

유방암에서 c-erbB-2 종양단백 과발현에 관한 연구

인하대학교 의과대학 병리학 교실, 원자력병원 해부병리과*
서울대학교 의과대학 병리학교실**

황태숙 · 조경자* · 김영배 · 허주령** · 장자준*

c-erbB-2 Oncoprotein Overexpression in Breast Cancer

Tae Sook Hwang, M.D., Kyung Ja Cho, M.D.*, Young Bae Kim, M.D.,
Jooryung Huh, M.D.** and Ja June Jang, M.D.*

Department of Pathology, College of Medicine, Inha University

**Department of Anatomical Pathology, Korea Cancer Center Hospital*

***Department of pathology, College of Medicine, Seoul National University*

c-erbB-2 oncogene is a normal cellular proto-oncogene coding transmembrane glycoprotein structurally similar to the epidermal growth factor receptor. Amplification of this oncogene in a variety of human adenocarcinomas has been reported and is particularly well documented in breast carcinoma. It has been suggested that amplification of this oncogene is indicative of poor prognosis and is valuable only second to the lymph node status.

Using immunohistochemical staining for the c-erbB-2 protein, overexpression of this protein was analysed in 228 primary breast cancer specimens and the frequency of overexpression and the relationship between overexpression and the other established prognostic variables are evaluated. Ninety three cases out of 228 cases(40.8%) show positive oncoprotein overexpression and using the chi-squared test for a trend, a significant correlation was found between c-erbB-2 protein staining and the histological grade, lymph node status, and estrogen receptor status($P < 0.05$). No significant association was found between staining and the patient's age and tumor size. Most of the tumors with histological types known to have good prognosis showed negative expression.

Above findings strongly suggest that expression of c-erbB-2 oncogene is another independent indicator of poor prognosis in breast carcinoma. (**Korean J Pathol 1994; 28: 1~7**)

Key Words: c-erbB-2 oncoprotein, Breast cancer, Prognostic variable

서 론

암의 발생과정에는 세포의 유전학적 변화가 중요하며 이는 원암유전자(protooncogene)의 증폭이나 돌연변이, 염색체의 소실이나 전이 등에 의한 암유전자의 활성화나 유전자의 소실 혹은 돌연변이에 의한 종

양억제유전자의 비활성화를 통해서 이루어질 수 있으며 원발성 유방암의 발생기전에 두가지 기전이 함께 작용할 수 있으리라는 보고들이 있다^{1~5)}. 따라서 유방암에서 이러한 유전자의 변화가 계속적으로 관찰될 수 있다면 암세포로의 전환기전 및 암치료에 대한 정보를 제공할 수 있을 것이다. 원암유전자의 비정상적 표현과 유방암과의 관계는 쥐의 유방암에 대한 연구에서 비롯되었으며 현재까지 int-2, c-erbB-2, myc 유전자의 과표현 및 증식과 p53 종양억제유전자의 돌연변이 등이 사람의 유방암에 존재함이 알려져 있다^{4,5,7,8)}.

c-erbB-2 유전자는 17번 염색체에 정상적으로 존

접 수: 1993년 7월 26일, 게재승인: 1993년 9월 27일
주 소: 인천시 남구 용현동 253번지, 우편번호 402-751
인하대학교 의과대학 병리학교실, 황태숙

재하는 세포유전자(cellular gene)로서 tyrosine kinase 활성화에 의해서 암의 증식에 관여하는 상피성장인자수용체(epidermal growth factor receptor)와 구조적으로 유사한 분자량 185,000 크기의 막당단백(transmembrane glycoprotein)을 생성시키고⁹⁻¹²⁾, 이것이 쥐의 신경모세포종의 세포변형에 관여하며 이중 막영역(transmembrane domain)의 돌연변이가 이 유전자의 변형작용에 관여한다는 사실이 알려졌다⁹⁾. 1986년 이 유전자의 증폭이 인형 선암종에서 관찰된다는 사실이 보고된 이래¹³⁾ Slamon 등이 c-erbB-2 유전자의 증폭이 유방암의 30% 정도에서 관찰되며 이 유전자의 증폭이 유방암 환자의 전체생존율 및 무병기간을 단축시키며 림프절 전이 양성군에서는 가장 가치 있는 예후추정인자라고 하였다¹⁴⁾. 그 후 많은 학자들에 의해 유방암에서 c-erbB-2 유전자의 예후추정인자로서의 역할에 대한 연구가 이루어졌으나 연구자 상호간의 보고가 상반되는 경우도 많아 아직도 논란의 대상이 되고 있다. 그러나 상당수의 연구자들이 c-erbB-2 유전자의 예후추정인자로서의 가치를 높게 평가하고 있으며 c-erbB-2 유전자의 증폭이 종양의 분화도, 림프절 전이, 에스트로겐 수용체와 같은 기왕의 예후추정인자와 밀접한 관계가 있다고 하였다¹⁵⁻²⁰⁾. Venter 등에 의해 c-erbB-2 유전자의 증폭이 이 유전단백 생성을 증가시키며 증폭된 단백질 존재를 면역조직화학적 염색을 이용하여 관찰할 수 있음이 보고된 이래²¹⁾ 많은 연구자들이 c-erbB-2 유전단백에 대한 항체를 이용한 검색을 시도하였는데^{19, 20, 22-25)} 이 방법은 종양의 DNA에서 암유전자를 측정하는 방법에 비해 종양세포와 비종양세포 및 간질을 구별할 수 있는 장점이 있다.

저자들은 포르말린 고정 후 파라핀으로 포매한 유방암 조직에서 c-erbB-2 유전단백에 대한 복합클론성 항체를 이용한 면역조직화학 염색으로 유방암에서의 c-erbB-2 유전단백 과표현의 빈도를 관찰하고 이 유전단백의 과표현과 기왕에 알려진 유방암의 예후추정인자와의 관계를 알아보았다.

재료 및 방법

1) 대상 환자군의 선택

1991년 1년동안 원자력병원에서 전근치 유방 절제술로 적출된 유방암 조직 중 파손 또는 분실된 조직을 제외한 228예의 유방암 조직을 파라핀 포매된 블럭에서 일부 선택하여 본 연구의 대상으로 하였으며 조직학적으로는 침윤성관상피암이 191예, 관상피내암이 7예, 침윤성 소포세포암이 4예, 교양암이 6예, 침윤성 유두상암이 9예, 수양암이 3예, 관상암이 4예, 사상암이 2예, 분비성암이 2예 있었다.

2) 면역조직화학법

(1) c-erbB-2단백: 포르말린용액에 고정되고 파라핀에 포매된 5 μ m 두께의 종양조직 절편에 합성된 인형 c-erbB-2 유전단백 펩타이드를 이용하여 토끼에서 생성된 복합클론성 항체(Dako사, Denmark)를 사용하여 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 염색의 전과정을 미국 Biomedica 회사제품인 Microprobe system을 이용하여 시행하였으며 탈파라핀 후 내재성 peroxidase를 제거하기 위해 methanol과 periodic acid가 포함된 Endo/Blocker(Biomedica사, USA)를 가한 후 40°C에서 2분간 부치시켰으며 비특이적 결합을 막기 위하여 tissue conditioner(Biomedica사, USA)를 가하고 40°C에서 2분간 부치한 뒤에 200:1로 희석한 1차 항체를 가한 후 40°C에서 1시간동안 부치하고 avidin-biotin-peroxidase complex를 가하였으며 3-amino-9-ethylcarbazole로 발색하였다. 매 염색시 양성 대조염색을 병행하였으며 광학현미경 하에서 주변의 정상 관상피세포와 다른 음성 대조세포들이 염색되지 않은 상태에서 종양세포의 세포막이 전체적으로 과립성의 진한 적갈색으로 염색된 것을 양성으로 판독하였으며 양성으로 염색된 세포가 전체 암세포의 5% 이상인 경우 양성으로 판정하였다. 판정은 양성 혹은 음성으로 하였으며 정량적 측정은 하지 않았다.

(2) Estrogen receptor(ER): 적출직후 종양조직의 일부를 절제하여 -70°C의 냉동기에 동결 보관한 후 5 μ 두께로 박절하여 3.7% formaldehydephosphate buffered saline에 10~15분, PBS에 4~6분, -20°C의 methanol에 3~5분, -20°C의 acetone에 1~3분, PBS에 4~6분간 2회 처리하였다. 면역조직화학적 염색은 ER-ICA kit(Abbott Lab. USA)를 이용하여 통상적 PAP 염색법대로 시행하였다. Blocking reagent로 2% 정상염소혈청, 일차항체로서 쥐의 항 ER 단클론항체(rat anti-ER monoclonal antibody)를 사용하였으며 peroxidase anti-peroxidase complex 순서로 반응시킨 후 diaminobenzidine-H₂O₂로 발색하고 1% hematoxylin으로 대조 염색을 하였다. 광학 현미경으로 검색하여 종양세포의 핵이 갈색으로 염색되었을 때 ER 양성으로 판정하였고 그 범위를 전체의 10% 이하(1점), 10%~33%(2점), 33%~66%(3점), 66% 이상(4점)으로, 강도를 weak(1점), intermediate(2점), strong(3점)으로 등급화 하였다. 이 두가지 점수의 합이 2~3일때 ER-low, 4~5일때 ER-intermediate, 6~7일때 ER-high로 인정하였다. 또한 각 예마다 일차 항체 대신 정상 쥐 항체(normal rat antibody)로 처리한 음성 대조염색 절편을 만들어서 참고하였다.

3) 조직학적 분화도

침윤성 관상피암 191예에 대해서 Bloom과 Richardson 방법에 의하여 조직학적 분화도를 판정하였다²⁰⁾. 두 명의 해부병리전문의가 각각 따로 판정한 후 일치하지 않은 경우는 토의를 통해서 결정하였다.

4) 통계처리

Chi-squared test에 의하여 c-erbB-2 양성도와 여러가지 예후추정인자와의 상관관계를 검정하였다.

결 과

228예의 유방암 중 93예(40.8%)에서 c-erbB-2 유전단백에 대해서 양성반응을 보였다. 양성으로 판정된 종양의 약 2/3정도에서는 대부분의 종양세포가 세포막을 따라 진한 과립성으로 염색되는 양상을 보였으며 약 1/3정도에서는 과반수이하의 종양세포에서 세포막의 염색반응을 보였다. 일부에서는 세포질에도 염색이 되었으나 이는 무과립성이어서 세포막의 염색반응과는 다른 양상을 보였다. 정상 상피세포와 간질세포는 염색되지 않았으며 드물게 종양 주변의 과형성 혹은 이행성 상피세포에서는 약한 양성반응을 보였다. c-erbB-2 유전단백에 대한 양성도를 조직학적 유형에 따라 비교해 보면 Table 1과 같다. 침윤성 관상피암의 경우는 191예 중 85예(44.5%), 관상피내암은 7예 중 3예, 침윤성 소포세포암은 4예 중 2예에서 양성반응을 보여 약 40~50% 정도의 양성율을 보였으며 예후가 좋다고 알려진 조직학적 유형에서는 사상암을 제

외하고는 약 0~16.7% 정도의 양성율을 보여 대조적이었다(Fig. 1 & 2).

c-erbB-2 유전단백 과표현과 기왕의 예후추정인자와의 상관관계를 비교해 보면 Table 2와 같다. c-erbB-2 유전단백 과표현과 수술 당시 환자의 연령이나 종양의 크기 사이에 통계적으로 유의한 상관관계는 보이지 않았다. 침윤성 관상피암의 조직학적 분화도는 Bloom과 Richardson의 판정기준을 기초로 하여 grade I-III로 분류하였고²⁰⁾ 이 중 grade I이 24.6%, grade II가 50.8%, grade III가 24.6%를 차지하였으

Table 1. c-erbB-2 protein staining according to histological type

Histological type	c-erbB-2 protein	
	Total cases	Positive cases(%)
Infiltrating duct carcinoma	191	85(44.5%)
Intraductal carcinoma	7	3(42.9%)
Infiltrating lobular carcinoma	4	2(50.0%)
Mucinous carcinoma	6	1(16.7%)
Infiltrating papillary carcinoma	9	1(11.1%)
Medullary carcinoma	3	0
Tubular carcinoma	4	0
Cribriform carcinoma	2	1(50.0%)
Secretory carcinoma	2	0
Total	228	93(40.8%)

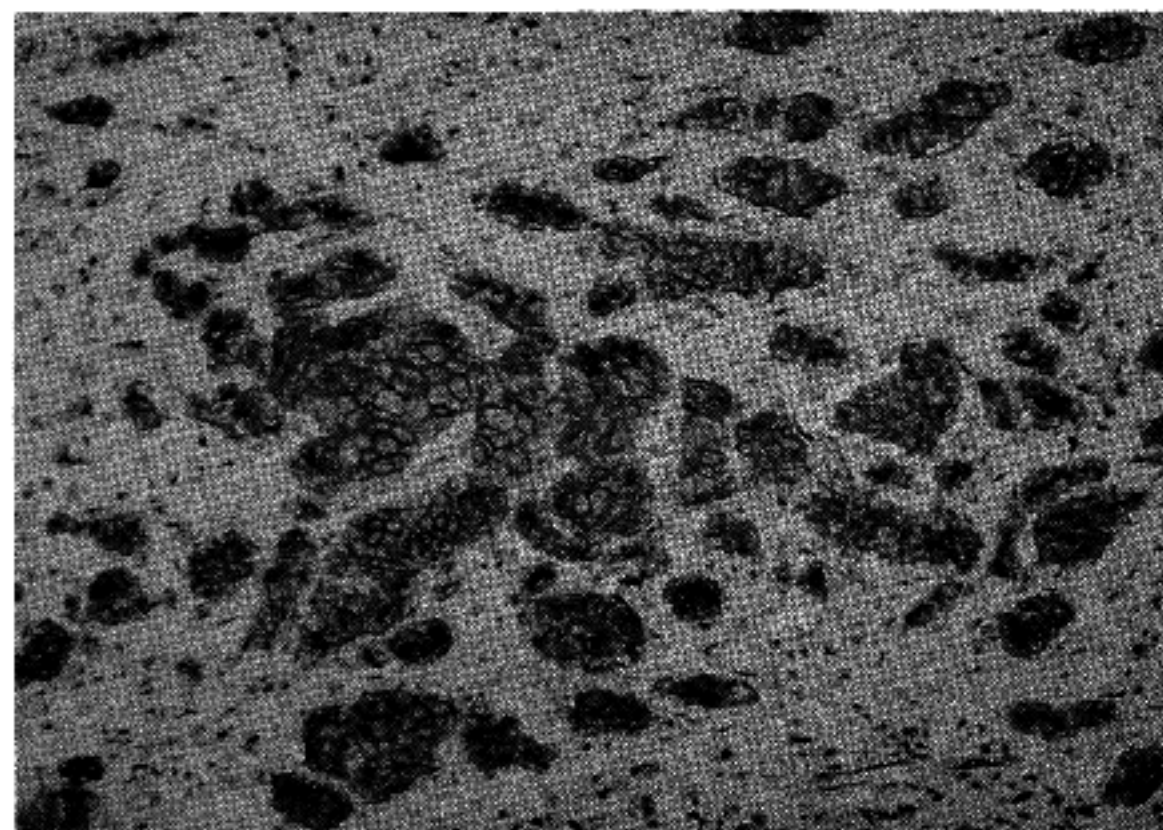


Fig. 1. Infiltrating duct carcinoma showing granular membrane staining for c-erbB-2 oncoprotein. Note negative staining of the stromal cells.

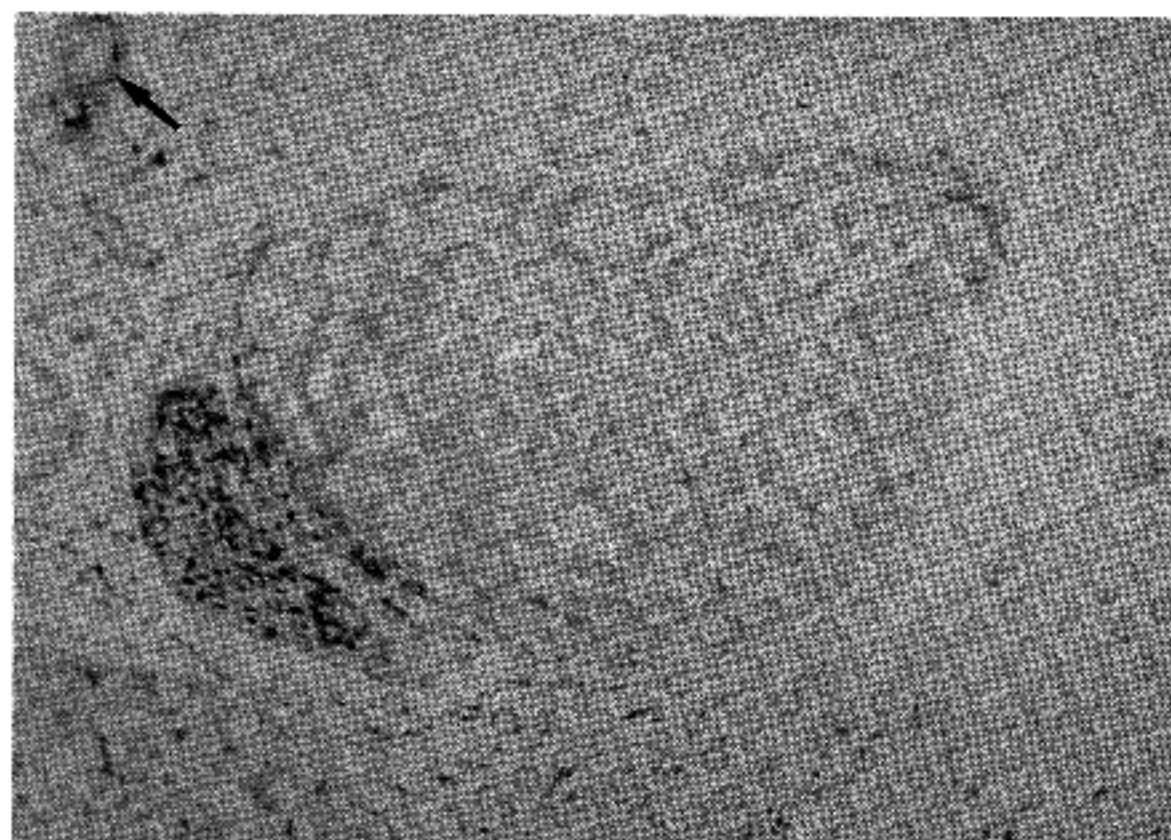


Fig. 2. Weakly positive membrane staining for c-erbB-2 oncoprotein. Note negative staining of the normal ductal epithelial cells (arrow) and the stromal cells.

Table 2. Relationship between c-erbB-2 protein and prognostic variables

Prognostic variable	c-erbB-2 protein		P value
	Negative	Positive	
Age at diagnosis			
≤50	88	59(40.1%)	0.4144
>51	42	30(41.7%)	
Tumor size(cm)			
≤2	64	44(40.7%)	0.3134
2~5	66	41(38.3%)	
>5	4	8(66.7%)	
Histological grade			
I	34	13(27.7%)	0.0001
II	53	44(45.4%)	
III	19	28(59.6%)	
Number of positive lymph node			
0	68	37(35.2%)	0.0063
1~3	31	14(31.3%)	
>4	34	42(55.3%)	
Estrogen Receptor Status			
Negative	42	53(55.8%)	0.0001
Low	7	7(50.0%)	
Intermediate	21	13(38.2%)	
High	63	20(24.1%)	

며 분화가 덜 된 종양일수록 c-erbB-2 단백질 양성이 높았으며 통계적으로 유의하였다($p < 0.01$). 액와 림프

절 전이상태와 c-erbB-2 단백질 반응과의 관계를 보면 림프절 전이가 음성인 군에서 35.2%, 림프절 전이가 양성인 군에서 46.2%의 c-erbB-2 단백질 양성반응을 보였으며 특히 림프절 전이가 4개 이상인 군에서는 55.2%의 양성율을 보여 액와 림프절 전이가 많이 될수록 c-erbB-2 단백질에 대한 높은 양성율을 보였으며 통계적으로 유의하였다($p < 0.01$). 에스트로겐 수용체 상태와 c-erbB-2 유전단백 반응과의 관계를 보면 에스트로겐 수용체 양성군에서는 에스트로겐 수용체의 양성정도가 낮을수록 높은 c-erbB-2 단백질 양성율을 보였고 이는 통계적으로 유의하였다($p < 0.01$).

고 찰

여성에서 암에 의한 사망율의 1위를 차지하는 유방암은 유전적, 생리학적, 환경적 요인의 복합된 결과로서 발생한다. 이러한 유방암 환자의 임상경과나 재발 가능성을 예측하거나 보조적 항암치료 및 방사선치료의 당위성을 결정하는데는 환자의 병기외에도 여러가지 예후인자에 의존하고 있다. 이중 가장 흔히 이용되는 것은 림프절 전이상태, 호르몬 수용체 상태, 조직학적 분화도, DNA Ploidy 및 S phase에 있는 세포의 백분율등이며 이중 액와 림프절 전이상태가 예후추정에 가장 의미있는 지표로 알려져 왔다^{27,28}. 그러나 예후추정 인자가 같은 환자군에서도 환자의 임상결과에 있어서는 상당한 차이를 보인다. 예를 들면 림프절 전이가 안된 환자군에서는 재발의 가능성이 적다고 알려져 있으나 림프절 비전이군의 70% 정도에서만 10년의 생존율을 보이며 나머지 약 30% 정도에서는 재발

및 전이를 하여 조기에 사망하게 되어³⁰⁾, 보조적 항암 요법의 필요성이 대두되고 있으며 이에 따라 공격적 성장양상을 보이는 종양을 구별해 낼 수 있는 예후표지자를 찾기 위한 노력이 계속 되어 왔다.

유방암에서 c-erbB-2 유전자 증폭의 예후표지자로서의 의미는 1987년 Slamon 이후 많은 학자들에 의해 보고되었으나 연구자에 따라 그 결과에 있어 많은 차이가 있다. Berger 등, Zhou 등, Tandon 등, Paik 등, Kim 등, Gusterson 등, Yamada 등은 전이된 액와 림프절 수와 c-erbB-2 유전자증폭 혹은 단백질 과표현과 유의한 상관관계가 있다고 보고하여 이 단백질이 인체 유방암에서 액와림프절 전이를 증가시키는데 관여하며 이 단백질의 존재가 전이 가능성에 유의한 지표가 된다는 점을 시사하였으나^{16-18, 20, 24, 25, 30)} Wright 등, Van de Vijver 등, Spandidos 등은 이 유전단백과 액와 림프절 전이와는 관계가 없다고 하였다^{19, 32, 33)}. 또한 Wright 등, Marx 등, Walker 등은 이 유전단백이 종양의 조직학적 분화도나 호르몬 수용체 상태와 유의한 상관관계가 있다고 하였으며^{19, 34, 35)} Berger 등, Paik 등, Tsuda 등은 이 단백질이 핵분화도와 더 관계가 깊다고 하였다^{16, 20, 36)}. 환자의 연령이나 종양의 크기와는 대체로 무관하다는 보고가 많았으나 Zhou 등, Kim 등은 상반된 견해를 보였다^{17, 24)}. 이와 같이 보고자에 따라 차이가 나는 것은 유전자 복제수 (gene copy number)나 mRNA를 측정할 수 있는 신선한 조직의 수가 충분치 않았거나 표준화된 치료방법의 부재로 기관마다 치료방법의 차이가 있고 다른 예후추정인자들에 대한 판정기준의 차이등에 기인할 것으로 생각된다. Venter 등에 의해 시도된 면역조직화학적 염색에 의한 유전자 산물의 검색은 많은 수의 표본을 검색할 수 있으며, 장기간에 걸친 예후추적을 할 수 있는 가능성이 높고, DNA나 mRNA 검색과는 달리 종양조직이 주변 간질과 구별될 수 있어 종양의 특별한 부위에서 암유전자 산물의 표현을 관찰할 수 있는 장점이 있다²¹⁾. 또한 Berger 등은 증폭된 c-erbB-2 유전자를 가졌던 종양 12예 중 10예에서 c-erbB-2 항체에 대해 양성반응을 보였으며 single gene copy를 보였던 35예 중 13예에서 c-erbB-2 항체에 대한 양성반응을 보여 유전자의 증폭외에 이 유전단백을 증가시킬 수 있는 다른 기전이 있을 수 있는 가능성을 제시하였으며 c-erbB-2 유전단백 염색이 유전자의 증폭을 검사하는 것보다 더 정밀하다고 하였다¹⁶⁾. 면역조직화학적 염색을 통한 c-erbB-2 유전단백 과표현의 빈도 및 다른 예후추정인자 혹은 생존율이나 무병 생존기간과의 관계에 있어서도 보고자마다 상당한 차이가 있는데 이는 조직의 고정방법, 항체의 희석농도, 판독기준, 환자군의 선택 및 치료방법에 따른 차이일 것으로 생각된다. 특히 염색 반응의 판독기준에 있어서는 각 보고자마다 상당한 차이가 있어 세포질에 미만성으로 염색되는 세포도 양성으로 판정하

거나¹⁶⁾ 1개의 종양세포만 염색되어도 양성으로 판정하는 경우에서부터 50% 이상의 세포가 염색되어야 양성으로 판정하는 경우까지¹⁹⁾ 큰 차이를 보이고 있으며 보고자들에 따라서는 정량적 분석을 시도한 경우도 종종 있었다^{16, 22)}. 하지만 대부분의 보고자들이 세포막에 과립성으로 진하게 염색된 경우만 양성반응으로 간주하였고 정량적 분석은 의미가 없다고 하였다^{19, 20, 22, 25, 32)}.

본 연구에서는 세포막에 진하게 과립성으로 염색된 경우만 양성으로 판독하였고 주변의 정상 관상피세포나 간질세포는 염색되지 않은 상태에서 약 5% 이상의 종양세포가 확실하게 염색된 경우 양성으로 판정하였으나 실제로 5% 미만의 세포가 염색되었던 경우는 228예 중 2예 밖에 없었다. 이와 같은 기준으로 c-erbB-2 유전자의 사람의 유방암에서의 표현빈도 및 다른 예후인자와의 관계를 살펴본 결과 228예 중 40.8%인 93예에서 양성반응을 보여 다른 사람들의 보고^{16-20, 24, 33, 37)}의 상한치에 해당되었으며 분화가 나쁜 종양, 림프절 전이가 있는 종양(특히 4개이상인 종양), 에스트로겐 수용체가 미약하거나 없는 종양일수록 c-erbB-2 유전단백의 과표현이 관찰되는 빈도가 높았으며 이는 다른 사람들의 보고와 비교적 일치하였다^{18, 20, 34, 35)}. Gusterson 등, Van de Vijver 등, Zhou 등은 이 유전자증폭과 유방암의 조직학적 유형과는 관계가 없다고 하였으나^{2, 3, 17, 25, 37)} 본 연구에서는 침윤성 소포세포암(2/4)이나 관상피내암(3/7)에서는 침윤성 관상피암(85/191)과 비슷한 정도로 c-erbB-2 유전단백에 대한 높은 양성반응을 보였으나 기왕에 예후가 좋다고 알려진 조직학적 유형에서는 교양암이 6예 중 1예, 침윤성 유두상암이 9예 중 1예, 사상암이 2예 중 1예에서 양성반응을 보였으며 3예의 수양암, 4예의 관상암, 2예의 분비성 암에서는 음성반응을 보여 관상피내암을 제외하고는 침윤성 관상피암이나 침윤성 소포세포암에 비해 매우 낮은 양성율을 나타내었는데, 이는 Soomro 등의 결과와 거의 일치하였다²²⁾. 연구 결과에 밝히지는 않았지만 양성반응을 보였던 예를 염색정도에 따라 악양성, 강양성으로 나누어 다른 예후인자와의 관계를 살펴보았는데 본 연구 결과와는 큰 차이가 없었다.

c-erbB-2 유전자의 예후인자로서의 역할에 대한 보고를 보면 Tandon 등, Wright 등이 c-erbB-2 유전단백과 유방암 환자의 생존율과의 관계에서 c-erbB-2 단백질 과발현된 경우 생존율 및 무병 생존기간이 통계적으로 유의하게 감소한다고 보고하였고^{18, 19)} Paik 등은 c-erbB-2 단백질 과발현시 림프절 전이상태에 관계없이 생존율이 감소하며 다변량 분석을 한 결과 이 단백질의 존재가 림프절 전이 다음으로 생존율에 큰 영향을 미친다고 보고하여³⁰⁾ 대체적으로 c-erbB-2 유전자의 증폭이나 단백질 과표현이 나쁜 예후를 보이는 예후인자라는 의견이 지배적이나 Kim 등, Thor 등은 생존율과는 관계가 없다고 하여³⁸⁾ 앞으로 지속적인

연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

전근치 유방 절제술로 적출된 후 포르말린에 고정하고 파라핀으로 포매한 유방암조직 228예를 대상으로 c-erbB-2 유전단백에 대한 면역조직화학 염색을 시행하여 사람의 유방암에서의 c-erbB-2 유전단백 과표현의 빈도를 관찰하고 이 유전단백의 과표현과 환자의 연령, 종양의 크기, 조직학적 분화도, 액와 림프절 전이상태, 에스트로겐 수용체상태, 조직학적 유형같은 기왕에 알려진 유방암의 예후추정인자와의 관계를 살펴본 결과 유방암의 약 40% 정도에서 c-erbB-2 유전단백의 과표현이 관찰되며 조직학적 분화도, 림프절 전이, 에스트로겐 수용체, 조직학적 유형과 유의한 상관관계를 보이는 점 등으로 이 유전자가 유방암의 발생 및 진행과 관계가 있으리라는 것을 추측할 수 있었으며 본 연구에서는 이 유전단백과 생존율 혹은 무병 생존기간과의 관계를 밝히지 못해 예후인자라고 단정지을 수는 없으나 예후인자로서의 가능성이 상당히 높다고 생각되며 보조적 항암요법이 필요한 환자군을 선택하는데 도움이 될 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

- 1) Callahan R, Campbell G. *Mutations in human breast cancer: An overview. J Natl Cancer Inst* 1989; 81(23): 1780-6.
- 2) Levine AJ, Momand J, Finlay CA. *The p53 tumor suppressor gene. Nature* 1991; 351: 453-6.
- 3) Raycroft L, Wu H, Lozano G. *Transcriptional activation by wild type but not transforming mutants of the p53 anti-oncogene. Science* 1990; 249: 1049-53.
- 4) Machotaka SV, Garrett CT, Schwartz AM. *Amplification of the proto-oncogenes int, c-erbB-2 and c-myc in human breast cancer. Clin Chem Acta* 1989; 184(3): 207-17.
- 5) Donovan Peluso M, Contento AM, Tobon H, Ripepi B, Locker J. *Oncogene amplification in breast cancer. Am J Pathol* 1991; 138(4): 835-45.
- 6) Mazars R, Spinardi L, Bencheikh M, Simony Lafontaine J, Jeanteur P, Theillet C. *p53 mutations occur in aggressive breast cancer. Cancer Res* 1992; 52: 3918-23.
- 7) Lohmann D, Ruhri Ch, Schmitt M, Graeff H, Hofler H. *Accumulation of p53 protein as an indicator for p53 gene mutation in breast cancer. Diag Mol Pathol* 1993; 2(1): 36-41.
- 8) Cattoretti G, Rilke F, Andreola S, D'amato L, Delia D. *p53 expression in breast cancer. Int J Cancer* 1988; 41: 178-83.

- 9) Schechter AL, Stern DF, Vaidyanathan L, Decker SJ, Drebin JA, Greene MI, Weinberg RA. *The new oncogene: An erb-B-related gene encoding a 185000-M tumor antigen. Nature* 1984; 312: 513-6.
- 10) Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, Toyoshima K, Yamamoto T. *The product of the human c-erbB-2 gene: A 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. Science* 1986; 232: 1644-6.
- 11) Coussens L, Yang Feng TL, Liao YC, Gray A, McGrath J, Seeburg PH, Libermann TA, Schlessinger J, Francke U, Levinson A, Ullrich A. *Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. Science* 1985; 230: 1132-9.
- 12) Yamamoto T, Shantaro I, Akiyama T, Semba K, Nomura N, Miyajima N, Saito T, Toyoshima K. *Similarity of protein encoded by the human c-erbB-2 gene to epidermal growth factor receptor. Nature* 1986; 319: 230-4.
- 13) Yokota J, Terada M, Toyoshima K, Sugimara T, Yamato T, Battifora H, Cline MJ. *Amplification of c-erbB-2 oncogene in human adenocarcinoma in vivo. Lancet* 1986; 1: 765-7.
- 14) Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. *Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. Science* 1987; 235: 177-82.
- 15) May E, Mouriessse H, May-Levin F, Qian JF, May P, Delarue JC. *Human breast cancer: identification of populations with a high risk of early relapse in relation to both oestrogen receptor status and c-erbB-2 overexpression. Br J Cancer* 1990; 62: 430-5.
- 16) Berger MS, Locher GW, Saurer S, Gullick WJ, Waterfield MD, Groner B, Hynes NE. *Correlation of c-erbB-2 gene amplification and protein expression in human breast carcinoma with nodal status and nuclear grading. Cancer Res* 1988; 48: 1238-43.
- 17) Zhou D, Battifora H, Yokota J, Yamamoto T, Cline MJ. *Association of multiple copies of the c-erbB-2 oncogene with spread of breast cancer. Cancer Res* 1987; 47: 6123-5.
- 18) Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Ullrich A, McGuire W. *HER-2/neu oncogene protein and prognosis in breast cancer. J Clin Oncol* 1989; 7(8): 1120-8.
- 19) Wright C, Angus B, Nicholson S, Sainsbury JRC, Cairns J, Gullick WJ, Kelly P, Harris AL, Horne CHW. *Expression of c-erbB-2 oncoprotein: A prognostic indicator in human breast cancer. Cancer Res* 1989; 49: 2087-90.
- 20) Paik S, Hazan R, Fisher ER, Sass RE, Fisher B,

- Redmond C, Schlessinger J, Lippman ME, King CR. *Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast and bowel project: Prognostic significance of erbB-2 protein overexpression in primary breast cancer. J Clin Oncol 1990; 8(1): 103-12.*
- 21) Venter DJ, Kumor S, Tuzi NL, Gullick WJ. *Overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein in human breast carcinomas: Immunohistochemical assessment correlates with gene amplification. Lancet 1987; 2: 69-72.*
- 22) Soomro S, Shousha S, Taylor P, Shepard HM, Feldman M. *c-erbB-2 expression in different histological types of invasive breast carcinoma. J Clin Pathol 1991; 44: 211-4.*
- 23) Barnes DM, Lammie GA, Millis RR. *An immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 expression in human breast carcinoma. Br J Cancer 1988; 58(4): 448-52.*
- 24) 김병식, 노동영, 최국진, 이진국, 박성희, 김용일, 박주배, 유암환자에 있어서 c-erbB-2 단백질 발현과 림프절 전이, 종양의 크기, 병기, 나이 및 생존율과의 관계. *대한암학회지 1991; 23(1): 20-8.*
- 25) Gusterson BA, Machin LG, Gullick WJ, Gibbs NM, Powles TJ, Elliott C, Ashly S, Monaghan P, Harrison S. *c-erbB-2 expression in benign and malignant breast disease. Br J Cancer 1988; 58: 453-7.*
- 26) Bloom HJG, Richardson WW. *Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. Br J Cancer 1957; 11: 359-77.*
- 27) Clark GM, McGuire WL. *Steroid receptors and other prognostic factors in primary breast cancer. Seminars Oncol 1988; 15(2): 20-5.*
- 28) Dressler LG, Seamer LC, Owen MA, Clark GM, McGuire WL. *DNA flow cytometry and prognostic factors in 1331 frozen breast cancer specimens. Cancer 1988; 61: 420-7.*
- 29) Fisher B, Bauer M, Wickerham DL, Redmond CK, Fisher ER. *Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. Cancer 1983; 52: 1551-7.*
- 30) Yamada Y, Yoshimoto M, Murayama Y. *Association of elevated expression of the c-erbB-2 protein with spread of cancer. Jpn J Cancer Res 1989; 80(12): 1192-8.*
- 31) Tavssoli M, Quirk P, Farzaneh F. *c-erbB-2/c-erbA co-amplification indicative of lymph node metastasis, and c-myc amplification of high tumor grade, in human breast carcinoma. Br J Cancer 1989; 60(4): 505-10.*
- 32) Van de Vijver MJ, Peterse JL, Mooi WJ, Wisman P, Lomans J, Dalesio O, Nusse R. *Neu-protein overexpression in breast cancer; Association with comedo-type ductal carcinoma in situ and limited prognostic value in stage II breast cancer. New Eng J Med 1988; 10: 1239-45.*
- 33) Spadidos DA, Yiagnisis M, Papadimitriou K. *ras, c-myc and c-erbB-2 oncoproteins in human breast cancer. Anticancer Res 1989; 9(5): 1385-9.*
- 34) Mark D, Schauer A, Reiche C. *c-erbB-2 expression in correlation to other biological parameters of breast cancer. J Cancer Res Clin Oncol 1990; 116(1): 15-20.*
- 35) Walker RA, Senio PV, Jones JL. *An immunohistochemical and in situ hybridization study of c-myc and c-erbB-2 expression in primary human breast carcinomas. J Pathol 1989; 158(2): 97-105.*
- 36) Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y. *Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of c-erbB-2 gene in breast carcinoma: A retrospective analysis of 176 cases. Cancer 1990; 65(8): 1794-9.*
- 37) Van de Vijver MJ, Van de Bersselaar R, Devilee P, Cornelisse C, Peterse J, Nusse R. *Amplification of the neu(c-erbB-2) oncogene in human mammary tumors is relatively frequent and is often accompanied by amplification of the c-erbA oncogene. Mol Cell Biol 1987; 7: 2019-23.*
- 38) Thor AD, Schwartz LH, Koerner FC. *Analysis of c-erbB-2 expression in breast carcinomas with clinical follow-up. Cancer Res 1989; 49: 7147-50.*