

유방암에서 Topoisomerase II- α 와 c-erbB-2 발현의 의의

중앙대학교 의과대학 외과학교실 및 ¹병리학교실

정태성 · 김범규 · 차성재 · 박성일 · 임현묵 · 박성준 · 이태진¹

Expression of Topoisomerase II- α and c-erbB-2 in Breast Cancer

Tae Sung Chung, M.D., Bum Gyu Kim, M.D., Seong Jae Cha, M.D., Sung Il Park, M.D., Hyun Mook Lim, M.D., Sung Jun Park, M.D. and Tae Jin Lee, M.D.¹

Purpose: Topoisomerase II- α is a key enzyme in DNA replication and a molecular target for many anti-cancer drugs. The C-erbB-2 oncogene (HER-2/neu) is the most frequently amplified oncogene in breast cancer. Because of the physical proximity of c-erbB-2 and topoisomerase II- α , co-amplification of the c-erbB-2 and topoisomerase II- α may occur. To investigate the clinical significance of the topoisomerase II- α and c-erbB-2, the correlation between topoisomerase II- α and c-erbB-2 was examined by immunohistochemical staining in 43 invasive ductal breast carcinomas and its relationship with other prognostic factors.

Methods: Topoisomerase II- α and c-erbB-2 expression was studied immunohistochemically using sections of formalin fixed, paraffin-embedded tumor specimens from 43 invasive ductal breast carcinomas. The correlation between topoisomerase II- α and c-erbB-2 expression, and its relationship with the clinicopathological factors such as the tumor size, lymph node metastasis, TNM stage, histological grade, nuclear grade, estrogen receptors and progesteron receptors was investigated.

Results: C-erbB-2 was expressed in 9 (20.9%) out of the 43 infiltrating ductal carcinoma cases. Among the prognostic factors, the tumor size, lymph node metastasis, tumor stage, nuclear grade, status of progesteron receptors and estrogen receptors did not significantly correlated with c-erbB-2 expression. The tumor size, lymph node metastasis, tumor stage, histological grade, and the absence of estrogen receptors displayed a significant relationship with the increase in the topoisomerase- α index. However, the topoisomerase II- α index did not correlate with the nuclear grade and the status of progesterone receptors. The topoisomerase II- α

index was slightly higher in the c-erbB-2 positive expression cases compared to c-erbB-2 negative expression cases but this increase was not significant (P=0.503).

Conclusion: These results suggest that topoisomerase II- α may play some role as a prognostic factor, but further investigation is needed. (J Korean Surg Soc 2002;62:359-365)

Key Words: Topoisomerase II- α , c-erbB-2, Breast cancer
중심 단어: Topoisomerase II- α , c-erbB-2, 유방암

Departments of Surgery and ¹Pathology, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul, Korea

서론

2000년 보건복지부 암등록 보고에 의하면 유방암은 우리나라 여성암 중에서 위암에 이어 두 번째로 발생빈도가 높은 암으로 점차 발생빈도가 증가하고 있는 추세이다. 유방암의 임상적 경과를 예측할 수 있는 예후 인자로서는 환자의 연령, 폐경상태, 종양의 크기, 림프절 전이유무, 조직학적 아형 및 암 유전자, 암억제유전자, 성장인자, 증식력의 측정 등이 사용되고 있다. 특히 이 중에서 액와 림프절 전이 상태, 조직학적 아형, 종양의 크기, 핵등급 및 조직등급, 호르몬 수용체 유무, 증식력의 측정 등이 표준적인 예후인자로서 쓰이고 있으며,^(1,2) 최근 분자생물학적 연구 방법을 이용하여 p53, CD31, Ki-67, Pgp (P-glycoprotein), c-erbB-2, EGFR (epidermal growth factor receptor), cathepsin D, urokinase plasminogen activator, pS2 등이 새로운 예후인자로서 연구되고 있다.⁽³⁾ 암세포의 증식력은 암세포의 특징 중에서 병의 진행을 결정짓는 중요한 인자로서 이러한 세포 증식력을 측정할 수 있는 지표들로는 MI (mitotic index), TLI (Thymidine Labeling Index), BrdUrd (Bromodeoxyuridine) labeling index, 유세포 분석을 통한 S상 분획 측정, PCNA (proliferating Cell Nuclear Antigen), Ki-67 등이 있고,⁽⁴⁾ 최근 Topoisomerase II- α 이 세포 증식력 측정 및 예후인자로서 활발히 연구 중이다.

Topoisomerase는 DNA 대사의 중요 단계에서 DNA 형태

책임저자 : 박성준, 서울시 중구 필동 2가 82-1
☎ 100-272, 중앙대학교 부속 필동병원 일반외과
Tel: 02-2260-2159, 2160, Fax: 02-2275-7869
접수일 : 2002년 2월 28일, 게재승인일 : 2002년 4월 11일

를 변화시키는 데 증추적 역할을 담당하며 α 와 β 두 가지 isoform이 존재한다. 이 중 α -isoform은 doxorubicin, m-AMSA, mitoxantrone, etoposide와 같은 Anthracycline계 항암제의 표적으로 작용하여 항암치료에 있어 중요한 역할을 담당하며 또한 대장암, 위암, 유방암, 림프종, 전립선암, 중추신경계 별아교세포종(astrocytic neoplasm)과 같은 인간의 악성종양과 정상 증식세포의 세포주기 G1, S, G2, M기에만 발현되어 세포 증식력을 예측할 수 있는 인자로서도 중요한 의미를 가진다.(5-7)

c-erbB-2 (HER-2/neu) 종양 유전자는 185 kd의 세포막당단백(membrane glycoprotein)을 형성하는데 이의 구조는 표피 성장인자수용체(EGFR)와 비슷하고 tyrosine kinase activity를 가진다. 이 유전자의 증폭(amplification)은 유방암에서 흔하게 발견되는 유전자 변이 중의 하나로 인간 염색체 17q21에서 관찰되고 이의 과발현(overexpression)은 유방암과 난소암에서 생존율의 감소를 가져오는 것으로 알려져 있는데 특히 유방암에서는 10~30%에서 c-erbB-2의 발현이 관찰되며 이 경우에는 무병 생존율 및 전체 생존율이 감소하는 등 예후가 나쁜 것으로 알려져 있다.(8,9)

유방암에서 Topoisomerase II- α 의 발현 증가는 종양의 크기가 크거나, 종양 등급이 높고, 림프절 전이가 양성이며, DNA 이수배수체(DNA aneuploidy) 등 좋지 않은 예후인자와 동반되며 높은 Topoisomerase II- α 활성도(activity)는 c-erbB-2 유전자의 과발현과 연관되어 나타난다고 알려져 있다. 이는 DNA 수준에서 염색체 위치상 Topoisomerase II- α 가 c-erbB-2 유전자와 매우 근접하여 위치하므로(염색체 17q12) c-erbB-2 유전자의 증폭과 관련하여 Topoisomerase II- α 의 증폭 및 결손(deletion)과 같은 이상이 같이 동반되어 나타나는 경우가 많기 때문인 것으로 알려져 있다.(10)

이에 본 연구는 유방암에서 Topoisomerase II- α 와 c-erbB-2와의 상관관계를 면역화학적 방법을 통해 알아보고 기존의 임상병리학적 다른 예후인자들과의 연관성을 조사하여 유방암에서 Topoisomerase II- α 와 c-erbB-2의 예후인자로서의 임상적 의의를 알아보고자 하였다.

방 법

1) 연구대상

1997년 4월부터 2000년 4월까지 중앙대학교부속 필동병원 외과학교실에서 유방암으로 수술을 받고 병리학적으로 침윤성 관암종으로 진단 받은 환자 중에서 조직보관 상태가 양호한 43예를 대상으로 하였다. 검체는 환자에서 적출된 즉시 포르말린으로 고정하고 육안검색 후 종괴를 포함하여 절제된 림프절을 파라핀 절편으로 만들고 통상적인 Hematoxyline Eosin 염색을 실시하였다. 선택된 환자의 임상기록과 병리진단지 등을 검색하여 환자의 나이, 종양의 크기 및 림프절 전이 여부 등을 확인하였다.

2) 연구방법

(1) **병리학적 분류:** 암종의 조직학적 악성도는 Bloom과 Richardson의 등급체계에 근거하여 핵의 다양성, 유사분열 활동성과 세관(tubule)형성 정도에 따라 1등급(고분화), 2등급(중분화) 그리고 3등급(저분화)으로 분류하였고, 핵등급은 Nottingham/Tenovus Breast Cancer Study에서 사용한 등급기준에 따라 1등급(고분화), 2등급(중분화) 그리고 3등급(저분화)으로 분류하였다. 종양의 크기는 American Joint Committee on Cancer (AJCC)의 T 분류에 따라 2 cm 이하, 2.1~4.9 cm, 5 cm 이상으로 분류하였고, 림프절 전이는 그 수에 관계없이 전이 여부로 분류하였으며, 병기는 AJCC의 분류에 따랐다.

(2) **면역조직화학 염색:** 선택된 환자의 파라핀 포매조직을 4~5 μ m 두께로 박절하고 자일렌으로 5분간 3회의 탈파라핀 과정을 거친 후 무수 알코올, 90%, 75% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 처리하여 함수시켰다. 그 후 내인성 과산화 효소의 활성을 억제하기 위해 0.3% hydrogen peroxide-methanol에 10분간 처리 후 증류수로 세척한 다음 50 mM Tris 완충용액(TBS, pH 7.5)으로 수세 후 비특이성 반응을 제거하기 위해 30분간 염소혈청으로 처리하고, 여분의 용액을 제거한 후 c-erbB-2 (Zymed, 1 : 50)와 Topoisomerase II- α (Zymed, 1 : 50), 에스트로겐 수용체(ER, Zymed, ER-7G5, 1 : 50), 프로게스테론 수용체(PR, Zymed, PR-2C5, 1 : 50)에 대한 일차항체를 실온에서 2시간 작용시켰다. 일차항체 반응 후 TBS로 5분간 3회 수세한 다음 biotin이 부착된 이차항체(1: 300, Zymed Co.)에 20분간 작용 후, 통상적인 avidin-biotin complex법으로 염색하였다. 발색제는 AEC를 사용하였고 Mayer's hematoxylin으로 대조염색하였다.

(3) **면역조직화학염색 결과 판정:** c-erbB-2의 발현은 종양 세포의 10% 이상에서 세포막을 따라서 강하게 갈색으로 염색이 되는 것을 양성으로 판정하였으며, topoisomerase II- α index는 종양세포 1,000개 중에서 진한 갈색으로 핵에 염색이 되는 세포의 수를 세어 백분율로 표기하였다. 에스트론 수용체와 프로게스테론 수용체는 종양 세포의 핵에 10% 이상 염색이 되는 경우를 양성으로 판정하였다.

(4) **통계처리:** 환자의 나이, 종양의 크기, 조직학적 등급, 핵등급, 림프절 전이 여부, ER과 PR의 발현 여부와 c-erbB-2 발현과 Topoisomerase index와의 관련성을 Window용 SPSS (version 8.0) 통계 프로그램을 이용하여 Pearson Chi-Square test를 실시하였고, P값이 0.05 이하일 때 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 인정하였다.

결 과

1) 임상조건

환자의 연령은 30세부터 73세로 평균 47.9세였으며 39세

Table 1. Association between c-erbB-2 & Topoisomerase II- α index and tumor size

Tumor size	c-erbB-2		Topoisomerase II- α index (mean \pm S.D)
	(-)	(+)	
2 cm 이하	12 (92.3%)	1 (7.7%)	11.24 \pm 12.20
2.1 cm~4.9 cm	18 (78.3%)	5 (21.7%)	17.09 \pm 16.03
5 cm 이상	4 (57.1%)	3 (42.9%)	29.66 \pm 15.90
P-value	0.071		0.041

이하 군이 6예(14.0%), 40세에서 49세 군이 20예(46.5%), 50세에서 59세 군이 13예(30.2%), 60세에서 69세 군이 3예(7.0%), 70세 이상이 1예(2.3%)이었다. 환자군은 40대가 가장 많았고 50대, 30대순이었다.

종양의 크기는 2 cm 이하 군이 13예(30.2%), 2.1 cm에서 4.9 cm 군은 23예(53.5%), 5 cm 이상 군이 7예(16.3%)이었다. 림프절 전이 여부는 전이가 있는 군이 20예(46.5%)이었고, 전이가 없는 군이 23예(53.5%)이었다. AJCC에 의한 환자의 병기는 병기 I이 8예(18.6%), 병기 IIA가 17예(39.5%), 병기 IIB가 13예(30.2%), 병기 IIIA가 5예(11.7%)이었다.

2) 조직학적 소견

총 43예의 침윤성 관암종을 Nottingham/Tenovus Breast Cancer Study의 조직학적 등급기준의 소관 형성 정도, 핵의 다형성, 유사분열 수에 따라 조직학적인 등급을 나누었을 때 1등급이 11예(25.6%), 2등급이 20예(46.5%), 3등급이 12예(27.9%)이었고, 핵등급은 1등급이 11예(25.6%), 2등급이 22예(51.2%), 3등급이 10예(23.2%)이었다.

3) c-erbB-2의 발현 및 Topoisomerase II- α index와 예후 인자와의 상관관계

총 43예 중 c-erbB-2 발현에 음성을 나타낸 예가 34예(79.1%), 양성인 예가 9예(20.9%)였으며 Topoisomerase II- α index의 평균은 17.37 \pm 15.81이었다. 종양의 크기에 따라서는 2 cm 이하 군에서 c-erbB-2에 양성인 예가 12예(92.3%), 양성인 예가 1예(7.7%)였고, 2.1~5 cm 군에서는 18예(78.3%)가 음성, 5예(21.7%)가 양성이었으며, 5 cm 이상 군에서는 음성이 4예(57.1%), 양성이 3예(42.9%)로 크기가 증가함에 따라 통계학적으로 유의성은 없었지만 c-erbB-2의 발현이 증가하는 경향을 보였다(P=0.071). 또한, Topoisomerase II- α index는 종양의 크기가 증가함에 따라 통계학적으로 유의하게 그 값이 증가하였다(P=0.041)(Table 1)(Fig. 1, 2).

림프절 전이 여부에 따라서는 전이가 없는 군에서 음성이 20예(87.0%), 양성인 3예(13.0%)였고, 전이가 있는 군에서는 음성이 14예(70.0%), 양성인 6예(30.0%)로 전이가 있

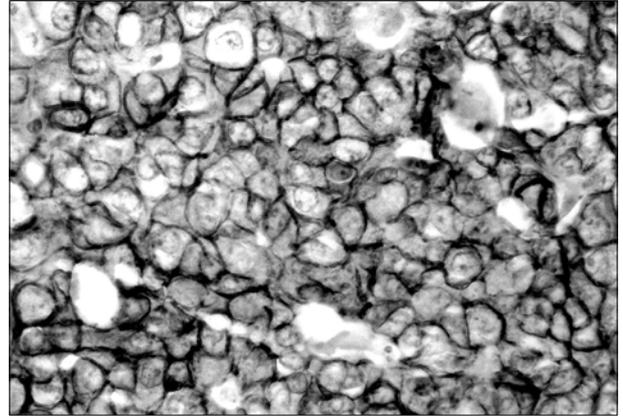


Fig. 1. Immunohistochemical stain of c-erbB-2 shows a strong positive staining along the cytoplasmic membrane in infiltrating duct carcinoma of breast (ABC, \times 400).

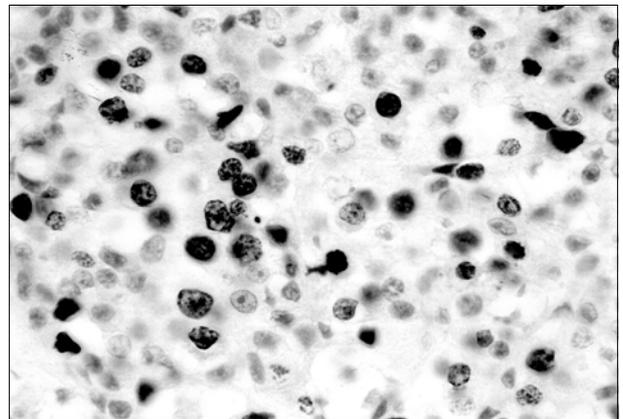


Fig. 2. Immunohistochemical stain of Topoisomerase II- α shows a strong nuclear staining in infiltrating duct carcinoma of breast (ABC, \times 400).

는 군에서 c-erbB-2의 발현이 증가하는 경향을 보이기는 했으나 통계학적인 유의성은 없었고(P=0.162), Topoisomerase II- α index는 림프절 전이가 있는 군에서 통계학적으로 유의하게 그 값이 증가하였다(P=0.001)(Table 2).

병기에 따른 c-erbB-2 발현의 차이는 없었으나(P=0.082), Topoisomerase II- α index는 등급이 높아짐에 따라 통계학적으로 유의하게 그 값이 증가하였다(P=0.008)(Table 3).

조직학적인 등급에 따른 c-erbB-2 발현의 차이는 없었으나(P=0.666), Topoisomerase II- α index는 등급이 높아짐에 따라 통계학적으로 유의하게 그 값이 증가하였다(P=0.019). 핵등급에 따라서는 c-erbB-2 발현의 차이는 없었으며(P=0.680), Topoisomerase II- α index는 등급이 증가함에 따라 그 값이 증가하는 양상을 보이기는 하였으나 통계학적인 유의성은 없었다(P=0.054)(Table 4).

호르몬 수용체 발현의 여부에 따른 c-erbB-2의 발현에서

Table 2. Association between c-erbB-2 & Topoisomerase II- α index and LN metastasis

LN metastasis	c-erbB-2		Topoisomerase II- α index (mean \pm S.D)
	(-)	(+)	
(-)	20 (87.0%)	3 (13.0%)	9.96 \pm 10.52
(+)	14 (70.0%)	6 (30.0%)	25.88 \pm 16.79
P-value	0.162		0.001

Table 3. Association between c-erbB-2 & Topoisomerase II- α index and tumor stage

Tumor stage	c-erbB-2		Topoisomerase II- α index (mean \pm S.D)
	(-)	(+)	
I	8 (88.9%)	1 (11.1%)	4.94 \pm 3.03
IIA	15 (93.8%)	1 (6.2%)	15.04 \pm 13.62
IIB	8 (57.1%)	6 (42.9%)	25.04 \pm 17.73
IIIA	3 (75.0%)	1 (25.0%)	27.75 \pm 16.64
P-value	0.082		0.008

Table 4. Association between c-erbB-2 & Topoisomerase II- α index and histologic grade, and nuclear grade

Histologic grade	c-erbB-2		Topoisomerase II- α index (mean \pm S.D)
	(-)	(+)	
I	8 (72.7%)	3 (27.3%)	10.97 \pm 10.80
II	17 (85.0%)	3 (15.0%)	14.64 \pm 17.25
III	9 (75.0%)	3 (25.0%)	27.77 \pm 12.72
P-value	0.666		0.019

Nuclear grade	c-erbB-2		Topoisomerase II- α index (mean \pm S.D)
	(-)	(+)	
I	8 (72.7%)	3 (27.3%)	9.13 \pm 8.10
II	18 (81.8%)	4 (18.1%)	17.75 \pm 18.40
III	8 (80.0%)	2 (20.0%)	25.57 \pm 12.09
P-value	0.680		0.054

에스트로겐 수용체에 따른 발현의 차이는 없었으나(P=0.583), Topoisomerase II- α index는 통계적으로 유의하게 그 값이 감소하였다(P=0.001). 프로그스테론 수용체에 따라서는 c-erbB-2 발현의 차이도 없었고(P=0.257), Topoisomerase II- α index 값의 차이도 없었다(P=0.166)(Table 5).

c-erbB-2 발현에 따른 Topoisomerase II- α index는 c-erbB-2

Table 5. Association between c-erbB-2 & Topoisomerase II- α index and estrogen receptor, and progesterone receptor

ER status	c-erbB-2		Topoisomerase II- α index (mean \pm S.D)
	(-)	(+)	
(-)	9 (81.8%)	2 (18.2%)	30.53 \pm 16.79
(+)	25 (78.1%)	7 (21.9%)	12.84 \pm 12.85
P-value	0.583		0.001

PR status	c-erbB-2		Topoisomerase II- α index (mean \pm S.D)
	(-)	(+)	
(-)	9 (69.2%)	4 (30.8%)	22.47 \pm 17.44
(+)	25 (83.3%)	5 (16.7%)	15.15 \pm 14.82
P-value	0.257		0.166

Table 6. Association between c-erbB-2 and Topoisomerase II- α index

c-erbB-2	Number	Topoisomerase II- α index (mean \pm S.D.)
(-)	34 (79.1%)	16.52 \pm 15.84
(+)	9 (20.9%)	20.56 \pm 16.24
P-value	0.503	

발현이 양성일 때 Topoisomerase II- α index 값이 증가하는 양상을 보였으나, 통계학적으로 유의성은 없었다(P=0.503)(Table 6).

고 찰

1993년 보건복지부의 암등록보고에 따르면 우리나라 유방암은 자궁경부암, 위암에 이어 세 번째로 많은 여성암으로 전체 여성암의 12% 정도를 차지하였으나 2000년 보건복지부의 암등록 보고에 의하면 우리나라 여성의 유방암의 발생빈도는 14.7%로 여성암 중에서 두 번째로 발생빈도가 많은 암이 되었다. 최근 진단기술의 발전과 유방암에 대한 인식 변화로 유방조영술 및 유방초음파를 통한 선별검사가 보편화되어 조기 유방암의 발견 빈도가 증가하고 있으며 생활양식이 서구화되고 출산율 및 수유가 감소되어 앞으로 계속 증가할 것으로 예상된다.(11) 유방암은 환자의 특성 및 유방암 자체의 생물학적 다양성으로 인하여 같은 병기의 환자에서도 다양한 임상결과 및 예후를 나타내는데 최근 면역분자생물학적 연구 방법을 이용하여 이런 임상결과를 예측할 수 있는 예후인자들에 대하여 많은 연구가 진행

중이며 각각의 예후인자들이 독립된 예후인자로서 사용될 수 있는지에 대한 논란이 계속되고 있다. 현재까지 알려진 유방암의 예후인자들로서는 종양의 크기, 림프절 전이유무, 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체 유무, 폐경 유무, TNM 병기, 조직학적 아형, 증식력의 측정, 암 유전자(c-erbB-2), 암억제 유전자(p53), 성장인자(EGFR), protease (cathepsin D), pS2, Pgp, uPA, stress-response proteins 등이 있으며, 이중 액와 림프절 전이 상태, 조직학적 아형, 종양의 크기, 핵 등급 및 조직등급, 호르몬 수용체 유무, 증식력의 측정 등이 표준적인 예후인자로 쓰이고 있다. 이런 예후인자들 중 암 세포의 증식력 측정은 치료에 따른 결과를 예측할 수 있고 무병률 및 전체 생존율과도 밀접한 관계가 있어 임상적으로 그 의미가 강조되고 있는데 이러한 증식력을 측정할 수 있는 지표들로는 MI (mitotic index), TLI (Thymidine labeling index), S-phase 측정, DNA aneuploidy, BrdUrd labeling index, PCNA, Ki-67 (MIB1) 등이 있고, 최근 Topoisomerase II- α 에 대해 활발히 연구 중이다.

DNA topoisomerase는 DNA 합성, 전사, 염색체 분리와 재결합과 같은 DNA 대사의 중요 단계에서 DNA 형태를 변화시키는 효소로 알려져 있으며,(12) 여기에는 크게 기능이 다른 DNA topoisomerase I과 II의 두 종류가 있다. DNA topoisomerase I은 DNA의 한 가닥을 자르는 역할을 하는 반면 DNA topoisomerase II는 동시에 두 가닥을 자르며 그 기능의 수행을 위해 ATP를 필요로 한다.(13) 포유류에는 DNA topoisomerase II의 두 isoform인 170 kd의 α -isoform과 180 kd의 β -isoform이 존재하는데 이들은 각각 염색체 17q21-11와 3q24에 위치한다.(14) 이들은 서로 높은 상동성을 가짐에도 불구하고 서로 독립적으로 조절되며 다른 성상과 기능을 가진다고 알려져 있는데, 이 중 α -isoform은 Anthracycline (doxorubicin, m-AMSA, mitoxantrone, etoposide)계 항암제의 표적으로 작용하여 항암치료에 있어 중요한 역할을 담당한다. Topoisomerase II inhibitor에 대한 민감도는 표적세포에서 Topoisomerase II- α 의 표현정도(expression level)에 따라 달라지는데 Topoisomerase II- α protein의 농도(concentration)가 낮을수록 Topoisomerase II inhibitor에 대한 표적효소가 적어서 항암제에 대한 민감도(sensitivity)가 낮다.(15-17) 또한 Topoisomerase II- α 는 대장암, 위암, 유방암, 림프종 등의 악성종양과 정상 증식세포의 세포주기 G1, S phase와 G2, M기에만 발현되어 세포 증식력을 알 수 있는 중요한 인자이며,(18) 따라서 세포증식에 있어서 변화가 민감하여 빠른 증식을 할 때 높은 수준을 나타내고 세포가 성장을 멈추면 낮아지지만, β -isoform은 세포주기 동안 일정하게 유지된다고 한다.(14) Topoisomerase II- α 의 발현은 최근 단항체(characterized monoclonal antibody)인 Ki-S4에 의해 가장 명확하게 면역염색 결과를 얻어낼 수 있으며,(19) 유방암에서 Topoisomerase II- α 의 증가는 종양의 크기가 크거나, 높은 종양 등급, 양성 림프절 전이 등 좋지 않

은 예후인자와 동반되고 높은 Topoisomerase II- α 활성도는 c-erbB-2 과발현과 종양의 이수배수체 등과 연관되어 나타난다.(20) Pierre 등(10)은 356개의 파라핀 포매된 전이가 없는 유방의 침윤성 관암종에 대한 연구에서 Topoisomerase II- α 는 Ki-67 labelling index와 매우 밀접한 상관관계를 보이며 또한 세포분열의 수(mitotic count), 종양의 등급, DNA 배수체 상태, 종양의 크기, c-erbB-2 immunoreactivity 등과 양성 비례적인 관계를 보이며 환자의 나이, 폐경상태, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체와는 음성 비례적인 관계를 보인다고 보고하였고, Topoisomerase II- α 와 Ki-67은 종양의 크기와 함께 무병생존율을 반영할 수 있는 독립적인 예후인자로 보고하였다. Pierre 등(21)은 또 다른 연구에서 원발성 전이의 발생률을 예측할 수 있는 인자로서 림프절 전이 상태, Topoisomerase II- α , 종양의 크기, 조직병리등급 I, 프로게스테론 수용체 음성의 순서로 보고하였고, 종양 세포 증식력과 연관하여 전체 생존율(overall survival)과 무전이생존율(metastasis free survival)에 대한 예측인자로 림프절 전이 여부, Topoisomerase II- α , 종양의 크기, 프로게스테론 수용체 음성, 환자의 나이의 순서로 보고하였다. 또한 Tero 등(22)은 230개의 유방암 조직을 이용한 면역조직화학적 연구에서 Topoisomerase II- α 양성 세포는 낮은 에스트로겐, 프로게스테론 수용체, 높은 S-상 분획, 높은 종양 등급, DNA 이수배수체, c-erbB-2 과발현 등의 예후인자와 비례적인 관계가 있음을 보고하였고 환자의 나이, 종양의 크기, 액와부 림프절 전이여부에는 연관이 없다고 보고하였다. 본 연구에서는 topoisomerase II- α 가 핵등급, 프로게스테론 수용체와는 통계학적으로 상관관계가 없는 것으로 나타났으나, 종양의 크기, 림프절 전이, 조직학적 등급과 병기와 양성 비례적인 관계를 보였고, 에스트로겐 수용체와는 음성 비례적인 관계를 보여 다른 연구에서와 비슷한 결과를 얻을 수 있었으며 따라서 유방암에서 환자의 예후를 예측할 수 있는 예후인자로서의 활용 가능성을 고려해 볼 수 있었다.

c-erbB-2 종양 유전자는 정상세포에서 단일 복제 형태로 있고, 쥐에서 ethy-Initrosourea로 유도된 신경모세포종(Neuroblastoma)에서 처음으로 발견된 관계로 neu로 불렸다. 이는 p185로 알려진 185 kD의 세포막당단백(membrane glycoprotein)이 암호화(coding)되어 있고, 이 p185의 세포내 성분은 tyrosine kinase 활성을 가지고 있기 때문에 세포내 성분은 40% 그리고 세포외 성분은 85%에서 표피성장인자 수용체(EGFR)와 구조적 상동성을 가진다.(23) 이 유전자의 증폭은 유방암에서 흔하게 발견되는 유전자 변이 중의 하나로 인간염색체 17q21에서 관찰되고 이 때 물리적인 근접성으로 인하여 v-erbA/THRA (thyroid hormone receptor α), terinoic acid receptor α , MLNs50,51,62,64, Topoisomerase II- α 와 같은 근접한 유전자들과 같이 증폭 또는 결손의 이상이 동반되는 경우가 많다. 몇몇 보고에 의하면 c-erbB-2 과발현된

유방암에서 이들의 90% 정도에서 topoisomerase II- α 유전자의 증폭 및 결손이 동반된다고 하였다.(17) 이의 과발현은 유방암의 10~30%에서 관찰되며 c-erbB-2는 tyrosine kinase 활성을 통한 세포의 신호전달 체계에 의한 세포증식과 밀접한 관계가 있고, 이의 과발현은 불량한 예후와 관련이 있는 것으로 알려져 있는데, 현재까지는 액와 림프절 음성일 때 단독으로 불량한 예후를 나타내는 종양표지자로서는 인정받고 있지 못하다. Tyrosine kinase 활성은 c-erbB-2의 활성을 감소시키기 때문에 tyrosine kinase 활성을 통하여 c-erbB-2의 활성상태를 예측할 수 있고 Herceptin (trastuzumab)에 대한 치료 결과를 예측할 수 있으며 따라서 Herceptin 치료가 유용한 환자를 선택하는 데 있어 중요하다.(18) c-erbB-2 종양 단백질의 과발현과 환자의 나이, 종양의 크기, 조직학적 등급, 액와 림프절 전이 등 유방암의 예후인자들과의 상관관계에 대한 많은 연구들이 있으나 각 연구마다 차이가 있다. Paik 등(24)은 c-erbB-2가 과발현된 유방암은 나쁜 조직등급 및 호르몬 수용체 음성과 관계가 있으며 높은 증식능력을 가지는 것으로 보고하였으나, Rosen 등(25)은 c-erbB-2의 과발현과 나쁜 조직등급 및 호르몬 수용체와의 관계를 찾을 수 없었다고 하였다. 강 등(1)은 c-erbB-2가 p53과는 밀접한 관련이 있다고 하였으나, 핵등급 및 조직등급, 호르몬 수용체와의 관계는 찾을 수 없었다고 하였고, 박 등(23)은 c-erbB-2가 폐경유무, 종양의 크기, 림프절 전이, 호르몬 수용체와는 통계학적인 유의성이 없었으나 조직학적 등급과는 깊은 상관관계가 있다고 보고하였다. 본 연구에서는 c-erbB-2와 다른 예후인자와의 상관관계는 종양의 크기에서만 확인할 수 있었고 기타 림프절 전이, TNM 병기, 조직등급 및 핵등급, 호르몬 수용체 등과의 관계는 확인할 수 없어 c-erbB-2 과발현 단독으로 불량한 예후를 나타내는 종양표지자로서의 활용은 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

또한 앞에서 언급한 것처럼 Pierre 등과 Tero 등의 연구에서처럼 Topoisomerase II- α 와 c-erbB-2와의 밀접한 상관관계를 보고한 몇 가지 연구들이 있었으나 본 연구에서는 c-erbB-2가 양성인 군의 topoisomerase II- α index의 평균은 20.56이었고 음성인 군의 평균은 16.5로 통계학적 유의성은 없었다. 이는 본 연구 대상이 43예로 비교적 소수이며 본 연구 방법이 면역조직화학적 염색이므로 최종 단백질의 발현 여부만을 알 수 있고 유전자의 증폭이나 결손은 정확히 알기 어려운 방법상의 문제 때문일 수도 있다고 생각된다.

본 연구에서는 Topoisomerase II- α 가 유방암의 다른 예후인자들과 유의한 상관관계가 있음을 확인할 수 있었으나 세포의 증식력을 측정할 수 있는 다른 인자들과의 상관관계는 비교하지 못하였고 또한 화학적 항암치료에 있어 Topoisomerase II- α 의 중요성을 밝히지 못하였다. 따라서 Topoisomerase II- α 의 연구에 있어 더 많은 환자 예를 대상

으로 보다 장기적인 관찰을 통하여 향후 이들에 대한 부가적인 연구가 필요하리라 생각한다.

결 론

1997년 4월부터 2000년 4월까지 중앙대학교부속 필동병원 외과학교실에서 유방의 침윤성 관암중으로 수술 받은 43예를 대상으로 c-erbB-2의 발현도 및 Topoisomerase II- α index를 조사하였고 기존의 예후인자들인 종양의 크기, 림프절 전이 여부, 병기, 조직학적 등급, 핵등급, 호르몬 수용체 여부 등과의 상관성을 비교 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

총 43예 중 c-erbB-2 발현에 음성을 나타낸 예가 34예(79.1%), 양성인 경우가 9예(20.9%)였으며, 종양의 크기, 림프절 전이 여부, TNM 병기, 조직학적 등급, 핵등급, 호르몬 수용체 여부에 따른 c-erbB-2의 발현의 차이는 없었다($P > 0.05$).

Topoisomerase II- α index는 종양의 크기가 크고, 림프절 전이가 있으며, 병기가 높고, 조직학적 등급이 높을수록 통계학적으로 유의하게 그 값이 증가하였고, 에스트로겐 수용체가 양성인 경우 통계학적으로 유의하게 그 값이 감소하였다($P < 0.05$).

c-erbB-2 발현과 Topoisomerase II- α index와의 관계에 있어서는 통계학적인 유의성이 없었다($P > 0.05$).

이상의 결과로 Topoisomerase II- α 가 유방의 침윤성 관암중에서 중요한 예후인자로서의 활용 가능성이 있음을 확인할 수 있었으나 c-erbB-2의 예후인자로서의 역할과 Topoisomerase II- α 와 c-erbB-2의 상관성에 대해서는 향후 지속적인 연구가 필요하다고 생각한다.

REFERENCES

- 1) Kang HJ, Kim SW, Yun YK, Oh SK, Choe KJ, Noh DY. Expression of p53, c-erbB2, bcl-2, cathepsin D in infiltrating ductal cancer of the breast. J Korean Surg Soc 2001;60: 592-9.
- 2) Cho SH, Lee DY, Kim BJ, Hong SH. Expression pattern and prognostic correlation of BAG-1 protein in breast cancer. J Korean Cancer Assoc 2000;32:60-7.
- 3) 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 Surg Soc 2001;60: 368-74.
- 4) Ko CD, Kang HJ, Kim SW, Youn YK, Oh SK, Choe KJ, et al. Assessment of MIB1 (Ki-67) labeling index and correlation with other well established prognostic factors in breast cancer. J Korean Surg Soc 2001;60:361-7.
- 5) Joseph HW, Joseph AH. Immunohistochemical staining for DNA topoisomerase II - alpha in benign, premalignant, and malignant lesions of the prostate. Prostate 2000;42:280-6.

- 6) Joseph AH, Jeannette JT. DNA Topoisomerase II-alpha as a proliferation marker in astrocytic neoplasm of the central nervous system: Correlation with MIB1 expression and patient survival. *Mod Pathol* 1999;12:1094-100.
- 7) Brian ES, Wade SS, Igor BB, Joseph AH. Expression of DNA topoisomerase I and DNA topoisomerase II - alpha in carcinoma of the colon. *Mod Pathol* 1999;12:356-61.
- 8) Koo JY, Lee HD, Jung WH. Overexpression of c-erbB2 and its relationship with chemotherapy in breast cancer. *J Korean Cancer Assoc* 1998;30:450-6.
- 9) Guy R, Marie-Christine M, Michel B, Marie-Luce LB, Jean-Charles A, Jean B, et al. c-erbB-2 (HER-2/NEU) gene amplification is a better indicator of poor prognosis than protein over-expression in operable breast-cancer patients. *Int J Cancer* 2001;95:266-70.
- 10) Baruch S, Yonit B, Tania Z, Joelle B, Sigal L, Zvi K, et al. Topoisomerase II α expression in ductal carcinoma in situ of the breast: A preliminary study. *Hum Pathol* 2000;31:1249-54.
- 11) Korean Breast Cancer Society. Korean breast cancer data of 1997. *J Korean Cancer Assoc* 1999;31:1202-9.
- 12) Berger JM, Gamblin SJ, Jarrinson SC, Wang JC. Structure and mechanism of DNA topoisomerase II. *Nature* 1996;379:225-32.
- 13) Monnin KA, Bronstein IB, Gaffney DK, Holden JA. Elevation of DNA topoisomerase I in transitional cell carcinoma of the urinary bladder: correlation with DNA topoisomerase II-alpha and p35 expression. *Hum Pathol* 1999;30:384-91.
- 14) Drake FH, Hofmann GA, Bartus HF, Mattern MR, Croke ST, Mirabelli CK. Biochemical and pharmacological properties of p170 and p180 forms of topoisomerase II. *Biochemistry* 1989; 28:8154-60.
- 15) Beverly JL, Donald G Jr, Joseph AH. Human DNA topoisomerase II - alpha: A new marker of cell proliferation in invasive breast cancer. *Hum Pathol* 1997;28:1180-8.
- 16) Cardoso F, Leo AD, Larsimont D, Gancberg D, Rouas G, Dolci S, et al. Evaluation of HER2, p53, bcl-2, topoisomerase II- α , heat shock proteins 27 and 70 in primary breast cancer and metastatic ipsilateral axillary lymph nodes. *Ann Oncol* 2001;12:615-20.
- 17) Tero AHJ, Minna T, Virpi R, Maarit B, Åke B, Seija G, et al. Amplification and deletion of topoisomerase II- α associate with ErbB-2 amplification and affect sensitivity to topoisomerase II inhibitor doxorubicin in breast cancer. *Am J Pathol* 2000;156:839-47.
- 18) Rohit B, Rizwan N, Sharon M, Jason L, Jane G, Robert G, et al. Tyrosine kinase activation in breast carcinoma with correlation to HER-2/neu gene amplification and receptor overexpression. *Hum Pathol* 2001;32:1344-50.
- 19) Pierre R, Håkan O, Gabriele B, Virgo R, Hendrik B, Bo B, et al. Correlation between p53, c-erbB-2, and topoisomerase II- α expression, DNA ploidy, hormonal receptor status and proliferation in 356 node-negative breast carcinomas: Prognostic implications. *J Pathol* 1999;187:207-16.
- 20) Peter LD, Seth IR, Thomas PB, Scott S, Rebecca LJ, Jeffrey SR. Topoisomerase II- α expression in breast cancer: Correlation with outcome variables. *Mod Pathol* 2000;13:542-7.
- 21) Pierre R, Gaëtan M, Françoise B, Sven-Olaf F, Isabelle de M, Monique T, et al. Prognostic significance of Ki-67 and topoisomerase II- α expression in infiltrating ductal carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat* 1999;55:61-71.
- 22) Tero AHJ, Juha K, Markku PH, Jorma I. Expression of topoisomerase II- α is associated with rapid cell proliferation, aneuploidy, and c-erbB2 overexpression in breast cancer. *Am J Pathol* 1996;148:2073-82.
- 23) Park KJ, Cho SH, Kim YH, Jung GJ, Kim SS, Hong SH. Significance of c-erbB-2 oncoprotein as a prognostic predictor for human breast cancer. *J Korean Surg Soc* 1998;55:44-52.
- 24) Paik S, Burkhard E, Lippman ME. Clinical significance of erbB2 protein overexpression. *Cancer Treat Res* 1992;61:181-91.
- 25) 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 epidemiologic risk factors, histologic features, and prognosis. *Cancer* 1995;75:1320-26.