중 23예에서 p53 단백의 양성 발현이 보였으나, 멜라닌세포모반의 27예 모두에서는 음성의

소견을 보였다고 보고하면서, p53 단백 발현이 멜라닌 색소성 병변에서 양성과 악성 병변을 감별하는 데 유의한 지표가 될 수 있다고 하였다. 본 연구에서도 악성흑색종 35예 중 10예(29%)에서는 양성 반응을 보였으나, 멜라닌세포모반은 41예에서 모두 음성 반응을 나타내어 McGregor 등<sup>21</sup>의 의견처럼 p53 단백이 악성흑색종의 병인에 관여할 것으로 생각되었다.

또 전이가 없는 악성흑색종과 전이가 있는 악성흑색종 간의 p53 단백 발현의 비교에서 Ilmonen 등<sup>20</sup>은 원발성 악성흑색종에서보다 전이성 악성흑색종에서 양성률이 감소한다고 하였으나 본 연구에서는 차이가 없었다.

멜라닌세포모반과 악성흑색종에서 survivin 단백 발현에 관한 연구에서 Ding 등<sup>10</sup>은 survivin 단백 발현이 대부분의 멜라닌세포모반에서는 면역조직화학염색에서 주로 세포질 발현을 보이지만, 핵 발현의 경우는 적어도 25% 이상, 중등도 이상이 염색될 경우를 핵 발현 양성으로 보았을 때 악성흑색종에서는 핵 발현을 보였다고 보고하면서 이러한 survivin 단백의 핵 발현이 멜라닌세포모반과 악성흑색종의 감별에 유용하다고 하였다. 본 연구에서도 악성흑색종 36예 중 14예(39%)에서 세포질과 핵 발현이 동시에 나타났지만, 멜라닌세포모반 모두에서 세포질 발현만 나타나서 Ding 등<sup>10</sup>과 같은 소견을 보였다. 하지만 전이가 없는 악성흑색종과 전이가 있는 악성흑색종에서의 survivin 단백 발현은 유의한 차이가 없었다.

저자들은 멜라닌세포질환에서 세포자멸사에 관여하는 Apaf-1, caspase-9, p53, survivin 단백 발현이 악성 세포 전환으로의 예측 인자로서 중요한 지표가 될 수 있음을 알 수 있었다. 그러나 악성흑색종 환자 모두가 항상 나쁜 예후를 보이는 것은 아니기 때문에, 저자들은 이들의 단백 발현 유무를 통해 악성흑색종에서의 임상병리학적 차이를 분석하고자 하였다. 그 결과 전이가 없는 악성흑색종에서보다 전이가 있는 악성흑색종에서 bcl-2 단백 발현의 소실이 높았고, 전이가 없는 악성흑색종에서는 상당수에서 bcl-2 단백의 발현이 관찰되었다. 따라서 악성흑색종에서 bcl-2이 발현되지 않을 경우 전이 위험이 높을 것으로 추측되는데, 이에 대한 정확한 기전은 후속적인 대규모 연구를 통해 밝혀지리라 생각된다.

위의 결과로 피부 조직에서 조직학적 소견상 멜라닌세포모반과 악성흑색종의 감별이 어려운 증례의 경우 Apaf-1, caspase-9, p53,

survivin 단백에 대한 면역조직화학염색을 이용하면 감별 진단에 많은 도움을 받을 수 있을 것으로 생각되며 더 나아가 환자의 예후를 예측하는 임상적 의의를 찾기 위해서는 bcl-2 발현 유무도 함께 확인하는 것이 중요하다고 판단된다.

### 참고문헌

1. Hussein MR, Haemel AK, Wood GS. Apoptosis and melanoma: molecular mechanisms. *J Pathol* 2003; 199: 275-88.
2. Schmitt CA, Lowe SW. Apoptosis and therapy. *J Pathol* 1999; 187: 127-37.
3. Helmbach H, Rossmann E, Kern MA, Schadendorf D. Drug-resistance in human melanoma. *Int J Cancer* 2001; 93: 617-22.
4. Baldi A, Santini D, Russo P, et al. Analysis of APAF-1 expression in human cutaneous melanoma progression. *Exp Dermatol* 2004; 13: 93-7.
5. Niedojadlo K, Łabedzka K, Łada E, Milewska A, Chwirot BW. Apaf-1 expression in human cutaneous melanoma progression and in pigmented nevi. *Pigment Cell Res* 2006; 19: 43-50.
6. Soengas MS, Gerald WL, Cordon-Cardo C, Lazebnik Y, Lowe SW. Apaf-1 expression in malignant melanoma. *Cell Death Differ* 2006; 13: 352-3.
7. Mustika R, Budiyanto A, Nishigori C, Ichihashi M, Ueda M. Decreased expression of Apaf-1 with progression of melanoma. *Pigment Cell Res* 2005; 18: 59-62.
8. Dai DL, Martinka M, Bush JA, Li G. Reduced Apaf-1 expression in human cutaneous melanomas. *Br J Cancer* 2004; 91: 1089-95.
9. Raj D, Liu T, Samadashwily G, Li F, Grossman D. Survivin repression by p53, Rb and E2F2 in normal human melanocytes. *Carcinogenesis* 2008; 29: 194-201.
10. Ding Y, Prieto VG, Zhang PS, et al. Nuclear expression of the anti-apoptotic protein survivin in malignant melanoma. *Cancer* 2006; 106: 1123-9.
11. Takeuchi H, Morton DL, Elashoff D, Hoon DS. Survivin expression by metastatic melanoma predicts poor disease outcome in patients receiving adjuvant polyvalent vaccine. *Int J Cancer* 2005; 117: 1032-8.
12. Florell SR, Bowen AR, Hanks AN, Murphy KJ, Grossman D. Proliferation, apoptosis, and survivin expression in a spectrum of melanocytic nevi. *J Cutan Pathol* 2005; 32: 45-9.
13. Gradiolone A, Gazzaniga P, Ribuffo D, et al. Survivin, bcl-2, bax, and bcl-X gene expression in sentinel lymph nodes from melanoma patients. *J Clin Oncol* 2003; 21: 306-12.
14. Sträter J, Herter I, Merkel G, Hinz U, Weitz J, Möller P. Expression and prognostic significance of APAF-1, caspase-8 and caspase-9 in stage II/III colon carcinoma: caspase-8 and caspase-9 is associated with poor prognosis. *Int J Cancer* 2010; 127: 873-80.
15. Tchernev G, Orfanos CE. Downregulation of cell cycle modulators p21, p27, p53, Rb and proapoptotic Bcl-2-related proteins Bax and Bak in cutaneous melanoma is associated with worse patient prognosis: preliminary findings. *J Cutan Pathol* 2007; 34: 247-56.
16. Ibrahim N, Haluska FG. Molecular pathogenesis of cutaneous melanocytic neoplasms. *Annu Rev Pathol* 2009; 4: 551-79.
17. Tron VA, Krajewski S, Klein-Parker H, Li G, Ho VC, Reed JC. Immunohistochemical analysis of Bcl-2 protein regulation in cutaneous melanoma. *Am J Pathol* 1995; 146: 643-50.
18. Collins KA, White WL. Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and bcl-2 are differentially expressed in early evolving malignant melanoma. *Am J Dermatopathol* 1995; 17: 429-38.
19. van den Oord JJ, Vandeghinste N, De Ley M, De Wolf-Peeters C. Bcl-2 expression in human melanocytes and melanocytic tumors. *Am J Pathol* 1994; 145: 294-300.
20. Ilmonen S, Hernberg M, Pyrhönen S, Tarkkanen J, Asko-Seljavaara S. Ki-67, Bcl-2 and p53 expression in primary and metastatic melanoma. *Melanoma Res* 2005; 15: 375-81.
21. McGregor JM, Yu CC, Dublin EA, Barnes DM, Levison DA, MacDonald DM. p53 immunoreactivity in human malignant melanoma and dysplastic naevi. *Br J Dermatol* 1993; 128: 606-11.