

유방의 양성 및 악성 유두상 종양에서 Cyclin D1, MIB-1 단백 발현의 의의

인제대학교 의과대학 부산백병원 외과학교실

안 우 석 · 김 태 현 · 이 진 용

Significance on the Expression of Cyclin, MIB-1 in Benign and Malignant Papillary Lesion of the Breast

Woo Sok An, M.D., Tae-Hyun Kim, M.D. and Jin-Yong Lee, M.D.

Department of Surgery, Inje University College of Medicine, Paik Hospital, Busan, Korea

Purpose: It is difficult at times to differentiate between a papillary carcinoma and benign papilloma of the breast, and papillomas can undergo malignant transformation. The authors investigated the expression of cyclin D1 and MIB-1 to assess the diagnostic value of these markers in distinguishing papillary carcinomas from papillomas of the breast, and in determining the clinical relevance of these markers as prognostic predictors.

Methods: The medical records of 38 patients treated for benign and malignant papillary lesions of the breast at Inje University Pusan Paik Hospital between January 1992 and December 1997 were reviewed. Immunohistochemical stains for cyclin D1 and MIB-1 were performed in 30 cases of papilloma and eight cases of papillary carcinoma of the breast. The authors performed a statistical analysis of the relationship between cyclin D1 and MIB-1 with respect to the size of tumors, pathologic lymph nodes, and postsurgical residual lesions, and the recurrence and survival rates.

Results: Breast cancer or ADH was associated with six cases (15.79%) of papillary lesions of the breast. The incidence of postsurgical residual lesions and their recurrence were 2.63% and 2.63% in all the patients with papillary lesions of the breast. The labeling index of cyclin D1 was significantly higher in the eight papillary carcinomas (36.7 ± 27.0) than in the 30 papillomas (3.5 ± 4.2) ($P=0.001$). There was a statistically significant difference between the MIB-1

labeling index of the eight papillary carcinomas (4.9 ± 5.9) and that of the 30 papillomas (0.4 ± 1.4) ($P=0.0225$). The cyclin D1 and MIB-1 expressions of the single intraductal papillomas and multiple papillomas were not different. In addition, there was no statistically significant difference of cyclin D1 and MIB-1 in the eight papillary carcinomas with respect to the associated pathologies, size, positive lymph nodes, recurrence or survival.

Conclusion: These results suggest that cyclin D1 and MIB-1 might be useful markers for distinguishing papillary carcinomas from papillomas of the breast. (*Journal of Korean Breast Cancer Society* 2001;4:12-19)

Key Words: Papilloma, Papillary carcinoma, Cyclin D1, MIB-1
중심 단어: 유두종, 악성 유두상 종양, Cyclin D1, MIB-1

서 론

유방의 양성 유두상 종양은 10% 미만의 빈도를 보이는 세 번째로 흔한 유방의 양성 종양이며, 혈성 유두분비가 가장 흔한 원인이다. 악성 유두상 종양은 전체 유방암종의 1~2%로 드물게 발생하며, 비교적 예후가 좋은 편이다.(1) 육안적으로 양성 유두종을 제외한 양성 유두상 종양은 대부분 병변의 크기가 3 cm을 넘지 않으나 악성 유두상 종양은 더 크고, 현미경적 소견상 악성 유두상 종양의 경우 양성 유두상 종양에 비해 종양세포의 모양이 더욱 일정하며, 근상피세포나 아포크린성 화생을 보이는 세포가 관찰되지 않고, 간질 성분이 거의 없으며 유사분열을 보이는 세포가 많고, 핵의 비정형성이 관찰된다고 알려져 있다.(2) 그러나 때로는 이러한 형태학적 소견만으로 감별이 어려운 양성과 악성간의 경계성 병변이 관찰되며,(2) 양성 유두상 종양에서 악성 변화를 보이는 경우도 있어 치료에 대한 어려움이 있다.(3)

면역조직화학염색이 부가적인 진단방법의 하나로서 시도되고 있는데, 이 방법은 actin 염색을 통하여 악성 유두상 종양 조직에서 근상피세포의 소실을 확인해 진단에 사용하는 것이다.(4) 세포주기 조절에서 가장 중요한 시기는 G₁-S 이행단계이며, 이 단계에서 cyclin은 CDK (cyclin

연락처 : 안우석, 부산시 부산진구 개금동 633-165번지
☎ 614-735, 인제대학교 부산백병원 일반외과
Tel: 051-890-6352, Fax: 051-898-9427
E-mail: healmore@hanmir.com

dependent protein kinase)와 함께 복합체 형태로 조절작용을 하는데 대표적인 복합체가 cyclin D-CDK4 또는 cyclin D-CDK6이다. 이러한 복합체를 억제 조절하는 것은 INK (inhibitors of CDK4 and CDK6) 단백질로 p16^{INK4b}, p15^{INK4b}, p18^{INK4b}, p19^{INK4d}가 이에 속한다.(5) Rb (retinoblastoma) 단백질은 G₀/G₁ 단계에서 저인산화 상태로 활성화되어 E2F와 같은 전사인자와 결합하여 세포가 S기로 진행하는 것을 억제하는 종양억제 유전자로 알려져 있다. cyclin D1-CDK4/6 복합체는 Rb 단백질과 접촉하여 Rb 단백을 인산화시켜 불활성화 함으로써 세포증식을 유도할 수 있으며, 이러한 과정은 또한 p16^{INK4b}과 같은 억제제에 의해 조절된다.(6) MIB-1은 세포의 증식능을 나타내는 표지자로서 정상 또는 종양세포에서 세포주기의 G₁, S, G₂ 및 M기에 발현되고 휴지기에서는 발현되지 않는 비 히스톤 핵 단백질의 일종이다.(7) MIB-1은 휴기기를 제외한 모든 세포주기에서 발현하므로 G₁에서 S로 이행하는 단계에만 작용하는 cyclin D1과 비교하여 세포의 증식능을 보는데 유용하다.

이에 본 연구는 면역조직화학염색을 이용하여 양성 유두상 종양과 악성 유두상 종양 조직에서 Cyclin-D1과 MIB-1의 발현 정도와 이 발현이 임상적인 의미에 대해 알아보고자 이 연구를 시행하였다.

방 법

1) 연구 방법 및 재료

1992년 1월부터 1997년 12월까지 인제대학교 부속 부산 백병원 일반외과에서 유두상 유방병변으로 진단 받은 38예(침습성유관암과 동반된 3예, 양측성 1예 포함)를 대상으로 동반된 병리소견, 수술방법, 술후 잔여병소 확인, 재발, 악성 유두상 종양에서 크기, 림프절 전이를 조사하였고, 외래 방문이나 전화로 추적하여 생존율을 분석하였다. 수술방법으로는 양성 유두상 종양에서는 주로 절제생검술, 미세유관절제술, 광범위 국소 절제술 선택하여 시행하였고, 악성 유두상 종양에서는 유방절제술을 주로 시행하였다. 술후 잔여병소 확인은 수술 당시에 확인되었거나 수술 후 추적검사로써 유방촬영술이나 초음파검사를 통해서 발견하였다. 유방 생검 및 유방 적출술을 통해 얻어진 조직 중에서 양성 유두상 종양으로 진단된 30예와 악성 유두상 종양으로 진단된 8예를 대상으로 병력지를 조사하여 진단 당시 환자의 연령을 기록하였고, 30예의 양성 유두상 종양과 8예의 악성 유두상 종양의 H-E 염색표본은 재검경하여 병리조직학적 진단을 확인하였다. 양성 유두상 종양은 단일성 종양 20예와 다발성 종양 10예로 구성되어 있으며, 다발성 유두종 중 1예는 비정형 관상피 증식증을 동반하고 있었다. 악성 유두상 종양의 경우 단일 종괴로 발견된 경우가 6예, 다발성 종괴로 발견된 경우

가 2예이었으며, 종양세포의 핵의 이형성 정도가 저등급인 경우가 3예, 중등도 4예, 고도 1예이었고, 평균 추적기간은 49.6개월이었다.

2) 면역조직화학염색

연구대상 38예의 H-E 염색표본을 재검색하여 가장 적당한 파라핀 블록을 선택한 후 파라핀 블록을 4 μ m 두께로 박절하여 organic silane이 미리 처리된 슬라이드에 올린 다음 60°C의 열판에서 24시간 동안 부착시킨 후 xylene으로 탈파라핀하고, 100%, 95%, 70% 알코올로 함수시켰다. 포르말린 고정으로 인하여 조직내 감추어진 항원을 노출시키기 위해 citric acid 용액에 담구어 microwave oven을 이용하여 10분간 가열한 후 30분간 실온에 두었다. 내인성 peroxidase의 차단을 위하여 3% 과산화수소수로 15분간 처리하고 증류수로 수세하였다. 이후의 과정은 DAKO사의 LSAB (labeled streptavidin biotin) kit를 이용하여 시행하였다. 15분간 normal goat serum을 처리한 후 일차항체인 cyclin D1 (R-124, Santa Cruz, USA), MIB-1 (18-0192, Zymed, USA)를 각각 1 : 1000, 1 : 80으로 희석하여 처리한 후 실온에서 60분간 반응시켰다. TBS (Tris buffer saline)로 10분간 3차례 수세한 후 2차 항체인 horse biotinylated anti-rabbit IgG (1 : 50 in TBS, Sigma)을 실온에서 30분간 반응시켰다. TBS로 다시 3차례 수세한 후 streptavidin으로 실온에서 30분간 반응시킨 후 TBS로 수세하고 AEC (amino-ethyl-carbazole)로 10~20분간 실온에서 발색시켰다. Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하고 Crystal mount를 사용하여 봉입하였다. 음성 대조 표본은 일차항체 대신 TBS를 사용하여 위와 동일한 방법으로 염색하였다.

3) 면역조직화학염색의 판정

Cyclin D1과 MIB-1은 종양세포의 핵에 적갈색으로 염색된 경우를 양성으로 판독하였으며, 각 증례별로 400배 시야에서 200개의 세포를 세어 표지지수를 구하였다.

4) 통계학적 처리

양성 유두상 종양과 악성 유두상 종양에서의 cyclin D1, MIB-1의 표지지수 비교에는 Wilcoxon rank sum test를 각각 이용하였다. p값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1) 평균 연령

전체 환자의 나이는 20세에서 71세였으며 평균 나이는 44.6 \pm 11.4세였다. 각 질환별 평균 나이는 단일성 유두상 종양 40.8세, 다발성 유두상 종양 43.7세, 악성 유두상 종

양 49.8세로서 점차 증가하는 양상을 보였으나 각 질환 간에 유의있는 차이는 없었다(Table 1).

2) Cyclin D1 발현

악성 유두상 종양 8예의 cyclin D1 표지지수는 $36.7 \pm 27.0(0.0 \sim 92.0)$ 으로서 양성 유두상 종양 30예의 $3.5 \pm 4.2(0.0 \sim 18.0)$ 에 비해 유의있게 높았다($p=0.001$)(Fig. 1). 악성 유두상 종양 중에서 단일성 악성 유두상 종양과 다발성 악성 유두상 종양의 cyclin D1 표지지수는 각각 35.4 ± 31.4 , 40.45 ± 11.4 로 다발성 유두상 종양이 약간 높았으나 차이가 거의 없었고, 양성 유두상 종양 중에서 단일성 유두상 종양과 다발성 유두상 종양의 cyclin D1 표지지수는 각각 3.4 ± 4.2 와 3.9 ± 4.6 으로서 다발성 유두상 종양에서 약간 높았으나 차이가 거의 없었다(Table 2).

Table 1. Histologic diagnosis and age distribution of the subjects

Histologic diagnosis	No.	Age (Years)	
		Mean \pm S.D.	Min. ~ Max.
Papilloma	30	43.1 ± 10.0	20 ~ 64
Single intraductal papilloma	20	42.9 ± 10.0	20 ~ 59
Multiple papilloma	10	44.0 ± 10.5	26 ~ 64
Papillary carcinoma	8	49.8 ± 15.0	30 ~ 71
Total	38	44.7 ± 11.4	20 ~ 71

The mean age of each group were not significantly different ($p > 0.05$).

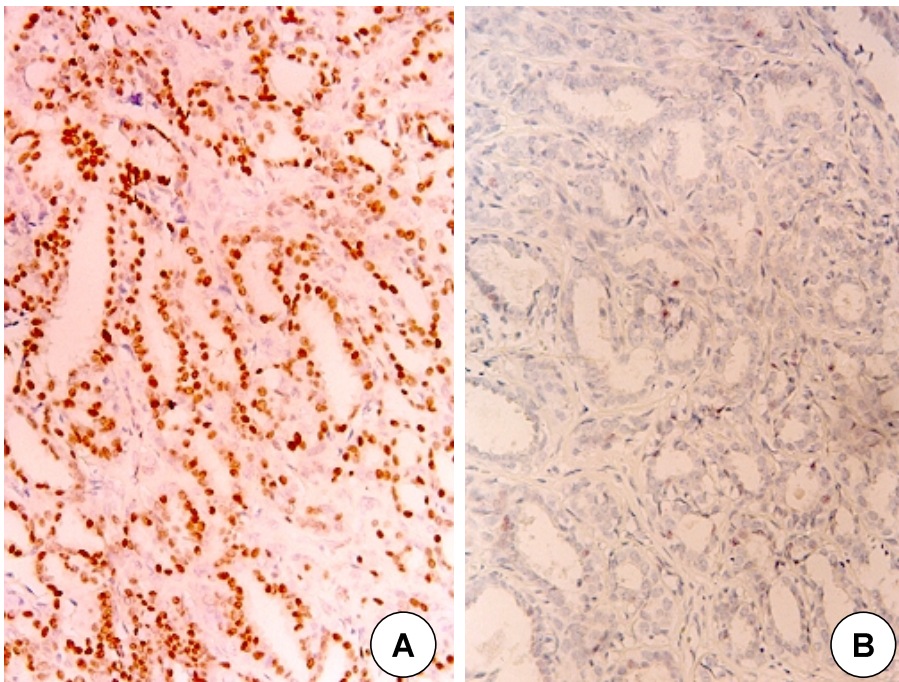


Fig. 1. Immunohistochemical staining of Cyclin D1 in papillary neoplasm of breast. Cyclin D1 is frequently expressed in nuclear of papillary carcinoma (A) and sparsely in nuclear of benign papilloma (B)($\times 400$).

Table 2. Labelling index (LI) of Cyclin D1 and MIB-1 in the papillary lesion of the breast

Histologic diagnosis	No.	Cyclin D1* (%)	MIB-1 [†] (%)
		LI (Range)	LI (Range)
Papilloma	30	$3.5 \pm 4.2 (0 \sim 18.0)$	$0.4 \pm 1.4 (0 \sim 7.5)$
Single intraductal papilloma	20	$3.4 \pm 4.2 (0 \sim 18.0)$	$0.4 \pm 1.7 (0 \sim 7.5)$
Multiple papilloma	10	$3.9 \pm 4.6 (0 \sim 14.5)$	$0.4 \pm 0.8 (0 \sim 2.5)$
Papillary carcinoma	8	$36.7 \pm 27.0 (0 \sim 92.0)$	$4.9 \pm 5.9 (0 \sim 15)$

The mean expression levels of cyclin D1* and MIB-1[†] in papillary carcinomas were significantly higher than those of papillomas by Wilcoxon rank sum test (* $p=0.001$ and [†] $p=0.0225$).

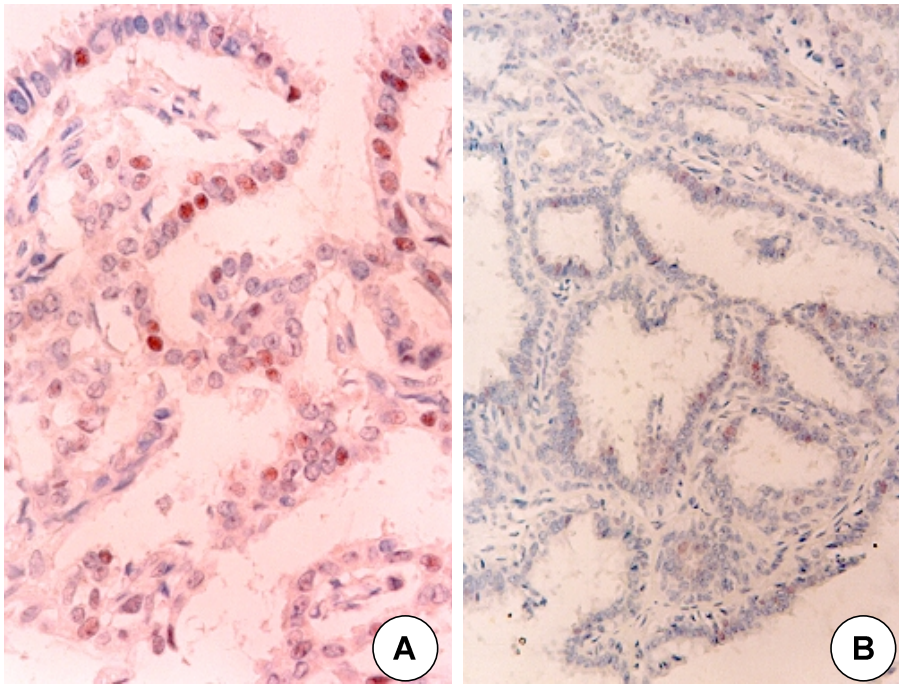


Fig. 2. Immunohistochemical staining of MIB-1. in papillary neoplasm of breast. MIB-1 is frequently expressed in nuclear of papillary carcinoma(A) and sparsely in nuclear of benign papilloma (B)($\times 400$).

Table 3. Associated pathology

Pathology	No. of cases (%)		
	Single intraductal papilloma	Multiple papilloma	Papillary carcinoma
ADH*	2 (10)	1 (10)	
DCIS [†]			1 (12.5)
iIDC [‡]	1 (5)		1 (12.5)

*ADH = Atypical ductal hyperplasia; [†]DCIS = ductal carcinoma in situ; [‡]iIDC = ipsilateral invasive ductal carcinoma.

3) MIB-1 발현

MIB-1의 표지지수는 악성 유두상 종양의 경우가 4.9 ± 5.9 ($0.0 \sim 15.0$)로서 양성 유두상 종양에서의 0.4 ± 1.4 ($0.0 \sim 2.5$)에 비해 유의하게 높았다($p=0.0225$)(Fig. 2). 그러나 악성 유두상 종양 중에서 단일성 악성 유두상 종양과 다발성 악성 유두상 종양의 MIB-1의 표지지수는 각각 4.1 ± 4.8 , 7.5 ± 10.6 으로 다발성 유두상 종양이 약간 높았으나 차이가 거의 없었고, 양성 유두상 종양 중에서 단일성 유두상 종양과 다발성 유두상 종양의 MIB-1 표지지수는 0.4 ± 1.7 와 0.4 ± 0.8 로서 거의 차이가 없었다(Table 2).

4) 연관된 병리소견

유두상 유방 종양환자 38예 중에서 이형성관증식증 3예(7.89%), 관상피내암 1예(2.63%), 동측성 침습성 유관암 2

Table 4. Relation of associated lesions with cyclin D1 and MIB-1

Papillary lesion	Associated lesion	Labelling index (%)	
		Cyclin D1	MIB-1
Single intraductal papilloma	iIDC [‡]	3.0	0
Single intraductal papilloma	ADH*	1.5	0.5
Single intraductal papilloma	ADH*	1.0	0
Multiple papilloma	ADH*	7.0	2.5
Papillary carcinoma	DCIS [†]	22.5	11.5
Papillary carcinoma	iIDC [‡]	20.5	0

Association between associated lesions, cyclin D1 and MIB-1 were not significantly different ($p > 0.05$).

*ADH = Atypical ductal hyperplasia; [†]DCIS = ductal carcinoma in situ; [‡]iIDC = ipsilateral invasive ductal carcinoma.

예(5.26%)가 연관되어 있었다. 단일성 유두상 종양환자에서 이형성관증식증 2예(10%), 동측성 침습성 유관암 1예(5%)가 연관되어 있었고, 다발성 유두상 종양환자에서 이형성관증식증 1예(10%)가 연관되어 있었고, 유두상 유방암환자에서 관상피내암 1예(12.5), 동측성 침습성 유관암 1예(12.5%)가 연관되어 있었다(Table 3). 그리고 연관된 병변과 cyclin D1, MIB-1 사이의 비교분석에서 통계적 유의성은 없었다(Table 4).

Table 5. Association between cyclin D1, MIB-1, residual lesion and recurrence

	Labelling index(%)	
	Cyclin D1	MIB-1
Residual lesion (Multiple papilloma)	1.0	0
Recurrence (Single intraductal papilloma)	1.0	0

Association between cyclin D1, MIB-1 and residual lesion and recurrence were not significantly difference ($p > 0.05$).

Table 6. Association between cyclin D1, MIB-1, node metastasis, size of the papillary carcinoma

Case	Tumor size (cm)	Node metastasis	Labelling index (%)	
			Cyclin D1	MIB-1
1	6.0	—	22.5	11.5
2	4.0	—	0	0
3	3.5	—	32.4	15.0
4	3.0	—	92	0
5	3.0	—	48.5	0
6	3.0	—	20.5	0
7	2.0	—	33	7.0
8	1.5	—	44.5	6.0

Association between cyclin D1, MIB-1 and node metastasis and size of the papillary carcinoma were not significantly different ($p > 0.05$).

5) 잔여병소 및 재발의 빈도

유두상 유방 종양환자 중 여러 가지 술식으로 수술 후에 불완전 절제로 인한 잔여병소가 1예(2.63%)로 다발성 유두상 종양환자에서 1예(10%)있었고, 유두상 유방병변환자중 1예(2.63%)에서 재발이 있었는데 단일성 유두상 종양환자에서 1예(5%) 있었다. 그리고 잔여병소 및 재발의 빈도와 cyclin D1, MIB-1 사이에 통계적 차이는 없었다(Table 5).

6) 악성 유두상 종양의 크기, 림프절 전이, 생존율의 비교분석

악성 유두상 종양에서 평균크기는 3.31 ± 1.31 cm이었고, 8예 모두 전이된 림프절은 없었으며, 생존율은 100%로 조사되었으며, cyclin D1, MIB-1과 통계분석에서 통계적 의미는 없었다(Table 6).

고 찰

유방의 양성 유두상 종양은 단일성 혹은 다발성으로 발생할 수 있으며, 단일성 유두상 종양은 주로 유두하에 위치한 주유관에서 발생하고 폐경기를 전후한 50대 여성에서 가장 호발하고, 장액성 또는 혈성의 유두 분비물을 보인다.(8) 다발성 유두상 종양은 주로 유방의 변연부에서 관찰되며, 단일성 종양에 비해 약 10년 정도 젊은 나이의 여성에서 발병률이 높다고 알려져 있다.(9) 그러나 본 연구에서는 단일성 유두상 종양의 경우 다발성 유두상 종양보다 오히려 약간 젊은 연령에서 발병하여 다른 보고와는 차이를 보였다.

양성 유두상 종양은 직경이 1 cm 이하로 크기가 작으며 확장된 유관이나 낭성 병변 내에서 섬세한 용모상 혹은 분지상 성장을 하여 stalk을 지닌 경우도 있으나, sessile polyp으로 나타나기도 하며, 쉽게 부서진다. 현미경 소견상 종양은 유두상 성장을 하며, 각각의 유두는 섬유혈관성 결합조직으로 구성된 중심축과 이를 둘러싸는 한 층의 입방형 또는 원주형의 상피세포와 근상피세포로 구성되어 있다. 부위에 따라서 다양한 형태와 크기의 관상 구조의 증식이나 충실성 상장을 관찰할 수 있으며, 상피세포의 아포크린 화생이나 간질의 경화와 초자양화도 흔히 발견된다. 때로 상피세포가 비정형성을 보일 경우 악성 유두상 종양과의 감별이 필요하다. Kraus와 Neubecker(10)는 조직소견상 악성 유두상 종양과 양성 유두상 종양의 차이점을 기술하였는데, 근상피세포가 발견되지 않고, 세포의 심한 비정형성과 비정상적인 유사분열상을 보이며, 중심부위 혈관 결합조직의 소실과 증식된 관상 조직내 규칙적으로 배열된 소내강이 보이고, 간질의 경화나 초자양화가 없으며, 상피세포의 아포크린 화생이 발견되지 않는 경우 양성보다는 악성을 더 의심할 수 있다고 하였다. 유두상 종양이 악성 유두상 종양의 전구병변인지에 대한 논란이 계속되어 왔으나 현재 단일성 관내 유두상 종양은 양성이며 악성 유두상 종양의 전구병변이 아니라는 견해가 지배적이다.(11) 그러나 다발성 유두상 종양은 재발을 잘하고 악성 유두상 종양으로 진행되는 위험도가 있기 때문에 이를 구별해야 하며,(12) 조직학적으로 섬유 낭종성 변화에서 관찰되는 관내 상피세포의 유두상 증식과는 다르다.(9) 본 연구에서 단일성 관내유두종, 다발성 유두종, 악성 유두상 종양들이 각각 비정형 관상피증식증 혹은 관상피내암 혹은 침윤성 유관암과 15%, 10%, 25% 연관되어 있었는데 단일성 및 다발성 유두상 종양들이 악성 유두상 종양의 전구 병변은 아닌 것으로 추측되고 오히려 침윤성 유관암의 전구 병변일 수도 있으므로 다양한 종양 표지자의 발현양상과 유전자 변이에 관한 연구들을 필요로 하겠다.

Cyclin D1은 정상적으로 세포주기의 G1 단계에서 핵 내

에 최고로 축적된 후 S 단계에서 대부분이 없어지며, 성장 인자들의 자극에 의해 그 합성이 증가되는 것으로 알려져 있다.(13) Cyclin D1은 Rb 단백질과의 상호작용을 통해 Rb 단백질 또는 다른 성장 억제 인자들의 기능을 억제하여 세포의 변형 및 증식을 초래할 수 있다.(14) Cyclin D1 단백질은 염색체의 11q13 부위에 위치하는 CCND1 유전자에 의해 합성된다. 유방암종의 약 10~20%에서 11q13 부위의 증폭이 관찰된다고 하며, cyclin D1 단백질의 과발현 또한 30~80% 정도로 나타나 연구자에 따라 매우 다양하다.(15) 이처럼 cyclin D1 단백질의 과발현이 유전자 증폭보다 높은 것은 cyclin D1 발현이 유전자 증폭이외의 유전자의 돌연변이나 전위에 의해 일어날 수 있음을 나타내며, 호르몬, 특히 에스트로겐에 대한 민감도의 증가에 의한 결과에 기인한다고 알려져 있다.(16)

Weinstat-Saslow 등(17)은 in situ hybridization을 이용하여 유방병변에서 cyclin D1 mRNA를 측정하였는데 cyclin D1의 과발현이 양성 및 비정형 관상피증식증에서는 20%, 저등급 관상피내암종 76%, 고등급 관상피내암종 87% 및 침윤성 유방암종에서는 72%로서 cyclin D1의 과발현이 유방암종의 침윤 정도와 관련있다고 보고하였다. Saddik 등(18)은 8예의 양성 유두종과 6예의 유두상 암종조직에서 cyclin D1에 대한 면역조직화학 염색을 시행한 결과 악성 유두상 종양에서 cyclin D1에 양성을 보이는 표지指수가 89 ± 18 로 양성 유두상 종양의 8 ± 7 에 비해 유의하게 높았다고 하였다. 본 연구에서도 cyclin D1의 표지指수가 악성 유두상 종양에서 36.7 ± 27.0 로 양성 유두상 종양의 3.5 ± 4.2 보다 유의하게 높아서 유방의 유두상 병변에서 양성 및 악성의 감별에 유용할 것으로 추정된다. 그러나 본 연구의 악성 유두상 종양에서 cyclin D1의 표지指수가 Saddik 등(18)의 보고에 비하여 상당히 낮은 이유는 면역조직화학적 검사의 판독상의 기준이 표준화되어 있지 않은 결과로 차이가 발생할 수 있을 것으로 추정되며 핵이 염색되는 면적과 염색 강도를 포함한 새로운 판독 기준이 필요할 것이다. 본 연구에서 연관된 병리소견을 갖고 있는 유두상 종양에서 cyclin D1의 발현 양상은 유의한 차이가 없었으나 단일성 양성 유두상 종양과 악성 유두상 종양에서 연관된 병리소견을 가질 때 평균치보다 약간 낮은 발현율을 보여 준다. 따라서 각각의 유두상 종양들에서 비정형 유관 증식증, 관상피내암, 침윤성유관암 등의 연관된 발생에 대한 기전에 대하여 cyclin D1 발현의 역할을 아직 알 수 없는 것 같다. 단일성 양성 유두상 종양에서 재발한 1예의 cyclin D1 발현의 의미있는 차이는 보이지 않았는데 양성 유두상 종양의 재발은 생물학적 성질의 이차적 변화가 원인인 것 같지 않다.

Ki-67은 G0를 제외한 G, S, G2, M기에서 정상적으로 발현되는 세포증식과 관련된 핵항원이고,(7) MIB-1 단클론

성 항체는 Ki-67 항원을 인식한다.(19) Saddik 등(18)은 Ki-67 면역조직화학염색상 유두상 종양세포의 표지指수가 13 ± 6 으로서 양성 유두상 종양에서의 8 ± 2 에 비해 유의하게 높았다고 하였다. 그러나 Ki-67의 경우 악성 유두상 종양과 양성 유두상 종양에서의 발현율의 차이가 cyclin D1에 비해 낮았으며 악성 유두상 종양에서 cyclin D1의 발현율은 평균 89%인데 비해 Ki-67에 양성인 세포는 13%로 큰 차이를 보이므로 악성 유두상 종양에서 cyclin D1의 과발현이 세포의 증식과 직접 관련된 것이 아님을 시사한다고 주장하였다. 본 연구에서도 cyclin D1과 MIB-1 모두 악성 유두상 종양에서의 발현율이 양성 유두상 종양에 비해 높았으나, 악성 유두상 종양에서 상대적으로 cyclin D1 발현율이 MIB-1의 발현율보다 높게 나타나 Saddik 등(18)의 연구 결과와 유사하였다. 이는 cyclin D1이 암종의 발생에 있어 단독으로 작용하기보다는 다른 암유전자의 도움을 필요로 하며 특히 분화도가 좋은 악성 유두상 종양에서 cyclin D1의 발현율이 MIB-1의 발현율보다 상대적으로 크게 높은 양상을 볼 때 유방조직에서 cyclin D1의 증가는 오히려 세포의 성장을 억제하고 분화를 유도할 수 있다는 다른 연구의 견해와 부합하는 것 같다.(20) 또한 세포주기의 G1기를 조절하는 어떤 기전에 의해 cyclin D1의 기능이 조절될 것으로 추정되었는데 Wagasugi 등(21)의 연구에서 30예의 유방암종 중 25예(83%)에서 E2F-1의 유리를 억제하는 저인산화형태의 Rb 단백질이 관찰되었으며, 나머지 5예에서만 과인산화형태의 Rb 단백질이 관찰된 점은 이와 같은 사실을 뒷받침 해주는 결과로 생각된다.

유방의 악성 유두상 종양은 성장률은 느린 편이며 증식 기간은 비교적 길어 종괴 축적 후 조직검사로 진단이 되기까지의 기간은 1년 이상인 경우가 많은 것으로 보고되어 있다.(22) 그러나 액와림프절로의 전이는 드물고, 액와림프절 전이가 있더라도 3개 이상은 넘지 않는다고 보고되고 있으며, 액와림프절 전이가 있더라도 매우 양호한 예후를 나타낸다고 하였다.(23) 재발도 비교적 늦게 발생하는데, 5년 이후에 발생하는 경우가 많아서 비교적 양호한 예후를 가진 유방암의 종류라고 생각된다.(1,22,23) 본 연구에서도 8예의 악성 유두상 종양에서 액와 림프절 전이는 없었으며, 모두 다 생존해 있어서 비교적 양호한 예후를 보여 주었다.

최근, cyclin D1에 대한 항체가 임상적으로 사용 가능해짐에 따라 유방암에서 cyclin D1에 대한 후향적 또는 전향적인 예후의 진단과 면역조직화학검사의 분석연구가 진행되고 있다. 침윤성 유방암종에서 Cyclin D1의 발현은 에스트로겐 수용체의 발현과 의미있는 비례관계를 보이는 것으로 밝혀진 바 있는데, 이는 에스트로겐이 다른 여러 성장인자들과 함께 초기 및 중기 G1기에서 cyclin D1 단백질을 증가시켜 세포의 증식을 자극하기 때문일 것으로 추정되며, 유방암종에서 11q13 유전자의 증폭이 cyclin D1

의 발현뿐 아니라 에스트로겐 수용체의 발현과도 비례한다는 연구 결과도 보고되어 있다.(24) Gillette 등(25)은 유방암 환자 345예 중, 50%에서 cyclin D1의 과발현이 관찰되었고 cyclin D1이 발현된 경우 암의 재발률이 적었고 전체 생존율도 높았다고 보고하였고, Surtherland 등(26)은 정상 유방세포들의 배양실험에서 cyclin D1은 에스트로겐을 포함한 호르몬들이 유방 상피 세포들의 증식에 영향을 미치는 데 관여한다고 하였다. 그러나 Kenny 등(27)은 에스트로겐 수용체 양성인 유방암종의 경우에 cyclin D1 mRNA의 측정치가 높을수록 재발율, 국소 및 원격 전이율, 사망률이 모두 유의있게 높았으며 에스트로겐 수용체가 발현되지 않는 경우에는 관련성이 없었으므로 cyclin D1의 발현이 에스트로겐 수용체 양성인 유방암종에서 환자에서 나쁜 예후를 예측할 수 있는 인자라고 하였다. Michalides 등(28)은 유방암으로 수술받은 248예를 분석하면서, cyclin D1의 과발현과 에스트로겐 수용체간에 연관성은 있지만 암의 재발이나 전체 생존율에는 관계가 없었다고 보고하였고, McIntosh 등(29)도 92예에서 cyclin D1과 예후간의 관계가 없었다고 하였으며, 액와림프절 전이 유무에 대한 연관성은 림프절 전이가 있는 경우 cyclin D1의 발현율이 높다는 보고도 있으나(30) 다른 보고에서는 대부분이 연관성이 없다고 하며,(31) 본 연구에서도 cyclin D1의 발현정도가 다소 암의 크기가 작을수록 높은 추세를 보이지만 실제로 암의 크기와는 상관이 없었으며 림프절 전이 및 생존율과도 연관이 없었다. Veronese 등(32)의 유방암에 관한 보고에서는 Ki-67 LI가 20 이하인 군에서는 79.1%의 5년생존율을 보여 20 이상인 군의 55.3%에 비해 생존율이 현저히 높았다고 하였다. Pence 등(33)은 non small cell lung cancer에서 종양의 크기를 3 cm를 기준으로 나뉘었을 때 Ki-67 LI의 평균값에 유의한 차이가 있었다고 하였으나 Slymen 등(34)은 Diffuse Large Cell Lymphoma에서 종양괴의 크기를 10 cm를 기준으로 나뉘었을 때 p value가 0.54로 Ki-67 LI의 평균치에 의미있는 차이가 없었다고 하였고, Kakeji 등(35)의 위암에 관한 연구에서도 종양의 직경을 7 cm 기준으로 나누어 비교해 본 결과 유의한 차이는 없었다고 하였다. 림프절 전이 양성군과 음성군을 비교한 조사 결과, Jain 등(36)의 PCNA를 이용한 위암환자에 관한 보고에서 PCNA index가 두 군 사이에 의미있는 차이가 없다고 하였고, Michael 등(37)의 Ki-67 LI를 이용한 대장 직장암에 관한 보고에서도 차이가 없다고 하였다. 본 연구에서도 유두상 유방암에서 Ki-67과 크기, 림프절 전이, 생존율 사이에서 연관성이 없었다.

종합하여 유방의 유두상 병변에 있어 악성 유두상 종양과 양성 유두상 종양 간에 면역조직화학염색상 cyclin D1, MIB-1 단백 발현은 유의있는 차이가 있어 악성 유두상 종양과 양성 유두상 종양의 감별에 유용성이 있으며 암발생의 초기 단계에 관여하는 것으로 추정된다. 그러나 단일

성 및 다발성 유두종 간의 cyclin D1, MIB-1 단백 발현의 차이가 거의 없었다. 그리고 악성 유두상 종양에서 cyclin D1과 MIB-1의 발현율과 암의 크기, 림프절 전이 및 생존율과의 상관관계가 발견되지 않음을 볼 때 cyclin D1, MIB-1이 단독으로 예후인자로서 또는 치료 후 예후인자로서의 역할은 하기 어려울 것으로 생각된다. 따라서 악성 유두상 종양에서 cyclin D1과 MIB-1의 세포의 성장과 분화에 대한 복잡한 작용기전에 관하여 계속적으로 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

유방의 악성 유두상 종양 8예와 양성 유두상 종양 30예를 대상으로 면역조직화학염색을 이용하여 cyclin-D1과 MIB-1 단백 발현 정도를 검사하였다. 이 결과 악성 유두상 종양에서 양성 유두상 종양에 비해 cyclin-D1과 MIB-1 단백 발현이 모두 유의 있게 높았다. 이러한 결과는 통상적인 염색방법으로 감별이 어려운 악성 유두상 종양과 양성 유두상 종양을 진단하는데 부수적으로 사용될 수 있을 것으로 생각이 된다.

REFERENCES

- 1) Carter D. Intraductal papillary tumors of the breast: a study of 76 cases. *Cancer* 1979;39:1689-962.
- 2) Rosen PP. *Rosen's Breast Pathology*. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven; 1997. p.341-54.
- 3) Buhl-Jorgesen SE, Fischermann K, Johansen H, Peterson B. Cancer risk in intraductal papilloma and papillomatosis. *Surg Gynecol Obstet* 1968;127:307-13.
- 4) Rosen PP, Oberman HA. Invasive carcinoma. In: *Tumors of the Mammary Gland*. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology 1992:157-257.
- 5) Landberg G, Roos G. The cell cycle in breast cancer. *APMIS* 1997;105:575-89.
- 6) Sherr CJ. Cancer cell cycles. *Science* 1996;274:1672-7.
- 7) Weikel W, Beck T, Mitze M, Knapstein PG. Immunohistochemical evaluation of growth fractions in human breast cancer using monoclonal antibody Ki-67. *Breast Cancer Res Treat* 1991;18:149-54.
- 8) Moross T, Lang AP, Mahoney L. Tubular adenoma of breast. *Arch Pathol Lab Med* 1983;107:84-6.
- 9) Rosen PP, Oberman HA. Benign epithelial lesions. In: *Tumors of the Mammary Gland*. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology 1992. p.72-8.
- 10) Kraus FT, Neubecker RD. The differential diagnosis of papillary tumors of the breast. *Cancer* 1962;15:444-55.
- 11) Rosen PP. Arthur Purdy Stout and papilloma of the breast. Comments on the occasion of his 100th birth day. *Am J Surg Pathol* 1986;10:100-7.

- 12) O'Hara MF, Page DL. Adenomas of the breast and ectopic breast under lactational influences. *Hum Pathol* 1985;16:707-13.
- 13) Lukas J, Pngano M, Staskova Z, Draetta G, Bartek J. Cyclin D1 protein oscillates and is essential for cell cycle progression in tumor cell lines. *Oncogene* 1994;9:707-18.
- 14) Bates S, Peter G. Cyclin D1 as a cellular proto-oncogene. *Cancer Biol* 1995;6:73-82.
- 15) Bartkova J, Lukas J, Muller H, Luthoft D, Strauss M, Bartek J. Cyclin D1 expression and function in human breast cancer. *Int J Cancer* 1994;57:353-761.
- 16) 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.
- 17) Weinstat-Saslow D, Merino MJ, Manrow RE, Lawrence JA, Bluth RF, Wittenbel KD, et al. Overexpression of cyclin D1 mRNA distinguishes invasive and in situ breast carcinomas from non-malignant lesions. *Nat Med* 1996;1:1257-60.
- 18) Saddik M, Lai R, Medeiros LJ, McCourty A, Brynes RK. Differential expression of cyclin D1 in breast papillary carcinomas and benign papillomas. An immunohisto-chemical study. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:152-6.
- 19) Sjostrom J, Blomqvist C, Heikkila P, Boguslawski KV, Rasanen-Sokolowski A, Bengtsson NO, et al. Predictive value of p53, mdm-2, p21, and mib-1 for chemotherapy response in advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6:3103-10.
- 20) Bodrug SE, Warner BJ, Bath ML, Lindermna GJ, Harris AW, Adans JM. Cyclin D1 transgene impedes lymphocyte maturation and collaborates in lymphomagenesis with the myc gene. *EMBO J* 1994;13:2124-30.
- 21) Wakasugi E, Kobayashi T, Tamaki Y, Nakano Y, Miyashiro I, Komoike Y, et al. Analysis of phosphorylation of pRb and its regulatory proteins in breast cancer. *J Clin Pathol* 1997; 50:407-12.
- 22) Carter D, Orr SL, Merino MJ. Intracystic papillary carcinoma of the breast after mastectomy, radiotherapy or excisional biopsy alone. *Cancer* 1983;52:14-9.
- 23) Hunter CE Jr, Sawyers JL. Intracystic papillary carcinoma of the breast. *South Med J* 1980;73:1484-6.
- 24) Michalides R, Hageman P, van Tinteren H, Weintjens E, Klopemaker R, Peterse J. A clinicopathological study on overexpression of cyclin D1 and of p53 in a series of 248 patients with operable breast cancer. *Br J Cancer* 1996;73:728-34.
- 25) Gillett CE, Fantl V, Smith R, Gregory WM, Richards MA, Millis RR, et al. Cyclin D1 and prognosis in breast cancer. *Int J Cancer (Pred. Oncol.)* 1996;69:92-9.
- 26) Sutherland RL, Watts CKW, Musgrove EA. Cyclin gene expression and growth control in normal and neoplastic human breast epithelium. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993;47:1-6.
- 27) Kenny FS, Hui R, Musgrove EA, Gee JMW, Blamey RW, Nicholson RI, et al. Overexpression of cyclin D1 messenger RNA predicts for poor prognosis in estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:2069-76.
- 28) Michalides R, Hageman P, Vantinteren H, Houben L, Wiwntjens D, Klopemaker R, et al. A clinicopathological study on overexpression of cyclin D1 and p53 in series of 248 patients with operable breast cancer. *Br J Cancer* 1996;73:728-34.
- 29) McIntosh GG, Anderson JJ, Milton I, Steward M, Parr AH, Thomas MD, et al. Determination of the prognostic value of cyclin D1 overexpression in breast cancer. *Oncogene* 1995;11: 885-91.
- 30) Geradts J, Wilson PA. High frequency of aberrant p16(INK4A) expression in human breast cancer. *Am J Pathol* 1996;149: 15-20.
- 31) Buckley MF, Sweeney KJ, Hamilton JA, Sini RL, Mamming DL, Nicholson RI, et al. Expression and amplification of cyclin genes in human breast cancer. *Oncogene* 1993;8:2127-33.
- 32) Veronese SM, Gambacorta, Gottardi MO, Scanzi F, Ferrari M, Lampertico P. Proliferation index as a prognostic marker in breast cancer. *Cancer* 1993;71:3926-31.
- 33) Pence JC, Kerns BJM, Dodge RK, Iglehart JD. Prognostic significance of the proliferation index in surgically non-small-cell lung cancer. *Arch Surg* 1993;128:1382-90.
- 34) Slymen DJ, Miller TP, Lippman SK, Spier CM, Kerrigan DP, Rybski JA, et al. Immunobiologic factors predictive of clinical outcome in diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1990;8: 986-93.
- 35) Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S, Haraguchi M, Maechara Y, Sugimachi K. Predictive value of Ki-67 and argyrophilic nucleolar organizer region staining for lymph node metastasis in gastric cancer. *Cancer Research* 1991;51:3503-6.
- 36) Jain S, Filipe MI, Hall PA, Waseem N, Lane DP, Levison DA. Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. *J Clin Pathol* 1991;44:655-9.
- 37) Michael D Linden, Chan K MA, James Kubus, MS, Roland D Brown, Bs, Richard J Zarbo: Ki-67 and Proliferating cell nuclear antigen tumor proliferative indices in DNA diploid colorectal adenocarcinomas. *Anatomic Pathol* 1993;100:206-12.