

원발성 유방암에서 Cathepsin D의 발현과 예후인자와의 상관성

원광대학교 의과대학 외과학교실, ¹병리학교실

정우진 · 박동은 · 이광만 · 채권묵 · 윤기중¹

Relationship between Cathepsin D Expression and Other Prognostic Factors in Primary Breast Cancer

Woo Jin Chung, M.D., Dong Eun Park, M.D., Kwang Man Lee, M.D., Kwon Mook Chae, M.D. and Ki Jung Yoon, M.D.¹

Departments of Surgery and ¹Pathology, School of Medicine, Wonkwang University, Iksan, Korea

Purpose: Cathepsin D, a lysosomal protease has been proposed to play a role in the local invasion and metastatic dissemination in primary breast cancer. Although there are many conflicting results, the overexpression of cathepsin D has been considered to be related with a poorer prognosis of breast cancer. This study was designed to verify whether cathepsin D expression is related to other prognostic factors in breast cancer.

Methods: Cathepsin D was assessed by immunohistochemistry using murine monoclonal anti-cathepsin D antibody (ZyMED) in 79 paraffin-embedded primary breast cancer specimens. Cathepsin D expression was compared to other prognostic parameters such as tumor size, axillary lymph node metastasis, tumor histologic grades, hormone receptors (ER & PR), p53, *c-erb* B2, Ki-67, MVD (microvessel density), and Pgp (P-glycoprotein).

Results: A high-expression of cathepsin D was found in 35 of 79 patients (44.3%) with primary breast cancer. Cathepsin D expression was not related to tumor size, axillary lymph node metastasis, tumor histologic grades, hormone receptors, p53, Ki-67, or CD31. However, a significant relationship was found between cathepsin D expression and *c-erb* B2 ($p=0.007$), and between cathepsin D expression and Pgp ($p=0.003$).

Conclusion: These results suggest that cathepsin D expression may be an indicator of a poor prognosis in breast cancer. However, further studies are required to verify the

exact role of cathepsin D in the prognosis of breast cancer. (Journal of Korean Breast Cancer Society 2001;4:172-178)

Key Words: Cathepsin D, Prognostic factors in breast cancer

중심 단어: Cathepsin D, 유방암 예후인자

서 론

원발성 유방암은 서구뿐만 아니라 우리 나라에서도 발생률이 점차 증가하는 추세이며 암으로 인한 사망률 중 상당한 부분을 차지하고 있다. 최근 유방암의 예후인자에 대해서 많은 연구가 이루어지고 있는데, 이는 유방암의 사망률이 림프절 전이가 없는 조기암에서도 약 25%에 이른다는 점과 이런 경우 수술 후 보조 항암 화학요법이나 방사선 치료에 의해 생존율의 향상을 기대할 수 있다는 점에서 매우 중요하다고 할 수 있다. 지금까지 비교적 잘 알려진 유방암의 예후인자들은 액와 림프절 전이 유무, 종양의 크기, 호르몬 수용체 유무, 조직학적 분화도, DNA 배수성 및 종양의 증식능 등이 있으며, 최근 분자생물학적 연구방법을 이용하여 p53, CD31, Ki-67, Pgp (P-glycoprotein), *c-erb* B2, EGFR (epidermal growth factor receptor), cathepsin D, urokinase plasminogen activator, pS2 등이 새로운 예후인자로서 연구되고 있다.

Cathepsin D는 아스파틸 단백 분해 효소(aspartyl protease)로써 분자량 52 kD의 당단백으로 이루어져 있다. cathepsin D는 정상적으로 모든 세포의 lysosomes 내에 낮은 농도로 존재하며 유방암 세포에서 에스트로겐의 작용으로 생산이 증가되어 암의 침윤과 원격 전이에 관여한다고 알려져 있다. 그 작용 기전에 대해서는 정확히 알려지지 않았지만 지금까지 나온 연구 결과에 의하면 크게 두 가지로서 기저막과 세포외 기질을 분해시키는 단백 분해 작용과 다른 하나는 IGF-II (insulin-like growth factor) 수용체를 통한 세포 분열 촉진으로서 이들 작용에 의해 국소 침윤과 원격전이가 증가한다는 것이다.(1)

Cathepsin D의 측정 방법에 대해서는 아직 표준화가 이루어지지 않고 있으며 cathepsin D가 유방암에 있어서 독

책임저자 : 이광만, 전북 익산시 신용동 344-2

☎ 570-711, 원광의대병원 외과

Tel: 063-850-1205, 1208, Fax: 063-855-2386

E-mail: leekm@wonkms.wonkwang.ac.kr

접수일 : 2001년 2월 10일, 게재승인일 : 2001년 2월 20일

립된 예후인자로서 의의가 있는가에 대해서도 논란이 있으나 현재 하나의 독립된 예후인자로 받아들여지고 있다.(2,3) 유방암에서 cathepsin D의 발현이 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체와 상관성이 있는지에 대해서는 대부분의 연구에서 상호 연관성이 없는 것으로 나타나 있으며 다른 예후인자들과도 상관관계가 없는 것으로 알려져 있다.(4-11)

본 연구에서는 이 점에 초점을 두어 유방암에서 cathepsin D의 발현양상이 종양의 크기, 액와 림프절 전이 유무, 조직학적 등급, 에스트로겐 수용체 및 프로게스테론 수용체 유무, p53 단백 발현, Ki-67 발현, CD31 발현, c-erb B2 발현, Pgp 발현 등과 어떤 연관성이 있는지 알아보려고 하였다.

방 법

1) 연구대상

1997년 8월부터 1999년 7월까지 24개월 동안 원광대학교 의과대학 외과학교실에서 원발성 유방암 진단하에 근치적 수술을 시행한 환자 중 병력 기록 및 파라핀 포매괴의 보존 상태가 양호한 79예를 대상으로 하였다. 환자는 모두 여성이었고, 26세부터 87세까지의 나이 분포(평균 46.8세)를 보였다.

2) 연구방법

연구대상 환자의 병리 보고서를 포함한 임상 기록을 검토하여 AJCC (American Joint Committee on Cancer, 1992)의 TNM 병기에 따라 종양 크기를 T₁ (2 cm 이하 크기), T₂ (2 cm 초과 5 cm 이하), T₃ (5 cm 초과), T₄ (크기에 관계없이 흉벽이나 피부 침범)로 구분하였고, 액와 림프절 전이 유무는 N₀ (림프절 전이가 없는 경우), N₁ (가동성 림프절 전이군), N₂ (고정성 림프절 전이군), N₃ (internal mammary group의 림프절 전이군)로 분류하였다. 연구 대상의 조직 표본을 찾아 병리 조직학적 검사를 시행하였다.

(1) 조직학적 등급: 전체 79예 중 병리조직학적 검사결과 침윤성 유관암으로 판명되었던 70예에서 Bloom과 Richardson의 방법을 변형한 Nottingham 방법을 이용하여 조직학적 등급을 분류하였으며, 이를 간략히 설명하면 세관형성(tubule formation), 핵 이형(nuclear pleomorphism), 유사분열세포수(mitotic count) 등 세 가지 항목에 따라 각각 점수를 부여하여 총점이 3~5점이면 I 등급(고분화성), 6~7점이면 II 등급(중등도 분화성), 8~9점이면 III 등급(저분화성)으로 구분하였다.

(2) 면역조직화학적 염색 방법

① Cathepsin D의 면역조직화학적 염색: 대상 환자의 파라핀 포매괴를 찾아 암세포 침윤이 가장 많은 부위를 4 μm 두께로 박절하고 상용화된 ProbeOn-Plus slide (Fisher

Scientific)에 부착하여 xylene을 이용하여 파라핀을 제거하고, 무수 알콜로 xylene을 제거한 후 증류수에 함수시켰다. Auto Blocker (Research Genetic)로 내인성 peroxidase의 작용을 억제시키고, citrate buffer (pH 6.0)에 5분간 반응시킨 후 일차 항체(murine monoclonal antibody, ZyMED)를 1 : 50으로 희석시켜 실온에서 60분간 반응시켰다. 그 후 이차 항체로 반응시키고, AEC 용액으로 발색시켰다. Hematoxylin을 1분간 반응시켜 대조 염색을 한 후 물로 씻고 봉입하여 현미경으로 검정하였다.

② 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체(ER & PR), p53, c-erb B2, Pgp, CD31, Ki-67 등의 면역조직화학적 염색: 위와 같은 방법으로 탈파라핀 후 함수 과정을 거친 다음, Auto Blocker (Research Genetic)로 내인성 peroxidase를 저지시키고, CD31은 45°C에서 4분간 pepsin 처리한 후, 그리고 ER, PR, Ki-67은 citrate buffer (pH 6.0)에 5분간 처리한 후, 각각의 일차 항체를 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 일차 항체의 농도는 각각 c-erb B2 (ZyMED) 1 : 50, Pgp (SANBIO) 1 : 20, p53 (DAKO) 1 : 50, CD31 (DAKO) 1 : 50, ER (ZyMED) 1 : 50, PR (ZyMED) 1 : 50, Ki-67 (ZyMED) 1 : 50 등이었다. 그 후 이차 항체로 반응시키고 AEC 용액으로 발색시켰다. Hematoxylin을 1분간 반응시켜 대조 염색한 후, 수세하고 봉입하여 현미경으로 관찰하였다.

(3) 면역조직화학적 염색의 판독: Cathepsin D는 광학현미경하에서 전체 종양 세포 중 적갈색으로 염색된 암세포가 50% 미만이면 저발현, 50% 이상이면 고발현으로 정의하였다. ER, PR, p53, c-erb B2, Pgp 등은 염색된 암세포가 5% 미만이면 음성, 5% 이상이면 양성으로 정의하였으며, Ki-67은 50% 미만이면 저발현, 50% 이상이면 고발현으로 정의하였다. CD31의 경우에는 저배율 현미경하에서 관찰하여 염색이 잘 되어 혈관이 가장 풍부한 곳을 선택한 후 200배 시야에서 미세혈관의 절대수를 세어 미세혈관 밀도(microvessel density, MVD)를 음성, 약양성, 중등도 양성, 강양성(-, +, ++, +++)의 4등급으로 표시하였다.

(4) 통계학적 분석: 통계학적 검정은 SPSS window 통계 프로그램을 이용하였다. Cathepsin D의 발현 정도와 다른 예후인자들 간의 상관관계는 chi-square test로 검정하였고, p값이 0.05 미만인 경우를 유의 있는 경우로 해석하였다.

결 과

전체 79예 중 35예(44.3%)에서 cathepsin D 고발현을 보였고, 44예(55.7%)에서는 저발현을 보였다.

1) Cathepsin D 발현과 종양 크기, 액와림프절 전이 유무 및 조직학적 등급과의 관계(Table 1)

종양의 크기를 TNM 병기(1992, AJCC)에 따라 T₁부터 T₄까지 구분하여 각각에서의 cathepsin D 발현율을 조사한

Table 1. Relationship between pathologic characteristics and cathepsin D expression

Variables	No. of case	Cathepsin D		p value
		High	Low	
Tumor size	79			
T ₁	19	8 (42.1%)	11 (57.9%)	0.63
T ₂	50	21 (42.0%)	29 (58.0%)	
T ₃	4	3 (75.0%)	1 (25.0%)	
T ₄	6	3 (50.0%)	3 (50.0%)	
Axillary LN	79			
N ₀	43	17 (39.5%)	26 (60.5%)	0.24
N ₁	24	14 (58.3%)	10 (41.7%)	
N ₂	12	5 (41.7%)	7 (58.3%)	
Histologic grades	70			
I	20	5 (25.0%)	15 (75.0%)	0.082
II	34	19 (55.9%)	15 (44.1%)	
III	16	8 (50.0%)	8 (50.0%)	

결과, T₁ 19예 중 8예(42.1%)에서 cathepsin D 고발현을 보였고, T₂ 50예 중 21예(42.0%), T₃ 4예 중 3예(75.0%), T₄ 6예 중 3예(50.0%)에서 각각 cathepsin D의 고발현을 보여 이들 사이에 통계적으로 유의한 상관성은 없었다(p=0.63).

액와림프절 전이 유무에 따른 cathepsin D의 발현율을 조사한 결과, 림프절 전이가 없는 N₀는 43예 중 17예(39.5%)에서 고발현을 보였고, N₁은 24예 중 14예(58.3%), N₂는 12예 중 5예(41.7%)에서 고발현을 보여, 이들 사이에 통계적으로 유의한 상관성은 없었다(p=0.24).

침윤성 유관암 70예에서 조직학적 등급에 따른 cathepsin D의 발현율을 조사한 결과, I 등급인 고분화성 암은 20예 중 5예(25.0%), II 등급인 중등도 분화성 암은 34예 중 19예(55.9%), III 등급인 저분화성 암은 16예 중 8예(50.0%)에서 고발현을 보여, 이들 간에 통계학적으로 유의한 상관성은 없었으나 암의 분화도가 낮을수록 cathepsin D 고발현군이 증가하는 경향을 보였다(p=0.08).

2) Cathepsin D 발현과 다른 생물학적 예후인자들 간의 관계(Table 2)

에스트로겐 수용체(ER) 유무에 따른 cathepsin D 발현율은 ER 양성인 65예 중 27예(41.5%), ER 음성인 14예 중 8예(57.1%)에서 cathepsin D 고발현을 보여, 이들 간에 통계학적으로 유의한 상관성을 보이지 않았다(p=0.29).

프로게스테론 수용체(PR)와의 상관성에 대해서는 78예를 대상으로 조사하였는데, PR 양성인 63예 중 29예(46.0%), PR 음성인 15예 중 6예(40.0%)에서 cathepsin D의 고발현을 보여, 이들 사이에 통계학적으로 유의한 상관성은 없

Table 2. Relationship between biologic properties and cathepsin D expression

Variables	No. of case	Cathepsin D		p value
		High	Low	
ER	79			
+	65	27 (41.5%)	38 (58.5%)	0.29
-	14	8 (57.1%)	6 (42.9%)	
PR	78			
+	63	29 (46.0%)	34 (54.0%)	0.67
-	15	6 (40.0%)	9 (60.0%)	
p53	79			
+	37	18 (48.6%)	19 (51.4%)	0.47
-	42	17 (40.5%)	25 (59.5%)	
Ki-67	78			
High	28	15 (53.6%)	13 (46.4%)	0.18
Low	50	19 (38.0%)	31 (62.0%)	
MVD	74			
+++	16	6 (37.5%)	9 (62.5%)	0.35
++	22	8 (36.4%)	15 (63.6%)	
+	26	10 (38.5%)	16 (61.5%)	
-	10	6 (60.0%)	4 (40.0%)	
c-erb B-2	78			
+	54	29 (53.7%)	25 (46.3%)	0.007
-	24	5 (20.8%)	19 (79.2%)	
Pgp	77			
+	35	22 (62.9%)	13 (37.1%)	0.003
-	42	12 (28.6%)	30 (71.4%)	

MVD = microvessel density; Pgp = P-glycoprotein.

었다(p=0.67).

p53 단백질 유무에 따른 cathepsin D 발현율을 조사한 결과, p53 양성인 37예 중 18예(48.6%)와 p53 음성인 42예 중 17예(40.5%)에서 cathepsin D 고발현을 보여, 이들 사이에 통계학적으로 유의한 상관성은 없었다(p=0.47).

Ki-67 발현과의 비교는 78예에서 이루어졌는데, Ki-67 고발현군 28예 중 15예(53.6%), Ki-67 저발현군 50 중 19예(38.0%)에서 cathepsin D의 고발현을 보여, 이들 사이에 통계학적으로 유의한 상관성은 없었다(p=0.18).

CD31로 염색한 후 미세혈관 밀도(MVD)를 측정하여 cathepsin D 발현율과 비교(이는 74예에서 이루어짐)한 결과, MVD 음성인 10예 중 6예(60.0%), 약양성인 26예 중 10예(38.5%), 중등도 양성인 22예 중 8예(36.4%), 강양성인 16예 중 6예(37.5%)에서 cathepsin D 고발현을 보여, 이들 사이에 통계학적으로 유의한 상관성은 없었다(p=0.35).

c-erb B2 유무에 따른 cathepsin D 발현율을 비교(78예)한 결과, *c-erb* B2 양성인 경우는 54예 중 29예(53.7%)에서 cathepsin D 고발현을 보인 반면 *c-erb* B2 음성인 경우는 24예 중 5예(20.8%)에서 cathepsin D의 고발현을 보여, *c-erb* B2가 양성일 때 cathepsin D의 고발현군이 유의하게 증가하였다($p=0.007$).

Pgp (P-glycoprotein)와 cathepsin D 발현율을 비교(77예)한 결과, Pgp 양성인 경우는 35예 중 22예(62.9%)에서 cathepsin D 고발현을 보인 반면 Pgp 음성인 경우는 42예 중 12예(28.6%)에서 cathepsin D의 고발현을 보여, Pgp 양성인 예에서 cathepsin D의 고발현군도 유의하게 증가하였다($p=0.003$).

고 찰

지금까지 비교적 잘 알려진 유방암의 예후인자들은 액와 림프절 전이유무, 종양의 크기, 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체 유무, 조직학적 분화도, DNA 배수성, 종양의 증식능 등이며, 최근에는 p53, Ki-67, *c-erb* B2, EGF-R, uPA, pS2, Pgp, cathepsin D 등의 많은 생물학적 표지자들이 새로운 예후인자로 등장하였다.(12-21) 이들에 대한 연구는 현재에도 활발히 이루어지고 있고 독립된 예후인자로서 사용될 수 있는지에 대한 논란이 계속되고 있는 실정이다.

이들 중 cathepsin D는 생체 내 모든 세포의 lysosome 내에 낮은 농도로 존재하는 아스파틸 단백분해효소(aspartyl protease)로 에스트로겐에 의해서 합성이 촉진되며 pH 3-5 정도의 산성인 미세 환경에서 그 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다. Cathepsin D는 활성이 없는 전구물질인 procathepsin D 형태로 정상 세포에 비해 암세포 내에 더 많은 양이 존재하는데, 유방암 세포주의 하나인 MCF-7 세포를 이용한 연구 결과에 따르면 정상 유방 조직의 procathepsin D와 암세포의 procathepsin D의 형태적인 차이가 있기는 하지만 그 작용은 유사한 결과를 나타내는 것으로 보아 cathepsin D는 질적인 면보다는 양적인 면에서 유방암 세포의 특징이 되는 것으로 여겨진다.(2)

유방암에서 cathepsin D의 과발현에 대해서는 여러 연구 결과가 나와 있다. 에스트로겐 수용체 양성 유방암에서는 cathepsin D 유전자의 5' 근위부에 위치한 ERE를 통해 에스트로겐에 의해 cathepsin D 발현이 직접적으로 촉진되고, 에스트로겐 수용체 음성 유방암의 경우는 정확한 기전은 알 수 없으나 어떤 성장 인자에 의해 과발현이 유도된다는 것이다.(23,24) Cathepsin D의 발현과 에스트로겐 수용체 간에는 연관성이 없다는 주장도 있지만,(25) 현재는 cathepsin D의 발현은 에스트로겐에 의해 유도된다는 것이 일반적으로 받아들여지고 있다. 한편 Marsigliante등(5)에 의하면 cathepsin D의 발현이 에스트로겐 수용체 존

재 자체와 관련성을 가지는 것이 아니라 에스트로겐 수용체의 기능과 관계가 있고, 종양 내 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체와 p29 모두가 존재할 때 cathepsin D의 합성이 이루어진다고 하였다.

Cathepsin D가 암전이 과정에 관여하는가에 대해서 Rochefort등(24)은 사람의 procathepsin D 발현 vector를 cathepsin D가 분비되지 않는 쥐의 종양 세포주인 3YA12에 전입(transfection)시켜 암전이가 증가하는 것을 발견하였다. Cathepsin D가 어떤 기전에 의해 암전이를 증가시키는가에 대해서는 여러 가지 가설이 존재하는데 현재 가장 가능성이 높은 가설은 cathepsin D가 세포 기저막을 파괴하는 단백분해능을 가진다는 것이다. 단백분해작용은 산성의 pH에서 가장 잘 일어나며 pepstatin에 의해 특이적으로 저해되나 천연 저해제는 아직 알려지지 않은 상태이다. 또 다른 cathepsin D의 작용으로는 insulin-like growth factor II (IGF-II) 수용체를 통한 세포분열 촉진(mitogenic activity), 즉 성장 인자로서의 작용이 알려져 있다.(1) 이 두 가지 작용이 암 침습 및 전이 과정에서의 cathepsin D의 역할로 제시되고 있다. 그러나 이러한 가설들에 대한 반대 의견도 존재하는데, Johnson등(27)은 인공 기저막을 이용한 실험 논문에서 cathepsin D의 분비 자체가 암세포의 침윤성을 결정하는 요인이 아니며, cathepsin D 농도가 높은 경우 안 좋은 예후를 보이는 것은 아마도 종양 내에 대식세포와 같은 침윤성 염증세포의 cathepsin D 농도가 높기 때문이라고 주장하였다. 그는 이를 뒷받침하는 근거로 종양 내 면역세포의 침윤이 불량한 예후와 관련 있다는 Rilke등(28)의 연구 결과를 제시하였다. 그러나 Isola등(4)은 종양내 염증세포의 cathepsin D 발현은 암의 원격 전이나 환자의 생존율과 무관하다고 하였다. 그는 또 cathepsin D의 mitogenic activity에 대한 반론을 제기하기도 하였는데 cathepsin D와 세포증식 속도간에 의미 있는 연관성이 없다고 하였다. 본 연구에서도 종양증식능과 관련이 있다고 알려진 Ki-67 발현 정도와 cathepsin D 발현을 비교한 결과 양자가 무관하였다.

Cathepsin D의 임상적 적용에 관해서는 많은 이견이 존재하는데 종양 내 cathepsin D의 고농도가 무전이 기간 및 생존율을 현저히 감소시킨다는 보고들로부터(4,6-8,22,29-32) 그와는 반대로 환자의 예후와는 무관하다는 주장도 있다. (9) 또한 액와림프절 전이군과 비전이군에서의 cathepsin D 발현의 의의에 대해서도 서로 상반된 연구 결과가 나오고 있다.(33) 예를 들면 Tandon등(32)에 의하면 199명의 액와림프절 전이가 없는 유방암 환자의 분석에서 종양의 세포질 내의 cathepsin D 저발현시 현저한 생존율 향상을 보였다고 하였고, Granata등(7)도 액와림프절 전이가 없고 에스트로겐 수용체가 양성인 경우에 cathepsin D의 과발현과 무전이 기간 및 전체 생존율의 감소 간에 밀접한 연관성이 있다고 하였다. 또한 Isola등(4)은 262명의 액와림프절

전이 없는 유방암 환자를 대상으로 한 연구에서 cathepsin D는 1기 유방암에서 강력한 예후인자라고 하였다. 반면에 Henry등(34)은 cathepsin D 고농도시 환자의 생존율이 증가된다는 전혀 상반된 결과를 발표하였는데 연구방법에 있어서 다클론 항체(polyclonal antibody)를 이용한 면역조직화학적 방법을 사용하였다. Domagala등(9)과 왕등(10)은 cathepsin D 발현과 생존율은 상관이 없다고 하였다.

이처럼 연구자마다 다양한 결과를 보이는 이유로는 cathepsin D 측정 방법의 차이와 각각 다른 항체의 사용, 각기 다른 cut-off 수치 등이 요인으로 지적되고 있다.(35) 예전에는 cathepsin D 측정 방법으로 종양 세포질 추출액(cytosolic extract)의 immunoassay나 Western blot 등이 많이 사용되었으나 최근에는 면역조직화학적 방법이 많이 쓰이는데 이 방법의 장점은 종양내의 양성 세포나 기질의 cathepsin D를 배제하고 악성세포만의 cathepsin D를 측정하므로 보다 더 정확한 정보를 제공할 수 있다는 것이다.(4) 사용되는 항체에 있어서도 다클론 항체를 쓰면 파라핀 포매피에서는 반응성이 좋지 못하며 파라핀 포매피의 면역 염색을 위해서는 trypsin 전처리가 필요한 단점이 있다. 또한 epitope와 조직에 대한 특이성도 다른데 단클론 항체는 파라핀 포매피에서 잘 보존되는 denatured epitope의 인식능이 더 우수한 것으로 생각된다.(4) 본 연구에서는 비교적 최근에 가장 보편적으로 받아들여지는 측정방법을 택하였는데, 조직표본은 파라핀 포매피를 사용하였고 단클론 항체를 이용한 면역조직화학적 염색법으로 cathepsin D 농도를 측정하였다.

이러한 논란이 있음에도 불구하고 현재 cathepsin D는 독립된 예후인자의 하나로 그 가치를 인정받고 있고, 유방암 환자의 정규검사 항목에 cathepsin D를 포함시키자는 의견도 있다.(2,3)

Cathepsin D의 발현이 기존의 다른 예후인자들과 상관성이 있는지에 대해서는 지금까지의 발표된 문헌들 가운데 의미있는 결과를 보여준 예는 거의 없다.(4-11) 주로 환자의 나이, 폐경 유무, 종양의 크기, 액와림프절 전이 유무, 조직학적 등급, 호르몬 수용체 등과 cathepsin D의 발현정도를 비교한 경우가 대부분이고, 일부에서 p53, c-erb B2, DNA ploidy와 비교하였는데 유의있는 연관성은 없었다고 하였다. 다만 Isola등(4)은 cathepsin D 발현정도(cut-off치 10%)와 종양의 크기를 비교하여 종양의 크기가 2 cm 이상일 때 cathepsin D의 발현이 높았다고 하였다. 하지만 본 연구에서는 종양 크기와 cathepsin D의 발현정도는 무관하였다. 또한 cathepsin D의 발현과 밀접한 관련이 있다고 알려진 에스트로겐 수용체 및 프로게스테론 수용체와 상관성이 있는지 비교한 결과 다른 연구들과 마찬가지로 유의한 상관성은 찾을 수 없었다. 그 외에 증식 중인 세포핵에서 관찰되는 Ki-67 및 종양의 미세혈관 밀도와도 유의한 상관성을 찾을 수 없었다.

그러나 다른 연구에서는 상관성을 보이지 않았던 c-erb B2 암유전자와 유의있는 연관성을 나타내었으며, 또한 다른 연구에서는 비교한 적이 없는 다제내성에 관련된 Pgp와 의미있는 상호연관성을 보여 주어 고무적인 결과라고 생각된다. 물론 그 결과에 대한 의의는 자세히 알 수 없으나 향후 다른 연구에서도 일치하는 결과가 나오는지 주목해 볼 일이며 더 많은 증례를 통한 검증이 요구된다. 또한 실제로 어떤 의미 있는 결과가 나온다면 cathepsin D가 발암과정 혹은 약제내성에 관여하는지에 관한 분자생물학적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론

1997년 8월부터 1999년 7월까지 원광대학교병원 일반외과에서 유방암 진단 하에 수술을 받은 환자 중 79예를 대상으로 하여 면역조직화학적 방법으로 종양 내 cathepsin D 발현정도를 측정한 후 이를 다른 예후인자들과 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Cathepsin D는 총 79예 중 44예(55.7%)에서는 저발현을 보였고 36예(44.3%)에서 과발현을 보였다.

2) Cathepsin D의 발현정도는 종양 크기, 액와림프절 전이 여부, 암의 조직학적 등급, 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체, p53, Ki-67, 미세혈관 밀도 등과 서로 무관하였다.

3) Cathepsin D의 발현정도와 c-erb B2 및 Pgp 간에 의미 있는 상관성이 발견되었다($p=0.007$, $p=0.003$).

이상의 결과로 원발성 유방암에서 cathepsin D의 발현정도는 c-erb B2 및 Pgp 발현과 밀접한 상관관계를 보여, 이 결과가 어떤 의미를 갖는지에 대해 보다 많은 증례에서 연구가 필요하다고 판단되며 유방암의 예후인자로서의 가치에 대해서도 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) Mathieu M, Rochefort H, Barenton B, Prebois C, Vignon F: Interactions of cathepsin D and insulin-like growth factor-II (IGF-II) on the IGF-II/mannose-6-phosphate receptor in human breast cancer cells and possible consequences on mitogenic activity of IGF-II. *Mol Endocrinol* 4:1327-35, 1990
- 2) Rochefort H: Biological and clinical significance of cathepsin D in breast cancer. *Acta Oncol* 31:125-30, 1992
- 3) McGuire WL, Clark GM: Prognostic factors and treatment decisions in axillary node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 326:1756-60, 1992
- 4) Isola J, Weitz S, Visakorpi T, Holli K, Shea R, Khabbaz N, et al: Cathepsin D expression detected by immunohistochemistry has independent prognostic value in axillary node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 11:36-43, 1993

- 5) Marsigliante S, Biscozzo L, Greco S, Leo G, Storelli C: Relation of cathepsin D level to the estrogen receptor in human breast cancer. *Int J Clin Lab Res* 22:52-7, 1992
- 6) Duffy MJ, Brouillet J-P, Reilly D, McDermott E, O'Higgins N, Fennelly JJ, et al: Cathepsin D concentration in breast cancer cytosols: Correlation with biochemical, histological and clinical findings. *Clin Chem* 37:101-4, 1991
- 7) Granata G, Coradini D, Cappelletti V, DiFronzo G: Prognostic relevance of cathepsin D versus oestrogen receptors in node-negative breast cancers. *Eur J Cancer* 27:970-2, 1991
- 8) Kute TE, Shao Z-M, Sugg NK, Long RT, Russel GB, Case LD: Cathepsin D as a prognostic indicator for node-negative breast cancer patients using both immunoassays and enzymatic assays. *Cancer Res* 52:1-6, 1992
- 9) Domagala W, Striker G, Szadowska A, Dukowicz A, Weber K, Osborn M: Cathepsin D in invasive ductal NOS breast carcinoma as defined by immunohistochemistry: No correlation with survival at 5 years. *Am J Pathol* 141:1003-12, 1992
- 10) Wang HJ, Whang DY, Oh MH, Suh YL, Chang SH, Paik IW, et al: Clinical significance of overexpression of Cathepsin D in breast cancer. *J Korean Surg Soc* 46:663-9, 1994
- 11) Kwon YT, Jung CJ, Kim YH, Cho SH, Kim SS, Hong SH: Prognostic significance of Cathepsin-D expression in breast cancer. *J Korean Surg Soc* 55:176-84, 1998
- 12) Fisher B, Bauer M, Wickerham DL: Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. *Cancer* 52:1551-7, 1983
- 13) Fisher B, Slack HW, Bross ID: Cancer of the breast: size of neoplasm and prognosis. *Cancer* 24:1071-5, 1969
- 14) Hubay CA, Arafah B, Gordon NH, Guyton SP, Crowe JP: Hormone receptors - an update and application. *Surg Clin North Am* 64:1155-72, 1984
- 15) McGuire WL, Osborne CK, Clark GM, Knight WA: Steroid hormone receptors and carcinoma of the breast. *Am J Physiol* 243:E99-102, 1982
- 16) Meyer JS: Cell kinetics in selection and stratification of patients for adjuvant therapy of breast cancer. *Natl Cancer Inst Monogr* 1:25-30, 1986
- 17) Thor AD, Moore DH, Edgerton SM, Kawasaki ES, Reihnsaus E, Lynch HT, et al: Accumulation of p53 tumor suppressor gene is an independent marker of prognosis in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 84:845-55, 1992
- 18) Isola J, Visakorpi T, Holli K, Kallioniemi OP: Overexpression of p53 is associated with rapid cell proliferation and poor prognosis in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 84:1109-14, 1992
- 19) Paik S, Hazan R, Fisher ER, Sass RE, Fisher B, Redmond C, et al: Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project: Prognostic significance of *c-erb B-2* protein overexpression in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 8:103-12, 1990
- 20) Nicholson S, Sainsbury JRC, Halcrow P, Chambers P, Farndon JR, Harris AL: Expression of epidermal growth factor receptors associated with lack of response to endocrine therapy in recurrent breast cancer. *Lancet* I:182-5, 1989
- 21) Sainsbury JRC, Farndon JR, Needham GK, Malcolm AJ, Harris AL: Epidermal growth factor receptor status as predictor of early recurrence and death from breast cancer. *Lancet* I:1398-402, 1987
- 22) Rochefort H, Capony F, Garcia M: Cathepsin D in breast cancer: From molecular and cellular biology to clinical applications. *Cancer Cells* 2:383-8, 1990
- 23) Rochefort H, Capony F, Garcia M, Cavailles V, Freiss G, Chambon M, et al: Estrogen-induced lysosomal protease secreted by breast cancer cell: a role in carcinogenesis? *J Cell Biochem* 35:17-29, 1987
- 24) Garcia M, Lacombe MJ, Duplay H, Cavailles V, Derocq C, Delarue JC, et al: Immunohistochemical distribution of the 52-KDa protein in mammary tumors: a marker associated with cell proliferation rather than with hormone responsiveness. *J Steroid Biochem* 27:439-45, 1987
- 25) Neville AM: The clinical use of human tumor markers. *Ann Chir Gynaecol* 78:7-11, 1989
- 26) Garcia M, Derocq D, Pujol P, Rochefort H: Overexpression of transfected cathepsin D in transformed cells increases their malignant phenotype and metastatic potency. *Oncogene* 5: 1809-14, 1990
- 27) Mathieu M, Vignon F, Capony F, Rochefort H: Estradiol down regulates the mannose-6-phosphate/IGF-II receptor gene and induces cathepsin D in breast cancer cells: A receptor saturation mechanism to increase the secretion of lysosomal pro-enzymes. *Mol Endocrinol* 5:815-22, 1991
- 28) Rilke F, Colnaghi MI, Cascinelli N, Andreola S, Baldini MT, Bufalino R, et al: Prognostic significance of HER-2/*neu* expression in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. *Int J Cancer* 49:44-9, 1991
- 29) Duffy MJ, Reilly D, Brouillet J-P, McDermott EW, Faul C, O'Higgins N, et al: Cathepsin D concentration in breast cancer cytosols: Correlation with disease-free interval and overall survival. *Clin Chem* 38:2114-6, 1992
- 30) Spyrtos F, Brouillet J-P, Defrenne A, Hacene K, Rouesse J, Maudelonde T, et al: Cathepsin D: An independent prognostic factor for metastasis of breast cancer. *Lancet* 2:1115-8, 1989
- 31) Maudelonde T, Khalaf S, Garcia M, Freiss G, Duporte J, Benatia M, et al: Immunoenzymatic assay of Mr 52,000 cathepsin D in 182 breast cancer cytosols. Low correlation with other prognostic parameters. *Cancer Res* 48:462-6, 1988
- 32) Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Chirgwin JM, McGuire WL: Cathepsin D and prognosis in breast cancer. *N Engl J Med* 322:297-302, 1990
- 33) Namer M, Ramaioli A, Fontana X, Etienne MC, Hery M, Jourlait A, et al: Prognostic value of total cathepsin D in breast tumor - A possible role in selections of chemoresistant pa-

- tients. Breast Cancer Res Treat 19:85-93, 1991
- 34) Henry JA, McCarthy AL, Angus B, Westley BR, May FE, Nicholson S, et al: Prognostic significance of the estrogen-regulated protein, cathepsin D, in breast cancer. An immunohistochemical study. Cancer 65:265-71, 1990
- 35) Ravdin PM: Evaluation of cathepsin D as a prognostic factor in breast cancer. Breast Cancer Res Treat 24:219-26, 1993
-