

유방의 침윤성 관암종에서 Insulin-like Growth Factor I Receptor의 발현과 병리학적 예후인자와의 상관관계

지방공사 남원의료원, ¹전북대학교 의과대학 병리학교실

오소영 · 강명재¹ · 문우성¹ · 최호열¹

Correlation between Expression of Insulin-like Growth Factor-I Receptor and Clinicopathologic Prognostic Factors in Invasive Ductal Carcinoma of the Breast

So Yeong Oh, M.D., Myoung Jae Kang, M.D.¹, Woo Sung Moon, M.D.¹ and Ho Yeul Choi, M.D.¹

Purpose: The insulin-like growth factor-I receptor (IGF-IR) is a member of the transmembrane tyrosine kinase family that regulates various biological processes. These processes include maintaining optimal cell growth, establishing and maintaining the transformed phenotype, tumorigenesis for several types of cells, and antiapoptosis. This study investigated the immunohistochemical expression of IGF-IR in relation with the expression of the estrogen receptor (ER), the progesteron receptor (PR), proliferative activity (Ki-67) as well as with the other conventional clinicopathological parameters in breast cancer.

Methods: This study was performed on paraffin sections from 64 invasive ductal breast carcinoma specimens by immunohistochemistry using rabbit polyclonal antibodies to the IGF-I receptor.

Results: IGF-IR expression was detected in 56 (87.5%) cases. The immunohistochemical stains for the IGF-IR were scored according to a semi quantitative scoring system. IGF-IR staining was positively correlated with the ER status, but not significantly with the PR, lymph node status, tumor size, histological grade, and proliferative activity. The Ki-67 labeling index showed a significant correlation with the tumor grade and ER status.

Conclusion: The IGF-IR may play a role in estrogen-mediated growth and the pathogenesis of breast cancer. (J Korean Surg Soc 2002;62:396-402)

Key Words: Breast cancer, IGF-I receptor, Estrogen receptor, Progesteron receptor, Ki-67

중심 단어: 유방암, IGF-I 수용체, 에스트로겐 수용체, 프로그스테론 수용체, Ki-67

Namwon Medical Center and ¹Department of Pathology, Chonbuk National University Medical School, Chonbuk, Korea

서 론

유방암은 서구에서는 여성 암 중 가장 높은 발생 빈도를 보이는 악성 종양의 하나이며, 국내에서도 여성에 발생하는 암 및 사인의 중요한 부분을 차지하고 점차 증가하는 추세이다.(1) 유방암의 중요한 예후 추정인자로서는 전이된 림프절의 수, 종양의 크기, 조직학적 형태와 분화도 및 에스트로겐과 프로그스테론 수용체, 종양 세포의 증식능 및 DNA 비배수성과 여러 가지 종양유전자의 존재 등이 있다.(2-5) 특히 에스트로겐 수용체(ER)와 프로그스테론 수용체(PR)의 유무 여부는 예후나 항호르몬 치료 면에 있어서 중요한 역할을 한다는 것은 이미 널리 알려져 있다. 그러나 림프절 전이가 없는 유방암 환자라도 높은 재발률과 낮은 생존율을 보이는 환자들이 적지 않아 유방암에 대한 여러 가지 조기진단 및 치료방법의 개선에도 불구하고 유방암 환자의 생존율은 그다지 크게 변화하지 않고 있다. 최근 유방암을 비롯한 여러 악성 종양의 성장 조절에 있어 종양 유전자와 종양 억제 유전자, 펩타이드 성장인자 및 수용체의 역할을 밝히려는 연구가 많은 관심을 끌며 활발하게 이루어지고 있다.(5) 펩타이드 성장인자 중 생물학적 중요성을 가지는 대표적인 것이 insulin-like growth factor (IGF)인 IGF-I과 IGF-II이다. IGF는 유방을 포함한 다양한 조직에 존재하여 정상세포의 성장과 발달에 중요한 역할을 하며 종양의 성장 조절에도 관련되어 있다.(6) 그 수용체는 IGF-IR과 IGF-IIR의 두 가지가 있는데 그중 IGF-IR는 인슐린 수용체와 구조적으로 유사한 막투과성 이성이분자체(heterodimer)이고, IGF-IR 신호전달체계는 세포증식을 자극하고

책임저자 : 오소영, 전북 남원시 고죽동 200
☎ 590-210, 지방공사 전라북도 남원의료원
Tel: 063-620-1207, Fax: 063-620-1209
E-mail: waterflo@unitel.co.kr
접수일 : 2002년 2월 25일, 게재승인일 : 2002년 3월 30일

세포고사(apoptosis)를 억제함으로써 종양의 성장을 조절하여 유방암의 병인에 기여한다고 알려져 있으며, 종양세포의 유착과 침습을 조절하여 악성도에 영향을 준다는 보고가 있다.(7,8) 또한 유방암에서 IGF-IR의 발현은 ER과 PR의 발현과도 직접적인 관련이 있다는 연구결과도 있다.(9)

지금까지 유방암에서 IGF-IR의 발현은 방사면역법(radioimmunoassay)이나 자가방사기록법(autoradiography) 등 동위원소가 부착된 리간드를 이용한 방법을 통해 연구되었고 mRNA 분석법으로 확인되었으며 면역조직화학적 방법에 의한 연구는 소수에 불과하다.(8) 리간드 부착법을 이용한 연구에서는 유방암의 39~93%에서 IGF-IR가 발현되며 양성이나 정상 유방조직에는 낮게 발현된다고 보고하고 있으나 예후와의 관련성은 아직 정립되지 않았다.(9,10)

저자는 유방의 침윤성 관상암종을 대상으로 IGF-IR의 발현양상을 면역조직화학적 염색을 통해 알아보고 세포증식의 지표로서 많이 사용되는 Ki-67을 통한 유방암세포의 증식능과의 연관성을 알아보고자 했다. 또한 이들의 발현양상과 ER과 PR의 상태, 종양의 크기, 림프절 전이유무 등이 미 알려져 있는 여러 가지 예후인자들과의 통계학적 연관성을 연구하고자 하였다.

방 법

1) 재료

연구재료로서는 1992년도부터 1999년도까지 약 8년간 전 북대학교병원에서 유방의 침윤성 관암종으로 진단 받고 전 유방 또는 부분 유방절제술 및 동측 액와림프절 광철술을 받은 예들을 대상으로 하였다.

절제된 유방조직은 통상의 방법으로 제작한 파라핀 절편으로 hematoxylin-eosin 염색을 시행하여 보관하였는데, 이를 재검토하여 이 중 비교적 보관이 잘 되어있는 64예를 대상으로 하였다. 조직학적 소견 이외에 병리 진단지를 재검토하여 종양의 크기와 림프절 전이 여부 및 전이된 림프절의 수를 검색하였다.

2) 병리조직학적 검색

종양의 조직학적 등급은 Bloom과 Richardson의 방법을 변형한 것으로 Nottingham/Tenovus breast Cancer Study에서 사용한 조직학적 등급기준을 이용하여 핵의 다형성, 세관형성, 그리고 유사분열수에 따라 1등급, 2등급, 3등급으로 분류하였다.(11) 종양의 크기는 American Joint Committee on Cancer의 TNM 분류에 따라 2 cm 이하(T1), 2.1~5 cm (T2), 5 cm 이상(T3)으로 분류하였고, 액와부 림프절의 전이여부는 Fisher 등의 기준에 따라 전이가 없는 경우(N0), 1~3개에 전이가 있는 경우(N1), 4개 이상의 림프절에 전이가 있는 경우(N2)로 분류하였다.(13)

3) 면역조직화학적 염색

면역조직화학적 염색의 일차항체로는 IGF-IR β (Santa Cruz, CA, USA, C-20, 1 : 200)에 대한 rabbit polyclonal antibody, 그리고 Ki67 (Immunotech, France, MIB-1, 1 : 50), 에스트로겐 수용체(DAKO, Denmark), 프로게스테론 수용체(DAKO, Denmark) 등에 대한 단클론 항체를 사용하였으며, capillary gap action의 원리를 적용한 Microprobe Staining System (Fisher Co. USA)을 이용하여 avidin-biotin-complex (ABC)법으로 다음과 같이 염색하였다.

각각의 파라핀 포매 조직을 4 μ m 두께로 박절한 후 poly-L-lysine으로 피복된 유리슬라이드 위에 부착하였다. Xylene과 알코올을 거쳐 증류수로 함수시킨 후 0.01 M pH 7.6 Tris 완충액으로 수세 후 3% 과산화수소에 5분간 작용시켜 내인성 과산화효소의 작용을 차단시킨 후, Tris 완충액으로 수세 및 정상 염소혈청으로 5분간 작용시켜 비특이적 단백질결합을 차단하였다. Ki-67은 항원을 노출시키기 위해 0.01 M 구연산 완충액에 담가 5분간 microwave oven에서 가열한 후 실온에서 식히는 과정을 3회 반복 시행하였다. 각각의 일차항체는 항체의 종류에 따라 1% 소혈청알부민이 들어있는 pH 7.4의 일차항체 희석액에 IGF-IR은 200배로 희석하고 Ki-67은 50배로 희석하였으며 ER, PR은 희석하지 않은 채 40°C에서 20분간 반응시켰다. 다시 pH 7.6 Tris 완충액으로 수세한 후 biotin이 부착된 universal 이차항체를 40°C에서 10분간 부치시킨 후 Tris 완충액으로 세척하고 streptavidin-horseradish-peroxidase와 10분간 반응시켰다. Tris 완충액으로 세척하고 3-amino-9-ethyl carbazole로 발색시킨 후 10% Mayer's hematoxylin으로 대조염색하고 수세하여 crystal mount로 봉입하였다. 음성대조군으로 일차항체 대신 일차항체 희석액을 이용하였다.

4) 염색 결과의 측정

IGF-IR에 대한 면역염색의 양성반응은 세포질에 진한 적갈색으로 관찰되었다. IGF-IR의 발현은 반정량적 평점체계를 이용하여 염색강도에 따라 0~3점으로, 양성세포의 비율에 따라 1% 미만일 때는 1점, 1~10%는 2점, 11~33%는 3점, 34~67%는 4점, 68% 이상은 5점으로 하여 양성반응의 강도와 범위를 합하여 0점, 2~8점까지 점수를 산정하였다.(13)

Ki-67에 대한 면역조직화학적 염색 후 광학현미경하에서 3~4개의 시야를 임의로 선정하여 400배에서 한 예당 1,000개의 상피세포 중 양성으로 표지된 세포의 수를 세어 백분율을 구하였다. 세포의 핵내에 뚜렷한 적갈색을 보이는 경우만을 양성으로 판정하였다. 그러나, 일부 시야에서 핵과 세포질의 염색상의 차이가 없는 세포들이 관찰되었는데 이러한 세포들은 음성반응을 보이는 것으로 판정하였다. ER과 PR은 핵에서 분명한 적갈색을 보이는 것을 양성으로 판

정하였다.

5) 통계학적 분석

결과의 통계학적 분석은 SPSS version 10.0을 이용하여 t-test 및 ANOVA test를 시행하였고 P<0.05를 통계적 유의 수준으로 검정하였다. IGF-IR 발현 정도와 Ki-67 발현도 간의 상관관계는 Pearson 상관계수를 구하여 검정하였다.

결 과

1) 임상소견

환자의 나이는 28세에서 75세로 평균 48세였으며, 종양의 크기는 0.8 cm에서 9.5 cm이었고 평균크기는 3.6 cm이었다.

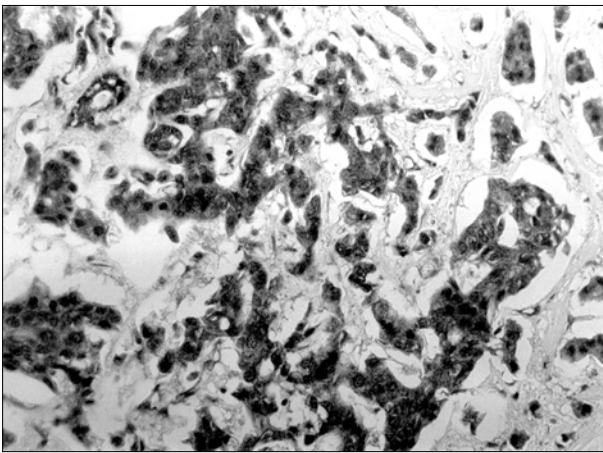


Fig. 1. The immunohistochemical staining for IGF-IR in ER positive infiltrating carcinoma of the breast shows strong positive reactions in the cytoplasm of tumor cells (×200).

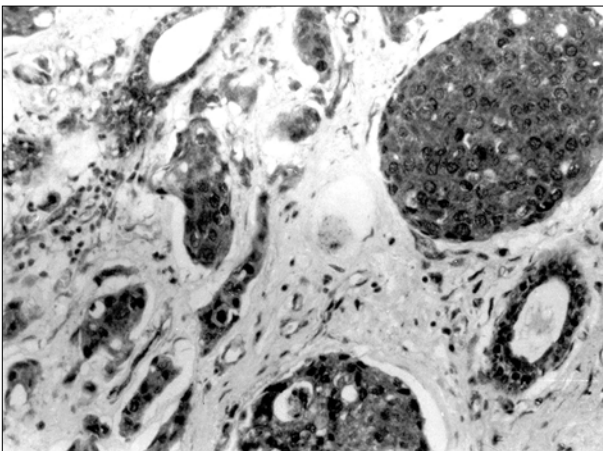


Fig. 2. The immunohistochemical staining for IGF-IR in non-neoplastic breast and ductal carcinoma in situ component of invasive ductal carcinoma shows positive reaction (×200).

T1이 13예(20.3%), T2가 37예(57.8%), T3가 14예(21.9%)였다.

2) 광학현미경 소견

분화도에 따라 조직학적 등급을 나누었을 때 1등급이 15(23.4%)예, 2등급이 34예(53.1%), 3등급이 15예(23.4%)였다. 림프절 전이 여부는 림프절 전이가 없는 군이 32예(50.0%), 1개에서 3개까지가 14예(21.9%), 4개 이상 군은 18예(28.1%)였다.

3) 면역조직화학적 염색 결과와 예후인자와의 상관관계

(1) IGF-IR의 발현과 예후인자와의 상관관계: IGF-IR은 종양세포의 세포질에 염색되었으며(Fig. 1), 종양세포 주변 정상 유방조직의 상피세포와 근상피세포, 혈관내피세포 및 혈관의 평활근층에서도 염색이 되었다(Fig. 2). 총 64예 중 56예(87.5%)에서 IGF-IR가 발현되었으며 종양의 크기, 조직학적 분화도, 림프절 전이 유무에 따른 IGF-IR의 발현도는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. ER은 64예 가운데 26예(40.6%)가 양성이었으며 PR은 23예(35.9%)가 양성이었다. ER 양성군에서 IGF-IR 발현도는 7.04±1.18이었고 ER 음성군에서는 4.92±2.99로 ER 양성인 군에서 IGF-IR의 발현도가 유의있게 높았다(P<0.01, Table 1). PR 양성군에서

Table 1. The relationship between IGF-IR expression and prognostic parameters in breast cancer

	No. of cases	Score of IGF-IR expression (mean±SD)	P value
Tumor size			NS
T1	13	6.00±2.27	
T2	37	5.57±2.72	
T3	14	5.71±3.27	
Lymph node metastasis			NS
N0	32	5.97±2.18	
N1	14	7.00±2.11	
N2	18	4.50±3.26	
Histologic grade			NS
I	15	5.93±2.40	
II	34	5.68±2.74	
III	15	5.87±2.77	
ER			P<0.01
(+)	26	7.04±1.18	
(-)	38	4.92±2.99	
PR			NS
(+)	23	6.52±2.00	
(-)	41	5.37±2.87	

NS = not significant.

Table 2. The relationship between Ki-67 labelling index and prognostic parameters in breast cancer

	No. of cases	Ki-67 labelling index (mean±SD%)	P value
Tumor size			NS
T1	13	23.9±21.7	
T2	37	20.9±18.2	
T3	14	17.5±17.9	
Lymph node metastasis			NS
N0	32	21.4±20.8	
N1	14	23.9±15.6	
N2	18	16.6±17.6	
Histologic grade			P<0.01
I	15	6.3±7.6	
II	34	19.9±15.6	
III	15	37.0±20.9	
ER			P<0.05
(+)	26	15.3±13.8	
(-)	38	24.5±20.8	
PR			NS
(+)	23	16.7±19.1	
(-)	41	23.0±18.4	

NS = not significant.

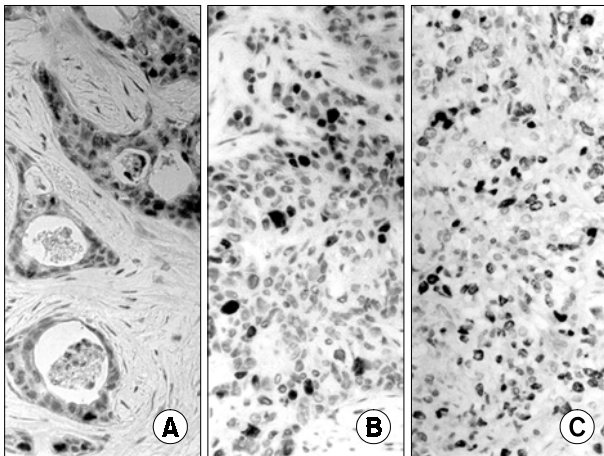


Fig. 3. The immunohistochemical stainings for Ki-67 in invasive ductal carcinoma are graded as I (A), II (B), and III (C) (×200).

IGF-IR의 발현도는 6.52±2.00이었고, PR 음성군에서는 5.37±2.87로 PR 양성인 경우 IGF-IR의 발현이 높았으나 통계학적 의의는 없었다.

(2) Ki-67의 발현과 예후인자와의 상관관계: Ki-67 표지 지수는 0~75% 범위로 염색되었고 평균 Ki-67 표지 지수는

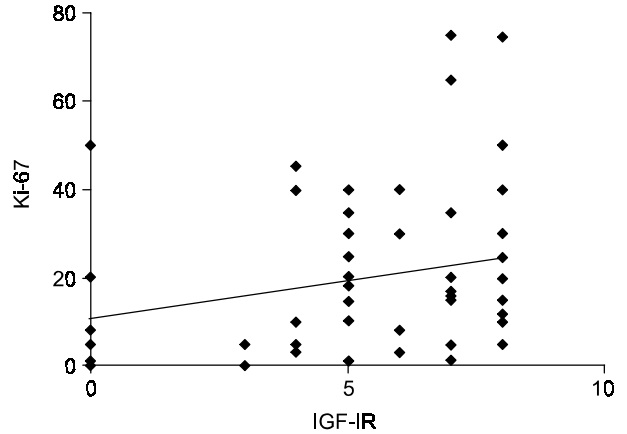


Fig. 4. Comparison of IGF-IR expression with Ki-67 labelling index. There is no correlation.

20.7이었으며 종양의 크기, 림프절 전이 유무, PR의 발현 유무에 따른 유의한 차이는 없었다. 조직학적 등급에 따른 Ki-67 표지 지수는 1등급이 6.3±7.6, 2등급이 19.9±15.6, 3등급이 37.0±17.6으로 고등급으로 갈수록 유의하게 증가하였다(P<0.01, Table 2, Fig. 3). 또한 ER 양성인 군에서 15.3±13.6, ER 음성인 군에서 24.5±20.8로 ER 음성인 군에서 유의하게 높았다(P<0.05).

(3) IGF-IR의 발현과 Ki-67 발현 사이의 상관관계: IGF-IR의 발현과 Ki-67의 발현 사이에는 통계학적으로 상관분석한 결과 Pearson 상관계수가 0.25로 IGF-IR의 발현이 증가할수록 Ki-67 표지 지수가 증가하는 경향을 보였으나 통계학적으로 의의는 없었다(P=0.051, Fig. 4).

고 찰

IGF-IR은 거의 모든 조직과 세포에 존재하는 tyrosine kinase의 활동성을 가진 세포막 수용체로서 인간에서 그 유전자는 15번 염색체에 존재한다.(6) IGF-IR은 α₂β₂ 이성이분자체로서 존재하고 α아단위는 세포 외에 존재하며 리간드 부착 기능을 담당한다. β아단위는 세포막을 통과하며 tyrosine kinase 도메인과 ATP 부착부를 포함하고 있다. IGF-IR이 세포분열능력을 발휘하기 위해서는 IGF-I이 IGF-I 수용체에 결합한 뒤 β아단위 내의 tyrosine kinase가 자가인산화되어야 하며 이에 따라 세포의 증식과 형질전환에 관련된 전사인자가 활성화된다.(14) 리간드에 의해 활성화된 IGF-IR은 세포의 정상적인 세포성장과 발달에 중요한 역할을 하고 형질전환의 유지 및 종양형성에 필요하며 세포고사로부터 세포를 보호하는 기능을 한다. IGF-IR이 세포의 성장에 필수적인 요소는 아니지만 세포의 적절한 성장을 위해서 중요하고 세포주기의 모든 단계에서 IGF-I이 필요하다. 그러나 형질전환(transformation)에는 필수적이어서 IGF-IR

은 세포의 성장보다는 전환된 표현형의 유지에 더 중요한 역할을 한다.(15) IGF-I이 종양세포의 성장에 중요하나 필수적이지 않은 이유는 IGF-I이 없어도 30~40%의 성장이 가능하기 때문이다. 또한 IGF-I은 platelet-derived growth factor와 epidermal growth factor와 같은 성장인자 수용체의 세포분열 및 형질전환 기능에 필요하다.(6) 또한 종양의 성장과는 독립적으로 유방암, 방광의 이행세포암종, 전립선암, 간암종 등에서 세포의 유착과 침습 및 전이를 조절하여 악성도에 영향을 미칠 수 있다는 보고도 있다.(20) IGF-IR과 그의 리간드인 IGF-I과 IGF-II는 유방, 폐, 갑상선, 위장관 간, 췌장, 신장, 신경내분비 세포 등의 여러 악성 종양에서 과발현이 보고되어 있다.(16) IGF-IR이 유방암에서 과발현되는 기전으로는 종양억제 유전자인 p53의 돌연변이에 의해 IGF-IR을 억제하는 기능이 소실되기 때문이며 p53이 IGF-IR의 발현을 조절한다는 것과,(17) 에스트로겐에 의해 IGF-IR이 조절을 받기 때문이라는 주장이 있다.(18)

대부분의 유방종양과 유방암세포주들이 IGF-IR을 발현한다고 보고되어 있으며 리간드 부착법을 이용한 연구에서 유방암의 39~93%에서 IGF-IR이 발현되었다고 하였다.(8,10) 본 연구결과 총 64예 중 56예(87.5%)에서 IGF-IR이 발현되어 리간드 부착에 근거한 연구와 유사하게 IGF-IR이 대부분의 유방암세포에서 발현됨을 알 수 있었다. 기존의 리간드부착법에 의한 연구에 따르면 양성 유방종양에서는 43%에서만 IGF-IR이 발현되고 정상 유방조직에서는 발현되지 않았다는 보고를 비롯하여 정상 유방조직이나 양성조직에서 악성종양에서보다 낮게 발현된다고 하였다.(19) 그러나 일부 문헌에서는 정상 유방조직이나 양성조직에서도 유사하게 발현된다고 보고하기도 하였고,(9) 대장 및 직장을 비롯하여,(20) 갑상선에서도 정상조직과 종양조직 사이에 염색 강도와 분포에 차이가 없었다는 연구가 있었다.(21) 본 연구에서는 주변 정상 유방조직의 상피세포에서도 그 발현도와 염색강도가 종양세포와 비슷하게 나타났다. 침윤성 관암종내의 상피내암종 부분에서는 근상피세포에서도 IGF-IR이 발현되었으며 종양주변의 정상 상피세포에서도 IGF-IR이 강하게 발현되었다. 따라서 양성보다 악성인 부분에서 IGF-IR의 발현도가 증가된다는 증거는 발견하지 못하였으며 이러한 결과는 Happerfield의 연구와 유사하였다.(8) 리간드부착법을 이용하여 IGF-IR을 측정 시 악성종양에서보다 양성유방조직에서 낮게 발현되었다는 것에 대해 가능한 설명으로는 양성 유방조직은 악성 조직보다 IGF-IR가 없는 비상피성분을 더 많이 포함하고 있기 때문에 리간드부착법에서 시행되는 세포질추출법을 이용할 경우 비상피성분에 의해 희석이 되었을 가능성이 높은 것으로 추측하고 있으며 양성 유방조직에서 IGF-I에 의한 수용체 점유율이 더 높아 경쟁적인 부착측정법에서 부착부위를 차단하였을 가능성을 제시하고 있다.(9) 또한 악성조직 근처의 비종양세포는 조직학적으로는 양성의 모양을 가지지만 생화학적으로

악성의 성질을 가지고 있어 IGF-IR의 면역조직화학적 염색에 차이를 보이지 않았을 가능성도 있다고 생각하였다.(8) 혈관내피세포에서의 IGF-IR의 발현은 IGF가 urokinase-type plasminogen activator-1이나 vascular endothelial growth factor를 조절함으로써 신생혈관형성에 관여한다는 연구보고가 있어,(22,23) 종양의 침윤 및 전이와 밀접한 관계가 있는 신생혈관형성과 관련지어 연구와 분석이 더 필요할 것으로 생각한다.

유방암에서 IGF-IR의 발현은 방사면역법(radioimmunoassay)이나 자가방사기록법(autoradiography) 등 동위원소가 부착된 리간드를 이용한 방법을 통해 많이 연구되었는데 리간드부착법은 IGF-IR 자체가 아니라 리간드와 수용체 부착부위의 유효성(availability)을 포적으로 하고 있으며 동위원소인 125 I를 이용한 방법은 해상도가 떨어지는 단점이 있다. 기존의 방법이 민감하지는 하나 면역염색을 이용한 방법이 개개 세포단위에서 더 선명하고 특이하다. IGF-IR에 대한 단클론 항체는 특이적이며 선택적으로 IGF-IR과 반응하고 IGF-II나 insulin 수용체와는 반응하지 않는다. 파라핀 포매 조직에 적용할 수 있는 IGF-IR에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 검사법은 조직과 세포내 수용체의 존재위치를 직접 확인할 수 있으며 반정량적 분석을 가능하게 하는 장점이 있다. IGF-I의 모든 기능은 세포막 수용체인 IGF-IR에 의해 이루어지기 때문에 IGF-IR의 조직내 위치와 분포를 살펴보는 것이 생체 내에서 그의 역할을 알아보는 데 도움을 줄 것으로 생각된다. 세포막의 외표면에 위치한 α 단위를 인지하는 데 있어 IGF-IR를 이용한 면역조직화학적 연구에 따르면 세포막을 따라 발현되기도 하고 세포질내에서도 발현되는 양상을 보였으며, 암의 등급이 높아질수록 막을 따라 발현되는 것이 감소하였고 양성 유방상피세포에서는 기저외측막(basolateral membrane)에 존재하며 이는 저등급 암에서 유지되다가 고등급으로 갈수록 소실된다고 하였다.(9) 세포질내에서의 IGF-IR발현은 IGF-IR가 리간드와 결합한 후 세포내로 이동하게 되는 수용체의 기능적 경로를 보여주는 것이라고 하였다.(9) 본 연구에서 IGF-IR에 대한 항체는 수용체의 세포막과 세포질내에 걸쳐 존재하는 β 단위를 인지하는 항체를 이용하였는데 IGF-IR 면역염색의 양성반응은 세포질에 위치하며 진한 갈색으로 관찰되었고 세포막을 따라 염색되지는 않았으며 조직학적 분화에 따른 IGF-IR 발현 분포의 차이도 발견할 수 없었다.

유방암에서 IGF-IR과 ER 유무 여부와의 관계는 비교적 잘 정립이 되어 있으나 그와 다른 예후인자와의 관계 및 예후인자로서의 IGF-IR의 유용성에 대해서는 아직 충분히 기술되지 않고 있다. 임상연구에 의하면 IGF-IR의 과발현이 방사선치료에 대한 저항성, 조기 암재발 및 생존율 감소를 예측하는 인자라는 보고가 있는 반면,(24) IGF-IR 양성인 종양에서 더 좋은 예후를 보인다는 보고도 있어 아직 논란의 여지가 있다.(25) IGF-IR이 세포의 성장과 발달에 중요한 역

할을 하고 형질전환의 유지 및 종양형성에 필요한 인자임을 생각할 때 IGF-IR 양성인 종양이 음성인 종양보다 더 좋은 예후를 보이는 것은 모순처럼 보이나 IGF-IR를 가진 종양이 IGF-I에 의한 어떤 생리학적 성장조절을 유지하기 때문으로 해석할 수 있으며 이는 IGF-IR과 ER, PR 사이의 관련성에 의해 추측할 수 있다. Bonnetterre 등(25)은 IGF-IR의 발현이 ER, PR과 관련이 있으며, 환자의 연령과 상관 관계가 있고 분화도가 나쁜 종양에서 IGF-IR의 발현이 적었으나 림프절 전이, 종양의 크기와는 무관하다고 하였다. 다른 연구에서와 마찬가지로(8,10) 본 연구에서도 ER 양성인 군에서 IGF-IR의 발현이 의의 있게 높았으며 PR 양성군에서도 높은 IGF-IR 발현을 보여 IGF-IR와 ER, PR이 상관관계를 가지고 있음을 알 수 있었으며 그 외 종양의 크기, 조직학적 분화도, 림프절 전이 유무와는 연관이 없었다. 다수의 유방암중에서 에스트로겐은 유방암중의 성장, 발달과 유지에 중요한 기본인자로서 원발성 유방암의 55~65%가 ER을 가지고 있고 전이성 유방암에서의 ER의 발현율은 45~55%이다.(26) ER 양성인 경우에는 보다 생존율이 높고 재발률이 낮아 ER은 유방암중 환자에서 예후인자 혹은 호르몬 치료의 임상적 반응에 대한 예측인자로 알려져 있다.(3,26,27) 여러 연구에서 유방암에서 IGF-IR의 발현은 ER과 PR의 발현과 직접적인 관련이 있다고 보고하고 있으며,(8) IGF가 에스트로겐에 의한 성장과 유방암의 병인에 있어 중요한 조절자임을 증명하는 실험적 증거가 제시되고 있다. IGF는 ER 양성인 유방암 세포주에서 강력한 세포분열을 일으킨다.(28) IGF-IR의 활성화는 ER의 인산화를 유도함으로써 세포를 에스트로겐에 민감하게 변화시키며 ER을 활성화시킬 수 있고, 또한 역으로 ER은 IGF의 작용에 필요한 유전자의 전사를 조절한다. ER의 기능을 차단함으로써 IGF에 의한 세포분열을 억제하며, IGF-IR을 차단하는 항체에 의해 유방암세포주의 성장이 억제되었다는 보고가 있다.(29) 항에스트로겐 제제인 tamoxifen이 유방암 환자에서 혈청내 IGF-I을 감소시키며 IGF가 IGF-IR의 상향조절(upregulation)을 통하여 항에스트로겐제인 tamoxifen에 대한 저항성을 나타내는 것과 관련이 있다고 보고되고 있다.(28) 따라서 IGF-IR의 차단제 개발은 유방암 환자의 효과적인 치료에 기여할 것으로 기대된다.

한편, 종양의 세포증식능은 그 종양의 생물학적 특성, 치료방법의 선택, 악성도 및 예후판정에 중요한 인자의 하나로 알려져 있다. 이러한 종양의 세포증식능을 측정하기 위해 다양한 방법이 이용되어 왔으나 Ki-67은 세포주기의 G0기를 제외한 G1, S, G2 및 M기에 있는 모든 세포의 핵내에 존재하는 단백질로 이에 대한 단클론성 항체인 MIB-1이 세포 증식능의 측정에 유용한 방법으로 이용된다.(29) Gerdes 등(30)은 Ki-67 표지지수의 평균값이 양성 유방병변에서는 3%, 침윤성 유방암중에서는 16.6%라고 보고하였으며 유방암중의 조직학적 분화도와는 관련이 있으나 종양의 크기나

림프절 전이여부와는 관계가 없다고 하였다. 본 연구에서 평균 Ki-67 표지지수는 20.7%였으며, 종양의 크기, 림프절 전이 유무, PR의 발현유무에 따른 Ki-67 표지지수의 유의한 차이는 없었고, 조직학적 등급이 고등급으로 갈수록 유의하게 Ki-67 표지지수가 증가하였다. 또한 ER 양성군보다 ER 음성군에서 의의 있게 높아 종양의 악성도를 잘 반영하는 결과로 생각된다. 그러나 IGF-IR의 발현과 Ki-67 표지지수의 상관관계는 IGF-IR의 발현이 증가할수록 Ki-67 표지지수가 증가하는 경향을 보였으나 통계학적으로 의의는 없어 IGF-IR이 종양세포의 성장에 영향을 미치나 다른 인자들도 함께 작용하며 필수적이지는 않다는 Baserga 등(15)의 주장을 뒷받침해주는 소견으로 생각한다.

종합하여 보면 IGF-IR과 ER의 성장조절 경로는 서로 밀접하게 연관되어 있으며 ER, PR에 의한 성장과 유방암의 병인에 있어 조절자의 역할을 할 가능성을 제시한 것으로 생각된다. 따라서 유방암 조직에서 IGF-IR에 대한 연구는 예후인자로서 뿐 아니라 내분비 치료에 대한 저항성 및 민감도에 대한 표지자로서의 가능성을 가진다는 점에 더 의의가 있다고 볼 수 있다.

결론

유방의 침윤성 관암을 대상으로 IGF-IR의 발현과 함께 ER, PR, Ki-67에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 이들 상호관계를 비교검토하고 기존의 예후인자로 알려진 조직학적 등급, 액와림프절 전이 여부 및 종양의 크기 등과 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

종양의 크기, 조직학적 분화도, 림프절 전이 유무에 따른 IGF-IR의 발현도는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. ER 음성군보다 ER 양성인 군에서 IGF-IR의 발현이 의의 있게 높았다($P < 0.01$). 그리고 PR 음성군보다 PR 양성인 경우 IGF-IR의 발현이 높았으나 통계학적 의의는 없었다.

종양의 크기, 림프절 전이 유무, PR의 발현유무에 따른 Ki-67 표지지수는 유의한 차이가 없었다. 조직학적 등급에 따른 Ki-67 표지지수는 고등급으로 갈수록 유의하게 증가하였다($P < 0.01$). 또한 ER 양성군보다 ER 음성인 군에서 의의 있게 높았다($P < 0.05$). IGF-IR의 발현과 Ki-67 표지지수의 상관관계는 의의가 없었다.

이상의 결과로 IGF-IR과 ER의 성장조절 경로는 서로 밀접하게 연관되어 있으며 IGF-IR은 ER, PR에 의한 성장과 유방암의 병인에 있어 중요한 역할을 할 것으로 생각한다.

REFERENCES

- 1) Korean Breast Cancer Society. Korean Breast Cancer Data of 1997. J Korean Cancer Assoc 1999;31:1202-9.
- 2) Bloom HKG, Richardson WW. Histological grading and prog-

- nosis in breast cancer. A study of 1,409 cases of which have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957;11:359-77.
- 3) Ruder AM, Lubin F, Wax Y, Geier A, Alfundary E, Chetrit A. Estrogen and progesterone receptors in breast cancer patients. Epidemiologic characteristics and survival differences. *Cancer* 1989;64:196-202
 - 4) Sahin AA, Ro J, Ro JY, Blick MB, el-Naggar AK, Ordonez NG, et al. Ki-67 immunostaining in node-negative stage I/II breast carcinoma: Significant correlation with prognosis. *Cancer* 1991;68:549-57.
 - 5) Lippman ME, Dickson RB, Gelmann EP, Rosen N, Knabbe C, Bates S, et al. Growth regulation of human breast carcinoma occurs through regulated growth factor secretion. *J Cell Biochem* 1987;35:1-16.
 - 6) Rubin R, Baserga R. Insulin-like growth factor I receptor. *Lab Invest* 1995;164:214-21.
 - 7) Dunn SE, Ehrlich M, Sharp NJH, Reiss K, Solomon G, Hawkins R. A dominant negative mutant of the insulin-like growth factor-I receptor inhibits the adhesion, invasion, and metastasis of breast cancer. *Cancer Res* 1998;58:3353-61.
 - 8) Pekonen F, Partanen S, Makinen T, Rutanen EM. Receptors for epidermal growth factor and insulin-like growth factor I and their relation to steroid receptors in human breast cancer. *Cancer Res* 1988;48:1343-7.
 - 9) Peyrat JP, Bonnetterre J, Beuscart R, Djiane J, Demaille A. Insulin-like growth factor I receptor (IGFI-R) in human breast cancer. Relation to estradiol and progesterone receptors. *Cancer Res* 1988;48:6429-33.
 - 10) Happerfield LC, Miles DW, Barnes DM, Thomsen LL, Smith P, Hanby A. The localization of the insulin-like growth factor receptor 1 (IGFR-1) in benign and malignant breast tissue. *J Pathol* 1997;183:412-7.
 - 11) Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer: Experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991;19:403-10.
 - 12) Fisher ER, Sass R, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Project for Breast Cancers (protocol no. 4). X. Discriminants for tenth year treatment failure. *Cancer* 1984;53:712-23.
 - 13) Allred DC, Clark GM, Elledge R, Fuqua SA, Brown RW, Chamness GC, et al. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:200-6.
 - 14) De Meyts P, Willach B, Christoffersen CT, Urso B, Gronskov K, Latus LJ, et al. The insulin-like growth factor-I receptors: structure, ligand-binding mechanism and signal transduction. *Horm Res* 1994;42:152-69.
 - 15) Baserga R. The insulin-like growth factor I receptor: A key to tumor growth? *Cancer Res* 1995;55:249-52.
 - 16) Macaulay VM. Insulin-like growth factors and cancer. *Br J Cancer* 1992;65:311-320.
 - 17) Werner H, Hernandez-Sanches C, Karneili E, Leroith D. The regulation of IGF-I receptor gene expression. *Int J Biochem Cell Biol* 1995;27:987-94.
 - 18) Stewart AJ, Johnson MD, May FE, Westley BR. Role of insulin-like growth factors and the type I insulin-like growth factor receptor in the estrogen-stimulated proliferation of human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1990;265:21172-8.
 - 19) Peyrat JP, Bonnetterre J. Type I IGF receptor in human breast diseases. *Breast Cancer Res Treat* 1992;22:59-67.
 - 20) Adenis A, Peyrat JP, Hecquet B, Delobelle A, Depadt G, Quandalle P, et al. Type I insulin-like growth factor receptors in human colorectal cancer. *Eur J Cancer* 1995;31A:50-5.
 - 21) van der Lann BF, Freeman JL, Asa SL. Expression of growth factors and growth factor receptors in normal and tumorous human thyroid tissues. *Thyroid* 1995;5:67-73.
 - 22) Dunn SE, Torres JV, Nihei N, Barrett JC. The insulin-like growth factor-1 elevates urokinase-type plasminogen activator-1 in human breast cancer cells: a new avenue for breast cancer therapy. *Mol Carcinog* 2000;27:10-7.
 - 23) Smith LE, Shen W, Perruzzi C, Soker S, Kinose F, Xu X, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor-dependent retinal neovascularization by insulin-like growth factor-1 receptor. *Nat Med* 1999;5:1390-5.
 - 24) Turner BC, Haffty BG, Narayanan L, Yuan J, Havre PA, Gumbs AA, et al. Insulin-like growth factor-I receptor overexpression mediates cellular radioresistance and local breast cancer recurrence after lumpectomy and radiation. *Cancer Res* 1997;57:3079-83.
 - 25) Bonnetterre J, Peyrat JP, Beuscart R, Demaille A. Prognostic significance of insulin-like growth factor I receptors in human breast cancer. *Cancer Res* 1990;50:6931-5.
 - 26) Wittliff J. Steroid-hormone receptors in breast cancer. *Cancer* 1984;53:630-43.
 - 27) Vollenweider-Zerargui L, Barrelet L, Wong Y, Lemarchand-Beraud T, Gomez F. The predictive value of estrogen and progesterone receptors' concentrations on the clinical behavior of breast cancer in women. Clinical correlation on 547 patients. *Cancer* 1986;57:1171-80.
 - 28) Lee AV, Yee D. Insulin-like growth factors and breast cancer. *Biomed Pharmacother* 1995;49:415-21.
 - 29) Rohlik QT, Adams B, Kull FC, Jacobs S. An antibody to the receptor for insulin-like growth factor I inhibits the growth of MCF-7 cells in tissue culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;149:276-81.
 - 30) Yu CC, Filipe MI. Update on proliferation-associated antibodies applicable to formalin-fixed paraffin-embedded tissue and their clinical applications. *Histochem J* 1993;13:267-72.