

ORIGINAL ARTICLE

관상피내암, 관상피내암을 포함한 침윤성 유관암 및
점액성암에서 HER-2/*neu*와 Paxillin의 발현 양상한선욱 · 최윤영 · 우희두 · 손두민 · 배상호 · 강길호 · 김성용 · 백무준 · 임철완 · 이문수 · 김창호 · 이민혁 · 노진혁¹조현득¹ · 오미혜¹ · 김의한¹ · 조무식순천향대학교 천안병원 외과학교실 · ¹병리학교실Expression of HER-2/*neu* and Paxillin in Ductal Carcinoma *in situ*, Invasive
Ductal Carcinoma with Ductal Carcinoma *in situ* and Mucinous CarcinomaSun-Wook Han, Yoon-Young Choi, Hee-Doo Woo, Doo-Min Sohn, Sang-Ho Bae, Gil-Ho Gang, Sung-Yong Kim, Moo-Jun Baek, Cheol-Wan Lim, Moon-Soo Lee, Chang-Ho Kim, Min-Hyuk Lee, Jin-Hyuk Rho¹, Hyun-Deuk Cho¹, Mee Hye Oh¹, Eui-Han Kim¹, Moo-Sik ChoDepartments of Surgery and ¹Pathology, College of Medicine, Soonchunhyang University, Cheonan Hospital, Cheonan, Korea**Purpose:** We purpose to determine the correlation of HER-2/*neu* and paxillin expression in ductal carcinoma *in situ* (DCIS), invasive ductal carcinoma with ductal carcinoma *in situ* (IDC with DCIS) and mucinous carcinoma.**Methods:** To evaluate the expression of HER-2/*neu* and paxillin, the immunohistochemical staining was performed for 13 cases of DCIS, 13 cases of IDC with DCIS and 6 cases of mucinous carcinoma.**Results:** The DCIS and IDC were associated with infiltration of the inflammatory cells, especially in the comedo type and solid type of tumor. In cases with infiltration of the inflammatory cells, HER-2/*neu* and paxillin were strongly expressed. When comparing the expression level of HER-2/*neu* from adjacent normal tissue between DCIS and IDC with DCIS, expression of HER-2/*neu* was similar to that of normal tissue adjacent to DCIS. However, in the adjoining normal ductal epithelial cells, paxillin was highly expressed in cells of all of the tumortypes, and especially for IDC with DCIS. HER-2/*neu* and paxillin were not expressed in mucinous carcinoma cells in all cases.**Conclusion:** HER-2/*neu* in the DCIS and IDC with infiltration of inflammatory cells shows higher expression than non-inflammatory DCIS and IDC. If normal duct epithelial cells show a high level of HER-2/*neu* expression, the epithelial cells have a high probability of transformation into anaplastic cells. However, paxillin appears to have no value as a prognostic factor. The difference of expression of HER-2/*neu* between IDC with DCIS and DCIS suggests a different origin of tumor cells. The growth pattern of mucinous carcinoma cell is different from the that of DCIS or IDC cell, which grow slowly.Key Words : HER-2/*neu*, Paxillin, Ductal carcinoma *in situ*, Invasive ductal carcinoma, Mucinous carcinoma중심단어 : HER-2/*neu*, Paxillin, 관상피내암, 침윤성 유관암, 점액성암

서 론

세포는 세포 내외에 분포하고 있는 단백 물질들의 상호 작용에 의해서 성숙 및 분화를 하고 운동성을 유지하며, 증식과 자연사를 일으키게 된다. 이러한 상호 작용은 세포 외의 물질을 받아들이는 수용체가 세포막에 있어 이 수용체를 통하여 세포 외 물질과 결합한 후 그 정보가 핵 안의 유전자에 전달되어 나타난다. 현재까지

책임저자 : 김성용

330-721 충남 천안시 봉명동 23-20, 순천향대학교 천안병원 외과

Tel: 041-570-2140, Fax: 041-571-0129

E-mail : sykim@schch.co.kr

접수일 : 2008년 1월 14일 게재승인일 : 2008년 6월 9일

*본 논문의 요지는 2007년 Global Breast Cancer Conference에서 poster 발표되었음.

알려진 세포 증식에 관여하는 신호 전달의 경로 중에 상피 성장 인자 수용체(Epidermal growth factor receptors, EGFR)를 만드는 유전자를 자극하여 세포막에 많은 수용체를 분포시켜 더 많은 외부 자극을 수용할 수 있게 하는 단백질로 인간 상피 성장 인자 수용체군(Human epidermal growth factor receptors, HER)이 있으며 이 중에서 HER-2/*neu*가 여기에 속한다. 또 하나는 국소 부착 키나아제(focal adhesion kinase, FAK)를 통하여 외부 정보를 받는 방법으로 이러한 작용을 일으키는데, 이들 중 주된 역할을 하는 것이 integrin이다. 이 integrin은 세포의 기질의 fibrinectin이나 laminin 등과 결합하여 세포 내로 신호를 전달하여 세포의 증식, 분화에 관여한다고 한다. 세포막에는 integrin 수용체와 vinculin, FAK, Prolin-rich Tyrosine Kinase-2 (PYK2), SRC, Crk 등과 같은 단백질들이 모여서 이루어진 국소 부착 단백질(focal adhesion proteins, FAP)들이 분포되어 있다. Paxillin은 이러한 FAP의 한 종류이며 FAP와 integrin이 결합하여 생성된 신호는 세포골격(cytoskeleton)을 이루는 actin과 결합하여 핵으로 전달되어 세포의 증식, 분화 등을 일으키도록 유도하며 성장 인자를 통하여 전달된 신호에 의해서 일어난 세포의 증식, 분화 등과 더불어 세포 주기에 중요한 역할을 하고 있다.(1-6)

유방에서의 paxillin의 양은 정상 조직이나 양성 조직에서는 차이가 없으나 악성 종양에서는 양이 저하되며 분화가 나쁠수록 양은 더 적게 관찰되며 예후와 관계가 깊다고 하였다.(8) 그러나 paxillin의 과발현은 세포의 악성 세포로의 전환에 관계가 있을 수 있지만 예후와는 관계가 없다고 하는 보고도 있다.(9-12) 또한 분열하는 세포에서도 paxillin의 양은 저하된다고 한다.(10)

HER-2/*neu*는 강하게 나타날수록 예후가 좋지 않으며 HER-2/*neu*가 과발현되는 유방암에서는 일반 항암제가 아닌 Trastuzumab (Herceptin[®], Genetech/Roche, San Francisco, USA)이라는 표적 치료 항암제에만 효과가 있는 것으로 되어 있다. 정상 유방에서 HER-2/*neu*는 관상피에 약한 반응을 보인다고 하였으며,(13-15) 증식성 상피에서는 발현이 안 되는 것으로 알려졌다.(16-18) 또한 paxillin과 HER-2/*neu*와의 관계를 보면 HER-2/*neu*가 과발현되는 경우 paxillin도 증가된다고 하였다.(12,16)

이에 저자들은 관상피내암, 관상피내암을 포함한 침윤성 관암, 점액성암에서 면역조직화학적 방법으로 HER-2/*neu*와 paxillin을 염색하여 그 차이를 알아보고자 하였으며 또한 암중 주변의 염증 세포의 침윤 정도에 따른 발현 양상의 차이 및 암중 주변의 정상 유관 상피와 암중에서의 발현 양상의 상관관계도 알아보기 위해 본 연구를 시행하였다.

방 법

1. 실험 재료

순천향대학교 천안병원에서 조직학적 생검 및 수술로 얻어진 유방암 조직 중 13예의 관상피내암, 13예의 관상피내암을 포함하고 있는 침윤성 관암 및 6예의 점액성암을 대상으로 하였다.

염증세포의 침윤은 상피 내에 염증세포의 침윤 정도를 50%를 기준으로 하여 경도(low)와 중증(high)으로만 구분하였다.

관상피내암은 면포형(comedo type), 사상형(cribriform type), 충실형(solid type)과 유두형(papillary type)으로 분류하였으며, 그 중 면포형이 3예, 사상형이 5예, 충실형이 3예, 유두형이 2예였다.

침윤성 관암은 Bloom-Richardson 분류(19)에 따라 3등급(grade)으로 나누는데, 본 실험에서는 같은 등급 간의 비교를 위하여 6-7점에 해당하는 2등급만을 대상으로 하였다.

2. 실험 방법

포르말린에 고정된 파라핀 포매 조직 블록을 4 μ m 두께로 박절하여 Snowcoat X-tra slide (Surgipath, Richmond, USA)에 부착하여 60°C 오븐에 15분간 넣은 후 자일렌으로 실온에서 2분간 4회 반복 처리하여 파라핀을 제거하였다. 100% 알코올로 10초간 3회 처리하여 자일렌을 완전히 제거한 후, 95%, 80%, 70% 알코올을 순서대로 각각 2회씩 처리한 다음 1차 증류수로 함유했다. 항원을 회복시키기 위해 0.01 M의 구연산 완충용액(pH 6.0)에 슬라이드를 넣고 마이크로파 전자렌지에서 20분 동안 처리하여 실온에서 식힌 후 phosphate-buffered saline (PBS)로 5분씩 3회 세척하였다. 그 후 과정은 Bond-X 자동염색기(Leica Biosystems Pty Ltd, Mt Waverley, Australia)로 시행하였으며, 1차 항체는 paxillin (Neomarker, Fremont, USA)을 1:800으로, HER-2/*neu* (DAKO, Glostrup, Denmark)를 1:1,000으로 희석하여 사용하였다. 염색이 끝난 슬라이드는 증류수에 수세 후 95% 알코올에 1분, 100% 알코올에 1분씩 2회씩 처리 후 자일렌으로 1분씩 3회 투명과정을 거친 후 비수용성 봉입체로 봉입하고 광학현미경으로 관찰하였다.

3. 실험 판정

1) HER-2/*neu*

세포막에 갈색으로 염색된 것을 양성으로 판정하였으며 염색 강도에 따라 2명 이상의 병리의사가 HercepTest[™] interpretation manual (Table 1)을 참조하여 score 0-3까지 등급을 정했다.

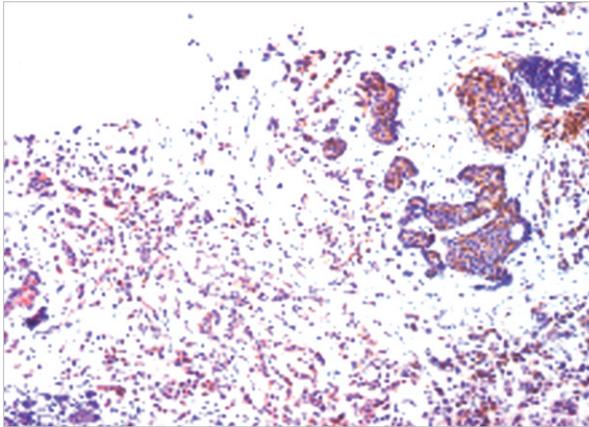


Fig 1. The HER-2/*neu* showed score 3 pattern in solid type DCIS portion and invasive portion ($\times 40$).

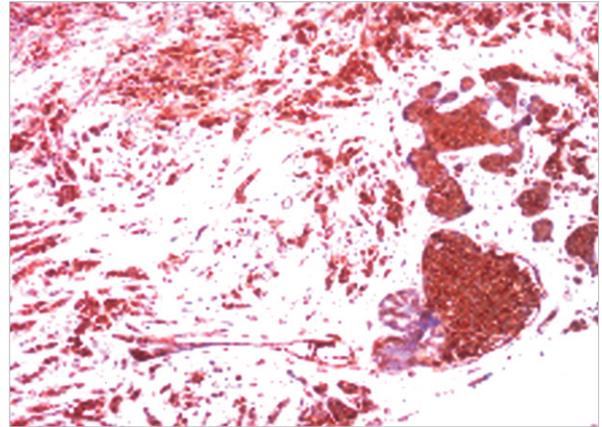


Fig 2. The Paxillin showed score 3 pattern in solid type DCIS portion and invasive portion in area in Fig 1 ($\times 40$).

Table 5. Expression of HER-2/*neu* and paxillin in normal ducts epithelium adjacent to tumor nests

Grade	IDC								Type	DCIS										
	HER-2/ <i>neu</i>				Paxillin					Degree of inflammation			HER-2/ <i>neu</i>				Paxillin			
	0	1	2	3	0	1	2	3		No	Low	High	0	1	2	3	0	1	2	3
2		2	8	3	3		2	8	Comedo			2	2					2		
									Cribriform	2	2		4				3			1
									Solid	2		3	5			1	4			1
									Papillary	2				1	1					2

IDC=infiltrating ductal carcinoma; DCIS=ductal carcinoma *in situ*.

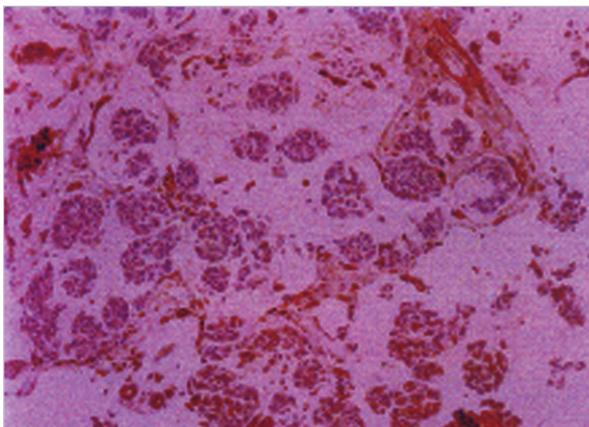


Fig 3. The HER-2/*neu* showed score 0 in mucinous carcinoma ($\times 40$).

p-value가 0.047로 의의가 있었다(Table 3).

관상피내암을 포함하고 있는 침윤성 관암에서 관상피내암 부위에서의 염증 세포의 침윤 정도를 보면 면포형과 충실형에서 5예의 중증의 염증 세포의 침윤이 나타나 관상피내암만 있는 경우와

비슷한 소견을 보였다(Table 4).

침윤성 관암에서 침윤된 부위에서의 HER-2/*neu*의 발현 양상을 보면 3등급은 13예 중 3예를 보여 23.1%의 발현율을 보였으나 관상피내암 부위에서의 3등급은 면포형에서는 2예 중 2예, 사상형에서는 4예 중 1예, 충실형에서는 5예 중 3예, 유두형에서는 2예 중 1예를 차지하여 모두 13예 중 7예로 53.8%를 보여 침윤된 부위에서의 발현 등급과 차이를 보였으나 *p*-value 0.316으로 통계학적으로 침윤된 부위와 관상피내암 부위에서의 유의한 차이는 없었다(Table 4, Fig 1).

Paxillin의 발현 양상을 보면 침윤된 부위에서 3등급은 13예 중 8예를 보였으나 관상피내암 부위에서는 충실형에서 5예 중 3예, 그리고 사상형에서 4예 중 1예를 차지하여 모두 13예 중 4예에서 3등급의 발현 양상을 보여 각각 61.5%와 30.7%로 나타났으나 *p*-value 0.116으로 통계학적인 의의는 없었다(Table 4, Fig 2).

관상피내암만 있는 경우와 침윤성 관암내 관상피내암 부위에서의 발현 양상을 보면 HER-2/*neu*는 3등급이 각각 13예 중 8예와 13예 중 7예를 나타냈고 paxillin의 경우에는 각각 13예 중 6예, 13예 중 4예에서 3등급의 소견을 보이고 있었다.

Table 6. Expression of HER-2/neu and paxillin in mucinous carcinoma and normal ducts epithelium adjacent tumor nests

Grade	HER-2/neu				Paxillin			
	0	1	2	3	0	1	2	3
Mucinous carcinoma	6				6			
Normal duct epithelium	6				6			

암종 주변의 정상 유관 상피에서의 HER-2/neu와 paxillin의 발현 양상을 보면 HER-2/neu는 암세포의 발현 양상과 상관없이 거의 0에서 1등급의 발현 양상을 보였고, paxillin은 관상피내암만 있는 경우와 침윤성 관상피내암 부위가 비슷한 발현 양상을 보였으나, 유두형에서는 암종의 발현 양상과 상관없이 3등급의 강한 발현 양상을 보이고 있었다(Table 5).

점액성암종에서의 HER-2/neu와 paxillin의 발현 양상을 보면 6예 전 예에서 음성 반응을 보였으며(Fig 3), 암종 주변의 정상 유관 상피도 전 예에서 음성 반응을 보였다(Table 6).

고 찰

세포가 외부자극에 의해 수용체가 자극되어 세포 내에 신호를 전달하여 세포를 증식하게 하는 데는 몇 가지의 전달경로들이 있는데, 일반적으로 알려진 바로는 성장인자와 내인성 타이로신 키나아제 수용체(Intrinsic tyrosine kinase receptor)가 결합하여 phosphoinositide 3 (PI3) 키나아제, 분열촉진물질-활성화 단백질(Mitogen-activating protein, MAP) 키나아제, 이노시톨 1, 4, 5 삼인산(IP3) 키나아제 경로들을 통하여 성장인자의 생성을 증가시키거나 성장인자 수용체의 생성을 증가시키는 경우, (20,21) G 단백질 커플수용체(G-protein coupled receptor)와 결합하여 cAMP 경로를 통하여 세포가 증식되는 경우, (22-26) 사이토카인과 내인성 타이로신 키나아제가 없는 수용체가 결합하여 The Janus kinase-signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT)경로를 통하여 세포를 증식하게 하는 경우와(27) 세포외기질이 integrin과 결합하고 이것이 FAP와 결합하여 국소 부착 복합체(Focal adhesion complexes)를 형성하고 세포골격에 있는 actin을 자극하여 세포의 증식을 일으키는 경우 등이 알려져 있다. (28-30)

HER-2/neu는 성장 인자와 내인성 타이로신 키나아제 수용체의 결합 경로를 통한 세포 증식에 관여한다. HER-2/neu는 C-erb-B2라고도 하며 상피 성장 인자 수용체를 만들어내는 유전자를 자극하여 세포의 증식을 증가시킨다. (20,21)

Paxillin은 integrin의 결합 경로를 통한 세포의 증식에 관여하고 있으며, 12번째 염색체 장완의 24부분에 존재하고 68 kDa의 무게를 가지고 있다. (7) 이는 세포외기질의 국소부착(focal adhesions)이라 불리는 곳에 위치하고 있는 단백질로 세포골격단백질(cytoskeletal proteins)이나 타이로신 키나아제, 세린/트레오닌 키나아제, GTPase 활성화 단백질 등에 결합하는 단백질로 작용하여, (3) 신호전달을 통한 세포의 확산이나 운동성에 핵심적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. (2,7) 세포 외에서 발생한 integrin과 성장인자 자극에 의하여 생긴 신호를 paxillin의 인산화과정을 통해 원형질막(plasma membrane)에 축적시켜 이러한 작용을 조절한다. (1) 따라서 paxillin의 양이 저하되면 FAP과 integrin과의 결합이 안 되고 신호 전달이 방해되어 세포의 운동성이 감소한다고 하였다. (8) Paxillin은 혈관 근육, 자궁 근육, 입파구, 대식구에 많이 존재하고, 뇌에는 적게 존재하며 혈소판에는 없는 것으로 알려져 있다. (1) 또한 paxillin의 양이 감소되면 암의 침습성이 증가하는 것과도 연관이 있는 것으로 나타나 있다. 실제로 이전에 연구된 결과에서는 paxillin이 증가된 관상피내암에서는 침습성이 거의 없고, 침윤성 관암에서 paxillin이 높게 발현되는 경우 림프절 전이가 드물다는 주장도 있다. (2)

HER-2/neu는 paxillin의 전사 과정을 증가시키고 또한 인산화과정을 일으키는데 영향을 미치는 것으로 알려져 왔다. 따라서 HER-2/neu가 과발현되는 경우가 HER-2/neu가 발현이 안되는 경우보다 paxillin이 증가된다고 하였다. (12)

본 실험 결과에서 관상피내암의 유형에 따른 염증세포 침윤을 보면 면포형과 충실형에서 중증의 염증세포의 침윤이 관찰되며 사상형과 유두형에서는 염증세포의 침윤이 거의 관찰되지 않았다. 유형에 따른 발현 양상을 보면 면포형, 충실형, 유두형에서 HER-2/neu는 3등급의 강한 반응을 보인 반면 사상형에서는 약한 반응을 보였고 paxillin은 면포형과 충실형에서는 강한 반응을 보인 반면 사상형과 유두형에서는 약한 반응을 보여 관상피내암의 형과 염증세포의 침윤에 따라 반응 양상이 차이가 있었다. 또한 암종 주위의 정상 유관과의 상관관계를 보면 HER-2/neu는 암세포의 발현 양상과 상관없이 거의 1등급 미만의 낮은 발현 양상을 보였으나 paxillin은 암세포의 발현 양상과 유사한 발현 양상을 보였다($p=0.047$). 이는 관상피내암 중에서도 유형 및 염증 침윤 정도에 따라 HER-2/neu와 paxillin의 발현이 차이를 보이고 있음을 알 수 있으며, 주위 정상 유관 상피의 발현 양상은 HER-2/neu는 암세포에서는 강한 반응을 보인 반면 정상 유관 상피에서는 활성화되지 않았음을 알 수 있었다. 따라서 유두형처럼 정상 유관에서 3등급의 강한 발현 양상을 보이는 유관이 악성 세포로 변할 가능성이 높을 것 같은데 왜 유두형에서만 강한 반응을 보이는지는 더 연구를 해봐야 될 것 같다. 그러나 paxillin은

암세포나 정상세포에서 그 기능의 차이를 보이지 않았다.

관상피내암을 포함한 침윤성 관암에서의 염증 침윤 양상을 보면 주로 관상피내암이 있는 부위에서만 침윤이 보였으며, 중증의 염증 세포의 침윤이 면포형과 충실형에서만 관찰되어 관상피내암만 있는 경우와 비슷한 소견을 보였다.

침윤된 암종에서의 HER-2/*neu* 발현 양상을 보면 2-3등급이 13예 중 11예이며 paxillin은 13예 중 10예에서 2-3등급의 발현 양상을 보였다. 관상피내암 부위에서의 HER-2/*neu*의 발현 양상을 보면 관상피내암만 있는 경우와 비슷한 소견을 보였는데 특이할 사항은 3등급의 경우, 침윤된 암종 부위에서는 3예, 관상피내암이 있는 부위에서는 7예로 침윤된 부위보다 관상피내암 부위에서 더 높은 발현양상을 보였으나 통계학적인 유의성이 적어 두 부위에서 발현 양상의 차이를 알 수는 없었지만 만약 차이가 있을 경우 일반적으로 생각하는 관상피내암은 시간이 경과되면 침윤성으로 변한다는 개념에서 관상피내암을 거치지 않고 바로 침윤성 유방암으로 발병하는 것이 아닌가를 조심스럽게 생각해볼 수 있겠다. 실제로 임상에서 관상피내암이 있는 침윤성 관암은 유방 보존술 후 재발률이 더 높은 것으로 알려져 있다.(32) 또한 분화가 나쁠수록 HER-2/*neu*의 발현이 강하게 나타난다(33)는 견해와는 일치되지 않아 이에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 본다.

관상피내암 부위에서의 paxillin의 발현 양상을 보면 관상피내암만 있는 경우보다 약간 낮은 등급의 발현 양상을 보이고 있었으나 유두형에서만 3등급의 높은 발현 양상을 보였다. 암종 주위의 정상 유관에서 발현 양상을 보면 관상피내암만 있는 경우와 비슷하게 HER-2/*neu*는 암세포의 발현 양상과 상관없이 거의 0에서 1등급의 발현 양상을 보인 반면 paxillin은 암세포와 비슷하거나 오히려 더 높은 등급의 발현 양상을 보였다. 이는 HER-2/*neu*나 paxillin은 암세포에서의 발현 양상은 비슷하나 정상 유관 상피에서의 발현은 차이를 나타내, 정상 유관 상피에서 HER-2/*neu*가 강하게 발현되면 암세포로 변할 가능성이 있는 지표로 삼을 수 있으나 paxillin은 그렇지 않음을 보여주었다. 따라서 HER-2/*neu*는 예후 인자로서의 가치가 있으나(34) paxillin은 그 가치에 대해 좀 더 연구를 해봐야 하겠다.

점액성암에서의 HER-2/*neu*와 paxillin의 발현 양상을 보면 전 예에서 0등급의 발현 양상을 보였고 암종 주변의 정상 유관 상피도 암종과 마찬가지로 전 예에서 0등급의 발현 양상을 보였다. 이는 점액성암의 성장에 첫 번째와 네 번째의 경로가 관여하지 않고, 따라서 HER-2/*neu*와 paxillin은 점액성암과는 연관성이 떨어진다고 생각된다. 이는 점액성암을 이루고 있는 암세포의 성장이 다른 형의 유방암에 비해 느리고 비교적 예후가 좋은 것으로 보아(35) 그 기전이 다를 것으로 생각되나 이에 대한 연구는 좀 더 진행되어야 할 것이다.

결론

HER-2/*neu*와 paxillin의 반응 양상 및 반응 정도를 13예의 관상피내암, 13예의 관상피내암을 포함한 침윤성 관암, 6예의 점액성암을 대상으로 면역조직화학적 방법으로 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째, 관상피내암은 염증 세포의 침윤을 동반하는 경우가 많으며 특히 면포형과 충실형에서 침윤이 두드러진다.

둘째, 관상피내암에서 암종 주변의 정상 유관에서 paxillin은 암세포에서의 발현 등급이 높으면 정상 유관에서의 발현 등급도 높아졌다.

셋째, 암종 주변의 정상 유관 상피에서 HER-2/*neu*가 높은 등급의 발현 양상을 보이면 암세포로의 전환 가능성이 높다는 것을 의미한다.

넷째, paxillin은 암세포와 주변 정상 유관상피와 발현 양상이 비슷하여 HER-2/*neu*와 달리 예후적 인자로서 진단적 가치에 대해서는 좀 더 연구를 해봐야 할 것이다.

다섯째, 점액성암의 HER-2/*neu*와 paxillin의 발현 양상은 전 예에서 음성 반응을 보이고 이 암종이 다른 두 암종과는 달리 굉장히 느리게 성장하며 따라서 그 기전이 다르다는 것을 나타내고 있다.

참고문헌

1. Turner CE. Paxillin. *Int J Biochem Cell Biol* 1998;30:955-9.
2. Madan R, Smolkin MB, Cocker R, Fayyad R, Oktay MH. Focal adhesion proteins as markers of malignant transformation and prognostic indicators in breast carcinoma. *Hum Pathol* 2006;37:9-15.
3. Schaller MD. Paxillin: a focal adhesion-associated adaptor protein. *Oncogene* 2001;20:6459-72.
4. Scibelli A, d'Angelo D, Pelagalli A, Tafuri S, Avallone L, Della Morte R, et al. Expression levels of focal adhesion-associated proteins paxillin and p130CAS in canine and feline mammary tumors. *Vet Res* 2003; 34:193-202.
5. Yamaguchi R, Mazaki Y, Hirota K, Hashimoto S, Sabe H. Mitosis specific serine phosphorylation and downregulation of one of the focal adhesion proteins, paxillin. *Oncogene* 1997;15:1753-61.
6. Salgia R, Li JL, Ewaniuk DS, Wang YB, Sattler M, Chen LB, et al. Expression of the focal adhesion protein paxillin in lung cancer and its relation to cell motility. *Oncogene* 1999;18:67-77.
7. Pelagalli A, Scibelli A, Lombardi P, d'Angelo D, Tortora G, Staiano N, et al. Expression of the focal adhesion protein paxillin in normal

- and breast cancer tissues. *Vet Res commun* 2003;27:343-6.
8. Tumer CE. Paxillin: a cytoskeletal target for tyrosine kinases. *Bioessays* 1994;16:47-52.
 9. Cance WG, Harris JE, Iacocca MV, Roche E, Yang X, Chang J, et al. Immunohistochemical analyses of focal adhesion kinase expression in benign and malignant breast and colon tissues: correlation with pre-invasive and invasive phenotypes. *Clin Cancer Res* 2000;6:2417-23.
 10. Oktay MH, Oktay K, Hamele-Bena D, Buyuk A, Koss LG. Focal adhesion kinase as a marker of malignant phenotype in breast and cervical carcinomas. *Hum Pathol* 2003;34:240-5.
 11. Kornberg LJ. Focal adhesion kinase expression in oral cancer. *Head Neck* 1998;20:634-9.
 12. Short SM, Yoder BJ, Tarr SM, Prescott NL, Laniauskas S, Coleman KA, et al. The expression of the cytoskeletal focal adhesion protein paxillin in breast cancer correlates with HER2 overexpression and may help predict response to chemotherapy: a retrospective immunohistochemical study. *Breast J* 2007;13:130-9.
 13. Press MF, Cordon-Cardo C, Slamon DJ. Expression of the HER-2/*neu* proto-oncogene in normal human adult and fetal tissues. *Oncogene* 1990;5:953-62.
 14. Natal PG, Nicotra MR, Bigotti A, Ventura I, Slamon DJ, Fendly BM, et al. Expression of the p185 encoded by HER-2/*neu* oncogene in normal and transformed normal tissue. *Int J Cancer* 1990;45:457-61.
 15. Ratcliffe N, Wells W, Wheeler K, Memoli V. The combination of the in situ hybridization and immunohistochemical analysis: an evaluation of HER-2/*neu* expression in paraffin embedded breast carcinoma and adjacent normal appearing breast epithelium. *Mod Pathol* 1997;10:1247-52.
 16. Allred DC, Clark GM, Molina R, Tandon AK, Schnitt SJ, Gilchrist KW, et al. Overexpression of Her-2/*neu* and its relationship with other prognostic change during the progression of in situ to invasive breast cancer. *Hum Pathol* 1992;23:974-9.
 17. Lodato RF, Maquire HC Jr, Greene MI, Weiner DB, Livolsi VA. Immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 oncogene expression in ductal carcinoma in situ and atypical ductal hyperplasia of the breast. *Mod Pathol* 1990;3:449-54.
 18. De Potter CR, Van Daele S, Van de Vijver MJ, Pauwels C, Maertens G, De Boever J, et al. The expression of the *neu* oncogene product in breast lesions and in normal fetal and adult human tissue. *Histopathology* 1989;15:351-62.
 19. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991;19:403-10.
 20. Chang L, Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature* 2001;410:37-40.
 21. Garrington TP, Johnson GL. Organization and regulation of mitogen-activated protein kinase signalling pathways. *Curr Opin Cell Biol* 1999;11:211-8.
 22. Neves SR, Ram PT, Iyengar R. G protein pathways. *Science* 2002;296:1636-9.
 23. Pierce KL, Premont RT, Lefkowitz RJ. Seven-transmembrane receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:639-50.
 24. Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000;1:11-21.
 25. Bootman MD, Berridge MJ, Roderick HL. Calcium signalling: more messengers more channels, more complexity. *Curr Biol* 2002;12:R563-5.
 26. Farfel Z, Bourne HR, Iiri T. The expanding spectrum of G protein disease. *N Engl J Med* 1999;340:1012-20.
 27. Aaronson DS, Horvath CM. A road map for those who don't know JAK-STAT. *Science* 2002;296:1653-5.
 28. Hynes RO. Integrins: bidirectional Allosteric signalling machine. *Cell* 2002;110:673-87.
 29. Stupack DG, Cheresch DA. Get a ligand, get a life: integrins, signalling and cell survival. *J Cell Sci* 2002;115:3729-38.
 30. Bradshaw AD, Sage EH. SPARC, a matricellular protein that functions in cellular differentiation and tissue response to injury. *J Clin Invest* 2001;107:1049-54.
 31. Pellegrini C, Falleni M, Marchetti A, Cassani B, Miozzo M, Buttitta F, et al. HER-2/*Neu* alterations in non-small cell lung cancer: a comprehensive evaluation by real time reverse transcription-PCR, fluorescence in situ hybridization, and immunohistochemistry. *Clin Cancer Res* 2003;9:3645-52.
 32. Schnitt SJ, Connolly JL, Harris JR, Hellman S, Cohen RB. Pathologic predictors of early local recurrence in Stage I and II breast cancer treated by primary radiation therapy. *Cancer* 1984;53:1049-57.
 33. Wright C, Angus B, Nicholson S, Sainsbury JR, Cairns J, Gullick WJ, et al. Expression of c-erbB-2 oncoprotein: a prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Res* 1989;49:2087-90.
 34. Payne SJ, Bowen RL, Jones JL, Wells CA. Predictive markers in breast cancer--the present. *Histopathology* 2008;52:82-90.
 35. Diab SG, Clark GM, Osborne CK, Libby A, Allred DC, Elledge RM. Tumor characteristics and clinical outcome of tubular and mucinous breast carcinomas. *J Clin Oncol* 1999;17:1442-8.