

## 유방암에서 MIB1 (Ki-67) Labeling Index 연구와 다른 예후인자들과의 연관성 비교

서울대학교 의과대학 외과학교실

고창대 · 강희준 · 김성원 · 윤여규 · 오승근 · 최국진 · 노동영

### Assessment of MIB1 (Ki-67) Labeling Index and Correlation with Other Well Established Prognostic Factors in Breast Cancer

Chang Dae Ko, M.D., Hee Joon Kang, M.D., Sung-Won Kim, M.D., Yeo-Kyu Youn, M.D., Seung Keun Oh, M.D., Kuk Jin Choe, M.D. and Dong-Young Noh, M.D.

**Purpose:** The MIB1 labeling index is new method utilizing a monoclonal antibody against Ki-67 antigen and useful for evaluating the proliferation rate in breast cancer due to its ease of use and reliability. We compared the MIB1 labeling index to other, well established prognostic factors and assessed the prognostic value of MIB1 in 564 breast cancers.

**Methods:** The MIB1 (Ki-67 equivalent monoclonal antibody) proliferation rate, MIB1 labeling index, was determined in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue specimens of 564 primary breast cancer patients who underwent surgery between March 1998 and February 2000 at Seoul National University Hospital. The clinicopathologic characteristics of the primary tumor such as age, tumor size, histologic type, nuclear grade, histologic grade, hormone receptor status and various tumor markers (p53, c-erbB-2, bcl-2) were compared with the value of the MIB1 labeling Index.

**Results:** The mean value of MIB1 labeling index was 6.9. MIB1 labeling index was correlated to younger age ( $p=0.011$ ), histologic types, low nuclear grade ( $p=0.0001$ ), high histologic grade ( $p=0.0001$ ), p53 positive (IDC) ( $p=0.0001$ ), c-erbB-2 positive (DCIS) ( $p=0.01$ ), comedo type (DCIS) ( $p=0.001$ ) and inversely correlated to hormone receptor positivity ( $p=0.0001$ ), bcl-2 positive (IDC) ( $p=0.001$ ). No correlation was found in tumor size, lymph node status and c-erbB-2 positive (IDC).

**Conclusion:** The MIB1 labeling index correlated well with well-established poor prognostic factors. The MIB1 labeling index may be an important prognostic determinant in breast cancer. (J Korean Surg Soc 2001;60:361-367)

**Key Words:** MIB1, Ki-67, Breast cancer, Ductal carcinoma in situ (DCIS), Invasive ductal carcinoma (IDC)  
**중심 단어:** MIB1, Ki-67, 유방암, 관상피내암, 침윤성 관암

Department of Surgery, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

### 서 론

미국에서 40~55세 사이의 여성에서 사망률 1위를 차지하고 있는 유방암의 치료법에 대한 연구는 비약적인 발전을 이루어 왔고 최근에는 그 연구와 노력의 효과를 보고 있다. 하지만 아직까지 환자의 특성 및 유방암 자체의 생물학적 다양성은 같은 병기의 환자에서도 치료방법과는 무관하게 혹은 치료방법에 따라서 다양한 결과 및 예후를 나타낸다. 이에 병의 진단 및 수술 시 그 결과를 추정할 수 있는 예후인자들에 관한 연구가 활발히 이루어져 오고 있고 현재까지 림프절 전이 상태, 조직학적 유형, 종양 크기, 핵 등급, 조직등급, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 상태 그리고 세포 증식력 측정 등이 알려져 있다. 그 중 암세포의 증식력은 암세포의 특징 중 병의 진행을 결정짓는 중요한 인자로서 치료에 따른 결과를 예측할 수 있고 무병률 및 생존율과도 밀접한 관계가 있다는 연구 결과들이 많이 나오고 있고 임상적으로 그 의미가 강조되고 있다. 증식력을 측정하는 지표들은 MI (Mitotic Index), TLI (Thymidine-Labeling Index), BrdUrd (Bromodeoxyuridine) labeling Index, 유세포분석을 통한 S-phase fraction 측정 그리고 PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) 등이 있고 이러한 방법들은 각각 그 측정방법 및 장비 그리고 소요 시간 등의 장단점으로 인해 현재 각 기관마다 다양하게 적용되고 있다.

책임저자 : 노동영, 서울시 종로구 연건동 28번지  
☎ 110-744, 서울대학교병원 일반외과  
Tel: 02-760-2921, Fax: 02-3673-4250  
E-mail: dynoh@plaza.snu.ac.kr

접수일 : 2001년 2월 22일, 게재승인일 : 2001년 3월 17일  
본 연구논문은 1996년 보건과학기술연구비(HMP-96-M-1-1004)의 지원을 받아 이루어진 것임.

1983년 Gerdes등(1)이 세포의 증식력을 측정하는 방법의 하나로 세포 주기 중 후기 G1, S, M, 그리고 G2 기의 핵 항원에 특이적인 단세포항체 Ki-67을 보고하였으나 신선 또는 동결절편 조직에서 검사해야 하는 단점으로 인하여 제한적으로 연구되어 오다가 1992년 Cattoretti등(2)이 Ki-67에 대한 항원의 recombinant parts를 이용하여 파라핀에 고정되어 보관 중인 조직에서 면역조직화학적 검사를 가능케 한 새로운 항체인 MIB1를 보고하였고 1993년 Key등(3)이 다클론 Ki-67 항체를 보고한 후, 현재까지 MIB1의 유방암 환자의 예후인자로서의 가치를 증명하는 연구결과들이 많이 나오고 있는데, 쉽고 빠르게 이용될 수 있는 장점을 가지고 있어 그 중요성을 더욱 인정받고 있다. 이에 저자들은 한국인 유방암에서 MIB1과 환자의 특성 및 이미 잘 알려진 다른 여러 가지 예후인자들과의 관계를 알아보고 예후인자로서의 가치를 알아보고자 하였다.

## 방 법

### 1) 연구대상

1998년 3월부터 2000년 2월까지 외과에서 유방절제수술을 받은 564명의 원발성유방암 환자를 대상으로 의무기록과 병리조직 검사 보고서를 바탕으로 자료를 수집하였다.

### 2) 방법

(1) 세포조직화학염색 및 분석: 파라핀 포매된 조직을 4  $\mu$ m 두께로 박절한 뒤 silane 또는 poly-L-lysine이 처리된 slide에 얹어 통상의 방법으로 탈-파라핀하고 증류수로 씻은 뒤 3% 과산화수소로 5분간 처리하였다. 다음 10 mM citrate buffer (ph 6.0)에 담긴 채 750 W microwave에 5분 그리고 trypsin에 5분 처리하고 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 세척한 뒤 정상 쥐 혈청으로 20분간 반응시켰다. 여기에 150배 희석된 MIB1 단클론항체(DAKO<sup>®</sup> Denmark)를 얹어 30분 동안 반응시킨 후 PBS 용액으로 세척한 후 표지항체(labeled antibody; avidin-biotinylated peroxidase complex)로 30분간 반응시켰다. 발색은 diaminobenzidine을 사용하였으며 Meyer씨 hematoxylin으로 대조 염색하였다. 한 명의 유방병리 전문의에 의해서 10개의 고배율시야에서 측정된 값(전체 암세포에 대한 염색된 세포의 비율)의 평균을 labeling index로 정하였다.

(2) 비교분석된 인자들: 나이는 35세, 55세를 기준으로, 종양의 크기는 병리조직 검사 보고의 결과에 따라 2 cm, 5 cm를 기준으로 그리고 림프절 전이 상태는 0개, 1개, 4개를 기준으로 나누어 분석하였고, 조직학적 유형은 WHO 분류법에 따라 각각의 그룹을 나누었고 핵등급은 Black MM 등의 분류법에 따라, 조직학적 등급은 Scarff-Bloom-Richardson 분류법에 따랐다. 면역조직화학염색 결과에 따라 에스트로겐 수용체, 프로그스테론 수용체, p53 그리고

bcl-2는 유방암세포의 핵이 명확히 염색된 경우 발현양상으로 정하였고 c-erbB-2는 유방암세포의 세포막에 명확히 염색된 것을 발현양상으로 정하였다. 그리고 전세계적으로 Ki-67 값에 대한 표준화된 기준치(cut-off value)가 아직까지 없기 때문에 어떤 특정수치를 cut-off 수치로 정하여 비교하지 않았고 각 그룹에서 나타난 값의 크기에 따라 몇 가지 그룹으로 나누어서 비교하였다.

(3) 통계학적 분석: 각 군에서의 예후인자들의 발현 빈도는 chi-square test 및 chi-square test for trend 방식을, 각 군에서의 MIB1 평균값의 비교는 student's t-test와 ANOVA 검정을 적절히 이용하여 비교하였고 P값이 0.05 이하인 경우를 유의하다고 정의하였다. 본 연구에서의 통계적인 분석은 SPSS for windows, release 8.5를 이용하였다.

## 결 과

### 1) 임상병리학적 특성

총 564명의 환자에서 MIB1 labeling index는 0~90%까지 넓은 분포로 나타났고 평균값은  $6.9 \pm 13.3\%$ 이었다. 대상 환자들의 특성을 살펴보면 나이의 경우, 26세부터 82세(평균연령: 47.3세)까지 다양하였고 35세 이하가 57명(10.1%), 35세에서 55세 사이가 397명(70.4%) 그리고 55세 이상이 110명(19.5%)으로 35에서 55세 사이가 가장 많았다. 병리조직학적 유형의 경우 침윤성관암 438명, 관상피내암 71명, 침윤성소엽암 11명 그리고 기타 38명이었으며 이 중 가장 많은 유형인 침윤성관암의 경우, 크기가 2 cm 이하, 2~5 cm 그리고 5 cm 초과인 경우가 각각 41.1%, 50.7%, 8.2%를 차지하였고 임파선 전이가 전혀 없는 경우가 51.0%, 한 개에서 세 개의 전이가 간 경우가 25.9% 그리고 네 개 이상인 경우가 23.1%를 차지하였다. 중앙포지자 발현양상은 에스트로겐 수용체 51.6%, 프로그스테론 수용체 37.3%, p53 51.8%, bcl-2 59.6% 그리고 c-erbB-2 57.4%씩 각각 나타내었다(Table 1).

### 2) MIB1과 조직학적 유형들과의 관계

조직학적 유형은 침윤성관암 438명, 침윤성소엽암 6명, 수질성암 11명, 화생성암 6명, 유두상암 13명, 점액성암 15명, 관상암 2명, 아포크린암 2명 그리고 관상피내암 71명이 나타났다. 침윤성관암의 MIB1 값과 다른 조직학적 유형을 가진 유방암들의 MIB1 값을 각각 비교하였을 때 유두상암( $P < 0.0001$ ), 수질성암( $P < 0.0001$ ), 관상암( $P < 0.0001$ ), 아포크린암( $P < 0.0001$ ) 그리고 관상피내암( $P < 0.0001$ )에서 침윤성관암에 비하여 MIB1 index 값이 유의하게 낮게 나왔고 침윤성소엽암에서도 유의한 관계를 보였으며, 수질성암 그리고 화생성암에서는 유의하게 높게 나타났다(Table 2).

3) MIB1과 임상병리학적 인자들과의 관계

종양의 크기(≤2, 2~5, 5 cm<)에 따른 차이는 보이지

Table 1. Clinicopathologic characteristics

Factors		No. of patients (%)
Age (years)	Mean	47.3
	<35	57 (10.1)
	35~55	397 (70.4)
	55≤	110 (51.8)
Histologic types	IDC nos	438 (77.6)
	ILC	60 (1.1)
	DCIS	71 (12.6)
	Others	38 (6.7)
Tumor size (cm)	≤2	232 (41.1)
	2~5	286 (50.7)
	5<	4.6 (8.2)
LN status	0	287 (51.0)
	1~3	146 (25.9)
	4≤	131 (23.1)
ER	+	291 (51.6)
	-	273 (48.4)
PR	+	210 (37.3)
	-	354 (62.7)
p53	+	292 (51.8)
	-	272 (48.2)
bcl-2	+	336 (59.6)
	-	228 (40.4)
c-erbB-2	+	324 (57.4)
	-	240 (42.6)
MIBI (%)	Mean	6.9+13.3

LN status = lymph node status; ER = estrogen receptor; PR = progesterone receptor.

않았고 림프절 전이 개수(0, 1~3, 4개 이상)와도 유의한 차이가 없었으나, 환자의 나이를 세 그룹(<35, 35~55, 55세 이상)으로 나누어 비교하였을 때 각 그룹간 유의한 차이를 보였고 젊은 연령일수록 MIB1 값이 유의하게 높게 나타났으며(P=0.011) 핵등급을 두 그룹(1, 2/3)으로 비교하였을 때 분화도가 나쁜 1형에서 MIB1 값이 유의하게 높게 나타났고(P=0.0001) 조직학적 등급을 두 그룹(I/II, III)으로 비교하였을 때도 분화도가 나쁜 I/II형에서 유의하게 높게 나타났다(P=0.0001). 이 때 핵등급 3형과 조직학적 등급 1형의 경우 그 표본수가 적어서 2형과 II형에 각각 포함시켜 비교하였다(Table 3).

4) MIB1과 증양표시자들과의 관계

각 예후인자들의 양성발현 그룹과 음성 그룹간의 수는

Table 3. MIB1 and clinicopathologic factors

Factors	MIB1 index (%)	p-value	
Tumor size (cm)	1	5.6±14.8	NS
	2	8.9±14.8	
	3	6.4±7.6	
LN status	0	6.9±13.6	NS
	1~3	6.3±12.1	
	4≤	9.9±13.9	
Age	<35	12.1±20.1	0.011
	≥35, <55	7.4±13.3	
	55≤	4.6±9.8	
NG	1	11.1±14.7	0.0001
	2/3	4.6±10.9	
HG	I/II	3.6±8.0	0.0001
	III	12.1±16.6	

NS = not significant; NG = nuclear grade; HG = histologic grade.

Table 2. MIB and histologic types

H types	n	Mean	S deviation	Range		p-value
IDC mos	438	7.4	13.8	0~90	↔	↔
ILC	6	2.5	3.7	0.1~10	↓	0.021
Medullary	11	21.2	18.4	0.1~50	↑	0.001
Metaplastic	6	23.3	28.9	0.9~75	↑	0.006
Papillary	13	1.0	0.7	0.1~2	↓	<0.001
Mubular	15	2.0	2.1	0~5	↓	<0.001
Aplcrine	2	2.0	0.7	0.1~2	↓	<0.001
DCIS	71	2.9	14.0	0~50	↓	<0.001
Total	564	6.9	13.3	0~90	↔	↔

Htype = histologic thpe; n = number; S-deviation = standard deviation; IDC nos = invasive ductal carcinoma not otherwise specified; ILC = invasive lobular carcinoma; DCIS = ductal carcinoma in situ.

Table 4. MIB1 and tumor markers

Markers		Number	%	MIB1 index (%)	p-value
ER	+	293	52.0	3.1±5.7	0.0001
	-	271	48.0	11.0±17.4	
PR	+	223	39.1	2.9±5.3	0.0001
	-	304	60.9	9.5±16.1	
p53	+	267	51.8	9.1±15.8	0.0001
	-	248	48.2	4.7±10.3	
bcl-2	+	336	59.6	5.3±11.5	0.001
	-	228	40.4	9.1±15.4	
c-erbB-2	+	324	57.4	6.9±13.1	NS
	-	240	42.6	6.8±13.7	

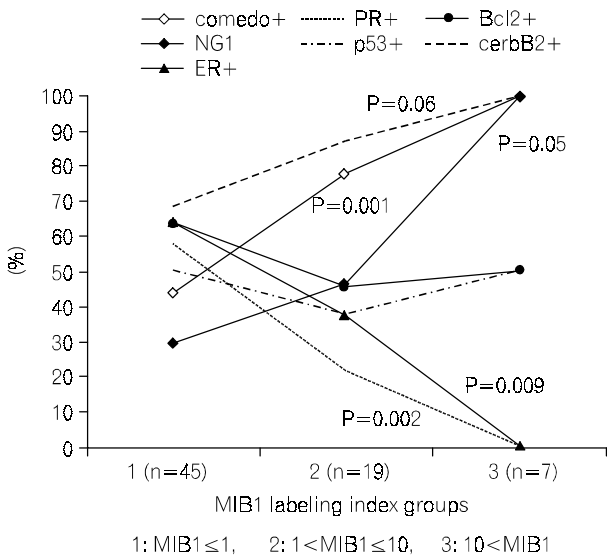


Fig. 1. Correlation between MIB1 labeling index groups and prognostic factors (DCIS).

큰 차이가 없이 약 40~60%씩 차지하였고 그 중 좋은 예후인자로 알려진 에스트로겐 수용체(p=0.0001), 프로게스테론 수용체(p=0.0001) 그리고 bcl-2 (p=0.001)에서 발현양성 그룹이 음성 그룹에 비하여 MIB1 index 값이 유의하게 낮게 나타났고 나쁜 예후인자로 알려진 p53 (p=0.0001)에서는 발현양성 그룹에서 음성 그룹에 비하여 유의하게 높게 나타났다. 하지만 나쁜 예후인자로 알려진 c-erbB-2 그룹에서는 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 4).

5) 관상피내암에서 MIB1과 예후인자들과의 관계

관상피내암인 경우만 따로 분류하여 MIB1 index 값을 임의로 세 그룹(1: ≤1%, 2: 1~10%, 3: 10%<)으로 나누고 각 그룹에서의 중앙표지자 양성발현 비율(%)을 알아보고 그룹간의 차이를 비교하였다. 각각의 그룹에서 45명, 19명 그리고 7명의 환자가 있었는데 값이 높은 3그룹으로

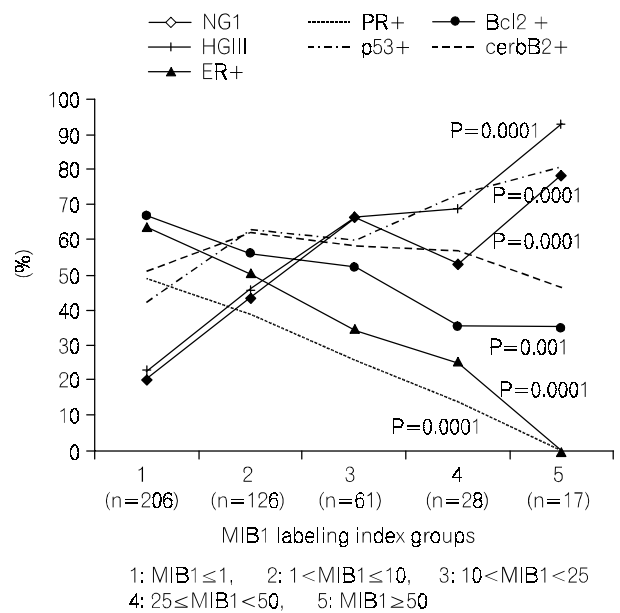


Fig. 2. Correlation between MIB1 labeling index groups and prognostic factors (IDC).

갈수록 면포형(P=0.001), 핵분화도 1등급(P=0.005) 그리고 c-erbB-2 양성(P=0.06)의 비율이 많아지고 3그룹에서는 거의 모든 환자에서 나타나는 강한 상관관계를 보였으나 에스트로겐 수용체 양성(P=0.009), 프로게스테론 수용체 양성(P=0.002)은 MIB1이 높은 그룹으로 갈수록 거의 나타나지 않은 역상관관계를 보였고 bcl-2와 p53의 경우 상관관계를 보이지 않았다(Fig. 1).

6) 침윤성관암에서 MIB1과 예후인자들과의 관계

침윤성관암인 경우만 따로 분류하여 MIB1 index 값을 임의로 다섯 그룹(1: ≤1, 2: 1~10, 3: 10~25, 4: 25~50, 5: 50≤)으로 나누고 각 그룹에서 예후인자들의 양성발현 비율(%)을 알아보고 그룹간의 차이를 비교하였다. 각각의

그룹에서 206명, 126명, 61명, 28명 그리고 17명의 환자가 있었는데 값이 높은 5그룹으로 갈수록 낮은 조직학적 등급( $P=0.0001$ ), p53 양성( $P=0.0001$ ), 낮은 핵등급( $P=0.0001$ )이 많아지는 상관관계를 보였고 bcl-2 ( $P=0.001$ ), 에스트로겐 수용체 양성( $P=0.0001$ ), 프로게스테론 수용체 양성( $P=0.0001$ )은 유의하게 적게 나타나는 역상관관계를 나타냈으나 c-erbB-2 양성에서는 상관관계를 보이지 않았다(Fig. 2).

## 고 찰

유방암은 세계적으로 그 치료법의 표준화를 위한 연구가 가장 많이 이루어져 있는 질환 중 하나로 종양의 크기, 림프절 전이 그리고 원격전이를 기준으로 하는 TNM 병기분류를 기본적으로 사용하여 치료방침 결정 및 예후를 측정하여 왔었다. 하지만 같은 병기의 환자에서도 다양한 예후를 나타내는 유방암의 특징으로 인하여 새로운 예후인자들의 연구가 활발히 이루어져 왔고 현재는 TNM 분류와 함께 나이, 조직유형, 핵등급, 호르몬 수용체 상태 그리고 폐경유무 등이 많이 이용되고 있다. 이외에도 암세포의 악성도를 나타내는 세포의 증식력을 측정하는 방법이 다양하게 연구되고 있는데 그 중 하나인 MI (Mitotic Index)는 유용한 예후인자로 인정을 받아 암세포의 증식력 측정의 수단으로 현재 임상적으로 가장 많이 사용하고 있다. 그 외에도 Thymidine labeling index, S-phase fraction 방법도 세포의 증식력을 나타내는 표지자로 많이 연구되고 있지만 기구 및 소요시간 등 여러 가지 단점을 가지고 있어서 제한적으로 연구 및 임상에 적용되고 있다.

Ki-67 단클론항체는 Hodgkin-disease-derived cell line의 nuclear fraction에 대한 immunoglobulin murine 단클론 항체의 아형 IgG1에 속한다.(1) 10번 염색체에 존재하는 유전자에 위치하여 세포 주기 중 후기 G1, S, M 그리고 G2 기에서 발현되는 Ki-67 항원을 인식하여(9) 암세포의 증식력을 측정할 수 있는 하나의 수단으로 알려졌고 Ki-67 값이 이미 알려진 다른 세포 증식력 측정방법인 S-phase fraction, Mitotic Index,(5-7) Tyridine labeling index,(8) DNA aneuploidy(5) 그리고 5-bromodeoyridine labeling index(9)의 값과 상관관계가 있다는 것이 알려지고 유방암뿐만 아니라 다른 암종 즉, 임파종, 연부조직육종, 방광암, 전립선암 그리고 대장암 등의 예후인자로서도 많은 연구가 이루어졌으나(10,11) 고정된 조직에서 검사를 시행할 수 없다는 단점 때문에 임상적으로 쉽게 적용시키지 못하였으나 얼마 후 세포증식력 측정법의 하나인 PCNA (proliferating cell nuclear antigen)를 파라핀 고정조직에서 검사를 가능하게 한 PC-10, KI-S1 그리고 Ki-S5 단클론항체가 보고되었고(12) Ki-67 항원을 파라핀 고정조직에서 면역세포화학 검사를 가능하게 한 MIB1 단클론항체가 보고되었다. 그 후로부터 MIB1에 대한 연구가 활발히 이루어져 왔는데

특별한 기구가 필요치 않고 간편할 뿐만 아니라 신선조직에서 검사한 Ki-67값과 좋은 상관관계를 가지고 있고(13) Ki-67 단클론항체 보다도 예후인자로서의 가치가 더 있을 뿐만 아니라(14) 이미 알려진 다른 예후인자들과도 상관관계가 있다는 연구 보고가 나오면서 그 유용성이 강조되어 임상적으로 적용시키려는 시도가 많이 진행되고 있다.

본 연구에서 MIB1 값은 0~90%의 범위에서 나타났고 평균값은 6.9%로 Isola등(5)이 보고한 6.3%와는 비슷하지만 Barbareschi등(15)과 Pinder등(16)이 보고한 15%, 27.3% 보다 낮은 값이다. 조직유형과 MIB1 값을 비교해 보면 Dettmar 등,(4) Pinder등(16)은 조직유형과 MIB1 값이 상관관계가 있다고 보고하였는데 본 연구에서도 증식력이 높다고 알려진 수질성암과 화생성암에서 값이 높게 나왔고, 상대적으로 예후가 좋다고 알려진 암 종들(유두상, 점액성, 관상, 아포크린 그리고 관상피내암)에서는 낮게 나오는 강한 상관관계를 보였다( $P<0.0001$ ). 그리고 Isola등(5)은 침윤성소엽암에서 Ki-67 값이 낮게 나왔다고 보고하였고 본 연구에서도 동일한 결과를 보였다. 여기에서 수질성암이 침윤성관암에 비하여 예후가 좋지만 MIB1 높게 나왔는데, 수질성암의 예후가 좋은 것은 전이를 잘하지 않는 암의 특성 때문이고 MIB1 값이 높은 것은 수질성암으로 사망한 환자의 대부분이 진단 후 5년 이내에 몰려 있는 것과 관련이 있다고 여겨지며 침윤성소엽암의 경우 MIB1 값이 낮게 나왔는데 이는 환자의 사망이 진단 후 5년 이내와 5년에서 10년 사이에서 서로 비슷하게 나타나는 암의 특징과 연관된다고 여겨진다. 환자의 임상병리학적 특성과 비교해 보면, 종양의 크기의 경우 상관관계가 있다(15,17,18) 혹은 관련이 없다(4,6,7)는 보고가 비슷하게 있었고 본 연구에서는 관련이 없는 것으로 나왔다. 림프절 전이 상태의 경우 관련이 없다는 보고(6,7,17,16,21,22)가 관련이 있다는 보고(19,20)보다 많았고 본 연구에서도 관련이 없는 것으로 나타났다. 환자 나이의 경우 무관(4,16)하다는 보고가 있는데 본 연구에서는 세 그룹으로 나누어서 비교하였을 때 각 그룹간 유의한 차이를 보였으며 젊을수록 높은 MIB1 값을 보였고, 핵 등급 및 조직등급의 경우 대부분의 연구에서 강한 상관관계가 있다고 보고하였는데(4-7,16,19,20,22) 본 연구에서도 분화도가 나쁜 그룹에서 유의하게 높게 나왔다. 이미 잘 알려진 다른 종양표지자들과 비교해 보면, 호르몬 수용체의 경우 상관관계가 있다고 보고(18,20,22,23)한 것이 없다(4,6,7)고 보고한 것보다 많았는데 본 연구에서도 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 그룹 각각에서 유의한 차이를 보였다. p53의 경우 상관관계가 있다(22)는 보고가 있었고 본 연구에서도 유의한 차이를 보였으며 bcl-2의 경우에서도 유의한 차이를 보였다. c-erbB-2의 경우 세포증식력과 상관관계가 있다(24)는 보고가 있었는데 본 연구에서는 유의한 차이를 보이지 않았다. 이외에도 Charpin등(20)은 맥관침습과

관련이 있다고 보고하기도 하였다.

본 연구에서는 지금까지 연구되어 온 예후인자들을 관상피내암 그룹과 침윤성관암 그룹으로 나누고 각 그룹에서 MIB1의 값을 크기에 따라 나누어 예후인자들의 발현 비율(%)을 서로 비교하여 보았다. 먼저 관상피내암 그룹에서 보면 값이 높은 3그룹에서는 나쁜 예후인자로 알려져 있는 c-erbB-2 양성, 면포형, 그리고 낮은 핵등급의 발현 비율이 높았고 반면에 좋은 예후인자로 알려진 에스트로젠 수용체 양성, 프로게스테론 수용체 양성의 발현 비율은 유의하게 낮았으나 bcl-2 양성과 p53 양성은 MIB1값의 차이에 따른 변화를 보이지 않았다. 이는 Barnes등(24)이 관상피내암에서 면포형이 세포의 높은 증식력과 밀접한 관계가 있다고 보고한 것과 같은 결과이다. 전체 그룹에서 c-erbB-2 양성, 음성 두 그룹 간 MIB1 값이 유의한 차이를 보이지 않던 것이 관상피내암 그룹만을 가지고 비교하였을 때 높은 MIB1 값의 그룹에서 c-erbB-2 양성이 유의하게 많이 나타나는 것을 볼 수 있는데 이는 면포형, 관상피내암 그리고 대 세포에서 과표현되는 c-erbB-2 자체의 특징과 관계가 있는 것으로 여겨진다. 다음으로 침윤성관암 그룹에서 보면 MIB1 값이 높을수록 나쁜 예후인자로 알려진 높은 조직등급, p53 양성 그리고 낮은 핵등급이 유의하게 많이 나타났고 반면에 좋은 예후인자로 알려진 bcl-2, 에스트로젠 수용체 양성 그리고 프로게스테론 수용체 양성은 유의하게 적게 나타났으나 c-erbB-2의 경우 전체 환자에서 나타난 것과 마찬가지로 유의한 차이를 보이지 않았다.

최근 들어서는 Ki-67 값을 이미 잘 알려진 다른 예후인자들과 동시에 고려한 연구가 시도되어 많은 긍정적인 결과가 나오고 있다. Niewiadomska등(25)은 p53과 Ki-67을 함께 사용할 때 단독으로 했을 때보다 예후인자로서의 가치가 더 있다고 보고하였고 Ioachim등(10)은 EGFR (Epidermal growth factor receptor), c-erbB-2 그리고 Ki-67을 동시에 측정하였을 때 가치가 더 있다고 보고하였으며 Railo(27)은 Ki-67 양성과 에스트로젠 수용체 음성이 동시에 나타나는 경우 가장 나쁜 예후를 나타낸다고 보고하였다. 이외에 본 연구에서는 시행되지 않았지만 치료법의 결정에 대한 많은 논란이 있는 림프절 음성 환자 그룹을 대상으로 하여 Ki-67 값이 예후인자로서 가치가 있다는 보고가 많이 나오고 있고(4) 전신치료의 성패를 예측할 수 있는 인자가 될 수 있다는 보고(28)와 술전 중심침생검으로 얻은 조직에서 Ki-67 값을 측정하여 항암치료에 대한 반응 정도를 예측할 수 있다는 보고(29) 등도 있다.

생존율 및 재발률과의 관계를 연구한 기존의 연구들을 보면 각 연구마다 다른 cut-off value를 적용시켰는데 Bouzubar등(7)은 Ki-67 labeling index cut-off 수치를 20%로 하였을 때 높은 값을 보이는 환자에서 재발률이 높아진다고 보고하였고 Wintzer등(30)은 16%를 기준으로 하여 그 이

상의 환자 그룹에서 짧은 무병기간 및 낮은 생존율을 나타낸다고 보고하였고 Railo등(27)은 10%를 기준으로 하여 무병기간과는 유의한 차이가 있었지만 생존율과는 관련이 없었다고 보고하였다. 각각의 연구마다 관련되는 인자들이 조금씩 다르게 보고되는 것은 각 기관마다 Ki-67 labeling index에 대한 cut-off 치를 다르게(10~20%) 적용시키고 있고 그 측정방법이 표준화되어 있지 않기 때문이라고도 생각된다.

## 결론

본 연구에서 MIB1 labeling index와 각 예후인자들을 비교하여 전체 환자에서는 젊은 연령, 조직학적 유형, 낮은 핵등급, 높은 조직등급 그리고 호르몬 수용체 음성이 MIB1 값과 상관관계가 있었고 침윤성관암에서 p53 양성, bcl-2 음성 그리고 관상피내암에서 면포형, c-erbB-2 양성이 상관관계를 보였다. 그러나 종양의 크기, 림프절 전이 상태 그리고 침윤성관암에서의 c-erbB-2 양성과는 상관관계를 보이지 않았다. 환자의 추적기간이 짧았기 때문에 대상 환자들의 재발률 및 생존율과의 관계를 확인하지는 못했지만 MIB1 값이 암세포의 악성도 및 나쁜 예후를 나타내는 이미 알려진 다른 인자들과 강한 상관관계가 있음을 보여 환자의 예후를 예상하는 중요한 인자가 될 수 있음을 알 수 있었고 충분한 추적기간을 통한 연구를 통해 측정방법의 표준화와 적절한 cut-off 수치를 찾음으로써 예후인자로서의 가치를 더 높일 수 있으리라 생각된다.

## REFERENCES

- 1) Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983;31:13-20.
- 2) Cattoretti G, Becker MHG, Key G, Duchrow M, Schluter C, Galle J, et al. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB1 and MIB3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 1992;168:357-63.
- 3) Key G, Petersen JL, Becker MHG, Duchrow M, Schluter C, Asakaa J, et al. New antiserum against Ki-67 antigen suitable for double immunostaining of paraffin wax sections. *J Clin Pathol* 1993;46:1080-4.
- 4) Dettmar P, Harbeck N, Thomssen C, Pache L, Ziffer P, Fizi K, et al. Prognostic impact of proliferation-associated factors MIB-1(KI-67) and S-phase in node-negative breast cancer. *Br J Cancer* 1997;75:1525-33.
- 5) Isola JJ, Helin HJ, Helle MJ, Kallioniemi OP. Evaluation of cell proliferation in breast carcinoma. Comparison of Ki-67 immunohistochemical study, DNA flow cytometric analysis, and mitotic count. *Cancer* 1990;65:1180-4.

- 6) Barnard NJ, Hall PA, Lemoine NR, Kadar N. Proliferation index in breast carcinoma determined in situ by Ki67 immunostaining and its relationship to clinical and pathological variables. *J Pathol* 1987;152:287-95.
- 7) Bouzubar N, Walker KJ, Griffiths K, Ellis IO, Elston CW, Robertson JFR, et al. Ki67 immunostaining in primary breast cancer: pathological and clinical associations. *Br J Cancer* 1989;59:943-7.
- 8) Karmel OW, Franklin WA, Ringus JC, Meyer JS. Thymidine labeling index and Ki-67 growth fractions in lesions in the breast. *Am J Pathol* 1989;34:107-13.
- 9) Sasaki K, Matsumura T, Tsuji T, Shinozaki F, Takahashi M. Relationship between labeling indices of Ki-67 and BrdUrd in human malignant tumors. *Cancer* 1988;62:989-93.
- 10) Hall PA, Richards MA, Gregory WM, d'Ardenne AJ, Lister TA, Stansfeld AG. The prognostic value of Ki-67 immunostaining in non-Hodgkin's lymphoma. *J Pathol* 1988;154:223-35.
- 11) Thompson SJ, Mellon K, Charlton RG, Marsh C, Robinson M, Neal DE. P53 and Ki-67 Immunoreactivity in human prostate cancer and benign hyperplasia. *Br J Urol* 1992;69:609-13.
- 12) Sampson SA, Kreipe H, Gillertt CE, Smith P, Chaudary MA, Khan A, et al. Ki-S - A novel monoclonal antibody which recognizes proliferating cell: evaluation of its relationship to prognosis in mammary carcinoma. *J Pathol* 1992;168:179-85.
- 13) McCormick D, Chong H, Hobbs C, Datta C, Hall PA. Detection of the Ki-67 antigen in fixed and wax-embedded sections with the monoclonal antibody MIB1. *Histopathology* 1993;22:355-60.
- 14) Veronese SM, Maisano C, Scibilia J. Comparative prognostic value of Ki-67 and MIB-1 proliferation indices in breast cancer. *Anticancer Res* 1995;15:2717-22.
- 15) Barbareschi M, Leonardi E, Mauri FA, Serio G, Palma PD. p53 and c-erbB-2 protein expression in breast carcinomas. An immunohistochemical study including correlations with receptor status, proliferating markers, and clinical stage in human breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1992;98:408-18.
- 16) Pinder SE, Wencyk P, Sibbering DM, Bell JA, Elston CW, Nicholson R, et al. Assessment of the new proliferation marker MIB1 in breast carcinoma using image analysis: Associations with other prognostic factors and survival. *Br J Cancer* 1995;71:146-9.
- 17) Peitilainen T, Lipponen P, Aaltomaa S, Eskelinen M, Kosma V-M, Syrjanen K. The important prognostic value of Ki-67 expression as determined by image analysis in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996;122:687-92.
- 18) Wrba F, Reiner A, Markis-Ritzinger E, Holzner JH, Reiner G, Spona J. Prognostic significance of immunohistochemical parameters in breast carcinomas. *Pathol Res Pract* 1988;183:277-83.
- 19) Lelle RJ, Heidenreich W, Stauch G, Gerdes J. The correlation of growth fractions with histological grading and lymph node status in human mammary carcinomas. *Cancer* 1987;59:83-8.
- 20) Charpin C, Andrac L, Vacheret H. Multiparameter evaluation (SAMBA) of growth fraction (monoclonal Ki-67) in breast carcinoma tissue sections. *Cancer Res* 1988;48:4368-74.
- 21) Weikel W, Beck T, Mitze M, Knapstein PG. Immunohistochemical evaluation of growth fractions in human breast cancers using monoclonal antibody Ki-67. *Breast Cancer Res Treat* 1991;18:149-54.
- 22) Midulla C, Iorio de P, Nagar C, Pisani T, Cenci M, Valli, et al. Immunohistochemical expression of p53, nm23-H1, Ki67 and DNA ploidy: Correlation with lymph node status and other clinical pathologic parameters in breast cancer. *Anticancer Res* 1999;19:4033-38.
- 23) Gerdes J, Pickartz H, Brotherton J, Hammerstein J, Weitzel H, Stein H. Growth fractions and oestrogen receptors in human breast cancers as determined in situ with monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 1987;129:486-92.
- 24) Barnes DM, Meyer JS, Gonzalez JG, Gullick WJ, Millis RR. Relationship between c-erbB-2 immunoreactivity and thymidine labeling index in breast carcinoma in situ. *Breast Cancer Res Treat* 1991;18:11-7.
- 25) Niewiadomska H, Jeziorski A, Olborski B. The expression of the proliferating antigen Ki67, PCNA and products of suppressor gene p53 in primary invasive ductal breast carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 1998;17:503-10.
- 26) Ioachim E, Kamina S, Athanassiadou S, Agnantis NJ. The prognostic significance of epidermal growth factor receptor (EGFR), C-erbB-2, Ki-67 and PCNA expression in breast cancer. *Anticancer Res* 1996;16:3141-7.
- 27) Railo M, Nordling S, von Voguslawsky K, Leivonen M, Kylonen L, von Smitten K. Prognostic value of Ki-67 immunolabelling in primary operable breast cancer. *Br J Cancer* 1993;68:579-83.
- 28) Bottini A, Berruti A, Bersiga A, Brunelli A, Brizzi MP, Marco BD, et al. Effect of neoadjuvant chemotherapy on Ki-67 labelling index, c-erbB-2 expression and steroid hormone receptor status in human breast tumours. *Anticancer Res* 1996;16:3105-10.
- 29) Macgrogan G, Mauriac L, Durand M, Bonichon F, Trojani M, de Mascarel I, et al. Primary chemotherapy in breast invasive carcinoma: Predictive value of the immunohistochemical detection of hormonal receptors, p53, c-erbB-2, MIB1, pS2 and GST pi. *Br J Cancer* 1996;74:1458-65.
- 30) Wintzer HO, Zipfel I, Schulte-Monting J, Hellerich U, von Kelist S. Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. *Cancer* 1991;67:421-8.