

유방암 환자에서 예후인자로서 C-erbB-2 단백질발현의 의의

동아대학교 의과대학 외과학교실, 병리학교실*

박기재 · 조세현 · 김영훈 · 정갑중 · 김상순 · 홍숙희*

= Abstract =

The Significance of C-erbB-2 Oncoprotein Expression as a Prognostic Predictor in Human Breast Cancer

Ki Jae Park, M.D., Se Heon Cho, M.D., Young Hoon Kim, M.D.

Ghap Joong Jung, M.D., Sang Soon Kim, M.D. and Sook Hee Hong, M.D.*

Departments of Surgery and Pathology*, Dong-A University College of Medicine, Pusan, Korea

The immunohistochemical staining for the C-erbB-2 oncoprotein was performed on sections from paraffin embedded tissue blocks of 96 primary breast cancer patient who underwent operation in our hospital, in order to evaluate the significances as a prognostic factor in the human breast cancer. We investigated the correlation between traditional prognostic factors-patient age, primary tumor size, axillary lymph node metastasis, pathological grade, hormonal receptors (ER&PR)-and C-erbB-2 oncoprotein overexpression. The overall rates of positive staining of C-erbB-2 oncoprotein was 37.5% (36/96). Statistically, the C-erbB-2 positive staining was not correlated with patient age, primary tumor size, axillary lymph node involvement, hormonal receptors. But the high pathologic grade was correlated with C-erbB-2 oncoprotein overexpression and appeared statistically significant ($p=0.010$). The C-erbB-2 oncoprotein appeared to have prognostic significance in human breast cancer from the result. (Korean J of Breast Cancer 1998;1:69~78)

Key Words: C-erbB-2, Breast cancer

서 론

암 환자의 예후와 치료계획을 설정하는데 있어 예후인자의 평가는 매우 중요하다. 유방암 환자에 있어서도 예외는 아니어서 여러 가지의 예후인자들에 관한 연구가 계속되고 있다. 유방암 환자에 있어 현재까지 전통적으로 알려진 예후 인자로는 액와림프절 전이유무, 종양의 크기, 조직학적 등급 및 호르몬 수용체의 유무 등이 있는데, 최근 진단 기술의 발전과 암에 대한 인식 변화로 조기 유방암의 발견빈도가 증가하고 있다. 보고에 의하면 액와림프절 전이가 없어서 예후가 좋을 것으로 예상됐던 유방암 환자들의 약 30%에서 재발이 되고 있고¹⁻³⁾, 림프절 전이 음성군에서 수술 보조요법이 효과가 있다는 것을 고려하면 예후인자들의 종합적인 평가 및 세분화가 필요하다. 특히 액와림프절 전이가 없는 조기 유방암 환자 중에서 고위험 환자군을 따로 분류하여, 이들에 대한 수술 보조 치료의 유무를 결정할 수 있는 어떤 인자의 필요성을 갖게 되었다. 이에 최근에 활발히 연구되고 있는 것들이 p53, EGFR (Epidermal

mon receptor tyrosine kinase) 등이 있는데, 최근 진단 기술의 발전과 암에 대한 인식 변화로 조기 유방암의 발견빈도가 증가하고 있다. 보고에 의하면 액와림프절 전이가 없어서 예후가 좋을 것으로 예상됐던 유방암 환자들의 약 30%에서 재발이 되고 있고¹⁻³⁾, 림프절 전이 음성군에서 수술 보조요법이 효과가 있다는 것을 고려하면 예후인자들의 종합적인 평가 및 세분화가 필요하다. 특히 액와림프절 전이가 없는 조기 유방암 환자 중에서 고위험 환자군을 따로 분류하여, 이들에 대한 수술 보조 치료의 유무를 결정할 수 있는 어떤 인자의 필요성을 갖게 되었다. 이에 최근에 활발히 연구되고 있는 것들이 p53, EGFR (Epidermal

연락처: 박기재, 602-715, 부산서구 동대신동 3가 1번지
동아대학교 의과대학 외과학교실

Growth Factor Receptor), 호르몬 수용체 (ER/ PR), DNA ploidy, C-erbB-2 (HER-2/neu), ras, Cathepsin-D, v-erbB 등이 있다. 이에 본 연구자는 유방암 조직에서 C-erbB-2의 발현 양상을 면역조직화학적 방법으로 관찰하고 이를 기존의 예후인자들과의 상관 관계를 살펴봄으로서, C-erbB-2의 유방암환자에 있어 예후인자로서의 가치를 평가하고자 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

본 실험에 사용된 연구 대상은 1990년 3월부터 1995년 12월까지 5년 10개월간 동아대학교병원에서 유방암으로 진단 받고 유방절제술을 받은 158예 중 본 연구에 충분한 양의 종양조직이 포함되어 있으면서 파라핀 블록의 보관 상태가 양호하고 또 임상기록의 검토가 가능한 96예를 택하였다.

2. 연구 방법

환자의 임상기록지와 병리보고서로부터 환자의 나이, 종양의 위치, 종양의 크기, 조직학적 분류, 림프절 전이 및 원격 전이 유무, 추적 검사 등을 조사하였다.

1) 병리조직학적 검색

병리조직 검사를 위해 의뢰되었던 유방조직의 육안 및 현미경 소견의 기록을 검토하였다. 유방암종의 조직학적 분류는 WHO 분류를 기준으로 하였으며, 침윤성 관상피암(Infiltrating ductal carcinoma)의 조직학적 등급은 Elston과 Ellis의 modified Bloom and Richardson 법을 사용하여 점수를 제산하여 고분화성, 중등도 분화성, 저분화성 관상암종으로 나누었다(Table 1).

2) 면역조직화학적 염색방법

모든 연구 대상 환자의 유방암 조직의 Hematoxylin-eosin 염색표본을 재검색하고 종양을 대변할 수 있는 가장 대표적인 파라핀 포매 블록 하나를 선택하여 C-erbB-2 단백질의 발현을 Avidin Biotin

Complex (ABC) 법으로 면역조직화학적 염색을 아래와 같이 시행하였다.

C-erbB-2 항단백질은 mouse monoclonal antibody (NCL-CB11, Novocastra Laboratories Ltd., UK)를 50 배 희석하여 사용하였다.

먼저 외과적으로 절제된 유방암 조직을 10% 중성 포르말린용액에 고정하여 파라핀에 포매된 조직을 4 μ m 두께로 잘라 organosilane로 표면처리된 슬라이드에 부착하여 파라핀을 제거한 후 여러단계의 알코올을 거쳐 함수시켰다. 조직을 포르말린에 고정하고 파라핀으로 포매하는 과정에서 감추어졌던 종양조직내 항원 단백질을 노출시키고 회복하여 예민도를 높이기 위하여 전처리과정으로 0.01 M sodium citrate buffer (pH 6.0)에 슬라이드를 담구어 microwave에서 15분간 가열하였다. PBS 완충액으로 씻은 후 3% H₂O₂를 떨어뜨려 5분간 두어 내인성 peroxidase 활동을 저지시킨 후 희석한 일차 항체를 떨어뜨려 습윤 상태에서 40℃ 냉장고 안에서 밤새 반응시킨 후 PBS 완충액으로 5분간 2번 씻었다. 2차 항체인 biotinylated polyvalent antibody로 30분간 반응시켜 PBS 완충액으로 씻은 후 streptavidine peroxi-

Table 1. Summary of semiquantitative method for assessing histological grade in infiltrative ductal carcinoma

Feature	Score
Tubule formation	
Majority of tumour(>75%)	1
Moderate degree(10-75%)	2
Little or none(<10%)	3
Nuclear pleomorphism	
Small, regular uniform cells	1
Moderate increase in size and variability	2
Marked variation	3
Mitotic counts per 10 fields(x400)	
0-5	1
6-10	2
>11	3

Grade I: 3-5 points-well differentiated; Grade II: 6-7 points-moderately differentiated; Grade III: 8-9 points-poorly differentiated.

Table 2. Relationship between clinicopathological factors and C-erbB-2 expression in 96 breast cancers

Factors	C-erbB-2		Total (%)
	Positive	Negative	
Age (mean)	46	48	
Menopausal Status			P=0.750
pre-menopause	21 (35.7)	33 (64.3)	54 (56.3)
post-menopause	15 (38.9)	27 (61.1)	42 (43.7)
Tumor size			P=0.737
T1	7 (33.3)	14 (66.7)	21 (21.9)
T2	22 (37.9)	36 (62.1)	58 (60.4)
T3	5 (35.7)	9 (64.3)	14 (14.6)
T4	2 (66.7)	1 (33.3)	3 (3.1)
Pathologic Grade			P=0.168
Grade I	5 (16.1)	26 (83.9)	31 (32.2)
Grade II	22 (45.8)	26 (54.2)	48 (50.0)
Grade III	9 (52.9)	8 (47.1)	17 (17.7)
Nodal Status			P=0.620
0	19 (42.2)	26 (57.8)	45 (46.9)
1-3	9 (31.0)	20 (69.0)	29 (30.2)
> 4	8 (36.4)	14 (64.6)	22 (22.9)
Recur or Metastasis			P=0.168
(+)	8 (53.3)	7 (46.7)	15 (15.6)
(-)	28 (34.6)	53 (65.4)	81 (84.4)
Total	36 (37.5)	60 (63.5)	96 (100)

dase로 30분간 염색하였다. 다시 PBS 완충액으로 씻고 발색시약(AEC)으로 10분간 염색한 후 물로 세척하고 hematoxylin으로 3분간 대조염색을 한 후 다시 물로 씻고 crystal mount로 봉입하여 현미경으로 검경하였다.

3) 면역조직화학적 염색의 판독

염색된 유방암 조직을 광학현미경에서 관찰하여 세포막을 따라 적갈색 과립으로 염색되면 양성반응으로 판독하였다. 각 종양조직에서 염색되는 종양세포 전부가 염색이 안되거나 종양세포의 5% 미만에서 염색된 종양은 단백질 발현 음성 종양으로 하였고, 5% 이상의 종양세포가 염색되면 염색강도에는 관계없이 모두 단백질 발현 양성 종양으로 하였다.

4) 통계학적 분석

통계는 SAS Window version 6.08을 이용하여 여러 임상 병리학적 인자들, 호르몬 수용체(Estrogen receptor, Progesteron receptor)와 C-erbB-2간의 상관관계를 카이제곱분석, 상관 분석, 분산분석법을 이용하여 처리를 하였다.

결 과

본 실험에 사용된 환자는 전부 96명으로, 대상환자 모두 여자였으며, 전 환자 모두가 절제 생검 혹은 동결 절편 생검으로 확진한 후에 근치적 유방절제술을 시행하였으며, 이중 86예(89.6%)에서 변형적 광범위 유방 절제술을 시행하였고, 광범위 유방절제술

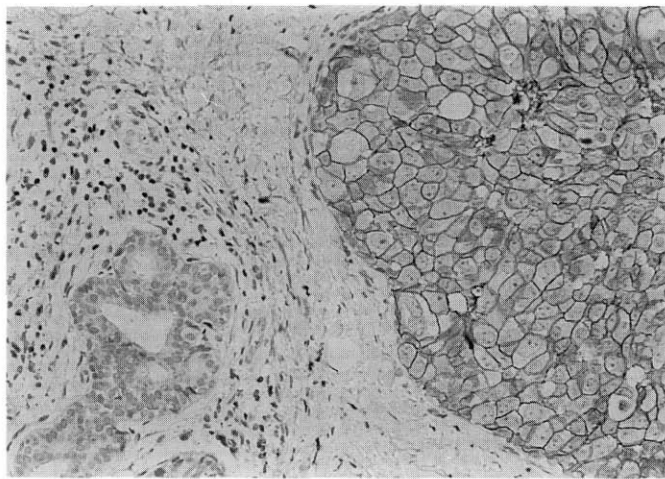


Fig. 1. The immunohistochemical stain for C-erbB-2 shows strong membranous reaction of tumor cells in the left, but the normal breast ducts in the right are negative (ABC stain, $\times 200$).

Table 3. Relationship between hormonal receptors and C-erbB-2 expression

Hormonal receptors	C-erbB-2		Total
	No. of cases(%)		
	Positive	Negative	
ER			P=0.726
(+)	14 (35.0)	26 (65.0)	40
(-)	14 (38.9)	22 (61.1)	36
PR			P=0.667
(+)	20 (38.5)	32 (61.5)	52
(-)	8 (33.3)	16 (66.7)	24
Total	36 (47.3)	40 (52.7)	76

P=0.726

P=0.667

Table 4. Relationship between DNA ploidy and c-erbB-2 expression

C-erbB-2			
DNA Ploidy	No. of cases(%)		Total
	Positive	Negative	
Aneuploidy	6 (75.0)	6 (46.1)	12
Diploidy	2 (25.0)	7 (53.9)	9
Total	8 (100)	13 (100)	

이 5예(5.2%), 유방보존술식이 5예(5.2%)였다. 조직학적 검사상 침윤성 관상피암종이 대부분(92예, 96.8%)을 지하였고, 수질성암종이 2예(2%), 점액성암종, 소엽암종이 각 1예(0.6%)씩 이었다. 전체 96예 중 C-erbB-2 양성반응은 36예에서 나타나, 37.5%의 양성률을 보였다.

대상군 환자의 나이는 27세부터 67세까지였으며 평균나이는 C-erbB-2 양성 반응을 보인 유방암 환자군은 46세였고, 음성군은 48세로 보여 나이에 따른 C-erbB-2 양성 빈도의 차이는 보이지 않았다. 그리고 42명(43.7%)이 폐경 후 환자였고, 54명(56.3%)이 폐경 전 환자였으며, 이들 군에서 C-erbB-2 발현과 폐경여부와는 통계적으로 유의한 상관관계를 보여 주지는 못하였다($p=0.750$).

종양의 크기를 TNM stage의 T stage에 따라 원발 병소의 크기를 구분지어 C-erbB-2 발현과 상관성을 조사하였다. T1, T2, T3, T4 각각에서 C-erbB-2 양성 반응은 33.3% (7/21), 37.9% (22/58), 35.7% (5/14), 66.6% (2/3)로 나타나, 종양의 크기가 커지면서 양성률이 높아지는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다($p=0.737$).

종양의 조직학적 등급에 따른 C-erbB-2 양성률을 보면 고분화성 암종 31예 중 5예(16.1%), 중등도 분화성암 8예 중 22예(45.8%), 저 분화성암종 17예 중

Table 5. Relationship between S-phase fraction and C-erbB-2 expression

S-phase fraction	C-erbB-2		Total
	No. of cases (%)		
	Positive	Negative	
High	1 (12.5)	9 (69.2)	12
Low	7 (87.5)	4 (30.8)	9
Total	8 (100)	13 (100)	

9예(52.9%)에서 었다($p=0.010$).

림프절 전이와 C-erbB-2사이의 대부분의 보고들이 서로 상이한 결과를 보이는데, 본 연구에서는 림프절 전이를 3군(림프절 전이가 없는 군, 1개 이상이고 3개 이하에서 전이가 있는 군, 그리고 4개 이상에서 전이를 보이는 군)으로 대별하여 C-erbB-2 양성률을 비교한 결과 이들 각 군에서 42% (19/45), 31% (9/29), 36% (8/22)으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없었다($p=0.620$).

전체 96명의 환자를 추적 관찰한 결과 재발 혹은 전이된 경우가 15예가 있었는데, C-erbB-2 음성군은 60예 중 7예(11.7%)에서 재발 혹은 전이가 있었고, C-erbB-2 양성군은 36예 중 8예(22.2%)에서 재발 혹은 전이가 있어 C-erbB-2 양성군에서 음성군보다 재발률이 2배 정도 높게 나타났지만 통계학적으로 유의한 차이를 보여주지는 못하였다($p=0.168$).

호르몬 수용체에 관한 조사는 96예 중 76명에서 행해졌으며 이들에게서 C-erbB-2 발현과의 상관관계를 조사하였다. 예후가 나쁠 것으로 예상되는 에스트로겐 수용체 음성인 환자 36예 중 14예(38%)에서 C-erbB-2 양성반응을 에스트로겐 수용체 양성환자 40예 중 14예(35%)에서 C-erbB-2 양성반응을 보여 C-erbB-2 발현이 에스트로겐 수용체 음성군에서 약간 더 높았으나 통계학적으로 유의한 차이를 보여주지는 못했다($p=0.726$). 프로게스테론 수용체 유무와 C-erbB-2 발현과의 상관관계에 대한 조사에서도 유의있는 결과는 나오지 않았다($p=0.667$).

본 연구대상 환자 중 21예에서 DNA ploidy를 조사하였는데 이수배수체(Aneuploidy)는 C-erbB-2 양성군 8예 중 6예(75%)에서 그리고 C-erbB-2 음성군

13예 중 6예(46.1%)에서 나타나 C-erbB-2 양성군에서 이수배수체의 빈도가 높았으나 증례가 너무 작은 관계로 통계적 유의성을 찾을 수 없었다. 그리고 S-phase fraction(이하 SPF)를 이수배수체에서는 14% 이상을, 이배체(Diploidy)에서는 7% 이상을 High SPF으로 정하여¹¹⁾, SPF와 C-erbB-2와의 상관관계를 조사하였는데 C-erbB-2 양성군에서 high SPF가 1예(12.5%)이고, erbB-2 음성군에서는 오히려 9예(69.2%)에서 나타났다.

고 안

암발생에 관여하는 여러 요인 중 암유전자의 역할이 매우 중요하다. 유방암에서도 예외는 아니어서 1980년대에 ras 유전자 돌연변이가 보고되고, 1985년에 King 등¹³⁾이 HER/neu 유전자를 유방암 환자에서 발견하였다. 이어 1987년 Slamon 등¹⁴⁾이 189명의 유방암 환자들을 대상으로 연구한 보고에서 C-erbB-2 암유전자의 증폭(Amplification)이 있는 군에서 10년 생존률은 41%이고, 증폭이 없는 군에서는 76%로 예후에 큰 차이를 보인다고 하여 C-erbB-2의 증폭이 예후에 나쁜요소가 된다는 최초의 임상 연구 결과를 보고하였다. C-erbB-2 (HER-2/neu) 암유전자는 정상 세포에서는 단일 복제(single copy)형태로 있고, 17번 염색체의 q21에 위치하고 있으며, 쥐에서 ethylnitrosourea로 유도된 신경모세포종(Neuroblastoma)에서 처음으로 발견되어 neu^{15,16)}로 명명하였다. C-erbB-2는 p185로 알려진 185 kD의 막통과 당단백의 벽(transmembraneglycoprotein)이 암호화(coding)되어 있고, 이 p185의 세포내 성분(intracellular component)은 tyrosine kinase 활성(activity)을 가지고 있기 때문에 세포내 성분은 40%, 그리고 세포외 성분은 85%에서 EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor, C-erbB-1, HER-1)과 구조적 상동성을 가진다^{17,18)}. 유방암에서 C-erbB-2의 증폭 혹은 과발현(overexpression)의 원인 및 기전이 분명히 규명되지는 않았지만, 쥐의 neu 원종양 유전자(proto-oncogene)는 단일점에서의 돌연변이에 의해 증폭 혹은 과발현이 되는 것을 관찰할 수 있다¹⁹⁾. 그러나 인체에서는 단일유전자 돌연변이가 발견되지 않았으

며, C-erbB-2가 어떻게 정상 세포 혹은 암세포의 성장을 변경시키는지에 대해서는 분명하지는 않다. 그러나 C-erbB-2가 EGFR과 구조적으로 유사하기 때문에 C-erbB-2 암유전자도 유사한 기능을 가질 것으로 생각된다. EGFR은 표피성장인자와 결합하여 세포의 증식과 분화에 관여하고, 또한 유방암의 예후 인자로서도 대두되고 있으며, EGFR 양성인 유방암 환자에 있어 대조군보다 예후가 나쁜 것으로 보고되고 있다²⁰⁾. C-erbB-2의 증폭과 p185의 과발현에 관한 연구보고는 매우 많다. p185 암단백의 과발현은 다양한 단계의 DNA증폭을 반영하는데, 일부에서는 p185의 과발현이 없이도 DNA증폭이 있을 수 있으며, 어떤 경우 반대로 p185단백의 과발현이 있는데 C-erbB-2 유전자의 증폭이 관찰되지 않기도 한다. 이는 C-erbB-2의 과발현에는 여러 가지의 기전이 있음을 시사한다.

C-erbB-2는 유방암 환자의 약 20-40%에서 과발현되는 것으로 보고되고 있다. 일반적으로 C-erbB-2는 유방암의 모든 병기에서 관찰되고, 원발병소 뿐만 아니라 전이부위에서도 발견되고²¹⁾, 침윤성 관상 피암종에서는 14-21%에서, 고등급(high grade)의 관상피 내암종(Ductal carcinoma in situ)은 42-61%에서 C-erbB-2 과발현이 있음이 보고된 바 관상피 내암종에서 과발현 빈도가 높은 것으로 보고²²⁻²⁵⁾ 되고 있지만 조기 유방암에서 과발현되는 이유는 아직 명확히 규명되지 않고 있다. 이는 종양의 진행과정의 초기에 과발현 된다는 것을 짐작할 수 있게 한다. Allred 등은 C-erbB-2의 활성화는 암의 진행보다는 개시 단계(initiation)에 중요한 역할을 한다고 하였다²²⁾. 그러나 관상피 내암종(Ductal carcinoma in situ, 이하DCIS)으로의 진행이 가능한 비정형적 관상피 (Atypical duct hyperplasia)에서는 C-erbB-2의 과발현은 보이지 않는다²⁵⁾. 면역조직화학적 연구에서는 높은 조직학적 등급(comedo or large cell pattern) 관상피 내암종에서 이 암단백의 과발현이 관계 있지만, 낮은등급(ciribriform, micropapillary or small cell subtypes)의 관상피 내암종에서는 과발현은 드물다고 한다^{22,26-28)}. 유방암 중 침윤성 소엽암종에서는 C-erbB-2의 출현은 아주 드물며, Porter 등은 소엽암종의 생성에 C-erbB-2는 중요한 역할을 하지 않는다

²⁹⁾고 하였고, 본 연구에서도 소엽암종이 1예가 있었는데 역시 C-erbB-2음성을 보였다.

그리고 C-erbB-2와 S상 분획(S-phase fraction)과의 상관관계에 대해서도 연구되고 있는데, Poller 등³⁰⁾은 C-erbB-2 과발현과 S상 분획, 증식지수(proliferative index) 사이의 연구에서 관상피 내암종에서는 의미있는 상관관계가 있고, 침윤성 암종에서는 약한 연관성을 보인다고 하였다. O'Reilly 등³¹⁾, Barnes 등³²⁾, Borg 등³³⁾도 이와 유사한 보고를 하여 C-erbB-2의 과발현이 있으면 세포의 크기가 큰 경우, 증식률이 높은 경우 등의 유방암의 형태학적 면역표현형(morphological immunophenotype)과 연관이 많다는 것을 시사한다. p185^{erbB-2}단백은 erbB-2 암유전자에 의해 변형된 악성 표현형이 유지되는데 필수적이다. 그리고 이것은 여러 가지 선암 난소암³⁴⁾, 폐의 비소세포 선암³⁵⁾, 갑상선 유두종³⁶⁾, 이하선 선암³⁷⁾, 위 선암³⁸⁾, 결직장 선암³⁹⁾, 간세포암, 담관암⁴⁰⁾, 췌장 선암 등에서도 발견되고 이의 과발현은 예후 불량 인자로 보고되어 있다. 그리고 p185^{erbB-2}의 과표현은 Cis-platinum같은 항암제, 종양 괴사 인자(Tumor necrosis factor)⁴²⁾, NK 세포나 타목시펜(Tamoxifen)⁴¹⁾ 등의 세포독성기전(Cytotoxic mechanism)에 저항성을 가지는 것과도 연관성이 있다고 한다. 에스트로겐 수용체유무는 예후판정 및 폐경기 환자의 수술 보조 치료의 방법으로 타목시펜의 사용 여부를 결정하는데 중요한 역할을 하는데, ER (+) 환자에서 타목시펜에 대한 반응도는 C-erbB-2가 과발현된 그룹에서는 50%에서 17%로 현저히 떨어진다는 임상보고가 있다⁴¹⁾.

C-erbB-2 암단백의 과발현과 예후인자들, 즉 연령, 종양의 크기, 조직학적 등급, 액와 림프절 전이 및 DNA ploidy들과의 상관관계를 연구한 보고서는 많다. 각 보고에 따르면 환자 연령과의 상관관계는 불명확하였고, 종양의 크기와 림프절 전이와의 C-erbB-2발현 사이에는 각 보고마다 차이가 있어서, 대부분의 보고는 상관관계가 없다고 하지만^{7,10,47)}, 그렇지 않다는 그룹들도 있다^{33,46,48)}. 본 연구에서는 환자의 나이, 폐경 유무, 종양의 크기, 림프절 전이 정도, 호르몬 수용체와 C-erbB-2양성률과의 유의한 상관관계는 찾을 수 없었다. 본 연구는 최근에 수술

을 받은 환자들의 추적 조사기간이 극히 짧다는 점을 고려한다면, 재발률의 차이와 C-erbB-2 사이의 상관관계에 대해서 결과를 확정적으로 이야기할 수는 없을 것 같다. 본 조사에서는 C-erbB-2 양성군에서 high SPF율이 낮아서 Ciocca¹²⁾ 등의 결과와는 상반되게 나왔다.

조직학적 등급과 C-erbB-2 발현과의 관계도 보고에 따라 차이를 보이는데, 대부분의 보고들은 등급이 불량한 군에서 C-erbB-2 발현율이 높다고 하였다. Berger 등⁴⁾은 조직의 분화도가 낮을수록, 즉 조직학적 등급(pathological grade)이 높을수록 C-erbB-2의 양성률이 높아진다고 하였고, 대부분의 보고⁵⁻¹⁰⁾에서도 유사한 결과를 보인다. Tsuda 등은 다변량 분석에서 조직학적 등급이 종양의 크기나 액와림프절로의 전이와는 상관없는 독립적인 예후인자가 된다고 하였다^{43,44)}. Berger 등은 조직학적 등급과 C-erbB-2 양성률간의 통계적 유의성이 높다고 하였고⁴⁾, 그 외 Wright 등¹⁰⁾, Paik 등⁶⁾, Marx 등⁷⁾, Garcia 등⁸⁾, Lovekin 등⁹⁾ 및 Fontaine 등⁵⁾도 유사한 결과를 얻어 이는 본 연구 결과의 유방암 세포의 분화도가 안 좋을수록 C-erbB-2 양성률이 높다는 사실과 일치한다. 반면, van der Vijver 등²¹⁾은 핵분화도와 C-erbB-2 양성률과는 관련이 없다고 하였고, McCann 등은 in situ 성분이 많은 침윤성 관상피암종에서 C-erbB-2의 양성률이 높다고 하였다⁴⁵⁾.

기존의 많은 연구에서도 고전적 예후인자들과 C-erbB-2간의 상관관계에 관해서는 일치되는 소견을 제시하지 못하고 있다. 이는 조직의 보관 상태, 기술적인 차이, 그리고 C-erbB-2 검사 방법들의 채택, 그리고 양성 판정에 있어 주관적인 판정의 개입 등이 차이를 보여주는 것 같다. 이러한 결과들의 차이를 극복하기 위해서는 C-erbB-2의 객관적 양성 판단 기준과 예후인자들간의 전향적이고 장기적인 추적조사가 필요하겠다. 그리고 수술 보존적 치료방법의 설정에 있어 현재까지 임상 및 병리학적 기준 뿐 아니라 C-erbB-2를 동시에 적용할 수 있게 하기 위해서는, 보다 더 많은 증례의 추적과 지속적인 추적조사가 필요하리라 생각된다. 나아가서 DNA polidy의 상태 등과 연관성을 더 세밀히 조사한다면 치료 대상의 설정에 있어서 세분화가 가능하고, 환자의

예후를 결정하는데 있어 도움이 될 수 있으리라 사료된다.

결론

유방암 조직에서 C-erbB-2 종양단백에 대한 면역조직화학적 염색 결과 96예 중 36명(37.5%)에서 양성반응을 보였다. 유방암의 기존 예후인자들과 상관관계의 분석에서, C-erbB-2는 폐경유무, 원발 병소의 크기, 림프절 전이와의 통계적 유의성은 없었다. 그러나 병리학적 분화도와는 통계적으로 유의한 상관관계를 보여, 암 세포의 분화도가 낮을수록 C-erbB-2의 양성률이 높았다($p=0.010$). 추적 조사에 의한 유방암의 재발 혹은 전이와의 상관관계에 대한 조사에서는 C-erbB-2가 양성인 경우(22.2%)가 음성인군(11.6%)보다 재발률이 2배 정도 높게 나타났지만 통계적으로 유의한 차이를 보여주지는 않았다. 호르몬 수용체와의 상관관계에 있어서 C-erbB-2 발현률과 연관성을 보이지 않았다. 본 연구에서 관찰된 이상의 결과를 종합하면 C-erbB-2가 유방암 환자의 예후 추정에 있어서 종양의 조직학적 등급과 깊은 상관관계를 보이고 있어 예후인자로서의 의의를 가지는 것으로 조사되었다. 앞으로 계속적인 환자들의 추적 조사 및 전향적 연구가 계속된다면 유방암의 조직학적 등급과 기존의 알려진 몇가지 예후인자와의 상관관계를 자세히 규명할 수 있을 것으로 사료된다.

참고 문헌

- 1) Elledge RM, McGuire WL, Osborne CK: Prognostic factors in breast cancer. *Semin Oncol* 19(3):244, 1992
- 2) Page DL: Prognosis and breast cancer: recognition of lethal and favorable prognostic types. *The Am J Surg Pathol* 15(4):334, 1991
- 3) Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, et al: Factors influencing survival and prognosis in early breast cancer (T1N0M0-T1N1M0): assessment of 644 patients with median follow-up of 18years.

- SCNA 70(4):937, 1990
- 4) Berger MS, Locher GW, Saurer S, Gullick WJ, et al: Correlation of C-erbB-2 gene amplification and protein expression in human breast carcinoma with nodal status and nuclear grading. *Cancer Res* 48(5): 1238, 1988
- 5) Fontaine J, Tesseraux M, Kline V, Bastert G, et al: Gene amplification and expression of the neu (c-erbB-2) sequence in human mammary carcinoma. *Oncology* 45(5):360, 1988
- 6) Paik S, Hazan R, Fisher ER, Sass RE, et al: Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project: prognostic significance of c-erbB-2 protein overexpression in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 8(1):112, 1990
- 7) Marx D, Schauer A, Reiche C, May A, et al: C-erbB-2 expression in correlation to other biological parameters of breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 116(1):15, 1990
- 8) Garcia I, Dietrich PY, Aapro M, Vanthier G, et al: Genetic alterations of c-myc, c-erbB-2, and c-Ha-ras proto-oncogenes and clinical association in human breast carcinomas. *Cancer Res*. 49(23):6675, 1989
- 9) Lovekin C, Ellis IO, Locker A, Robertson JF, et al: C-erbB-2 oncoprotein expression in primary and advanced breast cancer. *Br J Cancer* 63(3):439, 1991
- 10) Wright C, Angus B, Nicholson S, Sainsbury JR, et al: Expression of c-erbB-2 oncoprotein: a prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Res* 49(8):2087, 1989
- 11) Kallioniemi OP, Blanco G, Alavaikko M, Hietanen T, et al: Improving the prognostic value of DNA flow cytometry in breast cancer by combining DNA index and S-phase fraction. A proposed classification of DNA histograms in breast cancer *Cancer* 62(10): 2183, 1988
- 12) Ciocca DR, Fujimura EK, Tandon AK, Clark GM, et al: Correlation of HER-2/neu amplification with expression and with other prognostic factors in 1103 breast cancer *JNCI* 84(16):1279, 1992
- 13) King CR, Krøner MH, Aaronson SA: Amplification of a novel v-erbB-related gene in a human mammary carcinoma. *Science* 229(4717):974, 1985
- 14) Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, et al: Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235(4785):177, 1987
- 15) Schechter AL, Stern DF, Vaidyanathan L, Decker SJ, et al: The neu oncogene: an erbB-related gene encoding a 185,000-Mr tumour antigen. *Nature* 312(5994):513, 1984
- 16) Shih C, Padhy LC, Murray M, Weinberg RA, et al: Transforming genes of carcinomas and neuroblastomas introduced into mouse fibroblast. *Nature* 290(5803):261, 1981
- 17) Coussens L, Yang-Feng TL, Liao Y-C, Chen E, et al: Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shared chromosomal location with neu oncogene. *Science* 230(4730):1132, 1985
- 18) Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, Semba K, et al: Similarity of protein encoded by the human c-erbB-2 gene to the epidermal growth factor receptor. *Nature* 319(6050):230, 1986
- 19) Bargmann CI, Weinberg RA: Oncogenic activation of the neu-encoded receptor protein by point mutation and deletion. *EMBO* 7(7):2043(1988)
- 20) Sainsbury JR, Farndon JR, Needham GK, Malcolm AJ, et al: Epidermal growth factor receptor status as predictor of early recurrence of and death from breast cancer. *Lancet* 1(8547):1398, 1987
- 21) Van de Vijver MJ, Peterse JL, Mooi WJ, Wisman P, et al: Neu-protein overexpression in breast cancer: association with comedo-type ductal carcinoma in situ and limited prognostic value in stage II breast cancer. *N Engl J Med* 319(19):1239, 1988
- 22) Allred DC, Clark GM, Molina R, Tandon AK, et al: Overexpression of HER-2/neu and its relationship with other prognostic factors change during the progression of in situ to invasive breast cancer. *Hum Pathol* 23(9): 974, 1992
- 23) Allred DC, Clark GM, Tandon AK, Molina R, et al: HER-2/neu in node-negative breast cancer: prognostic significance of overexpression influenced by the presence of in situ carcinoma. *J Clin Oncol* 10(4):

- 599, 1992
- 24) Maguire HC Jr, Hellman ME, Greene MI, Yeh I, et al: Expression of c-erbB-2 in situ and in adjacent invasive ductal adenocarcinomas of the female breast. *Pathobiology* 60(3):117, 1992
- 25) Lodato RF, Maguire HC Jr, Greene MI, Weiner DB et, al: Immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 oncogene expressions in ductal carcinoma in situ and atypical ductal hyperplasia of the breast. *Mod Pathol* 3(4):449, 1990
- 26) Bartkova J, Barnes DM, Millis RR, Gullick WWJ: Immunohistochemical demonstration of c-erbB-2 protein in mammary ductal carcinoma in situ. *Hum Pathol* 21(11):1164, 1990
- 27) Gusterson BA, Machin LG, Gullick WJ, Gibbs NM, et al: C-erbB-2 expression in benign and malignant breast disease. *Br J Cancer* 58(4):453, 1988
- 28) Press MF: Oncogene amplification and expression. Importance of methodologic considerations. *Am J Clin Pathol* 94(2):240, 1990
- 29) Porter PL, Garcia R, Moe R, Corwin DJ, et al: C-erbB-2 Oncogene protein in situ and invasive lobular breast neoplasia. *Cancer* 68(2):331, 1991
- 30) Poller DN, Galea M, Pearson D, Bell J, et al: Nuclear and flow cytometric characteristics associated with overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein in breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 20(1): 3, 1991
- 31) O'Reilly SM, Barnes DM, Compejohn RS, Bartkova J, et al: The relationship between c-erbB-2 expression, S-phase fraction and prognosis in breast cancer. *Br J Cancer* 63(3):444, 1991
- 32) Barnes DM, Bartkova J, Compejohn RS, Gullick WJ, et al: Overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein: why does this occur more frequently in ductal carcinoma in situ than in invasive mammary carcinoma and is this of prognostic significance ? *Eur J Cancer* 28(2-3):644, 1992
- 33) Borg A, Baldetoni B, Ferno M, Killander D, et al: ERBB2 amplification in breast cancer with a high rate of proliferation. *Oncogene* 6(1):137, 1991
- 34) Berchuck A, Kamel A, Whitaker R, Kerns B, et al: Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 50(13):4087, 1990
- 35) Kern JA, Schwartz DA, Nordberg JE, Weiner DB, et al: 185neu expression in human lung adenocarcinomas predicts shortened survival. *Cancer Res* 50(16): 5184, 1990
- 36) Aasland R, Lillehaug JR, Male R, Josendal O, et al: Expression of oncogenes in thyroid tumours: Coexpression of c-erbB-2 and c-erbB. *Br J Cancer* 57(4): 358, 1988
- 37) Semba K, Kamata N, Toyoshima K, Yamamoto T, et al: A v-erbB-related protooncogene, c-erbB-2 is distinct from the c-erbB-1/EGF receptor gene and is amplified in a human salivary gland adenocarcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 82(19):6497, 1985
- 38) Falck VG, Gullick WJ: C-erbB-2 oncogene product staining in gastric adenocarcinoma. An immunohistochemical study. *J Pathol* 159(2):107, 1989
- 39) McCann A, Dervan PA, Johnston PA, Gullick WJ, et al: C-erbB-2 oncoprotein expression in primary human tumours. *Cancer* 65(1):88, 1990
- 40) Voravud N, Foster CS, Gilbertson JA, Sikora K, et al: Oncogene expression in cholangiocarcinoma and in normal hepatic development. *Hum Pathol* 20(12): 1163, 1989
- 41) Nicholson S, Wright C, Sainbury RC, Halcrow P, et al: Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a marker for poor prognosis in node-negative breast cancer patients: neu and tamoxifen failure. *J Steroid Biochem Molec Biol* 37(6):811, 1990
- 42) Hudziak RM, Schlessinger J, Ullrich A: Increased expression of the putative growth factor receptor p185(HER2) causes transformation and tumorigenesis of NIH 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:7159, 1987
- 43) Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y, Hirota T, et al: Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of c-erbB-2 gene in breast carcinoma. *Cancer* 65(8):1794, 1990
- 44) Tsuda H, Tsugane S, Fukutomi T, Nanasawa T, et al: Prognostic factors for recurrent breast cancer:

- univariate and multivariate analyses including histologic grade and amplification of the C-erbB-2 proto-oncogene. *Jpn J Clin Oncol* 22(4):244, 1992
- 45) MaCann AH, Dervan PA, O'Regan M, Codd MB, et al: Prognostic significance of c-erbB-2 and estrogen receptor status in human breast cancer *Cancer Res* 51(12):3296, 1991
- 46) Borg A, Tandon AK, Sigurdsson H, Clark GM, et al: HER-2/neu amplification predicts poor survival in node-positive breast cancer. *Cancer Res* 50(14):4332, 1990
- 47) Battifora H, Gaffey M, Esteban J, Mehta P, et al: Immunohistochemical assay of neu/c-erbB-2 oncogene product in paraffin-embedded tissue in early breast cancer: retrospective follow-up study of 245 stage I and II cases. *Mod Pathol* 4(4):466, 1991
- 48) Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Ullrich A, et al: HER-2/neu oncogene protein and prognosis in breast cancer *J Clin Oncol* 7(8):1120, 1989
-