

## 면역조직화학적 염색에 의한 Cathepsin D의 발현과 다른 유암 예후인자와의 비교

연세대학교 의과대학 병리학교실 및 외과학교실\*, 이화대학교 의과대학 외과학교실\*\*

박광화 · 박병우\*\* · 이경식\* · 이광길

### Relationship between Immunohistochemical Expression of Cathepsin D and Other Prognostic Factors of Breast Carcinoma

Kwang Hwa Park, M.D., Byeng Woo Park\*, M.D., Kyong Sik Lee\*\*, M.D., and Kwang Gil Lee, M.D.

Departments of Pathology and Surgery\*\*, Yonsei University College of Medicine  
and Department of Surgery\*, College of Medicine Ehwa University

The cathepsin D is a lysosomal protease secreted in excess by breast cancer cells. The function of this enzyme is degradation of the extracellular matrix and proteoglycan. It is induced by estrogens in estrogen receptor positive breast cancer cell lines. On the basis of this, cathepsin D expression in breast cancer cells seems to be correlated with the prognosis. But there is debates in its prognostic significance.

Relationship between cathepsin D expression and other prognostic factors of breast cancer was studied. We investigated 51 cases of invasive ductal cell carcinoma of breast removed by open biopsy or mastectomy. All cases were fixed in formalin and embedded in paraffin. We used 46-KD intermediate form of the enzyme for cathepsin D expression on immunohistochemical stain. In our series of breast carcinoma, 58.8% were cathepsin D positive and 41.2% were negative. We observed no significant correlation with age, stage, histologic grade, lymphatic invasion, and estrogen receptor status. Cathepsin D may be an independent factor which is not related with other prognostic factors, especially estrogen receptor status. (**Korean J Pathol 1994; 28: 612~619**)

**Key Words:** Cathepsin D, Immunohistochemistry, Breast cancer, Estrogen receptors, Prognostic factors

### 서 론

Cathepsin D는 lysosomal aspartyl endopeptidase로서 lysosome의 protease군에 속하는 단백질 분해 효소이다<sup>1,2)</sup>. 이 단백질은 에스트로젠 홀몬에 의해 조절되며<sup>3)</sup>, 다양한 조직 및 세포에 분포하지만<sup>4)</sup>, 유방 병변에서 잘 발현되고, 특히 유암세포에서는 8~

50배 이상의 많은 양이 표현된다<sup>5,6)</sup>. Cathepsin D의 역할은 산성인 상태에서 세포외 기질(extracellular matrix) 및 proteoglycan을 용해시키는 것으로 알려져 있으며, 또한 세포배양을 통한 in vitro 실험에서는 성장 인자를 활성화시키고, 세포분열을 촉진하는 것으로도 알려져 있다<sup>7)</sup>. 따라서 cathepsin D는 종양의 침윤, 전이, 증식에 관여할 것으로 생각되며, 예후에도 중요한 역할을 할 것으로 추정된다.

Cathepsin D와 유암의 예후와 관련한 많은 연구가 있었다<sup>8-15)</sup>. 이들의 결과를 보면 cathepsin D의 발현이 유암의 예후와 관련이 있다는 보고와 관련이 없다는 서로 상반된 보고가 있어 논란이 많은 실정이다.

접 수: 1994년 1월 24일, 게재승인: 1994년 5월 30일  
주 소: 서울시 서대문구 신촌동 134, 우편번호 120-752  
연세대학교 의과대학 병리학교실, 박광화

Cathepsin D는 에스트로젠 홀몬에 의해 조절되는 단백질이므로 유암에서의 cathepsin D 발현은 에스트로젠 수용체의 발현과 관련이 있을 것으로 추정된다. 그러나 실제로 유암에서 cathepsin D의 발현과 에스트로젠 수용체의 발현은 서로 상관관계가 있다는 보고와 관련이 없다는 보고가 양립해 있다. 유암에서 예후와 관련있다고 알려진 다른 예후 인자들과 cathepsin D와의 관련도 아직 명확하지 않은 실정이다<sup>8-15</sup>.

국내에서 아직 cathepsin D에 관한 연구가 적은 실정이며, 특히 에스트로젠 수용체와 관련한 연구는 없었다. 이에 저자들은 cathepsin D의 단클론 항체를 이용한 면역조직화학적 염색으로 유암세포에서 cathepsin D의 발현도와 이미 예후와 관련이 있는 것으로 알려져 있는 종양의 크기, 나이, 병기, 조직학적 등급, 그리고 에스트로젠 수용체의 발현도와 어떤 상관이 있는지 비교해 보고자 한다. 유암에서 cathepsin D 발현과 다른 예후인자들과의 상관관계를 조사하고 이를 통해 아직 명확하지 않은 cathepsin D와 예후와의 관련성을 간접적으로 추정해 보고자 하며, 에스트로젠 수용체와의 관련을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구대상

연구 대상으로는 1989년부터 1991년까지 연세대학교 의과대학 부속 세브란스병원에 내원한 유암 환자 51예를 대상으로 하였다. 이는 임상적으로 병기가 조사되었고, 유선 조직 생검 혹은 유선 절제술을 통해 외과적으로 적출되어 병리학적으로 진단된 유암으로 수술 당시 신선조직으로 에스트로젠 수용체를 조사하였고, 예후가 추적 중이며 파라핀 블록의 보관 상태가 양호한 예를 선정하였다.

임상기록을 재검토하여 임상 소견과 병기를 조사하였다. 병기는 AJCC 및 UICC의 유암 병기 분류법에 따랐다.

### 2. 에스트로젠 수용체 측정

외과적으로 절제된 유암 조직은 신선 조직에서 유암 조직의 일부를 채취하여 에스트로젠 수용체를 검사하였다. 에스트로젠 수용체는 ER-EIA monoclonal kit(Abbott laboratory)를 이용하여 Abbott enzyme immunoassay 방법으로 측정하였다. 에스트로젠 수용체의 발현은 항체에 결합되어 발현된 에스트로젠 수용체의 양에 유암세포 cytosol 총단백의 양을 나눈 값으로 하였고, 에스트로젠 수용체의 발현이 10 fmol/mg 이상인 경우를 양성으로 판정하였다.

$$\text{fmol/mg} = \frac{\text{fmol ER protein/ml cytosol}}{\text{mg protein/ml cytosol}}$$

### 3. 조직학적 등급

유암조직은 생검 혹은 유선절제술 후 즉시 10% 포르말린에 고정하였고, 정규적인 조직 처리과정을 거쳐 파라핀에 포매하였고, 상온에서 보관하였다. 보관된 블록을 5 $\mu$ 두께로 절편하여 다시 H & E 염색을 시행하였고, 광학 현미경하에서 전 예를 Bloom & Richardson에 의한 조직학적 등급을 매겼다<sup>16</sup>.

### 4. 면역조직화학적 염색

Cathepsin D는 Novocastra(Novocastra Lab. Ltd., Newcastle, UK)에서 상품화 된 것을 사용하였다. 면역조직화학적 염색은 LSAB kit(DAKO corporation, CA)를 이용하여 labelled streptavidin biotin 방법으로 시행하였다. 일차 항체는 1:100으로 희석하였으며 상온에서 45분간 반응시켰고, DAB(3'-3'-diaminobenzidine, Sigma Chemical Co., St Louis, MO)로 발색하여 Harris hematoxylin으로 대조 염색하였다. 음성 대조군으로 정상 난소, 자궁 평활근 및 태반 조직을 사용하였고, 양성대조군으로는 위선 및 위암조직, 기관지 상피 및 폐포 대식세포, 유선 상피 증식성 병변을 사용하였다<sup>17</sup>.

면역조직화학적 염색한 슬라이드를 광학현미경하에서 검색하여 음성과 양성으로 나누고, 양성은 저배율( $\times 100$ )에서도 명백하게 종양에 전반적으로 염색된 것을 강양성(2등급), 국소적이며 저배율에서는 명확하지 않으나 고배율( $\times 400$ )에서 종양 세포의 세포질에 염색된 것이 확인된 것을 약양성(1등급)으로 분류하였다.

### 5. 통계분석

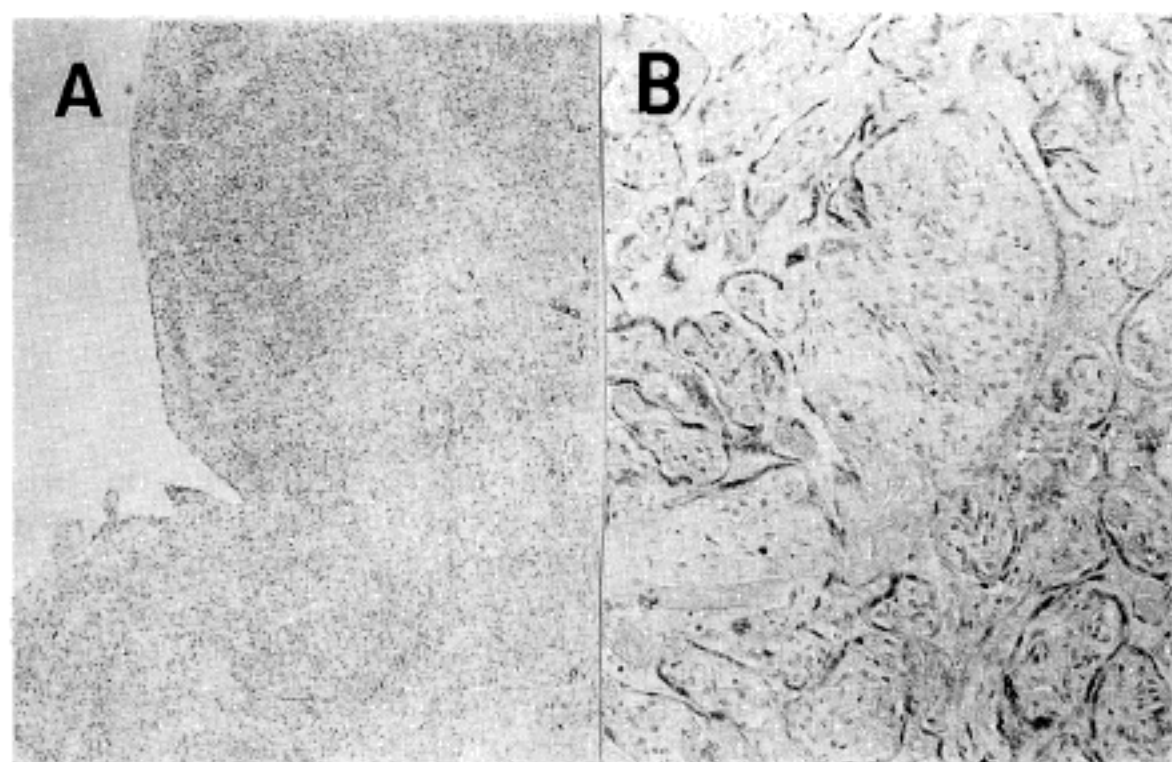
Cathepsin D의 발현도와 종양의 발현 당시 환자의 나이, 종양의 크기, 조직학적 등급, 액와부 림프절 전이, 병기, 에스트로젠 수용체 발현도를 각각 chi-square test로 비교 분석하였다.

## 결 과

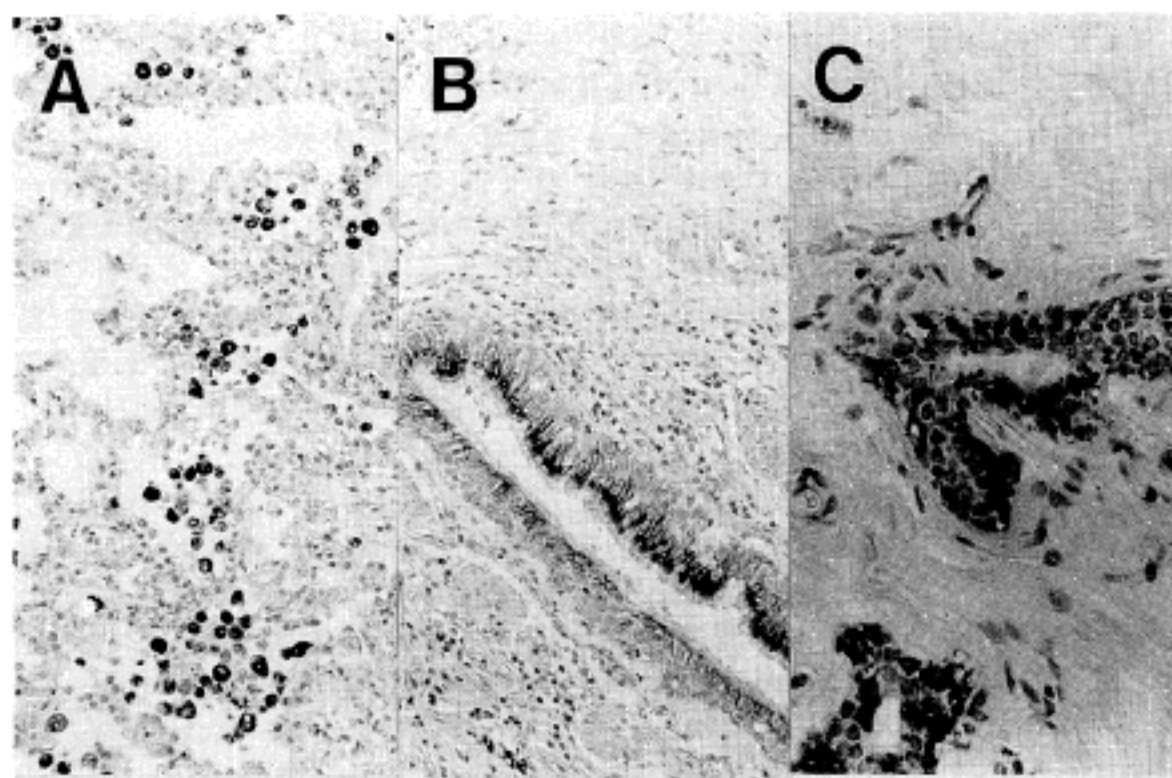
### 1. 면역조직화학적 염색

Cathepsin D에 대한 면역조직화학적 염색 결과, 음성 대조군인 난소, 태반 및 자궁 평활근에서 염색되지 않았으며(Fig. 1), 양성 대조군인 위선 및 위암, 기관지 상피세포 및 폐포 대식세포, 유방상피 증식성 병변에서 양성으로 염색되었다. 양성으로 염색된 경우는 세포의 세포질에 과립상으로 염색되었다(Fig. 2).

유암 조직에서는 유암 세포의 세포질 및 종양 주변 간질에 있는 조직구의 세포질에 과립상으로 염색되었다(Fig. 3, 4). 이는 lysosome에 대한 면역조직화학적 염색상과 같이 각기 작은 점 혹은 원형의 과립상으로 되는 소견이었다. 유암 51예 중에서 cathepsin D에



**Fig. 1.** Cathepsin D immunostaining of ovary.(A) Cells in ovary stroma are not stained. (Paraffin section, DAB with Harris hematoxylin counter staining  $\times 40$ ). Cathepsin D immunostaining of trophoblastic villi of placenta. (B) Staining for trophoblasts is negative. (Paraffin section, DAB with Harris hematoxylin counter staining,  $\times 100$ ).



**Fig. 2.** Cathepsin D immunostaining of the lung(A, B) and breast(C). Cathepsin D demonstrated within macrophages in alveoli (A) and apical portion of cytoplasm of bronchial epithelial cells(B) (Paraffin section, DAB with Harris hematoxylin counter staining,  $\times 40$ ) Breast biopsy showing proliferative epithelial lesion displaying cathepsin D positivity on immunostaining. (C) (Paraffin section, DAB with Harris hematoxylin counter staining,  $\times 200$ )

음성인 예는 21예(41.2%), 양성인 예는 30예(58.8%)였다.

## 2. 환자의 나이와 cathepsin D의 발현도

환자의 나이가 50세 미만인 경우가 23예(45.1%), 50세 이상인 경우가 28예(54.9%)였다(Table 1). 환자의 나이를 50세 미만과 50세 이상의 군으로 나누어 cathepsin D의 발현을 비교해 보면, 50세 미만인 군에서는 69.9%, 50세 이상인 경우는 50%로 환자의 나이가 50세 미만인 경우 cathepsin D의 발현이 더 높았으나 통계학적으로 유의한 차이가 없었다( $p > 0.05$ ). 환자의 나이와 cathepsin D의 발현을 t test로 비교

해 보았으나, 역시 유의한 관련이 없었다( $p > 0.05$ ).

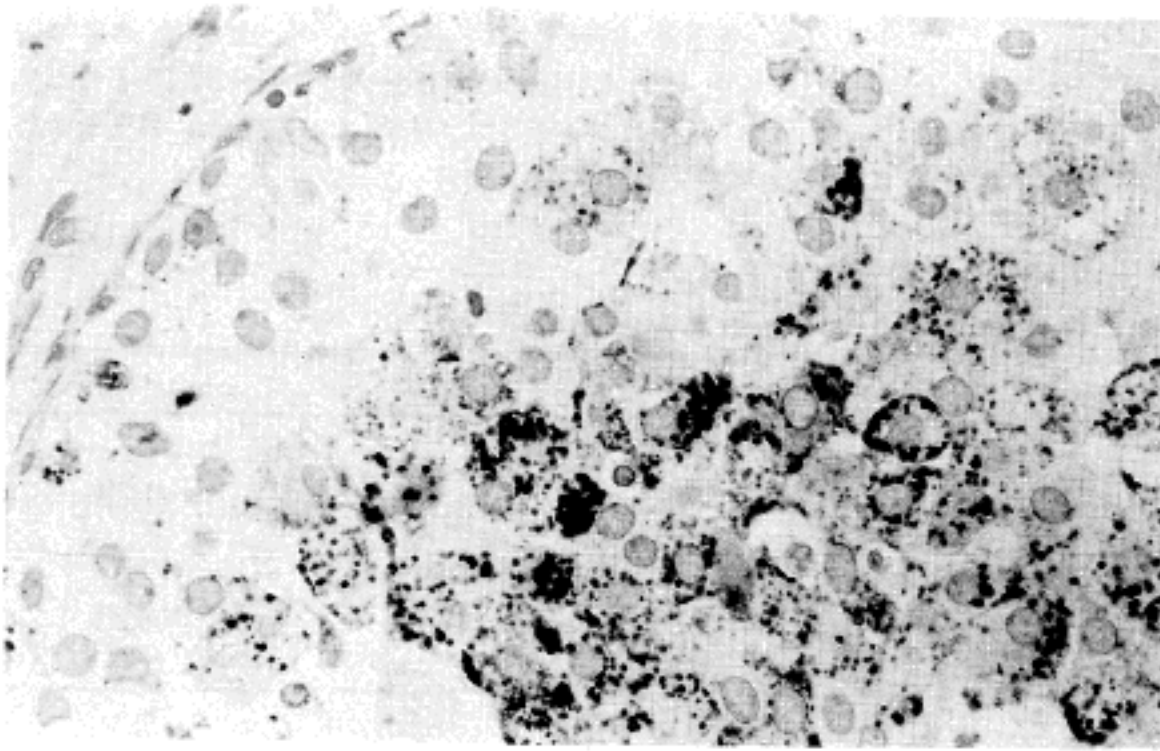
## 3. 병기와 cathepsin D의 발현도

병기에 따라 분류해 보면 각각 1기 11예, 2기 32예, 3기 5예, 4기 3예였다(Table 2). 1기에서 cathepsin D발현이 36.4%인데 비해 2기에서 68.8%로 많은 경향을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다( $p > 0.05$ ). 병기와의 관련성은 3기와 4기의 예가 적어 통계적 유의성이 적게 나타난 것으로 생각된다.

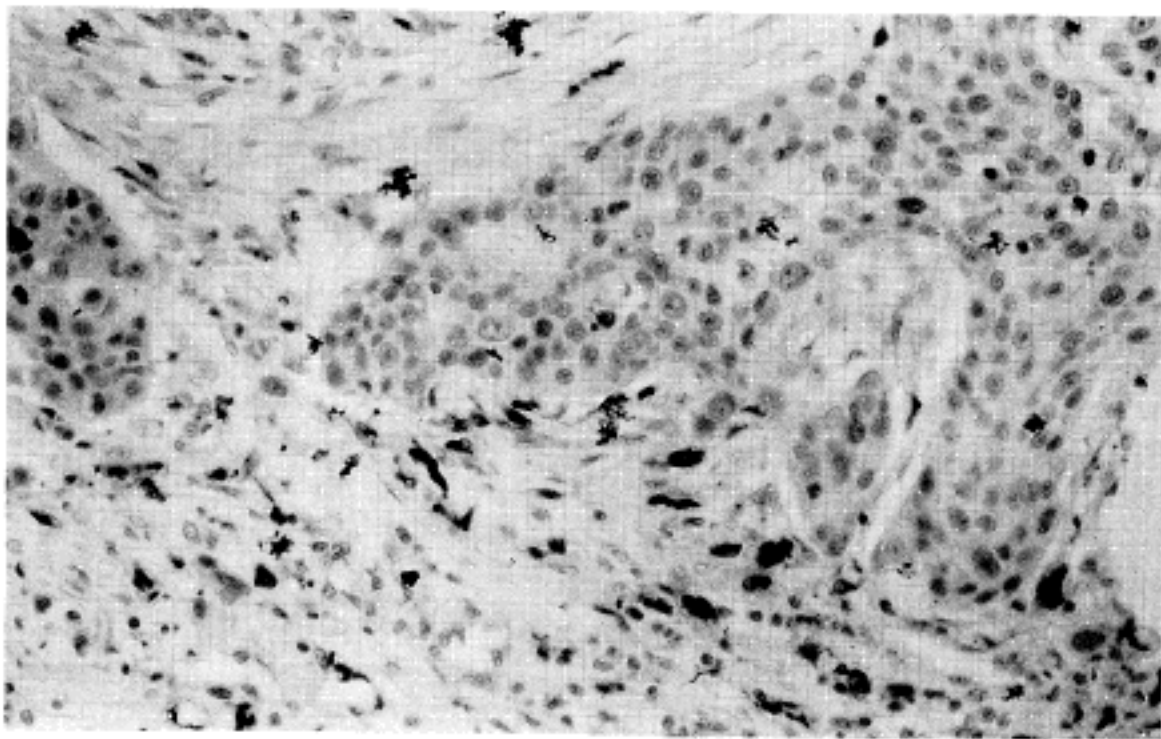
## 4. 림프절 침윤과 cathepsin D의 발현도

림프절 침윤과 cathepsin D발현을 비교해 보면





**Fig. 3.** Cathepsin D immunostaining of breast cancer cells. Cathepsin D showing dot to fine granular materials in cytoplasm of breast cancer cells. It stains with very similar patterns that of lysosome. (Paraffin section, DAB with Harris hematoxylin counter staining,  $\times 400$ ).



**Fig. 4.** Cathepsin D immunostaining of stroma in breast cancer tissue. Many histiocytes in stroma of the cancer display strong reactivity with cathepsin D antibody. (Paraffin section, DAB with Harris hematoxylin counter staining,  $\times 200$ )

**Table 1.** Age and cathepsin D expression

Age	<50	$\geq 50$	Row total
CD negative	7	14	21
% Row	33.3	66.7	41.2%
% Column	30.4	50.0	
CD positive	16	14	30
% Row	53.3	46.7	58.8%
% Column	69.6	50.0	
Column total	23	28	51
	45.1%	54.9%	100%

CD: cathepsin D

cathepsin D 발현이 양성인 경우 림프절 침윤이 66.7%이지만 cathepsin D 발현이 없는 경우 림프절 침윤이 47.6%였다(Table 3). Cathepsin D 발현이 있는 경우 림프절 침윤이 보다 많은 경향을 보였으나, 통계적 유의성은 없었다( $p > 0.05$ ).

#### 5. 조직학적 등급과 cathepsin D의 발현도

조직학적 등급과 cathepsin D 발현은 1등급에서 30%로 발현되는데 비해 3등급에서는 16.7%로 발현되고 2등급에서도 53.3%로 나타나는 등 아무런 연관 관계가 없었다(Table 4).

**6. 에스트로젠 수용체발현과 cathepsin D의 발현도**

에스트로젠 수용체 발현을 양성으로 판정하는 기준을 유암 세포질의 에스트로젠 수용체가 10 fmol/mg

이상인 경우로 하였다. 에스트로젠 수용체 음성은 14에, 양성은 37예였다(Table 5). 에스트로젠 수용체가 음성인 경우 cathepsin D의 발현도는 57.1%, 에스트로젠 수용체가 양성인 경우 cathepsin D발현도는 59.5%로 차이가 없었다.

**Table 2.** Stage and cathepsin D expression

Stage	I	II	III	IV	Row total
CD negative	7	10	2	2	21
% Row	33.3	47.6	9.5	9.5	41.2%
% Column	63.6	31.3	40.0	66.7	
CD positive	4	22	3	1	30
% Row	13.3	73.3	10.0	3.3	58.8%
% Column	36.4	68.8	60.0	33.3	
Column total	11	32	5	3	51
	21.6%	62.7%	9.8%	5.9%	100.0%

CD: cathepsin D

**Table 3.** Lymph node invasion and cathepsin D expression

	LN negative	LN positive	Row total
CD negative	11	10	21
% Row	52.4	47.6	41.2%
% Column	52.4	33.3	
CD positive	10	20	30
% Row	33.3	66.7	58.8%
% Column	47.6	66.7	
Column total	21	30	51
	41.2%	58.8%	100.0%

CD: cathepsin D, LN: lymph node

**Table 5.** Estrogen receptor positivity and cathepsin D expression

	ER negative	ER positive	Row total
CD negative	6	15	21
% Row	28.6	71.4	41.2%
% Column	42.9	40.5	
CD positive	8	22	30
% Row	26.7	73.3	58.8%
% Column	57.1	59.5	
Column total	14	37	51
	27.5%	58.8%	100.0%

CD: cathepsin D, ER: estrogen receptor

**Table 4.** Histologic grade and cathepsin D expression

Grade	1	2	3	Row total
CD negative	5	12	4	21
% Row	23.8	57.1	19.0	41.2%
% Column	35.7	42.9	44.4	
CD positive	9	16	5	30
% Row	30.0	53.3	16.7	58.8%
% Column	64.3	57.1	55.7	
Column total	14	28	9	51
	27.5%	54.9%	17.6%	100.0%

CD: cathepsin D

Cathepsin D 발현을 1등급(약양성)과 2등급(강양성)으로 나누어 보았을 때도 발현 등급과 에스트로젠 수용체사이에는 통계학적으로 유의한 관련이 없었다( $p > 0.05$ ).

에스트로젠 수용체 양성을 유암 세포질의 에스트로젠 수용체가 20 fmol/mg 이상으로 나타나는 경우로 하였을 때, 각각 에스트로젠 수용체가 음성인 경우 cathepsin D의 발현도는 35.0%, 에스트로젠 수용체가 양성인 경우 cathepsin D 발현도는 48.4%였다. 에스트로젠 수용체가 양성인 경우 cathepsin D의 발현도가 많은 경향을 보였으나 통계적 유의성이 없었다( $p > 0.05$ ).

이상으로 유암세포에서 cathepsin D의 발현은 에스트로젠 수용체와 통계학적으로 유의한 관련이 없었다.

## 고 찰

Cathepsin D는 52 kDa, 34 kDa, 14 kDa 단백질로 나타나며, 이중 52 kDa는 비활성인 pro-cathepsin D로 mannose-6-phosphate 수용체와 결합하여 Golgi체로 운반된 후 endosome에 싸여 lysosome에 도달하면, 중간형태인 48 kDa를 거쳐 최종 활성화 형태인 34 kDa으로 변하는 것으로 알려져 있다<sup>17)</sup>. Cathepsin D의 작용은 산성인 상태에서 나타나며, 주로 세포의 기질을 용해하며 in vitro 실험에서는 세포 분열을 촉진시켜 종양의 성장 및 종양의 침윤, 전이에 기여할 것이라고 생각된다<sup>17)</sup>. 이러한 사실을 기초로 생각하면 cathepsin D는 종양의 예후에 좋지 않은 영향을 미칠 것으로 생각할 수 있다. 또한 cathepsin D는 에스트로젠 홀몬에 반응하는 유암 세포 MCF<sub>7</sub>에서 에스트로젠에 의해 조절되는 것이 증명되어<sup>3)</sup>, 에스트로젠 홀몬에 반응하는 유암에서는 cathepsin D가 에스트로젠 홀몬의 조절에 의해 많이 발현하게 되고, 그 결과 종양의 성장 및 침윤, 전이에 기여하리라 추정된다.

이러한 가정 하에 cathepsin D와 유암의 예후와 관련한 많은 보고가 있었으나<sup>8-15)</sup> 이들의 보고를 보면 각 보고마다 서로 다른 결과를 얻었다. 이들의 결과를 크게 4가지로 분류해보면 첫째, cathepsin D의 발현은 다른 예후인자와 관련이 있다는 것이다. Cathepsin D와 관련이 있다고 알려진 예후 인자로는 에스트로젠 수용체<sup>8,12)</sup>, 림프절 침윤과 c-myc amplification<sup>13)</sup>, anti-EGFR, Ki 67의 면역표현, 종양등급, 혈관침윤, 증식지수<sup>15)</sup> 등이 있다.

둘째, cathepsin D는 다른 예후인자와 관련이 없이 하나의 독립된 예후 인자로서, 예후와 직접적으로 관련이 있다는 것이다<sup>8-11)</sup>.

셋째, cathepsin D는 유암의 알려진 예후인자와 관련이 없으며, 직접적으로 예후와도 관련이 없다는 것

이다<sup>16)</sup>.

넷째, 대체적으로 많은 보고들이 cathepsin D가 나쁜 예후를 보인다는 것에 반하여 cathepsin D의 발현이 오히려 좋은 예후를 보고도 있었다<sup>12)</sup>.

이들 보면 cathepsin D의 발현이 나쁜 예후를 보인다는 주장이 대부분이지만 이에 반하여 비록 소수의 보고이지만 cathepsin D의 존재가 좋은 예후를 나타낸다는 설이 대립되어 있는 실정이며, cathepsin D는 예후와 무관하다고 하는 주장이 있기도 한 것이다. cathepsin D가 좋은 예후를 보일 것이라 주장하는 이들은 독립적인 추적조사에서 좋은 결과를 보였다는 것이다<sup>12)</sup>. 그 근거로는 cathepsin D가 에스트로젠 수용체와 관련이 있다는 점이다. 일반적으로 에스트로젠 수용체의 발현이 있는 유암은 에스트로젠 수용체 음성의 유암보다 예후가 좋다는 것으로 알려져 있어 cathepsin D가 에스트로젠 수용체와 관련이 있다면, 가능성이 있는 가설이라고 생각된다<sup>12)</sup>. 또한 cathepsin D의 작용은 산성에서 단백질해 작용이 나타나는 것으로 알려져 있는데, 실제로 조직 내에서 종양의 침윤 및 전이를 위해서는 종양의 가장자리가 산성으로 되기는 중성일 가능성이 많으므로 생체내에서 그 생물학적 작용이 나타나지 않을 것이라고 하였다<sup>12)</sup>. 이는 cathepsin D가 에스트로젠 수용체와 관련이 있다면, 가능성 있는 설명이라고 생각된다. 따라서 cathepsin D와 에스트로젠 수용체의 연관성은 예후와 관련하여 중요성이 있을뿐 아니라, 그 자체로도 cathepsin D의 생물학적 작용을 설명하는데 유용하리라 생각된다.

저자들의 결과를 보면, 면역조직화학적 염색을 통한 유암세포에서 cathepsin D의 발현은 에스트로젠 수용체의 양성도와 환자의 나이, 종양의 병기, 림프절 침윤, 조직학적 등급과 통계학적으로 유의한 관련이 없었다.

에스트로젠 수용체와의 관련은 통계학적인 유의성이 없었다. 그러나, cathepsin D가 에스트로젠 수용체 발현 기준을 20 fmol/mg 이상으로 하였을 때, 약간 관련이 있는 경향을 나타낸 것으로 보아 더 많은 증례를 연구하면, 연관성이 나타날 가능성을 완전히 배제할 수는 없다고 생각된다. 흥미 있었던 점은 에스트로젠 수용체 발현 기준을 10 fmol/mg 이상으로 하였을 때, cathepsin D와의 관련은 더 적어졌다는 점이다. 이는 에스트로젠 수용체의 양이 극소량이므로 이를 검출하는 방법 및 각기관 검사실의 정확도에 따라 많은 차이가 있을 수 있음을 시사한다 하겠다. 전체적으로 에스트로젠 수용체의 정량과 면역조직화학적 염색으로 나타난 cathepsin D 발현과의 관련성을 조사해(t test) 보았을 때 통계적으로 유의한 관련이 없는 것으로 나타났다( $p > 0.05$ ). Cathepsin D가 에스트로젠 수용체와 관련이 없는 점은 Henry 등과는 다른 결과이지만<sup>8,12)</sup>, Thorpe 및 Charpin 등의 보고와는 일치하는 소견이었다<sup>10,15,16)</sup>. Cathepsin D와 에스트로젠 수용체와의

관련에 대해서는 분자 생물학적으로 에스트로젠 수용체가 있는 유암세포 MCF<sub>7</sub>에서 에스트로젠에 의해 조절되어 세포질에 m-RNA가 나타나는 것이 증명되어 있다<sup>3)</sup>. 그러나 생체 조직에서 면역조직화학적 방법을 통해 cathepsin D가 발현되는 분포를 보면 에스트로젠과 관련이 없는 다른 조직에서 많이 나타나며 에스트로젠에 의존하는 난소, 자궁 평활근, 태반 등의 조직에서는 나타나지 않는다<sup>4,5)</sup>. 저자들도 유암 세포에 대한 대조염색으로 시행한 난소, 자궁 평활근 및 태반에서는 음성으로 나타났고, 에스트로젠과 관련이 없는 위 소와세포(foveolar cell), 위암 세포, 기관지 상피 세포등에서 cathepsin D가 나타났으며 특히 폐포 대식세포 및 조직구에 현저히 나타났다(Fig. 1, 2). 이러한 결과는 생체내에서 cathepsin D가 단지 에스트로젠에 의해서만 조절, 발현되는 것이 아님을 암시한다 하겠다. 에스트로젠 수용체와의 연관성이 없는 다양한 조직 및 세포에서도 cathepsin D가 존재하고 있다면, 그 세포들에 cathepsin D가 작용하는 경우 cathepsin D는 반드시 에스트로젠에 의해서만 조절되지 않고, 에스트로젠 수용체와 연관성 없이도 그 생물학적 작용이 있을 수 있다고 생각된다. 따라서 생체내에서의 cathepsin D의 조절 및 발현에 대해서는 더 많은 연구가 요망된다 하겠다.

본 연구에서 cathepsin D와 림프절 침윤과의 관계는 통계적인 유의성은 없었으나, 림프절 침윤이 없는 환자(46.7%)보다 림프절 침윤이 있는 환자에서 더 많은 표현도(66.7%)를 보였다. 이로보아 cathepsin D가 림프절 침윤 관련이 있을 가능성을 배제할 수 없는 것으로 생각되며 앞으로 진행된 병기 및 림프절 침윤이 있는 예를 더 많이 연구해야할 필요성이 있다고 생각된다.

저자들의 결과를 보면, cathepsin D가 유암에서 알려진 다른 예후인자와 연관성이 없는 것으로 나타났는데 이는 Maudelonde, Spyrtos, Dopmagala 등과 같은 결과였다<sup>8,9,14)</sup>.

Cathepsin D와 다른 예후인자와 관련성이 보고자마다 상이한 결과를 얻게된 데에는 연구 대상의 수, cathepsin D의 면역발현에 대한 연구 방법의 차이가 주된 원인이라고 생각된다. 비록 cathepsin D에 대한 cytosol assay와 면역조직화학적 염색에 의한 결과가 서로 상관관계가 있는 것으로 알려져 있지만<sup>19,20)</sup>, 각 예마다 개별적인 차가 상당히 큰 폭으로 존재하므로 직접적으로 비교해서는 안된다고 하는 보고도 있다<sup>20)</sup>. 저자의 경험으로도 유암세포에서 뿐 아니라 종양의 간질에 있는 조직구에서도 cathepsin D의 발현이 같이 나타나는 것을 볼 수 있었다. 또한 간혹 유암 세포에서는 cathepsin D가 발현되지 않지만, 간질의 조직구 세포질에서는 발현되는 것을 볼 수도 있었다. 따라서, cytosol assay보다는 면역조직화학적 방법이 보다 더 유암 세포의 cathepsin D의 발현을 정확히 인지하는

방법이라고 생각된다. cathepsin D가 유암의 예후와 관련된 다른 인자들과 관련이 있는지, 유암의 예후와도 관련이 있는지는 최근까지도 많은 논란이 있는 실정이다<sup>15,21)</sup>. 정확한 사실에 접근하기 위해서는 보다 정확한 방법으로 많은 증례를 통한 검증이 더 필요하지만 저자들은 cathepsin D는 나이, 병기, 조직학적 등급, 림프절 침윤, 에스트로젠 수용체 상태 등과 관련이 없다는 결과를 얻었다.

## 결 론

1) 외과적으로 절제된 유암 환자의 유암 조직 51예의 cathepsin D에 대한 면역 조직화학적 염색을 통해 cathepsin D가 음성인 것은 총 21예(41.2%), 양성인 것은 30예(58.8%)였다.

2) 면역조직화학적 염색을 통한 유암 세포의 cathepsin D의 발현도와 환자의 나이, 병기, 조직학적 등급, 림프절 침윤, 에스트로젠 수용체의 발현도는 통계학적으로 유의한 상관관계가 없었다. 단지 cathepsin D의 발현과 림프절 침윤과 약간 관련이 있는 경향을 보였으며, 에스트로젠 수용체 양성 기준을 20 fmol/mg 이상으로 하였을 때도 관련이 있는 경향을 보였다.

## 참 고 문 헌

- 1) Westley B, Rochefort H. *Estradiol induced proteins in the MCF-7 human breast cancer cell line. Biochem Biophys Res Commun* 1979; 90: 410-6.
- 2) Morisset M, Capony F, Rochefort H. *The 52-kDa estrogen induced protein secreted by MCF-7 cells is a lysosomal acidic protease. Biochem Biophys Res Commun* 1986; 138: 102-9.
- 3) Westley BR, May FEB. *Estrogen regulates cathepsin D mRNA levels in estrogen responsive human breast cancer cells. Nucleic Acid Res* 1987; 9: 3773-86.
- 4) Reid WA, Valler MJ, Kay J. *Immunolocalisation of cathepsin D in normal and neoplastic human tissues. J Clin Pathol* 1986; 39: 1323-30.
- 5) Garcia M, Salazar-Retana G, Pages A, Richer G, Domergue J, Pages Am, Cavalie G, Martin JM, Lamarque JL, Pau kB, Pujol H, Rochefort H. *Distribution of the Mr 52,000 estrogen regulated protein in benign breast diseases and other tissues by immunohistochemistry. Cancer Res* 1986; 46: 3734-8.
- 6) Capony F, Montcourrier P, Cavailles V, Salazar G, Rochefort H. *Increased secretion, altered processing and glycosylation of pro-cathepsin D in human mammary cancer cells. Cancer Res* 1989; 49: 3904-9.



- 7) Rochefort H, Capony F, Garcia M. *Estrogen induced lysosomal proteases secreted by breast cancer cells: a role in carcinogenesis?* *J Cell Biochem* 1987; 35: 17-29.
- 8) Maudelonde T, Maudelonde T, Khalaf S, Garcia M, Freiss G, Duporte J, Benatia M, Rogier H, Paolucci F, Simony J, Pujol H, Pau B, Rochefort H. *Immunoenzymatic assay of Mr 52,000 cathepsin D in 182 breast cancer cytosols: low correlation with other prognostic parameters.* *Cancer Res* 1988; 48: 462-6.
- 9) Spyrtos F, Maudelonde T, Brouillet JP, Brunet M, Defrenne A, Andrieu C, hacene K, Desplasces A, Rouesse J, Rochefort H. *Cathepsin D: An independent prognostic factor for metastasis of breast cancer.* *Lancet* 1989; 11: 1115-8.
- 10) Thorpe SM, Rochefort H, Garcia M, Freiss G, Christensen Ibj, Khalaf S, Paolucci F, Pau B, Rasmussen BB, Rose C. *Association between high concentration of Mr 52,000 cathepsin D and poor prognosis in primary human breast cancer.* *Cancer Res* 1989; 49: 6008-14.
- 11) Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Chirgwin JM, McGuire WL. *Cathepsin D and prognosis in breast cancer.* *New Engl J Med* 1990; 322: 297-302.
- 12) Henary JA, McCarthy AL, Angus B, Westley BR, May FEB, Cairns J, Nicholson S, Harris AL, Horne CHW. *Prognostic significance of the estrogen-regulated protein, cathepsin D, in breast cancer. An immunohistochemical study.* *Cancer* 1990; 65: 265-71.
- 13) Brouillet JP, Theillet C, Maudelonde T, Defrenne A, Simony-Lafontaine J, Sertour J, Pujol H, Jeantur P, Rochefort H. *Cathepsin D assay in primary breast cancer and lymph nodes: relationship with c-myc, c-erb-B-2 and int-2 oncogene amplification and node invasiveness.* *Eur J Cancer* 1990; 26: 437-41.
- 14) Domagala W, Striker G, Szadowska A, Dukowicz A, Weber K, Osborn M. *Cathepsin D in invasive ductal NOS breast carcinoma as defined by immunohistochemistry. No correlation with survival at 5 years.* *Am J Pathol* 1992; 141: 1003-12.
- 15) Charpin C, Devictor B, Bonnier P, Andrac L, Lavaut MN, Allasia C, Piana L. *Cathepsin D immunocytochemical assays in breast carcinomas; image analysis and correlation to prognostic factors.* *J Pathol* 1993; 170: 463-70.
- 16) Bloom HJG. *Prognosis in carcinoma of the breast.* *Br J Cancer* 1950; 4: 259-88.
- 17) Morisset M, Capony F, Rochefort H. *Processing and estrogen regulation of the 52-Kilodalton protease inside MCF7 breast cancer cells.* *Endocrinology* 1986; 119: 2773-21.
- 18) Garcia M, Lacombe MJ, Duplay H, Cavailles V, Derocq D, Delarue JC, Krebs B, Contesso G, Sanch-Garnier H, Richer G, Domerque J, Namer M, Rochefort H. *Immunohistochemical distribution of the 52-kDa protein in mammary tumors: a marker associated with cell proliferation rather than with hormone responsiveness.* *J Steroid Biochem* 1987; 27: 439-45.
- 19) Maudelonde T, Brouillet JP, Roger P, Giraudier V, Pages A, Rochefort H. *Immunostaining of cathepsin D in breast cancer: Quantification by computerised image analysis and correlation with cytosolic assay.* *Eur J Cancer* 1992; 28A: 1686-91.
- 20) Remmele W, Sauer-manthey J. *Comparative biochemical and immunohistochemical studies on the cathepsin D content of human breast cancer.* *Virch Arch A Pathol* 1993; 422: 467-73.
- 21) Hurlimann J, Gebhard S, Gomez F. *Oestrogen receptor, progesterone receptor, pS2, ERD5, HSP27 and cathepsin D in invasive ductal breast carcinomas.* *Histopathology* 1993; 23: 239-48.
- 22) Tetu B, Brisson J, Cote C, Brisson S, Potvin D, Roberge N. *Prognostic significance of cathepsin D expression in node positive breast carcinoma: An immunohistochemical study.* *Int Cancer* 1993; 55: 429-35.