

유방암의 p27^{Kip1} 단백질 발현

인제대학교 상계백병원 외과학교실, ¹병리학교실

김찬용 · 양근호 · 배병노 · 김기환 · 김홍주 · 김영덕 · 김홍용 · 박경미¹ · 한세환

Significance of the Expression of p27^{Kip1} Protein in Human Breast Cancer

Chan-Yong Kim, M.D., Keun-Ho Yang, M.D., Byung-Noe Bae, M.D., Ki-Hwan Kim, M.D., Hong-Joo Kim, M.D., Young-Duck Kim, M.D., Hong-Yong Kim, M.D., Kyeong-Mee Park, M.D.¹ and Sehwan Han, M.D.

Departments of Surgery and ¹Pathology, Inje University, Sanggye Paik Hospital, Seoul, Korea

Purpose: p27^{Kip1} is a member of the Cip/Kip family of cyclin-dependent kinase inhibitors. It binds to a variety of cyclin/CDK complexes, inhibits kinase activity and blocks the cell cycle as a negative regulator. Reduced p27^{Kip1} expression has been reported to be a significant predictor of poor survival in numerous human breast cancers. We executed p27^{Kip1} protein assay in primary breast cancer and compared these result with known prognostic parameters.

Methods: Immunohistochemical assay was performed on tissue microarrays from 183 patients with breast cancer to evaluate the biologic and clinical significance of p27^{Kip1} expression.

Results: Decreased p27^{Kip1} expression was significantly associated with clinical stage (P=0.027), low nuclear grade (P<0.001), high histologic grade (P<0.001), high score mitotic index (P<0.001), increased Ki67 labeled index (P=0.006) and negative estrogen receptor status (P=0.0024). In survival analysis, p27^{Kip1} was useful to predict disease-free survival (P=0.0106) and overall survival (P=0.0154) of the patient after surgery followed by chemotherapy or radiation therapy.

Conclusion: Reduced expression of p27^{Kip1} protein was associated with biologically aggressive phenotype of breast cancer and was an useful to predict patient outcome. (Journal of Korean Breast Cancer Society 2002;5:291-297)

Key Words: Breast cancer, p27^{Kip1}, Tissue microarrays, Prognosis

중심 단어: 유방암, p27^{Kip1}, Tissue microarrays, 예 후

서론

유방암은 우리나라에서 여성의 악성종양 중 두 번째로 높은 빈도를 나타내는 악성종양으로, (1) 그 빈도가 점차적으로 증가되고 있으며 인체의 다른 악성암종과 마찬가지로 유방암 역시 여러 가지 유전적인 변화가 관여한다. 다양한 종양 유전자, 조절인자, 종양 억제 유전자들이 종양의 형성에 영향을 끼치며, 종양세포의 자연사멸과 증식간의 불균형이 종양 크기의 증가와 관련이 있다는 연구 결과는 많이 보고되고 있다. (2)

그중에서 cyclin과 cyclin-dependent kinase (cdk)들은 세포 주기 조절에 있어서 촉진인자로서 작용하여 종양의 진행과 연관이 있다고 알려져 있으며, 이러한 cdk들의 작용은 다시 cdk 억제자(cdk inhibitors, CKI)에 의하여 조절을 받는다. 이들 CKI는 Ink4군과 Cip1/Kip1군의 두 종류로 나눌 수 있고, (6,8) p27^{Kip1}은 그중 Cip1/Kip1군에 속하여 종양 억제 인자로 작용한다고 보고되고 있다. (3-8)

p27^{Kip1}은 G1기에 있는 세포나 transforming growth factor (TGF)- β 처리를 한 세포에서 음성 성장 조절자의 역할을 하는 것으로 알려지기 시작하였으며, cyclin-cdk복합체들, 즉 cyclin D-cdk4, cyclin E-cdk2, cyclin A-cdk2들에 부착하여 이들의 작용을 억제함으로써 세포의 비정상적인 성장을 억제하는 것으로 알려져 있다. (6-8)

여러 연구 결과 p27^{Kip1}은 유방암, 결장암, 위암, 뇌하수체암 등 여러 인체 암조직에서 발현이 저하되어 있다고 밝혀졌다. (9-11) 하지만, 세포의 이형성(dysplasia)과 암의 발생 과정에서 p27^{Kip1}의 변이가 선행되는 것인지 혹은 암의 발생에 의한 세포 성장 능력의 증가에 따른 이차적 현상으로 p27^{Kip1}의 발현 저하가 나타나는 것인지는 밝혀져 있지 않다. 특징적인 것은 p27^{Kip1}의 발현 대부분이 ubiquitin-proteasome-dependent-degradation에 의하여 매개되

책임저자 : 한세환, 서울시 노원구 상계 7동 761-1
☎ 139-707, 인제대학교 상계백병원 외과학교실
Tel: 02-950-1023, Fax: 02-933-9389
E-mail: shwhan@unitel.co.kr
접수일 : 2002년 11월 5일, 게재승인일 : 2002년 12월 9일

는 단백질 분해 기전에 의하여 후전사 단계(post-transcriptional level)에서 조절되고, 다양한 종양에서 p27^{Kip1}의 유전자 변이나 mRNA변화가 없다는 점이다.(12-14) 이 결과는 p27^{Kip1}의 발현이 인체 세포에서는 주로 단백질대사 수준에서 결정된다는 간접적인 증거를 보여주는 것이다(11). p27^{Kip1}의 생물학적 기능은 여러 cdk들의 활성화를 억제하여 세포 성장의 속도를 조절하는 것으로 결국 p27^{Kip1}의 감소는 암세포의 특징인 빠른 성장을 억제할 수 있는 기능의 상실을 의미하여 암의 악성도를 평가할 수 있는 현상으로 생각된다.

본 연구는 유방암 환자의 조직에서 암종의 진행에 따른 p27^{Kip1} 단백질의 발현과 다양한 병리조직학적 인자들, 즉 핵 등급과 조직학적 등급, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체, 세포 증식 지표인 mitotic index 및 Ki67, 그리고 여러 임상조건 등과의 상관성을 분석하여 인체 암종에서도 세포배양시스템과 같이 p27^{Kip1}이 세포 성장 조절에 관여하는가를 알아보고자 시행되었으며, 이러한 결과를 바탕으로 p27^{Kip1}의 예후인자로서의 유용성을 알아보기 위하여 시행되었다.

방 법

1) 연구 대상

1994년부터 2000년까지 상계백병원 외과학교실에서 유방암종으로 진단 받고, 술 전 항암치료를 받았거나 외래 추적이 되지 않았던 환자를 제외하고 외과적 절제 후 추적검사가 가능했던 183명의 유방암 환자들을 대상으로 하였다.

2) 연구 방법

(1) 임상 소견: 연구 대상 환자들의 나이, 원적 전이 여부, 병기 등의 임상 기록은 환자의 입원 및 외래 의무기록지를 바탕으로 후향적으로 연구하였다. 대상 환자들은 변형 근치유방절제술 및 겨드랑이 림프선 광청술(48.3%) 혹은 유방 보존술 및 겨드랑이 림프절 광청술(51.7%)을 시행 받았으며, 술 후 항암치료(87%), 호르몬 치료(62.6%) 또는 방사선 치료(56.3%)를 받았다. 생존율 분석은 환자들의 수술 후 보조요법의 종류를 고려하지 않고 시행하였다.

(2) 병리조직 검사: 외과적으로 절제된 조직은 18~24시간 동안 포르말린에 고정하였다. 종양의 크기를 재고 괴사 및 조직의 파괴가 적은 부위에서 조직을 채취하여 통상의 조직 처리 방법에 따라 파라핀 포매 후 헤마톡실린-에오신 염색을 하였다. 암종의 핵 등급은 Black법에 따라 큰 핵소체가 자주 보이고 핵막의 불규칙함이 심한 경우를 I등급(저분화)으로, 그렇지 않은 경우를 III등급(고분화)으로, 중간을 II등급(중등 분화)으로 하였다.(15) 조직학적 분류는 Nottingham modification of Scarff-Bloom-Richardson

scoring system에 따라 세관 형성이 많고, 유사분열이 적으며, 핵 다형성이 거의 없는 경우를 I등급(고분화)으로 하였고, 세관 형성이 거의 없고 유사분열이 많으며, 핵 다형성이 심한 경우를 III등급(저분화)으로 하였으며, 그 중간에 해당하는 경우를 II등급(중등 분화)으로 하였다.(16) 종양의 침범(T classification)과 림프절 전이(N classification), 그리고 이를 기반으로 병기의 결정은 국제 암 연합위원회의 TMN 병기(UICC-TNM, 4판)를 참조하였다.

(3) 면역조직화학검사: 이 검사를 위해서 본 연구에서는 Tissue microarrays (TMA) 기법을 이용하였다. TMA는 많은 수의 종양들을 한 번의 실험으로 간단히 할 수 있는 새로운 방법으로서 여러 종양조직에서 미세한 원통형(직경 2~3 mm)의 조직 포본을 한 개의 파라핀 포매에 넣어 3~5 um 두께로 절편을 제작하여 다수의 유전자에 대한 DNA, RNA 검사나 면역화학염색법을 사용하여 실험을 시행하는 것(17)으로 경제적, 시간적 절약을 이룰 수 있다는 점에서 최근 많이 이용되고 있다(Fig. 1). 본 연구에서는 파라핀 포매조직 중 보관상태가 양호한 부위를 선택하여 array coating slide (Instrument Inc., New Jersey, USA)에 부착하여 실험하였다. Array slide를 57°C electrowave oven에서 1시간 동안 건조시키고 xylene으로 3분간 3회 담구어 파라핀을 제거한 후, 100%, 85%, 70%, 50% 알코올에 3분씩 처리 후 증류수에 넣어 세척하였다. 그 후 희석된 과산화수소에 10분간 방치하여 내인성 peroxidase를 저지시키고, TBS 용액으로 씻어 non-immune serum과 실온에서 20분간 반응시킨 후 p27^{Kip1} 단백질을 발현을 위한 일차항체로 쥐의 anti-p27^{Kip1} monoclonal antibody (1 : 450 dilution, Pharmingen, San Diego, CA.)를 이용하여 실온에서 1시간 반응시켰다. 그리고 이차항체(universal biotinylated secondary immunoglobulin antibody) 처리 및 avidin-biotin com-

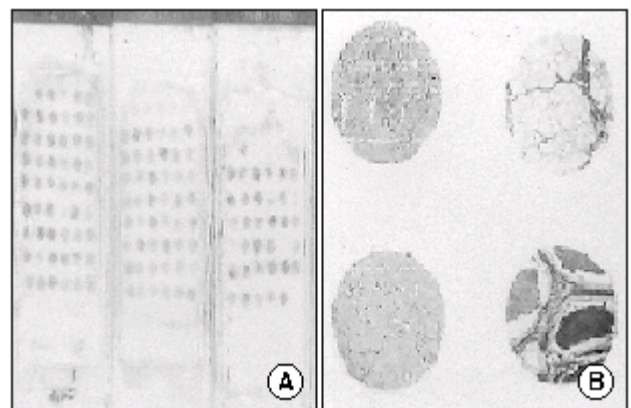


Fig. 1. Immunohistochemical staining of tissue microarrays of multiple breast cancer tissues. (A) Adhesive array coating slide (Instrument Inc., New Jersey, USA). (B) 2 mm × 2 mm × 3 um microscopic findings of breast cancer tissues (×10).

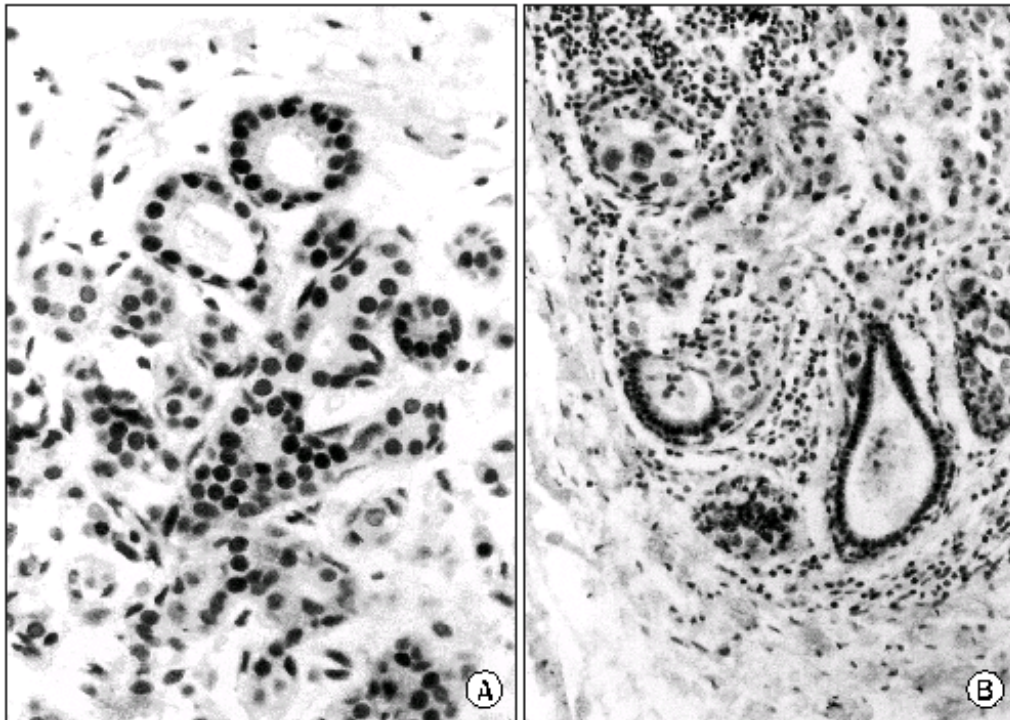


Fig. 2. Immunohistochemical staining of p27^{Kip1} protein. (A) Strong nuclear staining of p27^{Kip1} in epithelial cells of benign ductal hyperplasia ($\times 400$). (B) Invasive ductal carcinoma cells show intense, nuclear immunoreactivity against anti-p27^{Kip1} antibody ($\times 200$).

plex (ABC) immunoperoxidase 처리과정과 DAB 발색과정을 거치고 난 후 hematoxylin 대조염색을 마치고 환자의 임상 정보 없이 판독하였다. p27^{Kip1} 발현 기준은 p27^{Kip1}이 핵에 강하게 염색된 세포들을 선택하여 10개의 고배율 ($\times 400$) 시야에서 관찰하여 50% 이상의 세포들 핵에서 발현된 경우를 양성으로 판독하였다(Fig. 2).

다른 일차 항체들은 progesterone receptor Ab (Dako, poly-clonal, 1 : 50), estrogen receptor Ab (Immunotech, monoclonal, 1 : 50) 등을 사용하였고, 기존의 논문에서 발표한 것과 같이 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체에서 분명한 갈색의 핵염색이 종양 세포 영역의 10% 이상일 때를 양성으로 판정하였다.

(4) 통계학적 분석: 면역화학적 염색의 결과를 환자의 임상 자료 및 조직학적 자료들과 p27^{Kip1} 발현 여부에 따라서 비교 분석하였다. 통계분석은 개인용 컴퓨터 통계 프로그램인 SPSS for Windows, ver 10.0 (SPSS Inc., Chicago)을 이용하여 Chi-square test (Linear by linear association)으로 검정하였으며, 생존 분석은 Kaplan-Meier의 Log rank test법을 이용하였다. 다른 예후인자와 환자의 전체 생존율, 무병 생존율과의 관계는 다변량분석, Cox-proportional hazard model을 사용하여 비교분석하였다. 유의 수준은 p 값이 0.05 이하일 때로 하여 수치를 표시하였고, 0.05를 초과했을 때는 의미 없음(NS: statistically not significant)으로 판정하였다.

결 과

1) 임상소견 및 병리조직학적 특성

대상 환자들의 나이는 19세부터 82세까지로 평균 연령은 46.1 ± 11.6 세이었다. 종양의 크기는 0.6 cm부터 10 cm까지 관찰되었고, 평균 크기는 2.9 ± 1.6 cm이었다. 크기에 따라 나누었을 때, 2 cm 이하의 소형 유방암은 46예(25.3%), 2 cm 초과 5 cm 이하는 118예(64.4%), 5 cm 초과는 19예(10.3%)이었다. 연구 대상 암종은 대부분 침윤성 관상피 암종으로, 165예(90.1%)이었고, 관내상피 암종 9예(9.9%), 수질성 암종 4예(2.2%), 점액성 암종 3예(1.7%), 파제트 병 2예(1.1%) 등이었다. 겨드랑이 림프절 전이는 85예(46.4%)가 양성이었고, 임상적 병기는 II기가 84예(45.9%)로 가장 많았다. 핵 등급과 조직학적 등급은 II등급에서 각각 82예(44.8%) 및 85예(46.4%)로 가장 많이 나타났다.

면역조직화학 검사에서는 에스트로겐 수용체의 발현이 121예(66.1%), 프로게스테론 수용체 발현이 134예(73.2%)이었다. 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 발현은 모두 핵에서 관찰할 수 있었다(Table 1).

2) p27^{Kip1} 발현과 병리조직학적 인자들 및 면역화학적 인자들 사이의 상관관계

183예 유방암 환자 중 p27^{Kip1} 발현의 저하는 108예(59%)

에서 관찰되었다. 양성일 경우 암세포 핵에서 뚜렷한 반응을 나타내어 양성과 음성을 구분하기 어려운 경우는 없었다. 점액성 암종과 수질성 암종 중 양성을 나타낸 경우는 각각 1예 및 2예였으며, 파제트병의 경우 양성은 나타나지 않았다. 종양의 크기 및 림프절 전이 유무에 따른

Table 1. Clinical characteristics of studied patients (n=183)

	Number	Percentage (%)
Age		
<50	120	65.5
≥50	53	34.5
Tumor size(cm)		
<2	46	25.3
2~5	118	64.4
>5	19	10.3
Axillary LN*		
N0	98	53.5
N1	43	23.5
N2	28	15.3
N3	14	7.7
Stage		
I	49	26.7
II	84	46
III	41	22.4
IV	9	4.9
Nuclear grade		
I	76	41.5
II	82	44.8
III	25	13.7
Histologic grade		
I	22	12
II	85	46.4
III	76	41.6
Ki-67		
Low	130	71
Intermediate	31	17
High	22	12
Mitotic index		
1+	92	50.2
2+	39	21.3
3+	52	28.5
ER [†]		
Negative	55	30
Positive	128	70
PR [‡]		
Negative	44	24
Positive	139	76

LN* = lymph node; ER[†] = estrogen receptor; PR[‡] = progesteron receptor.

p27^{Kip1} 발현 사이의 통계적인 유의성은 없었다. 조직학적 등급에 따른 p27^{Kip1} 발현은 등급이 높아질수록 감소하여 통계적인 차이를 보였으며(P<0.001), 핵 등급에 있어서는 p27^{Kip1} 발현이 등급이 낮아질수록 감소하여 역시 통계적으로 뚜렷한 차이를 보여 주었다(P<0.001). 임상 병기에 따른 p27^{Kip1} 발현은 병기가 진행할수록 감소 경향을 보여 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(P=0.027), mitotic index (P<0.001) 및 Ki-67 (P=0.006)에 따른 p27^{Kip1} 발현은

Table 2. Relationships between expression of p27Kip1 and clinico-pathologic parameters in breast carcinoma

Parameters	P27Ki67 expression (%)		Negative
	Negative (<50%)	Positive (≥50%)	
Tumor size (cm)			NS*
<2	31 (67.4%)	15 (32.6%)	
2~5	64 (54.2%)	54 (45.8%)	
>5	12 (63.1%)	7 (36.9%)	
LN metastasis			NS
Absent	53 (54.0%)	45 (46.0%)	
Present	56 (65.8%)	29 (34.2%)	
Stage			0.027
I	26 (53.0%)	23 (47.0%)	
II	48 (57.1%)	36 (42.9%)	
III	27 (65.8%)	14 (34.2%)	
IV	6 (66.7%)	3 (33.3%)	
Nuclear grade			<0.001
I	57 (75.0%)	19 (25.0%)	
II	47 (57.3%)	35 (42.7%)	
III	8 (32.0%)	17 (68.0%)	
Histologic grade			<0.001
I	7 (31.9%)	15 (68.1%)	
II	48 (56.4%)	37 (43.6%)	
III	57 (25.0%)	19 (25.0%)	
Ki-67			0.006
Low	70 (53.8%)	60 (46.2%)	
Intermediate	21 (67.7%)	10 (32.3%)	
High	18 (81.8%)	4 (18.2%)	
Mitotic index			<0.001
1+	43 (46.7%)	49 (53.3%)	
2+	27 (69.2%)	12 (30.8%)	
3+	42 (80.8%)	10 (19.2%)	
ER			0.024
Negative	40 (72.7%)	15 (27.3%)	
Positive	69 (53.9%)	59 (46.1%)	
PR			NS
Negative	31 (70.5%)	13 (29.5%)	
Positive	77 (55.4%)	62 (44.6%)	

NS* = statistically not significant.

세포증식이 활발할수록 감소하여 각각 통계적으로 유의한 상관관계를 보여주었다. 에스트로겐 수용체의 음성, 양성일 때의 p27^{Kip1} 발현율은 각각 28%, 48%로 통계적으로 유의하였지만(P=0.024), 프로게스테론 수용체의 경우 음성, 양성일 때의 p27^{Kip1} 발현율은 각각 28.8%, 44.7%로 차이는 있었지만 통계적 유의성은 없었다(Table 2).

3) p27^{Kip1} 발현에 따른 재발과 생존과의 관계

전체 환자에 대한 54.5개월(6~98개월)의 중심 추적기간 동안 생존율 조사 결과 38예(20.7%)에서 재발이 확인되었다. 이 중 국소재발이 4예였으며, 간, 골격계, 뇌 등 유방암에 의한 타 장기 재발이 34예였다. 그리고 이러한 재발에 의한 사망수는 16예(8.7%)로 나타났다. 재발 환자 38예

중 29예(76.3%)에서 p27^{Kip1} 발현이 감소되어 있어서 재발 환자에서 p27^{Kip1} 발현이 유의하게 감소되어 있음(P=0.0106)을 알 수 있었으며, 환자의 생존과 p27^{Kip1} 발현 간의 분석에서도 유의한 상관관계(P=0.0154)를 관찰할 수 있었다(Fig. 3).

예후인자들을 다변량 분석, Cox-proportional hazard model을 사용하여 분석한 결과 생존율과 유의한 연관성을 나타내는 인자들은 림프절 전이(P=0.009)와 핵 등급(P=0.044)이었으며, 무병 생존율과 통계적 상관관계를 갖는 인자들은 림프절 전이(P<0.001), 핵 등급(P=0.039) 및 종양의 크기(P=0.023)였다. 하지만 p27^{Kip1} 발현에 따른 통계적 유의성(P=0.321)은 없었다(Table 3).

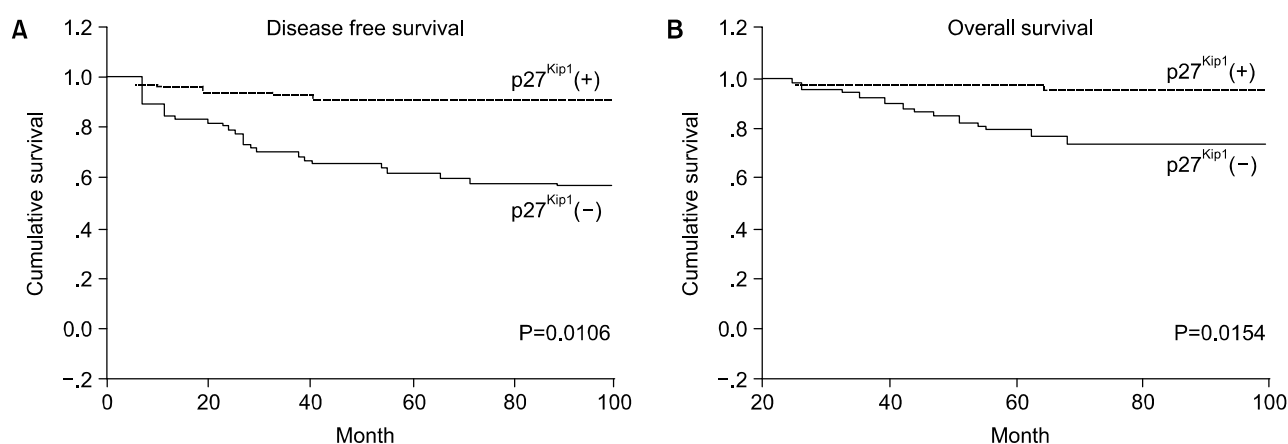


Fig. 3. Patient survival according to the expression of p27^{Kip1} protein. (A) Patient with reduced expression of p27^{Kip1} shows poorer disease free survival than patients with high expression of p27^{Kip1} (P=0.0106). (B) Overall survival of the patients who had reduced expression of p27^{Kip1} was poor and the difference was significant statistically (P=0.0154).

Table 3. Overall survival and disease free survival in studied breast cancer patients

Prognostic factor	Overall survival Multivariate analysis			Disease free survival Multivariate analysis		
	P-value	B	Relative risk	P-value	B	Relative risk
Age	0.978	-0.016	0.984 (0.319~3.033)	0.968	-0.015	0.985 (0.479~2.025)
Tumor size	0.083	0.970	2.638 (0.881~7.896)	0.023	0.772	2.163 (1.111~4.212)
Nodal status	0.009	2.009	7.459 (1.635~34.029)	<0.001	1.707	5.514 (2.384~12.756)
ER	0.133	-1.018	0.361 (0.096~1.364)	0.055	-0.855	0.425 (0.178~1.018)
PR	0.250	0.872	2.391 (0.541~10.566)	0.596	-0.244	0.783 (0.318~1.930)
Histologic grade	0.900	0.111	1.117 (0.200~6.231)	0.962	-0.026	0.975 (0.344~2.766)
Nuclear grade	0.044	-1.560	0.210 (0.046~0.960)	0.039	-1.149	0.317 (0.106~0.943)
Mitotic index	0.218	-0.630	0.532 (0.195~1.451)	0.241	-0.398	0.675 (0.350~1.303)
Ki67	0.371	0.314	1.369 (0.689~2.720)	0.447	0.180	1.197 (0.753~1.905)
p27 ^{Kip1}	0.321	-0.709	0.492 (0.121~1.996)	0.508	-0.280	0.755 (0.330~1.731)

Multivariate analysis was conducted using Cox-proportional hazard model; Results are showed as P value. Relative risk determined by Cox-proportional hazard model; 95% confidence interval in parenthesis. P value less than 0.05 was considered as statistically significant.

고 찰

본 연구 결과, 유방암 조직에서의 $p27^{Kip1}$ 발현이 기존의 다른 면역조직화학적 예후 관련 인자들에 비해 여러 병리학적인 예후인자들과 연관성이 높음을 알 수 있었다. 즉 $p27^{Kip1}$ 발현은 암종의 크기, 림프절 전이 그리고 프로게스테론 수용체를 제외한 다른 병리학적인 예후인자들과 통계학적으로 유의한 상관관계를 보여 주었다. 이와 같이 $p27^{Kip1}$ 발현이 종양의 진행이나 분화에 관여하는 것은 이 물질이 세포 주기 조절 단계에서 중요한 역할을 하기 때문이다. 포유류 세포의 주기 조절 단계에서 중요한 곳은 바로 G1/S 이행 단계이고, 이 시점에서 다양한 cyclin들과 cdk들의 조절 작용이 이루어진다. 이들은 복합체 형태로 작용을 하게 되는데, 대표적인 복합체들로는 cyclin E-cdk2, cyclin D-cdk4 or cdk6, cyclin A-cdk2 등이 있다. 이 복합체에서 cdk는 촉매 단위의 역할을 하고, cyclin은 조절 단위의 역할을 한다. 이들 복합체를 억제하여 조절 기능을 하는 것이 CKI인데, 이는 두 군으로 나누어진다. Ink4 군은 비교적 선택적으로 cdk4/cdk6 작용을 조절하는 반면, Cip1/Kip1 군은 다양한 cdk들의 촉매작용을 조절하는 것으로 알려져 왔다.(18) $p27^{Kip1}$ 은 바로 Cip1/Kip1 군에 속하며 세포 성장의 음성 조절자로서의 역할을 하기 때문에 유전자 타격(knock-out) 생쥐에서 다양한 장기의 과형성과 뇌하수체 종양을 관찰할 수 있고,(19,20) 이러한 작용 때문에 $p27^{Kip1}$ 은 종양 억제작용을 가진 것으로 생각되고 있다. 이와 관련된 연구 결과들은 이미 인체 조직과 암세포주 실험을 통하여 알려져 있다.(11,18,21,22)

유방암에서 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체의 발현은 $p27^{Kip1}$ 발현과 연관 있다는 보고는 여러 연구에서 찾을 수 있으나,(21,22) 이에 대한 이유를 발견하기 힘들다. 정확한 기전은 알 수 없고 이론의 여지가 있기는 하지만, cyclin들이 에스트로겐의 영향을 받을 수 있고,(23) 암 세포주 실험에서 cdk2, $p27^{Kip1}$, $p21^{Cip1}$ 의 작용이 프로게스테론에 의하여 조절된다는 연구 결과가 제시되었기 때문에 이들 호르몬과 호르몬 수용체들이 밀접한 연관성을 가질 것을 예상할 수 있다.(24) 간접적인 증거로는 유전자 타격 생쥐 연구에서 볼 수 있듯이 과증식이 일어나는 장기들이 내분비계와 연관되어 있다는 점이다.(19,20)

기존의 $p27^{Kip1}$ 에 대한 여러 연구와 비교해 볼 때 고려해야 할 사항은 본 연구에서 택하였던 $p27^{Kip1}$ 발현의 평가 방법이 연구자마다 다르다는 점이다. Porter 등(11)은 염색 강도와 영역에 따라 6구분하여 0~1을 저발현군으로, 2~6을 고발현군으로 구분하여 연구하였고, Fredersdorf 등(18)은 음성과 양성으로 양분하여 연구를 수행하였다. Tan 등(21)과 Catzavelos 등(22)이 본 연구와 같이 염색된 종양 세포가 전체의 50% 이하일 때를 저발현군, 50%를 넘을

때를 고발현군으로 구분하여 연구하였다. 대부분의 다른 연구 결과를 보면 병기가 진행됨에 따라 암의 악성도가 증가하여 $p27^{Kip1}$ 발현이 소실되며 이와 함께 림프절 전이도 유의하게 증가한다고 되어 있지만, 본 연구에서 차이는 있거나 통계학적 유의성이 없는 점은 앞서 언급한 연구방법의 차이도 무관하지 않다고 여겨진다. 특히 본 연구의 경우 대상 환자들이 술 후 여러 종류의 항암제나 방사선 치료와 같은 보조요법으로 치료를 받은 환자들이므로 $p27^{Kip1}$ 발현의 소실과 이들 치료에 대한 내성에 대한 연관성도 고려해야 할 것으로 생각된다.(25)

결 론

유방암 조직에서 $p27^{Kip1}$ 발현의 감소는 유방암이 진행됨에 따라 여러 가지 유방암의 악성도를 나타내는 지표들 즉, 높은 조직학 등급, 낮은 핵 등급, 높은 임상 병기 등과 연관되어 있음을 알 수 있었다. 그러나 $p27^{Kip1}$ 발현이 감소한 환자들에서 항암제나 방사선 치료와 같은 술 후 보조적 치료를 받은 후에도 높은 재발이 확인되어 $p27^{Kip1}$ 이 단순한 핵 분화와 성장 과정의 조절인자가 아니라 불량한 예후를 보이는 지표로서 중요한 역할을 할 것으로 생각한다.

REFERENCES

- 1) Suh CI, Suh KA, Park SH, Chang HJ, Ko JW, Ahn DH. Annual report of the central cancer registry in Korea-1998 (based on registered data from 124 hospitals). J Korean Cancer assoc 2000;32:827-34.
- 2) Binder C, Marx D, Binder L, Schauer A, Hiddemann W. Expression of Bax in relation and other predictive parameters in breast cancer. Ann Oncol 1996;7:129-33.
- 3) Hannon GJ, Beach D. p15INK4B is a potential effector of TGF- β -induced cell cycle arrest. Nature 1994;371:257-61.
- 4) Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. Nature 1993;366:704-7.
- 5) Harper JW, Adami GR, Wei N, Keyomarsi K, Elledge SJ. The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. Cell 1993;75:805-16.
- 6) Polyak, Lee M-H, Erdjument-Bromage H, Koff A, Roberts JM, Tempst P, et al. Cloning of $p27^{Kip1}$, a cyclin-dependent kinase and a potent mediator of extracellular antimitogenic signals. Cell 1994;78:59-66.
- 7) Polyak K, Kato J, Solomon MJ, et al. $p27^{Kip1}$, a cyclin-Cdk inhibitor, links transforming growth factor- β and contact inhibition to cell cycle arrest. Genes Dev 1994;8:9-22.
- 8) Toyoshima H, Hunter T. p27, a novel inhibitor of G1 cyclin-Cdk protein kinase activity, is related to p21. Cell 1994;

- 78:67-74.
- 9) Catzavelos GC, Bhattacharia N, Ung YC, Wilson JA, Roncari L, Sandhu C, et al. Decreased levels of the cell-cycle inhibitor p27^{Kip1} protein: prognostic implication in primary breast cancer. *Nat Med* 1997;3:227-30.
- 10) Mori M, Mimori K, Shiraishi T, Tanaka S, Ueo H, Sugimachi K, et al. p27 expression and gastric carcinoma. *Nature Med* 1997;3:593.
- 11) Porter PL, Malone KE, Heagerty PJ, Alexander GM, Gatti LA, Firpo EJ, et al. Expression of cell-cycle regulators p27Kip1 and cyclin E, alone and in combination, correlate with survival in young breast cancer patients. *Nat Med* 1997;3:222-5.
- 12) Pagano M, Tam SW, Theodoras AM, Beer-Romero P, Del Sal G, Chau V, et al. Role of the ubiquitin-proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27. *Science* 1995;269:682-5.
- 13) Ponce-Castaneda MV, Lee MH, Latres E, Polyak K, Lacombe L, Montgomery K, et al. p27Kip1: chromosomal mapping to 12p12-12p13.1 and absence of mutations in human tumors. *Cancer Res* 1995;55:1211-4.
- 14) Kawamata N, Morosetti R, Miller CW, Park D, Spirin KS, Nakamaki T, et al. Molecular analysis of the cyclin-dependent kinase inhibitor gene p27/Kip1 in human malignancies. *Cancer Res* 1995;55:2266-9.
- 15) Black MM, Speer FD. Nuclear structure in cancer tissue. *Surg Gynecol Obstet* 1957;105:97-102.
- 16) Elson CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histologic grade in breast cancer: experience from a large study with longterm follow-up. *Histopathology* 1991;19:403-10.
- 17) Schraml P, Kononen J, Bubendorf L, Moch H, Bissig H, Nocito A, et al. Tissue microarrays for gene amplification surveys in many different tumor types. *Clin Cancer Res* 1999; 5:1966-75.
- 18) Fredersdorf S, Burns J, Milne AM, Packham G, Fallis L, Gillett CE, et al. High level expression of p27(kip1) and cyclin D1 in some human breast cancer cells: inverse correlation between the expression of p27(kip1) and degree of malignancy in human breast and colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:6380-5.
- 19) Fero ML, Rivkin M, Tasch M, Porter P, Carow CE, Firpo E, et al. A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumorigenesis, and female sterility in p27(Kip1)-deficient mice. *Cell* 1996;85(5):733-44.
- 20) Nakayama K, Ishida N, Shirane M, Inomata A, Inoue T, Shishido N, et al. Mice lacking p27(Kip1) display increased body size, multiple organ hyperplasia, retinal dysplasia, and pituitary tumors. *Cell* 1996;85:707-20.
- 21) Tan P, Cady B, Wanner M, Worland P, Cukor B, Magi-Galluzzi C, et al. The cell cycle inhibitor p27 is an independent prognostic marker in small (T1a, b) invasive breast carcinomas. *Cancer Res* 1997;57:1259-63.
- 22) Catzavelos C, Bhattacharya N, Ung YC, Wilson JA, Roncari L, Sandhu C, et al. Decreased levels of the cell-cycle inhibitor p27Kip1 protein: prognostic implications in primary breast cancer. *Nat Med* 1997;3:227-30.
- 23) van Diest PJ, Michalides RJ, Jannink L, van der Valk P, Peterse HL, de Jong JS, et al. Cyclin D1 expression in invasive breast cancer. Correlations and prognostic value. *Am J Pathol* 1997;150:705-11.
- 24) Groshong SD, Owen GI, Grimison B, Schauer IE, Todd MC, Langan TA, et al. Biphasic regulation of breast cancer cell growth by progesterone: role of the cyclin-dependent kinase inhibitors, p21 and p27(Kip1). *Mol Endocrinol* 1997;11:1593-607.
- 25) Han SH, Kim HY, Park KM, Lee MS, Kim HJ, Kim YD, et al. Reduced expression of p27 correlates with high grade malignancy and is associated with poor clinical outcome in human breast cancer. *J Korean Cancer Assoc* 1999;31:492-98.