대한외과학회지 : 제60권 제6호
Vol. 60, No. 6, June, 2001

□ 원 저 □

침윤성 유방암에서 p53, c-erbB2, bcl-2, Cathepsin D 발현의 의의

서울대학교 의과대학 외과학교실

강희준 · 김성원 · 윤여규 · 오승근 · 최국진 · 노동영

Expression of p53, c-erbB2, bcl-2, Cathepsin D in Infiltrating Ductal Cancer of the Breast

Hee Joon Kang, M.D., **Sung-Won Kim,** M.D., **Yeo-Kyu Yun,** M.D., **Seung Keun Oh,** M.D., **Kuk Jin Choe,** M.D. and **Dong-Young Noh** M.D.

Purpose: Most treatment decisions for breast cancer patients are based on an assesment of prognostic factors. Tumor markersB (p53, c-erbB2, bcl-2, Cathepsin D) have been evaluated for their prognostic factors and many studies suggest that these factors as assessed by immunohistochemistry (IHC) may be helpful for treatment decisions, while the risk group for high relapse can not be discriminated by single tumor marker alone. In order to obtain useful prognostic information, several tumor marker expressions must be combined and weighted.
Methods: The expressions of ER, PR, p53, c-erbB2, bcl-2, Cathepsin D were detected by IHC on paraffin-embedded sections from 449 primary breast cancer patients treated at Seoul National University Hospital between January 1996 and December 1998. In the present study, tumor marker expressions were analyzed along with conventional clinicopathologic factors. Additionally, correlations between various tumor marker expressions were examined and combinations of tumor marker expressions relating pathologic parameters currently in use for primary breast cancer prognosis were investigated.
Results: ER, PR, bcl-2, Cathepsin D expressions were related to smaller tumor size and PR was related to less axillary nodal involvement. ER, PR, bcl-2 expressions were related to good NG and HG, while p53 expression was relatedto poor NG and HG. ER and PR expression were related to bcl-2 expression, c-erbB2 expression was related to p53 expression and c-erbB2 expression was related to Cathepsin D expression. ER−/bcl-2− was more prevalent in NG 1 and HG III tumors. ER+/p53− and p53−/bcl-2+ were more prevalent in NG 2/3 and HG I/II tumors. p53+/c-erbB2+ was more prevalent in NG 1 tumors.
Conclusion: Combinations of tumor marker expressions ER/bcl-2, ER/p53, p53/c-erbB2, p53/bcl2 provides more detailed information concerning cancer aggressiveness. **(J Korean Surg Soc 2001;60:592-599)**

Key Words: Breast cancer, Prognostic factor, p53, c-erbB2, bcl-2, Cathepsin D
중심 단어: 유방암, 예후인자, p53, c-erbB2, bcl-2, Cathepsin D

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

서 론

유방암은 임상적, 생물학적으로 다양한 특성을 나타내는 군들로 이루어져 있기 때문에 유방암 환자의 임상적 경과는 각각의 환자에게서 매우 다양하게 나타나며 일부의 환자는 수술 후 재발이나 이로 인한 사망이 오랜 기간 동안 추적하여도 관찰되지 않는 반면 일부의 환자는 짧은 추적기간 중에도 재발하여 이로 인한 사망이 관찰되기도 한다. 이러한 다양한 임상적 경과를 설명할 수 있는 요인, 즉 예후인자로서는 환자의 연령, 폐경상태 등을 비롯한 임상적 특성과 원발종양의 크기, 림프절 전이 유무, 조직학적 아형 등의 원발종양의 특성 및 암유전자, 암억제 유전자, 성장인자, 증식능력의 측정, 전이유전자 등 종양의 진행과 침습에 관계된 종양표지자 등이 사용되고 있으며 이 중 현재 액와림프절 전이 상태, 조직학적인 아형, 원발종양의 크기, 핵등급 및 조직등급, 호르몬 수용체 유무, 증식능력의 측정이 표준적인 예후인자로 쓰이고 있다.(*1*) 좀 더 유용한 정보를 얻기 위해서는 이러한 여러 예후인자들

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 27일, 게재승인일 : 2001년 3월 10일
본 논문의 요지는 1999년 대한외과학회 추계학술대회에서 구연되었음.
본 연구는 보건복지부 연구비(HMP-96-M-1-1004)의 지원으로 이루어진 것임.

에 따른 임상적 경과에 따라 각 예후인자들이 각각의 비중을 고려하여 조합되어야 하며 이러한 조합의 방법 중 좀더 정량적인 것으로서 Cox regression hazards model 및 regression trees의 방법 등이 있다.

유방암의 조직학적인 아형 중 가장 많은 부분을 차지하고 있는 침윤성 유방암(infiltrating ductal carcinoma not otherwise specified)은 모든 유방암 중에서 가장 예후가 나쁜 것으로 알려져 있으면서 임상적인 특성과 경과가 매우 다양하게 관찰된다. 그러나 위에 언급한 표준적으로 쓰이고 있는 예후인자 중 원발종양의 크기 및 액와림프절 전이 상태는 유방암의 종양학적인 연령을 나타낼 뿐이라는 주장이 제기되고 있으며,(2) 표준적으로 쓰이고 있는 예후인자들의 단독 또는 조합으로는 이러한 다양성을 나타내는 침윤성 관암에 대하여 일차적인 수술 후 보조적인 항암요법이 필요한 군과 그렇지 않은 군을 정확하게 세분하지 못하기 때문에 이를 좀 더 세분할 수 있게 하기 위해서는 종양의 내부적인 종양학적인 특성을 밝힐 수 있는 예후인자로서의 종양표지자를 필요로 한다. 이 들 종양표지자들 중 p53, c-erbB2, bcl-2, Cathepsin D 등이 예후인자로서의 가치가 있다고 알려져 있으나 이 들 중 단독으로는 환자의 수술 후 재발이나 생존을 세밀하게 예측하기 어렵다.

따라서 본 연구는 종양표지자 발현에 따른 원발종양의 병리조직학적 특성을 알아보고 종양표지자 발현간의 상관관계를 알아내어 유방암 환자에게 다른 예후를 나타낼 수 있는 병리조직학적 특성을 좀더 세밀하게 알아볼 수 있는 종양표지들의 조합을 찾기 위한 것이 목적이다.

방 법

1) 대상

1996년 1월부터 1998년 12월까지 서울대학교병원 일반외과에서 원발성 유방암으로 수술을 시행 받은 환자 중 침윤성 유방암으로 진단 받았고 외부병원에서 절제 생검을 시행받지 않아 원발종양에 대한 종양 표지자의 면역조직화학염색이 가능하였던 449예를 대상으로 각 환자의 의무기록지와 병리조직검사 보고서를 바탕으로 자료를 수집하였다.

2) 면역조직화학염색

포르말린으로 고정시킨 후 파라핀에 포매된 종양조직 절편을 5 μm 두께로 자른 후 슬라이드 위에 놓고 xylene으로 씻어 파라핀을 제거한 후 ethanol로 수화시킨다. 증류수로 씻고, endogenous peroxidase activity를 억제하기 위하여 0.3% hydrogen peroxide로 처리한다. Phosphate buffered saline (PBS)로 씻은 뒤 효소를 이용하여 검체를 처리한다. 파라핀이 제거된 조직 절편을 증류수 내에서 microwave로 조사한 후 증류수로 씻어내고, endogenous peroxidase 활성을 억제하기 위하여 0.3% hydrogen peroxide로 반응시킨 후 증류수로 씻어낸다. 차단 항체로는 염소혈청을 사용하여 실온에서 반응시킨다. 본 연구에서 사용된 일차 항체로 p53 (DAKO-p53, DO-7, 1 : 50희석), c-erbB2 (Novo Castra Co., 1 : 100희석), bcl-2 (Novo Castra Co., 1 : 100희석), cathepsin D (Novo Castra Co., 1 : 200희석)을 사용하였다. ABC (avidin biotin complex) 염색을 시행한 뒤 PBS로 세척한다. 표식항체로 peroxidase-conjugated streptovidin을 사용하여 실온에서 반응시킨 후 PBS로 씻어낸 후 DAB (3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride)로 염색하여 실온에서 반응시킨 후 증류수로 씻는다. Hematoxylin으로 대조염색하여 현미경으로 관찰한다.

면역조직화학염색의 판독은 각 슬라이드 당 일차 항체에 염색된 암세포를 전체 암세포에 대한 비율로 양성여부를 판별하였다. 면역조직화학염색 결과는 환자의 임상 특징을 모르는 병리의사에 의하여 판독되었다. ER, PR, p53는 핵 내에 명확하게 염색된 세포를 양성염색 세포로 정의하였고, c-erbB2, bcl-2, Cathepsin D는 세포질 내에 염색된 경우를 양성세포로 정하였으며 10 고배율 시야를 검색하여 전체 세포 중 염색된 세포의 평균이 10% 이상일 때 양성으로 정하였다.

3) 통계적 분석

각 종양표지자에 대한 면역조직화학염색의 결과를 병리조직학적 특성과 비교하였으며 종양표지자간의 상관관계도 분석하였다. 병리조직학적 특성 중 핵등급은 Black의 분류법을 이용하였으며 조직등급은 Bloom과 Richardson이 제창한 분류법에 따라서 판독하였다.

통계적인 분석은 SPSS for Windows, release 8.5를 이용하여 chi-square test나 student t-test를 적절히 사용하였고 통계적으로 유의한 값은 $P<0.05$로 정하였다.

결 과

1) 대상이 된 환자와 원발종양에서의 임상병리학적 특성 및 종양표지자 발현

대상환자의 연령으로는 50세 이하가 64%였고 원발종양의 크기가 2 cm 이하인 경우가 36%, 2 cm을 초과하는 경우가 64%였으며 액와림프절 전이가 없었던 경우는 55%, 전이가 있었던 경우는 45%였다. Black의 분류에 따른 핵등급(Nuclear Grade, NG)에 따라 분류하였을 때 NG 1인 경우가 41%, NG 2/3인 경우가 59%였으며, Bloom-Richardson의 분류에 의한 조직등급(Histologic Grade, HG)인 HG I/II인 경우가 58%, HG III인 경우가 42%였다. 종양표지자 중 호르몬 수용체의 발현 정도를 보면 ER, PR은 각각 54%와 40%에서 양성으로 관찰되었고, p53, c-erbB2, bcl-2, Cathepsin D는 각각 50%, 48%, 57%, 80%에서 양성으로 관

Table 1. Clinicopathologic features and tumor marker expressions

		n	%
Age	50≤	287	64
	>50	162	37
Size	2 cm≤	160	36
	>2 cm	289	64
LN	Negative	248	55
	Positive	201	45
NG	1	185	41
	2/3	264	59
HG	I/II	259	58
	III	190	42
ER	Negative	205	46
	Positive	244	54
PR	Negative	267	60
	Positive	182	40
p53	Negative	225	50
	Positive	224	50
c-erbB2	Negative	233	52
	Positive	216	48
bcl-2	Negative	192	43
	Positive	257	57
Cathep D	Negative	38	20
	Positive	150	80

Ng = nuclear grade; HG = histologci grade; Cathep D = cathepsin D.

Table 2. Primary tumor size and thmor marker expressions

Parameter	Mean primaty tumor size		p-value
LN (−, +)	2.63±1.65	3.42±1.90	<0.001
NG (1, 2/3)	3.37±2.03	2.71±1.57	<0.001
HG (I/II, III)	2.72±1.61	3.35±2.00	<0.001
ER (−, +)	3.26±2.07	2.76±1.51	0.003
PR (−, +)	3.16±2.03	2.72±1.37	0.01
p53 (−, +)	2.96±1.70	3.01±1.91	NS
c-erbB2 (−, +)	3.03±1.65	2.94±1.96	NS
bcl-2 (−, +)	3.28±2.05	2.77±1.57	0.003
Cathep D (−, +)	3.88±1.92	2.90±1.54	0.001

NS = not significant.

찰되었다(Table 1).

2) 원발종양의 크기와 종양표지자 발현과의 관계

림프절 전이가 있었던 군과 NG 1 및 HG III인 군에서 원발종양의 크기가 유의하게 컸으며(P<0.001, P<0.001, P<0.001), 종양표지자 중 ER, PR, bcl-2, Cathepsin D의 발현이 원발종양의 크기와 유의한 상관관계를 보여 주었는데 각각의 표지자가 양성일수록 원발종양의 크기가 작았다(P=0.003, P=0.01, P=0.003, P=0.001)(Table 2).

Table 3. Lymph node metastasis and tymor marker expressions

Parameter	Mean metastatic lymph modes		p-value
Size (2 cm≤, >)	1.26±2.93	3.86±6.84	<0.001
NG (1, 2/3)	3.72±6.30	2.38±5.54	0.018
HG (I/II, III)	2.25±5.05	3.86±6.78	0.004
ER (−, +)	3.35±6.80	2.58±4.99	NS
PR (−, +)	3.41±6.81	2.23±4.12	0.036
p53 (−, +)	2.47±5.15	3.40±6.53	NS
c-erbB2 (−, +)	3.05±6.63	2.81±4.99	NS
bcl-2 (−, +)	3.19±6.15	2.74±5.70	NS
Cathep D (−, +)	3.18±7.55	2.75±5.66	NS

NS = not significant.

3) 액와림프절 전이상태와 종양표지자 발현과의 상관관계

원발종양의 크기가 2 cm 이상인 군과, NG 1 및 HG III인 군에서 전이된 림프절의 개수가 유의하게 많았으며(P<0.001, P=0.018, P=0.004), PR 음성인 경우에 전이된 림프절의 개수가 많았으나(P=0.036), 다른 종양표지자의 발현과 전이된 림프절의 개수와는 유의한 상관관계가 관찰되지 않았다(Table 3).

4) 병리학적 특성과 종양표지자 발현과의 상관관계

원발종양의 크기를 2 cm을 경계로 두 군으로 나누었을 때 2 cm 이하인 경우에 Cathepsin D 양성인 경우가 많았으나(P=0.034), 다른 종양표지자 발현빈도와의 상관관계는 관찰되지 않았으며 림프절 전이 유무에 따른 각각의 종양표지자 발현과의 상관관계는 관찰되지 않았다. 종양표지자 중 c-erbB2, Cathepsin D와 NG, HG와의 상관관계는 관찰되지 않았으나 NG 2/3인 경우 ER, PR, bcl-2 양성인 경우가 많았고(P<0.001, P<0.001, P<0.001), p53 양성인 경우가 NG 1인 경우가 많았다(P=0.005). ER, PR, bcl2 양성인 경우 HG I/II인 경우가 많았고(P=0.001, P<0.001, P<0.001), p53 양성인 경우 HG III인 경향이 있었다(P=0.056)(Table 4).

5) 종양표지자 발현간의 상호관계

bcl-2 양성인 경우에 ER, PR 양성인 경우가 많았으며(P<0.001, P<0.001), p53 양성인 경우 c-erbB2 양성인 경우가 많아 두 표지자간에는 양의 상관관계가 관찰되었고(P=0.002), c-erbB2 양성일 때 Cathepsin D 양성인 경우가

Table 4. Pathologic parmeter and thmor marker expressions

Tumor marke		ER +%	PR +%	p53 +%	c-erbB2 +%	bcl-2 +%	Cathep D +%
Size	≤2 cm	58.5	44.7	50.0	51.9	62.5	88.9*
	>2 cm	52.3	38.3	49.8	46.0	54.3	75.2
LN	Negative	53.6	40.3	48.4	48.8	56.9	82.1
	Positive	55.6	40.9	51.7	47.3	57.7	76.3
NG	1	35.5†	28.4‡	57.8§	52.4	43.8‖	76.5
	2/3	67.7	49.0	44.5	49.4	66.7	81.9
HG	I/II	68.2¶	50.8**	45.9††	49.4	66.4‡‡	81.9
	III	35.6	26.6	55.3	46.3	44.7	76.4

p-value * = 0.034; † = <0.001; ‡ = <0.001; § = 0.005; ‖ = <0.001; ¶ = 0.001; ** = 0.001; †† = 0.056; ‡‡ = <0.001.

Table 5. Correlationvetween tumor marker expressions

Tumormarke		p53 +%	c-erbB2 +%	bcl-2 +%	Cathep D +%
ER	−	50.7	45.4	35.6*	76.9
	+	49.2	50.4	75.4	81.8
PR	−	51.7	46.8	42.2†	83.2
	+	47.3	50.0	78.6	75.9
p53	−	·	40.9‡	58.7†	74.5
	+	·	55.4	55.8	83.5
c-erbB2	−	·	·	53.2	71.6§
	+	·	·	61.6	86.0
bcl-2	−	·	·	·	76.8
	+	·	·	·	82.1

p-value * = <0.001; † = <0.001; ‡ = 0.002; § = 0.015.

Table 6. Er/bcl-2 expression and NG, HG

	NG 1 %	NG 2/3 %	p-value	HG I/II %	HG III %	p-value
ER−	58.1	41.9	<0.001	40.4	59.6	<0.001
ER+	26.7	73.3		72.4	27.6	
bc12−	54.2	45.8	<0.001	45.3	54.7	<0.001
bc12+	31.3	68.8		67.2	32.8	
ER−/bcl-2−	66.9	33.1	0.001	34.6	65.4	0.037
ER−/bcl-2+	42.5	57.5		50.7	49.3	
ER+/bcl-2−	26.7	73.3	NS	68.3	31.7	NS
ER+/bcl-2+	26.8	73.2		73.8	26.2	

NS = not significant.

Table 7. ER/p53 expression and NG, HG

	NG 1 %	NG 2/3 %	p-value	LG I/II %	LG III %	p-value
ER−	58.1	41.9	<0.001	40.4	59.6	<0.001
ER+	26.7	73.3		72.4	27.6	
p53−	34.7	65.3	0.005	62.2	37.8	0.056
p53+	47.8	52.2		53.1	46.9	
ER−/p53+	61.5	38.5	NS	37.5	62.5	NS
ER−/p53−	54.5	45.5		43.6	56.4	
ER+/p53+	35.8	64.2	0.003	66.7	33.3	0.065
ER+/p53−	18.5	81.5		77.4	22.6	

NS = not significant.

많아 이 두 표지자 간에도 양의 상관관계가 관찰되었다(P=0.015). 그러나 나머지 종양표지자 간에는 유의한 상관관계가 관찰되지 않았다(Table 5).

6) 종양표지자 조합에 따른 NG와 HG와의 관계

(1) ER/bcl-2 발현과 NG, HG: 앞에서 상관관계가 관찰되었고 NG 및 HG와 밀접한 관련이 있는 ER과 bcl-2 두 종양표지자들의 조합을 통하여 원발 종양의 NG와 HG에 대한 좀더 세밀한 정보를 줄 수 있는지 알아보았는데, ER 음성인 경우, bcl-2 음성인 경우 모두 나쁜 핵등급인 NG 1인 경우와 분화도가 나쁜 HG III인 경우가 많았는데 두 종양표지자를 조합하여 보면, ER−/bcl2−일 때 다른 경우보다 NG 1인 경우가 많았고(P=0.001), HG가 III인 경우가 많았다(P=0.037)(Table 6).

(2) ER/p53 발현과 NG, HG: ER과 p53 발현은 상관관계가 관찰되지 않았지만 두 가지 종양표지자 모두 NG 및

Table 8. p53/c－erbB2 expression and NG, HG

	NG			HG		
	1 %	2/3 %	p-value	I/II %	III %	p-value
p53－	34.7	65.3	0.005	62.2	37.8	0.056
p53＋	47.8	52.2		53.1	46.9	
c-erbB2－	37.8	62.2	NS	55.6	43.8	NS
c-erbB2＋	44.9	55.1		59.3	40.7	
p53－/c-erbB2－	35.3	64.7	NS	60.2	39.8	NS
p53－/c-erbB2＋	33.7	66.8		65.2	34.8	
p53＋/c-erbB2－	41.0	59.0	0.081	51.1	49.0	NS
p53＋/c-erbB2＋	53.2	46.8		54.8	45.2	

NS = not significant.

Table 9. p53/bcl-2 expression and NG, HG

	NG			HG		
	1 %	2/3 %	p-value	I/II %	III %	p-value
p53－	34.7	65.3	0.005	62.2	37.8	0.056
p53＋	47.8	52.2		53.1	46.9	
c-erbB2－	54.2	45.8	＜0.001	45.3	54.7	＜0.001
c-erbB2＋	31.3	68.8		67.2	32.8	
p53－/bcl-2－	21.2	78.8	＜0.001	75.0	25.0	＜0.001
p53－/bcl-2＋	53.8	46.2		44.1	55.9	
p53＋/bcl-2－	42.4	57.6	0.081	58.4	41.6	0.081
p53＋/bcl-2＋	54.5	45.5		46.5	53.5	

NS = not significant.

HG와 밀접히 관련이 되어 있는데 두 가지 종양표지자를 조합하여보면 ER＋/p53－인 경우 NG 2/3인 경우가 다른 경우보다 NG2/3인 경우가 많았으며(P=0.003), HG I/II인 분화도가 좋은 경향이 관찰되었다(P=0.065)(Table 7).

(3) p53/c-erbB2 발현과 NG, HG: p53와 c-erbB2의 발현은 양의 상관관계가 관찰되었고 p53의 발현은 NG 및 HG와 밀접히 관련이 되어있는데 이 두 가지 종양표지자를 조합하여 보면 p53＋/c-erbB2＋일 때 다른 경우에 비하여 핵등급이 나쁜 NG 1인 경우가 많은 경향이 관찰되었다(P=0.081)(Table 8).

(4) p53/bcl-2 발현과 NG, HG: p53와 bcl-2는 상관관계를 나타내지는 않았지만 두 가지 종양표지자 모두 NG 및 HG와 밀접한 연관관계를 보이고 있는데 두 가지를 조합하여 보면 p53－/bcl-2＋일 때 NG 2/3 및 HG I/II인 경우가 각각 78.8%와 75.5%로 다른 경우에 비하여 핵등급 및 조직등급이 좋은 경우가 많았다(P＜0.001, P＜0.001)(Table 9).

Table 10. c-erbB2/Cathepsin D expression and NG, HG

	NG			HG		
	1 %	2/3 %	p-value	I/II %	III %	p-value
c-erbB2－	37.8	66.2	NS	55.6	43.8	NS
c-erbB2＋	44.9	55.1		59.3	40.7	
Cathep D－	50.0	50.0	NS	55.3	44.7	NS
Cathep D＋	41.3	58.7		63.3	36.7	
c-erbB2－/ Cathep D－	47.8	52.2	NS	60.9	39.1	NS
c-erbB2－/ Cathep D＋	39.7	60.3		60.3	39.7	
c-erbB2＋/ Cathep D－	53.3	46.7	NS	46.7	53.3	NS
c-erbB2＋/ Cathep D＋	42.4	57.6		65.2	34.8	

NS = not significant.

(5) c-erbB2/Cathepsin D 발현과 NG, HG: c-erbB2와 Cathepsin D는 양의 상관관계가 관찰되었는데 각각의 경우는 NG 및 HG와의 상관관계를 보이지 않았으며 두 가지의 종양표지자의 조합은 NG와 HG에 관한 좀 더 세밀한 구분을 보여주지 않았다(Table 10).

고 찰

현재까지 쓰이고 있는 예후인자 중 액와림프절 전이 유무는 원발성 유방암 환자에게 적용할 수 있는 가장 강력한 예후인자이다. 또한 림프절 전이가 있을 경우 전이된 림프절의 개수와 추적관찰 중 환자의 재발 및 사망의 빈도와는 비례관계가 있다. 원발종양의 크기는 림프절 전이가 없는 유방암 환자에서 가장 강력한 예후인자라고 할 수 있으며, 원발 종양의 크기와 전이된 림프절의 개수는 양의 상관관계가 있다고 알려져 있는데, 이러한 이유로서 Rosen등(*3*)은 종양이 어느 정도 자라게 되면 종양세포의 변이를 가져올 수 있는 역치가 되어 림프절 전이를 잘하는 공격적인 집단으로의 변이 가능성과, 종양의 크기가 증가하게 되면 주변조직과의 접촉면적이 증가하게 됨으로써 성장인자들의 상호작용으로 종양의 성장과 전이에 필요한 맥관의 성장을 돕기 때문이라는 설명을 하고 있다. 본 연구에서도 원발종양의 크기와 림프절 전이는 양의 상관관계가 관찰되었다. 림프절 전이 여부와 ER, PR 등 종양표지자 발현 유무와는 관계가 없다고 보고되고 있는데, Mittra등(*2*)은 액와림프절 전이 상태는 유방암의 진행과정으로서의 종양학적인 연령이며 종양표지자는 다른 방식으로 예후에 영향을 끼친다고 주장하였다. 본 연구에

서는 PR 유무에 따라 전이된 림프절의 개수가 상관관계를 보이기는 하였지만 PR 유무에 따른 림프절 전이 유무 및 다른 종양표지자와 림프절 전이와의 관계는 관찰되지 않았다.

종양분화도의 측정은 판독자에 따라 그 결과가 틀려질 수 있어 판독의 재현성이라는 측면에서 문제점이 있지만 한 의료기관에서 잘 훈련된 병리의사에 의하여 판독이 되는 경우 임상적인 경과와 잘 일치하는 것으로 알려져 있고,(*4,5*) 표준화된 판독체계를 통한 분화도의 측정은 유방암에서 강력한 예후인자라고 생각되고 있으며 많은 연구에서 종양분화도의 예후인자로서의 가치를 인정하고 있다.(*1,6,7*) 본 연구에서도 나쁜 핵등급과 조직등급일 경우 전이된 림프절의 개수 및 종양의 크기가 증가한다는 것을 관찰할 수 있었으며 본 연구에서는 종양표지자의 조합에 따른 종양의 생물학적 공격성을 핵등급과 조직등급에 비교하여 연구하였다.

Cathepsin D mRNA는 유방암 세포주에서 에스트로겐에 의하여 그 발현이 조절을 받는 것으로 처음 알려졌으며,(*8*) 곧 이어 그 단백질인 Cathepsin D는 에스트로겐에 의하여 분비되는 단백분해효소라는 사실이 알려지게 되었다. 처음에 이 단백질은 항호르몬요법에 반응하는 표지자를 찾기 위한 목적으로 연구되었지만 이 단백질이 유방암 세포주에서 성장인자로서 세포분열과 증식에 작용한다는 사실과 단백질 분해효소로서 세포외 기질을 분해함으로서 종양의 성장과 전이에 관계할 것이라는 연구결과들은 Cathepsin D를 유방암에서 기존의 예후인자와는 다른 방식으로 작용하는 예후인자로서 연구가 이루어지게 하였다.(*9*) Bolufer등(*10*)은 Cathepsin D의 발현은 크기가 크고, 조직분화도가 나쁜 종양인 경우에 과발현되며, ER 유무와는 관계가 없으나 ER에 의하여 생성되는 pS2와 밀접한 상관관계가 있고 c-erbB2의 과발현과 관계가 있음을 보고하였다. 최등(*12*)은 분화가 좋은 핵등급, 조직등급의 유방암에서 Cathepsin D의 발현이 낮으며 50세 이하의 여성의 유방암, 림프절 전이가 없는 유방암 및 2 cm 이하의 유방종양에서 발현이 낮은 것으로 보고하였으며 호르몬 수용체 유무와는 상관관계를 나타내지 않는다고 하였다. 그러나 Cathepsin D와 다른 예후인자들간의 상관관계를 조사한 연구들을 Westley와 May(*11*)가 종합하여 검토한 보고에 의하면 대부분의 연구에서 ER, PR 발현 유무와 Cathepsin D의 발현은 상관관계가 없다고 하였고, 조직등급 및 원발 종양의 크기와도 상관관계가 없다고 하였지만 이들이 검토한 몇 몇 연구에서는 Cathepsin D는 림프절 전이와 관계가 있음을 보고하였다. Têtu등(*13*)은 Cathepsin D 발현은 암세포에서보다 주변 간질조직에서의 발현이 환자의 예후를 반영한다고 하였으며, Ravdin(*14*)은 Cathepsin D와 유방암의 임상적 예후에 관한 연구들을 종합하여 Cathepsin D의 발현이 연구자에 따라 각각 좋은 예후인자와 나쁜 예후인자로 다르게 연구되는 것은 Cathepsin D의 발현을 측정함에 있어서 각각의 연구가 다른 측정방식과 다른 cut-off치를 사용하였기 때문이라고 하며 예후인자로서 잠재적인 중요성을 인정하면서도 그 임상적 가치로서 인정을 받으려면 더 많은 연구가 필요하다고 하였다. 본 연구에서는 Cathepsin D와 림프절 전이, 핵등급, 조직등급, 호르몬 수용체 발현 유무와 관계가 없는 것으로 나타났지만 Cathepsin D의 발현은 오히려 작은 크기의 종양에서 빈번하게 관찰되어 다른 연구와는 상반된 결과를 보여 주고 있으며 c-erbB2 발현과는 양의 상관관계가 관찰되어 호르몬에 의하여 발현이 되면서도 불량한 예후인자로 생각되는 Cathepsin D의 이중적인 모습을 보여 주고 있다. 본 연구에서 서로 상관관계를 보이는 Cathepsin D/c-erbB2의 조합으로 좀 더 세분된 핵등급과 조직등급을 알아보려 하였으나 두 가지 종양표지자들의 조합은 여기에 대한 세밀한 정보를 주지 못하였다.

C-erbB2는 tyrosine kinase activity를 통한 세포의 신호전달 체계에 의한 세포증식과 밀접한 관계가 있고, c-erbB2의 과발현은 유방암에서 불량한 예후와 관련이 있는 것으로 생각되어지고 있다. 노등(*15*)은 림프절 전이가 없거나 1～3개까지 전이가 확인된 유방암에서 이 단백질이 발현되었을 때 예후가 불량함을 보고하였으나 현재까지는 액와림프절 음성일 때 단독으로 불량한 예후를 나타내는 종양표지자로 인정받고 있지는 못하다.(*16,17*) Paik등(*18*)은 c-erbB2가 과발현된 유방암은 나쁜 조직등급 및 호르몬 수용체 음성과 관계가 있으며 높은 증식능력을 가지는 것으로 보고하였다. 그러나 Rosen등(*19*)은 c-erbB2의 과발현과 나쁜 조직등급 및 호르몬 수용체와의 관계를 찾을 수 없었다고 하였고 본 연구에서도 핵등급 및 조직등급, 호르몬 수용체와 c-erbB2와의 관계를 확인할 수 없었다. C-erbB2는 p53와 밀접한 관련이 있다고 보고되고 있으며,(*20,21,30*) 본 연구에서도 c-erbB2와 p53의 상관관계를 확인할 수 있었다. P53는 유방암에서 가장 흔히 변이를 나타내는 유전자로서 p53의 변이를 나타내는 경우는 액와림프절 전이 상태 및 폐경 유무와는 큰 연관성을 보이지 않지만 종양의 크기와 관련이 있고 DNA ploidy 및 증식능력을 나타내는 지수와 강한 연관이 있으며 나쁜 핵등급 및 조직등급과 강한 연관관계를 나타내는 것으로 보고되고 있으며,(*22*) 본 연구에서도 p53와 나쁜 핵등급 및 조직등급과의 관계를 확인할 수 있었다. P53와 C-erbB2와의 연관성은 Poller등(*20*)에 의하여 처음 연구되었고 p53변이를 일으킨 종양에서 그렇지 않은 종양에서보다 c-erbB2의 과발현이 더 빈번히 관찰된다고 하였으며 다단계인 유방암의 종양화 과정에서 p53는 다른 유전자를 조절함으로써 종양화를 조절하는 중요한 역할을 할 것이라고 하였다. 본 연구의 결과에서 p53＋/c-erbB2＋인 경우 경계선적인 유의성이기는 하지만 다른 p53/c-erbB2 조합에 비하여 나

쁜 핵등급을 보이는 것이 관찰되었는데, 이 두 종양표지자가 동시에 발현된 경우는 그렇지 않은 경우보다 예후가 불량하다고 보고되고 있으며,(30) 종양표지자의 조합 p53/c-erbB2는 좀 더 나쁜 예후군을 선별해 내는 데 유용하게 쓰일 수 있을 것으로 생각된다.

Reed등(21)은 호르몬 수용체의 발현과 p53변이를 계층화하여 비교하였을 때 역의 상관관계를 보인다고 하였다. 본 연구에서는 호르몬 수용체 유무와 p53변이와는 상관관계를 나타내지 않는 것으로 관찰되었지만 p53 및 ER 모두 핵등급 및 조직등급과 밀접한 연관을 나타내고 있으며 ER+/p53-인 경우는 다른 ER/p53 조합보다 좋은 핵등급 및 조직등급을 나타내는 경우가 많아, 종양표지자의 조합 ER/p53는 일반적으로 예후가 좋다고 생각되는 호르몬 수용체 양성인 종양에서도 더 예후가 좋은 군을 선별할 수 있을 것으로 생각되며 보조항암요법으로서 항호르몬제제를 선택할 때 판단에 도움이 될 것으로 생각된다.

세포의 증식과 세포자멸(apoptosis)을 조절하는 p53외에 여기에 관계하는 다른 유전자로서 bcl-2를 들 수 있는데 bcl-2는 세포자멸의 메커니즘이 살아 있는 세포에서 메커니즘 후반부의 조절 역할을 하는 것으로 보인다.(23) 이 등(24)은 유방암에서의 bcl-2의 발현은 호르몬 수용체 발현 양성 및 분화가 좋은 조직등급과 관련이 있다고 하였고 본 연구결과에서도 bcl-2의 발현은 호르몬 수용체 양성 및 분화도가 좋은 핵등급 및 조직등급과 강한 연관성이 있었다. Bcl-2의 발현은 액와 림프절 전이여부나 전이된 림프절의 개수와는 관계가 없었지만 작은 크기의 종양과 관련이 있는 것으로 관찰되었는데 작은 크기의 종양이 분화도가 좋은 핵등급 및 조직등급의 종양이 많기 때문이라고 생각된다. Wang등(25)은 MCF-7 세포주에 대한 연구에서 에스트로겐이 bcl-2 mRNA의 발현을 증가시키며, 이러한 bcl-2 mRNA의 발현은 항에스트로겐 제제인 타목시펜에 의하여 차단되는 것으로 보아 bcl-2 유전자는 에스트로겐과 ER과의 반응에 의하여 조절된다고 보고하였다. 본 연구에서 ER+인 종양에서는 bcl-2의 발현에 따른 핵등급 및 조직학적등급의 차이가 없었지만 ER-/bcl-2-인 경우는 분화도가 나쁜 종양이 많아 수술 후 적극적인 보조 치료가 필요할 것으로 생각된다.

Bcl-2의 발현과 p53변이는 역의 상관관계가 있다고 알려져 있으며,(26) 실험적인 연구에서 유방암 세포주에 변이된 p53 유전자를 이입시키면 bcl-2의 생성을 억제하는 것으로 보고되었다.(27) Zhang등(28)은 정상 유방상피조직과 관상피내암, 침윤성 유방암에서 bcl-2와 p53의 발현의 차이를 관찰한 결과 정상상피조직에서는 bcl-2의 발현이 거의 모든 조직에서 관찰되고 p53의 변이는 관찰이 되지 않으며 bcl-2의 발현은 침윤성 유방암보다 관상피 내암에서 더 많이 관찰이 되는 반면에 p53의 변이는 관상피 내암보다 침윤성 유방암에서 더 빈번히 관찰되어, p53의 변이가 종양화의 초기단계에서 중요한 역할을 한다면 bcl-2는 이 보다 늦은 단계에서 종양화의 과정에 개입할 것이라고 보고하였다. Jansen등(29)은 p53-/bcl-2+인 유방암 환자들이 다른 p53/bcl-2 조합을 가진 유방암 환자들보다 무병생존율과 전체생존율에서 양호하다고 하였으며, 본 연구에서 p53-인 종양에서 bcl-2+이면 분화가 좋은 종양이 많았고, p53+인 군에서도 bcl-2+인 경우는 경계선적인 유의성으로 분화가 좋은 핵등급 및 조직학적 등급의 종양이 많아 p53/bcl-2의 조합은 환자의 예후를 세분하는 데 유용할 것으로 생각된다.

결 론

1) 원발 종양의 크기와 관계가 있는 종양표지자는 ER, PR, bcl-2, Cathepsin D였고 이들이 양성을 나타낼수록 종양의 크기가 작았다.

2) 전이된 림프절의 수와 관계가 있는 종양표지자는 PR이며 PR양성일 때 전이된 평균 림프절의 개수가 적었다.

3) ER, PR, bcl-2가 발현되었을 경우 분화도가 좋은 핵등급 및 조직등급인 종양이 많았고, p53변이가 관찰되었던 경우 핵등급 및 조직등급이 나빴다.

4) 종양표지자 발현간의 상관관계를 보면 ER, PR 발현 양성일 때 bcl2 양성발현이 많아 양의 상호관계가 관찰되었고 p53는 c-erbB2와, c-erbB2는 Cathepsin D와 양의 상호관계가 관찰되었다.

5) 종양표지자의 조합에 따른 병리조직학적 인자와의 관계를 보면 ER-/bcl-2-인 경우가 분화도가 나쁜 핵등급 및 조직등급인 종양에서 많았고, ER+/p53- 및 p53-/bcl-2+인 경우가 분화도가 좋은 핵등급 및 조직등급인 종양에서 많았으며 p53+/c-erbB2+인 경우는 나쁜 핵등급인 종양에서 많아 이 들 종양표지자의 조합은 종양의 생물학적인 공격성에 관한 좀더 자세한 정보를 주며 이들 조합은 재발과 전이를 좀 더 세밀히 예측할 수 있는 예후인자로서 의의를 가지고 있을 것이라고 생각된다.

REFERENCES

1) Page DL, Jensen RA, Simpson JF. Routinely available indicators of prognosis in breast cancer. Breast Cancer Res Treat 1998;51:195-208.

2) Mittra I, MacRae KD. A meta-analysis of reported correlations between prognostic factors in breast cancer: does axillary lymph node metastasis represent biology or chronology? Eur J Cancer 1991;27:1574-83.

3) Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, Norton L. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow-up. J Clin Oncol 1993;11:2090-100.

4) Black MM, Opler SR, Speer FD. Survival in breast cancer cases in relation to the structure of the primary tumor and legional lymph nodes. Surg Gynecol Obstet 1955;100:543-51.
5) Dalton LW, Page DL, Dupont WD. Histologic grading of breast carcinoma. A reproducibility study. Cancer 1994;73: 2765-70
6) Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. Histopathology 1991;9:403-10.
7) Henson DE, Ries L, Freeman LS, Carriaga M. Relationship among outcome, stage of disease, and histologic grade for 22,616 cases of breast cancer. The basis for a prognostic index. Cancer 1991;68:2142-9.
8) Westley BR, May FEB. Oestrogen regulates Cathepsin D mRNA levels in oestrogen responsive human breast cancer cells. Nucleic Acids Res 1987;15:3773-86.
9) Rochefort H, Garcia M, Glondu M, Laurent V, Liaudet E, Rey J-M, et al. Cathepsin D in breast cancer: mechanisms and clinical applications, a 1999 overview. Clinica Chemica Acta 2000;291:157-70.
10) Bolufer P, Torregrosa, Gomez L, Munarriz B, Lopez JA, Asins E, et al. Specific oncological contribution of cathepsin D and pS2 in human breast cancer: their relatonship with TNM status, estradiol receptors, epidermal growth factor receptor and *neu* amplification. Clinica Chemica Acta 1996;247:89-103.
11) Westley BR, May FEB. Special aper: Cathepsin D and breast cancer. Eur J Cancer 1996;32A:15-24.
12) Choe KJ, Han SH, Noh DY, Kim JP, Lee WJ, Park IA. Immunohistochemical assay of Cathepsin D in breast carcinoma. Asian J Surg 1995;18:65-9.
13) Têtu B, Brisson J, Lapointe H, Wang CS, Bernard P, Blanchette C. Cathepsin D expression by cancer and stromal cells in breast cancer: an immunohistochemical study of 1348 cases. Breast Cancer Res Treat 1999;55:135-45.
14) Ravdin PM. Evaluation of cathepsin D as a prognostic factor in breast cancer. Breast Cancer Res Treat 1993;24:219-26.
15) Noh DY, Choe KJ, Kim JP, Park IA, Park SH, Park BJ. DNA Ploidy, S - phase Activity and c-erbB-2 oncogene protein expression in breast cancer and its relationship to prognosis. J Korean Cancer Assoc 1992;24:73-81.
16) Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. Science 1989;244:707-12.
17) Gasparini G, Gullick WJ, Manulta S, Palma PD, Caffo O, Leonardi E, et al. c-erbB-3 and c-erbB-2 protein expression in node-negative breast carcinoma-an immunocytochemical study. Eur J Cancer 1994;30A:16-22.
18) Paik S, Burkhard E, Lippman ME. Clinical significance of erbB2 protein overexpression. Cancer Treat Res 1992;61:181-91
19) Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD, Cranor M, Borgen P, Norton L. Immunohistochemical detection of HER2/neu in patients with axillary node negative breast carcinoma. A study of epidemilologic risk factors, histologic features, and prognosis. Cancer 1995;75:1320-26.
20) Poller DN, Huchings CE, Galea M, Bell JA, Nicholson RA, Eltson CW, et al. P53 protein overexpression of epidermal growth factor receptor, c-erbB-2 protein overexpression, and estrogen receptor. Br J Cancer 1992;66:583-8.
21) Reed W, Hannisdal E, Boehler PJ, Gunderson S, Host H, Nesland JM. The prognostic value of p53 and c-erbB-2 immunostaining is overrated for patients with lymph node negative breast carcinoma: A multivariate analysis of prognostic factors in 613 patients with a follow-up of 14～30 years. Cancer 2000;88:804-13.
22) Isola J, Visakorpi T, Holli K, Kallioniemi OP. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 1992;84:1109-14.
23) Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. J Cell Biol 1994;124:1-6.
24) Siziopikou KP, Prioleau JE, Harris JR, Schnitt SJ. Bcl-2 expression in the spectrum of preinvasive breast lesions. Cancer 1996;77:499-506.
25) Lee HD, Koo JY, Jung WH. Correlations of bcl-2 expression with clinicopathological features in breast cancer. Yonsei Med J 1997;38:206-11.
26) Wang TT, Phang JM. Effects of estrogen on apoptotic pathways in human breast cancer cell line MCF-7. Cancer Res 1995;55:2487-9.
27) Silvestrini R, Veneroni S, Daidone MG, Benini E, Boracchi P, Mezzeti M, et al. The Bcl-2 protein: a prognostic indicator strongly related to p53 protein in lymph node-negative breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 1994;86:499-504.
28) Haldar S, Negrini M, Monne M, Sabbioni S, Croce CM. Down regulation of Bcl-2 by p53 in breast cancer cells. Cancer Res 1994;54:2095-97.
29) Zhang GJ, Kimijima I, Abe R, Kanno M, Katagata N, Hara K, et al. Correlation between the expression of apoptosis-related bcl-2 and p53 oncoprotethe carcinogenesis and progression of breast carcinomas. Clin Cancer Res 1997;12:2329-35.
30) Jasen RLH, Joosten-Achjanie SR, Volovics A, Arends JW, Hupperets PSGJ, Hillen HFP, et al. Relevance of the expression of Bcl-2 in combination with p53 as a prognostic factor in breast cancer. Anticancer Research 1999;18:4455-62.
31) Barbati A, Cosmi EV, Sidoni A, Collini P, Porpora MG, Ferri I, et al. Value of c-erbB-2 and p53 oncoprotein co- overexpression in human breast cancer. Anticancer Research 1997; 17:401-5.