

유방암의 nm23 단백질 발현 - 면역조직화학적 연구 -

서울대학교 의과대학 병리학교실, 외과학교실*

송상용 · 지제근 · 한세환* · 최국진*

Expression of nm23 Protein in Breast Carcinoma - An immunohistochemical study -

Sang-Yong Song, M.D., Je G. Chi, M.D., Se Hwan Han*, M.D.
and Kuk Jin Choe*, M.D.

Department of Pathology and Surgery*, Seoul National University College of Medicine

To elucidate a possible prognostic factor, we studied 91 cases of breast carcinoma for the expression of nm23 protein using an immunohistochemical method, and compared these results with the known prognostic parameters of the breast carcinoma. The nm23 protein was intensely stained in the cytoplasm and/or the nucleus of carcinoma cells in 82 cases(90.1%). There were two patterns of cytoplasmic staining; heterogeneous pattern and homogeneous pattern. Among the positive cases, 43 cases(47.2%) were heterogeneous while 39 cases(42.8%) were homogeneous. Axillary lymph node metastases($p < 0.005$) was found more frequently in the heterogeneous pattern group(79.0%) than in the homogeneous pattern group(41.0%). There was no significant correlation between nm23 protein expression and other parameters such as patient age, tumor size, estrogen receptor, histopathologic grade, and p53 overexpression. Although axillary lymph node metastasis was correlated with the disease free status($p < 0.0005$) and patient survival ($p < 0.05$), they showed no correlation with nm23 expression. Multivariate analysis showed that axillary lymph node metastasis was the only prognostic indicator($p < 0.05$), and the expression of nm23 protein was of borderline significance. The results suggest that the homogeneous and/or granular cytoplasmic expression of nm23 protein plays a role in the suppression of nodal metastasis in breast carcinoma and might contribute in predicting patient survival. (**Korean J Pathol 1995; 29: 469~477**)

Key Words: nm23, Nucleoside diphosphate kinase, Breast carcinoma, Metastasis, Prognosis.

서 론

유방암은 우리나라 여성 암종 중 세번째를 차지하고 있는 중요한 질환으로써, 최근 그 빈도가 증가하고 있다. 유방암의 발생 원인은 크게 유전적 원인, 호르몬의 영향, 환경적 영향으로 대별되고 있고¹, 한국인 생활의 서구화는 환경적 요소에 의한 유방암의 증가를 설명해주는 좋은 보기이다. 이러한 유방암 발생과 생물학적 성상에 대한 최근의 연구는 다른 종양의 경우와 마찬가지로 DNA 배수성, 증식분획 및 여러가지 수용체와 종양 유전자의 역할에 초점이 모아지고 있다.

nm23 유전자는 1988년 Steeg 등의 암세포주 실험에 의하여 종양의 전이 억제 유전자로 주목받기 시작하여^{2,3}, 특히 유방암에서의 그 역할이 강조되고 있다⁴⁻⁹. nm23 유전자는 17번 염색체 장완에 위치하고 있고^{10,11}, 8.5 Kb span에 5 exons와 4 introns로 구성되어 있다¹². 인간의 nm23 유전자는 88%의 상동성을 갖고 있는 nm23-H1과 nm23-H2의 두가지가 있고, 각각 Mr 17,143의 chain A와 Mr 17,294의 chain B 단백 생산에 관여한다^{13,14}. 효소학적으로 nm23 단백질은 nucleoside diphosphate kinase(NDPK)의 활성과 연관이 있는 것으로 알려져 있으나^{13,15-17}, 이의 정확한 작용 및 전이 억제 기전은 아직 밝혀지고 있지 않다. 그럼에도 불구하고, 유방암 외에도 난소암^{18,19}, 전립선암²⁰⁻²², 췌장암²³, 위암²⁴, 대장암²⁵⁻²⁹, 폐암^{25,30}, 갑상선암³¹⁻³³, 간세포암^{34,35}, 신세포암²⁵에서 nm23 이상이 보고되고 있고, 이 중에서 난소암, 전립선암, 위암, 폐암, 간세포암에서는 전이 억제 인자로서, 췌장암은 오히려 전이 촉진 인자로서의 가능성이 논의되고 있으며, 갑상선암, 대장암은 그 의미가 아직 논란의 대상이 되고 있다.

저자들은 우리나라 유방암 조직을 대상으로 nm23 단백질에 대한 면역조직화학적 염색을 통하여 그 발현 정도를 조사하고, 전이 억제 인자로서의 가능성 및 기왕에 알려진 예후 인자들과의 연관성, 그리고 환자의 재발과 생존 분석을 시도하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1988년 12월부터 1992년 1월까지 서울대학교병원 외과에서 침윤성 암종으로 진단받고 유방절제술(변형근치절제술, 단순절제술 + 겨드랑 림프절 절제술)이 시행된 예 중에서 2년 이상 환자의 경과를 추적

할 수 있었고, 조직 보관 상태가 좋았던 91예를 대상으로 하였다.

2. 연구방법

1) **임상상**: 환자의 연령, 에스트로겐 수용체 상태, 재발, 생존자료는 외과에 작성보관되어 있는 유방암 기록(한, 최)을 이용하였고, p53 단백질 발현 유무는 본 연구자들의 과거 연구 자료³⁶를 이용하였다.

2) **육안 및 광학현미경 검사**: 절제된 조직은 육안 검사 후, 10% 중성 포르말린 처리 및 파라핀 포매를 거쳐 통상의 조직처리 방법에 의하여 헤마톡실린-에 오신 염색을 시행하였다. 조직병리학적 검사를 위하여 슬라이드를 반복하여 판독 후 Nottingham/Tenovus 체계³⁷에 따라 분화등급을 결정하였다.

3) **면역조직화학 검사**: 면역조직화학 검사를 위하여 포르말린 처리 파라핀 포매 조직을 5 μ m 두께로 박절한 후 통상의 방법에 따라 탈파라핀한 후 0.3% 과산화수소수로 처리하였다. 차단 항체로 30분간 반응시킨 후 일차 항체(nm23/nuclear diphosphate kinase A, from human erythrocytes, mouse monoclonal, NCL-nm23, Novocastra Laboratories Ltd.)를 1:200의 희석 비율로 상온에서 2시간 동안 반응시켰다. 이후의 과정은 labelled streptavidin-biotin(LSAB) kit(DAKO)를 이용하여 통상의 avidin-biotin complex(ABC)법에 따라 진행하였고, 헤마톡실린으로 대조 염색을 하였다. 판독은 음성과 양성으로 나눈 후, 양성은 세포질에 비균질성이면서 세포막이 강하게 염색되는 경우(heterogeneously or peripherally stained group: I군)와 세포질 전체에 균등하게, 중등도 이상의 강도로 염색되는 경우(homogeneously and/or intensely stained group: II군)으로 구분하는 삼분법³⁸을 이용하였다.

4) **통계학적 분석**: 기존에 알려진 여러가지 예후 인자들과 nm23 단백질 발현과의 관계를 Chi-square법을 이용하여 검정하였고, 재발 및 생존 분석은 Kaplan-Meier법을 적용하였으며, 이상의 통계학적 분석은 개인용 컴퓨터 통계 프로그램인 PC-SAS, 6.04 version을 이용하였다.

결 과

1. 일반적 특징

대상 환자의 연령은 25세부터 75세까지였고, 평균연령은 47.28(\pm 10.40)세이었다. 병리조직학적 진단은 침윤성 관암종이 89예로 대부분을 차지하였고, 점액암종이 2예이었다. 종양의 크기는 2 cm 이하인

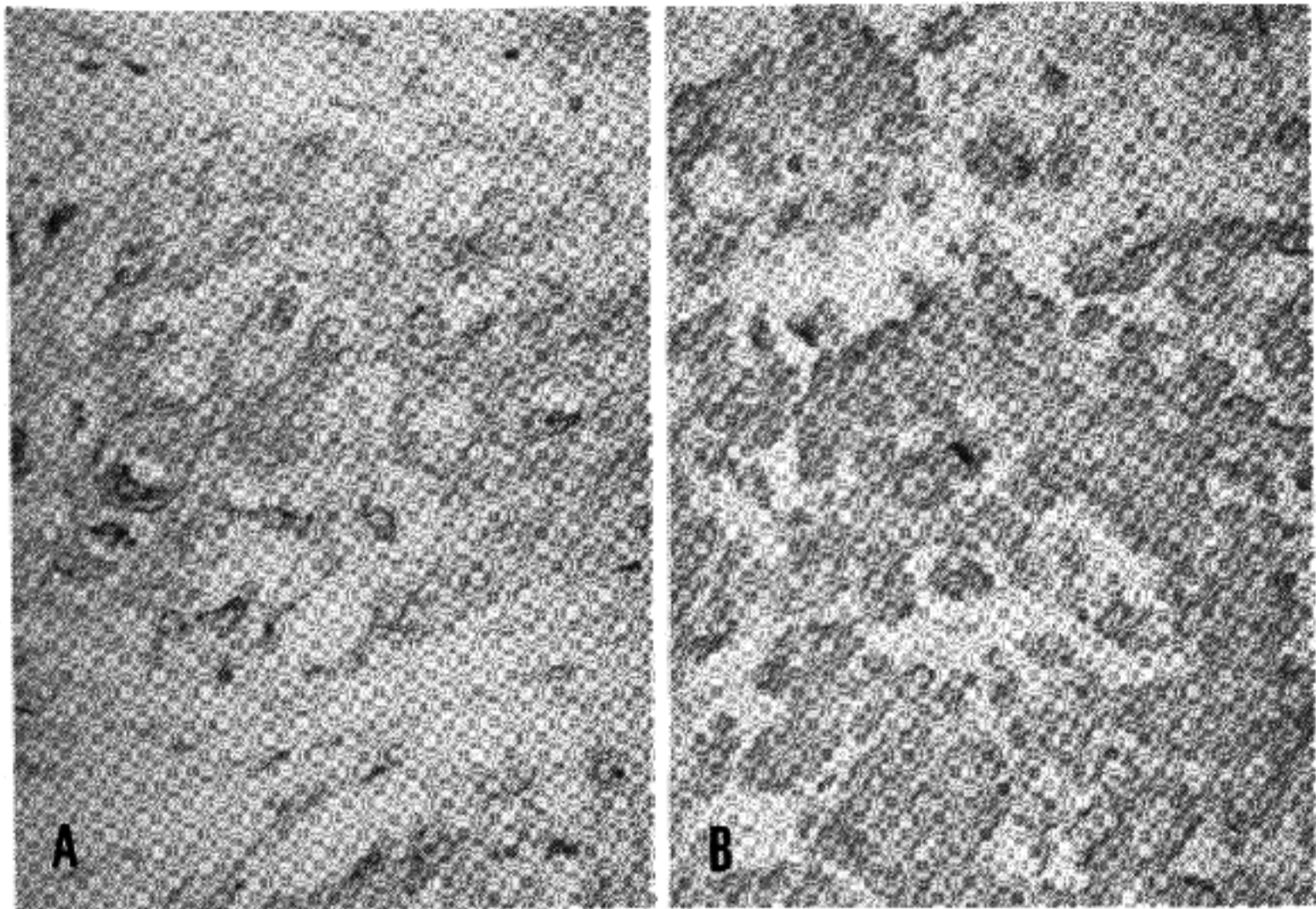


Fig. 1. Photomicrographs of the immunohistochemical stain for nm23 protein showing cytoplasmic reactivity. (A) I positive group shows heterogeneous staining in the tumor cell cytoplasm with peripheral accentuation. (B) II positive group shows homogeneous, intense and often granular cytoplasmic staining.

예(T1)가 17예(18.68%), 2 cm 에서 5 cm 사이인 예(T2)가 50예(54.95%), 5 cm 을 넘은 예(T3)가 19예(20.88%), 흉벽까지 침범한 예(T4)가 5예(5.49%)이었다. 겨드랑 림프절 전이는 없었던 예(N0)가 35예(38.46%), 1~3개의 림프절에 전이한 예(N1)가 22예(24.18%), 4개 이상의 림프절에 전이한 예(N3)가 34예(37.36%)이었다. 병리조직학적 등급은 I등급이 22예(24.18%), II등급이 34예(37.36%), III등급이 35예(38.46%)이었다. 과거 연구에서 에스트로겐 수용체는 음성인 6예(6.59%), 약양성이 30예(32.97%), 강양성이 55예(60.44%)이었고, p53 단백질은 55.06%(49/89)의 발현율을 보였다.

2. nm23 단백질에 대한 면역조직화학 염색

전체 91예 중 82예(90.1%)에서 종양 세포에 양성 반응을 보였고, 이중 I군이 43예(47.25%), II군이 39예(42.86%)이었다. 주로 세포질에 염색되었고, 핵 염색은 불분명하였다. 염색 강도는 II군이 I군에 비하여 더 강하였으나, 유의한 차이를 보이지는 않았고,

종양 세포의 염색 빈적은 대개 슬라이드 전 영역이었고, 그 강도는 슬라이드 어디에서나 비슷하였다. 일부 예에서 관내 암종, 비정형 상피증식증, 비종양성 상피가 포함되었고, 이들에서도 양성 반응이 나타났다. 염색 강도의 차이는 유의하지 않았다.

3. nm23 단백질 발현과 예후 인자들과의 관계 (Table 1)

nm23 단백질 발현은 환자의 인령이나, 종양의 크기와 무관하였고, 병리조직학적 등급이 낮을수록 즉, 분화가 좋을수록 nm23 단백질 발현율이 높았으나(I등급: 18.2%, II등급: 8.8%, III등급: 5.7%) 통계적으로 유의한 수준은 아니었다. 겨드랑 림프절 전이와의 관계는 N0군에서는 음성 8.6%, I군 25.7%, II군 65.7%의 분포이던 것이 N1군에서는 음성 9.1%, I군 50.0%, II군 40.9%, 그리고, N2군에서는 음성 11.8%, I군 67.6%, II군 20.6%의 분포를 보여, 전이가 없는 경우에서 II군 양성 발현율이 높고, 전이 개수가 많을수록 I군 양성 발현율이 높음을 알 수 있었다

Table 1. Relationship between nm23 protein expression and clinicopathologic parameters in breast carcinoma

Parameters	nm23 reactivity			p value
	Negative	Group I	Group II	
Samples(n=91)	9(9.9)	43(47.2)	39(42.8)	
Patient age				NS
~29(n=3)	0	3(100)	0	
30~39(n=20)	2(10.0)	11(55.0)	7(35.0)	
40~49(n=32)	4(12.5)	11(34.4)	17(53.1)	
50~59(n=24)	2(8.3)	13(54.2)	9(37.5)	
60~ (n=12)	1(8.3)	5(41.7)	6(50.0)	
Tumor size				NS
T1(n=17)	2(11.8)	4(23.5)	11(64.7)	
T2(n=50)	4(8.0)	25(50.0)	21(42.0)	
T3(n=19)	3(15.8)	11(57.9)	5(26.3)	
T4(n=5)	0	3(60.0)	2(40.0)	
Axillary lymph node				0.002
N0(n=35)	3(8.6)	9(25.7)	23(65.7)	
N1(n=22)	2(9.1)	11(50.0)	9(40.9)	
N2(n=34)	4(11.8)	23(67.6)	7(20.6)	
Histologic grade				NS
I (n=22)	4(18.2)	9(40.9)	9(40.9)	
II (n=34)	3(8.8)	15(44.1)	16(47.1)	
III(n=35)	2(5.7)	19(54.3)	14(40.0)	
Estrogen receptor				NS
negative (n=6)	1(16.7)	4(66.6)	1(16.7)	
positive (n=30)	3(10.0)	15(50.0)	12(40.0)	
strong positive(n=55)	5(9.1)	24(43.6)	26(47.3)	
p53 protein				NS
negative(n=40)	5(12.5)	21(52.5)	14(35.0)	
positive(n=49)	4(8.2)	22(44.9)	23(46.9)	

NS: not significant

($p=0.002$). 에스트로겐 수용체의 발현이 양성일 경우, 그리고 강도가 강할수록 nm23 단백질 발현율이 높고, 특히 II군 양성 발현율이 높아지는 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다. p53 단백질 발현 역시 nm23 단백질 발현과 유의한 관계를 보이지 않았다.

4. 종양의 재발, 환자의 생존과 예후 인자들과의 관계 (Table 2)

전체 환자 중 재발에 대한 추적이 가능했던 경우는 57예이었고, 이중 15예에서 재발하여 26.32%의 재발율을 보였다. 환자의 생존 여부를 알 수 있었던

경우는 55예이었고, 이중 6예의 사망이 확인되어 89%의 생존율을 보였다. 환자의 연령은 종양의 재발과 환자의 생존과 연관이 없었다. 종양의 크기가 클수록 누적 재발율이 높았으나 유의한 차이는 아니었고, 반면에 3년 누적 생존율은 T1군이 100%, T2군이 92.9%, T3군이 87.5%, T4군이 50.0%로 유의한 차이를 보였다($p=0.0032$). 병리조직학적 등급은 분화가 나뉠수록 누적 재발율이 높고(I등급: 10.0%, II등급: 29.1%, III등급: 35.1%), 3년 누적 생존율도 낮았으나(I등급: 100%, II등급: 95.8%, III등급: 80.7%) 유의한 차이는 아니었다. 겨드랑 림프절 전이는 종양의 재발($p=0.0005$)과 환자의 생존(0.0314)과 모두 유의한

Table 2. Relationship between tumor recurrence rate, patient survival rate and prognostic parameters in breast carcinoma

Parameters	Recurrence rate(n=57)	p value	Survival rate(n=55)	p value
All patients	30.2%		90.6%	
Patient age		NS		NS
<50	27.3%		89.8%	
≥50	29.1%		91.4%	
Tumor size		NS		0.0032
T1	10.0%		100%	
T2	24.3%		92.9%	
T3	40.0%		87.5%	
T4	50.0%		50.0%	
Lymph node		0.0005		0.0314
N0	5.5%		100%	
N1	15.7%		94.7%	
N2	57.3%		77.6%	
Histologic grade		NS		NS
I	10.0%		100%	
II	29.1%		95.8%	
III	35.1%		80.7%	
Estrogen receptor		NS		0.0365
negative	60.0%		50.0%	
positive	25.3%		89.4%	
strong positive	24.3%		96.9%	
p53 protein		NS		NS
negative	20.4%		87.5%	
positive	35.4%		92.1%	
nm23 protein		NS		NS
negative	22.2%		100%	
group I	33.5%		90.8%	
group II	22.2%		86.4%	

NS: not significant

상관관계를 보였다. 즉, 누적 재발율은 N0: 5.5%, N1: 15.7%, N2: 57.3%이었고, 3년 누적 생존율은 N0: 100%, N1: 94.7%, N2: 77.6%이었다. 에스트로겐 수용체와 종양의 재발과의 관계는 음성 60.0%, 약양성 25.3%, 강양성 24.3%로 양성군에서 재발이 적었으나 유의한 차이는 아니었다. 그러나, 환자의 생존과는 음성군에서 50.0%, 약양성군에서 89.4%, 강양성군에서 96.9%로 수용체 양성일수록 그리고 강도가 강할수록 환자들의 생존율이 높았다(p=0.0365). p53 단백질과 nm23 단백질의 발현은 종양의 재발 및 환자의 생존과 유의한 관계를 보이지 않았다.

환자의 예후에 관한 다변량분석에서는 거드랑 림프

절 전이가 어느 모델에서나 유일하게 독립적인 예후 인자로 나타났다(p<0.05). 그외 여러 인자들 중에서는 nm23 단백 발현이 log normal 모델에서 p=0.0472, log logistic 모델에서 p=0.0771, Weibull 모델에서 p=0.1565의 값을 보였다.

고 찰

여러가지 종양 유전자들 중에서 nm23, WDNM1, fibronectin은 하향조절에 의하여 전이능이 상승되는 대표적인 종양 억제 유전자이다³⁹. 따라서 다른 종양 유전자들과는 달리 오히려 정상 조직이나 양성 병변

에서 그 발현율이 높을 수 있고, 종양에서의 발현율이 중요한 의미를 갖는다고 생각되지는 않으나, 본 연구에서 유방암 조직의 nm23 단백질 발현율은 90.1%이었다. 예측한 결과이나 정상조직이나 관내암종에서도 양성 반응을 보였기 때문에, 암종과의 연관성에 대한 연구가 향후 이루어져야 한다고 생각했다.

전자현미경을 이용한 면역세포화학적 연구에서 NDPK의 세포내 위치는 리보솜으로 알려져 있고 악성 종양 세포주에서는 세포막에서도 그 존재가 확인된 바 있다⁴⁰. 따라서 nm23의 발현은 세포질 염색으로 나타나고 핵에서의 염색은 양성 양성일 가능성이 높다. 한편, 면역조직화학 결과가 세포질 염색으로 나오는 경우에 있어 그 판독 방법은 그리 용이하지 않고 연구자 마다 상이한 방법을 이용하기도 한다. nm23의 경우도 예외는 아니어서, 일부 연구자들은 염색 강도에 따른 등급 체계를 적용하고^{9,30,34,35}, 또 일군은 염색되는 면적에 따라 구분하기도 한다⁴¹. 특이한 점은 nm23이 다른 종양 단백질과 달리 정상 조직이나 양성 병변에서도 존재하기 때문에 상당수의 연구자들이 주변 비종양 상피와의 강도 비교를 하여 더 강하게 염색될 때를 진성 양성으로 판독하는 경우가 많았다는 점이다. 본 연구에서는 이에 부가하여 세포질 내에서의 염색 양상을 가미하여 중등도 이상으로 균등하게 염색되는 경우와 그렇지 않은 경우로 나누어 판독하는 방법을 사용했다³⁸. 이는 전자의 경우가 후자에 비해 항원의 표현이 더 많은 경우로 해석할 수 있고, 이의 기전을 정확히 알 수는 없지만 아마도 활발한 발현으로 인하여 세포질 내 축적이 더 과량으로 존재하는 것으로 추측할 수 있다³⁸. 따라서 본 연구자들의 생각은 면역조직화학 염색, 특히 세포질에 염색되는 경우 염색 양상이 중요한 척도이고, 여기에 염색 면적을 가미한다면 비교적 좋은 판독 방법이 될 것으로 사료된다.

nm23의 전이 억제 인자로서의 역할은 비교적 이견의 여지가 없다. 각각 독립적인 인체 암을 대상으로 한 5가지의 연구에서 nm23 RNA나 단백질의 감소가 종양의 악성 행태와 연관이 있다는 결과가 나온 바 있고³⁹, K-1735 murine melanoma, nitrosomethylurea-induced rat mammary tumor, MMTV-induced mouse mammary tumor, c-Ha-ras(+/-) adenovirus Ela transfected fibroblast 등의 세포주를 이용한 transfection 실험에서 nm23-H1의 억제가 전이와 연관되었다는 결과 등 많은 자료가 이를 뒷받침하고 있다⁴². 또한 인체 대장암을 대상으로 한 전향적 연구에서 nm23-H1 유전자의 결손이 전이와 연관이 있다는 실험 결과를 통하여 결국 nm23이 종양의 성장 말기에

전이와 연관되어 작용하는 유전자일 가능성이 강력히 시사되고 있다²⁶. 그러나, nm23 발현이 어떤 기전을 통하여 전이 억제 기능을 수행하는가에 대한 구체적인 해석은 아직까지 없고, in vivo 또는 다른 종류의 종양에서의 역할은 논란의 여지가 있다. 특히 췌암의 경우는 오히려 악성 행태와 연관이 있다는 보고가 있기 때문에^{23,43} 전이 억제 인자로서의 역할이 부정될 수도 있다. 따라서 이런 모순된 결과가 나올 수 있는 몇가지 가능성에 대한 검토가 필요하다. 첫째는 전이에 관여하는 요소는 종양 자체의 성질 뿐만 아니라 인체의 방어 기전 역시 중요하다는 사실이다. 따라서 nm23에 대한 초기 연구들이 세포주를 중심으로 유전자 transfection 실험의 형태로 이루어졌고, 이들 실험에서 거의 예외없이 전이 억제 인자로서의 역할이 증명된 반면, 그 이후에 이루어진 인체 암에 대한 연구에서는 서로 상이한 결과를 보이는 것이 위의 추측에 대한 좋은 보기가 된다¹⁸⁻³⁵. 둘째는 전이의 능력이나 기전 자체가 종양마다 다를 수 있다는 점이다. 여러가지 악성 종양이 알려져 있지만 각각의 전이 빈도가 차이가 있고, 전이를 하는 장소도 차이가 나는 점은 이미 잘 알려진 사실이다. 전술한 바와 같이 nm23에 대한 연구 결과가 몇가지 종양에서는 계속 일치된 결과가 보고되었다는 사실이 이를 뒷받침 해준다^{18-23,25,30,34,35,43}. 셋째는 연구모델 자체의 편견이 관여했을 가능성이 있다. 이를 극복하기 위해서는 충분한 증례의 확보와 적절한 대조군의 선정이 필요하다. 본 연구에서는 비교적 충분한 수의 증례를 대상으로 각 변수에 따른 대조군의 수를 비교적 적절하게 선정하였다고 생각한다. 결국 이와 같이 다양한 측면에 대한 고찰과 연구 결과의 축적이 향후 종양의 전이를 설명하는데 있어 기초가 되는 두말할 필요 없는 전제조건이다.

nm23의 역할이 종양의 발생, 성장 및 침윤, 전이의 어느 단계에서 기능을 할 것인가에 대한 해답은 아직 없다. 단지, 전이 단계에 관계된 역할을 하는 것은 분명하므로 종양 성장의 말기, 즉 전이 초기에 관여할 것이라는 추측이 거론되고 있다²⁶. 본 연구 결과와 1989년 Bevilacqua 등의 결과⁴와는 상당히 유사하며, 비록 통계적인 유의성은 없더라도 종양의 분화 정도, 에스트로겐 수용체의 유무와 nm23 발현이 어느 정도 비례하는 경향을 보인 점은 종양의 발생 초기에도 어느 정도 관여할 가능성을 제시하는 결과로 추측할 수 있다. 즉, 종양의 분화라는 것이 종양의 진행 또는 단일 클론의 증식으로 해석되어진다는 점을 고려하면, 이러한 변화가 종양이 발생한 후 성장 및 침윤이 일어나기까지의 중간 단계에서

일어날 가능성이 있고, 이 때문에 연구 결과에 따라서는 종양의 분화^{4,22,23,30,32}, 증식 분획^{22,23}, 침윤^{9,24} 등과 연관이 있을 수 있다. nm23 유전자는 초파리나 원생동물의 awd 유전자와 71~78%의 상동성을 갖고 있으며, 이들 생물체에서 awd 유전자/단백의 역할이 개체의 성장 및 조절에 관여하며, 일부에서는 조직의 괴사와 비정상 형태 유발에 관여하는 것으로 알려져 있다^{44~46}. 따라서 이 모든 성질들이 인체 암 발생과 성장에 있어서도 어느 정도의 유사성을 보여주는 것으로 사료된다.

암 환자의 예후, 즉 재발과 생존율과 예후 인자들과의 관계는 이미 알려진 바와 같이 여러 변수들이 복합되어 나타나고, 본 연구에서 사망 환자가 6명으로 적었기 때문에, 비록 nm23의 발현이 직접적인 관계를 보이지 않았다 할지라도 관련성을 부정하기는 곤란할 것이다. 여하튼 유방암 환자에서 림프절 전이와 재발이 환자의 예후에서 중요한 요소임을 고려하면, nm23의 발현이 림프절 전이와 보인 연관 관계는 림프절 전이가 없는 유방암 환자의 예후를 예측할 때 중요한 변수로 작용할 가능성이 있다고 판단된다.

결 론

우리나라의 유방암 91예를 대상으로 하여 nm23 단백질의 발현과 환자의 예후와의 관계, 그리고 다른 임상적, 병리학적 특성들과의 관계를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) nm23 단백질의 발현은 원발성 유방암 91예 중 82예(90.1%)에서 관찰되었고, 그 표현 양상은 I군이 43예(47.25%), II군이 39예(42.86%)이었다.

2) nm23 단백질의 발현 양상은 겨드랑 림프절 전이가 없거나 적은 경우 II군이 많았고, 림프절 전이가 많을수록 I군이 많았다($p < 0.005$). 한편, 분화가 좋을수록, 그리고 에스트로겐 수용체 양성일수록 II군이 많은 경향을 보였다.

3) nm23 단백질의 발현과 종양의 재발 및 환자의 예후와는 직접적인 관계가 없었다.

이상의 결과를 바탕으로 종양세포에서의 nm23 단백질 발현이 유방암에서 림프절 전이와 연관이 있음을 알 수 있었다. 그리고, 본 연구 결과와 문헌 고찰을 통하여 nm23 유전자/단백이 종양이 발생한 후 클론 성장을 하는 초기 단계와 전이를 시작하는 단계에서 중요한 변수로 작용할 가능성을 제시하였다.

참 고 문 헌

- Henderson C. Breast cancer. In: Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Martin JB, Fauci AS, Root RK, eds. Harrison's principles of internal medicine, 12th ed. New York: McGraw-Hill, Inc., 1991: 1612-21.
- Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, Thorgeirsson UP, Talmadge JE, Liotta LA, Sobel ME. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 200-4.
- Steeg PS, Bevilacqua G, Pozzatti R, Liotta LA, Sobel ME. Altered expression of nm23, a gene associated low tumor metastatic potential, during adenovirus 2 Ela inhibition of experimental metastasis. *Cancer Res* 1988; 48: 6550-4.
- Bevilacqua G, Sobel ME, Liotta LA, Steeg PS. Association of low nm23 RNA levels in human primary infiltrating ductal breast carcinomas with lymph node involvement and other histopathological indicators of high metastatic potential. *Cancer Res* 1989; 49: 5185-90.
- Barnes R, Masood S, Barker E, Rosengard AM, Coggin DL, Crowell T, King CR, Porter-Jordan K, Wargotz ES, Liotta LA, Steeg PS. Low nm23 protein expression in infiltrating ductal breast carcinomas correlated with reduced patient survival. *Am J Pathol* 1991; 139: 245-50.
- Hirayama R, Sawai S, Takagi Y, Mishima Y, Kimura N, Shimada N, Esaki Y, Kurashima C, Utsuyama M, Hirokawa K. Positive relationship between expression of anti-metastatic factor(nm23 gene product or nucleoside diphosphate kinase) and good prognosis in human breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 1249-50.
- Royds JA, Stephenson TJ, Rees RC, Shorthouse AJ, Silcocks PB. Nm23 protein expression in ductal in situ and invasive human breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 727-31.
- Yamashita H, Kobayashi S, Iwase H, Itoh Y, Kuzushima T, Iwata H, Itoh K, Naito A, Yamashita T, Masaoka A, Kimura N. Analysis of oncogenes and tumor suppressor genes in human breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 1993; 84: 871-8.
- Simpson JF, O'Malley F, Dupont WD, Page DL. Heterogeneous expression of nm23 gene product in noninvasive breast carcinoma. *Cancer* 1994; 73:

- 2352-8.
10. Varesco L, Caligon MA, Simi P, Black DM, Nardini V, Casarino L. The nm23 gene maps to human chromosome band 17q22 and shows a restriction fragment length polymorphism with Bgl II. *Genes Chromo Cancer* 1992; 4: 84-8.
 11. Stephenson TJ, Royds JA, Bleehe SS, Silcocks PB, Rees RC. 'Anti-metastatic' nm23 gene product expression in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma.(abstract) *Dermatology* 1993; 187: 95-9.
 12. Dooley S, Seib T, Engel M, Theisinger B, Janz H, Piontek K, Zang KD, Welter C. Isolation and characterization of the human genomic locus coding for the putative metastasis control gene nm23-H1. *Hum Genet* 1994; 93: 63-6.
 13. Gilles AM, Presecan E, Vonica A, Lascu I. Nucleoside diphosphate kinase from human erythrocytes: structural characterization of the two polypeptide chains responsible for heterogeneity of the hexameric enzymes. *J Biol Chem* 1991; 266: 8784-9.
 14. Stahl JA, Leone A, Rosengard AM, Porter L, King CR, Steeg PS. Identification of a second human nm23 gene, nm23-H2. *Cancer Res* 1991; 51: 445-9.
 15. Kimura N, Shimada M. Membrane-associated nucleoside diphosphate kinase from rat liver. Purification, characterization, and comparison with cytosolic enzyme. *J Biol Chem* 1988; 263: 4647-53.
 16. Liotta LA, Steeg PS. Clues to the function of Nm23 and Awd proteins in development, signal transduction, and tumor metastasis provided by studies of *Dictyostelium discoideum*. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1170-72.
 17. Kimura N, Shimada N, Nomura K, Watanabe K. Isolation and characterization of a cDNA clone encoding rat nucleoside diphosphate kinase. *J Biol Chem* 1990; 265: 15744-9.
 18. Foulkes WD, Black DM, Stamp GW, Solomon E, Trowsdale J. Very frequent loss of heterozygosity throughout chromosome 17 in sporadic ovarian carcinoma. *Int J Cancer* 1993; 54: 220-5.
 19. Mandai M, Konishi I, Koshiyama M, Mori T, Arai S, Tashiro H, Okamura H, Nomura H, Hiai H, Fukumoto M. Expression of metastasis-related nm23-H1 and nm23-H2 genes in ovarian carcinomas. Correlation with clinicopathology, EGFR, c-erbB-2, and c-erbB-3 genes, and sex steroid receptor expression. *Cancer Res* 1994; 54: 1825-30.
 20. Konishi N, Nakaoka S, Tsuzuki T, Matsumoto K, Kitahori Y, Hiasa Y, Urano T, Shiku H. Expression of nm23-H1 and nm23-H2 proteins in prostate carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1993; 84: 1050-4.
 21. Brewster SF, Browne S, Brown KW. Somatic allelic loss at the DCC, APC, nm23-H1 and p53 tumor suppressor gene loci in human prostatic carcinoma. *J Urol* 1994; 151: 1073-7.
 22. Igawa M, Rukstalis DB, Tanabe T, Chodak GW. High levels of nm23 expression are related to cell proliferation in human prostate cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 1313-8.
 23. Nakamori S, Ishikawa O, Ohigashi H, Imaoka S, Sasaki Y, Kaneyama M, Kabuto T, Furukawa H, Iwanakga T, Kimura N. clinicopathological features and prognostic significance of nucleoside diphosphate kinase/nm23 gene product in human pancreatic exocrine neoplasm. *Int J Pancreatol* 1993; 14: 125-33.
 24. Kodera Y, Isobe K, Yamauchi M, Kondoh K, Kimura N, Akiyama S, Itoh K, Nakashima I, Takagi H. Expression of nm23 H-1 RNA levels in human gastric cancer tissues. A negative correlation with nodal metastasis. *Cancer* 1994; 73: 259-65.
 25. Leone A, McBride OW, Weston A, Wang MG, Anglard P, Cropp CS, Goepel JR, Lidereau R, Callahan R, Linehan WM, Rees RC, Harris CC, Liotta LA, Steeg PS. Somatic allelic deletion of nm23 in human cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 2490-3.
 26. Cohn KH, Wang FS, Desoto-LaPaix F, Solomon WB, Patterson LG, Arnold MR, Weimar J, Feldman JG, Levy AT, Leone A, Steeg PS. Association of nm23-H1 allelic deletions with distant metastases in colorectal carcinoma. *Lancet* 1991; 338: 722-4.
 27. Myeroff LL, Markowitz SD. Increased nm23-H1 and nm23-H2 messenger RNA expression and absence of mutations in colon carcinomas of low and high metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 147-52.
 28. Yamaguchi A, Urano T, Fushida S, Furukawa K, Nishimura G, Yonemura Y, Miyazaki I, Nakagawara G, Shiku H. Inverse association of nm23-H1 expression by colorectal cancer with liver metastasis. *Br J Cancer* 1993; 68: 1020-4.
 29. Bafico A, Varesco L, De Benedetti L, Caligo MA, Gismondi V, Sciallero S, Aste H, Ferrara GB, Bevilacqua G. Genomic PCR-SSCP analysis of the metastasis associated NM23-H1(NME1) gene. A study on colorectal cancer.(abstract) *Anticancer Res* 1993; 13: 2149-54.
 30. Engel M, Theisinger B, Seib T, Seitz G, Huwer H, Zang KD, Welter C, Dooley S. High levels of

- nm23-H1 and nm23-H2 messenger RNA in human squamous cell lung carcinoma are associated with poor differentiation and advanced tumor stages. *Int J Cancer* 1993; 55: 375-9.
31. Arai T, Watanabe M, Onodera M, Yamashita T, Masunaga A, Itoyama S, Itoh K, Sugawara I. Reduced nm 23-H1 messenger RNA expression in metastatic lymph nodes from patients with papillary carcinoma of the thyroid. *Am J Pathol* 1993; 142: 1938-44.
 32. Zou M, Shi Y, al Sedairy S, Farid NR. High levels of Nm23 gene expression in advanced stage of thyroid carcinomas. *Br J Cancer* 1993; 68: 385-8.
 33. Farley DR, Eberhardt NL, Grant CS, Schaid DJ, van Heerden JA, Hay ID, Khosla S. Expression of a potential metastasis suppressor gene (nm23) in thyroid neoplasms. (abstract) *World J Surg* 1993; 17: 615-21.
 34. Nakayama T, Ohtsuru A, Nakao K, Shima M, Nakata K, Watanabe K, Ishii N, Kimura N, Nagataki S. Expression in human hepatocellular carcinoma of nucleoside diphosphate kinase. A homologue of the nm23 gene product. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1349-54.
 35. Yamaguchi A, Urano T, Goi T, Takeuchi K, Niimoto S, Nakagawara G, Furukawa K, Shiku H. Expression of human nm23-H1 and nm23-H2 proteins in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1994; 73: 2280-4.
 36. Kim JE, Song SY, Chi JG, Han SH, Choe KJ. Prognosis of breast carcinoma. Clinicopathologic and immunohistochemical study.(in preparation)
 37. Elston CW. Grading of invasive carcinoma of the breast. In: Page DL, Avderson TJ. *Diagnostic histopathology of the breast*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1987: 300-11.
 38. 김우호, 송상용, 최기영, 김용일, 김진복. 위암종에서 표피성장인자수용체의 발현과 환자의 예후와의 관계에 대한 연구. *대한암학회지* 1993; 25: 78-84.
 39. Steeg PS. Search for metastasis suppressor genes (abstract) *Invasion Metastasis* 1989; 9: 351-9.
 40. Sastre-Garau X, Ovtracht L, Lascu I, Lacombe ML, Veron M, Bourdache K, Thiery JP. Ultrastructural immunohistochemical localization of diphosphate kinase/Nm23 in human cancer cells.(abstract) *Bull Cancer Paris* 1992; 79: 465-70.
 41. Stephenson TJ, Royds JA, Bleehen SS, Silcocks PB, Rees RC. 'Anti-metastatic' nm23 gene product expression in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. *Dermatology* 1993; 187: 95-9.
 42. Steeg PS, de la Rosa A, Flatow U, MacDonald NJ, Benedict M, Leone A. Nm23 and breast cancer metastasis.(abstract *Breast Cancer Res Treat* 1993; 25: 175-87.
 43. Nakamori S, Ishikawa O, Ohhigashi H, Kameyama M, Furukawa H, Sasaki Y, Inaji H, Higashiyama M, Imaoka S, Iwanaga T. Expression of nucleoside diphosphate kinase/nm23 gene product in human pancreatic cancer. An association with lymph node metastasis and tumor invasion.(abstract) *Clin Exp Metastasis* 1993; 11: 151-8.
 44. Biggs J, Hersperger E, Steeg PS, Liotta LA, Shearn A. A Drosophila gene that is homologous to a mammalian gene associated with tumor metastasis codes for a nucleoside diphosphate kinase. *Cell* 1990; 63: 933-40.
 45. Wallet V, Mutzel R, Troll H, Barzu O, Wurster B, Veron M, Lacombe ML. Dictyostelium nucleoside diphosphate kinase highly homologous to Nm23 and Awd proteins involved in mammalian tumor metastasis and Drosophila development. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1199-202.
 46. Rosengard AM, Krutzsch HC, Shearn A, Biggs JR, Barker E, Margulies IM, King CR, Liotta LA, Steeg PS. Reduced Nm23/Awd protein in tumor metastasis and aberrant Drosophila development. *Nature* 1989; 342: 177-80.
-