

## 난소암종의 DNA 배수성과 *c-erbB-2* 암유전자 발현에 관한 연구

서남의대 병리학교실 및 전남의대 병리학교실\*

정 종 재 · 박 창 수\* · 정 상 우\*

### A Study on the DNA Ploidy and Expression of *c-erbB-2* Oncogene in the Ovarian Carcinomas

Jong Jae Jung, M.D., Chang Soo Park, M.D.\* and Sang Woo Juhng, M.D.\*

Department of Pathology, Seonam University College of Medicine  
Department of Pathology, Chonnam University Medical School\*

To evaluate the relationships among the *c-erbB-2* oncogene expression, DNA ploidy and other prognostic factors, an immunohistochemical study of the *c-erbB-2* oncogene product and flow cytometric analysis of DNA ploidy were performed in paraffin sections of 42 cases of ovarian carcinomas. The results were as follows :

- 1) The positive reaction for *c-erbB-2* oncogene product was observed mainly along the cytoplasmic membrane, and occasionally within the cytoplasm of the tumor cells.
- 2) Overall the positivity of *c-erbB-2* oncogene expression was 45.2% of the ovarian carcinomas. By the histological types, the positivity was 35.7% in serous carcinoma, 80.0% in mucinous carcinoma, and 45.2% in endometrioid carcinoma; by the degree of differentiation, 57.1% in well differentiated carcinoma, 40.0% in moderately differentiated, and 27.3% in poorly differentiated; by the nuclear grading, 58.3% in grade I, 52.6 % in grade II, and 18.2 % in grade III; and by the clinical staging, 57.1% in stage I, 42.8% in stage II, and 35.0% in stage III. The expression of the *c-erbB-2* oncogene in the ovarian carcinomas was higher in the tumors of good differentiation, of the lower nuclear grade and of the lower clinical stage.
- 3) The incidence of DNA aneuploidy in the cases positive for the *c-erbB-2* oncogene expression(47.3%) was higher than that in the negative cases(31.4%).

From the above results, therefore, it is suggested that the *c-erbB-2* oncogene may be involved in the early stage of ovarian carcinogenesis. Also suggested is that ovarian carcinomas positive for the *c-erbB-2* oncogene in the early stages may have higher probability of having a DNA aneuploid cell line during the progress of the tumors. (Korean J Pathol 1997; 31: 15~22)

**Key Words:** Ovarian carcinoma, Ploidy, *c-erbB-2*, Carcinogenesis

## 서 론

난소암종의 예후인자로는 임상적 병기와 종양적 출혈후 종양의 잔존여부등이 가장 중요한 것으로 알려져 있으며<sup>1</sup> 그외에도 환자의 나이, 건강상태, 조직학적 유형, 조직학적 등급, 스테로이드 호르몬 수용체의 존재여부나<sup>2</sup> 유식세포분석기에 의한 종양세포의 배수성<sup>3-5</sup> 등이 예후와 밀접한 관련이 있다고 알려져 있다.

최근들어 암발생의 원인을 규명하는데 분자생물학과 암유전자의 개념이 도입되면서 암유전자의 생물학적 역할에 대한 관심이 높아지고 있으며 여러 종양에서 이러한 암유전자의 발현과 예후와의 상관성에 대한 연구들<sup>6-8</sup> 이 보고되고 있다. 특히 protein kinase를 활성화 시키는 암유전자중의 하나인 *c-erbB-2* 암유전자<sup>9,10</sup>의 발현과 환자의 예후 및 림프절 전이 여부간에 연관성이 있다고 보고되고 있다<sup>11-13</sup>. 그러나 *c-erbB-2* 암유전자에 대한 연구는 대부분 유방암에 국한되어 있고 난소암에서의 연구는 드물며 특히 최근 독립적인 예후의 지표로 많이 이용되고 있는 DNA 배수성과의 상관성에 관한 연구는 거의 없다.

이에 저자들은 난소암종 42예를 대상으로 *c-erbB-2* 암유전자의 발현양상을 관찰하고 각예의 DNA 배수성 및 다른 예후인자들과의 상관성을 규명할 목적으로 본 연구를 시도하였다.

## 재료 및 방법

전남대학교 병원에서 외과적으로 적출된 난소암종 조직중 파라핀 포매체의 보존상태가 양호한 42예를 대상으로 각각 조직학적 유형 및 분화정도, 병기등을 조사하고 *c-erbB-2* 암유전자 산물에 대한 면역조직화학적 염색과 유식세포 측정기에 의해 DNA 배수성 패턴을 측정하였다.

### 1. 조직학적 검색 및 병기

통상적인 헤마톡실린-에오신 염색하에서 조직학적 유형을 구분하였고 조직학적 등급은 FIGO(International Federation of Gynecology and Obstetrics)<sup>14</sup>의 기준에 따라 전체 종양중 고형성분이 10% 이하이면 고분화, 50% 이상이면 저분화 그리고 10% 이상 50% 이하이면 중등도 분화로 정의하였고, 핵의 동일성(uniformity), 염색질 양상 그리고 핵소체의 유무와 성상에 따라 3가지 핵등급으로 구분하였다. 병기는 FIGO의

기준에 따라 난소에 국한된 경우를 stage I, 골반강 내에 국한된 경우를 stage II, 골반강을 넘어서 복강 내나 후복강에까지 전이된 경우는 stage III, 그리고 원격전이가 있는 경우를 stage IV로 구분하였다.

### 2. 면역조직화학적 염색

10% 중성 완충 포르말린 용액에 고정시킨 조직의 포매체를 3 $\mu$ m 두께로 박절한 후 탈파라핀과 탈수과정을 거쳐 조직항원이 잘 노출될 수 있도록 1X Automation buffer(Biomedica Co.)에 조직절편을 40°C에서 3분간 부치시켰다. *c-erbB-2*에 대한 항체인 anti-*c-erbB-2* 항체(Triton Co.)를 항체 희석액(Biomedica Co.)으로 20배 희석하여 9분간 부치시키고 완충액으로 수세하였다.

일차항체의 검출을 위한 이차항체는 biotin이 부착된 universal antibody(Biomedica Co.)를 이용하여 4분간 부치시킨 후 완충액으로 수세하였고 avidin alkaline phosphatase를 4분간 부치하였다. 완충액으로 수세한 후 Fast Red TR Salt를 이용하여 발색시켰으며 hematoxylin으로 대조 염색을 하였다. 염색의 전과정은 MicroProbe System(Biomedica Co.)을 이용하였고 음성 대조군은 일차항체 대신 항체 희석액만을 이용하였다.

### 3. DNA배수성 패턴 측정

Hedley등<sup>15</sup>의 방법을 다소 변형시켜 단일세포 부유액을 만들었다. 파라핀 포매조직중 출혈이나 괴사가 없는 부위를 선택하여 조직 박절기로 70  $\mu$ m 두께의 절편을 만들어 탈파라핀과 함수 과정을 거친 후 0.1% protease(Sigma Co.) 용액에 60분간 37°C에서 부치시켰으며 부치도중 5분, 10분, 20분, 30분 및 60분에 부치액을 주사기로 흡입 및 분출시켜 개개 세포의 유리를 촉진시켰다. 여과액내의 유리세포수가  $2 \times 10^5$ /ml가 되도록 조정하여 최종 부유액을 만들어서 trypsin으로 10분간 실온에서 부치시키고 trypsin inhibitor와 RNase로 10분간 실온에서 작용시킨 후 0.416% propidium iodide와 spermine tetrahydrochloride로 20분간 4°C에서 핵의 DNA를 염색하였다<sup>16</sup>.

염색된 단일세포 부유액을 15mW Argon-ion laser가 부착된 FACScan(Becton Dickinson) 유식세포측정기를 이용하여 각 세포핵의 DNA 함량을 측정하였다. 측정시의 excitation wave length는 488 nm이고 emission wave length는 585 nm이었으며 각 증례마다 20,000개 이상의 세포를 측정하였다. DNA aneuploidy는 비정상적인 "DNA stem line"이 존재함으로써 적어도 2개 이상의 분리된 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 피크가 나타나는 경

우로 하였다.

4. 통계학적 분석

면역조직화학적으로 검색한 c-erbB-2 암유전자 산물 양성률과 유식세포 측정기로 측정한 DNA 배수성 패턴과 다른 예후인자들 간의 유의성은 Micro STAT Software를 이용하여  $\chi^2$ -test로 검정하였다.

성 적

1. 조직학적 검색

42예의 난소암종중 장액성 암종이 24예, 점액성

암종이 10예, 자궁내막양 암종이 8예였다. 분화도에 따라서는 고분화암종이 21예였고 중등도분화 암종이 10예, 저분화 암종이 11예였으며, 핵의 이형성에 따른 등급으로는 grade I 12예, grade II 19예, grade III 11예였고 임상병기에 따라서는 stage I 14예, stage II 7예, stage III 20예, stage IV 1예였다(Table 1).

2. 면역조직화학적 검색

c-erbB-2 암유전자 산물에 대한 양성반응은 주로 암세포의 세포막을 따라 강한 적색의 과립상으로 나타났으며(Fig. 1) 일부 암소의 암세포에서는 세포

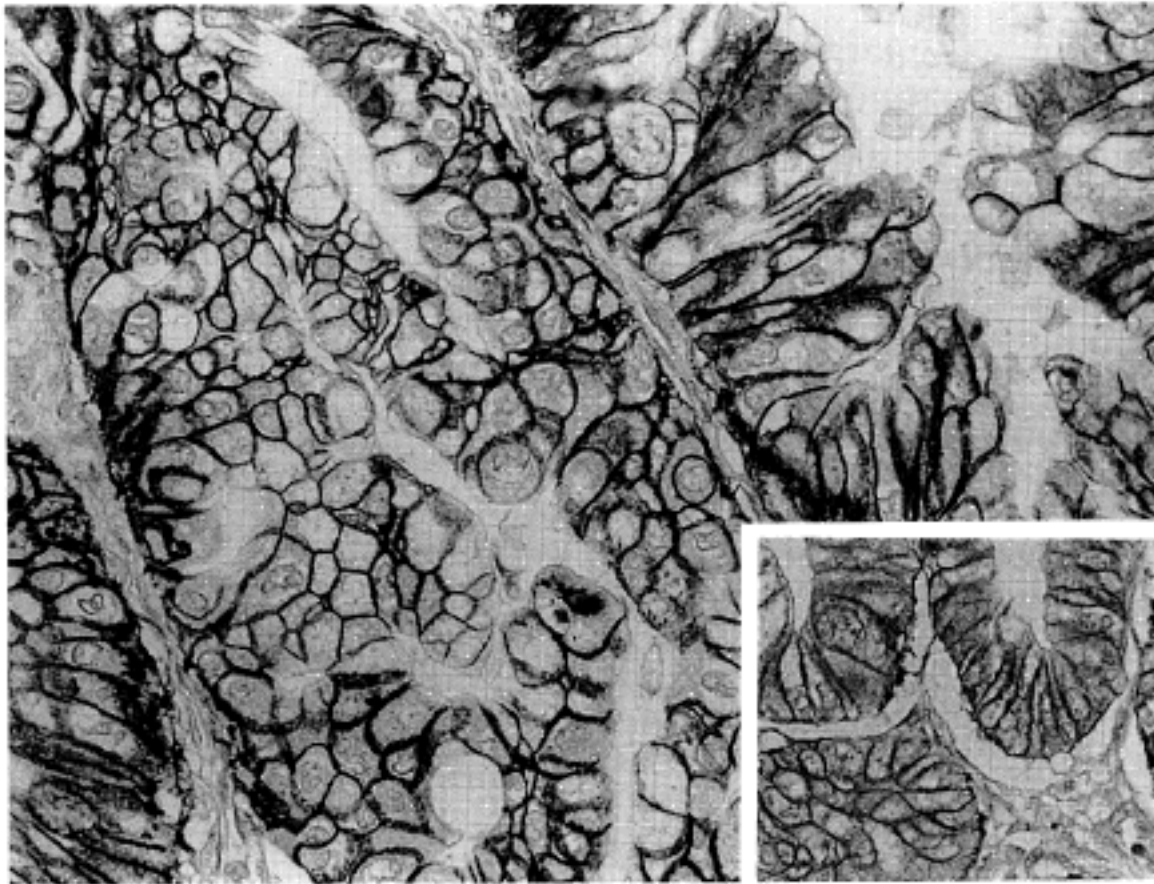


Fig. 1. In immunohistochemical staining of c-erbB-2 oncoprotein, most of the tumor cells reveal intense granular staining along the cytoplasmic membrane, and some of the tumor cells show diffuse staining within the cytoplasm (Inset).

Table 1. Histopathological types of the ovarian carcinomas

Histological type(No. of case)	Differentiation			Nuclear grade			Stage			
	Well	Mod.	Poor	I	II	III	I	II	III	IV
Serous (24)	10	6	8	3	12	9	7	4	12	1
Mucinous(10)	7	3	0	9	1	0	7	1	2	0
Endometrioid(8)	4	1	3	0	6	2	0	2	6	0
Total(42)	21	10	11	12	19	11	14	7	20	1

Well : Well differentiated

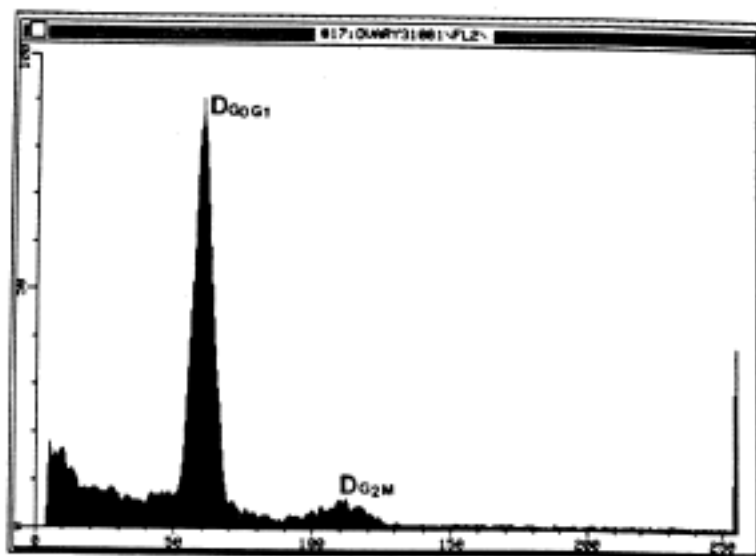
Mod. : Moderately differentiated

Poor : Poorly differentiated

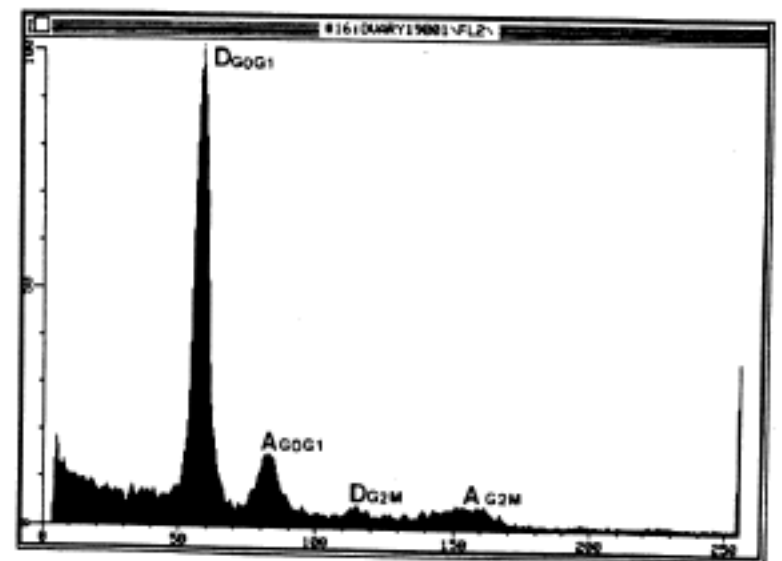
**Table 2.** *c-erbB-2* positivity according to the histological types, differentiation, nuclear grade and clinical stage of the ovarian carcinomas

	Serous	Mucinous	Endometrioid	Total
<i>Differentiation</i>				
Well diff.	4/10(40.0%)	6/7(85.7%)	2/4(50.0%)	12/21(57.1%)
Mod. diff.	2/6(33.3%)	2/3(66.7%)	0/1(0.0%)	4/10(40.0%)
Poorly diff.	3/8(37.5%)	0	0/3(0.0%)	3/11(27.3%)
Total	9/24(37.5%)	8/10(80.0%)	2/8(25.0%)	19/42(45.2%)
<i>Nuclear Grade</i>				
Grade I	0/3(0.0%)	7/9(77.8%)	0	7/12(58.3%)
Grade II	7/12(58.3%)	1/1(100.0%)	2/6(33.3%)	10/19(52.6%)
Grade III	2/9(22.2%)	0	0/2(0.0%)	2/11(18.2%)
<i>Stage</i>				
Stage I	3/7(42.9%)	5/7(71.4%)	0	8/14(57.1%)
Stage II	2/4(50.0%)	1/1(100.0%)	0/2(0.0%)	3/7(42.8%)
Stage III	3/12(25.0%)	2/2(100.0%)	2/6(33.3%)	7/20(35.0%)
Stage IV	1/1(100.0%)	0	0	1/1(100.0%)

\*presented as number of *c-erbB-2* positive cases / number of cases examined



**Fig. 2.** A DNA diploid (D) histogram shows a single G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> peak with the corresponding G<sub>2</sub>M peak.



**Fig. 3.** A DNA aneuploid (A) histogram shows one diploid and another aneuploidy G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> populations and the corresponding G<sub>2</sub>M populations.

질내에서도 양성반응을 관찰할 수 있었다. 또한 양성반응은 많은 예에서 미만성으로 관찰되었으며, 일부 예에서는 쫓점형으로 관찰되거나 부분적으로 양성반응의 강도가 다르게 나타나는 예도 있었다.

전체 42예중 양성반응은 19예(45.2%)에서 관찰되었는데 조직학적 유형에 따른 양성반응은 장액성 암종은 24예중 9예(37.5%), 점액성 암종은 10예중 8예(80.0%), 자궁내막양 암종은 8예중 2예(25.0%)에서

관찰되었으며 분화도에 따라서는 고분화 암종 21예중 12예(57.1%), 중등도분화 암종 10예중 4예(40.0%), 저분화 암종 11예중 3예(27.3%)에서 양성반응이 관찰되었다. 핵등급 grade I에서는 58.3%, grade II에서는 52.6%, grade III에서는 18.2%의 양성률을 보였다. 임상적 병기에 따라서는 stage I의 경우 57.1%, stage II의 경우 42.8%, stage III의 경우 35.0%에서 양성반응을 보였으며 stage IV 1예는 양성반응을 보였다

**Table 3.** Incidence of DNA aneuploidy according to the histological types, nuclear grade and clinical stage of the ovarian carcinomas\*

	Serous	Mucinous	Endometrioid	Total
<i>Differentiation</i>				
Well diff.	1/10(10.0%)	1/7(14.3%)	3/4(75.0%)	5/21(23.8%)
Mod. diff.	2/6(33.3%)	2/3(66.7%)	1/1(100.0%)	5/10(50.0%)
Poorly diff.	4/8(50.0%)	0	2/3(66.7%)	6/11(54.6%)
Total	7/24(29.1%)	3/10(30.0%)	6/8(75.0%)	16/42(38.1%)
<i>Nuclear Grade</i>				
Grade I	0/3(0.0%)	3/9(33.3%)	0	3/12(25.0%)
Grade II	4/12(33.3%)	0/1(0.0%)	5/6(83.3%)	9/19(47.3%)
Grade III	3/9(33.3%)	0	1/2(50.0%)	4/11(36.7%)
<i>Stage</i>				
Stage I	1/7(14.3%)	2/7(28.6%)	0	3/14(21.4%)
Stage II	1/4(25.0%)	0/1(0.0%)	2/2(100.0%)	3/7(42.8%)
Stage III	4/12(33.3%)	1/2(50.0%)	4/6(66.7%)	9/20(45.0%)
Stage IV	1/1(100.0%)	0	0	1/1(100.0%)

\* presented as number of DNA aneuploidy case / number of cases examined

(Table 2).

### 3. DNA 배수성 패턴

DNA 이배수성인 예는 다수의 종양세포가  $G_0/G_1$  피크에 위치하며 종양세포의 20% 미만이 이 피크의 2배수 영역에 위치하는 경우로 42예중 26예(61.9%)가 여기에 해당되었다(Fig. 2).  $G_0/G_1$  피크의 2배수 위치를 벗어난 위치에서 단일피크가 형성된 경우나 여러개의 피크를 형성하는 경우를 DNA 비배수성으로 분류하였으며 총 42예중 16예(38.1%)가 이에 해당되었다(Fig. 3). 종양의 분화도에 따라 고분화 암종은 23.8%, 중등도분화 암종은 50.0%, 저분화 암종은 54.6%에서 DNA 비배수성을 보였으며 핵등급에 따른 DNA 비배수성인 예의 빈도는 grade I에서 25.0%, grade II에서 47.3%, grade III에서 36.7%였고 임상적 병기에 따라서는 stage I 21.4%, stage II 42.8%, stage III 45.0%이었고 stage IV 1예는 DNA 비배수성을 보였다. 조직학적 유형에 따라서는 장액성 암종 29.1%, 점액성 암종 30.0%, 자궁내막양 암종 75.0%에서 DNA 비배수성을 보였다(Table 3).

### 4. c-erbB-2 암유전자 발현과 DNA 배수성의 상관성

전체 42예의 난소암종중에서 c-erbB-2 암유전자

**Table 4.** The relationship between c-erbB-2 positivity and DNA ploidy of the ovarian carcinomas

	Diploidy	Aneuploidy	Total
c-erbB-2 Negative	16	7 (31.4%)	23
c-erbB-2 Positive	10	9 (47.3%)	19

산물에 양성반응을 보이는 19예중 9예(47.3%)가 DNA 비배수성을 보였고 음성반응을 보이는 23예중 7예(31.4%)가 DNA 비배수성을 보여 통계적으로 유의한 상관성은 없었지만 c-erbB-2 암유전자가 발현된 경우의 DNA 비배수성인 예의 비율이 다소 높은 경향을 보였다(Table 4).

임상적 병기가 높아질수록 c-erbB-2 암유전자 산물 양성률은 57.1%, 42.8%, 35.0%등으로 감소하였으나 DNA 비배수성인 예의 비율은 21.4%, 42.8%, 45.0%등으로 증가하는 경향이 있었으며 조직학적 분화도가 좋을수록 c-erbB-2 암유전자 산물의 양성반응은 높았고 DNA 비배수성인 예의 비율은 낮았으며 핵이형성의 정도가 심할수록 c-erbB-2 암유전자 산물의 양성반응은 감소하고 DNA 비배수성인 예의 비율이 증가하는 경향이 있었다.

## 고찰

난소암종의 예후인자로는 임상적 병기<sup>1,17,18</sup>와 종양 적출술 후 종양의 잔존여부<sup>1,18,19</sup>등이 가장 중요하며 그외에도 환자의 나이, 건강상태, 조직학적 유형, 조직학적 분화도<sup>1,20,21</sup>, 스테로이드 호르몬 수용체의 존재여부<sup>2</sup>, DNA 함량분포<sup>3-5</sup>등이 예후와 관련이 있다고 알려져 있으며 최근에는 암유전자 발현과 예후와의 상관성에 관한 연구<sup>8,22,23</sup>가 활발히 진행중이다.

일반적으로 암유전자는 정상세포에서는 비활성화 상태인 원형암유전자(proto-oncogene)로 존재하며<sup>24</sup>, 원형암유전자가 방사능조사 또는 발암물질에 의해 유전자의 돌연변이, 전위 또는 재배열, 증폭등으로 활성화 될 수 있고 이로 인하여 세포의 정상적인 증식제어기능이 상실되어 종양세포로 전환될 수 있다<sup>25,26</sup>.

이중 *c-erbB-2* 암유전자는 ethylnitrosourea로 유발시킨 백서의 신경아세포종에서 점 돌연변이에 의해서 생성된 암유전자 *neu*와 같은 것으로<sup>27</sup>, 17번 염색체에 위치하며 EGFR(*c-erbB-1*)과는 구조적으로 유사하지만 생물학적으로 뚜렷하게 구분되는 tyrosine kinase계의 당단백을 생성하는 것으로 알려져 있다<sup>9,10</sup>. 정상성장이나 종양의 분화에 있어서의 이 유전자의 기능은 아직까지 확실하지는 않지만 여러장기의 선암세포들에서 그 증폭이 증명되고 있으며 특히 유방암<sup>11</sup>, 위암<sup>28</sup>과 난소암<sup>8</sup>에서 유전자의 증폭과 환자의 예후와 상관성이 깊다고 보고되고 있다.

본 연구에서 *c-erbB-2* 암유전자 산물에 대한 양성 반응은 세포막을 따라 강한 적색의 과립으로 관찰되었는데 이는 이 암유전자 산물이 세포막에 존재함을 나타내어 이 유전자 산물이 아직 밝혀지지 않은 성장인자(growth factor)에 대한 transmembrane receptor 일 것이라는 Coussens등<sup>10</sup>의 주장을 뒷받침해 주었으며 일부의 세포들에서는 세포막뿐만 아니라 세포질 내에서도 양성반응을 보였는데 Natall등<sup>29</sup>의 연구에서도 양성반응을 보인 예의 30% 정도에서는 세포질 내에서 양성반응이 관찰되었으며 이것은 암유전자 산물과 binding growth factor ligand의 세포내 이주 또는 생성물반응에 있는 소견으로 생각되었다.

본 연구의 대부분에서는 미만형의 양성반응을 보였고 일부의 암소나 증례에서는 촛점형의 양성반응을 보이거나 양성반응의 정도가 부분별로 차이가 있었는데 이는 종양세포의 이질성에 기인한 것으로 생각되었다.

*c-erbB-2* 암유전자 산물에 대한 양성반응률은 45.2%

로써 20%~33% 정도의 양성률을 나타낸 보고들<sup>8,23,29-31</sup>에 비해 다소 높게 나타났는데 이는 개선된 면역조직화학적 염색방법으로 기존의 염색방법으로 염색되지 않았던 일부 종양세포들이 염색됨으로써 나타난 결과라고 생각된다.

본연구에서 난소암종의 조직학적 유형에 따른 *c-erbB-2* 암유전자 산물 양성반응률은 장액성 암종 35.7%, 점액성 암종 80.0%, 자궁내막양 암종 25.0%로서 통계적으로 유의한 차이가 있었는데( $P < 0.05$ ) 이는 아마도 실험대상에 점액성 암종중 고분화 암종이 많았던 시료 채취의 차이에 기인한 것으로 생각되며 앞으로 더 많은 예를 대상으로 검토해 보아야 할 것으로 사료된다. Berchuck등<sup>23</sup>은 난소암종에서 조직학적 등급에 따른 *c-erbB-2* 암유전자 발현율의 차이는 통계적 유의성이 없다고 보고하였고 Zheng등<sup>31</sup>은 고분화 난소암종에서 *c-erbB-2* 암유전자 발현율이 높다고 보고하였는데 본연구에서는 분화가 좋을수록 *c-erbB-2* 암유전자의 발현율이 높게 나타나는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다.

또 본 연구에서 통계적 유의성은 없지만 핵의 이형성 정도나 임상적 병기가 진행됨에 따라 *c-erbB-2* 암유전자 발현율이 감소하는 경향이 있었는데 이는 *c-erbB-2* 암유전자가 저등급 고분화암의 발생에 관여하며 *c-erbB-2* 암유전자는 발암과정의 초기단계에 관여하는 것으로 생각한 Zheng등<sup>31</sup>의 견해를 뒷받침하는 것으로 생각된다.

DNA 배수성은 많은 종양에서 악성도와 관련성이 있어서 몇몇 종양을 제외하고는 DNA 비배수성인 예에서 악성도가 높은 것으로 보고되고 있다. 이러한 DNA 배수성은 근래에는 유식세포 측정기나 화상분석 장치에 의해서 측정되는데 파라핀 포매조직으로 부터의 측정이 가능해진 이래로 이미 알려진 임상 및 병리학적 정보를 토대로한 후향적 연구가 가능해져서 환자의 예후를 보다 정확하게 추정하는데 많은 도움을 주고있다.

본 연구에서도 파라핀 포매조직에서 유식세포 측정기에 의하여 DNA배수성을 측정한 결과, DNA 비배수성인 예가 16예(38.1%)로 45.2%~78%까지 보고한 다른 사람들<sup>3-5</sup>의 성적 보다는 약간 낮았다. 이는 본 연구의 대상 예중에서 고분화 암종이 많았고 임상적 병기가 낮은 경우가 많았기 때문으로 사료된다. 또한 19예의 DNA 비배수성 종양중 비배수성과 이배수성의 혼합형이 11예나 되었다는 Hamaguchi 등<sup>3</sup>의 보고를 참조하면 동일 종양내에서도 파라핀 블록에 따라 DNA 배수성에 차이가 있을 수 있다고 생각된다.

다른 연구들<sup>3-5,32</sup>에서처럼 본 연구에서도 조직학적 분화도가 낮을수록 DNA 비배수성을보인 예가 많았으나 통계적 유의성은 없었다. 핵등급과 임상적 병기에 따라서도 통계적 유의성은 없었지만 핵등급이 증가하고 병기가 진행됨에 따라 DNA 비배수성인 예가 많아졌다. 본 연구에서 조직학적 유형에 따라서는 DNA 배수성의 차이가 관찰되었는데( $P < 0.05$ ) 이는 자궁내막양 암종이 대부분 stage III에 해당되는 진행성 암종이었기 때문이라고 생각된다.

Bacus등<sup>33</sup>은 유방암에서 c-erbB-2 암유전자 발현과 DNA 배수성과의 상관성을 조사하여 c-erbB-2 암유전자가 발현되는 거의 모든 예가 사배수성 DNA 함량을 갖고 c-erbB-2 암유전자가 발현되지 않는 예는 이배수성 부터 비배수성까지 다양한 DNA 함량을 갖는다고 보고하였으나 난소암종을 대상으로한 본 연구에서는 c-erbB-2 암유전자 발현과 DNA 배수성 사이에 통계적으로 유의한 상관성은 없었고 c-erbB-2 암유전자가 발현된 경우의 DNA 비배수성인 비율이 다소 높은 경향을 보였다. 이는 c-erbB-2 암유전자가 세포분열시 어떤 기전으로 DNA 비배수성 세포주의 발생에 관여하지 않은가 추측하게 해준다.

추후 화상분석기를 이용하여 면역조직화학적 염색상 양성반응의 강도를 측정하여 보면<sup>33,34</sup> c-erbB-2 암유전자 발현과 DNA 배수성과의 상관성이 보다 분명하게 밝혀질 것이며 보다 많은 예를 대상으로 검색을 시행하고 추적조사를 통해 치료반응 여부 및 생존율을 조사하면 난소암 환자의 예후 지표의 하나로 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

전남대학교 병원에서 외과적으로 적출된 난소암 종 42예를 대상으로 c-erbB-2 발현 양상을 관찰하고 각례의 DNA 배수성 및 다른 예후 인자들과의 상관성을 규명할 목적으로 본 연구를 시도하였고 그 결과는 다음과 같다.

1) c-erbB-2 암유전자 산물에 대한 양성반응은 주로 세포막에서 관찰되었으며 일부 암세포에서는 세포질내에서도 관찰되었다.

2) c-erbB-2 암유전자 산물에 대한 양성반응은 전체 난소암종 42예중 19예에서 관찰되어 45.2%의 양성물을 보였으며 조직학적 유형에 따라서는 장액성 암종 24예중 9예(35.7%), 점액성암종 10예중 8예(80.0%), 그리고 자궁내막양 암종 8예중 2예(25.0%)에서 양성 반응을 보였고 조직학적 분화도에 따라서는 고분화 암종 57.1%, 중등도 분화암종 40.0%, 저분화암종

27.3%의 양성물을 보여 분화가 좋을수록 양성물이 높은 경향을 나타냈다. 핵이형성 정도에 따라서는 grade I 58.3%, grade II 52.6%, grade III에서 18.2%의 양성물을 보였으며 임상적 병기에 따라서는 stage I 57.1%, stage II 42.8%, stage III에서 35.0%의 양성물을 보였고, stage IV의 1예는 양성반응을 보였다.

3) c-erbB-2 암유전자 산물에 대해 양성반응을 보인 19예중 9예(47.3%)가 DNA 비배수성을 보였고 음성반응을 보인 경우는 31.4%가 DNA 비배수성으로, c-erbB-2 암유전자 산물에 대해 양성인 경우에 DNA 비배수성인 비율이 더 높았다.

이상의 성적에서 난소암에서의 c-erbB-2 암유전자 발현은 분화가 좋고, 핵이형성이 적으며 임상적 병기가 낮은 경우에 높게 관찰되어 c-erbB-2 암유전자는 난소암 발암 과정의 초기에 관여하는 것으로 사료되었으며 c-erbB-2 암유전자가 발현되면 DNA 비배수성으로 진행할 가능성이 더 높을 것으로 추정되었다.

## 참 고 문 헌

1. Sigurdsson K, Alm P, Gullberg B. Prognostic factors in malignant epithelial ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 1983; 15: 370-80.
2. Iversen OE, Skaarland E, Utaaker E. Steroid receptor content in human ovarian tumors : Survival of patients with ovarian carcinoma related to steroid receptor content. *Gynecol Oncol* 1986; 23: 65-76.
3. Erba E, Ubezio P, Pepe S et al. Flow cytometric analysis of DNA content in human ovarian cancers. *Br J Cancer* 1989; 60: 45-50.
4. Brescia RJ, Barakat RA, Beller U et al. The prognostic significance of nuclear DNA content in malignant epithelial tumors of the ovary. *Cancer* 1990; 65: 141-7.
5. Hamaguchi K, Nishimura H, Miyoshi T et al. Flow cytometric analysis of cellular DNA content in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1990; 37: 219-23.
6. Merkel DE, McGuire WL. Oncogenes and cancer prognosis, in Devita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA(eds): *Important advances in oncology*. Philadelphia, PA, Lippincott, 1988: 103-17.
7. Machotka SV, Garrett CT, Schwartz AM, Callahan R. Amplification of the proto-oncogenes int-2, c-erbB-2 and c-myc in human breast cancer. *Clin Chim Acta* 1989; 184: 207-18.
8. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA et al. Studies of the HER-2/neu Proto-oncogene in human breast and

- ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707-12.
9. Schechter AL, Stern DF, Vaidyanathan L et al. The neu oncogene; an erbB related gene encoding a 185,000-Mr, tumor antigen. *Nature* 1984; 312: 513-6.
  10. Coussens L, Yang-Feng TL, Lino YC et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985; 230: 1132-9.
  11. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ulrich A, McGuire WL. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987; 235: 177-82.
  12. Berger MS, Locher GW, Sauer 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.
  13. Van de Vijver MJ, Peterse JL, Mooi 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.
  14. International Federation of Gynecology and Obstetrics. Classification and staging of malignant tumors in the female pelvis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1971; 50: 1-7.
  15. Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW, Rugg CA, Musgrove EA. Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry. *J Histochem cytochem* 1983; 31: 1333-5.
  16. Vindeloev LL, Christensen IJ, Nissen NI. A detergent-trypsin method for the preparation of nuclei for flow cytometric DNA analysis. *Cytometry* 1983; 3: 323-7.
  17. Aure JC, Hoeg K, Kolstad P. Clinical and histologic studies of ovarian carcinoma : Long-term follow-up of 990 cases. *Obstet Gynecol* 1971; 37: 1-9.
  18. Redman JR, Petroni GR, Saigo PE, Geller NL, Hakes T. Prognostic factors in advanced ovarian carcinoma. *J Clin Oncol* 1986; 4: 515-23.
  19. Griffiths CT: Surgical resection of tumor bulk in the primary treatment of ovarian carcinoma. *Natl Cancer Inst Monogr* 1975; 42: 101-4.
  20. Richardson GS, Scully RE, Nikrui N, Nelson JH Jr. Common epithelial cancer of the ovary. Part I, *N Engl J Med* 1985; 312: 415-24.
  21. Swenerton KD, Hislop TG, Sinelli J, LeRiche JC, Yang N, Boyes DA. Ovarian carcinoma: A multivariate analysis of prognostic factors. *Obstet Gynecol* 1985; 65: 264-9.
  22. van't Veer LJ, Hermens R, Van den Berg-Bakker LA et al. ras oncogene activation in human ovarian carcinoma. *Oncogene* 1988; 2: 157-65.
  23. Berchuck A, Kamel A, Whitaker R et al. Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1990; 50: 4087-91.
  24. Temin HM. The provirus hypothesis: speculation on the significance of RNA-directed DNA synthesis for normal development and for carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst.* 1971; 46: 3-7.
  25. Land H, Parada LF, Weinberg RA. Cellular oncogenes and multistep carcinogenesis. *Science* 1983; 222: 771-8.
  26. Weinberg RA: A molecular basis of cancer. *Sci Am* 1983; 249: 126-42.
  27. Padhy LC, Shih C, Cowing D, Finkelstein R, Weinberg RA. Identification of a phosphoprotein specifically induced by the transforming DNA of rat neuroblastomas. *Cell* 1982; 28: 865-71.
  28. Yonemaru Y, Sugiyama K, Fujimura T et al. Correlation of DNA ploidy and proliferative activity in human gastric cancer. *Cancer* 1988; 62: 1497-502.
  29. Natall PG, Nicotra MR, Bigotti A et al. Expression of the p185 encoded by HER-2 oncogene in normal and transformed human tissues. *Int J Cancer* 1990; 45: 457-61.
  30. Zhang X, Silva E, Gershenson D, Hung MC. Amplification and rearrangement of c-erbB proto-oncogenes in cancer of human female genital tract. *Oncogene* 1989; 4: 985-9.
  31. Zheng J, Robinson WR, Ehlen T, Yu MC, Dubean L. Distinction of low grade from high grade human ovarian carcinomas on the basis of losses of heterozygosity on chromosomes 3, 6, and 11 and HER-2/neu gene amplification. *Cancer Res* 1991; 51: 4045-51.
  32. Barnabei VM, Miller DS, Bauer KD, Murad TM, Rademaker AW, Lurain JR. Flow cytometric evaluation of epithelial ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 1584-92.
  33. Bacus SS, Bacus JW, Slamon DJ, Press MF. HER-2/Neu Oncogene Expression and DNA ploidy analysis in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 1990; 114: 164-9.
  34. Bacus SS, Flowers JL, Press MF, Bacus JW, McCarty KS Jr. The evaluation of estrogen receptor in primary breast carcinoma by computer-assisted image analysis. *J Clin Pathol* 1988; 90: 233-9.