

## 화학요법을 받은 유방암 환자의 치료실패 인자로서 종양 내 Topoisomerase II $\alpha$ 효소, c-erbB-2 단백, P-glycoprotein 발현에 대한 연구

전남대학교 의과대학 외과학교실<sup>1</sup>, 병리학교실<sup>2</sup>

김우혁<sup>1</sup> · 윤정환<sup>1</sup> · 제갈영종<sup>1</sup> · 박창수<sup>2</sup>

= Abstract =

### A Study for Tumoric Topoisomerase II $\alpha$ enzyme, c-erbB-2 oncoprotein, and P-glycoprotein Expression as an Indicator of Therapeutic Failure in Breast Cancer Patients Received Chemotherapy

Woo-Hyeok Kim, M.D.<sup>1</sup>, Jung-han Yoon, M.D.<sup>1</sup>,  
Young-jong Jaegal, M.D.<sup>1</sup> and Chang-soo Park, M.D.<sup>2</sup>

*Departments of Surgery<sup>1</sup> and Pathology<sup>2</sup>, Chonnam Medical School, Kwang-Ju, Korea*

It is desirable to identify the tumoric factors anticipating the therapeutic failure in breast cancer patients received postoperative adjuvant chemotherapy. So, we studied the tumoric topoisomerase II $\alpha$  enzyme, c-erbB-2 oncoprotein, and Pgp expression in breast cancer tissues to identify the roles of these factors as the predictors of chemotherapeutic result. The results were as follows. 1) There were no significant differences in the average value of topoisomerase II $\alpha$  enzyme, c-erbB-2 oncoprotein overexpression, and Pgp expression according to stages. 2) CAF chemotherapy was suggested to be more effective than CMF chemotherapy in more advanced stages. 3) There was a possible suggestion that the breast cancer with high topoisomerase II $\alpha$  enzyme activity might indicate the failure with CMF chemotherapy. 4) C-erbB-2 oncoprotein overexpression suggested the possibility of therapeutic failure with CMF chemotherapy and the selection of CAF chemotherapy might improve the survival of advanced breast cancer patients with c-erbB-2 overexpression. In conclusion, it was suggested that c-erbB-2 oncoprotein overexpression and high topoisomerase II $\alpha$  activity might have a meaningful role in the selection of proper chemotherapeutic regimen in setting of adjuvant chemotherapy and predict the therapeutic failure of some chemotherapeutic agents for breast cancer. An expanded study for these factors is required to reveal the clinical significance in chemotherapy for breast cancer patients (*Journal of Korean Breast Cancer Society* 1999;2:211~220)

**Key Words:** Breast cancer, Chemotherapy, Topoisomerase II $\alpha$ , Pgp, c-erbB-2

## 서 론

유방암은 인체에서 발생하는 고형암 중 화학요법에 가장 좋은 반응을 보이는 악성종양 중의 하나로서 최근 들어서 초기 병기의 유방암 환자들에게까지 화학요법의 적응군이 확대되고 있는 추세이지만 임상적으로 화학요법에 대한 개개인의 반응도가 다양하고 아직까지는 치료 전에 미리 효과를 예측하여 적절한 치료대상군과 치료방법을 결정한다는 것이 극히 어렵다. 사실, 화학요법의 치료효과를 극대화하기 위해서는 원발종양에서 약제내성 여부를 확인하고 각종 화학요법에 대한 반응도를 예측하여 가장 적절한 치료방법을 선택할수 있는 인자들의 확인이야말로 중요한 일이 아닐 수 없다.

지금까지 많은 인자들이 이러한 목적에 부합되는 지를 검증 받아 왔지만 아직도 임상적으로 의의가 확실하고 유용한 인자는 확인되지 못하고 있으며 종양의 크기, 림프절전이여부, 조직학적 등급, 호르몬 수용체 유무, 종양 DNA함량, 세포종식력, 종양유전자 발현 등, 몇 가지 인자들이 단지 가능한 치료예측 및 예후인자로서 소개되고 있는 정도이다<sup>1-5)</sup>.

그러나 통상적인 이러한 예후인자들과 보조화학요법에 대한 반응도와의 연관성은 분명치 않으며<sup>6-8)</sup> 종양진행에 관여하는 인자들의 역할과 약제내성에 관여하는 인자들은 별개일 것이라는 주장도 있다<sup>9)</sup>.

P-glycoprotein (Pgp), c-erbB-2, Topoisomerase II enzymes 역시 유방암 환자들에서 예후인자로서뿐만 아니라 유방암에 사용되고 있는 각종 화학요법제들의 약제내성과도 일부 관련되어 있다고 보고되고 있으나 실제 임상적으로 화학요법 실패와 어떠한 연관성을 가지고 있는지에 대하여는 의견이 분분하다.

따라서 저자들은 유방암환자에서 술후 화학요법제를 선택함에 있어 실제 임상적으로 도움을 받을 수 있는 종양인자나 임상적 특성인자를 확인하기 위하여 Topoisomerase II $\alpha$  효소(Topo II $\alpha$ ) c-erbB-2, Pgp를 포함하여 활용 가능한 몇 가지 인자들을 관찰하여 보다 효과적인 술후 화학요법제를 선택함에 있어 어떠한 도움을 받을 수 있는지 확인하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

전남대학교병원 외과에서 유방암의 진단을 받고 근치적 유방절제술을 시행받은 후 술후 화학요법을 받은 환자들 중 2년 이상 추적관찰이 가능하였으며 파라핀 포매괴의 보관이 양호하게 이루어진 81예를 선별하였다.

### 2. 면역조직화학적 염색법

#### 1) 염색방법

10% 중성 완충포름알린에 고정된 후 제작한 파라핀 포매괴를 3  $\mu$ m 두께로 박절하여 Probe-on 슬라이드(Fisher USA)에 부착하여 건조시킨 다음 염색하였다. 염색의 전과정은 Probe-on 슬라이드를 맞대어 생기는 capillary gap action의 원리를 응용하여 개발된 Microprobe system (Fisher USA)를 이용하였다. Slide holder에 슬라이드 절편이 부착된 20장의 슬라이드를 채우고 탈파라핀과 함유과정을 거쳐서 1차 항체인, c-erbB-2, p-glycoprotein의 단클론 항체(Zymed, San francisco)를 primary antibody diluent를 이용하여 1:50으로, Topo II $\alpha$ 의 단클론항체(Neomarkers Fremont, California)는 1:100으로 희석하여 12분간 부치시키고 완충액으로 세척하였다. 일차항체의 검출을 위한 2차 항체는 biotin이 부착된 anti-mouse IgG (Sigma, St.Louis USA)를 이용하여 8분간 부치시킨 후 완충액으로 세척하였다.

검출제와 발색제의 부치시간은 각각 8분으로 하고 비특이적인 반응을 억제하기 위하여 발색제를 사용하기 전에 완충액으로 세척하였다. 발색과정이 끝난 다음에 헤마톡실린으로 대조염색을 시행하고 수성봉입제인 Universal Mount (Research Genetics Huntsville USA)로 봉입하고 양성반응을 관찰하였다. 음성대조군으로는 일차항체대신 primary antibody diluent 만을 이용하여 염색한 후 관찰하였다.

#### 2) 양성세포의 판정과 산정

양성 판정은 c-erbB-2은 핵막의 염색이 이루어진 경우로 하고(Fig. 1), Topo II $\alpha$  (Fig. 2)와 Pgp (Fig.

3)의 경우 핵내 염색이 이루어진 경우로 하였다. 종양 내 Topo II $\alpha$ 의 발현률은 양성반응의 강도에 관계없이 종양세포 500개당 양성세포수를 측정하여 백분율로 표시하였고 c-erbB-2 과발현판정은 관찰종양세포 중 30% 이상에서 양성세포가 발현되는 경우로 하였으며 Pgp 발현도는 관찰종양성세포 중 양성세포 비율에 따라 5등급으로 분류하였다. 즉 Pgp 발현 세포가 전혀 없는 경우 Grade 0, 10% 미만인 경우에는 Grade 1, 10 이상 30% 미만인 경우에는 Grade 2, 30 이상 50 미만인 경우에는 Grade 3, 50

이상인 경우에는 Grade 4로 정하였다.

### 3. 통계학적 검증

통계적인 검증은 Fisher's exact test, Mann-Whitney test를 이용하여  $p < 0.05$ 인 경우를 의의 있는 결과로 판정하였다.

## 결 과

대상 환자는 81명으로 40세 이전이 21명, 40세 이

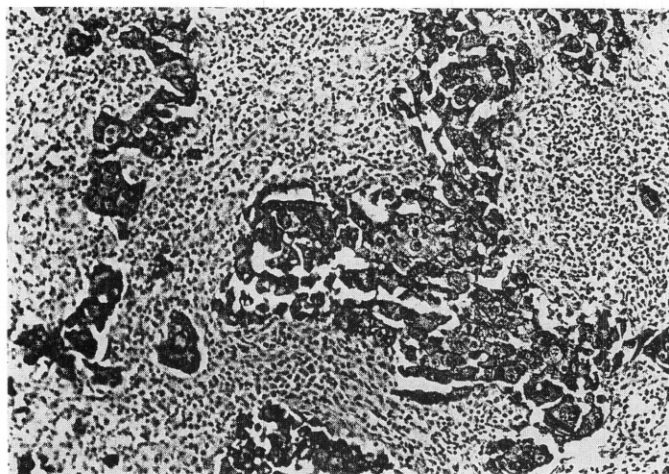


Fig. 1. c-erbB-2 expression in breast cancer tissue.

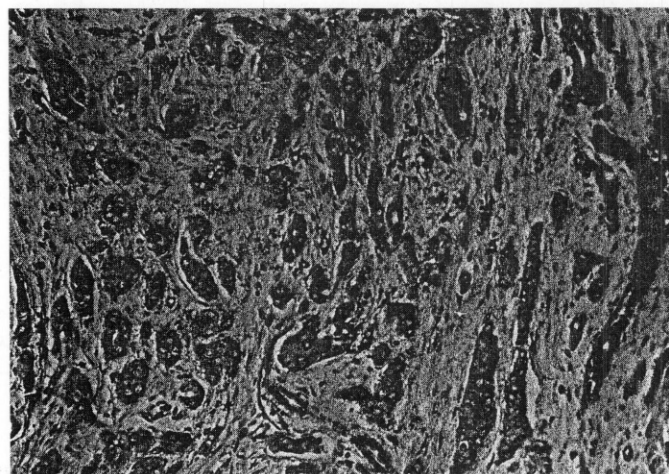


Fig. 2. Topo II $\alpha$  expression in breast cancer tissue.

후가 60명이었으며 폐경전이 46명으로 대부분을 차지하였고 TNM분류에 의한 병기별 분포는 stage IIa가 35명으로 가장 많았으며 IIIa 19명, IIb 16명, I 11

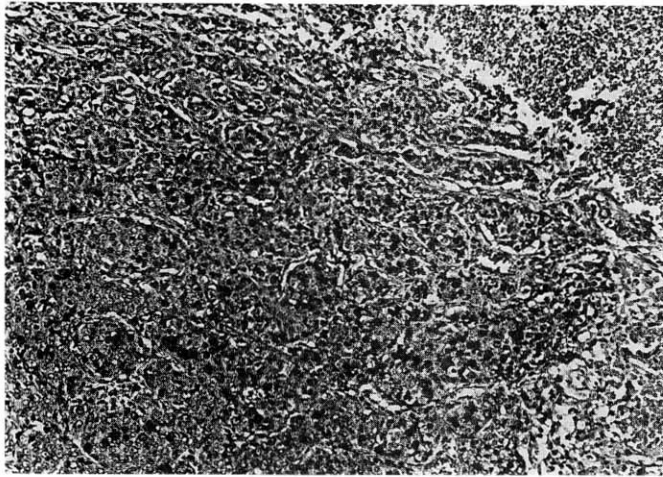
**Table 1.** Characteristics of the studied patients

Characteristics	No. of patients
Age	
<40	21
≥40	60
Menstruation state	
Premenopause	46
Postmenopause	35
Stage	
I	11
II a	35
II b	16
III a	19
Total	81

명 등의 순이었다(Table 1).

대상 환자들에서 실시한 면역조직화학적 검색 중, c-erbB-2 발현검색에서 발현세포가 전혀 관찰되지 않은 예는 40예, 발현세포가 관찰된 예는 41예였으며 이중 과발현을 보인 예는 17예로서 전체의 15.8%였다. Pgp발현에서는 양성발현세포가 전혀 관찰되지 않은 Grade 0가 21예였고 Grade 2이하의 저발현을 보인예는 32예, Grade 3이상인 고발현군은 28예였다.

대상군 중 Topo IIa 호소 발현에 대한 검색은 37예에서 시행하였다. 이 대상군 중 30예(81.1%)에서 발현이 확인되었는데 최소치 : 1.1, 최대치 : 58.5로 관찰되었고 발현이 전무한 경우는 7예(18.4%)였다. 병기별 Topo IIa의 평균치, Pgp단백발현도, 그리고 c-erbB-2 단백질발현도를 관찰한 결과 Topo IIa와 Pgp의 경우 병기별 연관성은 전혀 확인할수 없었고 c-erbB-2 과발현은 병기가 진행 됨에 따라 함께 증가하는 경향을 보였으나 이역시 통계적인 의의는 확인할수 없었다(Table 2).



**Fig. 3.** Pgp expression in breast cancer tissue.

**Table 2.** Relationship between Staging and Topo II, MDR, and c-erbB-2 expression

	I	II a	II b	III a
Average of Topo IIa	9.5	10.4	6.6	12.6
High grade of Pgp expression (>30%)	27.2% (3/11)	42.9% (15/35)	37.5% (6/16)	21.0% (4/19)
Overexpression of c-erbB-2	9.1% (1/11)	14.3% (5/35)	31.2% (5/16)	31.6% (6/19)

술후 화학요법의 방법에 따라 대상군을 47명의 CMF군(Cyclophosphamide, Methorexate, 5-FU)과 34명의 CAF군(Cyclophosphamide, Adriamycin or Epirubicin, 5-FU)으로 구분하였다. 2년 이상의 추적관찰이 이루어진 CMF군에서는 총 47명 중 8명(17.0%)에서 재발이 발견되었고 CAF군에서는 총 34명 중 9명(26.5%)에서 재발이 확인되었다.

각 화학요법군에서 병기별재발률은 우선 1기 11예 중 10예에서 CMF, 1예에서 CAF요법을 시행하였는데 CMF군 중 1예(9.1%)에서만 재발하였다. IIa기에서는 CMF군 26예 중 4예(15.4%)에서 재발하였고 CAF군 9예 중 2예(22.2%)에서 재발하였으며 IIb인 경우에는 CMF군 7예 중 재발례는 없었으나 CAF군 9예 중에서는 3예(33.3%)에서 재발하였다. 그러나 IIIa에서는 CMF군 4예 중 3예(75%)에서 재발하였고 CAF군은 15예 중 4예(26.7%)에서 재발하여 병기 II까지는 CMF군과 CAF군사이에 재발에 있어 의미있는 차이를 보이지 않았으나 병기III 이상의 진행된 병기에서는 CAF요법군에서의 재발이 더 낮은 경향

을 보였다(Table 3). 그러나 단순히 림프절 전이여부에 따른 화학요법군간 재발률에서는 유의있는 차이를 보이지는 않았다(Table 4).

재발 여부에 따른 각 화학요법군에서의 Topo II $\alpha$  평균치의 비교에서는 CMF 군에서의 재발군에서의 Topo II $\alpha$  치가 더 높은 경향을 보였으나 통계적인 유의는 없었고 CAF군에서도 재발군과 비재발군사이에 유의있는 차이를 보이지는 않았다(Table 5).

각 화학요법군에서 c-erbB-2 과발현여부에 따른

**Table 3.** Recurrence related with staging in each chemotherapy group

Stage	CMF group	CAF group	p value
I	1/10	0/1	0.048
II a	4/26	2/9	
II b	0/7	3/9	
III a	3/4	4/15	
Total	8/47	9/34	

**Table 4.** Recurrence related with lymph node status in each chemotherapy group

Lymph node involvement	CMF group	CAF group	P value
(-)	5/36 (13.9%)	2/10 (20.0%)	0.297
(+)	3/11 (27.3%)	7/24 (29.1%)	1.000
Total	8/47	9/34	

**Table 5.** Topo II score related with recurrence in each chemotherapy group

	Recurrence		P value
	(+)	(-)	
CMF chemotherapy	26.8 (n=3)	10.9 (n=12)	0.091
CAF chemotherapy	5.1 (n=4)	3.3 (n=11)	0.198

**Table 6.** Relationship between recurrence and c-erbB-2 overexpression in each chemotherapy group

c-erbB-2 overexpression	CMF group	CAF group	p value
(+)	2/11 (18.2%)	0/6 (0%)	0.286
(-)	6/36 (16.7%)	9/28 (32.1%)	1.00
Total	8/47	9/34	

Table 7. Relationship between recurrence and Pgp expression grading in each chemotherapy group

Pgp grading	CMF group	CAF group	p value
≤ II	8/31 (25.8%)	7/22 (31.8%)	0.267
≥ III	0/16 (0%)	2/12 (16.7%)	0.701
Total	8/47	9/34	

재발과의 연관성 조사에서는 CMF군의 경우 과발현이 있었던 11예 중 2예(22.2%)가 재발한데 비하여 CAF군에서는 과발현이 있었던 3예에서 전혀 재발이 없어 과발현이 있는 경우 CAF군에서 더 재발이 낮은 경향을 보였으나 통계적인 의의는 없었고 과발현이 없었던 경우에도 각 화학요법군간에 의의있는 재발률의 차이를 보이지 않았다(Table 6).

Pgp 발현등급에 따른 각 화학요법군간의 재발률에서도 고발현등급을 가진 환자들에서 화학요법의 방법에 따른 재발률의 차이는 확인할 수 없었다.(Table 7).

## 고 찰

술후 화학요법이 필요한 환자에서 종양 내 억제 내성의 존재 여부를 확인하거나 어떠한 화학요법으로 가장 유효한 치료효과를 얻을 수 있는지 또는 어떠한 화학요법제가 치료실패의 가능성이 높은지 등을 판단할 수 있는 인자들이 있다면 불필요한 화학요법으로 인해 환자의 삶의 질이 저하되는 현상을 피할 수 있을 뿐만 아니라 보다 효과적인 화학요법제를 선택하거나 또는 내성을 극복할 수 있는 약제들을 추가하는 등의 조치로서 치료효과를 극대화시킬 수 있을 것으로 사료된다.

유방암에서도 이러한 인자들을 찾고자하는 노력이 꾸준히 이루어져 왔으며 이러한 인자들은 결국 재발과 연관하여 고려되어왔다. 유방암에서 고전적인 예후인자들로 잘 알려진 종양의 크기, 림프절전이상태, 조직학적 등급, 호르몬수용체 유무 등도 중요하게 고려되고 왔으며 이러한 인자들도 부분적으로 치료형태를 선택하는데 도움을 주기도 하였다<sup>1)</sup>.

그러나 화학요법의 중요한 실패인자로 알려진 내성여부를 확인하고 보다 구체적으로 화학요법제를

선택하는데 도움을 받을 수 있는 인자로서 고전적인 임상병리학적 인자들은 한계성을 가지고 있다. 원래 종양세포들은 화학요법에 감수성을 가지고 있었으나 104-106개의 종양세포군에 이르면 내성세포주가 자연적으로 신속히 발생하게 된다고 알려져 있다<sup>10)</sup>.

따라서 임상적으로 직면하는 유방암 종괴는 내성세포주가 포함된 이질적인 집합체로서 이러한 이질성을 진단할 수 있는 종양 내 인자들의 확인이 효과적인 화학요법제를 선택함에 있어 중요하게 간주되고 있다.

c-erbB-2 암유전자는 그 extracellular domain이 구조적으로 epidermal growth factor와 유사한 trans-membrane glycoprotein을 기호화하는 암유전자로서 이들 발현은 종양 증식력의 증가를 반영한다고 보고된다<sup>11,12)</sup>.

임상적으로 c-erbB-2의 과발현은 유방암 환자의 15-30%에서 발견되어지며 낮은 생존률과 관계된다고 보고되는데<sup>13)</sup> 저자의 경우 c-erbB-2의 과발현은 전체 81예 중 17예(21%)였으며 진행된 병기일수록 과발현이 더 많아지는 경향을 보였다. 그러나 재발률에 있어서는 과발현군에서 더 높은 소견을 확인할 수 없었다.

Muss 등<sup>14)</sup>은 c-erbB-2과 발현을 보이는 환자에서 cyclophosphamide, doxorubicin, fluorouracil의 병합 화학요법을 시행한 경우 용량과 반응도간의 의미있는 상관성이 있었으나 발현이 미미하거나 없는 경우에는 이러한 연관성이 없음을 보고하면서 c-erbB-2 과발현을 확인함으로써 고용량의 보조화학요법이 이로온 군을 선정할수 있다고 하였다.

Stal 등<sup>15)</sup>은 c-erbB2가 발현하지 않으면서 고도의 증식력을 보이는 종양에서 CMF 화학요법이 생존율 측면에서 가장 이로우다고 보고하였고 c-erbB-2의 과발현을 보이는 종양에서 방사선 치료를 하지 않고

화학요법만을 시행한 경우에는 국소재발의 위험도가 증가하였다고 하였다. 저자들의 경우 c-erbB-2 과 발현군에서 CAF 요법을 시행한 경우에 재발률이 CMF 요법군에 비해 더 낮은 경향을 보이기는 했으나 증례 수의 적음으로 인해 그 통계적인 의의는 미미하였다. Piak 등<sup>16)</sup>은 세포주와 동물실험에서 c-erbB-2 과발현을 보이는 경우에는 화학요법 뿐만 아니라 tamoxifen에 대하여도 약제내성을 보였다고 보고하면서 유방암 치료에서 c-erbB-2 발현 확인이 치료방법을 결정함에 있어 중요한 인자가 됨을 주장하기도 하였다.

포유류에서 Topoisomerase II enzymes는 DNA 복제, 염색체 골격의 형성, 염색체 구성, 유전적 안정성의 유지, DNA 재합성 등에서 중요한 역할을 담당하고 있는 핵효소로서 DNA 전사나 복구에도 관여하고 있다. Topo II  $\alpha$ 는 eukaryotic topoisomerase II  $\alpha$ 와 II  $\beta$ 의 두 가지 형태 중의 하나로 면역조직화학적 염색상 nucleoplasm에 존재하고 있으며<sup>17)</sup> G0 세포들에서는 전혀 탐지되지 않지만 S phase에 이르면 급격히 그 활성이 증가하여 G2-M phase에 최고도로 이른 다음 감소한다<sup>18)</sup>.

따라서 Topoisomerase II를 목표로 하는 화학요법제들로 epirubicin, doxorubicin, VP-16, VM-26 등이 개발되었고 이들은 유방암에서도 중요한 화학요법제로서 추천되고 있으며 전적으로  $\alpha$  form의 억제제를 통하여 작용하게되며 이들의 세포독성능력은 종양 세포들의 증식 상태에 의해 좌우된다고 보고된다<sup>19-21)</sup>.

Topo II  $\alpha$ 는 비악성 유방조직에서는 거의 발현되지 않으면서<sup>22)</sup> Topo II  $\alpha$ 의 발현증가는 아주 난폭하고 고도의 증식력을 가지고 있는 종양과 연관되어 있다고 알려져 있으며<sup>23,24)</sup> 유방암의 화학요법제로서 Topo II  $\alpha$ 를 목표로 한 약제들이 중요한 역할을 담당하고 있기 때문에 저자들은 Topo II  $\alpha$ 를 본연구에서 포함하여 관찰하기로 하였다.

또한 Topo II  $\alpha$ 를 암호하는 유전자가 chromosome 17q에서 c-erbB-2 유전자 가까이에 위치하고 있어 c-erbB-2와의 동반 과증폭이 관찰되어진다고 한다<sup>25)</sup>.

Arteaga 등<sup>26)</sup>은 c-erbB-2 수용체의 활성이 Topo II  $\alpha$ 의 인산화를 유도하고 이 효소의 활성을 증가시켜

anthracyclines에 대한 세포들을 감작시킬수 있다고 주장하였다.

그러나 본 연구에서는 c-erbB-2 발현을 보인 군과 발현이 전혀 없는 군에서의 Topo II  $\alpha$  평균치를 비교한 결과 발현군에서의 평균치(13.8)가 비발현군 평균치(8.4)에 비해 더 높아보이기는 하였으나 통계적인 의의는 없었다.

Volm 등<sup>27)</sup>은 실험적으로 인간종양에서 화학요법에 대한 내성과 Topo II  $\alpha$ 의 downregulation 사이에 상호관련이 있음을 증명하기도 하였다.

Itto 등<sup>28)</sup>은 Topo II- $\alpha$  발현은 유방암조직의 52%에서 발현되었다고 하였지만 저자들의 경우 81.1% (30/37)에서 발현세포들을 확인할수 있었고 발현군의 경우 최소 1.1, 최대 58.5의 발현도를 보였다.

Hellemans 등<sup>28)</sup>은 원발성 침윤유관암 63예를 대상으로 면역조직화학적 염색한 결과 Topo II  $\alpha$  핵면 역반응을 평균 14% (2-62%)로 보고하였고 더 높은 발현치는 고등도의 종양등급, 더 큰 종양크기, 림프절 상태, 진단당시 원격전이 존재 등 불량한 예후인자들의 존재와 강한 연관성을 가지고 있음을 관찰하였다. 또한 Topo II 억제제를 이용한 화학요법을 계획함에 있어 Topo II  $\alpha$  발현도의 검색으로 도움을 받을수 있을 것으로 주장하면서 Topo II  $\alpha$  치가 높은 경우 이를 목표로 하는 약제들에 의한 치료에 잘 반응할수 있을 것으로 예상되어진다고 주장하였다.

저자들의 연구에서는 Topo II  $\alpha$  발현세포들의 과다와 병기 진행도와 연관성은 관찰되지 않았으나 흥미롭게도 CMF 화학요법군에서의 재발례에서 Topo II  $\alpha$ 의 발현도가 높음을 관찰할수 있었으나 통계적인 의의는 없었다. 하지만 이 경우 전향적으로 CAF화학요법을 시행하였더라면 어떠한 결과로 표출되었을지 기대되었다.

Pgp는 잘 알려져 있다시피 여러 가지 독성성분을 포함하여 많은 화학요법제를 세포외로 방출하는 작용을 통하여 anthracyclines, vinca alkaloids, epipodophyllotoxin 등에 대한 약제내성으로 특기되는 전형적인 다약제내성을 중재한다고 알려져 있다.

Seymour 등<sup>29)</sup>은 20개의 고배율시야상에서 종양 세포 중 5% 이상에서 분명한 핵막염색을 보이는 경우에 Pgp 양성으로 판정하였다. 국소진행된 유방암

환자를 대상으로 Pgp 발현도를 관찰한바 5% 미만의 양성세포를 보인 경우가 45%, 34% 이상인 경우는 44%였는데 이중 66% 이상의 고발현을 보인 예가 16%로 보고하였다.

저자들은 Pgp 발현세포의 비율로서 절제가능한 유방암 환자들을 분류한 결과 원발성 유방암 종괴인 경우 양성발현세포가 전혀 관찰되지 않은 21예를 포함하여 10% 미만의 발현세포를 보인 15예 등 저발현군이 44.4%를 차지하였고 50% 이상인 고발현군은 34.6%를 차지함을 관찰하였다.

이에 근거하여 Pgp 발현이 화학요법치료의 반응도에 어떠한 연관이 있는지에 대한 연구는 주로 국소진행유방암 환자들을 이루어졌는데 혹자는 높은 발현도가 치료실패나 생존율의 저하와 관계가 있다고 보고하기도 하고<sup>30,32)</sup>, 또 혹간의 보고<sup>33)</sup>에서는 이러한 연관성을 부인하기도 하였다.

Pgp 발현이 실제적으로 화학요법의 효과를 정확히 판정하는데 자주 이론이 제기되는 이유는, 임상적으로 사용하는 화학요법제는 적어도 한 가지는 Pgp 발현과는 연관없는 약제를 포함하여 다양한 약제의 병합에 의하여 이루어지기 때문에 실제적으로 Pgp를 포함한 종양인자들의 약제내성예의 공헌도를 정확히 판단하기가 어렵기 때문일 것으로 추측된다.

저자들의 경우에도 Pgp 발현도만을 고려한 경우 각 화학요법군에서의 재발률과의 연관성에서 어떠한 의의도 발견할수 없었다.

그러나 Seymour 등<sup>29)</sup>은 진행유방암 환자들에서 종양 내 Pgp 양성발현과 화학요법 치료실패나 생존기간과 유의한 연관성은 관찰되지 않았지만 에스트로겐 수용체와 결부한 결과 에스트로겐수용체가 음성이고 Pgp 양성발현의 경우에는 화학요법에 실패할 가능성이 높음을 보고하였다.

또한 새로운 각도에서 Pgp 발현의 임상적 의미를 확인하고자 하는 시도로서 Chung 등<sup>34)</sup>은 진행유방암 환자에서 종양 내 Pgp발현이 유도화학요법에 의해 어떻게 변하며 임상효과와 어떤 관련성이 있는지를 관찰하였는데 치료전에 비해 치료 후에는 대부분에서 Pgp 발현이 증가하였고 Pgp 발현과 약제효과와는 역상관성이 있음을 보고하였다.

따라서 이러한 인자들을 종합적으로 평가하여 임

상적으로 화학요법 성공 여부를 판단하고자 하는 시도로서 Linn 등<sup>35)</sup>은 다양한 유방암 환자들을 대상으로 MDR1, MRP, LRP, DNA topoisomerases 등의 발현과 화학요법의 반응과의 관계를 분석하였지만 Ki-67 양성률과 doxorubicin 축적량과의 사이의역비례관계만을 확인했을 뿐 의의 있는 연관성은 확인할 수 없었다고 하였다.

결국 저자들의 연구결과에서도 다제병합요법을 시행하는 유방암 환자에서 화학요법의 결과를 별개의 특정종양인자나 몇가지 임상적 특성만으로 판단할 수는 없었지만 가능성이 제기되는 c-erbB-2와 topoisomerase II $\alpha$  효소의 의미에 대하여는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

## 결론

전남대학교병원 외과에서 근치적 유방절제술을 시행받고 2년 이상 추적관찰이 가능하였던 81명의 환자를 대상으로 종양 내 Topoisomerase II $\alpha$  효소발현, c-erbB-2 단백발현, Pgp 발현 등이 술후 보조화학요법의 방법(CMF군, CAF군)과 치료결과에 어떠한 연관성을 가지고 있는지를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 각 병기에 따른 Topoisomerase II $\alpha$  효소치, c-erbB-2 단백발현, Pgp 발현도의 차이는 없었다.

2) 진행된 병기에서는 CMF군에 비해 CAF군에서의 재발률이 낮은 소견을 보였다.

3) CMF 치료 후 재발군에서의 Topoisomerase II $\alpha$  평균치가 비재발군에 비해 더 높은 경향을 보였다.

4) c-erbB-2 단백과발현이 있는 경우에는 CMF군에서의 재발률이 CAF군에 비해 높은 경향을 보였다.

이상의 결과로 술후 화학요법의 방법이나 치료실패를 결정함에 있어서 진행된 병기와 c-erbB-2의 과발현과 Topoisomerase II $\alpha$  효소치는 화학요법방법을 결정할 수 있는 예측인자로서의 가능성은 제기되었으나 통계적인 의의를 인정하기 위해서 더 많은 종래 연구가 필요할 것으로 사료되었다.



## 참 고 문 헌

- 1) Carter CL, Allen C, Henson DE: Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 63:181-187, 1989
- 2) Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW: Application of DNA flow cytometry to paraffin-embedded archival material for the study of aneuploidy and its clinical significance. *Cytometry* 6:327-333, 1985
- 3) Henson DE, Ries L, Freedman LS, Carriaga M: Relationship among outcome, stage of disease, and histologic grade for 22,616 cases of breast cancer: the basis for a prognostic index. *Cancer* 68:2142-2149, 1991
- 4) Osborne CK: Receptors. In Harris JR, Hellman S, Henderson IC, Kinne DW, eds. *Breast diseases*. 2nd ed. Philadelphia: J.B.Lippincott, 301-325, 1991
- 5) Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL: Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235:177-182, 1987
- 6) Fisher ER, Redmond C, Fisher B: Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project. VIII. Relationship of chemotherapeutic responsiveness to tumor differentiation. *Cancer* 51: 181-191, 1983
- 7) O'Reilly SM, Camplejohn RS, Millis RR, Rubens RD, Richards MA: Proliferative activity, histologic grade and benefit from adjuvant chemotherapy in node-positive breast cancer. *Eur J Cancer* 26:1035-1038, 1990
- 8) Zambetti M, Bonadonna G, Valagussa P, et al: Adjuvant CMF for node-negative and estrogen receptor-negative breast cancer patients. *Monogr Natl Cancer Inst* 11:77-83, 1992
- 9) Pinedo HM, Giaccone G: P-glycoprotein-A marker of cancer-cell behavior. *N Eng J Med* 333:1417-1419, 1995
- 10) De Vita VT, Jr: The influence of information on drug resistance on protocol design. *Ann Oncol* 2: 93-106, 1991
- 11) Barnes DM, Meyer JS, Gonzalez JG, Gullick WJ, Millis RR: Relationship between c-erbB-2 immunoreactivity and thymidine labelling index in breast carcinoma in situ. *Breast Cancer Res Treat* 18:11-17, 1991
- 12) Kallioniemi OP, Holli K, Visakorpi T, Koivula T, Helin HH, Isola JJ: Association of c-erbB-2 protein over-expression with high rate of cell proliferation, increased risk of visceral metastasis and poor long-term survival in breast cancer. *Int J Cancer* 49:650-655, 1991
- 13) Paik S, Hazan R, Fisher ER, et al: Pathological findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project: Prognostic significance of erbB-2 protein over-expression in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 8:103-112, 1990
- 14) Muss HB, Thor AD, Berry DA, Kute T, et al: c-erbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *New Eng J Med* 330:1260-1266, 1994
- 15) Stal O, Sullivan S, Wingren S, Skoog L, Rutqvist LE, Carstensen JM, Nordenskjold B: c-erbB-2 expression and benefit from adjuvant chemotherapy and radiotherapy of breast cancer. *Eur J Cancer* 31A:2185-2190, 1995
- 16) Paik S: Clinical significance of erbB-2 (HER-2/neu) protein. *Cancer Invest* 10:575-579, 1992
- 17) Negri C, Chiessa R, Cerino A, Bestagno M, Sala C, Zini N, et al: Monoclonal antibodies to human DNA topoisomerase I and two isoforms of topoisomerase II: 170- and 180-kDa isozymes. *Exp Cell Res* 200:452-459, 1992
- 18) Woessner RD, Mattern MR, Mirabelli CK, Johnson RK, Drake FH: Proliferation of cell-cycle dependent differences in the expansion of the 170 kilodalton and 180 kilodalton forms of topoisomerase II in NIH-3T3 cells. *Cell Growth Differ* 2:209-214, 1991
- 19) Marikovsky J, Pommier Y, Kerrigan D, Covey JM, Tilchen EJ, Kohn KW: Topoisomerase II mediated DNA breaks and cytotoxicity in relation to cell proliferation the cycle in NIH 3T3 fibroblasts and

- L1210 leukemia cells. *Cancer Res* 47:2050-2055, 1987
- 20) Davies SM, Robson CN, Davies SL, Hickson ID: Nuclear topoisomerase II levels correlate with the sensitivity of mammalian cells to intercalating agents and epipodo-phyllotoxins. *J Biol Chem* 263:17724-17729, 1988
- 21) Fry AM, Chresta CM, Davies SM, Walker MC, Harris AL, Hartley JA, et al: Relationship between topoisomerase II level and chemosensitivity in human tumor cell lines. *Cancer Res* 51:6592-6595, 1991
- 22) Ito K, Fujimori M, Nakata S, Hama Y, et al: Clinical significance of the increased multi drug resistance-associated protein (MRP) gene expression in patients with primary breast cancer. *Oncol Res* 10:99-109, 1998
- 23) Holden JA, Rofson DH, Wittwer CT: Human DNA topoisomerase II: evaluation of enzyme activity in normal and neoplastic tissues. *Biochemistry* 29:2127-2134, 1990
- 24) Tandon AK, Hilsenbeck SG, Clark GM, Allred DC, Latham MD, Ross WE, et al: Significance of topoisomerase II in clinical breast cancer. *Proc Am Assoc Cancer Res* 32:350-352, 1991
- 25) Keith WN, Douglas F, Wishart GC, et al: Co-amplification of erbB2, topoisomerase II  $\alpha$  and retinoic acid receptor  $\alpha$  genes in breast cancer and allelic loss at topoisomerase I on chromosome 20. *Eur J Cancer* 29A:1469-1475, 1993
- 26) Arteaga CL, Carty-Dugger T, Winnier AR: Antibodies against p185HER2 enhance etoposide-induced cytotoxicity against human breast carcinoma cells. *Proc Am Soc Clin Oncol* 12:101, 1993
- 27) Volm M, Mattern J, Efferth T, Pommerenke EW: Expression of several resistance mechanisms in untreated human kidney and lung carcinomas. *Anticancer Res* 12:1063-1068, 1992
- 28) Hellemans P, van Dam PA, Geyskens M, van Oosterom AT, Buytaert Ph, Marck EV: Immunohistochemical study of topoisomerase II- $\alpha$  expression in primary ductal carcinoma of the breast. *J Clin Pathol* 48:147-150, 1994
- 29) Lesley Seymour, Werner, Robert Bezwoda, Roger Delemere Dansey: P-glycoprotein immunostaining correlates with ER and with high Ki67 expression but fails to predict anthracyclin resistance in patients with advanced breast cancer. *Breast cancer Res and Treat* 36:61-69, 1995
- 30) Verrelle P, Meissonnier F, Fonck Y, Feillel V, Dionet C, Kwatkowski F, Plagne R, Chassagne J :Clinical relevance of immunohistochemical detection of multidrug resistance p-glycoprotein in breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 83:111-116, 1991
- 31) Ro J, Sahin A, Ro H, Fritsche H, Hortobagyi G, Blick M: Immunohistochemical analysis of p-glycoprotein expression correlated with chemotherapy resistance in locally advanced breast cancer. *Human Path* 21:787-791, 1990
- 32) Botti G, Chipetta G, D'Aluto G, De Angelis E, de Matteis A, Montella M, Picone A, Cascione F: PCNA/cyclin and p-glycoprotein as prognostic factors in locally advanced breast cancer: an immunohistochemical, retrospective study. *Tumori* 79:214-218, 1993
- 33) Dixon AR, Bell J, Ellis IO, Elston CW, Blamey RW: P-glycoprotein expression in locally advanced breast cancer treated by neoadjuvant chemotherapy. *Brit J Cancer* 66:537-541, 1992
- 34) Chung HC, Rha SY, Kim JH, Roh JK, Min JS, Lee KS, Kim BS, Lee KB: P-glycoprotein: The intermediate end point of drug response to induction chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Breast Cancer Res & Treat* 42:65-72, 1997
- 35) Linn SC, Pinedo HM, van Ark-Otte J, van der Valk P, Hoekman K, Honkoop AH, Vermorken JB, Giaccone