

유방 관내 암종 및 파제트 병에서 c-erbB-2 단백질의 발현

원자력병원 해부병리과 및 외과*

김정연 · 조경자 · 이승숙 · 강신광 · 백남선*

c-erbB-2 Oncoprotein Expression in Ductal Carcinoma in situ and Paget's Disease of the Breast

Jung-Yeon Kim, M.D., Kyung-Ja Cho, M.D., Seung-Sook Lee, M.D.
Shin-Kwang Khang, M.D. and Nam-Sun Paik, M.D.*

Department of Pathology & Surgery*, Korea Cancer Center Hospital

A clinico-pathologic study with an immunohistochemical examination for c-erbB-2 expression in 54 cases of ductal carcinoma in situ and 16 cases of Paget's disease of the breast was performed. c-erbB-2 oncoprotein overexpression was observed in 45% (24/54) and 88% (14/16) of ductal carcinoma in situ and Paget's disease, respectively. The overexpression of c-erbB-2 oncoprotein was significantly correlated with the nuclear grade of tumors and inversely with the status of the estrogen receptor. c-erbB-2 was positive in 4 out of 5 patients with metastasis to axillary lymph nodes and 3 out of 4 patients who died of the disease. Prognostic significance of c-erbB-2 oncoprotein in ductal carcinoma in situ was highly suggested. The expression of c-erbB-2 oncoprotein in Paget's disease was well correlated with coexisting infiltrating or in situ ductal carcinoma. The high positive rate of c-erbB-2 oncoprotein in ductal carcinoma with Paget's disease could be understood with a recent hypothesis that c-erbB-2 oncoprotein is involved in promotion of cell motility and the spread of carcinoma cells. (**Korean J Pathol 1996; 30: 972~980**)

Key Words: Ductal carcinoma in situ, Paget's disease, c-erbB-2 oncoprotein, Prognostic factor

서 론

우리나라 여성의 유방암 빈도의 증가와 유방조영술의 발달로 유방 관내 암종의 진단율이 늘고 있으

며^{1,2}, 이에 대한 적절한 치료 및 예후 예측의 중요성이 대두되고 있다. 관내 암종의 재발과 관계된 인자로는 수술적 절제 범위가 가장 결정적이지만 병리학 적 소견으로 핵의 크기 혹은 등급과 면포성 괴사 (comedo necrosis) 등도 중요한 영향 인자이다³⁻⁶. 침윤성 도관 암종에서 예후 인자로 알려진 에스트로젠 수용체는 관내 암종에서 조직학적 유형과 상관 관계를 보이나 독립적인 예후 인자라는 결과는 부족하다^{7,8}.

c-erbB-2 종양단백은 17번 염색체에 위치하는 ty-

접 수 : 1996년 3월 13일, 게재승인: 1996년 6월 7일
주 소 : 서울시 노원구 공릉동 215-4, 우편번호 139-240
원자력병원 해부병리과, 김정연

Table 1. Modified Black's nuclear grading

	Nuclear size in relation to normal duct	Nuclear membrane	Chromatin	Nucleoli	No. of mitosis /10 HPF
NG 1	Three folds variation in nuclear diameter	Irregular	Hyperchromatic, coarse	Macro ±	>5
NG 2	Twice size, uniformity	Round, smooth	Uniform, fine	Micro ±	2-5
NG 3	Similar, minimal enlargement	Round, smooth	Uniform, fine	-	<1 (rare)

NG: Nuclear Grade

rosinase 활성을 가지는 185kd의 막 당단백질(trans-membrane glycoprotein)이며 표피 성장 인자 수용체(epidermal growth factor receptor)와 유사한 구조를 지니고 있다^{9,10}. 소량의 c-erbB-2 단백질은 유방, 타액선, 장상피, 신세뇨관 등의 정상 선상피에 존재하며, 악성 종양시 증폭되어 나타날 수 있다¹¹. 특히 유방암의 약 20%에서 c-erbB-2가 과발현되며 이는 나쁜 예후와 연관하다는 주장이 많았다^{12~15}. 유방의 도관암 중 침윤성 암종보다 관내 암종 및 파제트 병에서 높은 c-erbB-2 발현율을 보인다는 사실이 보고되어 있으며, 그 해석에는 아직 의문점이 있다^{16~18}.

본 연구에서는 유방 관내 암종 및 파제트 병에서 c-erbB-2 종양단백의 발현 양상을 조사하고 여러 병리학적 인자, 호르몬 수용체 및 임상적 경과와의 관련성을 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 재 료

1984년 1월부터 1993년 12월까지 원자력병원에서 유방 관내 암종으로 진단받고 외과적 근치술을 받은 환자 중 추적 조사가 가능했던 54명의 환자 및 1993년 1월부터 1994년 12월까지 파제트 병으로 진단받은 16명의 환자를 대상으로 하였다.

2. 방 법

1) 병리 조직학적 검색: 유방 관내 암종 54예에서 종양의 크기, 림프절 전이 상태, 종양의 성장 유형, 핵 등급 및 조직학적 등급을 조사하였다. 관내 암종의 성장 유형을 면포성(comedo), 유두상(papillary), 체모양(cribriform), 고형성(solid), 미세유두상(micropapillary) 및 혼합형(mixed type)의 6가지로 분류하였다¹⁹. 종양의

Table 2. Pathologic grading scheme for ductal carcinoma in situ

	Subtype	Definition
I	Comedo	High nuclear grade Solid growth pattern Necrosis +++
II	Cribriform Papillary with necrosis	High nuclear grade Cribriform/ papillary architecture Necrosis +++
III	Cribriform/ intermediate	Intermediate nuclear grade Cribriform architecture Necrosis +/-
IV	Micropapillary (non-necrotic cribriform)	Low nuclear grade Micropapillary/ cribriform architecture Necrosis 0

핵 등급은 핵의 크기, 핵막 및 염색질의 상태, 핵소체 유무, 유사 분열의 빈도 등을 기준으로 하는 modified Black 등급에 따라 3등급으로 분류하였다(Table 1)²⁰. 조직학적 등급은 1990년 Lagios가 제안한 분류법으로 종양 세포의 성장 양상, 핵 등급 및 괴사 정도를 기준으로 관내 암종을 4가지로 분류하였다(Table 2)³.

2) 면역조직학적 염색 방법: 파라핀 포매 조직에 대하여 anti-c-erbB-2 토끼 항체(Zymed, U.S.A.)를 이용하여 통상적인 ABC법으로 염색하였고 target unmasking 용액 처리를 하였다. 염색 결과 5% 이상의 세포에서 세포막에 선명하게 염색된 경우를 양성으로 간주하

었다. 에스트로젠과 프로게스테론 수용체 검사는 각 예의 진단 당시 동결 절편에 대하여 ER-ICA monoclonal kit (Abbott Lab., U.S.A.) 및 PGR-II kit (Novocastra, U.K.)를 이용하여 검색하였었고 핵에 염색된 것만 양성으로 간주하였다.

3) 임상적 추적: 54명의 관내 암종 환자들을 추적하여 병의 재발 및 생존 유무를 조사하였고 평균 추적 기간은 42.8개월이었다.

4) 통계학적 검색: Fisher's exact test와 chi-square test를 이용하여 p값이 0.05 이하일 때를 통계적으로 유의하다고 간주하였다.

결 과

유방 관내 암종 54예의 c-erbB-2 염색 결과 종양의 약 45%인 24예에서 종양 세포가 부분적 혹은 전체적인 양성 반응을 보였다(Fig. 1). c-erbB-2 종양단백의 발현 양상을 여러 가지 병리학적 요소와 비교해 보았을 때, 먼저 크기에서는 전체의 50%인 27예가 2 cm 이하였으며 크기와 c-erbB-2 종양 단백질 발현과는 상관 관계가 없었다(Table 3). 관내 암종의 성장 유형은 덕포상과 유두상이 가장 많았고 이들은 c-erbB-2 종양단백이 양성인 경우가 많았다(Table 4). 체모양은 대부분 c-erbB-2 과발현을 보이지 않았다(Table 4). 그러나 이들 사이의 통계적 유의성은 없었다. 유방 관내 암종의 핵 등급에서는 Black 등급

1에 속하는 예가 28예로 과반수 이상이었으며 이 중 20예에서 c-erbB-2 종양단백이 양성인 반면, 등급 2,3인 26예에서는 22예가 음성 반응을 보여 핵 등급이 나쁠수록 c-erbB-2 종양 단백질 발현율이 높았고 이는 통계적으로 유의하였다(Table 5). Lagios가 제안한 분류법에 따라 관내 종양의 등급을 정해 보면 핵 등급이 높고 유두상 임상 양상을 보이며 괴사가 있는 등급 II가 과반수를 차지하였다(Table 6). 등급 I, II에서는 c-erbB-2 발현율이 높고, 등급 III, IV에서는 낮은 성향이 있었으나 통계적 유의성은 없었다(Table 6). 23예에서 시행되었던 에스트로젠 수용체

Table 3. Tumor size vs. c-erbB-2 expression in DCIS

Size	c-erbB-2 expression		
	+	-	
< 2 cm	14(25.9)	13(24.1)	27(50)
2-5 cm	8(14.9)	13(24.0)	21(38.9)
> 5 cm	0(0)	2(3.7)	2(3.7)
unknown	2(3.7)	2(3.7)	4(7.4)
Total	24(44.4)	30(55.5)	54(100)

DCIS: Ductal carcinoma in situ
p = 0.391

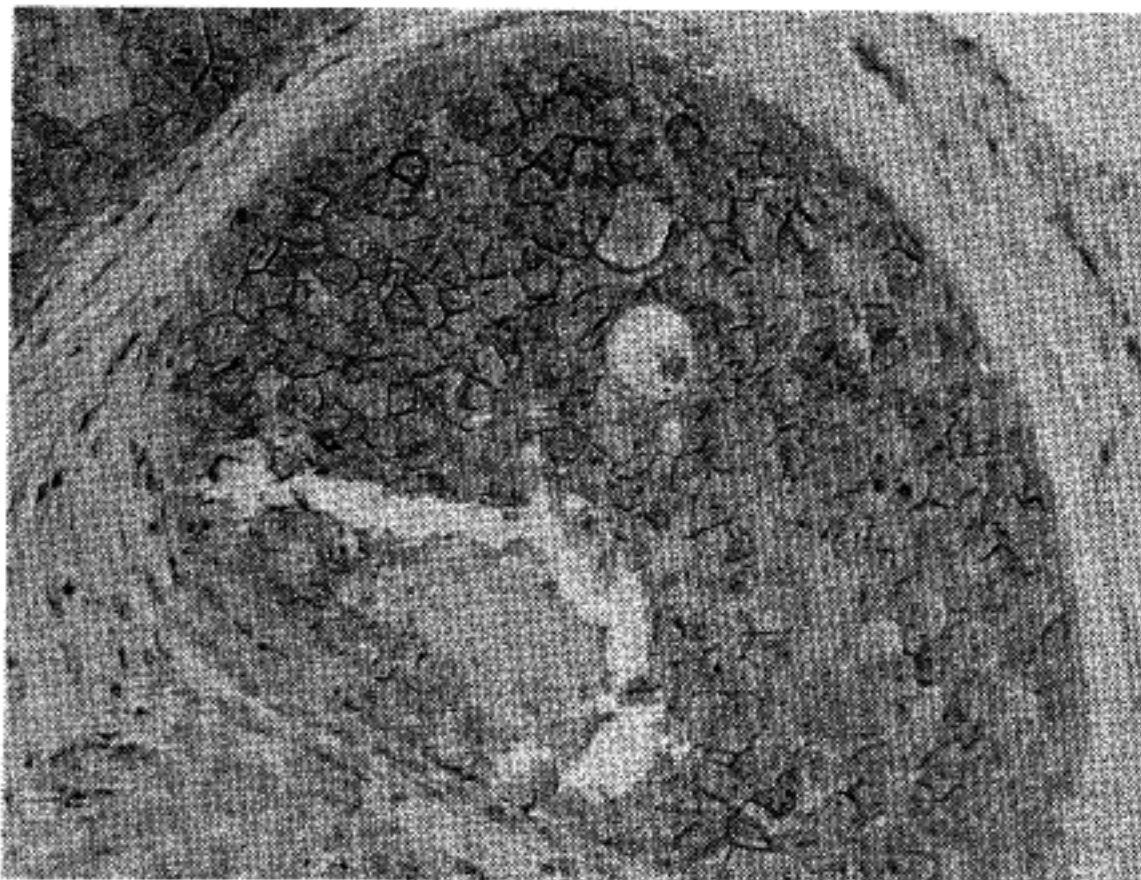


Fig. 1. Strong membrane positivity of ductal carcinoma in situ cells for c-erbB-2 oncoprotein.

면역조직화학적 염색 결과와 비교해 보면 에스트로젠 수용체 양성인 14예 중 12예에서 c-erbB-2 종양단백이 양성이었으며(Fig. 2) 에스트로젠 수용체 음성인 9예 중 7예는 c-erbB-2 종양단백이 양성이어서 에스트로젠 수용체와 c-erbB-2 종양단백은 반비례적 관계를 보여 주었고 이는 통계적으로 유의하였다 (Table 7). 프로세스테론 수용체 검사는 9예에서만 시행되어 그 정확한 의미를 판단할 수 없었다(Table 8).

Table 4. Histologic pattern vs. c-erbB-2 expression in DCIS

Histologic pattern	c-erbB-2 expression		
	+	-	
Comedo	9(16.7)	5(9.2)	14(25.9)
Papillary	8(14.8)	5(9.2)	13(24.0)
Cribriform	1(1.8)	9(16.7)	10(18.5)
Solid	3(5.5)	3(5.5)	6(11.1)
Micropapillary	0(0)	3(5.5)	3(5.5)
Mixed	3(5.5)	5(9.3)	8(14.8)
Total	24(44.4)	30(55.6)	54(100)

DCIS: Ductal carcinoma in situ
p = 0.10

Table 5. Nuclear grade vs. c-erbB-2 expression in DCIS

Nuclear grade	c-erbB-2 expression		
	+	-	
1	20(37.0)	8(14.8)	28(51.8)
2	4(7.4)	17(31.5)	21(38.9)
3	0(0)	5(9.3)	5(9.3)
Total	24(44.4)	30(55.5)	54(100)

DCIS: Ductal carcinoma in situ
p < 0.0005

Table 6. Lajos' grade vs. c-erbB-2 expression in DCIS

Grade	c-erbB-2 expression		
	+	-	
I	7(12.9)	5(9.3)	12(22.2)
II	16(39.6)	16(29.6)	32(59.2)
III	1(1.8)	5(9.3)	6(11.1)
IV	0(0)	4(7.4)	4(7.4)
Total	24(44.4)	30(55.5)	54(100)

DCIS: Ductal carcinoma in situ
p = 0.09

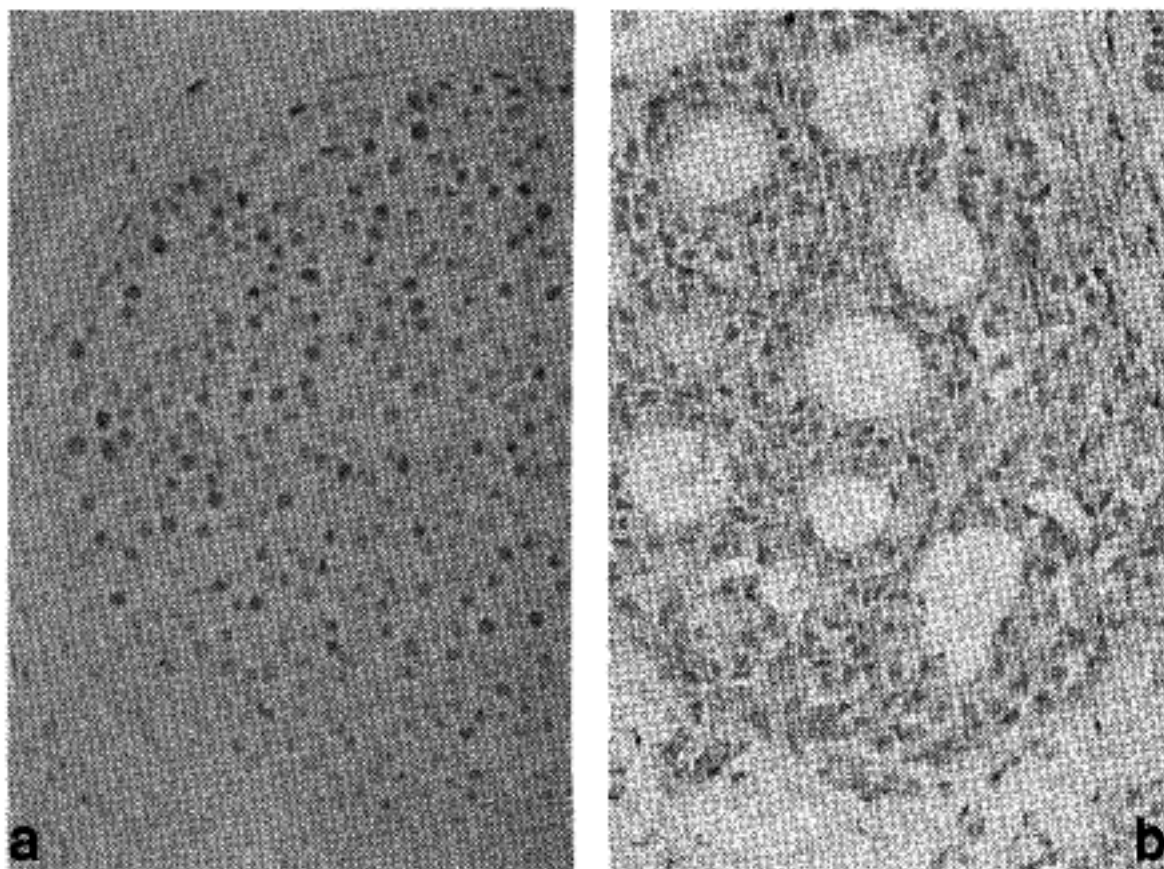


Fig. 2. Positive nuclear staining for estrogen receptor (a) but negative staining for c-erbB-2 oncoprotein (b).

Table 7. Estrogen receptor vs. c-erbB-2 expression in DCIS

ER	c-erbB-2 expression		
	+	-	
+	2(8.7)	12(52.1)	14(60.9)
-	7(30.4)	2(8.7)	9(39.1)
Total	9(39.1)	14(60.8)	23(100)

DCIS: Ductal carcinoma in situ
p < 0.05

Table 9. Clinical outcome vs. c-erbB-2 expression in DCIS

	c-erbB-2 expression		
	+	-	
LN meta (+)	4(7.4)	1(1.8)	5(9.3)
(-)	20(37.0)	29(53.7)	49(90.7)
DOD	3(5.5)	1(1.8)	4(7.4)
NED	21(38.9)	29(53.7)	50(92.6)

DCIS: Ductal carcinoma in situ
LN : Lymph node
DOD : Died of disease
NED : Alive with no evidence of disease
p = 0.11

Table 8. Progesterone receptor vs. c-erbB-2 expression in DCIS

PR	c-erbB-2 expression		
	+	-	
+	4(44.4)	3(33.3)	7(77.7)
-	2(22.2)	0(0)	2(22.2)
Total	6(66.6)	3(33.3)	9(100)

DCIS: Ductal carcinoma in situ
p = 0.41

Table 10. c-erbB-2 expression in Paget's disease

	c-erbB-2 expression		
	+	-	
Paget's disease	3(18.8)	0(0)	3(18.8)
Paget + DCIS	5(31.3)	2(12.5)	7(43.8)
Paget + IDC	6(37.5)	0(0)	6(37.5)
Total	14(87.5)	2(12.5)	16(100)

DCIS: Ductal carcinoma in situ
IDC: Infiltrating duct carcinoma
Paget: Paget's disease

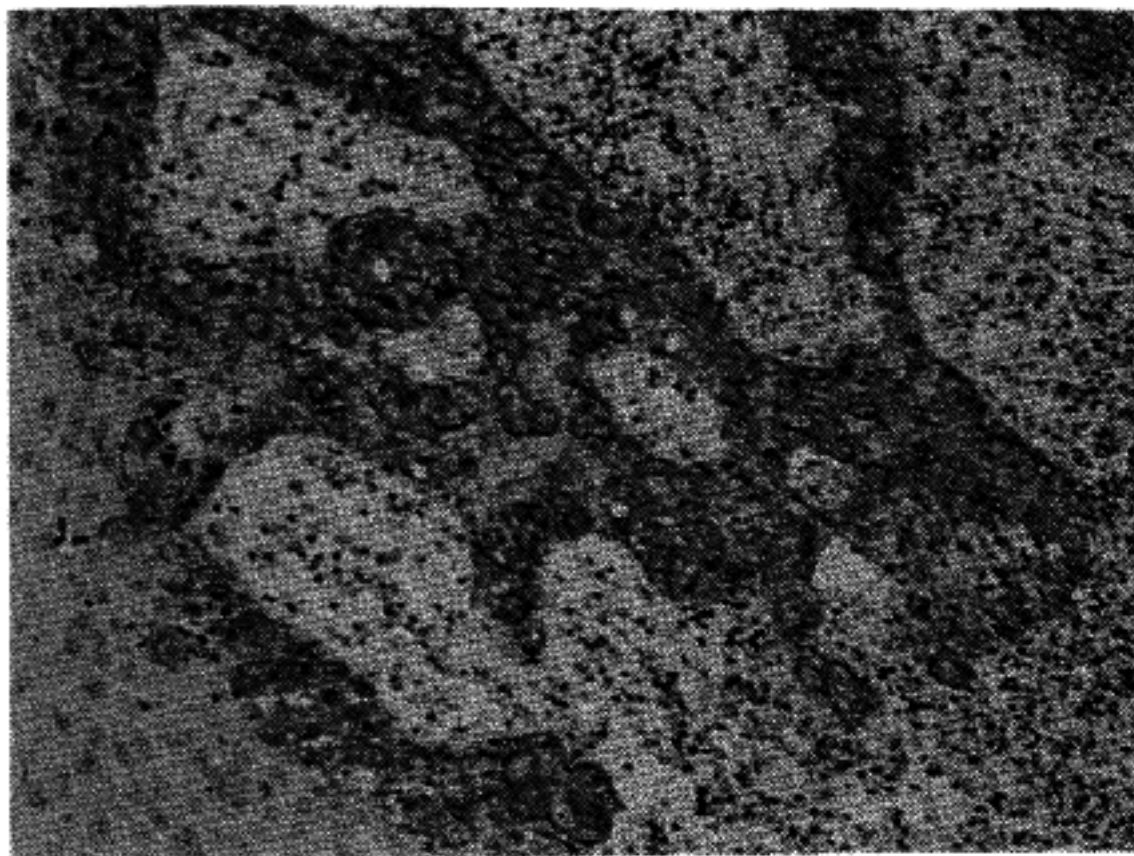


Fig. 3. Strong membrane staining of Paget's cells for c-erbB-2 oncoprotein.

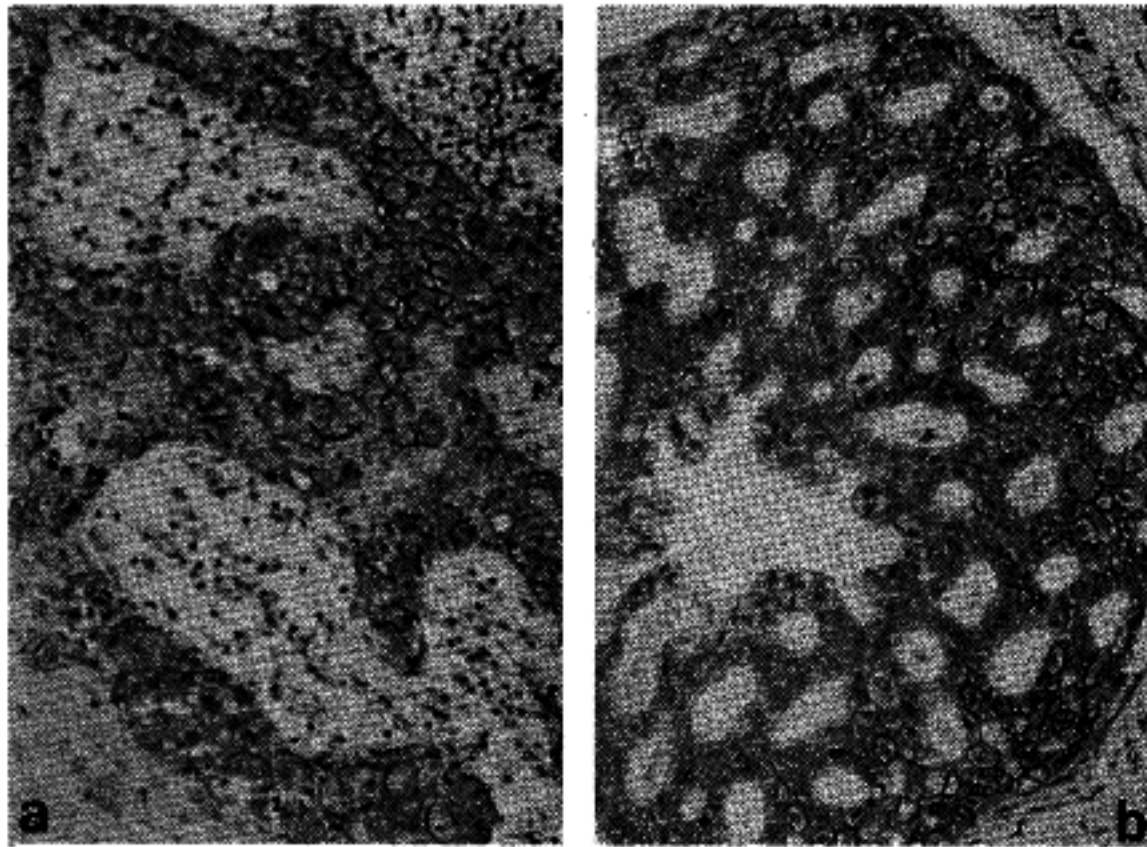


Fig. 4. The Paget's disease (a) and coexisting ductal carcinoma in situ (b) showing identical positive staining for c-erbB-2 oncoprotein.

관내 암종 환자들의 임상 양상 중 림프절 전이가 있는 예는 5명이었고 이 중 c-erbB-2 종양단백은 4예에서 양성인 반면, 전이가 없는 49예 중 29예가 c-erbB-2 종양단백 음성이어서, 전이가 있는 환자군에서 c-erbB-2 종양단백의 발현율이 높았다. 임상 경과 추적 관찰 기간은 2개월에서 125개월로 평균 42.8개월이었고 추적 결과 4명이 전환으로 인하여 사망하였고 그 기간은 각각 33, 56, 74 및 86개월이었다. 사망한 4예중 3예에서 c-erbB-2 종양단백이 양성하였고 50명은 질병 없이 생존하고 있었는데 이 중 29예가 c-erbB-2 음성인 점과 비교하면 사망 환자에서 그 발현율이 높았다(Table 9).

파제트 병 16예에 대한 c-erbB-2 종양 단백질 염색 결과 14예(88%)가 세포막에 강한 양성 소견을 보였다 (Fig. 3)(Table 10). 그리고 동반된 관내 암종 및 침윤성 도관 암종과 동시에 염색한 결과 전 예에서 도관 암종 세포의 c-erbB-2 종양단백 발현과 파제트 세포의 종양단백 발현 소견이 일치하였다(Fig. 4).

고 찰

유방 관내 암종은 과거에는 흔하지 않은 질환으로서 유방 절제술로 대개 치유되었다. 그러나 최근 유방조영술이 확산되어 진단율이 증가하고, 유방 절제의 필요성이 분해되면서, 국소 절제 후의 예후에 관하여 관심이 고조되고 있다. 관내 암종의 자연적 경과에 관해서는 확실히 알려져 있지 않으나 치료를 하지 않

을 경우 28~53%에서 침윤성 암종으로 진행하며^{21,22}, 절제 후 재발한 경우의 20~43%는 침윤성 암종으로 재발하는 점으로 보아^{3,6} 침윤성 도관 암종의 전구 병변으로 생각되고 있다. 국소 절제 후 재발율은 25%까지 보고되어 있으며, 이는 다발성 관내 암종이 불완전하게 절제되었거나, 미소 침윤성 성분의 존재 때문이라고 생각된다³.

유방 관내 암종은 조직학적으로 다양한 성장 양상을 보이며 이를 변포형, 유두상, 체모양, 고형성, 미세유두상 등으로 나누어 보았을 때 기존의 보고에서는 변포형과 미세 유두상이 많았는데^{3,23} 본 연구에서는 변포형과 유두상 성장 양상을 취하는 종양의 빈도가 비슷하였다. 이 중 변포성 암종(comedocarcinoma)의 경우 핵의 등급이 높고 미세 침윤이 많으며 재발율이 높다고 보고되었다^{3,6,19}. 유두상 혹은 체모양의 관내 암종은 분화가 좋고 예후도 좋은 편이라는 보고들이 있는 반면^{19,24}, 불완전한 절제 또는 높은 재발율을 보였다는 보고도 있어서^{3,6}, 성장 양상만으로 임상적 예측을 하기에는 어려움이 있다. Lagios는 이런 점을 보완하여 관내 암종의 성장 양상과 핵 등급 및 괴사의 형태를 종합한 네 등급으로 나누었고 고형성 혹은 체모양/유두상 양상을 보이며 핵 등급이 높고 변포성 괴사를 보이는 I, II군이 높은 재발율을 보인다고 하였다⁵.

유방 관내 암종의 c-erbB-2 과발현은 변포형 특히 핵의 크기가 큰 관내 암종에서 주로 나타난다고 보고되어 있어서^{17,18,25,26}, 예후 인자로서의 가능성을 시

사하고 있다. 유두상/체모양 관내 암종에서는 c-erbB-2가 발현되지 않는다는 결과가 있지만^{17,25}, 본 연구에서 Lagios의 등급 II 관내 암종의 50%가 과발현을 보였고, 핵의 등급과 c-erbB-2 과발현이 통계적으로 유의한 상관 관계를 보인 점으로 보아 성장 양상보다는 핵의 등급과 면포성 피사가 c-erbB-2와 관련되었다고 생각된다. 따라서 관내 암종에서의 c-erbB-2 과발현은 예후가 나쁜 조직학적 유형과 일치하여 나타난다고 할 수 있다. 반대로 에스트로젠 수용체는 비면포성 성장 양상, 작은 세포 및 낮은 S-phase fraction 등을 보이는 종양에 많이 발현된다고 보고되어 있으며^{7,8,27,28}, c-erbB-2 발현과 상반된 관계가 있다^{8,29}. 본 연구에서도 에스트로젠 수용체와 c-erbB-2 발현은 유의한 반비례적 상관 관계를 보였다. 이와 같이 c-erbB-2는 관내 암종에서 나쁜 예후 인자와 관계되어 있으나, 독립적인 임상적 의미는 아직 불확실하다. 본 연구에서는 전 예에서 국소 절제가 아닌 근치적 유방 절제술이 시행되었고, 림프절 전이 및 재발의 예가 적어서 해석에 문제가 있었지만 전이 및 사망 환자의 경우 높은 c-erbB-2 양성율을 보였고 예후 관련 인자인 핵 등급 및 에스트로젠 수용체와 상관 관계가 있는 점은 c-erbB-2 종양 단백질의 임상적 의미를 시사한다.

c-erbB-2의 과발현은 침윤성 암종의 약 20%에 비해 관내 암종 및 파제트 병에서는 평균 50% 및 90%에서 나타난다^{13,16,17,25,30-32}. 이와 같이 c-erbB-2 종양단백의 발현율에 차이가 나는 이유는 확실히 규명되지 않았다. Barnes 등은 침윤성 도관 암종에 적어도 3군이 있어서 첫번째 군은 작은 핵을 지닌 세포로 구성되어 있으며 이들은 체모양 혹은 미세 유두상 관내 암종으로부터 발생했고, 두번째 군은 면포 관내 암종으로부터 발생한 큰 세포들로 구성되어 있으며, 세번째 군은 다양한 핵의 크기를 보이고 반수 이상에서 증식률은 높으나 c-erbB-2를 발현시키지 않는 군인데 이 중 세번째 군이 아주 짧은 in situ 시기를 거쳐 빨리 침윤성 암종으로 되어 순수한 관내 암종으로 남아 있는 빈도가 적기 때문에 침윤성 도관 암종에서 c-erbB-2 종양단백의 발현이 떨어진다고 가정하였다¹⁸. 또 다른 설명은 침윤성 암종이 de novo로 발생하거나 일부만이 면포 관내 암종에서 발생하고, 혹은 c-erbB-2 종양단백 발현이 병이 진행되는 동안 소실된다는 것이다^{17,33}. 그러나 후자의 가정으로는 파제트 병에서의 높은 c-erbB-2 발현율을 설명하기 어렵다. 본 연구에서도 관내 암종의 45% 및 파제트 병의 88%가 c-erbB-2 과발현을 보였고, 파제트 병의 경우 동반된 관내 암종은 물론 침윤성 암종

도 동일한 양상을 보여 c-erbB-2 발현이 종양 형성의 초기 변화라는 가설에는 맞지 않았다. De Potter 등은 c-erbB-2 종양 단백질이 미세 용모, 위족(pseudopodia)과 같은 세포 운동과 관련된 소기관에 주로 존재함을 밝혔고³⁴, c-erbB-2를 과발현하는 SK-BR-3 유암 배양 세포가 각화세포(keratinocyte)가 분비하는 cytokine에 의해 가족을 형성하여 퍼져나감과 이 현상이 c-erbB-2에 대한 항체에 의해 억제됨을 관찰하였다³⁵. 즉 상피의 각화세포가 운동 인자(motility factor)를 분비하고 이것이 c-erbB-2 종양단백에 대한 특이적인 ligand 역할을 하여 암세포의 상피내 전파를 유도하여 파제트 병이 된다는 것이다³⁶. 이 주장은 상당히 설득력이 있으며 파제트 병에서의 높은 c-erbB-2 과발현을 잘 설명한다. De Potter는 또한 같은 기전으로 c-erbB-2의 역할이 종양의 전이 능력을 항진시킬 것이라고 했으나, c-erbB-2 과발현과 림프절 전이 상태에 관한 결과는 아직 일치성이 없다^{13,15,17}. De Potter 등은 또한 c-erbB-2 과발현과 유방 관내 암종의 크기가 관계 있음을 보고하였고, c-erbB-2 종양 단백질이 도관 내에서도 운동 촉진 효과가 있음을 뒷받침하였다³⁶. 본 연구에서는 종양의 크기와 c-erbB-2 발현율 간에 상관 관계를 찾지 못했으나, 유방 관내 암종의 크기를 정확히 판정하기에는 어려움이 있어서 해석에 문제가 있다. 유방 관내 암종과 파제트 병에서의 높은 c-erbB-2 발현율은 이들 종양이 보이는 상피내 전파 양상과 관계있을 것이라 사료된다.

결 론

유방 관내 암종 54예 및 파제트 병 16예에서 조직학적 검색을 시행하고 c-erbB-2 종양단백에 대한 염색을 시행, 이를 임상상과 맞추어 예후 인자로서의 의미가 있는지를 규명하기 위해 본 연구를 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 유방 관내 암종 및 파제트 병에서 c-erbB-2 발현은 각각 24/54 (45%) 및 14/16 (88%)이었다.
- 2) 유방 관내 암종에서 c-erbB-2 발현이 종양의 핵 등급 및 에스트로젠 수용체 상태와 유관하고 재발 및 사망한 4예 중 3예와 림프절 전이가 있는 5예 중 4예가 c-erbB-2 양성율을 보인 점은 c-erbB-2 종양 단백질의 예후 인자로서의 의미를 제시하였다.
- 3) 파제트 병의 높은 c-erbB-2 발현율과 동반된 관내 암종 및 침윤성 도관 암종의 동일한 소견은 c-erbB-2 단백질이 종양 세포가 전파하는 데 필요한 세포 운동과 관계 있다는 최근의 가설을 뒷받침하였다.

참 고 문 헌

1. Franceschi D, Crowe J, Zollinger R. Breast biopsy for calcification in nonpalpable breast lesions. *Arch Surg* 1990; 125: 170-3.
2. Wilheham MC, Edge SB, Cole PD. Nonpalpable breast cancer. *Ann Surg* 1991; 213: 600-5.
3. Lagios MD. Duct carcinoma in situ. Pathology and treatment. *Surg Clin North Am* 1990; 70: 853-71.
4. Lagios MD, Westdahl PR, Margolin FR, et al. Ductal carcinoma in situ. Relationship of extent of non-invasive disease to the frequency of occult invasion, multicentricity, lymph node metastases, and short term treatment failures. *Cancer* 1982; 50: 1309-14.
5. Ottesen GL, Graversen HP, Blichert-Toft M, et al. Ductal carcinoma in situ of the female breast. Short-term results of prospective nationwide study. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 1183-96.
6. Bellamy COC, McDonald C, Sdalter DM, et al. Non-invasive ductal carcinoma of the breast. The relevance of histologic categorization. *Hum Pathol* 1993; 24: 16-23.
7. Bur ME, Zimarowski MJ, Schnitt SJ, Baker S, Lew R. Estrogen receptor immunohistochemistry in carcinoma in situ of the breast. *Cancer* 1992; 69: 1174-91.
8. Poller DN, Snead DRJ, Roberts EC, et al. Estrogen receptor expression in ductal carcinoma in situ of the breast: relationship to flow cytometric analysis of DNA and expression of c-erbB-2 oncoprotein. *Br J Cancer* 1993; 68: 156-61.
9. Schechter AL, Hung M-C, Vaidyanathan, et al. The neu gene: an erbB-homologous gene distinct from and unlinked to the gene encoding the EGF receptor. *Science* 1985; 229: 976-8.
10. Fukushige S-I, Matsubara K-I, Yoshida M, et al. Localization of a novel v-erbB-related gene, c-erbB-2, on human chromosome 17 and its amplification in a gastric cancer cell line. *Mol Cell Biol* 1986; 6: 955-8.
11. De Potter CR, Quatacker J, Maeryms G, et al. The subcellular localization of the neu protein in human normal and neoplastic cells. *Int J Cancer* 1989; 44: 969-74.
12. Ali IU, Campbell G, Lidereau R, et al. Amplification of c-erbB-2 and aggressive human breast tumors. *Science* 1988; 240: 1795-6.
13. Berger MS, Locher GW, Saurer S, et al. 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.
14. 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.
15. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer. Correlation of relapse and survival with amplification of HER-2/neu oncogene. *Science* 1987; 235: 177-82.
16. Gusterson BA, Machin LG, Gullick WJ, et al. Immunohistochemical distribution of c-erbB-2 in infiltrating and in situ breast cancer. *Int J Cancer* 1988; 42: 442-517.
17. Van de Vijver MJ, Peterse JL, Moor WJ, et al. Neu-protein overexpression in breast cancer: association with comedo-type ductal carcinoma in situ and limited prognostic value in stage II breast cancer. *N Engl J Med* 1988; 319: 1239-45.
18. Barnes DM, Bartkova J, Camplejohn RS, Gullick WJ, Smith PJ, Millis RR. Overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein: Why does this occur more frequently in ductal carcinoma in situ than in invasive mammary carcinoma and is this of prognostic significance? *Eur J Cancer* 1992; 28: 644-8.
19. Patchefsky AS, Schwartz GF, Finkelstein SD et al. Heterogeneity of intraductal carcinoma of the breast. *Cancer* 1989; 63: 731-41.
20. Fisher Er, Redmoher B. Histologic grading of breast cancer. *Pathol Annu* 1980; 15: 239-51.
21. Page DL, Dupont WD, Rogers LW, et al. Intraductal carcinoma of the breast: follow-up after biopsy only. *Cancer* 1982; 49: 751-8.
22. Rosen PP, Braun DW Jr., Kinne DE. The clinical significance of pre-invasive breast carcinoma. *Cancer* 1980; 46: 919-25.
23. Bae JW, Koo BH. Ductal carcinoma in situ of the breast. *J Korean Cancer Ass* 1995; 27: 419-25.
24. Locker AP, Horrocks C, Gilmour AS et al. Flow cytometric and histologic analysis of ductal carcinoma in situ of the breast. *Br J Surg* 1990; 77: 564-7.
25. Bartkova J, Barnes DM, Millis RR, Gullick WJ. Immunohistochemical demonstration of c-erbB-2 protein in mammary ductal carcinoma in situ. *Hum Pathol* 1990; 21: 1164-7.
26. Potter CR, Schelfhous A-M, Verbeeck P, et al. neu overexpression correlates with extent of disease in large cell ductal carcinoma in situ of the breast. *Hum Pathol* 1995; 26: 601-6.
27. Giri DD, Dundas SAC, Nottingham JF, Underwood

- JCE. Estrogen receptors in benign epithelial lesions and intraductal carcinomas of the breast: an immunohistological study. *Histopathology* 1989; 15: 575-84.
28. Barnes R, Masood S. Potential value of hormone receptor assay in carcinoma in situ of breast. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 533-7.
29. Leal CB, Schmitt FC, Bento MJ, Maia NC, Lopes CS. Ductal carcinoma in situ of the breast. Histologic categorization and its relationships to ploidy and immunohistochemical expression of hormone receptor, p53 and c-erbB-2 protein. *Cancer* 1995; 75: 2123-31.
30. Wolber RA, Dupuis BA, Wick MR. Expression of c-erbB-2 oncoprotein in mammary and extramammary Paget's disease. *Am J Clin Pathol* 1991; 96: 243-7.
31. Lammie GA, Barnes DM, Millis RR, Gullick WJ. An immunohistochemical study of the presence of c-erbB-2 protein in Paget's disease of the nipple. *Histopathology* 1989; 15: 505-14.
32. Meissner K, Riviere A, Haupt G, Loning T. Rapid communication study of neu-protein expression in mammary Paget's disease with and without underlying breast carcinoma and in extramammary Paget's disease. *Am J Pathol* 1990; 137: 1305-9.
33. Allred DC, Clark GM, Molina R, et al. Overexpression of HER-2/neu and its relationship with other prognostic factors change during the progression of in situ to invasive breast cancer. *Hum Pathol* 1992; 23: 974-9.
34. De Potter CR, Quatacker J. The p185^{c-erbB-2} protein is localized on cell organelle involved in cell motility. *Clin Exp Metastasis* 1993; 11: 462-72.
35. De Potter CR, Eeckhout I, Geerts M-L et al. Keratinocyte induced chemotaxis in the pathogenesis of Paget's disease of the breast. *Histopathology* 1994; 24: 349-56.
36. De Potter CR. The neu-oncogene. More than a prognostic indicator? *Hum Pathol* 1994; 25: 1264-8.
-