

대장암에서 EGFR 검출의 방법론적 차이에 대한 비교연구

건국대학교 의과대학 외과학교실, 이화여자대학교 의과대학¹외과학교실, ²의과학연구소, ³병리학교실

오수연 · 윤세진¹ · 천승희¹ · 이령아^{1,2} · 강보영² · 이시내³ · 정순섭¹ · 김광호¹

Methodologic Evaluation of EGFR Expression in Colorectal Cancer

Soo-Youn Oh, M.D., Se-Jin Yoon, M.D.¹, Seung-Hui Cheon, M.D.¹, Ryung-Ah Lee, M.D.^{1,2}, Bo-Young Kang², Shi-Nae Lee, M.D.³, Soon-Sup Chung, M.D.¹, Kwang-Ho Kim, M.D.¹

Department of Surgery, College of Medicine, Konkuk University, Chungju, ¹Department of Surgery, ²Ewha Medical Research Institute, ³Department of Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea

Purpose: The epidermal growth factor receptor (EGFR) is a one of the transmembrane receptor proteins that play an important role in initiating tumor cell signaling and growth and is regarded as a promising target for cancer therapy. The EGFR expression rate has been reported to vary according to the detection method. The aims of this study were to evaluate the EGFR expression rate of a colorectal carcinoma by using immunohistochemical staining (IHC) and semiquantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and to analyze the correlation between these methods. **Methods:** EGFR expression was investigated in tissue sections from 33 patients with a colorectal adenocarcinoma by using IHC and semiquantitative RT-PCR. IHC was performed with antibodies in a 1 : 40 dilution and a 1 : 80 dilution. The results of the three detection methods were compared with one another. **Results:** The mean age of the patients was 61.9±12.2 years, and the male-to-female ratio was 1.2 : 1. The EGFR expression rates were 93.9% (31/33) in IHC with a 1 : 40 dilution, 87.9% (29/33) in IHC with a 1 : 80 dilution, and 66.7% (22/33) in RT-PCR. The result of IHC with a 1 : 40 dilution significantly correlated with the result of IHC with a 1 : 80 dilution (Pearson correlation 0.684, P<0.01). There was no correlation between semiquantitative RT-PCR and IHC (1 : 40 dilution, 1 : 80 dilution). **Conclusions:** The EGFR

expression obtained by using IHC was consistent with different antibody dilutions. The expression rate obtained by using RT-PCR was significantly lower than that obtained by using IHC, and there was no statistical correlation between the expressions of EGFR obtained by using RT-PCR and IHC. A standardization for EGFR detection methods is needed to draw any conclusion concerning their activity in colorectal cancer. **J Korean Soc Coloproctol 2006;22:75-80**

Key Words: Epidermal growth factor receptor (EGFR), Immunohistochemistry, Semiquantitative RT-PCR, Colorectal cancer
EGFR, 면역조직화학염색, 반정량적 종합 효소 연쇄반응, 대장암

서 론

Epidermal growth factor receptor (EGFR)은 세포표면 수용체(transmembrane growth factor receptor)인 티로신 활성화소 수용체(tyrosine kinase receptor family)의 하나로 170-kd의 당단백질이다.^{1,2} 티로신 활성화소 수용체는 EGFR (erbB-1 or HER-1), erbB-2 (HER-2), erbB-3 (HER-3), erbB-4 (HER-4) 등을 포함하고, 이 중 EGFR은 상피세포와 상피세포 암의 양상을 결정하는 신호 전달에 중요한 역할을 하며, 유방암, 비소세포폐암, 고환암, 대장암 등의 상피암에서 과발현되는 것으로 알려져 있다.^{1,3} 그리고, EGFR이 과발현되면 신호 전달 체계의 활성화를 일으켜 암세포가 더 공격적으로 성

접수: 2005년 8월 19일, 승인: 2006년 3월 30일
책임저자: 김광호, 158-710, 서울시 양천구 목동 911-1
이화여자대학교 목동병원 외과
Tel: 02-2650-5585, Fax: 02-2645-4023
E-mail: eastgate@ewha.ac.kr

본 연구는 이대목동병원 임상 연구비의 지원으로 이루어졌음.
본 연구의 주요 내용은 2004년 대한대장항문학회 추계학술대회에서 포스터 발표되었음.

Received August 19, 2005, Accepted March 30, 2006
Correspondence to: Kwang-Ho Kim, Department of Surgery, Ewha Womans University, Mokdong Hospital, 911-1 Mokdong, Yangcheon-gu, Seoul 158-710, Korea.
Tel: +82-2-2650-5585, Fax: +82-2-2645-4023
E-mail: eastgate@ewha.ac.kr

장하고 침습성이 증가하여 전이가 더 잘 발발하고 진행성 병기와 관련이 있으며 따라서 생존율에 부정적인 영향을 주는 것으로 알려져 있다.^{4,7}

이와 같이 세포 분화나 전이와 생존율에 중요한 역할을 하기 때문에 EGFR은 예후를 예측하고 치료에 이용할 수 있는 중요한 분자적 표식자로 이용하기 위한 연구들이 진행되었다.^{3,8-10} 특히 최근에는 EGFR의 신호 전달 체계를 방해하고 그 발현을 억제함으로써 암의 진행을 막고, EGFR의 과발현으로 정상 세포에서 암세포를 구분하여 암세포에 더욱 특이하게 작용하는 표적치료자(targeted agent)들이 개발되어 있으므로^{2,4,6,10,11} EGFR 단클론 항체 등의 다양한 항 EGFR 제제의 효능을 연구하는데 있어서 대상 암 조직의 EGFR 발현을 측정하여 적절한 치료 적응증을 확립하는 것이 필요하다.¹²

EGFR의 발현을 검출하기 위해 면역조직화학염색법, 역전사중합효소연쇄반응(RT-PCR), fluorescence in situ hybridization (FISH), tissue microarray 등 다양한 방법이 사용되고 있다.^{7,8} EGFR의 발현율은 암의 종류, 분화도와 진행 정도에 따라 다르게 나타날 수 있다. 같은 대상을 사용하더라도 조직 처리 방법과 검출방법에 따라 다양하며, 결장암에서는 20~100%로 보고되고 있다.^{5,7,13,14} 면역조직화학염색법이 가장 보편적으로 사용되는 방법이다. 그러나, 일차 항체의 희석 농도 등의 염색 방법과 음성과 양성 기준이 병리학자에 따라 달라 서로 다른 연구들을 비교하기 어렵고 결과를 해석하는 데 차이가 있을 수 있다. 따라서, EGFR을 항암치료에 이용하려는 여러 연구 결과들을 토대로 EGFR의 역할과 EGFR 억제제의 유용성에 대한 합의를 얻기 위해서는 세계적으로 통용되는 EGFR 발현을 판정하는 기준이 필요한 시점이라고 생각된다.^{8,15}

본 연구에서는 다른 희석 농도의 일차 항체를 사용한 면역조직화학염색법과 반정량적 RT-PCR법을 사용하여 대장암 조직에서 EGFR의 발현율을 측정하고 검출 방법 차이에 따른 결과를 비교하여 서로간의 연관성을 분석하고자 하였다.

방 법

2003년 3월부터 2004년 2월까지 이화여자대학교 의과대학 목동병원에서 대장암으로 진단받고 수술 받았던 환자들 중 연속적으로 무작위 33명을 대상으로 하였다. 수술 검체에서 EGFR에 대한 면역조직화학염색법과 RT-PCR법을 사용하여 EGFR의 발현 여부를 검

사하였다.

면역조직화학염색법은 10% 중성 완충 포르말린에 고정된 후 제작한 파라핀 포매조직을 4 μ m 두께로 박절하여 xylene으로 2회 탈파라핀하고 100%, 93%, 80% 에탄올로 처리한 후 증류수로 합수시켰다. 합수시킨 절편을 전자레이지를 이용하여 시트르산염 완충액(citrate buffer) (pH6.0)에 15분간 처리한 후 3% 과산화수소로 내인성 과산화효소의 작용을 억제시켰다. Tris 완충액으로 수세한 후 일차항체로 EGFR을 이용하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 tris 완충용액으로 수세하였다. Biotin과 결합된 이차항체에 20분간 1회 반응시킨 후 다시 tris 완충용액으로 수세하고 strepavidin과 peroxidase가 결합된 용액에 20분간 처리하였다. 이를 수세 후 3,3'-diaminobenzidine tetrachloride로 발색 및 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하였다. EGFR에 대한 항체는 단클론항체(DAKO Corp., CA, USA)를 1 : 40과 1 : 80의 두 희석 배수로 사용하였다. 염색된 슬라이드는 한 명의 해부병리학 전문의가 판독하였고, 염색범위(%)와 염색 강도(0+, 1+, 2+, 3+)를 표기하였다. 염색범위에 상관없이 염색 강도가 1+ 이상인 경우를 양성으로 하였다.

수술 검체의 일부 조직에서 반정량적 RT-PCR 방법으로 EGFR RNA의 발현을 검출하였다. 동결 조직에서 TRI Reagent (Molecular Research Center, Cincinnati, OH, USA)를 이용하여 RNA를 추출하고, Promega's Reverse Transcription System protocol (Promega Corp., Madison, WI, USA)에 따라 RNA 역전사 반응을 시행하였다. 역전사된 cDNA 3 μ l, Taq DNA polymerase (Promega Corp., Madison, WI, USA) 1.25 U, 각각의 dNTP mixtures 0.2 mM, 1X buffer와 증폭시키려는 cDNA에 대한 primer (Forward 5'-GA GAGGAGAA CTGCCAGAA-3', Reverse 5'-GTAGCAT TTATGGAG AGTG-3'; 454bp) 0.2 μ M을 넣은 20 μ l 반응용액을 사용하여 연쇄중합 반응을 시행하였다. 94°C에서 3분간 반응시킨 후 94°C에서 1분간 변성, 55°C에서 30초 아닐링, 72°C에서 1분간 확장의 과정을 32회 반복하여 증폭시키고 72°C에서 7분간 연장 반응을 시행하였다. 중합효소 연쇄 반응물을 ethidium bromide가 첨가된 2% agarose gels에서 전기 영동을 시행하여 띠가 나타난 경우 양성으로 판정하였고, 농도계로 띠의 명암을 측정하여 β -actin의 값을 기본값으로 하여 그 양을 정량하였다. 정량된 값을 면역조직화학염색 결과와 비교 분석하였다.

통계는 SPSS 11.5판을 사용하였으며, 각 검출 방법의

Table 1. Patients' characteristics & EGFR expression rate

	IHC 1 : 40		IHC 1 : 80		RT-PCR		Total
	-	+	-	+	-	+	
N (%)	2 (6.1)	31 (93.9)	4 (12.1)	29 (87.9)	11 (33.3)	22 (66.7)	33
Male	1	17	2	16	3*	15*	18
Female	1	14	2	13	8*	7*	15
Mean age (yr)	43.5±9.2*	63.1±11.5*	56.0±16.0	62.8±11.7	65.5±12.4	60.2±12.0	61.9±12.2

IHC = immunohistochemistry; RT-PCR = reverse transcription-polymerase chain reaction; - = negative; + = positive. *P<0.05.

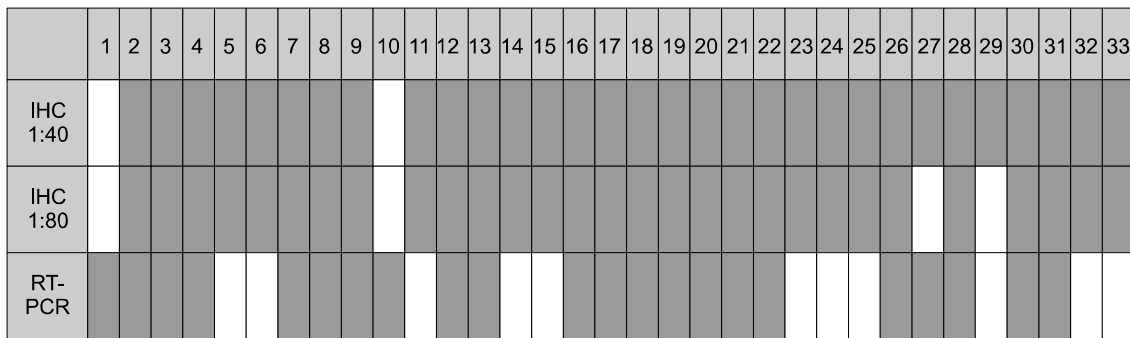


Fig. 1. Expression of EGFR by three detection methods. The each number in the first row represents patients' number. The filled spaces represent positive of the each detection method. The blank spaces represent negative. IHC = immunohistochemistry; RT-PCR = reverse transcription-polymerase chain reaction.

EGFR 발현율의 차이는 Student t-test와 Chi-square test를 사용하여 분석하여 P값이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 의미가 있다고 해석하였고, 각 검사 결과의 일치성은 Pearson correlation coefficient을 사용하여 P값이 0.01 미만인 경우를 통계학적 유의성이 있는 것으로 해석하였다.

결 과

환자들의 평균 연령은 61.9±12.2세였고 성비는 1.2 : 1로 남자가 많았다. EGFR 발현율은 1 : 40 염색에서 93.9% (31/33), 1 : 80 염색에서 87.9% (29/33), RT-PCR 검사에서 66.7% (22/33)였다(Table 1). RT-PCR 검사 양성군에서 EGFR RNA의 발현 농도는 평균 1.203±0.40이었다. 면역조직화학염색에서는 성비의 차이가 없었으나, RT-PCR 검사에서 음성인 군은 여자가 많았고(남 : 여=1 : 2.7), 양성인 군에서는 남자가 많았다(남 : 여=1 : 0.47, P=0.026). 1 : 40 면역조직화학염색에서 음성군 2명의 평균 연령은 43.5±9.2세, 양성군 31명의 평균 연령은 63.1±11.5세로 양성군의 연령이 높았고

Table 2. Comparison of the results of EGFR expression between immunohistochemistry 1 : 40 and immunohistochemistry 1 : 80

		IHC 1 : 80		Total
		-	+	
IHC 1 : 40	-	2 (6.1%)	0 (0%)	2
	+	2 (6.1%)	29 (87.9%)	31
Total		4	29	33

IHC = immunohistochemistry; - = negative; + = positive. P<0.05.

(P=0.025), 1 : 80 염색과 RT-PCR 검사에서는 음성군과 양성군 간의 평균 연령 차이는 없었다(P=0.307, P=0.248)(Table 1). 대상 환자들의 검사 방법에 따른 EGFR 발현 여부는 Fig. 1과 같았다. 1 : 40 염색에서 음성을 보인 2예는 1 : 80 염색에서는 음성이었고 RT-PCR 검사에서는 양성이었다. 1 : 40 염색에서 양성인 31예 중 2예는 1 : 80 염색에서 음성이었으며(P<0.01)(Table 2),

Table 3. Comparison of the results of EGFR expression between immunohistochemistry and semiquantitative RT-PCR

		RT-PCR		Total
		-	+	
IHC 1 : 40	-	0 (0.0%)	2 (6.1%)	2
	+	11 (33.3%)	20 (60.6%)	
P=0.302				
IHC 1 : 80	-	1 (3.0%)	3 (9.1%)	4
	+	10 (30.3%)	19 (57.6%)	
P=0.706				
Total		11	22	33

IHC = immunohistochemistry; RT-PCR = reverse transcription-polymerase chain reaction; - = negative; + = positive.

RT-PCR 검사에서는 11예가 음성이었다(P=0.302)(Table 3). 1 : 80 염색 결과 음성인 4예 중 3예가 RT-PCR 검사에서 양성이었다고, 1 : 80 염색 결과 양성인 29예 중 10예가 RT-PCR 검사에서 음성이었다(P=0.706)(Table 3). 각 검사 방법 간의 유의성을 분석한 결과 1 : 40 염색과 1 : 80 염색 간에 통계학적으로 유의한 상관관계가 있었으나(Pearson correlation coefficient $r=0.684$, $P < 0.01$), 면역조직화학염색과 RT-PCR 검사간에는 유의한 상관관계가 없었다(Table 4).

고 찰

대장암의 예후와 EGFR의 발현의 연관성에 대한 연구는 1980년대부터 활발히 진행되었다. 연구에 따라 차이는 있으나 EGFR의 발현율이 높은 암종의 경우 진행된 병기를 갖고 불량한 예후를 보이는 것으로 인정되고 있다.⁷ 최근 개발된 EGFR에 대한 단클론 항체인 cetuximab은 미국과 유럽에서 irinotecan에 내성을 갖는 전이성 대장암의 치료제로 공인되었다.¹² 또한 대장암 뿐만 아니라 비소세포폐암, 난소암, 전립선암, 위암 등에서도 EGFR의 발현과 다양한 EGFR 억제제들에 대한 연구가 보고되고 있다.^{4,8,11,16}

특정 목표에 작용하는 대표적인 표적치료자인 herceptin이나 tamoxifen 등은 목표가 되는 물질의 발현율이 치료에 대한 반응 정도와 연관성을 갖기 때문에 그 발현을 확인하는 검사방법이 확립되어 있으며 cetu-

Table 4. Pearson correlation coefficient of EGFR expression rate among detection methods

	IHC 1 : 40	IHC 1 : 80	RT-PCR
IHC 1 : 40	1	0.684*	-0.180
IHC 1 : 80	0.684*	1	-0.066
RT-PCR	-0.180	-0.066	1

IHC = immunohistochemistry; RT-PCR = reverse transcription-polymerase chain reaction. * $P < 0.01$.

ximab 등의 EGFR 억제제에 대해서도 비슷한 결과를 기대하고 있다. 따라서 EGFR 단클론 항체를 대장암의 치료제로 사용하는 데 적절한 환자군을 선택하는 데에도 관심을 갖게 되었다.^{4,8,13,17} 아직 정립된 관련성은 없으나 Saltz 등¹⁸은 면역조직화학염색을 사용한 연구에서 EGFR의 발현과 cetuximab에 대한 반응이 연관성이 없었다고 발표하여 이에 대한 추가적인 연구가 필요한 상태이다.

유방암에서 HER-2 발현을 검출하는 방법으로는 표준화된 면역조직화학염색(HerceptTest)이 미국 식품의약청의 승인을 받았다. 그러나, Sanchez 등¹⁹은 고환암에서 HerceptTest와 이 방법을 변형한 면역조직화학염색(modified HerceptTest)을 비교하였을 때, modified HerceptTest에서 HER-2 발현율이 높았고, 예후 인자와 연관성이 있었다고 보고하였다. 따라서, 장기에 따른 차별화된 검출 방법이 필요하다고 주장하였다.

EGFR의 발현을 검출하기 위한 방법은 가장 보편적으로 사용되는 면역조직화학염색 외에도 RT-PCR, ELISA, FISH, Western 영등 등 여러 가지가 사용되고 있고, 계속적으로 발전하고 있다.^{7,8} 이 방법들은 DNA, RNA, 단백질이나 수용체의 활성 단계 등 EGFR의 다양한 단계를 검출하는 것으로, 연구마다 사용된 검출 방법이 다르기 때문에 각 연구 결과들을 비교하고 해석하는 데 어려움이 있고, 임상에 적용하는 데 가장 적절한 방법을 정하는 데 논란이 있어 검출과 판정 방법의 표준화가 필요하다고 생각된다.⁸

면역조직화학염색은 가장 널리 사용되는 간편한 방법이고, EGFR의 발현 여부와 함께 EGFR 발현 세포의 분포를 확인할 수 있는 장점이 있다. 그러나, 염색법이나 사용되는 항체의 종류 등이 연구자에 따라 다르고, 통일된 판독 기준이 정립되지 않았다.^{8,20} Atkins 등²¹은 면역조직화학염색법을 사용하여 EGFR 발현을 검출할 때 검체의 고정 방법과 보관 시간에 따라 EGFR 발현이 달라짐을 보고하였고, 따라서 적절한 고정 방법과

보관 시간이 연구에 있어 중요하고 결과 해석에 고려해야 하겠다. Saltz 등의 연구도 이와 같은 연구 방법론적인 논란이 있으며 다양한 검출 방법이 발전함에 따라 여러 연구들에서도 검출 방법과 판정 기준이 다르기 때문에 논란의 소지가 있다.^{10,20}

이 등⁵은 대장암 조직에서 면역조직화학염색(일차 항체 비율 1 : 50)을 하여 광학 현미경하에서 연분홍색의 색소침착이 주위 배경보다 분명하게 염색되었을 경우를 양성으로 하였고, EGFR 발현 양성이 83%였다고 보고하였다. 김 등²²은 EGFR 단클론항체를 1 : 50의 희석 비율로 사용하고 세포막 및 세포질의 발색제 염색이 5% 이상의 경우를 양성으로 정의하였을 때 대장암에서 EGFR의 발현율이 56.5%였다고 보고하였다. 이와 같이 양성을 판정하는 정의를 연구자마다 다르게 사용하여 논란이 있다. Goldstein과 Armin¹⁵은 대장암에서 EGFR에 대한 면역조직화학염색 시 염색 강도를 0, 1+, 2+, 3+으로 구분하여 각각을 정의하였고, 염색 강도와 함께 염색 범위를 판독하여 생존기간과 비교하였다. 그 결과 4단계의 염색 강도 판정이 생존과 연관이 있으며 표준 점수 체계의 기본 틀로 역할을 할 것이라고 제안하였다. 본 연구에서도 이 4단계의 점수화 방법을 사용하였고, +1 이상을 양성으로 정의하였다.

본 연구에서 대장암의 EGFR 발현율은 면역조직화학염색에서 1 : 40 염색은 93.9%, 1 : 80 염색은 87.9%로 매우 높았고, 반정량적 RT-PCR 검사에서는 이보다 낮은 66.7%였다. 면역조직화학염색과 RT-PCR 검사는 EGFR 발현을 검출하는 대상이 단백질과 RNA로 다르기 때문에 동일 검체에서 결과의 차이가 있을 수 있으며 본 연구에서는 두 방법 간의 유의한 연관성이 없는 것으로 분석되었다. 그러나 면역조직화학염색에서 항체 희석 비율을 1 : 40과 1 : 80을 사용한 두 방법의 검출 결과에서 일치율이 높았고, 1 : 40에서 음성인 2예는 1 : 80에서도 음성이었으나, RT-PCR 검사에서는 양성이었다.

면역조직화학염색법 외 다른 여러 검사들이 EGFR의 발현을 측정하기 위하여 많이 사용되고 있으나, 가장 적합한 검사 방법에 대한 논의는 아직 없으며, 방법들 간의 결과 비교도 부족한 상황이다. 유방암에서는 면역조직화학염색 결과에서 EGFR이 과발현된 조직을 FISH와 RT-PCR을 시행한 결과 유전자 증폭이 25%에서만 발견되었고, 유전자 증폭이 아닌 다른 경로를 통해 EGFR의 발현이 발생하는 것을 고려해야 한다는 보고가 있다.²³ 따라서 FISH와 RT-PCR보다는 면역조직

화학염색이 EGFR을 측정하는데 더 나은 방법이라고 생각할 수 있다. Layfield 등¹⁷은 대장암 조직에서 면역조직화학염색법으로 EGFR의 과발현을 검사한 결과와 정량적 PCR을 시행하여 EGFR 유전자 증폭을 측정 한 결과가 서로 연관이 없었다고 보고하였다. 본 연구에서도 면역조직화학염색보다 RT-PCR에서 EGFR 발현율이 낮았고, 서로 연관성이 없었다. 따라서 대장암도 유방암에서와 같이 면역조직화학염색이 RT-PCR보다 적당한 검사 방법일 가능성이 있다고 생각된다. 그러나, 이 연구들도 검사 방법에 대한 논란이 있을 수 있으며, 더 명확한 결론을 얻기 위해서는 역시 표준화된 검사 방법을 사용한 큰 규모의 연구가 필요할 것이다. 또한, EGFR 발현이 치료에 대한 반응을 예측할 수 있는가에 대한 해답을 얻기 위한 많은 연구 결과를 공유하고 적용하기 위해서도 검출 방법과 판정의 표준화가 우선적으로 요구되는 기본 사항이라고 생각된다.

결 론

대장암 조직에서 EGFR 발현을 검출하기 위한 면역조직화학염색은 항체 비율을 1 : 40과 1 : 80으로 사용하였을 때 RT-PCR 검사 결과에 비하여 발현율이 높았다. 면역조직화학염색에서 두 가지 항체 비율을 사용한 결과 간에 일치율이 높았고, RT-PCR 검사 결과와 면역조직화학염색 결과와의 일치율은 낮았다. 따라서, 대장암 조직에서 EGFR 발현을 검출하기 위한 면역조직화학염색은 1 : 40과 1 : 80의 항체 비율을 사용하였을 때 같은 결과를 기대할 수 있을 것으로 생각되며, RT-PCR 검사 결과에서 다른 결과를 얻을 수 있다는 것을 예측할 수 있다. EGFR 발현에 대한 연구 결과를 비교하거나 임상에 적용하기 위해서는 EGFR 검출 방법의 표준화가 요구되며, 결과를 해석할 때에는 방법에 따른 차이를 고려해야 할 것이라고 생각된다.

REFERENCES

1. Casalini P, Iorio MV, Galmozzi E, Ménard S. Role of HER receptors family in development and differentiation. *J Cell Physiol* 2004;200:343-50.
2. Ranson M. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Br J Cancer* 2004;90:2250-5.
3. Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;59(2 suppl):21-6.
4. Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:2787-99.

5. 이상혁, 박성일, 임현목, 박성준, 차성재, 박언섭. 대장 직장 선암에서 EGFR 및 VEGF 발현에 대한 면역조직화학적 분석. 대한대장항문학회지 1997;13:547-56.
6. Hamid O. Emerging treatments in oncology: focus on tyrosine kinase (erbB) receptor inhibitors. J Am Pharm Assoc 2004;44:52-8.
7. Arteaga CL. Epidermal growth factor receptor dependence in human tumors: more than just expression? Oncologist 2002;7(suppl 4):31-9.
8. Dei Tos AP, Ellis I. Assessing epidermal growth factor expression in tumors: what is the value of current test methods? Eur J Cancer 2005;41:1383-92.
9. De Luca A, Pignata S, Casamassimi A, D'Antonio A, Gridelli C, Rossi A, et al. Detection of circulating tumor cells in carcinoma patients by a novel epidermal growth factor receptor reverse transcription-PCR assay. Clin Cancer Res 2000;6:1439-44.
10. El-Rayes BF, LoRusso PM. Targeting the epidermal growth factor receptor. Br J Cancer 2004;91:418-24.
11. Ritter CA, Arteaga CL. The epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase: a promising therapeutic target in solid tumors. Semin Oncol 2003;30(1 Suppl):3-11.
12. Hinoda Y, Sasaki S, Ishida T, Imai K. Monoclonal antibodies as effective therapeutic agents for solid tumors. Cancer Sci 2004;95:621-5.
13. Vlahovic G, Crawford J. Activation of tyrosine kinases in cancer. Oncologist 2003;8:531-8.
14. Scartozzi M, Bearzi I, Berardi R, Mandolesi A, Fabris G, Cascinu S. Epidermal growth factor receptor (EGFR) status in primary colorectal tumors does not correlate with EGFR expression in related metastatic sites: implications for treatment with EGFR-targeted monoclonal antibodies. J Clin Oncol 2004;22:4772-8.
15. Goldstein NS, Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system. Cancer 2001;92:1331-46.
16. Kopp R, Rothbauer E, Ruge M, Arnholdt H, Spranger J, Muders M, et al. Clinical implications of the EGF receptor/ligand system for tumor progression and survival in gastrointestinal carcinomas: evidence for new therapeutic options. Recent Results Cancer Res 2003;162:115-32.
17. Layfield LJ, Bernard PS, Goldstein NS. Color multiplex polymerase chain reaction for quantitative analysis of epidermal growth factor receptor genes in colorectal adenocarcinoma. J Surg Oncol 2003;83:227-31.
18. Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ Sr, Needle MN, Kopit J, Mayer RJ. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor. J Clin Oncol 2004;22:1201-8.
19. Sanchez KM, Sweeney CJ, Mass R, Koch MO, Eckert GJ, Geary WA, et al. Evaluation of HER-2/neu expression in prostatic adenocarcinoma: a requested for a standardized, organ specific methodology. Cancer 2002;95:1650-5.
20. Ellis LM, Hoff PM. Targeting the epidermal growth factor receptor: an important incremental step in the battle against colorectal cancer. J Clin Oncol 2004;22:1177-9.
21. Atkins D, Reiffen KA, Tegtmeier CL, Winther H, Bonato MS, Storkel S. Immunohistochemical detection of EGFR in paraffin-embedded tumor tissues: variation in staining intensity due to choice of fixative and storage time of tissue sections. J Histochem Cytochem 2004;52:893-901.
22. 김현아, 이령아, 황대용, 박선후. 대장암에서 EGFR 발현의 의미. 대한대장항문학회지 2005;21:36-41.
23. Kersting C, Tidow N, Schmidt H, Leidtke C, Neumann J, Boecker W, et al. Gene dosage PCR and fluorescence in situ hybridization reveal low frequency of EGFR amplifications despite protein overexpression in invasive breast carcinoma. Lab Invest 2004;84:582-7.