

## 유방암종의 neu 및 ras Oncoprotein과 Epidermal Growth Factor Receptor의 발현에 관한 면역조직화학적 고찰

경북대학교 의과대학 병리학교실

박정자 · 박태인 · 손태중 · 서인수

### An Immunohistochemical Study for the neu and ras Oncoprotein and Epidermal Growth Factor Receptor in the Breast Carcinoma\*

Jeong Ja Park, M.D., Tae In Park, M.D., Tae Joong Sohn, M.D. and In Soo Suh, M.D.

Department of Pathology, Kyungpook National University  
School of Medicine, Taegu, Korea

To evaluate correlation between the expression of *neu* and *ras* oncoprotein and epidermal growth factor receptor on breast carcinoma and other known prognostic factors, immunohistochemical studies were performed. Positive reaction for *neu*, which appeared as brown granular deposits along cell surface and cytoplasm of the tumor cells, was significantly correlated with the histological grade but not with other prognostic factors such as tumor size, lymph node metastasis, local recurrence, and estrogen and progesterone receptor status. Also granular deposits of *ras* were noted in the carcinoma cells in the cytoplasm, while the epithelial cells of the normal lobule and duct showed negative reaction. But expression of *ras* was not significantly associated with other prognostic factors. The reaction for EGFR was mostly negative on epithelial cells of both the normal lobule and duct, and was not significantly associated with other prognostic factors. The results suggested that expression of the *neu* oncoprotein is significantly associated with the histological grade of breast carcinoma, while the *ras* and the EGFR do not show significant prognostic value. (**Korean J Pathol 1994; 28: 126~134**)

**Key Words:** Breast cancer, *neu*, *ras*, EGFR

### 서 론

암유전자가 인체고형종 암세포에서 암변환을 유발하여 암표지자로서의 가능성이 있다는 연구가 제시되면서<sup>1,2)</sup> 암유전자의 세포내 산물의 증명에 관한 연구가 많이 보고되고 있다. 특히, 방광암, 대장암 및 유방암종을 대상으로 암유전자 단백질산물의 발현을 관찰하여

악성 변환과의 상관성을 규명하려는 보고가 있지만<sup>3,4)</sup> 그 결과는 다양하며 아직 확실하게 규명되지 않고 있다.

*neu*-암유전자는 ethylnitrosourea로 유발시킨 백서 신경모세포종에서 처음으로 알려졌고, 염색체 17q21에 위치하고 점돌연변이에 의한 것으로 생각되고 있다. 이는 tyrosine kinase계의 분자량 185,000 dalton에 해당하는 투과막 수용체양당단백을 생성한다고 알려져 있다<sup>5)</sup>. 정상 성장이나 종양 분화에서 이 유전자의 기능은 아직 확실치 않지만 대장암, 위암, 난소암, 방광암, 갑상선암 및 유방암종에서 활성화가 증명되고 있다<sup>6)</sup>. Slamon 등<sup>7)</sup>이 *neu*-암유전자의 증폭이

접 수: 1993년 3월 6일, 게재승인: 1993년 11월 22일  
주 소: 대구시 중구 삼덕동 2가 335, 우편번호 700-412  
경북대학교 의과대학 병리학교실, 박정자

유방암종 세포에서 발현될 때, 전체 생존기간이 짧아지고 빠른 재발과 관련있다고 보고한 후, 각종 종양에서 neu-암단백에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 검색이 활발하게 이루어지고 있다.

한편, neu 암유전자 산물과 구조적으로 유사한 epidermal growth factor receptor(EGFR)는 epidermal growth factor와 결합하여, 세포의 증식과 분화를 조절한다고 알려져 있다<sup>8)</sup>. EGFR은 인체 고형 종양 중 특히 방광암<sup>9)</sup>, 위암<sup>10)</sup>, 유방암종<sup>11)</sup>, 폐암<sup>12)</sup>, 그리고 각종 편평상피세포암<sup>13,14)</sup>에서의 발현이 보고되었고, 종양 세포 증식과 분화의 한 인자로서의 중요성이 제시되고 있는 실정이다. Sainsbury 등<sup>15)</sup>이 유방암종에서 동결절편 조직을 이용해서 EGFR의 발현이 빠른 재발과 사망에 관여되는 독립된 예후인자로서의 가능성을 제시하였다. Sainsbury 등<sup>16)</sup>은 유방암종에서 EGFR의 발현은 에스트로겐 수용체와 역상관계에 있다고 보고했고, 그 후 Sainsbury 등<sup>17)</sup>도 유방암종에서 조직 유형에 상관없이 EGFR의 발현이 높을수록 빠른 재발과 관계있다고 하였다.

세포성 암유전자 ras는 H-ras, K-ras등이 있는데 발병하는 장기에 따른 특이성이 있다고 한다<sup>18)</sup>. ras-암유전자는 형질막 내면에 존재하면서 세포막 형질 도입 신호를 조절하여 세포 분화 및 증식기능에 관여한다고 알려져 있다. 신경모세포종 세포에서 활성화된 N-ras 유전자 단백질이 처음으로 검출된 이래<sup>19)</sup> 발암과정에서 그 활성의 중요성이 암시되었다. 암세포에서 활성화된 ras 유전자 단백질의 발현은 유방암종<sup>19)</sup>, 방광암<sup>20)</sup>, 대장암<sup>21)</sup>, 전립선암<sup>22)</sup>등에서 암세포의 분화도, 침윤성 및 전이유무에 따라 다양한 것으로 알려져 있다. ras-암유전자는 분자량 21,000 dalton에 해당하는 폴리 펩타이드를 생성하는데 유방암종 세포<sup>23)</sup>에서 그 발현이 검출되었지만 아직까지 생리학적 임상적 중요성이 불분명하다.

이에 저자는 여성에서 높은 빈도의 사망률을 차지하는 유방암종에서 그 예후와 관련된 중요인자인 진단 당시의 병기, 연령, 액와 림프절 전이 유무, 원발종양의 크기, 조직학적 등급(Bloom-Richardson grade), 에스트로겐과 프로세스테론 홀몬 수용체 등과 더불어 neu, ras 암단백과 EGFR의 발현을 면역조직화적으로 고찰해 봄으로써 상기 인자들과의 상관성과 독립된 예후인자로서의 가능성을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

본 실험에서 사용한 조직 표본은 경북대학병원에서 외과적으로 절제된 유방암종조직중 조직학적 유형으로는 침윤성 관상피암종으로 진단 받은 40예를 대상으로 하였다. 대조군으로는 가장 흔한 양성종양인 섬유선종을 선택하여 면역조직학적 염색을 시행하였다.

### 2. 에스트로겐과 프로세스테론 수용체 검사방법

조직을 1×1 mm 정도로 잘게 썰어 Buffer A (10 mmol/l Tris-HCl, 1.5 mmol/l EDTA)에 dithiothreitol를 가한 용액을 조직 0.1 g당 1.6 ml 씩 넣어 Ultraturrax tissue homogenizer로 5초간 마쇄하고 45초간 쉬는 과정을 3회 반복 실시하여 조직을 마쇄하였다. 마쇄가 완료된 조직액을 일반 원심분리기로 1,000 g로 10분간 원침시키고 상청액을 취하여 초고속 원심분리기를 사용하여 60,000 g로 60분간 원침시켜 얻은 상청액을 세포질 용액으로 사용하였다.

세포질 용액은 단백질 농도를 2~3 mg/ml되도록 조절하였고, 이를 둘로 나누어 하나는 세포질 용액 200  $\mu$ l와 50  $\mu$ l의 tritiated estradiol(에스트로겐 수용체)이나 tritiated R5020(프로세스테론 수용체)를 넣어 total binding으로 삼았고, 나머지 하나는 과량의 diethyl stilbesterol과 promegeston을 가하여 nonspecific binding으로 삼았다. 이들을 0~4°C에서 16~18시간 반응시킨 후, 수용체와 결합하지 않은 유리 홀몬을 제거하기 위해 400  $\mu$ l의 dextran coated charcoal을 넣어 원침시키고 그 상청액 500  $\mu$ l를 취하였다. 이들을 scintillation cocktail에 섞은 다음 liquid scintillation counter로 10분간 방사능을 측정하였다. 각 수용체 함량 측정은 total binding에서 nonspecific binding을 뺀 값을 specific binding으로 하여 fmol binding/mg cytosol protein으로 표시하였으며 각각 5 fmol/mg protein 이상의 값인 경우를 양성으로 간주하였다.

### 3. 면역조직학적 검사방법

10% 중성 포르말린에 고정후 파라핀에 포매된 조직을 약 3  $\mu$ m의 두께로 조직절편을 만들었다. Avidin-biotinylated peroxidase complex(ABC)법을 이용하여 neu, ras 암단백 및 EGFR을 염색하였다. 먼저 조직절편을 xylene에 담구어 탈파라핀을 하고 알코올을 거쳐 증류수로 합수 시켰다. 그 후 PBS(phosphate-buffered saline, 10 ml, pH7.6)에 5분간 수세하고 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 5분 거친후 다시 PAS에 2분 정도 수세하였다. 1차 및 2차 항체의 비특이적 결합을 억제시키기 위해 ras 암단백 염색 조직을 정상 mouse혈청에 5분 작용시킨 후 1차 항체인 monoclonal pan-ras(AB-1)을, neu 암단백과 EGFR 염색 조직은 정상 토끼 혈청에 5분 작용시킨 후 1차 항체인 monoclonal C-neu(Ab-3)과 polyclonal EGF 수용체(Ab-4)을 각각 PBS에 20배 희석하여 도포하여 실온에서 30분간 둔 후, PBS로 수세하였다. 그 후 2차 항체인 biotinylated anti-rabbit immunoglobulin anti-serum Rabbit/Gout/Mouse를 도포하여 30분간 둔 후, PBS로 2분 정도 씻고 avidin-

biotin peroxidase reagent를 도포하여 30분간 반응시켰다. 다시 중류수에 1분간 둔 후 발색제인 DAB (diaminoben-zidine-4 HCl, Sigma) 0.1 gm과 기질액인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.02 ml을 Tris-buffer 100 ml을 섞어서 반응시켰다. Hematoxylin 대조염색 후 통상적인 방법대로 탈수과정을 거쳐 balsam으로 봉입하고 광학현미경으로 관찰하였다.

### 결 과

환자의 연령분포는 26세에서 68세까지로 평균 46세였으며, 육안적으로는 경계가 불분명한 성장형이 가장 많았다. 조직학적 검색에서는 일반형의 침윤성 관상피암종을 보인 경우가 38예, 내관성 관상피암종을 보인 경우가 2예였다.

종양의 크기는 0.9 cm에서 8 cm로 평균 3.8 cm이었다. 종양의 크기의 구분은 UICC 분류에 따른 TNM에 기준으로 장경이 2 cm 이하 군, 2 cm에서 5 cm군, 5 cm 이상 군으로 하였다. 이에 따라 2 cm 미만군이 6예, 2 cm에서 5 cm군이 29예, 5 cm 이상군이 5예였다.

림프절 전이는 전이를 하지 않은 군이 15예, 1~3개로 전이한 군이 12예, 4개 이상으로 전이한 군이 13예였다.

조직학적 등급은 Table 1에 표시한 바와 같이 Bloom과 Richardson의 방법을 이용하여 architectural atypia 정도, nuclear atypism 정도 및 핵분열하는 세포수에 따라 점수를 산정하고 각각의 점수를 합하여 최종적인 등급을 grade I, II, III로 구분하였다. 암종의 부위에 따라 등급에 차이가 있었으나 주된

부위에 따라 분포하였고 비슷한 비율로 분포하는 경우는 높은 등급을 선택하였다.

그 결과 grade I이 6예, II가 28예 III가 6예였다. 우방암종 세포에서 면역조직화학적 염색을 한 후 광학현

Table 1. Criteria for histologic grade

A. Degree of architectural atypia	
Score	
1.	Predominant tubular, papillary, and/or papillotubular pattern
2.	Between scores 1 and 3
3.	Predominant solid nests or strands with little or no tubular/papillary pattern
B. Degree of nuclear atypia	
Score	
1.	Uniform nuclei in size and shape, and chromatin is not coarse
2.	Between scores 1 and 3
3.	Pleomorphic nuclei, and chromatin is coarse
C. Number of mitotic figures	
Score	
1.	<10 per 10 HPF
2.	10~20 per 10 HPF
3.	>20 per 10 HPF
D. Sum of scores on A, B and C	
3	5 → Grade I
6 or 7	→ Grade II
8 or 9	→ Grade III

HPF: High power field

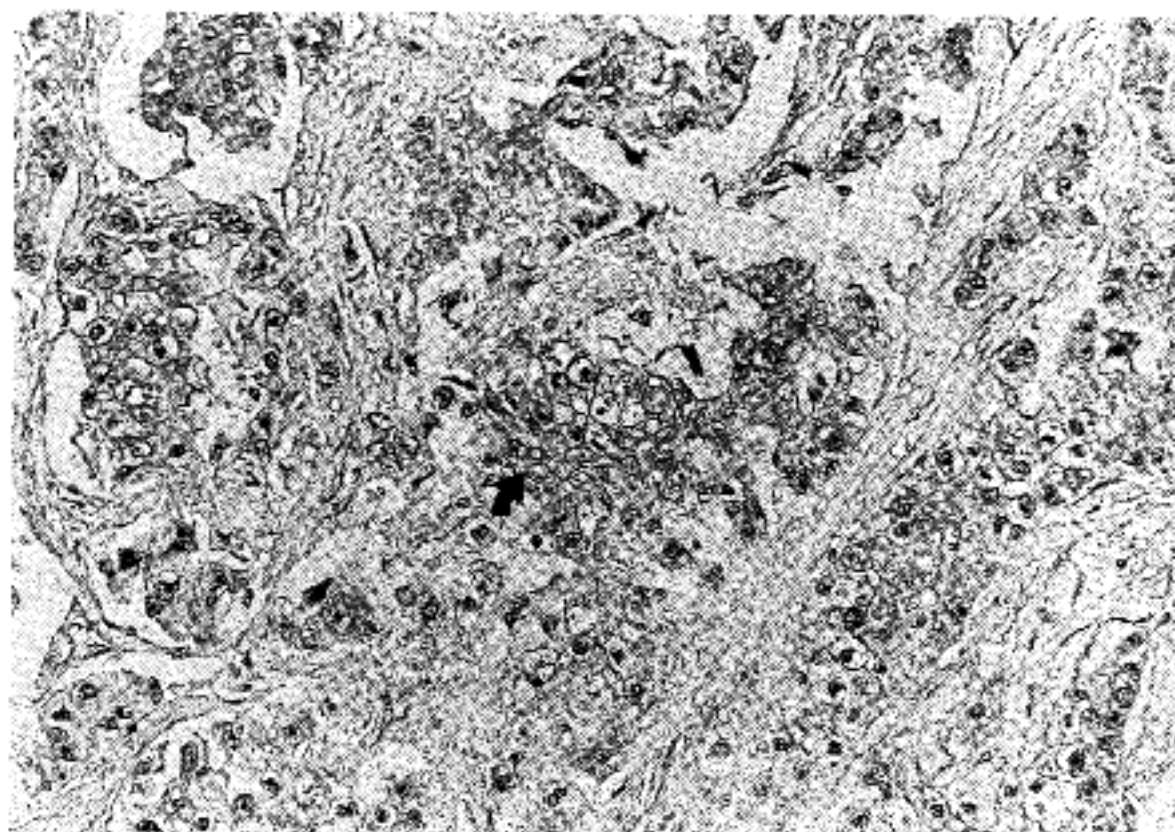
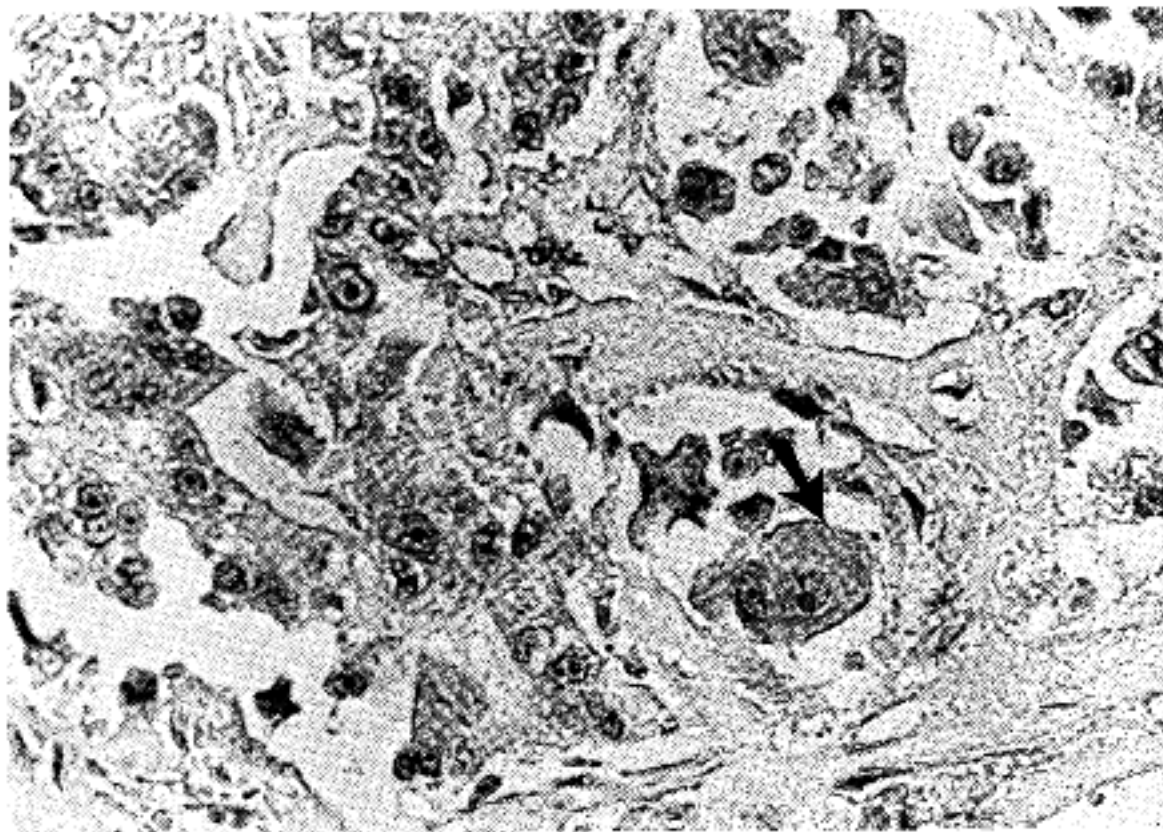


Fig. 1. Infiltrating ductal carcinoma, showing strong degree of positive reaction of neu oncoprotein(Avidin-Biotin complex stain).

**Table 2.** Association between neu-oncoprotein expression and other prognostic parameters

	Number	Staining intensity				P value
		0	1	2	3	
<b>Histological grade</b>						
I	7	0	0	4	3	P=0.027
II	29	0	0	12	15	
III	6	0	0	0	6	
<b>Tumor size(cm)</b>						
≤2	9	0	0	4	9	NS
2~5	27	0	0	7	5	
>5	4	0	0	5	10	
<b>Lymph node metastasis</b>						
0	13	0	0	6	3	NS
1~3	12	0	0	8	19	
≥4	15	0	0	2	2	
<b>Local recurrence</b>						
negative	37	0	0	16	21	NS
positive	3	0	0	0	3	
<b>Estrogen receptor</b>						
negative	24	0	0	11	13	NS
positive	12	0	0	4	8	
<b>Progesteron receptor</b>						
negative	27	0	0	11	16	NS
positive	11	0	0	4	7	

NS: not significant



**Fig. 2.** Infiltrating ductal carcinoma, showing mild to moderate positive reaction of ras oncoprotein(Avidin-Biotin complex stain).



**Table 3.** Association between ras-oncoprotein expression and other prognostic parameters

	Number	Staining intensity				P value
		0	1	2	3	
<b>Histological grade</b>						
I	7	2	5	0	0	NS
II	29	9	17	1	0	
III	6	0	4	2	0	
<b>Tumor size(cm)</b>						
≤2	9	5	4	0	0	NS
2~5	27	5	20	2	0	
≥5	4	1	2	1	0	
<b>Lymph node metastasis</b>						
0	13	5	6	2	0	NS
1~3	12	3	8	1	0	
≥4	15	3	12	0	0	
<b>Local recurrence</b>						
negative	37	11	24	2	0	NS
positive	3	0	2	1	0	
<b>Estrogen receptor</b>						
negative	24	8	15	1	0	NS
positive	12	1	9	2	0	
<b>Progesteron receptor</b>						
negative	27	7	18	2	0	NS
positive	11	3	7	1	0	

미경으로 동시에 세명의 병리의사가 관독하여 전혀 반응을 하지 않은 음성 반응 세포는 0, 약한 양성반응 세포는 1, 중등도 양성반응 세포는 2, 강한 양성반응 세포는 3으로 구분하여 예후인자들 간의 유의성 및 상관성을 Chi square로 검정하였다.

**neu-암단백의 발현양상:** 실험에 이용된 모든 유방암종 조직의 관상피 세포의 세포질에서 갈색의 과립양상으로 나타나면서 군집을 형성하였다. 반응강도를 보면 관상피 세포는 거의 모두 강한 양성 내지는 중등도의 양성반응을 보인 반면(Fig. 1), 간질세포는 염색반응이 매우 약하였다.

**neu-암단백의 발현과 유방암종의 예후와 관련된 인자와의 상관관계를** 검정한 바 양성 반응강도와 예후인자와의 관계에서 조직학적 등급이 높을수록 양성반응 강도가 의의 있게 높았을 뿐(p=0.027), 종양의 크기, 림프절 전이, 국소 재발 및 에스트로젠과 프로제스테론 수용체등과는 유의할만한 상관성이 없었다(Table 2).

**ras-암단백의 발현 양상:** 침윤성 관상피 암종의 암소를 구성하고 세포막 및 세포질에서 갈색의 과립양상

으로 약한 양성반응 내지는 중등도의 양성반응으로 군집을 형성하였다(Fig. 2).

**ras-암단백의 발현은** 조직학적 등급이 높을수록 염색 강도가 짙은 경향을 나타내었으나 통계학적 의의는 없었으며, 기타의 다른 예후 측정 인자인 종양의 크기, 림프절 전이, 국소 재발 및 에스트로젠과 프로제스테론 등과는 유의할만한 상관성이 없었다(Table 3).

**EGFR 발현:** 면역조직화 검사상 거의 모든 침윤성 관상피암종 암소에서 양성반응을 나타내지 않았으며 예후인자 Bloom과 Richardson grade, 종양의 크기, 림프절 전이유무, 에스트로젠 및 프로제스테론 수용체와 국소재발과의 관련성에서도 유의할 만한 상관성이 없었다(Table 4).

유방암소에서 neu 및 ras-암단백의 염색강도의 차이는 현저하였다. neu-암단백은 강양성이 60%를 차지했고 ras-암단백은 약한 양성인 65%를 차지했으며 EGFR은 음성이 92.5%를 차지하였다(Table 5).

섬유선종에서의 neu 및 ras-암단백과 EGFR의 발현: 섬유선종은 관상피 세포가 1층 내지 2층 이상으로 구성되어 있었는데 neu와 ras단백산물은 상피세포층

**Table 4.** Association between EGFR expression and other prognostic parameters

	Number	Staining intensity				P value
		0	1	2	3	
<b>Histological grade</b>						
I	7	7	0	0	0	NS
II	29	24	3	0	0	
III	6	6	0	0	0	
<b>Tumor size(cm)</b>						
≤2	9	7	2	0	0	NS
2~5	27	26	1	0	0	
≥5	4	4	0	0	0	
<b>Lymph node metastasis</b>						
0	13	12	1	0	0	NS
1~3	12	11	1	0	0	
≥4	15	14	1	0	0	
<b>Local recurrence</b>						
negative	37	34	3	0	0	NS
positive	3	3	0	0	0	
<b>Estrogen receptor</b>						
negative	24	22	2	0	0	NS
positive	12	11	1	0	0	
<b>Progesteron receptor</b>						
negative	27	24	3	0	0	NS
positive	11	11	0	0	0	

**Table 5.** Difference in positivity of immunostaining

Intensity Oncogene	3 No.(%)	2 No.(%)	1 No.(%)	0 No.(%)	Total No.(%)
neu	24(60.0)	16(40.0)	0( 0.0)	0( 0.0)	40(100.0)
ras	0( 0.0)	3( 7.5)	26(65.0)	11(28.5)	40(100.0)
EGFR	0( 0.0)	0( 0.0)	3( 7.5)	37(92.5)	40(100.0)

이 증가되어 있는 부위에서 갈색의 과립형으로 각각 29% 및 24%에서 약한 양성반응을 보였다. EGFR은 전혀 반응이 나타나지 않았다.

## 고찰

유방암종은 서구 여성에서 가장 높은 빈도의 악성종양이고 우리나라에서도 높은 빈도로서 증가 추세에 있다. 그 치료방법으로서 외과적 절제와 더불어 약물요법, 홀몬요법이 많은 도움을 주지만 사망율은 여전히

변하지 않고 있다. 또한 같은 조직학적 진단을 받아도 임상 동태가 다른 경우도 많으므로 예후를 예측하는 다른 인자를 찾으려는 연구가 많이 진행되고 있다. 면역조직화학법을 이용한 암단백의 검색은 악성 병변 그리고 전암 병변 및 양성 병변을 동일 조건하에서 암소주위의 정상적인 조직상의 변화를 검색할 수 있고 특히 동일한 환자의 전암병변이 악성전환하였을 경우에는 동일한 세포 주위에서 암유전자 산물의 관찰이 가능하게 되는 등의 장점이 있다.

본 연구에서는 유방암종의 암 유전자단백이 유방암

종의 예후인자들과의 연관성과 독립된 예후인자로서의 가능성을 검토하기 위해 침윤성 관상피암종을 대상으로 면역조직학적 염색을 하였다.

세포 암유전자 활성화는 유전자의 점상 돌연변이, 분자구조의 결손, 염색체 재배열에 의한 압호 단백질구조의 변화와 증폭 또는 전사에 의한 세포내 유전자 단백질의 양적 변동에 의해서 이루어지며, 생활환경에서 끊임없이 노출되고 있는 발암성 화학물질과 방사능도 세포유전자 변이를 유발하고 있다. 그러므로 세포내 종양유전자의 발현변화는 종양 발생과정에서 공통적으로 초래될 수 있는 세포변화라 할 수 있다. 세포내 ras 유전자에 점상 돌연변이가 발생해도 그것만으로 종양 발생에 충분한 조건이 될 수 없고 생체내에서 발암과정에 관여하는 종양유전자 변이 또는 활성화는 여러개의 유전자들이 다단계 과정을 거쳐서 활성화된다고 한다. Fromowitz등<sup>23)</sup>은 내관성 유방암종보다 침윤성 유방암종에서 암세포내 ras p21 단백질이 현저히 증가하며, 암세포내에서의 ras p21 단백질발현은 암환자의 치료 및 예후판정에 지침이 될 수 있는 가능성을 제시하였다. 이들은 유방암종에서 ras p21 발현단백이 증가될 때 임상적 예후가 좋지않다고 보고하였다.

Bogdan등<sup>24)</sup>은 유방암종에서 양성질환보다 ras p21의 단백질발현이 증가되지만, 종양의 크기, 조직학적 유형, 그리고 등급<sup>24)</sup>와는 아무런 연관성이 없다고 보고하였다.

본 성적에서 암유전자 ras 산물에 대한 반응을 보면, 침윤성 관상피암종의 관상피세포에서 약한 양성반응을 나타내었고 이러한 반응강도와 예후인자사이에는 유의할 만한 상관성이 없었다. 또한 섬유선종의 24%에서 관상피세포에 약한 양성반응이 나타난 점은 Hand등<sup>3)</sup>과 Theillet등<sup>18)</sup>의 성적과 일치되었다.

Slamon등<sup>7)</sup>과 Varley등<sup>25)</sup>의 보고에 의하면 유방암종에서 neu-암단백의 과잉발현은 예후를 나쁘게 하는 요인으로 작용한다고 발표했으나 Gusterson등<sup>26)</sup>은 neu 암단백 발현과 예후와는 아무 상관성이 없음을 보고하였다. Varley등<sup>25)</sup>에 의하면 유방암종에서 neu-암단백의 염색강도와 병기, 림프절 전이 상태와는 상관성이 없으나, 분화도가 나쁠수록 양성율이 높다고 했으며 또한 치사율과 국소재발과는 의미있는 상관관계가 나타난다고 하였다. 그러므로 neu-암단백의 면역반응이 단기 예후를 제시하는 독립적인 인자로 작용할 수 있다고 한다<sup>25)</sup>.

본 연구에서 나타난 실험결과로 보면, neu 암단백은 거의 모든 침윤성 관상피세포질에서 강한 양성반응을 나타냈고, 세포막이나 세포질에서 반응정도의 구별이 없었다. 관상피세포의 강한 양성반응에 비해 간질세포는 거의 반응이 나타나지 않았다. Pier등<sup>6)</sup>은 유방암종조직에서 neu 암단백, 185-Kda의 발현이 예후와 관련된다는 보고와 더불어 이 암단백의 조직내 분포양상과 종양특이 분포에 관한 보고를 하였다. 즉

neu-암단백이 정상 성인 조직에서 유방, 태반, 갑상선, 대장, 신장노세관에서도 나타나며 유방질환에서도 각종 악성유방암종과 더불어 섬유선종, 섬유낭종증등 양성유방질환에서도 다양한 염색강도로 나타난다고 하였다. 본 연구에서 나타난 성적을 보면 유방병변의 암유전자 neu 산물에 대한 양성반응은 암세포들간에 다소간의 이질성을 나타내지만 악성변소의 관상피세포에서 강한 양성반응을 나타냈고 섬유선종의 관상피에서는 약한 양성반응을 보였다. 이러한 섬유선종에서의 neu 암단백과 ras암단백의 발현을 저자는 단백질산물의 epitope의 결과로 생각했다. 즉, 정상조직이나 양성병변에도 광범위의 암단백 아미노산이 있어 이들과 염색항체와의 반응으로 나타난 결과로 보였다. 그러나 Chi 검정을 해본 결과 종양의 크기, 림프절 전이, 국소 재발 등과 양성반응의 강도와는 유의할 상관관계는 없었고, 조직학적 등급과는 유의성이 인정되었다(p=0.027).

neu-암단백과 구조적으로 유사한<sup>27)</sup> EGF-수용체의 유방암종종에서의 면역조직학적 발현이 또한 많은 연구단계에 있다. Epidermal growth factor receptor는 tyrosine kinase 계의 glycoprotein으로서 방사선 동위원소, blotting technique 그리고 면역조직화학적 방법으로 정상조직보다 종양조직에서 발현이 증가됨이 알려지고 있다.

EGF-수용체를 가진 유방암종<sup>15)</sup>, 방광암<sup>9)</sup>, 위암<sup>10)</sup>에서 안가진 군보다 예후가 좋지 않다는 보고 이후 Sainsbury<sup>11)</sup>등은 EGF 수용체 발현은 유방암 종조직의 Bloom & Richardson score가 높을수록 분화가 나쁠 수록 증가한다고 하였다. 그러나 Horne등<sup>28)</sup>과 Wrba등<sup>29)</sup>에 의하면 유방암종종에서 EGFR과 그들의 임상 동태와는 상관성이 없다고 보고했는데, 이들의 실험결과 EGFR과 에스트로젠 수용체 상황과는 역상관 관계에 있다고 하였다. 본 실험에서 나타난 결과로는 EGFR은 거의 모든 유방암종소에는 음성반응을 나타냈으며 예후인자와의 상관관계는 없었다.

## 결 론

유방암종에서 암유전자 neu, ras의 세포내 단백질산물 및 EGFR의 발현과 이제까지 알려진 예후인자와의 상관성을 규명하고자 면역조직화학적 염색을 한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

neu-암단백에 대한 유방암종세포의 반응은 세포질에서 갈색의 과립상으로 강한 양성반응을 보였는데, 정상선상피와 반응성증식을 보이는 세포에서는 약한 양성반응을 보였다. 병리조직학적 등급이 높을수록 양성율은 의외있게 높게 나타났고(p=0.0275), 종양의 크기(p=0.1337), 림프절전이 유무(p=0.3017), 국소 재발(p=0.4702) 및 에스트로젠(p=0.4702)과 프로제스테론 수용체(p=0.8017)의 양성 등과는 상관성이

약하였다.

ras-암단백에 대한 유방암종세포에 반응은 세포질에서 대체로 갈색의 과립상으로 약한 양성을 나타냈으며 예후인자와의 상관성은 약하였다. EGFR의 유방암종세포에서의 반응은 세포질에서 거의 음성반응으로 나타났으며, 예후 인자와의 상관성이 약하였다.

이상의 결과에서 neu-암단백의 발현이 유방암종세포의 조직학적 등급과 강한 상관성이 있음을 알 수 있었고, ras-암단백과 EGFR의 발현은 유방암종의 예후인자들과 상관성이 거의 없었다. 따라서 neu-암단백의 발현은 유방암종의 한 예후인자로서 중요한 역할을 할 수 있으리라 생각된다.

### 참 고 문 헌

- Land H, Parada G, Weinberg RA. *Cellular oncogenes and mul-tistep carcinogenesis. Science* 1983; 222: 771-8.
- Pitot HC. *Oncogenes and human neoplasia. Clin Lab Med* 1986; 6: 167-79.
- Hand PH, Thor A, Wunderlich D, Muraro R, Caruso A, Schlom J. *Monoclonal antibodies of predefined specificity detect activated ras gene expression in human mammary and colon carcinomas. Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 5227-31.
- Thor A, Hand PH, Wunderlich D, Caruso A, Murao R, Schlom J. *Monoclonal antibodies define different ras gene expression in malignant and benign colonic disease. Nature* 1984; 311: 562-5.
- Schechter AL, Stern DF, Vaidyanathan L, Decker SJ, Drebin JA, Greene MI, Weinberg RA. *The neu oncogene; an erb-B related gene encoding a 185,000 Mr, tumor antigen. Nature(Lond)* 1984; 312: 513-6.
- Pier GN, Maria RN, Aldo B, Irene V, Dennis Js, Brian MF, Axel U. *Expression of the p185 encoded by HER-2 oncogene in normal and transformed human tissue. Int J Cancer* 1990; 45: 457-61.
- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. *Human breast cancer; Correlation of relapse and survival with a amplication of the HER-2/neu oncogene. Science* 1987; 235: 177-82.
- Downward J, Yarden Y, Mayes E, Scarce G, Totty N, Stockwell P, Ullrich A, Schlessinger J, Waterfield MD. *Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. Nature(Lond)* 1984; 307: 521-8.
- Neal DE, March C, Bennet MK. *Epidermal growth factor receptors in human bladder cancer; comparison of invasive and superficial tumors. Lancet* 1985; i: 366-70.
- Tahara E, Sumiyoshi H, Hata J, Yasui W, Taniyama K, Hayash T, Nagae S, Sakamoto S. *Human epidermal growth factor in gastric cancer as a biologic marker of high malignancy. Jpn J Cancer* 1986; 77: 145-52.
- Sainsbury JR, Malcolm AJ, Appleton DR, Farndon JR, Harris AL. *Presence of epidermal growth factor receptors as an indicator of poor prognosis in patients with breast cancer. J Clin Pathol* 1985; 38: 1225-8.
- Hendler FJ, Ozanne BW. *Human squamous cell lung cancers express increased epidermal growth factor receptors. J Clin Invest* 1984; 74: 647-51.
- Hunts J, Ueda M, Ozuwa S, Abe O, Pastan I, Shimizu N. *Hyperproduction and gene amplication of the epidermoid growth factor receptor in squamous cell carcinoma. Jpn J Cancer Res* 1985; 76: 663-6.
- Yamamoto T, Kamata N, Kuwano H, Shimizu S, Kuroki T, Toho shima K, Rikimaru K, Nomura N, Ishizaki R, Pastan I, Gamon S, Shimizu N. *High incidence of amplication of epidermal growth factor receptor gene in human squamous carcinoma cell lines. Cancer Res* 1986; 46: 414-6.
- Sainsbury JRC, Needham GK, Malcolm AJ, Farndon JR, Harris AL. *Epidermal growth factor receptor status as predictor of early recurrence of and death from breast cancer. Lancet* 1987; i: 1398-402.
- Sainsbruy JRC, Farndon JR, Sherbet GV, Harris Al. *Epider-mal growth factors and estrogen receptors in human breast cancers. Lancet* 1985; i: 364-6.
- Sainsbury JRC, Nicholson S, Angus B, Farndon JR, Malcolm AJ, Harris AL. *Epidermal growth factor receptor status of histological subtypes of breast cancer. Br J Cancer* 1988; 58: 458-60.
- Theillet C, Lidereau R, Escot C, Hutzell P, Brunef M, Gest J, Schlom J, Callahan R. *Loss of a c-H-ras-I allele and ag- gressive human primary breast carcinoma. Cancer Res* 1986; 46: 4776-81.
- Pulciani S, Santos E, Lauves AV, Long LK, Aaranson SA, Barbacid M. *Oncogenes in solid human tumors. Nature* 1982; 300: 539-42.
- Viola MV, Fromowitz FB, Oravez S, Deb S, Schlom J. *ras oncogene p21 expression increased in premalignant lesions and high grade bladder carcinomas. J Exp Med* 1985; 161: 1213-8.
- Samir-Shafie, Brooks SC. *Characteristics of the dextran coated charcoal assay for estradiol receptor in the breast cancer preparation. J Lab Clin Med* 1979; 94: 784-98.
- Fromowitz FB, Viola MV, Chao S, Oravez S, Mishriki Y, Finkel G, Grimson R, Kundy J. *ras p21*



- expression in the progression of breast cancer. Hum Pathol* 1987; 18: 1268-75.
- 23) Bogdan C, Rensheng C, Tomasz T, Maciej M, Andrzej K, Wojciech G, Daniel D, Fritz H, Leopold GK. *Expression of ras oncogene p21 protein in relation to regional spread of human breast carcinomas. Cancer* 1989; 63: 2008-13.
- 24) Bloom HJG, Richardson WW. *Histological grading and prognosis in breast cancer. Br J Cancer* 1957; 11: 359-77.
- 25) Varley JM, Swallow JE, Brammar WJ, Whittaker JL, Walker RA. *Alternation to either C-erbB-2 (neu) or C-myc proto-oncogenes in breast carcinomas correlate with poor short term prognosis. Oncogene* 1987; 1: 423-30.
- 26) Gusterson BA, Gullick WM, Venter DJ, Powles TJ, Elliott C, Ashley S, Tidy A, Harrison S. *Immunohistochemical localization of c-erbB-2 in human breast cancer. Mol cell Probes* 1987; 1: 383-91.
- 27) Coussens L, Yan-Feng TL, Chen YCLE, Gray A, McGrath J, Seeburg PH, Libermann TA, Schlessinger J, Franke U, Levinson A, Ullrich A. *Tyrosine kinase receptor with extensive homology of EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. Science* 1985; 230: 1132-9.
- 28) Horne GM, Angus B, Wright C, Needham G, Nicholson S, Harris AL, Innes B, Horne CH. *Relationships between estrogen receptor, epidermal growth factor receptor, ER-D5 and p24 estrogen regulated protein in human breast cancer. J Pathol* 1988; 155: 143-50.
- 29) Wrba F, Reiner A, Ritzinger E, Holzner JH, Reiner G. *Expression of epidermal growth factor receptors (EGFR) on breast carcinomas in relation to growth fractions, estrogen receptor status and morphological criteria. An immunohistochemical study. Pathol Res Pract* 1988; 183: 25-9.
-