

## 유방암에서 p53 및 c-erbB-2의 발현

영남대학교 의과대학 병리학교실 및 외과학교실\*

이은희 · 김동석 · 이태숙 · 이수정\*

### Expression of p53 Protein and c-erbB-2 Oncoprotein in Breast Carcinoma

Eun Hee Lee, M.D., Dong Sug Kim, M.D., Tae Sook Lee, M.D.  
and Soo Jung Lee, M.D.\*

Department of Pathology and General Surgery\*, Yeungnam University College of Medicine

This study was conducted to evaluate the expression of p53 and c-erbB-2 using immunohistochemical methods in 145 primary breast carcinomas and to correlate it with other histopathological prognostic factors. Invasive ductal carcinoma represented 129 of the cases. Expression of p53 protein and c-erbB-2 oncoprotein was present in 48% (62/129) and 30% (39/129) of invasive ductal carcinomas, respectively. The expression of p53 protein was strongly associated with a high score of degree of differentiation ( $p < 0.05$ ), nuclear pleomorphism ( $p < 0.05$ ), mitotic index ( $p < 0.05$ ), SBR grade ( $p < 0.05$ ) and MSBR grade ( $p < 0.05$ ), but it was not associated with patient's age, size of tumor or axillary node metastasis. The overexpression of c-erbB-2 oncoprotein was strongly associated with a high score of nuclear pleomorphism and a high SBR grade ( $p < 0.05$ ), but not associated with patient's age, size of tumor, axillary node metastasis, degree of differentiation, mitotic index or MSBR grade. An inverse relationship between the expression of p53 protein and estrogen receptor status was found, but the expression of c-erbB-2 was not associated with estrogen receptor status.

It is concluded that p53 protein and c-erbB-2 oncoprotein are important prognostic factors in breast cancers, and that the aberrant expression of p53 protein is the most useful prognostic factor because of strong association of known histopathological prognostic factors and negative estrogen receptor status. (*Korean J Pathol* 1995; 29: 596~606)

**Key Words:** p53, c-erbB-2, Immunostaining, Breast Carcinoma, Prognosis

### 서 론

최근 인체의 종양발생에 관여하는 유전자와 그 대

사산물에 대한 연구가 많이 되어 있다. 종양발생과 관련된 유전자에는 종양유전자와 종양억제유전자가 있으며 종양은 종양유전자의 증폭이나 활성화 또는 종양억제유전자의 비활성화에 의해서 발생할 수 있다. 종양억제유전자중 p53 유전자는 인체의 종양에서 가장 흔한 유전자 변성을 보인다<sup>1,2</sup>. p53 유전자는 17 번 염색체 단완에 위치하며 정상적으로 세포증식을 조절한다<sup>2</sup>. p53 유전자의 산물인 p53 단백질은 53

접 수: 1994년 12월 6일, 게재승인: 1995년 4월 14일  
주 소: 대구시 남구 대명동 317-1, 우편번호 705-035  
영남대학교 의과대학 병리학교실, 이은희

kD의 분자량을 갖고 있으며 DNA virus인 SV40 virus의 large T 항원과 복합체를 형성함으로써 처음 알려진 핵인단백이다<sup>3</sup>. p53 유전자의 돌연변이나 allelic loss가 발생한 세포는 정상적인 세포증식 조절 기능이 부분적으로만 작용하므로 그 세포에 선택적 성장혜택을 주게 되고 이러한 세포들의 클론성 확대에 의해 종양이 형성된다<sup>2,4,5</sup>. p53 단백질에는 정상적으로 존재하는 wild type과 p53 유전자의 돌연변이나 allelic loss로 인한 mutant type이 있다. Wild type의 p53 단백질은 반감기가 매우 짧아 검출될 정도로 핵내에 축적되지는 않는다<sup>6</sup>. 그러나 Mutant type의 p53 단백질은 hsp70과 결합함으로써 화학적으로 안정되어 핵내에 축적된다<sup>7,8</sup>. 그러므로 면역조직화학적 방법으로 검출된 p53 단백질은 p53 유전자의 변성을 반영할 수 있으며, p53 단백질발현은 유방암<sup>9-16</sup>, 대장암<sup>17</sup>, 폐암<sup>18</sup>, 방광암<sup>19</sup>, 간암<sup>20</sup> 및 뇌종양<sup>21</sup> 등에서 보고되어 있다. 유방암의 p53 단백질 양성율은 보고에 따라 27%에서 48%로 많은 차이를 보이고<sup>9-16</sup> p53 단백질발현은 이미 잘 알려진 예후인자인 조직학적 등급, 병기, 종양의 크기 및 음성 에스트로겐 수용체 등과 밀접한 관련성이 있으며<sup>9,11,12</sup>, Isola등<sup>11</sup>, Thor등<sup>15</sup> 및 Fridrichs등<sup>16</sup>은 p53 단백질발현이 양성이면 재발율이 높고 생존율이 낮아 예후인자로 이용될 수 있다고 하였다.

c-erbB-2 종양유전자는 17번 염색체에 위치하고 있으며 protein kinase의 활성화에 의해 세포분열을 일으키는 종양유전자 그룹에 속한다<sup>22</sup>. c-erbB-2 종양유전자는 쥐의 신경모세포종에서 처음 발견되었으며 c-erbB-2 종양유전자의 산물은 185 kD의 막단백이고 이는 epidermal growth factor receptor와 구조적으로 유사하다<sup>23</sup>. c-erbB-2 종양유전자의 증폭은 유방암, 폐암, 대장암, 방광암, 전립선암 및 피부암에서 보고된 바 있고, 특히 유방암에서 다른 장기에서보다 더 높은 비율로 관찰된다<sup>24</sup>. Slamon등<sup>25</sup>은 c-erbB-2 종양단백의 발현이 이미 잘 알려진 예후인자인 조직학적 등급, 림프절 전이 및 에스트로겐 수용체 등과 관련성이 있다고 하여 예후인자로서의 가능성을 제시하였으나, Barnes등<sup>26</sup>은 c-erbB-2 종양단백의 발현은 생존율 및 무병기간과 관련성이 없다고 하여 예후인자가 될 수 없다고 하였다. p53 단백질발현과 c-erbB-2 종양단백발현의 상호간에 대해서는 Isola등<sup>11</sup> 및 Barbareschi등<sup>14</sup>은 관련성이 있다고 하였고, Davidoff등<sup>10</sup> 및 Horak등<sup>27</sup>은 관련성이 없다고 하여 보고에 따라 차이가 있다. 유방암에서 p53 단백질 및 c-erbB-2 종양단백의 발현과 다른 병리조직학적 예후인자와의 관련성에 대해 논란의 여지가 있고 또한 무병생존율을 나타내는 예후인자로서의 가치가 정립

되지 않았으며 p53 단백질과 c-erbB-2 종양단백 상호간의 관련성에 대해 논란이 있으므로 본 연구에서는 유방암에서 면역조직화학적인 방법으로 p53 단백질과 c-erbB-2 종양단백을 관찰하고 이를 여러 병리조직학적 예후인자와 비교분석하여 그 관련성을 알아봄으로써 이들의 발현이 예후인자로 이용될 수 있는지 알아보려고 한다.

## 대상 및 방법

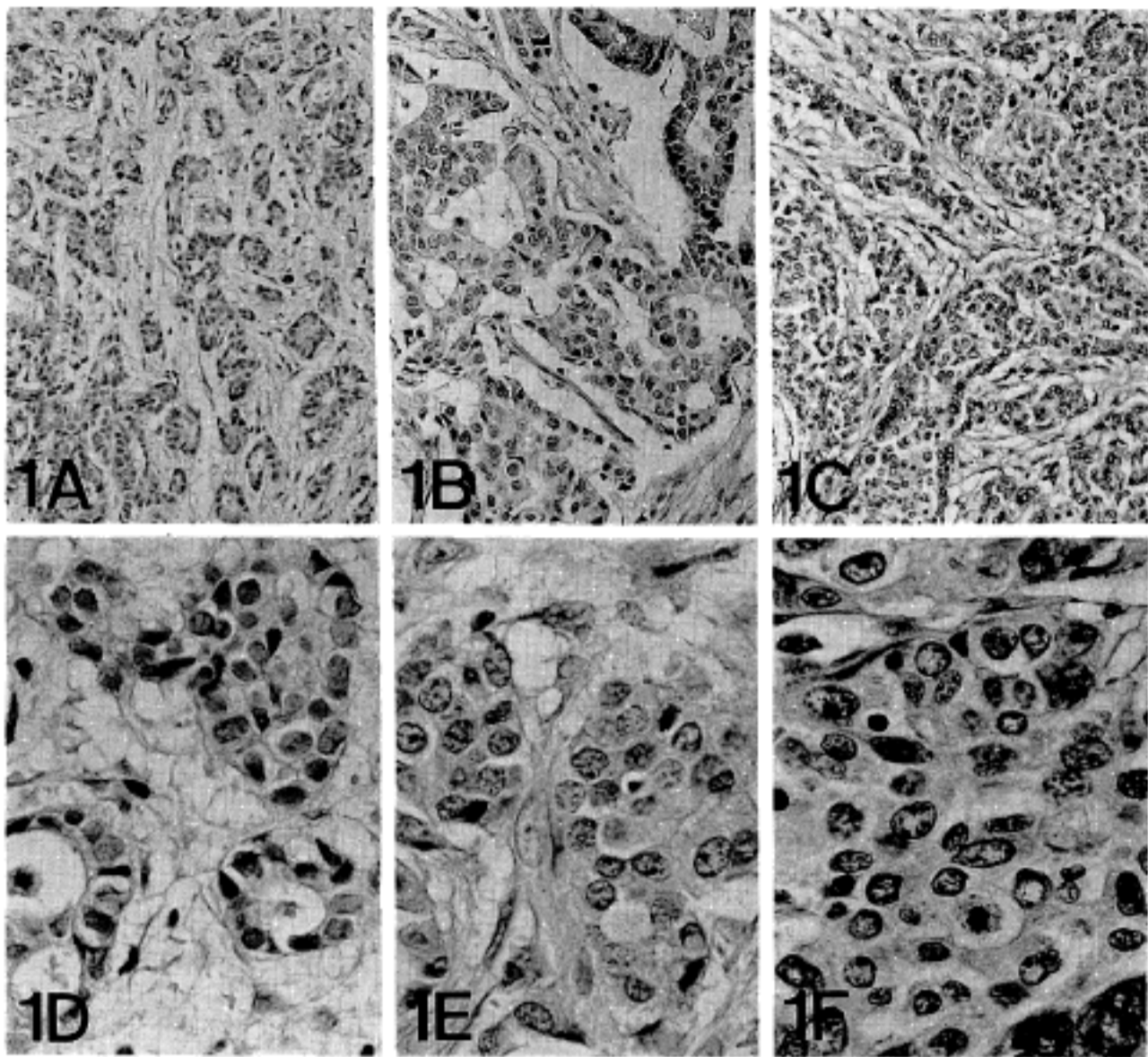
### 1. 연구대상

1987년 6월부터 1994년 7월까지 7년 2개월 동안 영남대학교 의과대학 병리학교실에서 진단된 유방암 종례 중 파라핀 블록이 온전하게 보존되어 있으며 임상기록의 검토가 가능하였던 145예를 대상으로 하였다.

### 2. 연구방법

1) 임상적소견: 임상 및 병리기록에 의존하여 환자의 나이, 종양의 크기, 림프절 전이상태 등을 기록하였다.

2) 병리조직학적 소견: 종양의 크기는 장경을 기준으로 하였으며 TNM 분류법<sup>28</sup>에 의해 2.0 cm 이하, 2.1~5.0 cm 그리고 5.0 cm 보다 큰 경우로 나누었다. 조직학적 유형은 WHO 분류법<sup>29</sup>을 따랐으며, 조직학적 등급은 Dalton등<sup>30</sup>이 사용한 modified Bloom-Richardson 등급체계에 따라 조직학적 분화도, 핵의 다형성, 유사분열지수로 나누어 등급을 매겼다. 조직학적 분화도는 종양이 소관이나 선, 유두상 모양을 만드는 경향에 따라 분류하였는데, 이러한 구조들이 종양의 75% 보다 많으면 1점, 10%에서 75% 사이이면 2점, 10% 미만이면 3점으로 하였다(Table 1, Fig. 1A-1C). 핵의 다형성은 가장 심한 곳을 기준으로 하였으며, 핵의 크기와 모양이 규칙적이고 작으며 핵염색질이 골고루 분포하면 1점, 핵의 다형성이 경하고 핵의 크기가 중간정도이며 핵인이 나타나면 2점, 핵의 크기와 모양이 다양하며 핵인이 뚜렷하거나 여러개이고, 핵염색질이 거칠면 3점으로 하였다(Table 1, Fig. 1D-1F). 유사분열지수는 유사분열이 가장 많은 곳에서 10개의 400배 시야당 유사분열수가 1~9개이면 1점, 10~19개이면 2점, 20개 이상이면 3점으로 하였다(Table 1). 전체적인 조직학적 등급은 Le Droussal등<sup>31</sup>에 의한 SBR (Scarff-Bloom-Richardson)등급에 따라 세 등급의 점수를 합한 점수가 3~5점이면 1등급, 6, 7점이면 2등급 그리고 8, 9점이면 3등급으로 하였다. 또한 조직학적 분화도를 무시하



**Fig. 1.** Degree of differentiation(A-C) and nuclear pleomorphism(D-F) in invasive ductal carcinoma.

- A) Most tumor cells are arranged in tubules.
- B) Occasional tubule formation is present.
- C) Tumor cells consist of diffuse sheets without tubule formation.
- D) The nuclei are uniform in size and shape, and small.
- E) The nuclei are somewhat pleomorphic, and have nucleoli.
- F) The nuclei are large, and have prominent nucleoli or multiple nucleoli, and have coarse chromatin patterns.

**Table 1.** Criteria for histological grading

Degree of differentiation	
Score	1: > 75% of tumor cells arranged in tubules
	2: 10~75% of tumor cells arranged in tubules
	3: < 10% of tumor cells arranged in tubules
Nuclear pleomorphism	
Score	1: cell nuclei are uniform in size and shape, relatively small, have dispersed chromatin patterns
	2: cell nuclei are somewhat pleomorphic, have nucleoli, and are of intermediate size
	3: cell nuclei are relatively large, have prominent nucleoli or multiple nucleoli, coarse chromatin patterns, and vary in size and shape
Mitotic index: locate most mitotically active areas of tumor	
Score	1: < 10 mitoses per 10 high-power fields
	2: ≥ 10, and < 20 mitoses per 10 high power-fields
	3: ≥ 20 mitoses per 10 high-power fields

고 핵의 다형성과 유사분열지수만을 합한 값으로 MSBR (modified SBR) 등급을 매겼는데, 합한 점수가 2점이면 1등급, 3점은 2등급, 4점은 3등급, 5점은 4등급 그리고 6점인 경우 5등급으로 하였다.

### 3) 면역조직화학적 염색:

가) p53 단백질; p53 단백질의 염색은 각 증례당 형태학적으로 가장 잘 보존된 블록 한 개를 선택하여 4  $\mu$ m 두께로 절편을 만들어 100% xylene으로 파라핀을 제거한 후 100%, 90% 및 75% 알콜로 재수화하였다. 3% 과산화수소수를 15 분간 작용시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척한 다음 0.21% citric acid 용액에 슬라이드를 넣고 5 분간 극초단파로 처치한 후 protein blocker (Zymed, USA)를 30 분간 도포하였다. 일차항체는 NCL-DO7 (Novocastra, U.K.)을 1 : 300으로 희석하여 사용하였으며 37  $^{\circ}$ C에서 2 시간동안 부치시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척하였다. 그 후 이차항체인 Link antibody (LSAB kit, DAKO, USA)를 37  $^{\circ}$ C에서 30 분간 도포한 후 Tris 완충액으로 3회 세척하였다. Streptavidin-HRP (Zymed, USA)로 30 분간 도포한 후 Tris 완충액으로 3회 세척하였다. DAB (Diaminobenzidine tetrachloride)를 5~10 분간 도포하여 발색하였고 10% Mayer's hematoxylin으로 대조염색하였다.

나) c-erbB-2 종양단백; c-erbB-2 종양단백의 염색은 p53 단백질염색과 같은 방법으로 파라핀제거와 재수화한 후 3% 과산화수소수를 5 분간 도포하였다. Tris 완충액으로 3회 세척한 후 protein blocker를 10 분간 도포하였다. 일차항체는 NCL-CB11 (Novocastra, U.K.)을 1 : 40으로 희석하여 사용하였으며 상온에서 1 시간동안 부치시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척하였다. 그 후 Link antibody, Streptavidin-HRP, DAB의 사용 및 대조염색은 p53 단백질염색과 동일한 방법으로 시행하였다.

다) 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체; 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체의 염색은 동결된 조직을 이용하여 4  $\mu$ m 두께로 절편을 만들어 3% 과산화수소수를 5 분간 작용시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척한 다음 protein blocker (Zymed, USA)를 5 분간 도포하였다. 일차항체는 ER-IL, PGR-IL (Novocastra, U.K.)을 희석하지 않고 사용하였으며 상온에서 1 시간 동안 부치시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척하였다. 그 후 Link antibody, Streptavidin-HRP, DAB의 사용 및 대조염색은 p53 단백질염색과 동일한 방법으로 시행하였다.

4) 양성판정기준: 매 염색시마다 양성대조염색을 시행하였고 일차항체를 도포하지 않은 채로 음성대

조염색을 함께 시행하였으며 p53 단백질은 종양세포의 일부분에서라도 핵이 분명히 갈색으로 염색되면 양성으로 판정하였다. p53 단백질발현의 판정은 양성과 음성 두 가지로 하였으며 염색의 강도에 따른 구분은 하지 않았다. 세포질에 갈색으로 염색된 예에서는 핵에도 함께 염색된 예만을 양성으로 판정하였고 세포질에만 양성반응을 보인 예는 음성으로 판정하였다. c-erbB-2 종양단백은 세포질의 염색유무와는 상관없이 10% 이상의 종양세포에서 세포막에 진한 갈색으로 염색되면 양성으로 판정하였다.

5) 자료분석: p53 단백질 및 c-erbB-2 종양단백의 발현과 병리조직학적 예후인자와의 관련성은 SPSS/PC+ 프로그램을 이용하여  $\chi^2$ -test로 검정하였으며 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

## 성 적

유방암 145 예의 WHO 분류법<sup>29)</sup>에 따른 조직학적 유형을 보면 침윤성 관상피암종 129예(89%), 수질성 암종 5예(3%), 화생성암종 3예(2%), 침윤성 소엽암종 3예(2%), 점액성암종 2예(1%), 관내유두암종 1예(1%), 분비성암종 1예(1%) 그리고 침윤성 체양암종 1예(1%)였다(Table 2). 이중 침윤성 관상피암종으로 진단된 129 예의 평균연령은 47세였다. 침윤성 관상피암종의 육안적 크기는 0.8 cm에서 10 cm이었고 2 cm 이하가 50예, 2~5 cm이 65예였으며 5 cm 이상이 14예였다. 림프절 전이는 없는 경우와 있는 경우가 각각 64예였으며 1예에서는 림프절 박리를 시행하지 않았다. 전이된 림프절 수는 1~3 개가 24예, 4~9개가 20예, 10개 이상이 20예였다(Table 3). 조직학적 분화도는 1, 2, 3점이 각각 12, 25, 92예였고 핵의 다형성은 1, 2, 3점이 각각 2, 47, 80예였으며 유사분열지수는 1, 2, 3점이 각각 53, 36, 40예였다.

Table 2. Histological types of 145 breast carcinomas

Histological type	No.(%)
Invasive ductal carcinoma	129(89)
Medullary carcinoma	5(3)
Metaplastic carcinoma	3(2)
Invasive lobular carcinoma	3(2)
Mucinous carcinoma	2(2)
Papillary carcinoma	1(1)
Secretory carcinoma	1(1)
Invasive cribriform carcinoma	1(1)

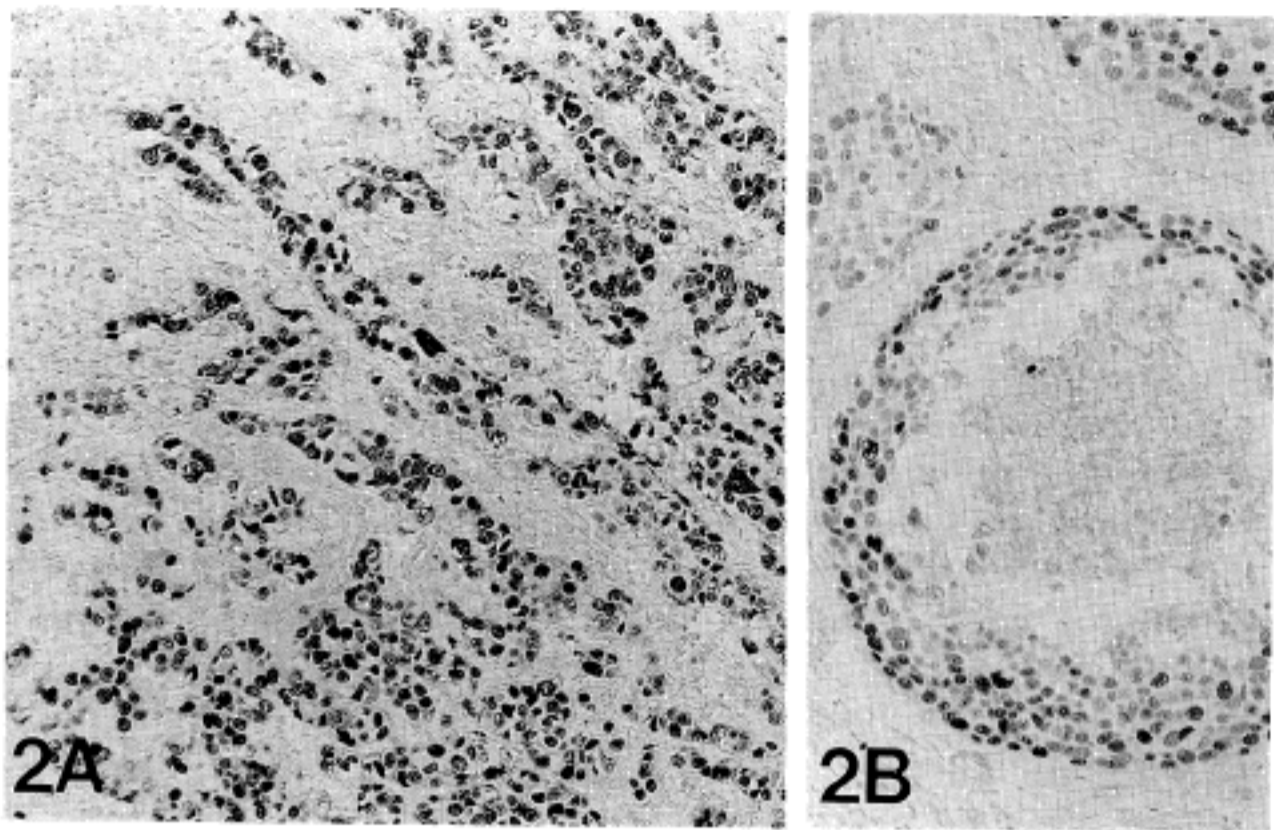


Fig. 2. p53 protein immunostaining. Intense nuclear staining in the area of invasive ductal carcinoma(A) and ductal carcinoma in situ(B)(ABC method).

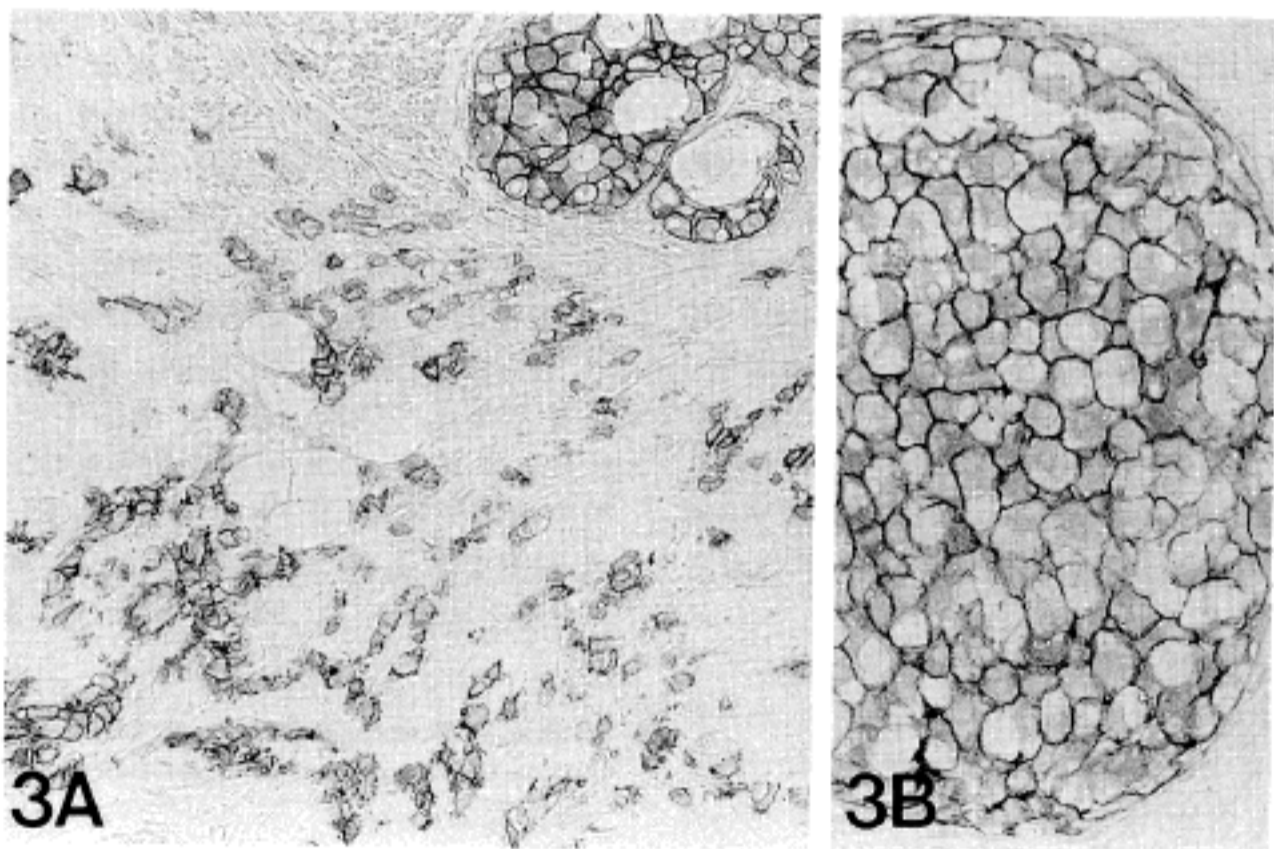


Fig. 3. c-erbB-2 oncoprotein immunostaining. Diffuse membranous staining in the area of invasive ductal carcinoma(A) and ductal carcinoma in situ(B)(ABC method).

SBR 등급은 1, 2, 3등급이 각각 16, 60, 53에였고, MSBR 등급은 1, 2, 3, 4, 5등급이 각각 2, 31, 32, 30, 34에였다(Table 4).

p53 단백질발현은 129예의 침윤성 관상피암종 중 62예(48%)에서 양성이었다고, 침윤성 암종 영역에서 뿐

아니라 그 속에 포함된 상피내암종에서도 발현되었다 (Fig. 2A-2B). 그러나 침윤성 암종 영역에서는 발현되지 않으면서 상피내암종 영역에서만 발현되는 예는 없었다. p53 단백질은 종양세포의 핵에 진한 갈색으로 발현되었으며 주위의 정상 관이나 증식된 관

**Table 3.** Comparison between p53, c-erbB-2 immunoreactivity and clinical characteristics in 129 invasive ductal carcinomas

	No.(%)	p53(%)			c-erbB-2(%)		
		(+)	(-)		(+)	(-)	
<b>Age</b>							
<30	3(2)	1(67)	2(33)		2(67)	1(33)	
30~39	27(21)	11(41)	16(59)		9(33)	18(67)	
40~49	51(40)	28(55)	23(45)		14(27)	37(73)	
50~59	33(26)	17(52)	16(48)		11(33)	22(67)	
≥60	15(12)	5(33)	10(67)	NS	3(20)	12(80)	NS
<b>Size</b>							
≤2 cm	50(39)	27(54)	23(46)		14(28)	36(72)	
2~5 cm	65(50)	31(48)	34(52)		20(31)	45(69)	
>5 cm	14(11)	4(29)	10(71)	NS	5(36)	9(64)	NS
<b>AN metastasis</b>							
(-)	64(51)	34(53)	30(47)		20(31)	44(69)	
1~3	24(19)	9(38)	15(53)		5(21)	19(79)	
4~9	20(16)	10(50)	10(50)		6(30)	14(70)	
≥10	20(16)	8(40)	12(60)	NS	7(35)	13(65)	NS

AN: axillary lymph node, NS: not significant

등에는 발현되지 않았다. 5예에서는 세포질에 발현되었는데, 이중 4예는 핵과 세포질에 함께 발현되었다. 환자의 나이, 종양의 크기 및 림프절 전이 유무와는 관련성이 없었고 (Table 3), 종양의 분화정도, 핵의 다형성 정도, 유사분열지수, SBR 등급 및 MSBR 등급 등과는 관련성이 있었다 ( $p < 0.05$ ) (Table 4).

c-erbB-2 종양단백의 발현은 129 예의 침윤성 관상피암종 중 39 예(30%)에서 양성이었다고, 침윤성 암종 영역에서 뿐 아니라 상피내암종 영역에서도 발현되었다 (Fig. 3A-3B). c-erbB-2 종양단백은 주로 종양세포의 세포막에 진한 갈색으로 발현되었으며 간혹 세포질에 연한 갈색으로 발현되기도 하였다. 몇몇 예에서는 주위의 정상 판이나 유두의 피지선에서도 발현되었으나 근상피세포나 간질세포에는 발현되지 않았다. 나이, 종양의 크기 및 림프절 전이 유무와는 관련성이 없었다 (Table 3). 병리조직학적 소견중 핵의 다형성 정도와 SBR 등급과는 관련성이 있었으나 ( $p < 0.05$ ), 조직학적 분화도, 유사분열지수 및 MSBR 등급과는 관련성이 없었다 (Table 4).

에스트로겐 및 프로게스테론 수용체는 각각 72예 (56%), 83예 (64%)에서 양성이었으며, 음성 에스트로겐 수용체만이 p53 단백질발현과 관련성이 있었고 ( $p < 0.05$ ), c-erbB-2 종양단백은 관련성이 없었다 (Table

5).

p53 단백질 양성인 경우가 음성인 경우보다 c-erbB-2 종양단백의 양성율이 높아 두 단백질 상호간에는 관련성이 있었다 ( $p < 0.05$ ) (Table 6). 두 단백질 모두 양성인 예는 25 예 (19%)였고 이중 24예 (96%)는 핵등급이 3 등급이었다.

침윤성 관상피암종 이외의 유형에서 p53 단백질은 수질성암종 2 예 (2/3)와 화생성암종 1 예 (1/3)에서만 양성이었다고, c-erbB-2 종양단백은 수질성암종 2 예 (2/5)와 화생성암종 2 예 (2/3)에서만 양성이었다. 침윤성 소엽암종, 점액성암종, 관내 유두암종, 분비성암종, 침윤성 채양암종 등에서는 p53 단백질과 c-erbB-2 종양단백 모두 음성이었다.

## 고 찰

유방암에 있어서 중요한 예후인자로는 림프절 전이유무, 종양의 크기, 조직학적 분화도 및 에스트로겐과 프로게스테론 수용체 등이 있으나, 현재 유방암의 발생 및 경과와 관련된 종양유전자와 종양억제 유전자에 대해 예후인자로서의 유용성에 대한 분자생물학적 연구가 진행중이다. 이는 림프절 전이가 없는 유방암 환자의 10 년후 재발율이 25~30%에

**Table 4.** Comparison between p53, c-erbB-2 immunoreactivity and histopathologic characteristics in 129 invasive ductal carcinomas

	No.(%)	p53(%)			c-erbB-2(%)		
		(+)	(-)		(+)	(-)	
<b>DD score</b>							
1	12( 9)	2(17)	10( 83)		2(17)	10( 83)	
2	25(19)	11(44)	14( 56)		7(28)	18( 72)	
3	92(71)	49(53)	43( 47)	p<0.05	30(33)	62( 67)	NS
<b>NP score</b>							
1	2( 1)	0( 0)	2(100)		0( 0)	2(100)	
2	47(36)	12(25)	35( 75)		8(17)	39( 83)	
3	80(62)	50(63)	30( 38)	p<0.05	31(39)	49( 61)	p<0.05
<b>MI score</b>							
1	53(41)	17(32)	36( 68)		12(23)	41( 77)	
2	36(28)	24(67)	12( 33)		14(39)	22( 61)	
3	40(31)	21(53)	19( 48)	p<0.05	13(33)	27( 68)	NS
<b>SBR grade</b>							
I	16(12)	1( 6)	15( 94)		2(13)	14( 88)	
II	60(47)	28(47)	32( 53)		15(25)	45( 75)	
III	53(41)	33(62)	20( 38)	p<0.05	22(42)	31( 58)	p<0.05
<b>MSBR grade</b>							
I	2( 1)	0( 0)	2(100)		0( 0)	2(100)	
II	31(24)	7(23)	24( 77)		6(19)	25( 81)	
III	32(25)	14(44)	18( 56)		7(22)	25( 78)	
IV	30(23)	23(77)	7( 23)		15(50)	15( 50)	
V	34(26)	18(53)	16( 47)	p<0.05	11(32)	23( 68)	NS

DD: degree of differentiation NP: nuclear pleomorphism MI: mitotic index NS: not significant  
 SBR: Scarff-Bloom-Richardson MSBR: modified Scarff-Bloom-Richardson

**Table 5.** Comparison between p53, c-erbB-2 positivity and ER, PR positivity in 129 invasive ductal carcinomas

	ER (%)			PR(%)		
	(+)	(-)		(+)	(-)	
<b>p53</b>						
(+)	27 (44)	35 (56)		39 (63)	23 (37)	
(-)	45 (67)	22 (33)	p<0.05	44 (66)	23 (34)	NS
<b>c-erbB-2</b>						
(+)	19 (49)	20 (51)		29 (74)	10 (26)	
(-)	53 (59)	37 (41)	NS	54 (60)	36 (40)	NS

ER: estrogen receptor, PR: progesterone receptor, NS: not significant

Table 6. Comparison between p53 and c-erbB-2 positivity

		p53		Total
		(-)	(+)	
c-erbB-2	(-)	53	37	90
	(+)	14	25	39
Total		67	62	129

이르므로 이러한 재발위험이 높은 환자들을 미리 선별하여 적절한 항암요법을 적용하기 위함이다. 종양 억제 유전자에는 RB, p53 및 WT 유전자 등이 알려져 있다. 이중 p53 유전자의 돌연변이는 인체종양에서 가장 흔히 관찰되는 유전자 변형이다. 유방암에서 p53 유전자의 돌연변이로 인한 mutant type의 p53 단백을 면역조직화화학적 방법으로 검출하여 p53 단백질 발현과 다른 임상 및 병리학적 예후인자와의 관련성에 대해 많은 연구자들이 보고하였으나<sup>9-16,32)</sup> p53 단백질 양성율이 보고에 따라 27%에서 48%로 다양한 것은 사용한 항체의 종류, 극초단파 치료유무를 포함한 염색방법 및 양성판정기준 등의 차이 때문으로 생각된다. 본 연구에서는 p53 단백질 양성율이 48%로써 다른 연구보다 비교적 높았는데 이는 본 연구에서 극초단파의 전치치 등으로 조직의 항원성이 향상되었기 때문으로 생각되며 극초단파치치로 인한 파라핀 포매조직의 항원성 증가는 이미 Shi등<sup>33)</sup>에 의해 보고되어 있다. p53 단백질은 대부분 종양세포의 핵에서만 발현되었으며 4예에서는 핵과 세포질에 동시에 발현되었는데, 이는 조직의 부적절한 고정으로 인해 핵내의 p53 단백질이 세포질내로 유출되었기 때문으로 생각하였다. 침윤성 암종영역과 상피내암종영역 모두를 포함한 예에서는 두영역 모두에서 발현되어 Poller등<sup>12)</sup>, Barbareschi등<sup>14)</sup> 및 Davidoff등<sup>34)</sup>의 결과와 유사하였으며, 이는 p53 유전자 변형이 침윤성 유방암의 진행과정중 비교적 초기에서 부터 관여하는 것으로 해석할 수 있다. Poller등<sup>32)</sup>은 p53유전자 변형은 상피내암종에서 침윤성 관상피암종으로 진행되는 과정에도 관여한다고 하여, p53 유전자의 변형은 유방암 진행과정의 초기부터 시작하여 종양진행의 전과정에 관여하는 것으로 생각하고 있다. 특히 Umekida 등<sup>35)</sup>은 유방의 전암성 병변으로 이해하고 있는 비정형 상피성 증식 (atypical ductal hyperplasia)에서는 p53 단백질 발현이 음성이라고 하여 p53 유전자 변형은 양성병변에서는 일어나지 않는다고 하였으며 본 연

구에서도 종양 주위의 증식성 병변에서는 발현되지 않았다.

종양의 크기에 대해서는 Bosari등<sup>13)</sup>은 크기가 클수록 p53 단백질 양성율이 높다고 하였으나 Isola등<sup>11)</sup>, Poller등<sup>12)</sup> 및 Barbareschi등<sup>14)</sup>은 종양의 크기와 p53 단백질 발현과는 관련성이 없다고 하여 보고에 따라 차이가 있으며 본 연구에서는 p53 단백질 발현과 종양의 크기와는 관련성이 없었다. 림프절 전이에 있어서는 Davidoff등<sup>10)</sup>은 전이가 있는 예에서 p53 단백질 양성율이 높다고 하였으나 Barbareschi등<sup>14)</sup>, Thor등<sup>15)</sup> 및 Fridrichs등<sup>16)</sup>은 관련성이 없다고 하였다. 본 연구에서는 p53 단백질 발현과 림프절 전이유무와는 관련성이 없었다. 조직학적 소견에 있어서는 p53 단백질 발현이 높은 악성도, 즉, 나쁜 조직학적 분화도, 심한 핵의 다형성 및 높은 세포분열지수와 관련성이 있었으며 이는 여러 보고들과 유사하였다<sup>9-16)</sup>. 또한 나쁜 예후인자로 알려져 있는 음성 에스트로겐 수용체와 관련성이 있어 침윤성 유방암종에 있어서 p53 단백질 발현은 예후인자로서 가치있는 소견으로 생각하였다. Isola등<sup>11)</sup>과 Thor등<sup>15)</sup>은 유방암에 있어서 p53 단백질 발현은 전체생존율 및 무병기간과 관련성이 있어 예후인자로서의 가능성을 시사하였으나, 본 연구에서는 추적조사가 완벽하지 않아 생존율과의 관련성은 알 수 없었다.

c-erbB-2 종양단백의 과발현은 c-erbB-2 유전자의 증폭에 기인하며 많은 연구에서 환자의 예후와의 관련성에 대해 보고하였다. c-erbB-2 종양단백의 과발현은 나쁜 예후인자로 알려진 높은 조직학적 등급과 관련성이 있으며<sup>36-39)</sup>, 음성 에스트로겐 수용체와도 밀접한 관련성이 있고<sup>40)</sup>, Slamon등<sup>25)</sup>, Berger등<sup>36)</sup> 및 McGuire등<sup>41)</sup>은 c-erbB-2 종양단백의 과발현이 높은 재발을 및 짧은 생존율과 관련성이 있다고 하여 예후인자로 사용될 수 있다고 하였다. 그러나 McGuire 등<sup>41)</sup>은 c-erbB-2 종양단백이 재발 및 생존율과는 관계가 없다고 하여 보고에 따라 차이가 있다. 본 연구에서는 조직학적 소견중 핵의 다형성과 높은 SBR 등급과 관련성이 있었고 이는 Berger등<sup>36)</sup>, Paik등<sup>37)</sup>, 황등<sup>38)</sup> 및 박등<sup>39)</sup>의 결과와 유사하였으며, 음성 에스트로겐과는 관련성이 없어 Wright 등<sup>40)</sup>과는 상반된 결과를 보였다. Slamon등<sup>25,42)</sup>은 림프절 전이 양성인 환자에 있어서 c-erbB-2 종양단백 양성일 경우 나쁜 예후를 보인다고 하였고, Paik등<sup>37)</sup> 및 McGuire등<sup>41)</sup>은 림프절 전이 음성일 경우 나쁜 예후를 보인다고 하였으나, Singleton과 Strickler<sup>43)</sup>는 림프절 전이의 유무에 관계없이 나쁜 예후를 보인다고 하여 보고에 따라 차이가 많아 환자의 예후를 추정하는데 있어서



림프절 전이의 유무에 관한 한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각하였다. 국내의 경우 유방암에 있어서의 c-erbB-2 종양단백의 과발현에 대해서는 몇몇 보고가 있는데<sup>38,39,44,45</sup>, 황등<sup>38</sup>과 김등<sup>45</sup>은 림프절의 전이유무와 관련성이 있다고 하였으나 박등<sup>39</sup>과 김등<sup>44</sup>은 관련성이 없다고 하여 국내에서도 보고에 따라 차이가 있었다. 본 연구에서는 림프절의 전이유무와 c-erbB-2 종양단백과는 관련성이 없었다. c-erbB-2 종양단백의 양성율은 보고에 따라 9%에서 58%로서, 심한 차이를 보이는데<sup>12,14,26,37-40,44,45</sup> 이것은 각 보고들간에 조직의 고정방법, 고정기간, 사용된 일차항체의 종류, 염색방법 및 양성판정기준 등의 차이 때문으로 생각하였다. 양성판정기준에 있어서는 일정한 기준이 없기 때문에 보고에 따라 심한 차이를 보이는 것으로 생각되는데, 1개의 종양세포만 염색되어도 양성으로 판정하는 보고에서부터 50%이상의 종양세포가 염색되어야 양성으로 판정하는 보고까지 다양하다<sup>38</sup>. 본 연구에서는 세포질의 염색에는 상관없이 10%이상의 종양세포에서 분명히 세포막에 갈색으로 염색되면 양성으로 판정하였으며 실제로 10%이하의 세포에서만 염색되는 예는 3 예였고, 침윤성 관상피암종의 30%에서 양성반응을 보여 다른 보고들과 유사하였다.

조직학적 소견중에서는 핵등급이 p53 단백질 및 c-erbB-2 종양단백 모두와 관련성이 있어 예후인자로서 가장 중요한 조직학적 소견으로 생각하였다.

p53 단백질과 c-erbB-2 종양단백의 상호간의 관련성에 대해서는 Isola등<sup>11</sup>, Poller등<sup>12</sup> 및 Barbareschi등<sup>14</sup>은 관련성이 있다고 하였으나 Davidoff등<sup>10</sup>은 관련성이 없다고 하여 p53 단백질과 c-erbB-2 종양단백간의 의존성에 대해서도 논란이 많다. 본 연구에서는 두 단백질간에 관련성이 있어 종양의 진행과정에 있어 서로 의존적으로 작용할 것으로 생각하였으며, Barbareschi등<sup>14</sup>은 double immunostaining을 이용하여 p53 단백질과 c-erbB-2 종양단백이 동일세포에서 발현하였음을 강조하면서 둘다 양성인 예는 p53 단백질의 세포증식 조절기능을 잃으면서 c-erbB-2 유전자가 증폭되었기 때문으로 해석하였고, 이는 p53 유전자의 돌연변이로 인해 다른 유전자가 증폭될 수 있다는 이론<sup>46,47</sup>에 부합한다고 생각하였다. 한편 Dati등<sup>48</sup>에 의하면 둘 이상의 종양단백을 발현하면 더 나쁜 예후를 보인다고 한다. 본 연구에서는 두 단백질 모두 양성인 25 예중 24 예의 핵등급이 3 등급이어서 나쁜 예후를 보일 것으로 추정할 수도 있겠으나, 두 단백질 모두 양성인 경우 나쁜 예후와의 관련성을 알기 위해서는 철저한 추적조사가 뒷받침되어야 할 것으로 생각하였다.

결론적으로 p53 단백질 및 c-erbB-2 종양단백은 유방의 침윤성 관상피암종에서 예후를 나타내는 유효한 인자가 될 수 있을 것으로 생각되며 특히 p53 단백질은 이미 알려진 나쁜 조직학적 예후인자 및 음성 에스트로겐과 밀접한 관련성이 있어 가장 중요한 예후인자가 된다고 생각하였다.

## 요 약

1987년 6월부터 1994년 7월까지 7년 2개월동안 영남대학교 의과대학 병리학교실에서 진단된 유방암 145 예를 대상으로 하여 면역조직화학적 방법을 이용하여 p53 단백질 및 c-erbB-2 종양단백을 발현시켜 이미 알려진 조직학적 예후인자와의 관련성을 분석하였다. 145예중 침윤성 관상피암종이 129예(89%)였다. 침윤성 관상피암종 129예에서의 p53 단백질, c-erbB-2 종양단백의 양성율은 각각 48% 및 30%였다. p53 단백질의 발현은 조직학적 분화도( $p < 0.05$ ), 심한 핵의 다형성( $p < 0.05$ ), 높은 유사분열지수( $p < 0.05$ ), 높은 SBR 등급( $p < 0.05$ ) 및 높은 MSBR 등급( $p < 0.05$ )과 관련성이 있었으나 나이, 종양의 크기, 림프절 전이유무와는 관련성이 없었다. c-erbB-2 종양단백은 심한 핵의 다형성( $p < 0.05$ )과 높은 SBR 등급( $p < 0.05$ )과만 관련성이 있었다. p53 단백질발현은 음성 에스트로겐과 관련성이 있었다. p53 단백질과 c-erbB-2 종양단백 상호간에는 관련성이 있었다.

결론적으로 p53 단백질 및 c-erbB-2 종양단백은 유방의 침윤성 관상피암종에서 예후인자가 될 수 있을 것으로 생각되며, 특히 p53 단백질은 이미 알려진 조직학적 예후인자 및 음성 에스트로겐과 밀접한 관련성이 있어 가장 중요한 예후인자가 된다고 생각하였다.

## 참 고 문 헌

- Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
- Chang F, Syrjänen S, Tervahauta A, Syrjänen K. Tumorigenesis associated with the p53 tumor suppressor gene. *Br J Cancer* 1993; 68: 653-61.
- Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 1979; 278: 261-3.
- Vogelstein B, Kinzler KW. p53 function and dysfunction. *Cell* 1992; 70: 523-6.
- Sidransky D, Milckelsen T, Schwechheimer K. Clonal

- expansion of p53 mutant cells is associated with brain tumor progression. *Nature* 1992; 355: 846-7.
6. Reich NC, Levine AJ. Growth regulation of a cellular tumor antigen, p53, in transformed cells. *Nature* 1984; 308: 199-201.
  7. Finlay CA, Hinds PW, Tan TH, Eliyahu D, Oren M, Levine AJ. Activating mutations for transformation by p53 produce a gene product that forms an hsc70-p53 complex with an altered half-life. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 531-9.
  8. Lehman TA, Bennett WP, Metcalf RA, et al. p53 mutations, ras mutations, and p53-heat shock 70 protein complexes in human lung carcinoma cell lines. *Cancer Res* 1991; 51: 4090-6.
  9. Ostrowski JL, Sawan A, Henry L, et al. p53 expression in human breast cancer related to survival and prognostic factors: an immunohistochemical study. *J Pathol* 1991; 164: 75-81.
  10. Davidoff AM, Herndon JE, Glover NS, et al. Relation between p53 overexpression and established prognostic factors in breast cancer. *Surgery* 1991; 110: 259-64.
  11. Isola J, Visacorpi T, Holli K, Kallioniemi O. Association of overexpression of tumor suppressor protein p53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1109-14.
  12. Poller DN, Hutchings CE, Galea M, et al. p53 protein expression in human breast carcinoma: relationship to epidermal growth factor receptor, c-erbB-2 protein overexpression, and oestrogen receptor. *Br J Cancer* 1992; 66: 583-8.
  13. Bosari S, Lee AKC, Viale G, Heatley GJ, Coggi G: Abnormal p53 immunoreactivity and prognosis in node-negative breast carcinomas with long-term follow-up. *Virchows Archiv A Pathol Anat Histopathol* 1992; 421: 291-5.
  14. Barbareschi M, Leonardi E, Mauri FA, Serio G, Palma PD: p53 and c-erbB-2 protein expression in breast carcinomas. *Am J Clin Pathol* 1992; 98: 408-18.
  15. Thor AD, Moore DH, Edgerton SM, et al. Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: An independent marker of prognosis in breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 845-55.
  16. Fridrichs K, Gluba S, Editmann H, Jonat W. Overexpression of p53 and prognosis in breast cancer. *Cancer* 1993; 72: 3641-7.
  17. Baker SJ, Markowitz S, Fearon ER, Willson JKV, Vogelstein B. Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild-type p53. *Science* 1990; 249: 912-5.
  18. Chiba I, Takahashi T, Nau MM, et al. Mutations in the p53 gene are frequent in primary, resected non-small cell lung cancer. *Oncogene* 1990; 5: 1603-10.
  19. Chen PL, Chen YM, Bookstein R, Lee WH. Genetic mechanisms of tumor suppression by the human p53 gene. *Science* 1990; 250: 1576-80.
  20. Irene OL, Srivastava G, Chung LP, Tsang SWY, Matthew MT. Overexpression and point mutations of p53 tumor suppressor gene in hepatocellular carcinomas in Hongkong chinese people. *Cancer* 1994; 74: 30-7.
  21. Newcomb EW, Madonia WJ, Pisharody S, Lang FF, Koslow M, Miller DC. A correlative study of p53 protein alteration and p53 gene mutation in glioblastoma multiforme. *Brain Pathol* 1993; 3: 229-35.
  22. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, Toyoshima K, Yamamoto T. The product of human c-erbB-2 gene: A 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science* 1986; 232: 1644-6.
  23. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985; 230: 1132-9.
  24. McCann A, Dervan PA, Johnston PA, Gullick WJ, Carney DN. c-erbB-2 oncoprotein expression in primary human tumors. *Cancer* 1990; 65: 88-92.
  25. 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: 177-181.
  26. Barnes DM, Lammie GA, Millis RR, Gullick WL, Allen DS, Altman DG. An immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 expression in human breast carcinoma. *Br J Cancer* 1988; 58: 448-52.
  27. Horak E, Smith K, Bromley L, et al. Mutant p53, EGF receptor and c-erbB-2 expression in human breast cancer. *Oncogene* 1991; 6: 2277-84.
  28. American joint committee on cancer. Manual for staging of cancer. Philadelphia: JB Lippincott. 1992, pp 152.
  29. The World Health Organization. The world health organization histological typing of breast tumors-second edition. *Am J Clin Pathol* 1982; 78: 806-16.
  30. Dalton LW, Page DL, Dupont WD. Histologic grading of breast carcinoma: A reproducibility study. *Cancer* 1994; 73: 2765-70.
  31. Le Droussal V, Tubiana-Hulin M, Friedman S, Hacene

- K, Spyrtos F, Brunet M. Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scarff-Bloom-Richardson (SBR): An improved score modification based on a multivariate analysis of 1262 invasive ductal breast carcinomas. *Cancer* 1989; 64: 1914-21.
32. Poller DN, Roberts EC, Bell JA, Elston CW, Blaney RW, Ellis IO. p53 expression in mammary ductal carcinoma in situ: Relationship to immunohistochemical expression of estrogen receptor and c-erbB-2 protein. *Hum Pathol* 1993; 24: 463-8.
33. Shi SR, Key ME, Kalra KL. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 1991; 39: 741-8.
34. Davidoff AM, Kerns BJM, Iglehart JD, Marks JR. Maintenance of p53 alterations throughout breast cancer progression. *Cancer Res* 1991; 51: 2605-10.
35. Umekita Y, Takasaki T, Yoshida H. Expression of p53 protein in benign epithelial hyperplasia, atypical ductal hyperplasia, non-invasive and invasive mammary carcinoma: an immunohistochemical study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1994; 424: 491-4.
36. Berger MS, Locher GW, Saurer S, Gullick WJ, Waterfield MD, Groner B. 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.
37. Paik S, Hazan R, Fisher ER, et al. 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: 103-12.
38. 황태숙, 조정자, 기명배, 허주영, 장자준. 유방암에서 c-erbB-2 종양단백의 발현에 대한 연구. *대한병리학회지* 1994; 28: 1-7.
39. 박정자, 박태인, 손태중, 서인수. 유방암종의 neu 및 ras oncoprotein과 epidermal growth factor receptor의 발현에 관한 면역조직화학적 고찰. *대한병리학회지* 1994; 28: 126-34.
40. Wright C, Angus B, Nicholson S, et al. Expression of c-erbB-2 oncoprotein: A prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Res* 1989; 49: 2087-90.
41. McGuire WL, Tandon AK, Alled C, Chamness GC, Clark G. How to use prognostic factors in axillary node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1006-14.
42. Singleton TP, Strickler JG. Clinical and pathologic significance of the c-erbB-2 (HER-2/neu) oncogene. In Rosen PP, Fechner RE: *Pathol Ann* 1992; 1: 165-90.
43. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al. Studies of the HER-2/neu protooncogene in breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707-12.
44. 김애리, 김인선, 이갑노. 유방암에서 화상분석기를 이용한 DNA 배수성, 에스트로젠과 프로제스트론 수용체 및 HER-2/neu 종양단백의 표현에 관한 연구. *대한병리학회지* 1994; 28: 246-59.
45. 김병식, 노동영, 최국진 등. 유암 환자에 있어서 c-erbB-2 단백질 과발현과 림프절 전이, 종양의 크기, 병기, 나이 및 생존율과의 관계. *대한암학회지* 1991; 23: 20-8.
46. Yin Y, Tainsky MA, Bischoff FZ, Strong LC, Wahl GW. Wild-type p53 restores cell cycle control and inhibits gene amplification in cells with mutant p53 alleles. *Cell* 1992; 70: 937-48.
47. Livingstone LR, White A, Sprouse J, Livanos E, Jacks T, Tlsty TD. Altered cell cycle arrest and gene amplification potential accompany loss of wild-type p53. *Cell* 1992; 70: 923-35.
48. Dati C, Muraka R, Tazartes O. c-erbB-2 and ras expression levels in breast cancer are correlated and show a co-operative association with unfavorable clinical outcome. *Int J Cancer* 1991; 47: 833-8.