*The Korean Journal of Pathology*
*2004; 38: 408-14*

# 침윤성 유방암종과 관내암종에서 Cathepsin D 발현의 차이

윤혜경 · 정수진

인제대학교 의과대학 부산백병원 병리과

**접 수 :** 2004년 10월 6일
**게재승인 :** 2004년 11월 18일

**책임저자 :** 윤 혜 경
우 614-735 부산광역시 부산진구 개금동 633-165
부산백병원 병리과
전화: 051-890-6628
Fax: 051-893-9322
E-mail: pathyoon@inje.ac.kr

*본 논문은 2002년도 인제대학교 학술연구조성비의 지원으로 이루어졌음.

## The Difference of Cathepsin D Expression between Invasive Ductal Carcinoma and Ductal Carcinoma In Situ of the Breast

**Hye-Kyoung Yoon and Soo Jin Jung**

Department of Pathology, Pusan Paik Hospital, College of Medicine, Inje University, Busan, Korea

**Background :** It is known that cathepsin D expression in host stromal cells is associated with a more aggressive tumor behavior in breast cancers. **Methods :** Cathepsin D expression was examined in 222 cases of invasive ductal carcinoma (CA) and 25 cases of ductal carcinoma in situ (DCIS) by the immunohistochemical staining. Cathepsin D expression was evaluated according to the expression site, either in the tumor cells (CD-T) or in the stromal cells (CD-S), and graded according to the immunopositivity. The differences of CD-T and CD-S in each case were evaluated according to the pathologic parameters and estrogen receptor (ER)/progesterone receptor (PR) status. **Results :** The rate of CD-S was significantly higher in the CA than in the DCIS ($p<0.0001$). In the CA, the rate of CD-S was higher than that of CD-T, while in the DCIS, the rate of CD-T was higher than that of CD-S. In the CA, the rate of CD-S and the tumor grade showed a positive relationship ($p=0.0281$). There were positive correlations between the ER positivity and CD-S ($p=0.0236$), and between the PR positivity and CD-T ($p=0.0246$). For the DCIS, no significant relationships were noted between the pathologic parameters including ER/PR status and CD-T/CD-S. **Conclusions :** Cathepsin D expression in the stromal cells seems to be related to the invasiveness and aggressive biological behavior in breast cancers. In addition, there might be some relationship betweeen the ER positivity and CD-S, and between the PR positivity and CD-T.

**Key Words :** Cathepsin D; Estrogen receptor; Progesteron receptor; Breast cancer

Cathepsin D 유전자는 11번 염색체의 단완에 위치하며 H-ras 유전자 가까이에 있다. 1979년 Westley와 Rochefort[1]는 유방암 세포주인 MCF-7에서 에스트로겐에 의해 유도되어 분비되는 물질인 cathepsin D를 처음으로 보고하였다. 이후 유방암의 예후인자로서 cathepsin D의 중요성에 대한 연구가 있었으나 여전히 논란이 많다. 최근 보고에 의하면 cathepsin D는 예후인자로서 이중성을 보인다. 즉, 림프절 음성인 환자에서는 좋은 예후인자로 더 이상 치료가 필요 없음을 나타내지만, 림프절 양성인 환자에서는 병이 진행할 위험성이 높은 것을 나타내는 불량한 예후인자로서 보다 공격적인 화학요법이 필요하다고 하였다.[2]

유방암종 조직에서 cathepsin D 발현율은 보고자에 따라 44% 이상에서 90%까지 다양한데,[3] 이러한 차이는 연구자에 따라 연구방법과 cut-off치가 다르기 때문일 것으로 추정되고 있다.[4,5] Cathepsin D 발현은 면역조직화학 검사와 immunoassay법으로 조사한다. 종양 조직에서 cathepsin D를 면역조직화학 염색으로 조사하면 cathepsin D 발현 부위를 확인할 수 있는 장점이 있다. 그러나 이 방법은 종양의 이질성, 조직 고정에 의한 항원의 변화, 종양세포의 염색강도에 대한 객관적인 측정의 부족때문에 제한이 있으며,[4] immunoassay법으로는 cathepsin D의 발현 부위를 구별할 수 없다.[6] 이러한 cathepsin D 발현에 대한 연구 방법의 차이때문에 cathepsin D의 예후인자로서의 의의에 대해 이견이 있었던 것으로 생각된다.[2]

근래에 들어 유방암종 조직에서 cathepsin D 발현 부위가 예후와 연관성이 있다고 보고되었는데,[6-8] Gonzalez-Vela 등[6]은 종양 주변 기질세포의 cathepsin D 발현이 종양의 생물학적 악성도와 신생혈관 생성능과 연관성을 보인다고 하였다. 그리고 Visscher 등[7]은 종양세포의 cathepsin D 발현보다 종양 주변 기질에 있는 섬유모세포의 cathepsin D 발현이 전이와 연관성이 높다고 하였다. Okamura 등[9]은 종양세포, 주변 기질, 양측 모두를 포함하는 종양 전체의 cathepsin D 발현(이하 CD-total) 세가지 모두 유방암에서 의의 있는 표지자이며, 검출 방법과 무관하게 CD-total이 분화도, 증식능, 유사분열지수, epidermal growth fac-

tor receptor (EGFR), 림프절 전이와 연관을 보이므로 CD-total이 예후인자로 의의가 있다고 보고하였다.

이에 본 연구는 침윤성 및 비침윤성 유방암종 조직을 대상으로 cathepsin D에 대한 면역조직화학 검사를 실시하여 종양세포와 종양 주변 기질에서 cathepsin D 발현을 반정량적으로 판독한 후, cathepsin D 발현 부위 및 발현 정도와 환자의 연령, 종양의 크기, Scarff-Bloom-Richardson법에 의한 종양의 분화도, 림프절 전이 유무, estrogen receptor (ER)/progesterone receptor (PR) 발현과의 연관성을 분석하여 cathepsin D 발현의 임상적 의의를 알아보고자 하였다.

## 재료와 방법

### 재료

2000년 1월부터 2001년 12월까지 종괴절제술 및 유방절제술 후 부산백병원 병리과에 의뢰되어 관내암종 및 침윤성 유방암종으로 진단된 247예를 대상으로 하였다. 이 중 관내암종은 25예였고, 침윤성 유방암종은 222예였다. 그리고 이 중 215예는 일반형이었으며, 소엽성 암종 5예, 점액성 암종 1예, 관상 암종 1예가 포함되었다.

### 방법

#### 임상적 및 병리학적 인자

임상 병력지를 참고로 환자들의 연령을 조사하여, 50세 이상인 경우와 50세 미만인 경우로 구분하였다. 그리고 림프절 전이 정도에 따라 음성, 1-3개 림프절 전이 양성인 군, 4개 이상 림프절 전이 양성인 군으로 대별하였다. 종양의 크기는 2.0 cm 이하, 2.1-5.0 cm, 5.1 cm 이상인 경우로 구분하였다. 통상의 방법으로 제작된 H&E 염색 표본을 광학현미경으로 관찰하여 변형된 Scarff-Bloom-Richardson grading system에 의하여 조직학적 소견 및 핵 등급 기준에 따라 점수를 매겨 조직학적 분화도를 고분화군, 중등도 분화군, 저분화군으로 구분하였다. ER 및 PR 발현은 발현 강도와 발현 정도에 따라 반정량적으로 판독하였으며, 10% 이상의 핵에서 중등도 이상의 강도를 보이면 양성으로 판독하였다.

#### 면역조직화학검사

각 증례당 보존 상태가 양호한 한 개의 파라핀 포매 조직을 선택하여 5 $\mu$m 두께의 절편을 얻어 organic silane으로 처리된 유리슬라이드에 부착시키고 60℃에서 4시간 동안 방치하였다. 그 다음 100% 크실렌으로 파라핀을 제거하고 100%, 90%, 75% 알코올로 처리한 후 증류수로 함수시켰다. 파라핀 고정으로 조직 내 감추어진 항원을 노출시키기 위해 citric acid 용액에 담근 다음 극초단파를 이용하여 10분간 처리하는 과정을 3회 반복하고 30분간 실온에 두었다. 내인성 과산화효소를 억제시키기 위해 3% 과산화수소수로 10분간 처리한 후 증류수로 수세하였다. 이후의 과정은 labelled streptavidine biotin (LSAB) kit (DAKO, Carpinteria, US)를 이용하여 시행하였다. 20분간 정상양혈청을 처리한 후 rabbit anti-human cathepsin-D immunoglobulins (DAKO, Carpinteria, US)을 처리하여 실온에서 2시간 동안 반응시켰고, Tris-buffered saline (TBS) (DAKO, Carpinteria, US)로 수세하였다. 이차 항체인 biotinylated anti-rabbit, anti-mouse, anti-goat immunoglobulins를 처리하여 실온에서 30분간 두었다. 그리고 TBS로 수세하고 peroxidase-labelled streptavidin (DAKO, Carpinteria, US)을 실온에서 30분간 반응시킨 후 TBS로 수세하였으며, diaminobenzidine (DAB) (DAKO, Carpinteria, US)로 1-10분간 실온에서 발색시켰다. Mayer's hematoxylin으로 대조염색하고 봉입하였다.

Cathepsin D 면역조직화학 염색의 결과는 종양 및 주변 기질세포의 세포질에서 발현되는 것을 따로 관찰하였으며, 각각 황갈색의 굵은 과립상을 보이면 양성으로 해석하였다. Cathepsin D 발현 부위에 따라 종양세포에서 발현을 보이면 CD-T로, 기질세포나 대식세포에서 발현을 보이면 CD-S로 표시하였다. 그리고 발현정도에 따라 10% 미만이면 음성으로, 10-50%에서 발현을 보이면 약한 발현(1점), 50% 이상이면 강한 발현(2점)으로 구분하였다. 각 증례의 CD-T와 CD-S 발현 점수를 합하여 CD-total로 정하였으며, 0점이면 CD-total 음성, 2점 이하는 약한 발현으로, 3-4점은 강한 발현으로 표시하였고, 각 증례에서 CD-T와 CD-S를 비교하여 CD-T>CD-S, CD-T=CD-S, CD-T<CD-S로 표시하였다.

#### 통계학적 처리

관내암종과 침윤성 암종 간 CD-T, CD-S, CD-total 발현의 차이와 각 증례별 CD-T와 CD-S 발현의 차이를 통계학적으로 분석하였다. 관내암종과 침윤성 암종에서 CD-T, CD-S, CD-total 발현의 차이와 각 증례별 CD-T와 CD-S 발현의 차이에 따른 환자의 연령, 종양의 크기, 조직학적 분화도, 액와 림프절 전이 정도, ER 및 PR 발현의 차이의 연관성을, chi-square 검정법 및 Fisher's exact test로 분석하였다. 유의 수준은 0.05 이하로 하였다.

## 결 과

### 관내암종과 침윤성 유방암종의 cathepsin D 발현 양상의 비교

침윤성 유방암종과 관내암종에서 CD-T 강양성인 빈도는 20.3%, 24.0%로서, 종양세포의 cathepsin D 발현율의 차이는 없었

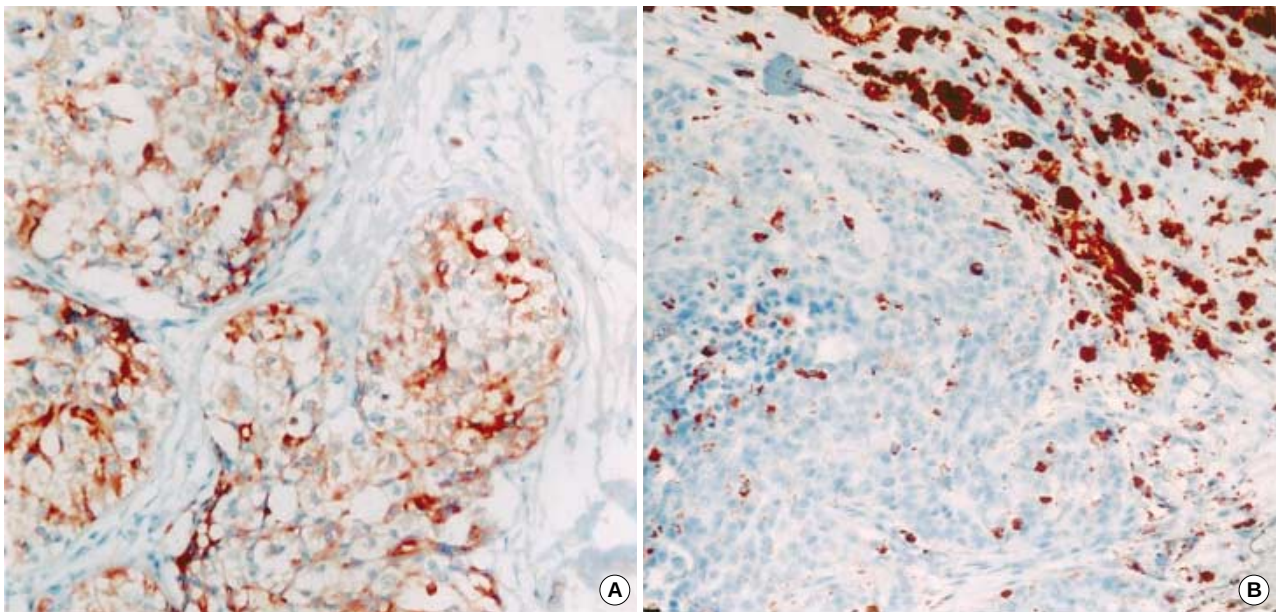


Fig. 1. (A) In ductal carcinoma in situ, the tumor cells are strongly positive for cathepsin D, while the stromal cells are negative for cathepsin D. (B) Strong positive reaction for cathepsin D is noted in the stromal cells of invasive ductal carcinoma.

Table 1. Cathepsin D expressions in tumor cells and stromal cells

| | CD-T | | | | CD-S | | | CD-total | | | CD-T vs CD-S | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | No. | Neg | weak (%) | strong (%) | Neg | weak (%) | strong (%) | Neg | weak (%) | strong (%) | CD-T> CD-S | CD-T= CD-S | CD-T< CD-S |
| CA | 222 | 82 | 95 (42.8) | 45 (20.3) | 42 | 50 (22.7) | 130 (58.6) | 49 | 70 (31.5) | 103 (41.4) | 28 (12.6) | 54 (24.3) | 126 (56.7) |
| DCIS | 25 | 6 | 13 (52.0) | 6 (24.0) | 16 | 3 (12.0) | 6 (24.0) | 15 | 3 (12.0) | 7 (28.0) | 15 (60.0) | 3 (12.0) | 4 (16.0) |
| Total | 247 | 88 | 112 (45.3) | 51 (20.6) | 58 | 53 (21.5) | 136 (55.1) | 64 | 73 (29.6) | 110 (44.5) | 43 (17.4) | 57 (23.1) | 130 (52.6) |
| p-value | | | 0.4349 | | | < 0.0001 | | | < 0.0002 | | | < 0.0001 | |

CD-T, cathepsin D expression in tumor cells; CD-S, cathepsin D expression in stromal cells; CD-total, sum of CD-T and CD-S expression; CA, invasive ductal carcinoma; DCIS, ductal carcinoma in situ; Neg, negative.

다. 그러나 침윤성 유방암종에서 CD-S 강양성인 빈도는 58.6%, 관내암종은 24.0%로서, 침윤성 유방암종 조직의 주변 기질에서 cathepsin D가 강한 발현을 보이는 빈도가 통계학적으로 유의하게 높았다(p<0.0001)(Fig. 1). CD-total이 강양성인 빈도 역시 침윤성 유방암종에서는 41.4%, 관내암종은 28.0%로서, 침윤성 유방암종에서 CD-total 강양성인 빈도가 통계학적으로 유의하게 높았다(p<0.0002)(Table 1). CD-S와 CD-T 발현의 차이를 비교한 결과, 침윤성 암종의 경우 CD-S>CD-T 발현이 222예 중 126예 (56.7%)로서 CD-S<CD-T 발현(12.6%)보다 많았다. 그러나 관내암종에서는 CD-T>CD-S 발현이 25예 중 15예(60.0%)로 CD-T<CD-S 발현(16.0%)에 비해 현저하게 많았다(Table 1).

### Cathepsin D 발현과 임상병리학적 인자의 연관성

침윤성 유방암종에서 CD-T 발현과 CD-total은 환자의 연령, 종양의 크기, 조직학적 분화도 및 림프절 전이 정도와 통계학적으로 유의한 연관성이 없었다. 침윤성 유방암종의 CD-S 발현 역시, 환자의 연령, 종양의 크기 및 림프절 전이 정도와 연관성을 보여주지 않았다. 그러나 침윤성 유방암종에서 CD-S 발현은 조직학적 분화가 중등도 이상으로 분화가 좋지 않은 예에서 분화가 좋은 예에 비해 통계학적으로 유의하게 증가하였다(p=0.0281). 침윤성 유방암종에서 CD-total 발현과 환자의 연령, 종양의 크기, 조직학적 분화도 및 림프절 전이 정도는 통계학적으로 유의한 연관성이 없었다. 침윤성 유방암종 중 분화가 좋은 예에서 CD-T>CD-S 발현이 많은 반면, 분화가 좋지 않은 예에서 CD-T<CD-S 발현이 많았다. 그 차이는 통계학적으로 유의하였다(p=0.0003). 그러나 CD-T 및 CD-S 발현의 차이에 따른 환자의 연령, 종양의 크기 및 림프절 전이 정도와 통계학적으로 유의한 연관성이 없었다(Table 2). 관내암종에서 환자의 연령, 종양의 크기 및 분화도에 따른 CD-T, CD-S, CD-total 발현 및 CD-S와 CD-T 발현은 유의한 차이가 없었다(Table 3).

Table 2. Relationship between clinicopathologic parameters and cathepsin D expressions in invasive ductal carcinomas

| | | No. | CD-T | | | CD-S | | | CD-total | | | CD-T vs CD-S | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Neg | weak (%) | strong (%) | Neg | weak (%) | strong (%) | Neg | weak (%) | strong (%) | CD-T> CD-S | CD-T= CD-S | CD-T< CD-S |
| Age | <50 | 123 | 43 | 54 | 26 (21.1) | 22 | 29 | 72 (58.5) | 24 | 41 | 58 (47.1) | 17 (13.8%) | 31 (25.2%) | 69 (56.1%) |
| (yrs) | ≥50 | 99 | 39 | 41 | 9 (19.2) | 20 | 21 | 58 (58.6) | 25 | 29 | 45 (45.5) | 11 (11.1%) | 23 (23.2%) | 57 (57.6%) |
| | p-value | | | 0.7890 | | | 0.8643 | | | 0.7243 | | | 0.7243 | |
| Size | <2.0 | 53 | 21 | 20 | 12 (22.6) | 12 | 13 | 28 (52.3) | 14 | 18 | 21 (42.9) | 8 (15.1%) | 13 (24.5%) | 27 (50.9%) |
| (cm) | 2.1-5.0 | 142 | 54 | 64 | 24 (16.9) | 25 | 35 | 82 (57.8) | 30 | 47 | 65 (45.8) | 17 (11.9%) | 31 (21.8%) | 86 (60.6%) |
| | ≥5.1 | 26 | 7 | 11 | 8 (30.8) | 5 | 2 | 19 (73.1) | 5 | 5 | 16 (61.5) | 3 (11.5%) | 9 (34.6%) | 13 (50.0%) |
| | p-value | | | 0.4452 | | | 0.3227 | | | 0.4226 | | | 0.6927 | |
| Grade | L | 49 | 14 | 22 | 13 (26.5) | 17 | 10 | 22 (44.9) | 14 | 14 | 21 (42.9) | 13 (26.5%) | 11 (22.4%) | 19 (38.8%) |
| | M | 83 | 33 | 31 | 19 (22.9) | 12 | 21 | 50 (60.2) | 19 | 28 | 36 (43.4) | 6 (7.2%) | 29 (34.9%) | 45 (48.2%) |
| | H | 90 | 35 | 42 | 13 (14.4) | 13 | 19 | 58 (64.4) | 16 | 28 | 46 (51.1) | 9 (10.0%) | 14 (15.6%) | 62 (68.9%) |
| | p-value | | | 0.3002 | | | 0.0281 | | | 0.6073 | | | 0.0003 | |
| LN | 0 | 42 | 17 | 18 | 7 (16.7) | 10 | 7 | 25 (59.5) | 11 | 13 | 18 (42.9) | 5 (11.9%) | 8 (19.0%) | 25 (59.5%) |
| | 1-3 | 35 | 18 | 11 | 6 (17.1) | 8 | 7 | 20 (57.1) | 9 | 13 | 13 (37.1) | 4 (11.4%) | 9 (25.7%) | 20 (57.1%) |
| | ≥4 | 41 | 10 | 22 | 9 (21.9) | 4 | 6 | 31 (75.6) | 5 | 10 | 26 (63.4) | 3 (7.3%) | 11 (25.6%) | 25 (58.1%) |
| | p-value | | | 0.1816 | | | 0.3749 | | | 0.1642 | | | 0.9611 | |
| ER | Neg | 162 | 64 | 67 | 31 (19.1) | 28 | 44 | 90 (55.6) | 36 | 54 | 72 (44.4) | 18 (11.1%) | 41 (25.3%) | 93 (57.4%) |
| | Pos | 60 | 18 | 28 | 14 (23.8) | 14 | 6 | 40 (66.7) | 13 | 16 | 31 (51.7) | 10 (16.7%) | 13 (21.7%) | 33 (55.0%) |
| | p-value | | | 0.4189 | | | 0.0236 | | | 0.5725 | | | 0.9973 | |
| PR | Neg | 134 | 59 | 50 | 25 (18.7) | 30 | 32 | 72 (53.7) | 36 | 42 | 56 (41.8) | 29 (21.6%) | 75 (55.9%) | 17 (12.7%) |
| | Pos | 88 | 23 | 45 | 20 (22.7) | 12 | 18 | 58 (65.9) | 13 | 28 | 47 (53.4) | 25 (28.4%) | 51 (57.9%) | 13 (14.8%) |
| | p-value | | | 0.0246 | | | 0.1516 | | | 0.0793 | | | 0.0699 | |

CD-T, cathepsin D expression in tumor cells; CD-S, cathepsin D expression in stromal cells; CD-total, sum of CD-T and CD-S expression; Neg, negative; yrs, years; Pos, positive; L, low; M, intermediate; H, high.

Table 3. Relationship between clinicopathologic parameters and cathepsin D expressions in ductal carcinoma in situ

| | | No. | CD-T | | CD-S | | CD-total | | CD-T vs CD-S | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Neg | Pos (%) | Neg | Pos (%) | Neg | Pos (%) | CD-T>CD-S | CD-T=CD-S | CD-T<CD-S |
| Age | <50 | 18 | 5 | 13 (72.2) | 11 | 7 (38.9) | 10 | 8 (44.4) | 11 (61.1%) | 2 (11.1%) | 3 (16.7%) |
| (yrs) | ≥50 | 7 | 1 | 6 (85.7) | 5 | 2 (28.6) | 5 | 2 (28.6) | 4 (57.4%) | 1 (14.3%) | 1 (14.3%) |
| | p-value | | | 0.5131 | | 0.5130 | | 0.9169 | | 0.9899 | |
| Size | <2.0 | 6 | 1 | 5 (83.3) | 5 | 1 (16.7) | 5 | 1 (16.7) | 5 (83.3%) | 0 (0.0%) | 0 (0.0%) |
| (cm) | ≥2.1 | 19 | 5 | 14 (73.7) | 11 | 8 (42.1) | 10 | 9 (47.4) | 10 (52.6%) | 3 (15.8%) | 4 (21.1%) |
| | p-value | | | 0.5923 | | 0.5505 | | 0.1897 | | 0.5549 | |
| Grade | L | 11 | 3 | 8 (72.7) | 6 | 5 (45.5) | 6 | 5 (45.5) | 7 (63.6%) | 2 (18.2%) | 1 (9.1%) |
| | M&H | 14 | 3 | 11 (78.6) | 10 | 4 (28.6) | 9 | 5 (35.7) | 8 (57.1%) | 1 (7.1%) | 3 (21.4%) |
| | p-value | | | 0.7287 | | 0.8417 | | 0.6479 | | 0.5542 | |
| ER | Neg | 21 | 5 | 16 (76.2) | 14 | 7 (33.3) | 13 | 8 (38.1) | 13 (61.9%) | 2 (9.5%) | 4 (19.0%) |
| | Pos | 4 | 1 | 3 (75.0) | 2 | 2 (50.0) | 2 | 2 (50.0) | 2 (50.0%) | 1 (25.0%) | 0 (0.0%) |
| | p-value | | | 0.2097 | | 0.1798 | | 0.5699 | | 0.2525 | |
| PR | Neg | 13 | 4 | 9 (69.2) | 9 | 4 (30.8) | 9 | 4 (30.8) | 7 (53.8%) | 1 (7.7%) | 3 (23.1%) |
| | Pos | 12 | 2 | 10 (83.3) | 7 | 5 (41.7) | 6 | 6 (46.2) | 8 (61.5%) | 2 (15.4%) | 1 (8.3%) |
| | p-value | | | 0.0836 | | 0.2693 | | 0.0140 | | 0.9281 | |

CD-T, cathepsin D expression in tumor cells; CD-S, cathepsin D expression in stromal cells; CD-total, sum of CD-T and CD-S expression; Neg, negative; yrs, years; Pos, positive; L, low; M, intermediate; H, high.

### Cathepsin D 발현과 ER 및 PR 발현과의 연관성

침윤성 암종에서 ER 발현과 CD-T 및 CD-total 강양성의 빈도, 그리고 CD-S와 CD-T 발현의 차이에 유의한 연관성은 없었다. 그러나 CD-S 강양성의 빈도와 ER 양성률 사이에는 유의한 연관성이 있었다(p=0.0236)(Table 2). 침윤성 암종에서 PR이 양성인 예에서 CD-T 강양성의 빈도가 유의하게 높았으며(p=0.0246), CD-S와 CD-total 강양성의 빈도는 조금 높았으나 통계학적 유의성은 없었다(p=0.1516, 0.0793). 각 증례별 CD-S와 CD-T 발현의 차이에 따른 PR 발현도 유의한 차이가 없었다

(Table 2).

관내암종에서는 ER이 양성인 예에서 CD-S 발현율이 높았다. PR 양성인 예에서는 CD-total 양성인 빈도가 유의하게 높았으며(p=0.0140) CD-T와 CD-S 발현율이 조금 높았지만, 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 관내암종 각 증례별 CD-S와 CD-T 발현의 차이에 따른 PR 발현은 유의한 차이가 없었다 (Table 3).

## 고 찰

종양이 전이하기 위해서는 신생혈관 형성 및 기저막과 주변 기질의 파괴가 중요하다. 이 과정에 관여하는 단백분해효소의 하나인 cathepsin D는 종양조직에서 비정상적으로 증가되어 있다.[6] 유방암종 조직에서 cathepsin D 발현율은 다양한데,[3] 이러한 차이는 연구 대상이 다르고 cathepsin D를 측정한 방법이 다르기 때문이라고 하였다.[5] 1997년 Charpin 등[2]은 cathepsin D에 대한 단클론성 항체를 사용하여 자동염색기로 염색한 후 15%를 cut-off치로 적용하였다. 그리고 다른 보고에서는 10%를 cut-off치로 적용하는 등[10,11] cathepsin D 면역조직화학염색에서 cut-off치가 예후와 연관이 있다고 하였다.[4,12]

유방암종의 cathepsin D 발현은 독립적인 예후인자가 되지 못한다고 한 보고가 많으나,[13-16] cathepsin D가 예후인자로서 의의가 있다는 보고도 있다.[17] 그러나 cathepsin D 발현과 예후와의 연관성에 대해 상반된 결과를 보고하였다.[6] Aziz 등[18]은 유방암종 조직의 cathepsin D 발현은 조직학적 분화도와 연관성이 있는 표지자이나, 생존율과의 연관성은 보여주지 않았다고 하였다. 배 등[19]은 cathepsin D는 유방암종 중 40%에서 발현하며, 종양의 크기와 연관성을 보이지만 다른 예후인자와의 연관성이 없으므로 예후인자로서 유용성이 없다고 하였다. 그러나 cathepsin D가 에스트로겐에 의해 조절되어 생성되는, 즉 호르몬 의존성을 가지고 있으므로 ER 및 PR 양성인 경우처럼 좋은 예후를 나타내는 인자로 여겨지기도 한다.[13] 그러나 cathepsin D가 일종의 라이소솜 단백분해효소로서 산성 조건에서 단백 분해 작용을 나타내어 종양의 침윤성 성장과 전이를 용이하게 하므로, 예후가 불량하다는 것을 나타내는 인자라는 상반된 보고도 있다.[20,21] Tandon 등[3]은 cathepsin D 양성은 ER/PR 발현, 종양의 크기, 환자의 연령과 무관하지만 림프절 전이가 없는 환자에서 cathepsin D 양성인 경우 조기 재발의 가능성이 높고, 무질병 생존기간 및 총 생존기간이 짧으므로 불량한 예후를 시사하는 인자로서 가치가 있다고 하였다. Charpin 등[2]에 의하면 cathepsin D는 예후인자로서 이중성을 보이는데, 림프절 음성인 유방암종 환자에서 cathepsin D 양성은 좋은 예후인자로 더 이상 치료가 필요 없다는 것을 나타내고, 림프절 양성인 환자에서는 진행 위험성이 높음을 나타내는 인자로서 적극적인 보조요법이 필요하다는 사실을 나타낸다고 보고하였다.

이상과 같이 유방암종 환자의 예후인자로서 ER 및 PR 발현과의 연관성에 대해 cathepsin D 발현이 상반된 의의를 지니고 있다고 보고되었는데, 이러한 차이는 cathepsin D 검출 방법 및 판독기준의 차이에 의한 것으로 생각된다. Cathepsin D는 종양 주변의 기질에서 발현되는 것이 예후와 관련이 있다고 보고되었다.[6-8] Gonzalez-Vela 등[6]은 유방암종 조직의 기질세포가 종양의 성장과 진행에 관여하며, 종양 주변 기질세포의 cathepsin D 발현이 종양의 생물학적 악성도와 신생혈관 생성능과 연관성을 보이므로 cathepsin D 발현 및 미세혈관밀도에 대한 검사를 하는 것이 유방암의 생물학적 악성도를 예견하는 데 도움이 된다고 보고하였다. 유방암종 주변 기질의 cathepsin D 발현이 낮은 분화도, 높은 유사분열지수, ER 음성과 연관성을 보이므로, 기질의 cathepsin D 발현은 종양이 공격적인 성향을 나타내는 인자로 생각된다는 보고도 있다.[9,22]

본 연구에서는 cathepsin D 발현의 cut-off치를 10%로 정하였으며, 10-50%는 약한 발현, 50% 이상인 경우 강한 발현으로 구분하였다. 그리고 발현 부위를 종양세포와 주변 기질로 구분하였다. 종양세포가 강하게 발현을 보이는 빈도는 침윤성 유방암종과 관내암종에서 차이가 없었다. 그러나 기질에서 강한 발현을 보이는 빈도와 CD-total이 강한 양성인 빈도는 관내암종에 비하여 침윤성 유방암종에서 현저히 높았다. 또한 증례별 종양세포와 주변 기질의 cathepsin D 발현의 차이를 비교한 결과 침윤성 암종의 경우에는 종양세포보다 기질에서의 cathepsin D의 발현이 높은 경우가 훨씬 많았으나, 관내암종에서는 오히려 기질보다 종양세포의 cathepsin D 발현이 현저하게 높았다. 이러한 소견은 유방암종 조직의 cathepsin D 발현은 발현 부위가 중요하며, 관내암종에서는 주로 종양세포에서 cathepsin D가 발현되지만 침윤성 암종이 되면 종양세포보다 종양 주변 기질에서 cathepsin D가 생성되거나 혹은 활성화되는 것을 시사한다. 즉, 유방암종의 침습성과 기질의 cathepsin D 발현이 연관성이 있음을 나타낸다고 생각한다.

또한 본 연구에서 침윤성 암종에서 CD-T 발현은 환자의 연령, 종양의 크기, 조직학적 분화도 및 림프절 전이 정도와 통계학적으로 유의한 연관성이 없었다. 그러나 CD-S 발현은 조직학적 분화가 좋지 않은 예에서 유의하게 높았으며, 분화가 좋은 종양은 CD-T 발현이 CD-S 발현 보다 높은 반면, 분화가 좋지 않은 예에서는 CD-S 발현이 CD-T 발현 보다 유의하게 많았다. 따라서 종양주변 기질의 cathepsin D 발현은 종양이 생물학적 악성도가 높음을 나타내는 인자 중의 하나일 것으로 생각되었다.[9,22] 그러나 기질의 cathepsin D 발현과 종양의 크기나 림프절 전이와의 연관성이 없고 무질병 생존기간이나 총 생존기간 분석이 뒷받침되지 못하므로, 기질의 cathepsin D 발현이 예후인자로서 의의가 있는지에 대해서는 추정할 수 없었다. 본 연구 결과 관내암종에서 CD-T 발현, CD-S 발현, CD-total, CD-S 발현과 CD-T 발현의 차이 모두가 환자의 연령, 종양의 크기, 조직학적 분화도 및 림프절 전이 정도와 통계학적으로 유의한

연관성이 없었다. 따라서 cathepsin D 발현이 관내암종에서는 예후인자로서 의의가 없을 것으로 추정된다.

Okamura 등[9]은 CD-T 발현은 종양의 분화도, EGFR, 림프절 전이와 연관성을 보인 반면 CD-S 발현은 유사분열지수, EGFR, 림프절 전이와 연관성을 보였으며, CD total이 종양의 분화도, 증식능, 유사분열지수, EGFR, 림프절 전이와 연관성이 있다고 하였다. 이러한 결과는 CD-S 발현과 CD total이 유방암종의 증식능과 연관성이 있음을 시사하고, 무질병 생존기간은 CD-S 발현과 림프절 전이와 연관성이 있으며, 전체 생존율은 CD-total과 관련이 있음을 알 수 있게 해 준다. 따라서 CD-T 발현, CD-S 발현, CD-total 모두 유방암종의 의의 있는 표지자이며, 검출방법과 무관하게 CD-total이 예후인자로 의미가 있다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 침윤성 암종 및 관내암종에서 CD-total이 환자의 연령, 종양의 크기, 조직학적 분화도 및 림프절 전이와 통계학적으로 유의한 연관성이 없었다.

Cathepsin D 발현은 에스트로겐에 의해 조절되어 생성되는, 즉 호르몬 의존성을 가지고 있다고 알려져 있다. 그러나 다른 연구에서는 유방암종에서 cathepsin D 발현과 호르몬 수용체, 분화도와의 유의한 연관성은 없다고 보고하였다.[23-26] Bolufer 등[27]은 cathepsin D가 종양의 크기가 크고 분화도가 낮은 경우에 과발현되며, c-erbB-2 발현과 연관성이 있으나 ER과는 연관성이 없고, ER에 의해 생성되는 PS2와 밀접한 연관성이 있다고 보고하였다. 정 등[28]은 cathepsin D 발현이 ER, PR, p53, Ki-67, 미세혈관밀도와는 무관하나, c-erbB-2와 Pgp 양성과는 연관성이 있다고 하였다. Rochefort 등[29]은 cathepsin D 발현과 ER 발현이 연관성이 없는 것은 cathepsin D 발현이 ER 발현 외 다른 경로에 의한 것이라는 점을 의미한다고 하였다. 본 연구에서는 침윤성 암종의 ER 발현과 CD-S 강양성인 빈도가 유의한 연관성을 보였으며, PR 발현은 CD-T 강양성인 빈도와 유의한 연관성을 보였다. 관내암종에서는 PR 양성일 때 CD-total 양성인 빈도가 유의하게 높았다. 이러한 결과만으로 ER 및 PR 발현과 cathepsin D 발현의 연관성을 추정하기는 무리이며, Rochefort 등[29]과 마찬가지로 cathepsin D 발현과 ER이나 PR 발현이 일부 연관성이 있으나 cathepsin D 발현이 다른 경로에 의해서도 나타날 수 있음을 시사하는 것이라고 할 수 있다.

결론적으로 침윤성 유방암종 및 관내암종에서 cathepsin D 발현을 판독할 때는 종양세포와 기질로 발현 부위를 구분하고, CD-T 발현과 CD-S 발현의 차이를 판독하는 것이 유용할 것으로 생각한다. 관내암종에 비해 침윤성 암종에서, 그리고 침윤성 암종 중 분화가 좋지 않은 예에서 종양세포의 cathepsin D 발현은 차이가 없었다. 그러나 암종 주변 기질의 cathepsin D 발현이 강하거나 기질의 발현이 종양세포의 발현보다 강한 경우가 많으므로, 종양 주변 기질의 cathepsin D 발현이 종양의 침습성 성향을 나타내는 인자라는 점을 알 수 있다. 그러나 종양 조직, 주변 기질, CD-total 및 종양별 CD-T 발현과 CD-S 발현의 차이가 종양의 크기, 림프절 전이 등과 연관성을 보여주지 않으므로, cathepsin D 발현은 예후인자로서 의의가 적을 것으로 생각된다. 또한 유방암종에서 cathepsin D 발현과 ER 및 PR 발현이 일부 연관성이 있었으나, cathepsin D 발현과 ER 및 PR 발현과의 연관성을 단정지어 말할 수는 없었다.

## 참고문헌


1. Westley BR, Rochefort H. Estradiol induced proteins in the MCF-7 human breast cancer cell line. Biochem Biophys Res Commun 1979; 90: 410-6.
2. Charpin C, Garcia S, Bouvier C, *et al*. Cathepsin D detected by automated and quantitative immunohistochemistry in breast carcinomas: correlation with overall and disease free survival. J Clin Pathol 1997; 50: 586-90.
3. Castiglioni T, Merino M, Elsner B, Lah TT, Sloane BF, Emmert-Buck MR. Immunohistochemical analysis of cathepsins D, B, and L in human breast cancer. Hum Pathol 1994; 25: 857-62.
4. Roger P, Montcourrier P, Maudelonde T, *et al*. Cathepsin D immunostaining in paraffin-embedded breast cancer cells and macrophages: correlation with cytosolic assay. Hum Pathol 1994; 25: 863-71.
5. Ravdin PM. Evaluation of cathepsin D as a prognostic factor in breast cancer. Breast Cancer Res Treat 1993; 24: 219-26.
6. Gonzalez-Vela MC, Garijo MF, Fernandez F, Buelta L, Val-Bernal JF. Cathepsin D in host stromal cells is associated with more highly vascular and aggressive invasive breast carcinoma. Histopathology 1999: 34: 35-42.
7. Visscher DW, Sarkar F, LoRusso P, *et al*. Immunohistochemical evaluation of invasion-associated proteases in breast carcinoma. Mod Pathol 1993; 6: 302-6.
8. Nadji M, Fresno M, Nassiri M, Conner G, Herrero A, Morales AR. Cathepsin D in host stromal cells, but not in tumor cells, is associated with aggressive behavior in node-negative breast cancer. Hum Pathol 1996; 27: 890-5.
9. Okamura K, Kobayashi I, Matsuo K, *et al*. Immunohistochemical localization of cathepsin D, proliferating cell nuclear antigen and epidermal growth factor receptor in human breast carcinoma analysed by computer image analyser: correlation with histological grade and metastatic behaviour. Histopathology 1997; 31: 540-8.
10. Tetu B, Brisson J, Wang CS, Lapointe H, Beaudry G, Blanchette C. Expression of cathepsin D, stromelysin-3, and urokinase by reactive stromal cells on breast carcinoma prognosis. Cancer 2001; 92: 2957-64.
11. Johnson MD, Torri JA, Lippnam ME, Dickson RB. The role of cathepsin D in the invasiveness of human breast cancer cells. Cancer Res 1993; 53: 873-7.

12. McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors and treatment decisions in axillary node-negative breast cancer. N Engl J Med 1992; 326: 1756-61.
13. Henry JA, McCarthy AL, Angus B, *et al*. Prognostic significance of the estrogen-regulated protein, cathepsin D, in breast cancer. An immunohistochemical study. Cancer 1990; 65: 265-71.
14. Aaltonen M, Lipponen P, Kosma VM, Aaltomaa S, Syrjanen K. Prognostic value of cathepsin-D expression in female breast cancer. Anticancer Res 1995; 15: 1033-7.
15. Domagala W, Striker G, Szadowska A, Dukowicz A, Weber K, Osborn M. Cathepsin D in invasive ductal NOS breast carcinoma as defined by immunohistochemistry. No correlation with survival at 5 years. Am J Pathol 1992; 141: 1003-12.
16. Kandalaft P, Chang KL, Ahn CW, Traweek ST, Mehta P, Battifora H. Prognostic significance of immunohistochemical analysis of cathepsin D in low stage breast cancer. Cancer 1993; 71: 2756-63.
17. Rochefort H. Biological and clinical significance of cathepsin D in breast cancer. Acta Oncol 1992; 31: 125-30.
18. Aziz S, Pervez S, Khan S, Kayani N, Rahbar M. Immunohistochemical cathepsin-D expression in breast cancer: correlation with established pathological parameters and survival. Pathol Res Pract 2001; 197: 551-7.
19. Bae YG, Suh DH, Kim DS, Lee SJ. Tumor Angiogenesis and cathepsin-D Expression in Invasive Ductal Carcinoma of the Breast. Korean J Pathol 1997; 31: 735-44.
20. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Chirgwin JM, McGuire WL. Cathepsin D and prognosis in breast cancer. N Engl J Med 1990; 322: 297-302.
21. Isola J, Weitz S, Visakorpi T, *et al*. Cathepsin D expression detected by immunohistochemistry has independent prognostic value in axillary node-negative breast cancer. J Clin Oncol 1993; 11: 36-43.
22. Siitonen SM, Haapasalo HK, Rantala IS, Helin HJ, Isola JJ. Comparison of different immunohistochemical methods in the assessment of angiogenesis: lack of prognostic value in a group of 77 selected node-negative breast carcinoma. Mod Pathol 1995; 8: 745-52.
23. Nikolic-Vukosavljevic D, Grujic-Adanja G, Nastic-Miric D, *et al*. Cathepsin D: association between TN-stage and steroid receptor status of breast carcinoma. Tumour Biol 1998; 19: 329-34.
24. Park K, Ko I. Immunocytochemical assay of cathepsin D in fine needle aspiration cytology of breast carcinoma and benign breast diseases. Korean J Cytopathol 2000; 11: 75-81.
25. Choe KJ, Jan SH, Noh DY, Kim JP, Lee WJ, Park IA Immunohistochemical assay of Cathepsin D in breast carcinoma. Asian J Surg 1995; 18: 65-9.
26. Westley BR, May FE. Cathepsin D and breast cancer. Eur J Cancer 1996; 32A: 15-24.
27. Bolufer P, Torregrosa, Gomez L, *et al*. Specific oncological contribution of cathepsin D and pS2 in human breast cancer: their relationship with TNM status, estradiol receptors, epidermal growth factor receptor and neu amplification. Clin Chim Acta 1996; 247: 89-103.
28. Chung WJ, Park DE, Lee KM, Chae KM, Yoon KJ. Relationship between cathepsin D expression and other prognostic factors in primary breast cancer. J Korean Breast Cancer Soc 2001; 4: 172-8.
29. Rochefort H, Augerau P, Briozzo P, *et al*. Increased expression of cathepsin-D in breast cancer: mechanism and consequences. Proc AACR 1991; 32: 469-70.