

호르몬 불응성 전립선암 환자에서 Epidermal Growth Factor Receptor와 HER-2 유전자의 역할

Role of Epidermal Growth Factor Receptor and the HER-2 Gene in Hormone Refractory Prostate Cancer

Kang Su Cho, Dong Jun Kim¹, Joong Shik Lee¹, Nam Hoon Cho², Kyeongmee Park³, Won Sik Ham, Young Deuk Choi

From the Department of Urology, Urological Science Institute, ²Department of Pathology, Yonsei University College of Medicine, ¹Department of Urology, Kwan-dong University College of Medical Science, ³Department of Pathology, Inje University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: Amplification and mutation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) and HER-2 genes were analyzed in the tissues of hormone refractory prostate cancer (HRPC) patients.

Materials and Methods: Gene amplifications of the EGFR and HER-2 gene were analyzed by fluorescence in situ hybridization (FISH) with direct sequencing. Studies were performed on 10 patients; tissues were sampled at the time of initial diagnosis and after the conversion to HRPC (a total of 20 tissue samples). Direct sequencing was performed on exons 18-24 of the EGFR gene and exons 19 and 20 of the HER-2 gene. The amplifications and mutations were compared with the clinicopathologic features.

Results: Gene amplification of the EGFR gene was observed in 6 (30%) out of 20 samples. A total of six EGFR mutations in exons 18 and 19 were detected in three pairs of tissues (three patients). One patient with a hormone refractory status had a novel deletion mutation in EGFR exon 19. EGFR mutations were associated with the acinar type of prostate cancer, but they were not associated with the ductal type. No significant correlation was found between mutation change and the hormone sensitive or refractory status. However, the time to convert to HRPC was significantly shorter in the patients with a mutation in the EGFR gene ($p=0.017$). There were no HER-2 gene amplifications or mutations found in any of the samples.

Conclusions: EGFR gene mutation and amplification occurred frequently in these advanced prostate cancer cases, but EGFR mutations do not appear to play a significant role in the hormone refractory pathway. However, EGFR gene mutation is closely associated with the time to convert to HRPC. (Korean J Urol 2008;49:24-30)

Key Words: Prostatic neoplasms; Receptor, epidermal growth factor; Mutation; Gene amplification

대한비뇨기과학회지
제 49 권 제 1 호 2008

연세대학교 의과대학 비뇨기과학교실,
비뇨의과학연구소, ²병리학교실,
¹관동대학교 의과대학 비뇨기과학교실,
³인제대학교 의과대학 병리학교실

조강수 · 김동준¹ · 이종식¹ · 조남훈²
박경미³ · 함원식 · 최영득

접수일자 : 2007년 7월 24일
채택일자 : 2007년 10월 15일

교신저자 : 최영득
연세대학교 의과대학
비뇨기과학교실
서울시 서대문구 신촌동 134
☎ 120-752
TEL : 02-2228-2317
FAX : 02-312-2538
E-mail : youngd74@yuhs.ac

본 연구는 2005년도 연세의대 교수연구비의 일부 지원으로 이루어짐.

서 론

호르몬 의존성 전립선암이 호르몬 불응성암으로 전환되는 기전은 clonal selection theory와 adaptation theory를 근간으로 설명되며, 이중 adaptive upregulation은 안드로겐 수용

체의 증폭 및 변이 등과 관련된 기전, survival gene의 upregulation 및 alternative growth factor pathway의 활성화 등이 관여하는 것으로 알려져 있다.¹

전립선암의 성장에는 insulin-like growth factor (IGF) family, epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor- α (TGF- α), fibroblast growth factor (FGF) family, platelet-

derived growth factor (PDGF) 및 vascular endothelial growth factor (VEGF) 등의 여러 성장인자들이 관여한다.² 특히 호르몬 불응성 전립선암에서 EGF 및 TGF- α 의 분비가 증가하고,² epidermal growth factor receptor (EGFR) 및 HER-2의 과다발현이 관찰되었다.³⁻⁸ 이에 호르몬 불응성 전립선암으로 전환되는 데 있어서 이들의 역할이 주목받고 있으며, 고식적 호르몬 치료에 반응하지 않는 전립선암 환자에서 EGFR tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI)인 ZD1839와 HER-2 specific monoclonal antibody인 trastuzumab을 이용한 새로운 치료법들이 모색되고 있다.⁹⁻¹¹

비소세포 폐암, 유방암, 두경부암, 위암, 결장-직장암, 전립선암, 방광암, 신장암, 췌장암 및 난소암 등에서 EGFR이 과다발현하며, 이는 진행성 병기, 표준 치료법에 대한 내성 및 불량한 예후와 관련이 있는 것으로 알려져 있다.¹² 최근에는 진행성 비소세포 폐암 환자 대상 연구에서 EGFR 유전자의 증폭 및 변이 여부가 EGFR-TKI에 대한 임상적인 반응에 영향을 미치는 인자로 제시되고 있다.^{13,14} 현재까지 소세포 폐암, 두경부암, 결장암 및 유방암 등에서 EGFR tyrosine kinase domain의 exon 18-21에 위치한 35개의 서로 다른 변이가 보고되었으나,^{15,16} 전립선암을 대상으로 EGFR 유전자의 변이에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 호르몬 불응성 전립선암의 원인 및 주요 기전에 대한 하나의 가능성으로 EGFR의 역할을 확인하고자 전립선암 세포주에서의 EGFR tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI)인 ZD1839에 의한 변화를 확인하고자 하였다. 또한 호르몬 불응성 전립선암으로 전환된 환자를 대상으로 호르몬 치료 전 및 호르몬 치료 후의 조직에서 EGFR 및 HER-2의 유전자 증폭 및 변이를 확인하고, 유전자 변화를 비교 분석하여 호르몬 불응성 전립선암으로의 전환 과정에

서 EGFR 및 HER-2의 역할을 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 전립선암 세포주에서의 EGF 및 EGFR tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI)인 ZD1839에 대한 반응

전립선암 세포주로서 호르몬 민감 전립선암 세포주 (LNCaP)와 호르몬 불응성 전립선암 세포주 (PC3, DU145)를 배양하여 사용하였다. 세포주는 95% 공기와 5% CO₂의 37°C의 배양기에서 배양하였으며 10% FBS, penicillin (100 UI/ml), streptomycin (100g/ml), 및 4mM glutamine가 있는 RPMI로 유지하였다. 전립선암 세포주에서 배양 시 EGF를 투여하고 세포의 배양 증식을 관찰하였다. 배양된 세포주에서 EGFR-TKI인 ZD1839를 0, 10, 25 및 50 μ M의 농도로 투여하고 72시간까지 매일 세포의 증식에 대한 억제효과를 관찰하였다. 대조군의 경우는 DMSO를 처리하였으며 세포 증식에 대한 억제효과는 1mg/ml MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Sigma)을 첨가하여 분석하였다.

2. 대상 환자 및 조직

의무기록을 후향적으로 분석하여 연구 대상을 선정하였다. 1996년부터 2004년 사이에 국소진행성 또는 전이성 전립선암으로 호르몬 치료를 받았던 환자들 중에서 처음 진단 당시의 조직과 호르몬 불응성 전립선암으로 전환된 후의 조직을 얻을 수 있었던 환자 총 10명 (10쌍의 조직)을 대상으로 하였다. 호르몬 불응성 전립선암으로 전환된 전과 후의 조직은 모두 배뇨증상의 호전을 위해 시행한 경요도적 전립선 절제술을 통해 확보한 조직이었다. 대상의 평균

Table 1. Clinical and pathological characteristic of the subject patients

Patients	Age (years)	Initial PSA (ng/ml)	Type	Gleason score HSPC→HRPC	Time to HRPC (months)	Follow-up duration (months)	Status
1	81	165	Acinar	9 (5+4)→10 (5+5)	6	23	Expired
2	82	216	Acinar	9 (4+5)→8 (4+4)	37	62	Expired
3	68	141	Acinar	7 (4+3)→7 (4+3)	16	55	Expired
4	70	213	Acinar	7 (4+3)→7 (4+3)	62	81	Expired
5	64	184	Acinar	7 (4+3)→7 (4+3)	14	27	Alive
6	75	76	Ductal	8 (4+4)→8 (4+4)	36	34	Alive
7	54	153	Ductal	8 (4+4)→8 (4+4)	22	42	Expired
8	53	127	Ductal	8 (4+4)→8 (4+4)	23	28	Expired
9	61	139	Ductal	8 (4+4)→8 (4+4)	25	57	Expired
10	71	683	Ductal	8 (4+4)→8 (4+4)	26	30	Alive

PSA: prostate-specific antigen, HSPC: hormone sensitive prostate cancer, HRPC: hormone refractory prostate cancer

나이는 68세 (53-82)였으며, 첫 진단 시 국소진행성 전립선암 및 전이성 전립선암이 각각 3명 및 7명이었으며, 조직학적으로 acinar type 및 ductal type이 각각 5명씩이었다. 대상 환자의 경우 임상적으로 호르몬 불응성 전립선암으로 전환되기까지 걸린 시간은 23개월 (6-62)이었다. 환자들은 추적 중 7명이 암으로 사망하였으며 (23-81개월), 다른 3명은 현재 추적 중이다 (14-36개월) (Table 1).

3. Fluorescence in situ hybridization을 이용한 유전자 증폭 관찰

4 μ m 두께로 절단된 조직에 two-color fluorescence in situ hybridization (FISH)를 시행하였다. 조직 절편은 56°C에서 24시간 동안 배양한 후 탈파라핀화시키고, 100% 에탄올로 탈수화한 후 자연 건조시켰다. 조직 슬라이드는 0.2N HCL에 20분 동안 처리한 후 수세완충액 (Vysis, DownersGrove, USA)를 이용하여 3분 동안 수세하였다. 조직 슬라이드는 다시 전처리용액 (Vysis)을 이용하여 80°C에서 30분 동안 배양하였으며, 정제수로 한 번 수세 후, 완충액으로 5분씩 2회 수세하였다. 슬라이드는 37°C에서 protease solution (Vysis)에 10분 동안 담근 후 45-50°C에서 완충액으로 씻어 내고, 10분간 자연건조한 후 다시 45-50°C에서 완충액으로 씻어 내었다. 슬라이드를 10% 포르말린 용액으로 10분 동안 고정 한 후 45-50°C에서 완충액으로 씻어 내었다. 슬라이드를 72°C에서 5분 동안 denaturation solution (Vysis)에 담근 후 45-50°C에서 75%, 85% 및 100% 에탄올로 연이어 탈수화시켰다. 10 μ l의 LSI EGFR/CEP7 probe (PathVysion™; Vysis)을 떨어뜨리고 커버글라스로 밀봉 후, Hybrite (Vysis)에서 37°C에서 하룻밤 동안 hybridization하였다. 이 후 슬라이드는 72°C에서 2분 동안 posthybridization wash buffer (Vysis)로 수세하였다. 세포핵은 10 μ l의 4,6-diamino-2-phenylindole (Vysis)로 대조 염색하였다. Centromere 7 (CEP7)과 EGFR copy 수를 측정하였다. 형태학적으로 정상이며 겹쳐있지 않은

세포핵에서 분홍빛색의 EGFR signal과 녹색의 CEP signal의 비가 2 이상일 때 유전자 증폭으로 정의하였다. HER-2의 증폭은 LSI HER-2/CEP17 probe (PathVysion™; Vysis)을 이용하여 같은 방법으로 검사하였다.

4. EGFR 및 HER-2 유전자 변이 분석

모든 대상에서 호르몬 민감성 및 호르몬 불응성 전립선암에 해당하는 각각의 조직에 대하여 EGFR 및 HER-2 유전자의 변이를 분석하였다. PCR-single-strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) 분석을 이용하였다. EGFR 유전자의 분석은 kinase domain은 인코딩하는 exon 18-24를 분석하였으며, HER-2은 exon 19 및 20에 대하여 조사하였다. 각각에 해당하는 forward 및 reverse primer의 서열은 다음과 같다 (Table 2). cDNA의 numbering은 ATG start codon (NM_004448)에 관하여 시행하였다. PCR 산물에 방사능동위원소 (32PdCTP)를 결합시키고, autoradiogram으로 검색하였다. PCR 반응은 94°C에서 1분간 denaturation 시킨 후, 94°C/30초, 50-60°C/30초, 72°C/30초의 조건으로 30cycles를 시행하였다. SSCP후에 mobility shift를 보이는 DNAs는 건조된 젤로부터 잘라내어 같은 primer set를 이용하여 재증폭하였다. PCR 산물의 염기서열 분석은 cyclic sequencing kit (Perkin-Elmer, Foster City, USA)를 이용하여 제조사의 사용 설명서에 따라 수행하였다.

5. 자료 분석

임상적으로 호르몬 불응성 전립선암으로 전환되기까지 걸린 시간은 의무기록을 분석하여 후향적으로 판정하였으며, EGFR 유전자 변이 여부에 따른 호르몬 불응성 전립선암으로 전환되기까지 걸린 시간의 차이를 조사하였다. 통계학적 분석은 Mann-Whitney U test를 시행하였으며, p값이 0.05 미만인 경우 통계학적으로 의미있는 것으로 판정하였다.

Table 2. The nucleic acid sequence of the forward and reverse primers for the EGFR and HER-2 genes

	Exon	Forward primer	Reverse primer
EGFR	exon 18	CAAGTGCCGTGTCCTGGCACCCAAGC	CAAACACTCAGTGAAACAAAGAG
	exon 19	GCAATATCAGCCTTAGGTGCGGCTC	CATAGAAAGTGAACATTTAGGATGTG
	exon 20	CCATGAGTACGTATTTTGAAACTC	CATATCCCCATGGCAAACCTCTTGC
	exon 21	CTAACGTTCCGACGCCATAAGTCC	GCTGCGAGCTCACCCAGAATGTCTGG
	exon 22	GAGCAGCCCTGAACTCCGTCAGACTG	CTCAGTACAATAGATAGACAGCAATG
	exon 23	CAGGACTACAGAAATGTAGGTTTC	GTGCCTGCCTTAAGTAATGTGATGAC
	exon 24	GACTGGAAGTGTGCGATCACCAATG	GGTTTAATAATGCGATCTGGGACAC
HER-2	exon 19	GCCCACGCTCTTCTCACTCA	ATGGGGTCTCTTCTGTCCTC
	exon 20	GTGATGGTTGGGAGGCTGTG	GCTGCACCGTGGATGTCAG

EGFR: epidermal growth factor receptor

결 과

1. 전립선암 세포주에서의 EGF 및 EGFR tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI)인 ZD1839에 대한 세포증식의 변화

1) 전립선암세포주에서 EGF의 효과: 전립선암 세포주들의 배양에서 EGF 100ng/ml를 첨가하고 48시간에 관찰한 결과 EGF를 첨가하지 않고 배양한 경우에 비해 DU145 세포주는 평균 $8.6 \pm 1.7\%$, LNCaP 세포주는 평균 $7.3 \pm 2.1\%$, PC3 세포주는 평균 $5.2 \pm 1.6\%$ 의 세포 배양이 증가하여 세포 증식에서 DU145 세포주가 EGF에 대해 가장 민감하였다.

2) 전립선암 세포주에서의 EGFR-TKI인 ZD1839에 대한 세포증식 억제: 전립선암 세포주로서 호르몬 민감 전립선암 세포주 (LNCaP)와 호르몬 불응성 전립선암 세포주 (PC3, DU145)에서 EGFR-TKI인 ZD1839를 농도별로 투여하고 시간별 세포의 증식억제에 대한 효과를 관찰하였다. ZD1839의 농도는 $10\text{-}50\text{ }\mu\text{M}$ 으로 증량하였으며, 세포증식은 72시간까지 분석하였다. 모든 세포주에서 ZD1839 투여 시 농도 및 시간의존적 세포증식 억제가 나타났다. DU145 세포주가

ZD1839에 가장 민감하였다 (Fig. 1).

2. Fluorescence in situ hybridization을 이용한 유전자 증폭 관찰

총 대상 20개의 조직 중 6개의 조직 (30.0%)에서 EGFR의 증폭이 확인되었다 (Table 3) (Fig. 2). 6개의 조직은 환자 3명의 호르몬 불응성으로 전환되기 전후의 조직이었으며, 모두 acinar type의 선암 조직이었다. Ductal type의 선암환자에서는 EGFR의 증폭이 관찰되지 않았다.

3. EGFR 및 HER-2 유전자의 변이

EGFR의 변이는 총 10명의 전립선암 환자 20개의 조직 중 3명에서 9개의 변이가 확인되었으며, 이들은 모두 acinar type의 선암조직이었다. 환자 1은 exon 19의 18 염기쌍 (5'-TAAGAGAAGCAACATCTA)의 결실 (deletion)이 호르몬 불응성 조직에서 관찰되었으며, exon 23의 codon 903의 염기서열이 ACC에서 ACT로 전환된 것이 호르몬 민감성 및 불응성 조직 모두에서 관찰되었으나 아미노산의 변화는 없었다. 환자 3은 호르몬 민감성 조직 및 불응성 조직에서 모두 EGFR exon 19의 codon 738의 염기서열이 GTT에서 GGT로,

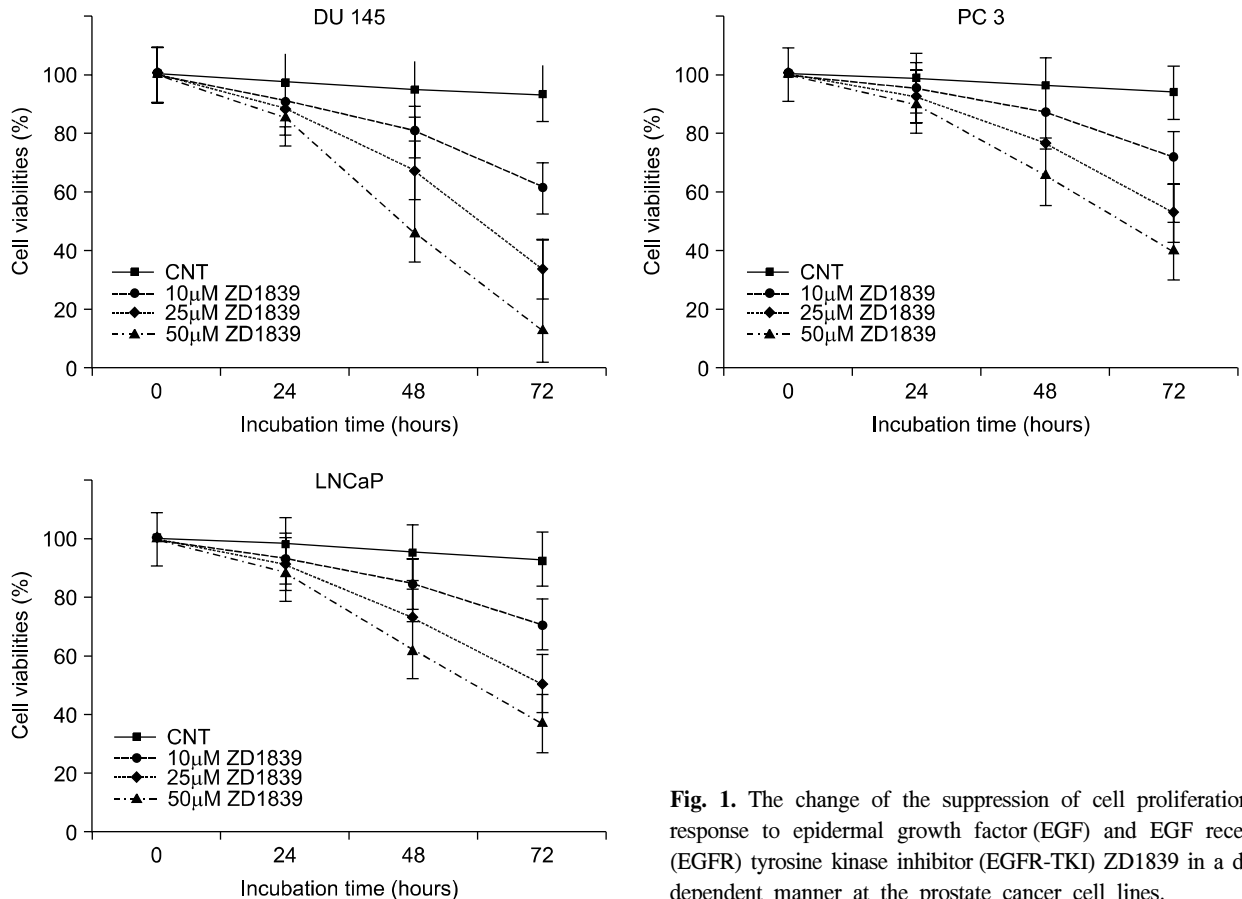


Fig. 1. The change of the suppression of cell proliferation in response to epidermal growth factor (EGF) and EGF receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) ZD1839 in a dose-dependent manner at the prostate cancer cell lines.

Table 3. The summary of the amplification and mutations of the EGFR gene in acinar type adenocarcinoma

Patients	Gene amplification	Mutations			
	Status	Exon	Variation	Status	Aminoacid
1	HSPC & HRPC	23	codon 903 (ACC→ACT)	HSPC & HRPC	Thr→Thr
		19	18bp deletion	HRPC only	-
2	-	-	-	-	-
3	HSPC & HRPC	19	codon 738 (GTT→GGT)	HSPC & HRPC	Val→Gly
		19	codon 761 (GAT→GGT)	HSPC & HRPC	Asp→Gly
4	-	-	-	-	-
5	HSPC & HRPC	18	codon 709 (GAA→AAA)	HSPC & HRPC	Glu→Lys

HSPC: hormone sensitive prostate cancer, HRPC: hormone refractory prostate cancer, EGFR: epidermal growth factor receptor

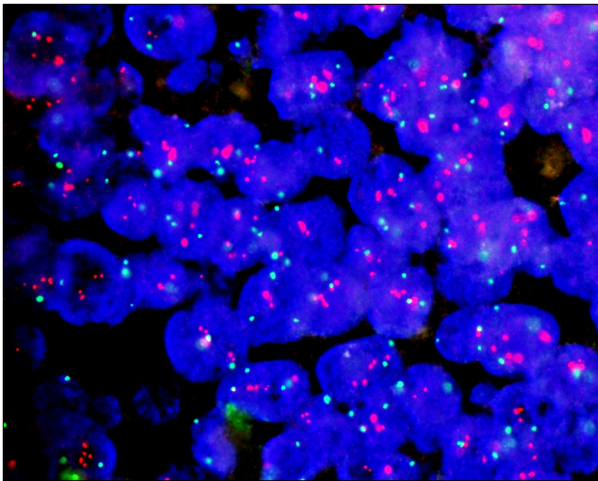


Fig. 2. Observation of the amplification of the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene by fluorescence in situ hybridization. Cells that were morphologically normal and had a ratio of the pink EGFR signal to the green centromere 7 signal higher than 2 in nonoverlapping nuclei were classified as having a gene amplification.

codon 761이 GAT에서 GGT로 전환되어 해당 아미노산이 각각 valine에서 glycine 및 aspartic acid에서 glycine으로 대체되었다. 또한 환자 5에서도 호르몬 민감성 조직 및 호르몬 불응성 조직 모두에서 EGFR exon 18의 codon 709의 염기서열이 GAA에서 AAA로 전환되어 해당 아미노산은 glutamic acid가 lysine으로 대체되었다 (Table 3). HER-2 유전자의 exon 19 및 20의 변이는 모든 조직에서 관찰되지 않았다.

4. EGFR 유전자의 변이와 임상적 예후관찰

EGFR 유전자 변이를 보인 3명의 환자에서 임상적으로 호르몬 불응성 전립선암으로 전환되기까지 걸린 시간은 12.0 ± 5.3 개월 (6-16)이었으며 최종 추적에서 모두 사망하였다. EGFR 유전자 변이를 보이지 않은 7명의 환자에서 임상

적으로 호르몬 불응성 전립선암으로 전환되기까지 걸린 시간은 33.0 ± 14.1 개월 (22-62)이었으며, 이 중 4명이 사망하였다. EGFR 유전자 변이 유무에 따라 호르몬 불응성 전립선암으로의 전환까지의 시간이 통계학적으로 유의한 차이를 보였다 ($p=0.017$).

고 찰

전립선암 세포주 연구를 통해 호르몬 불응성 전립선암이 호르몬 의존성 전립선암에 비하여 EGF 및 TGF- α 의 분비는 14배, EGFR의 발현은 10배 정도 증가하는 것으로 보고되었으나,² 지난 10여 년간 전립선암 환자 조직을 통한 EGFR family의 발현에 대한 연구는 기술적인 차이, 결과 해석의 차이 등으로 인하여 서로 상충되는 결과를 보여줌으로써 이에 대한 논란이 있었다. 하지만 최근에는 전립선암의 발생과 호르몬 불응성암으로의 진행이 EGFR 및 HER-2 등의 EGFR family의 과다발현과 관련이 있는 것으로 여겨지고 있다.³⁻⁸

Di Lorenzo 등⁴은 근치적 전립선 적출술만을 시행한 환자군 (단독 수술군), 호르몬 치료 후 근치적 전립선 적출술을 시행한 환자군 (신보조 호르몬 치료군) 및 호르몬 불응성 환자군으로 세분하여 EGFR의 발현 정도를 비교하였는데, 단독 수술군, 신보조 호르몬 치료군 및 호르몬 불응성군의 순으로 EGFR의 발현이 증가함을 확인하였다. 또한 여러 연구에서 HER-2의 발현 역시 같은 순서로 증가한다고 보고하고 있다.^{6,8} Hernes 등⁵과 Bartlett 등³은 호르몬 불응성 전립선암으로 전환된 환자에서 호르몬 치료 전후의 조직 쌍을 비교분석 하였는데, 호르몬 불응성 전립선암으로 전환 후 조직에서 EGFR 및 HER-2의 발현이 증가한다고 보고하였다. 이에 호르몬 불응성 전립선암으로 진행된 환자에서 EGFR-TKI 및 HER-2 specific monoclonal antibody를 이용한 새로운 치료법들이 모색되고 있다.⁹⁻¹¹ 본 연구에서도 총 20례의 조

직 중 6례 (30%)의 조직에서 EGFR의 증폭이 관찰되었으며, 모두 acinar type의 호르몬 불응성 전립선암으로 전환되기 전 후의 조직 쌍이었다.

7번 염색체의 단완에 위치하고 EGFR 유전자는 전립선암의 진행과 관련이 있을 것으로 여겨지고 있다.¹⁷ 전립선암에서 EGFR mRNA 전사체가 정상 또는 양성 전립선비대증 조직에 비하여 증가하는 것으로 알려져 있다.¹⁷ 그러나 FISH를 이용한 연구들에서 EGFR 유전자의 증폭은 매우 드물어 EGFR upregulation에는 전사과정에서 관여하는 다른 기전이 작용할 것으로 생각한다.^{3,17,18}

HER-2는 17번 염색체의 장완에 위치하는데, 전립선암 조직에서 HER-2 유전자 증폭은 문헌에 따라 0-44%로 다양하게 보고되고 있다.^{3,19,21} 그러나 연구자에 따라 실험방법이 다르고 유전자 증폭의 정의가 다르기 때문에 결과의 재해석이 필요하다. Ross 등²¹은 44%에서 HER-2 유전자 증폭이 관찰된다고 하였으나, 17번 염색체 탐침을 사용하지 않아 유전자 복제와 유전자 증폭을 정확히 구분할 수가 없으므로 실제 유전자 증폭은 이 수치보다 낮을 것이다. Bartlett 등³은 호르몬 치료를 받은 환자들의 조직 쌍을 이용한 연구에서 HER-2 유전자 증폭이 6.5%에 불과하다고 하였다. 그러나 이들은 HER-2/17번 염색체비의 절단치를 Kaltz-Wittmer 등²⁰이 적용한 1.5를 기준으로 해석하면 유전자 증폭이 23%로 증가하여 Kaltz-Wittmer 등²⁰의 연구와 유사한 결과를 보인다고 하였고, 또한 Bubendorf 등¹⁹이 적용한 절단치 3.0을 이용하면 오직 1명만이 유전자 증폭에 해당하므로 역시 비슷한 결과라 하였다. 결론적으로 HER-2 유전자 증폭은 일어나기는 하지만 낮은 수준의 증폭으로 호르몬 비의존성 전립선암으로 전환되는 기전에서 비중 있는 역할을 하지는 않는 것으로 판단하는 것이 타당할 것이다.

본 연구에서는 전립선암 조직에서 EGFR 및 HER-2 유전자의 tyrosine kinase domain의 체세포 변이를 조사하였다. 최근에 진행성 폐암 환자 대상 연구에서 EGFR 유전자의 tyrosine kinase domain의 변이 여부가 EGFR-TKI에 대한 임상적인 반응에 영향을 미치는 인자로 제시되면서 관심이 높아지고 있다.^{13,14} 선암, 여성, 동양인 및 비흡연자 등이 EGFR-TKI에 대해 반응을 잘 하며 이들에서 변이의 빈도가 높은 것으로 알려져 있다.²² 비소세포 폐암에서 EGFR 변이의 빈도는 다양하게 보고되고 있는데 일본, 한국, 대만과 같은 동양인의 경우 20-40% 및 이탈리아와 같은 서양인의 경우 5-19%로 인종에 따른 차이를 보이고 있다. 현재까지 비소세포 폐암, 두경부암, 결장암 및 유방암 등에서 EGFR tyrosine kinase domain의 exon 18-21에 위치한 35개의 서로 다른 변이가 알려져 있다.^{15,16} 아미노산 746과 753 사이에 해당하는 exon 19에서의 미세 결실과 exon 21 L858R 변이

가 가장 흔하다.²² 최근에는 비소세포 폐암 환자 중 HER-2 유전자의 변이가 4%, 선암에서 10%가 보고되고 있으나 임상적 중요성에 대해서는 잘 알려져 있지 않은 상태이다.

전립선암 세포주에 대한 EGFR tyrosine kinase inhibitor인 Iressa는 EGFR의 phosphorylation을 억제와 apoptosis의 촉진 및 세포 cycle의 G0/G1기 억제 효과를 통해 암세포 성장에 대한 억제 효과를 보인다고 보고하였다.^{11,23} Angelucci 등²⁴은 EGFR tyrosine kinase inhibitor를 이용한 동물 실험 결과 골 전이를 동반한 전립선암 치료에 효과적이라고 보고하였으며, Schiller²⁵는 전립선암 환자를 대상으로 EGFR tyrosine kinase inhibitor인 ZD1839를 투여한 결과 암 진행 저하 및 억제 효과에 대해 보고하였다.

본 연구에서는 EGFR 유전자의 kinase domain 변이가 총 9례가 관찰되었으나, 이 중 6례에서 아미노산 변화를 확인할 수 있었다. EGFR의 변이는 모두 acinar type으로 ductal type보다는 acinar type 선암과 연관된 것으로 여겨진다. 그러나 호르몬 불응성 전립선암 조직에서 18염기쌍의 결실을 동반한 EGFR의 변이가 관찰된 조직은 1례로 호르몬 불응성 전립선암으로의 전환됨에 있어서 의미 있는 역할을 할지는 불명확하지만, 총 20례의 조직 중 6례 (30%)의 조직에서 EGFR의 증폭과 총 9례의 EGFR의 변이는 진행성 또는 전이성 전립선암과 관련성이 있을 것으로 기대한다.

HER-2의 유전자 변이는 관찰되지 않아 전립선암의 발생 또는 진행에 있어서 의미 있는 역할을 하지는 않는 것으로 생각한다. 본 연구는 호르몬 의존성에서 불응성 전립선암으로 전환되는 긴 기간과 불응성으로 전환된 후의 환자 조직의 확보 등에 어려움으로 인해 적은 환자의 대상수가 일반적 결론을 제시하기는 무리가 있다. 하지만 EGFR 돌연변이가 전립선암의 발생 및 진행 기전에서 담당하는 잠재적 역할을 제시하였다고 생각하며, 명확한 기전의 이해를 위해서는 보다 많은 조직표본을 대상으로 하는 연구가 필요할 것이다.

결론

EGFR의 유전자 결실 및 변이와 증폭은 진행성 전립선암에서 흔히 유발되었으나, 호르몬 불응성 전립선암으로의 전환 후 조직에서 새롭게 관찰된 변화는 아니었다. 따라서 EGFR 유전자의 변이 및 증폭이 호르몬 불응성 전립선암으로 전환하는 과정에서 직접적인 기여는 하지 않는 것으로 생각된다. 그러나 EGFR 유전자 변이 유무에 따라 호르몬 불응성암으로의 전환까지의 시간이 차이를 보이고 있어, EGFR 유전자의 변이 유무가 진행성 전립선암의 예후와 관련 있을 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. So A, Gleave M, Hurtado-Col A, Nelson C. Mechanisms of the development of androgen independence in prostate cancer. *World J Urol* 2005;23:1-9
2. Hellawell GO, Brewster SF. Growth factors and their receptors in prostate cancer. *BJU Int* 2002;89:230-40
3. Bartlett JM, Brawley D, Grigor K, Munro AF, Dunne B, Edwards J. Type I receptor tyrosine kinases are associated with hormone escape in prostate cancer. *J Pathol* 2005;205:522-9
4. Di Lorenzo G, Tortora G, D'Armiento FP, De Rosa G, Staibano S, Autorino R, et al. Expression of epidermal growth factor receptor correlates with disease relapse and progression to androgen-independence in human prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:3438-44
5. Hernes E, Fossa SD, Berner A, Otnes B, Nesland JM. Expression of the epidermal growth factor receptor family in prostate carcinoma before and during androgen-independence. *Br J Cancer* 2004;90:449-54
6. Osman I, Scher HI, Drobnjak M, Verbel D, Morris M, Agus D, et al. HER-2/neu (p185neu) protein expression in the natural or treated history of prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:2643-7
7. Shi Y, Brands FH, Chatterjee S, Feng AC, Groshen S, Schewe J, et al. Her-2/neu expression in prostate cancer: high level of expression associated with exposure to hormone therapy and androgen independent disease. *J Urol* 2001;166:1514-9
8. Signoretti S, Montironi R, Manola J, Altimari A, Tam C, Bubley G, et al. Her-2-neu expression and progression toward androgen independence in human prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1918-25
9. Canil CM, Moore MJ, Winquist E, Baetz T, Pollak M, Chi KN, et al. Randomized phase II study of two doses of gefitinib in hormone-refractory prostate cancer: a trial of the National Cancer Institute of Canada-Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 2005;23:455-60
10. Formento P, Hannoun-Levi JM, Fischel JL, Magne N, Etienne-Grimaldi MC, Milano G. Dual HER 1-2 targeting of hormone-refractory prostate cancer by ZD1839 and trastuzumab. *Eur J Cancer* 2004;40:2837-44
11. Sgambato A, Camerini A, Faraglia B, Ardito R, Bianchino G, Spada D, et al. Targeted inhibition of the epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase by ZD1839 ('Iressa') induces cell-cycle arrest and inhibits proliferation in prostate cancer cells. *J Cell Physiol* 2004;201:97-105
12. Arteaga CL. Epidermal growth factor receptor dependence in human tumors: more than just expression? *Oncologist* 2002;7 (Suppl 4):31-9
13. Cappuzzo F, Hirsch FR, Rossi E, Bartolini S, Ceresoli GL, Bemis L, et al. Epidermal growth factor receptor gene and protein and gefitinib sensitivity in non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:643-55
14. Riely GJ, Pao W, Pham D, Li AR, Rizvi N, Venkatraman ES, et al. Clinical course of patients with non-small cell lung cancer and epidermal growth factor receptor exon 19 and exon 21 mutations treated with gefitinib or erlotinib. *Clin Cancer Res* 2006;12:839-44
15. Janne PA, Borras AM, Kuang Y, Rogers AM, Joshi VA, Liyanage H, et al. A rapid and sensitive enzymatic method for epidermal growth factor receptor mutation screening. *Clin Cancer Res* 2006;12:751-8
16. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Wistuba II, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:339-46
17. Skacel M, Ormsby AH, Pettay JD, Tsiftakis EK, Liou LS, Klein EA, et al. Aneusomy of chromosomes 7, 8, and 17 and amplification of HER-2/neu and epidermal growth factor receptor in Gleason score 7 prostate carcinoma: a differential fluorescent in situ hybridization study of Gleason pattern 3 and 4 using tissue microarray. *Hum Pathol* 2001;32:1392-7
18. Cui J, Deubler DA, Rohr LR, Zhu XL, Maxwell TM, Changus JE, et al. Chromosome 7 abnormalities in prostate cancer detected by dual-color fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 1998;107:51-60
19. Bubendorf L, Kononen J, Koivisto P, Schraml P, Moch H, Gasser TC, et al. Survey of gene amplifications during prostate cancer progression by high-throughout fluorescence in situ hybridization on tissue microarrays. *Cancer Res* 1999;59:803-6
20. Kaltz-Wittmer C, Klenk U, Glaessgen A, Aust DE, Diebold J, Lohrs U, et al. FISH analysis of gene aberrations (MYC, CCND1, ERBB2, RB, and AR) in advanced prostatic carcinomas before and after androgen deprivation therapy. *Lab Invest* 2000;80:1455-64
21. Ross JS, Sheehan CE, Hayner-Buchan AM, Ambros RA, Kallakury BV, Kaufman RP, et al. Prognostic significance of HER-2/neu gene amplification status by fluorescence in situ hybridization of prostate carcinoma. *Cancer* 1997;79:2162-70
22. Tsao MS, Sakurada A, Cutz JC, Zhu CQ, Kamel-Reid S, Squire J, et al. Erlotinib in lung cancer - molecular and clinical predictors of outcome. *N Engl J Med* 2005;353:133-44
23. Bellezza I, Bracarda S, Caserta C, Minelli A. Targeting of EGFR tyrosine kinase by ZD1839 ('Iressa') in androgen-responsive prostate cancer in vitro. *Mol Genet Metab* 2006; 88:114-22
24. Angelucci A, Gravina GL, Rucci N, Millimaggi D, Festuccia C, Muzi P, et al. Suppression of EGF-R signaling reduces the incidence of prostate cancer metastasis in nude mice. *Endocr Relat Cancer* 2006;13:197-210
25. Schiller JH. New directions for ZD1839 in the treatment of solid tumors. *Semin Oncol* 2003;30:49-55