

Table 1. Correlation between histopathologic grade and lymph node status

Lymph node status	Histologic grade			Total
	I	II	III	
N0	5	6	1	12
N1	6	10	4	20
N2	1	8	12	21
Total	12	24	17	53

Mantel-Haenszel test=4.96 ; p=0.04

Table 2. Association between p53 protein expression and histologic grade

p53 status	Histologic grade			Total(%)
	I	II	III	
Negative	5(41.7)	12(50.0)	10(58.8)	27(50.9)
Positive	7(58.3)	12(50.0)	7(41.2)	26(49.1)
focal	7(58.3)	5(20.8)	6(35.3)	18(34.0)
diffuse	0	7(29.2)	1(5.9)	8(15.1)
Total(%)	12(100)	24(100)	17(100)	53(100)

Chi square test=7.86 ; p=0.09

있었다(p=0.04)(Table 1).

3. p53 단백질에 대한 면역조직화학 염색

DO7 단일분지항체를 이용한 면역조직화학염색 결과 종양세포만이 핵에 양성반응을 보였고, 주변 정상조직의 세포들은 염색되지 않았다. p53 단백질은 총 53예 중 26예(49.1%)에서 양성으로 발현되었다.

조직학적 등급에 따라 p53 단백질 발현을 비교해보면 1등급은 12예 중 7예(58.3%)에서, 2등급은 24예 중 12예(50.0%)에서, 3등급은 17예 중 7예(41.2%)가 양성반응을 보였는데, 조직학적 등급이 낮을수록 p53 단백질 발현율이 높았다(p=0.09, 상관계수 0.393)(Table 2). 조직학적 등급을 결정하는 소관형성의 점수와 p53 단백질 발현(p=0.40), 핵의 다형성 정도와 p53 단백질 발현(p=0.44), 유사분열수와 p53 단백질 발현(p=0.68) 사이에는 상관관계가 없었다.

림프절 전이여부에 따른 p53 단백질 발현은 N0의

Table 3. Correlation between tumor size and lymph node status

Lymph node status	Tumor size			Total
	T1	T2	T3	
N0	4	7	1	12
N1	3	14	3	20
N2	1	16	4	21
Total	8	37	8	53

Mantel-Haenszel test=3.87 ; p=0.04

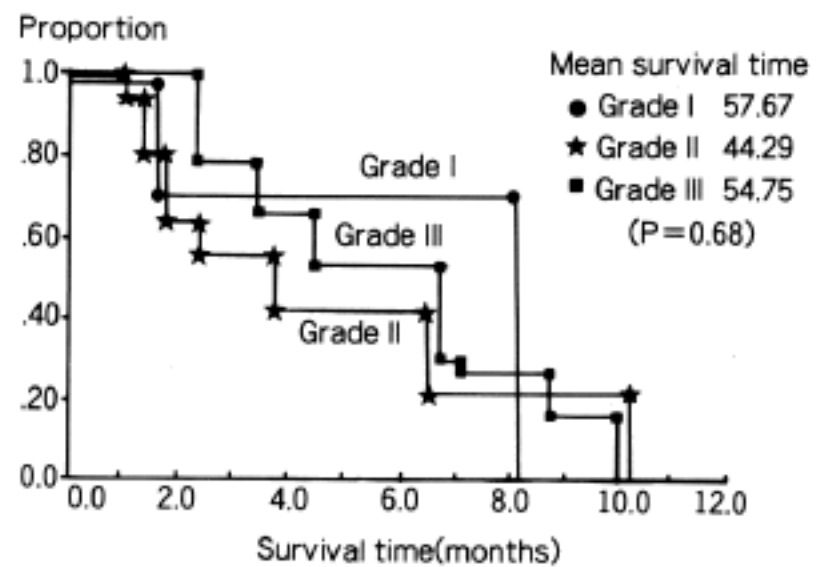


Fig. 2. Cumulative survival curve by histologic grade.

경우 12예 중 4예(33.3%)에서; N1의 경우 20예 중 13예(65.0%)에서, N2의 경우 21예 중 9예(42.9%)에서 양성반응을 나타냈으나, 이들 간에 상관관계는 없었다(p=0.38).

종양의 크기는 조직학적 등급(p=0.51)이나 p53 단백질 발현(p=0.69)과는 상관관계가 없었지만, 림프절 전이여부와는 상관성이 있었다(p=0.04)(Table 3).

4. 생존기간과 병리학적 소견 및 p53 단백질 발현의 비교

추적조사된 환자들의 2년 생존율은 87.8%였고, 5년 생존율은 55.6%였으며, 평균 생존기간과 조직학적 등급, 림프절 전이여부, 종양의 크기 및 p53 단백질 발현을 비교한 결과, p53 단백질 발현만이 유의하게 상관관계가 있었다. 이들 중 조직학적 등급에 따른 평균 생존기간은 1등급에서 57.67개월, 2등급에서 44.29개월, 3등급에서 54.75개월로 조직학적 등

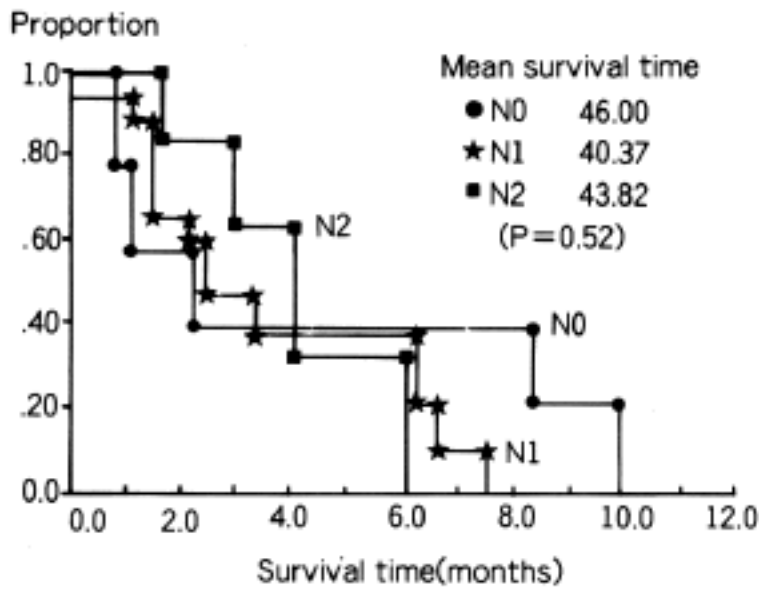


Fig. 3. Cumulative survival curve by lymph node status.

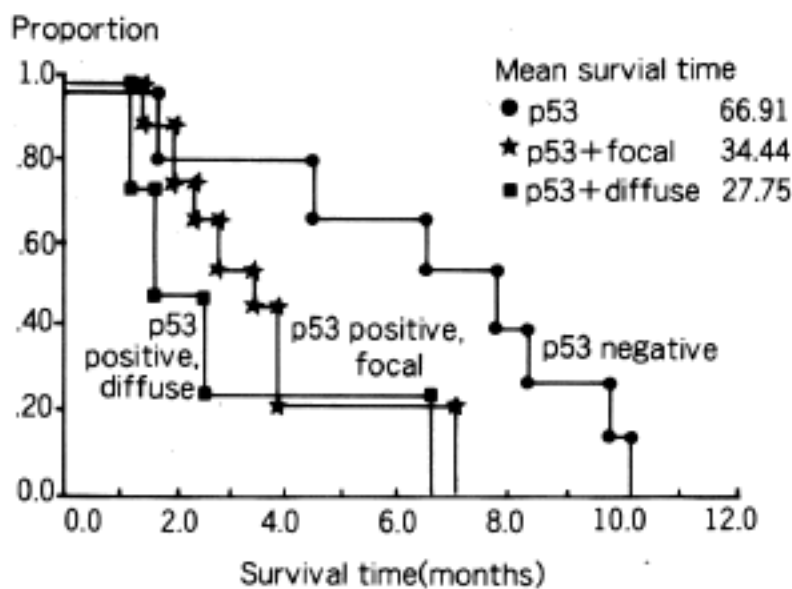


Fig. 4. Cumulative survival curve, p53 expression.

급에 따른 생존기간은 통계학적으로 의의가 없었다 ($p=0.68$)(Fig. 2). 림프절 전이여부에 따른 평균 생존기간은 N0의 경우 46개월, N1의 경우 40.37개월, N2의 경우 43.82개월로 차이가 없었으나($p=0.52$), 수술 후 3년 6개월 이후에는 N0의 경우 N1이나 N2의 경우에 비하여 평균 생존기간이 뚜렷하게 길었다(Fig. 3). 종양의 크기와 평균 생존기간은 T1의 경우 56개월, T2의 경우 40개월, T3의 경우 40개월로 차이가 없었다($p=0.25$). p53 단백질 발현에 따른 평균 생존기간은 음성인 경우 66.91개월, 국소적 양성인 경우 34.44개월, 미만성 양성인 경우 27.75개월로 p53 단백질 발현이 강할수록 평균 생존기간이 의의있게 짧았다($p=0.01$)(Fig. 4). 그러나 조직학적 등급, 림프절 전이여부, 종양의 크기 및 p53 단백질 발현과 생존기간의 관계에 대한 Cox 다변량 분석 결과 림프절 전

이여부만이 의의가 있었다($p=0.01$).

고 찰

본 연구에서 p53 단백질의 발현은 유방의 침윤성 관암종 53예 중 26예가 양성반응을 보여 49.1%의 발현율을 보였다. 이는 Martinazzi등²⁹의 13%, Cattoretti등³⁰의 15.5%, Isola등³¹의 27.7%, Ostrowski등³²의 35.6%, Friedrichs등³³의 38.5%, Poller등³⁴의 42.5%와 국내문헌에 보고²⁵된 38.6%에 비하여 높지만 Mackay 등³⁵이 유방암에서 17번 염색체의 단완소실에 의한 돌연변이가 60%에서 발생한 것을 보고한 것과 비교해 볼 때 면역조직화학 염색 전 포르말린 고정상태, 염색방법 및 결과판독의 차이 등이 낮은 발현율에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다. 본 연구에서 p53 단백질 발현율이 이전의 보고자들에 비하여 높은 것은 국소적 양성예들도 p53 발현 양성으로 판독하여 양성반응의 범위를 넓게 본 것에 기인할 수도 있지만, p53 단백질의 단일분자 항체인 DO7의 적절한 희석 농도 및 높은 반응성도 기여하였을 것으로 생각할 수 있다. 이제까지 유방암 환자의 예후추정인자로 중요시되고 있는 조직학적 등급이나 림프절 전이여부를 p53 단백질 발현율과 비교해 보았을 때, 통계학적 의의는 없었지만 조직학적 등급은 오히려 등급이 높아질수록 p53 단백질 발현율이 낮아졌고, 림프절전이는 비교군 간에 차이가 없었다. 그러나 추적조사된 환자들의 평균 생존기간과 비교해 보았을 때 조직학적 등급과 종양의 크기는 비교군 간에 큰 차이가 없었으나, p53 단백질 발현은 반응의 정도나 유무에 따라 통계학적으로 의의있는 차이가 있었다. 이는 Ostrowski등³², Thor등¹⁸의 조직학적등급 또는 핵등급과 림프절 전이여부가 p53 단백질 발현율이나 환자들의 생존기간과 상관관계가 있었다는 보고와는 차이가 있지만, 그들에 비하여 연구 예가 적어서 통계처리에 어려움이 있었던 점을 참고하면 더 많은 예를 연구대상으로 하여 앞으로 더욱 보강 연구가 필요할 것으로 생각된다. 본 연구에서 림프절 전이 여부는 추적기간 5년 이후부터 N0군과 N1군, N2군간에 뚜렷한 차이가 있는 것으로 볼 때, 림프절 전이 여부는 단기간의 생존율보다는 장기간의 생존율에 영향을 미치는 인자로 생각할 수 있다. 또한 림프절 전이여부는 단독 예후인자로서 평균 생존기간에 의미있는 차이가 없었지만, Cox 다변량 분석 결과 유일하게 통계학적 의의가 있었던 점은 예후인자로서의 의미를 확인할 수 있었다. 조직학적 등급이나 종양의 크기와 달리 p53 단백질 발현이나 림

프절 전이여부가 이번 연구에서 환자의 평균 생존 기간에 영향을 미치고 있는 예후추정인자로 의의가 있었는데, 이는 Friedrichs등³³, Martinazzi등³⁹이나 Riou 등³⁷결과와 일치하였다. 이와 같이 조직에서의 p53 단백질 발현은 Thor등³⁶에 의하여 p53 유전자 돌연변이와 p53 단백질의 핵내 축적으로 인한 조직에서의 p53 단백질 과발현이 상관관계가 있음이 증명됨으로써 더욱 신빙성을 가질 수 있게 되었다.

유방암에서 p53 단백질의 발현은 예후 추정인자로서의 의의 외에도 유방암 발생기전 및 발병단계를 연구하는 분야에도 이용되고 있다^{34,38-40}. 관내암종, 침윤성 관암종 및 전이된 유방의 관암종을 대상으로 하여 p53 단백질 발현을 비교 연구한 결과, p53 단백질은 관내암종의 13%내지 33.3%에서 양성반응을 보이고, 관내암종과 침윤성 관암종이 혼재하는 경우 17%에서 발현되며, 림프절 전이가 있는 침윤성 암종은 50%에서 과발현됨을 보고하였다. 국내에서도 유방암에서의 p53 발현이 원발병소와 전이병소에 따라 차이가 있음을 보고하였고, 전이병소에서 p53 단백질발현이 더 증가됨은 p53 유전자의 돌연변이가 유방암의 발생 및 전이를 일으키는 아클론(subclone)의 발생에 관여하리라는 의견을 제시하였다²⁶. 이와 같은 결과를 토대로 p53 단백질은 유방암이 진행되는 동안 계속 발현되며, 특히 유방암 발생 초기 단계 뿐만 아니라 후기단계에도 관여되는 것으로 해석하였다. 본 연구에서는 관내암종 4예만 비교해 보았기 때문에 그 결과를 가지고 논하기는 어렵지만, 조직학적으로 분화가 나쁜 먼포형 2예에서 p53 단백질에 강한 양성 반응을 나타낸 점은 종양의 생물학적 특성을 예측하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 사료되며, 앞으로 더 많은 예의 관내암종을 대상으로 연구하면 이들 간에도 치료 및 예후 추정에 p53 단백질 발현이 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

여러 학자들이 유방암에서 p53 단백질 발현의 예후 추정인자로서의 의의를 알아보려고 EGFR, c-erbB-2 단백질, PCNA, 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체 유무 및 DNA 분석 결과와 p53 단백질 발현 결과를 비교하여, EGFR이나 c-erbB-2 단백질이 발현되거나 PCNA지수가 높은 경우와 호르몬 수용체가 없는 경우 및 DNA 분석 결과 비배수성인 경우(특히 DNA 지수가 1.3이상인 예)나 합성기 분획이 높은 경우 p53 단백질 발현율이 높았고, 환자의 평균 생존기간이 짧은 것으로 보고하였다^{30-31,34}. p53 단백질의 발현에 대한 연구는 예후 추정인자 및 유방암 발생기전을 밝히는데 기여하고, 앞으로 유방암 치료분야에도 이용될 가능성이 있기 때문에 매우 중요시되고 있다.

유방암은 수술 후 악성도에 따라 항암 화학 요법이나 방사선 치료를 잘해주면 환자의 생존율을 높일 수 있는 암종이므로 앞으로 여러가지 예후추정인자로 보고되고 있는 항체들과 p53 단백질 발현에 대한 연구를 계속하고, p53 단백질 발현을 조직에서만 증명할 것이 아니라 polymerase chain reaction(PCR)과 같은 유전자 증폭이나 유전자의 돌연변이를 증명하는 차원에서 연구가 계속되어 유방암의 치료에 도움을 주어야 할 것으로 사료된다.

결 론

p53 단백질은 17번 염색체에 존재하여 암발생을 억제하는 항암유전자로 알려져 있지만, 돌연변이를 일으킨 p53 단백질은 DNA 복사를 활성화하여 세포증식 및 분화에 영향을 주어서 오히려 암발생을 유발하는 것으로 알려져 있다. 최근 p53 단백질의 돌연변이 형이 여러 장기의 암에서 과다발현됨이 보고되어 왔고, p53 단백질에 대한 단클론항체의 발견은 면역조직화학염색을 가능케 하여 다른 여러 장기의 암발생과 p53 단백질 발현에 대한 연구가 계속되고 있다. 이에 저자들은 유방의 침윤성 관암종의 병리조직학 소견 및 p53 단백질의 발현양상과 예후와의 관계를 알아보고자 본 연구를 시행하였다. 연구대상은 수정된 광범위유방절제술을 받은 53예였고, 이 중 24예는 추적조사가 가능하였다.

p53 단백질 발현은 53예 중 26예(49.1%)에서 양성이었으며, 병리조직학적 등급, 림프절 전이여부, 종양의 크기 등과의 상관관계는 없었다. 그러나 조직학적 등급과 림프절 전이여부, 종양의 크기와 림프절 전이여부 등은 상관관계가 있었으며($p=0.04$), 특히 다변량 분석 결과 림프절 전이여부가 생존기간에 가장 영향을 주는 요소였다. 평균 생존기간과 조직학적 등급, 림프절전이 여부, 종양의 크기 및 p53 단백질 발현을 비교한 결과 p53 단백질 발현만이 의의 있게 상관관계가 있었는데($p=0.01$), 평균 생존기간은 p53 단백질 발현이 음성인 경우 66.91개월, 국소적 양성인 경우 34.44개월, 미만성 양성인 경우 27.75개월이었다. 이상의 결과로 유방의 침윤성 관암종환자에서 p53 단백질 발현은 림프절 전이여부와 함께 예후 추정인자로서 의의가 있는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. McGuire WL, Tandon AK, Craig G. How to use prognostic factors in axillary node-negative breast

- cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1006-15.
2. Levine AJ, Monand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-6.
 3. Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 1989; 57: 1083-93.
 4. Frebourg T, Friend SH. The importance of p53 gene alterations in human cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1553-7.
 5. Lipponen P, Ji H, Aaltomaa, Syrjänen, Syrjänen K. p53 protein expression in breast cancer as related to histopathological characteristics and prognosis. *Int J Cancer* 1993; 55: 51-6.
 6. Rogel A, Popliker M, Webb CG, Oren M. p53 cellular tumor antigen: analysis of mRNA levels in normal adult tissues, embryos, and tumors. *Mol Cell Biol* 1985; 5: 2851-5.14
 7. Steinmeyer K, Maacke H, Deppert W. Cell cycle control by p53 in normal(3T3) and chemically transformed(Meth A) mouse cells. I. Regulation of p53 expression. *Oncogene* 1990; 5: 1691-9.
 8. Mercer WE, Avignolo C, Baserga R. Role of the p53 protein in cell proliferation as studied by microinjection of monoclonal antibodies. *Mol Cell Biol* 1984; 4: 276-81.
 9. Shohat O, Greenberg M, Reisman D, Oren M, Rotter V. Inhibition of cell growth mediated by plasmids encoding p53 anti-sense. *Oncogene* 1987; 1: 277-83.
 10. Parada LF, Land H, Weinberg RA, Wolf D, Rotter V. Cooperation between gene encoding p53 tumor antigen and ras in cellular transformation. *Nature(Lond.)* 1990; 312: 649-51.
 11. Hinds PW, Finlay C, Levine AJ. Mutation is required to activate the p53 gene for cooperation with the ras oncogene and transformation. *J Virol* 1989; 63: 739-46.
 12. Hinds PW, Finlay CA, Quartin RS, Baker SJ, Fearon, E.R, Vogelstein B, Levine AJ. Mutant p53 DNA clones from human colon carcinomas cooperate with ras in transforming primary fat cells: a comparison of the "hot spot" mutant phenotypes. *Cell Growth Differ* 1990; 1: 569-76.
 13. Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraument JF, Nelson CE, Kim DH, Kassel J, Gryka MA, Bischoff FZ, Tainskly MA, Friend SH. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* 1990; 250: 1233-8.
 14. Harris AJ. Telling changes of base. *Nature* 1991; 350: 377-8.
 15. Barker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup JM, Tuinen PV, Ledbetter DH, Barker DF, Nakamura T, White R, Vogelstein B. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinoma. *Science* 1989; 244: 217-21.
 16. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
 17. Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harris AL. Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335: 675-9.
 18. Purdie CA, Grady JO, Piris J, Wyllie AH, Bird CC. p53 expression in colorectal tumors. *Am J Pathol* 1991; 4: 807-13.
 19. Davidoff AM, Derndon JE, Glover NS, Kerns BJM, Pence JC, Iglehart JD, Marks JR. Relation between p53 overexpression and established prognostic factors in breast. *Surgery* 1991; 110: 259-64.
 20. Barnes DM, Dublin EA, Fisher CJ, Levison DA, Millis RR. Immunohistochemical Detection of p53 Protein in Mammary Carcinoma. *Human Pathol* 1993; 24: 469-76.
 21. Bartek J, Iggo R, Gannon J, Lane DP. Genetic and immunochemical analysis of mutant p53 in human breast cancer cell lines. *Oncogene* 1990; 5: 893-9.
 22. David WT. p53 in tumor pathology: Can we trust immunocytochemistry? *J Pathol* 1992; 166: 329-30.
 23. Vojtesek B, Bartek J, Midgley CA, Lane DP. An immunochemical analysis of the human nuclear phosphoprotein p53. *J Immunol Method* 1992; 151: 237-44.
 24. 김영철, 김종석, 김선한, 목영재, 최상용, 문홍영, 구법환. 유방암에서 PCR을 이용한 p53 유전자의 Codon 175에서의 점돌연변이에 관한 연구. *외과학회지* 1993; 45: 465-70.
 25. 임동현, 손규철, 박찬훈, 배수동. 유방암에서 p53, EGFR, c-erbB-2 발현과 다른 예후 인자와의 관계. *외과학회지* 1994; 46: 651-5.
 26. 황태숙, 김영배, 주영재, 김준미, 조경자, 장자준. 유방암에서의 p53 발현. -원발 병소와 전이 병소의 비교- *J Kor Cancer* 1994; 26: 764-9.
 27. Bloom HJG, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. *Br J Cancer* 1957; 11: 359-77.
 28. Fisher ER, Sass R, Fisher B. Pathologic findings from the national surgical adjuvant project for breast cancer(Protocol No.4). *Cancer* 1984; 53: 712-25.
 29. Martinazzi M, Crivelli F, Zampatti C, Martinazzi S. Relationship between p53 expression and other prognostic factors in human breast cancer. *Am J Clin*

- Pathol 1993; 100: 213-7.
30. Cattoretti G, Ricke F, Andreola S, Amato LD, Delia D. p53 expression in breast cancer. *Int J Cancer* 1988; 41: 178-83.
 31. Isola J, Visakorpi T, Holli K, Kallioniemi OP. 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.
 32. Ostrowski JL, Sawan A, Henry L, Wright C, Henry JA, Hennessy C, Lennard TJW, Angus B, Horne CHW. p53 expression in human breast cancer related to survival and prognostic factors: an immunohistochemical study. *J Pathol* 1991; 164: 75-81.
 33. Friedrichs K, Gluba S, Eidlmann H, Jonat W. Overexpression of p53 and prognosis in breast cancer. *Cancer* 1993; 72: 3641-7.
 34. Poller DN, Hutchings CE, Galea M, Bell JA, Nicholson RA, Elston W, Blamey RW, Ellis IO. p53 protein expression in human breast carcinoma: relationship to expression of epidermal growth factor receptor, c-erbB-2, protein overexpression, and estrogen receptor. *Cancer Res* 1992; 52: 583-8.
 35. Mackay J, Steel CM, Elder PA, Forrest APM, Evans HJ. Allele loss on short arm of chromosome 17 in breast cancers. *Lancet* 1988; 2: 1384-5.
 36. Thor AD, Moore DH II, Edgerton SM, Kawasaki ES, Reihnsaus E, Lynch HJ, Marcus JN, Schwartz L, Chen LC, Mayall BH, Smith HS. Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein; An independent marker of prognosis in breast cancer. *J Natl Cancer Res* 1992; 84: 845-55.
 37. Riou G, Le MG, Travagli JP, Levine AJ, Moll UM. Poor prognosis of p53 gene mutation and nuclear overexpression of p53 protein in inflammatory breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1765-7.
 38. Prosser J, Thompson AM, Cranston G, Evans HJ. Evidence that p53 behaves as a tumor suppressor gene in sporadic breast tumors. *Oncogene* 1990; 5: 1573-9.
 39. Davidoff AM, Kerns BJM, Iglehart JD, Marks JR. Maintenance of p53 alterations throughout breast cancer progression. *Cancer Res* 1991; 51: 2605-10.
 40. Walker RA, Dearing SJ, Lane DP, Varley JM. Expression of p53 protein in infiltrating and in situ breast carcinomas. *J Pathol* 1991; 165: 203-11.
-

유방의 침윤성 관암종에서 p53 단백질발현에 대한 연구

연세대학교 원주의과대학 병리학교실 및 외과학교실*

정 순 희 · 조 미 연 · 김 수 용*

p53 Protein Expression in Infiltrating Ductal Carcinoma of the Breast

Soon-Hee Jung, M.D., Mee-Yon Cho, M.D. and Soo Yong Kim, M.D.*

Department of Pathology and General Surgery*, Yonsei University
Wonju College of Medicine

Overexpression of the nuclear phosphoprotein p53 is the most common genetic anomaly found in primary human cancer and mutation of the tumor suppressor gene p53 has been identified in breast cancer cell lines. In this study, we evaluated the prognostic significance of p53 protein expression in patients with mammary infiltrating ductal carcinoma and its correlation with histopathologic grade, lymph node status, tumor size, p53 protein expression and survival.

Among 53 cases, p53 protein expression was detected in 26(49.1%) cases by immunohistochemistry. There was no correlation between p53 protein overexpression and histopathologic grade($p=0.09$) or lymph node status($p=0.38$) and between survival and histopathologic grade ($p=0.68$) or lymph node status($p=0.52$). However, p53 protein expression was significantly correlated with survival($p=0.01$) and patients with p53 protein-positive tumors showed poorer survival times. But Cox multivariate analysis showed the lymph node status is significant($p=0.01$). The authors conclude that the presence of mutant p53 protein and lymph node status may serve a prognostic role, in a subset of mammary infiltrating ductal carcinoma cases.

(Korean J Pathol 1996; 30: 7~14)

Key Words: Mammary infiltrating ductal carcinomas, Histopathologic grade, Lymph node status, Immunohistochemical p53 protein expression, Prognostic factor

서 론

유방암은 여성에게 발생하는 중요한 악성종양으로, 과거 30년간 여러가지 노력에도 불구하고, 미국에서는 여성에게 가장 많이 발생하는 암이고, 국내

에서도 여성에게 자궁경부암, 위암에 이어 세번째로 많이 발생하는 암으로 그 발생빈도가 줄어들지 않고 있다. 유방암의 예후 추정인자에는 종양의 크기, 주변 림프절로의 전이 여부와 전이된 림프절의 수, 종양의 조직학적 형태와 분화도, 에스트로겐 및 프로그스테론 수용체의 유무, 종양 세포의 증식률 및 DNA 비배수성과 여러가지 암유전자의 존재 등이 있다¹. 최근 분자생물학의 발달과 함께 유방암의 발생 기전을 설명함에 있어서 transforming growth factor α (TGF- α)나 platelet-derived growth factor(PDGF)와 같

접 수 : 1994년 10월 21일, 게재승인 : 1995년 11월 9일
주 소 : 강원도 원주시 일산동 162, 우편번호 220-701
연세대학교 원주의과대학 병리학교실, 정순희

은 성장촉진자들이나 TGF- β 와 같은 성장억제자 등이 유방암에서 유리되어 암증식에 관여된다는 보고들과, epidermal growth factor receptor(EGFR) 유전자와 비슷한 HER-2/neu gene, c-ras 또는 c-myc gene 등이 증폭되거나 암억제 유전자의 돌연변이가 유방암 발생에 관여된다는 보고들이 있다. 그러나 아직도 유방암의 정확한 발생기전은 확실치 않고 이에 대한 보고도 매우 산발적이다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하는 항암유전자로서, 세포의 성장과 증식을 조절하는 것으로 알려져 있다². 이것은 핵 인단백질의 일종으로 야생형과 돌연변이형이 있는데 야생형 p53 유전자는 세포 성장을 억제하는 반면³, 돌연변이된 p53 유전자는 오히려 암을 유발하는 암유전자로 작용한다^{4,5}. 핵내 인단백질인 p53은 짧은 반감기를 갖지만 정상세포에서 낮은 농도로 존재하는데⁶, p53 단백질 발현은 세포주기를 통해 조절되며⁷, 세포증식의 조절에 관여된다^{8,9}. p53 단백질은 ras 암유전자와 작용하여 종양의 발생 및 진행에 관여하지만¹⁰, 돌연변이형 p53 유전자만이 전환능력이 있어서 DNA 복사를 활성화할 수 있다^{11,12}. Germ-line p53 mutation이 처음 보고된 것은 Li-Fraumeni 증후군으로 germ-line p53 mutation의 주요 보고 환자는 여러조직을 침범하고 강력한 가족력을 가진 암환자로서 이 후 돌연변이형 p53은 암표지자로서 주요 연구대상이 되어 왔다¹³. p53 유전자의 돌연변이는 인체 암종에 관여하는 가장 흔한 유전자 이상으로서¹⁴, 이미 유방암을 비롯하여 대장암, 난소암, 폐암 및 식도암 등에서도 이 연관성이 보고되었으며¹⁵⁻¹⁸, 특히 면역조직화학 염색법을 이용한 연구에서 p53 단백질의 과발현과 유방암 환자의 예후와의 연관성이 강력히 시사된 바 있다^{19,20}. p53 유전자의 야생형 단백질은 불안정하여 면역조직화학 염색이 어려운 반면, 돌연변이된 p53 단백질은 더 안정되고 반감기도 길어져서 p53 단백을 핵에 축적시켜서 암종에서 흔히 발견된다. p53 유전자 돌연변이와 p53 단백질의 축적의 일치에 대해 이미 증명되었기 때문에 단클론성 항 p53 항체의 개발로 면역조직화학염색이 가능케 되었다²¹⁻²³. 그러나 국내에서는 아직 여러 암에서 p53 단백질 발현에 대한 연구가 시작되는 단계이며, 문헌보고는 매우 드물다²⁴⁻²⁶. 이에 저자들은 유방의 침윤성 관암종에서 병리조직학적 소견 및 p53 단백질의 발현양상과 환자들의 생존기간을 비교해 봄으로써 예후인자로서의 의의를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구 재료

1985년 1월부터 1992년 12월까지 연세대학교 원주의과대학 병리학교실에서 유방의 침윤성 관암종으로 진단된 53예를 대상으로 하였고, 이중 24예는 추적조사가 가능했다.

2. 연구 방법

1) **임상기록 재검토**: 연구대상 환자들의 임상기록과 병리진단지 등을 재검토하여 연령, 임상적 병기 및 수술 후의 진행과정, 치료방법(수술 외의 항암 화학 요법 및 방사선 치료의 여부) 및 생존기간을 추적 조사하였다.

2) **병리학적 분류**: 병변부위 및 주위에서 얻은 조직을 통상적인 외과병리학적 검색 후 파라핀 블록을 만들어 연속 절편한 후 헤마톡실린-에오신 염색을 시행하여 광학현미경으로 Bloom과 Richardson²⁷이 제시한 조직학적 등급기준과 핵등급 기준을 수정하여 제정한 Nottingham/Tenovus breast cancer study에서 사용한 방법을 이용하여 조직학적 등급을 정하였다. 종양의 크기는 American Joint Committee on Cancer의 T classification에 따라 2 cm 이하(T1), 2~5 cm(T2), 5 cm 이상(T3)으로 나누었고, 액와부 림프절의 전이여부는 Fisher등²⁸의 기준에 따라 전이가 없는 경우(N0), 1~3개에 전이가 있는 경우(N1), 4개 이상의 림프절에 전이가 있는 경우(N2)로 나누었다.

3) **면역조직화학 염색**: p53 단백질에 대한 항체와 LSAB universal kit를 이용한 Avidin-Biotin Conjugate (ABC) 방법으로 다음과 같이 염색하고 amino-ethyl carbazole(AEC)로 발색해서 판독했다. 파라핀 블록을 3~4 μ m 두께로 연속 박절하여 95%, 80%, 75%, 50% alcohol에 2분씩 담근 후 탈파라핀하여 세척한다. 3% H₂O₂에 10분간 두었다가 물로 세척한 후 Tris buffer(pH 7.5 at 25°C)에 5분간 세척한다. 일차 항체로 단클론성 항 p53 단백질인 DO7(Novocastra Laboratories, Newcastle, UK)을 이용하였다. 2% Bovine serum albumin, Tris buffer와 0.1 gm sodium azide를 이용해서 일차항체 처리 전에 전처치를 20분간 한 뒤 1:100으로 희석한 일차항체를 2시간 작용시킨 뒤 Tris buffer로 5분간 세척한다. LSAB universal kit (DAKO)를 이용한 ABC 방법으로 이차항체를 20분간 작용시킨 뒤 Tris buffer로 5분간 세척한다. 발색을 돕기 위해 streptavidin horseradish peroxidase를 넣고 20분간 작용시킨 후 Tris buffer로 5분간 세척한

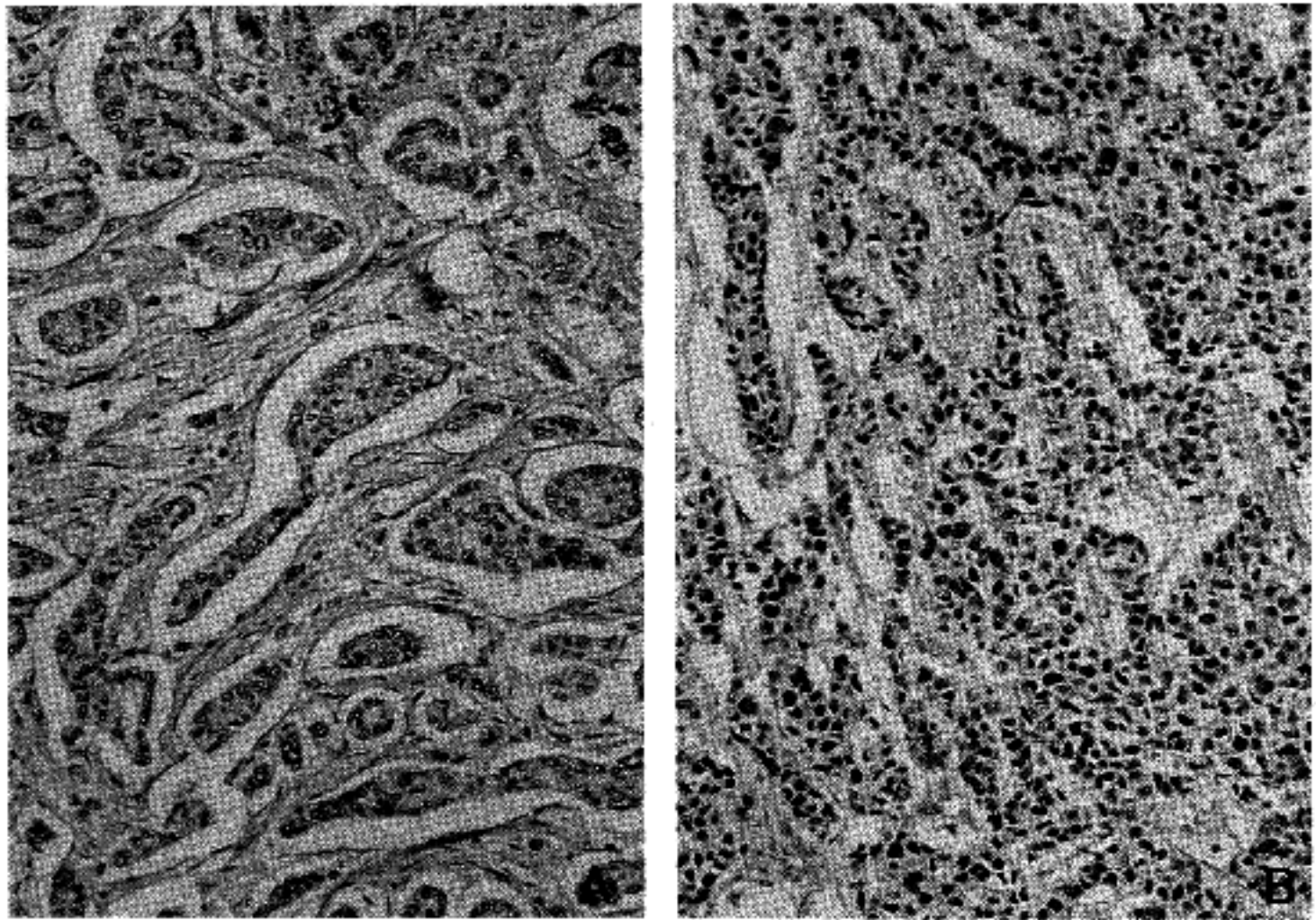


Fig. 1. Infiltrating ductal carcinoma of the breast: immunohistochemical staining for p53 protein. A. Focal positive reaction. B. Diffuse positive reaction(Anti-p53- avidin-biotin-conjugate method).

다음 AEC로 발색시킨다. Meyer의 헤마톡실린으로 대조 염색 후 글리세린 젤리로 봉입하여 관찰하였다. 면역조직화학염색의 결과는 양성, 국소적 양성(20% 미만의 세포에서 양성), 미만성 양성으로 판독하였다(Fig. 1).

4) 통계처리: 통계분석은 Chi-Square test를 사용했으며, 생존기간과의 상관성 여부를 알아보기 위하여 Kaplan-Meier 방법을 사용한 생존분석(survival analysis)을 시행하였고, log-rank test로 분석하였다. Cox proportional hazards model을 사용하여 다변량 분석을 하였고, 각 변수간의 관계는 Pearson product moment correlation과 Kappa 통계로 검사하였다.

결 과

1. 임상소견

환자들의 평균연령은 46.4세였고, 발생부위는 좌측 상외부가 가장 많았다. 병변의 평균크기는 3.5cm이었고, T1이 8명, T2가 37명, T3가 8명이었다. 53명의 환자 중 24명은 생사여부 및 생존기간의 추

적조사가 가능하였으며, 추적률은 45.3%였다. 수술 후 항암 화학 요법은 53예 중 11예에서, 방사선치료는 4예에서 받았다. 항암 화학 요법을 받은 11예는 모두 추적 조사가 되었는데 이 중 9명은 평균 4년 이상 생존하였고, 2명은 진단 후 32개월, 34개월에 사망하였다. 방사선 치료를 받은 4예 중 추적조사된 3예는 1명이 36개월에 사망하였고, 2예는 각각 8년, 6년 이상 생존해 있다. 추적조사된 2예는 수술 후 1-2년 사이에 폐와 뼈에 전이되어 병의 진행으로 사망하였다.

2. 광학현미경 소견

총 53예의 침윤성 관암종을 Nottingham/Tenovus breast study의 기준인 소관 형성정도, 핵의 다형성, 유사분열수에 따라 조직학적 등급을 나누었을 때 1등급이 12예, 2등급이 24예, 3등급이 17예였다. 림프절 전이 여부에 따라보면, N0의 경우가 12예, N1의 경우가 20예, N2의 경우가 21예 였다. 조직학적 등급과 림프절 전이 간의 상관관계를 보면 1, 2 등급은 36예 중 25예(68.4%)에서 림프절 전이가 있었으나 3등급은 17예중 16예(94.1%)에서 림프절전이가