

액와림프절 전이를 보인 유방암에서 원발종양과 림프절내 종양세포들의 생물학적 태도 비교

조선대학교 의과대학 외과학교실, ¹전남대학교 의과대학 외과학교실

조 현 진 · 윤 정 한¹ · 제갈 영 종¹

A Comparison Study of Biological Behavior between Primary Tumor and Metastatic Le- sions of Lymph Nodes in Breast Cancer

Hyun-Jin Cho, M.D., Jung Han Yoon, M.D.¹ and Young
Jong Jaegal, M.D.¹

Department of General Surgery, College of Medicine, Chosun
University, Gwangju, ¹Department of General Surgery, College
of Medicine, Chonnam National University, Gwangju, Korea

Purpose: Despite the fact that the primary factor to deter-
mine the prognosis of breast cancer is the metastatic lesion
rather than the primary tumor, most studies concerning the
prognostic factors related with tumoric biological behavior
have focused on the primary tumors. A better understanding
of changes of biological behavior in the metastatic lesions
will provide a clue to more effective and rational approaches
for treating metastatic breast cancer.

Methods: This study was designed to investigate the bio-
logical characteristics of metastatic cancer cells in breast
cancer and to compare them to those of the primary tumors.
Eighty-two breast cancer patients with metastatic axillary
lymph nodes were selected for study. The evaluated tumoric
biological characteristics used in this study were histologic
grade, estrogen receptor, progesterone receptor, bcl-2, c-
erbB2, p53, and P-glycoprotein. Evaluations were carried out
with H-E and immunohistochemical stainings. The subjects
were divided into positive cases and negative cases, ac-
cording to extent and degree of staining. McNemar's test and
Spearman's rho correlation coefficient were used for sta-
tistical analysis and cases showing a p-value of 0.05 or less
were taken as being statistically significant.

Results: The results were as follows: 1) Metastatic nodes
showed higher histologic grade than primary tumors. 2) No
significant pattern was observed concerning changes in
biological characteristics, including estrogen receptor, proges-
terone receptor, bcl-2, c-erbB2, p53, and P-glycoprotein be-
tween primary tumor and metastatic lymph nodes. 3) Neither
wea any significant difference observed in biological behavior
among the metastatic lymph nodes.

Conclusion: This results indicate that the meaningful bio-
logical characteristic of metastatic lesion is higher histologic
grade alone, and suggest that this change in histologic grade
is the single, specific factor determineing the prognosis for
metastatic breast cancer. (*Journal of Korean Breast Can-
cer Society* 2002;5:65-74)

Key Words: Metastatic Lymphnode, Primary tumor, Breast
cancer

중심 단어: 전이림프절, 원발성 종양, 유방암

서 론

유방암 환자에서 가장 중요한 예후인자로 인정되고 있는
요소는 종양의 크기와 액와림프절 전이 여부, 조직학적 분
화도, 호르몬수용체 유무 등이다. 그러나 수술 당시 동일한
크기 및 조직학적 분화도를 보이는 종양 또는 동일한 개수
의 액와림프절 전이를 가지고 있는 환자들에서 동일한 내
용의 수술 후 보조요법을 시행하여도 흔히 환자에 따라 서
로 다른 결과를 초래한다. 이러한 치료결과의 다양성에 대
한 해석은 단순히 원발종양의 생물학적 특성만으로 설명하
기 힘들고 유방암의 원발종괴를 형성하고 있는 종양세포들
이 이질적 세포들로 되어 있다는 점과 유방암의 예후는 전
신적 전이에 따라 결정된다는 사실을 고려해야 한다.

액와림프절 전이종양세포들은 수술 후에도 적극적인 치
료가 필요하고 또한 향후 지속적으로 전이에서 주도적인
역할을 담당할 종양세포들일 것이라는 관점에서 볼 때 원
발 종양세포들의 생물학적 특성보다 액와림프절에 전이를
보인 종양세포들의 생물학적 특성이 전신전이로 나타나게

책임저자 : 조현진, 광주광역시 동구 서석동 375

☎ 501-825, 조선대학교 의과대학 외과학교실

Tel: 062-220-3069, Fax: 062-228-3441

E-mail: hjcho@mail.chosun.ac.kr

접수일 : 2002년 2월 25일, 게재승인일 : 2002년 3월 27일

본 논문은 2001년도 조선대학교병원 지정 진료학술연구비 지원을
받았음.

될 병변내 종양세포들의 생물학적 특성을 보다 더 잘 대변할 수 있으리라 생각한다.

따라서 본 연구는 유방암에서 원발종양과 전이림프절내 종양세포들의 생물학적 특성을 비교관찰하여 원발종양내 종양세포의 생물학적 특성이 전이 림프절내에서도 유지되어지고 있는지, 아니면 림프절 전이가 이루어지면서 원발종양이 가졌던 생물학적 태도에 어떠한 변화가 일어났는지를 관찰하고자 하였다.

방 법

1) 대상

대상조직 표본은 전남대학교병원 외과에서 유방암으로 진단 받고 수술 받은 환자들에서 조직표본의 보존상태와 병력지 기록이 양호한 82예를 선별하였으며 이들은 모두 조직학적으로는 침윤성 유관암들이며 액와림프절 전이가 1개 이상 이루어진 증례들로 구성되었다.

2) 방법

원발종양 및 전이림프절내 종양세포들의 생물학적 태도를 비교하기 위해 관찰한 인자들은 조직학적 분화도와 함께 Estrogen Receptor (ER), Progesterone receptor (PR), bcl-2, c-erbB2, p53, P-glycoprotein (Pgp) 등이었다.

(1) 조직학적 등급 결정: H & E 염색을 한 표본을 이용하였으며 원발종양과 전이림프절 모두에서 관형성, 핵다형성, 유사분열의 정도 등을 근거로 한 Bloom과 Richardson의 등급판정법에 의해 조직학적 분화도를 3등급으로 구분하였다.

(2) 면역조직화학적 염색: 10% 중성포르말린에 고정 후 제작된 파라핀 포매괴로부터 4 μ m 두께의 연속절편을 만들고 이를 Probe-On 슬라이드에 부착 건조시켜 이용하고 전염색과정은 Microprobe Immuno/DNA 염색기(Biomedica)를 이

용하여 시행하였다. 슬라이드 holder에 파라핀 절편이 부착된 슬라이드를 채우고 탈파라핀과 함수과정을 거친 후 내재성 alkaline phosphatase를 억제하기 위하여 Rudusol을 실온에서 2분간 반응시킨 다음 조직항원이 잘 노출될 수 있도록 automation buffer에 40°C에서 30분간 부치시켰다. 이 때 ER, PR, bcl-2, p53의 경우 citrate buffer로 5분간 2번씩 microwave과정을 거쳤다. 완충액을 제거한 후 ER (Zymed, San Francisco, CA, USA), PR (Zymed, San Francisco, CA, USA), bcl (Zymed, San Francisco, CA, USA), c-erbB2 (Zymed, San Francisco, CA, USA), p53 (Neomarkers, Fremont, USA), Pgp (Zymed, San Francisco, CA, USA) 등의 일차항체를 1 : 50으로 희석하여 약 30분간 부치시키고 완충액으로 수세하였다. 반응산물의 검출을 위해 biotin이 부착된 anti-rabbit IgG로 12분간 부치시킨 후 완충액으로 수세하고 검출제인 avidine-alkaline phosphatase를 12분간 작용시켰다. 검출제의 부치가 끝난 후 완충액으로 수세하고 Fast red TR salt, AEC (3-amino-9-ethyl-carbazole in N,N-dimethyl formide)를 이용하여 발색시켰다. 이후 Crystal mount (Biomedica)로 봉입하여 양성반응을 관찰하고 음성대조군으로는 일차항체 대신 anti-mouse IgG를 반응시킨 슬라이드를 동일한 과정을 거쳐 관찰하였다. 양성반응세포의 판정은 염색 강도에 관계없이 일단 염색이 이루어진 경우로 하고 종양세포의 밀집이 가장 많은 부분에서 고배율로 관찰하여 백분율로 계산하여 양성발현 판정에 사용하였다.

(3) 양성발현의 판정: 원발종양 및 전이림프절 모두에서 양성발현의 판정은 저배율상($\times 100$) 가장 세포가 밀집된 부분을 확인하고 다시 고배율($\times 200$)에서 관찰하여 ER (Fig. 1), PR (Fig. 2), c-erbB2 (Fig. 3)에서는 양성 염색이 이루어진 세포가 전체 세포들 중 10% 미만인 경우 음성발현, 10% 이상인 경우 양성발현으로 판정하였고 Pgp (Fig. 4), bcl-2 (Fig. 5), p53 (Fig. 6)의 경우에는 강한 염색발현 세포들

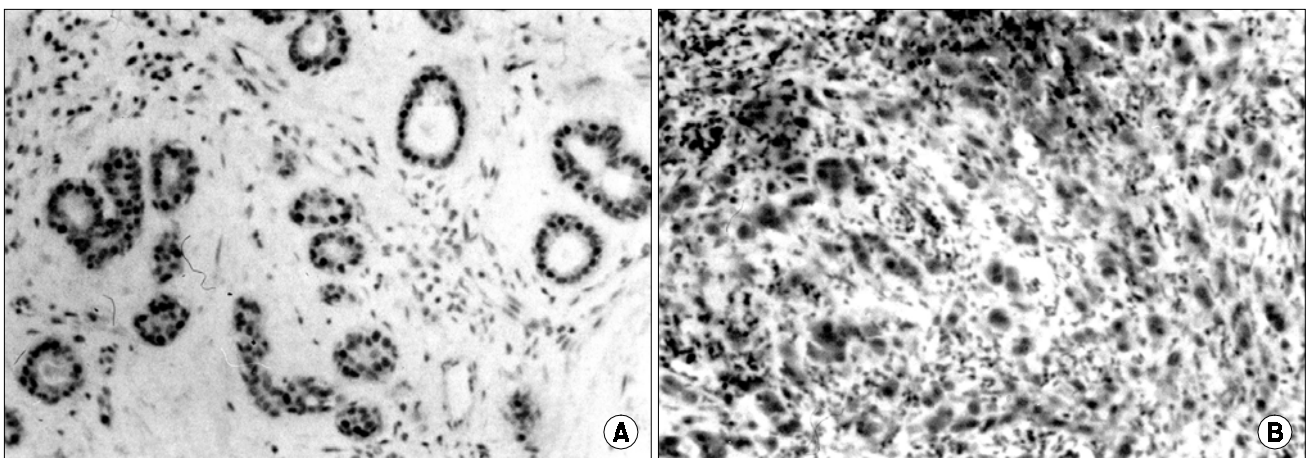


Fig. 1. Immunohistochemistry for estrogen receptor in primary tumor (A) and lymph node (B). Intense nuclear staining patterns were observed ($\times 200$).

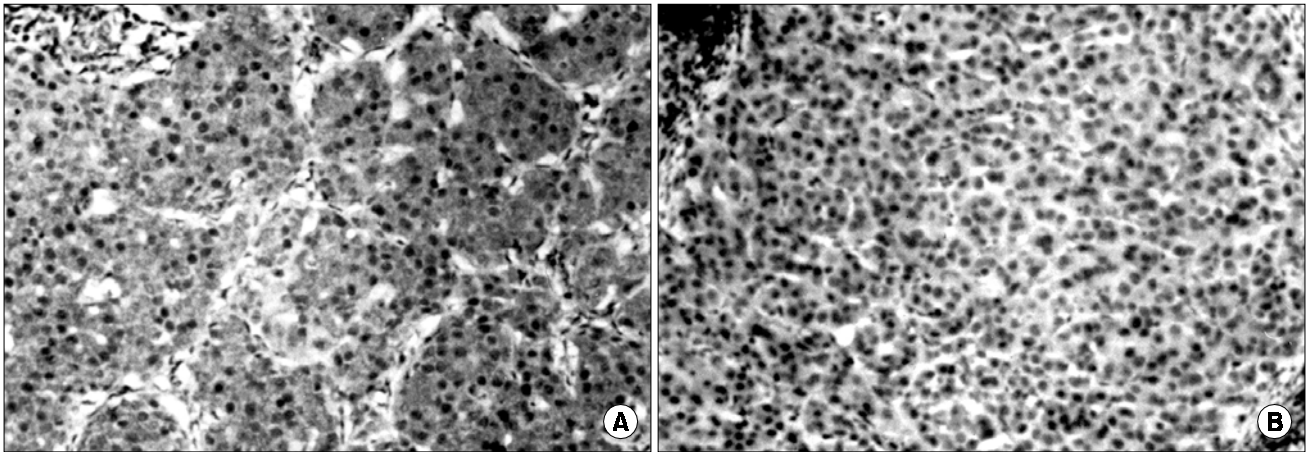


Fig. 2. Immunohistochemistry for progesterone receptor in primary tumor (A) and lymph node (B). Intense nuclear staining patterns were observed ($\times 200$).

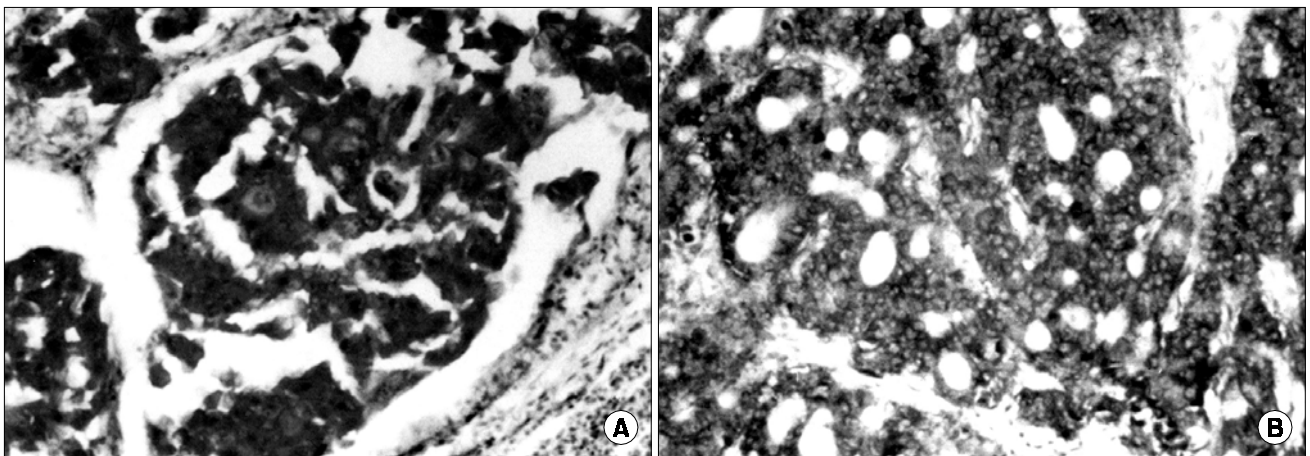


Fig. 3. Immunohistochemistry for c-erbB2 in primary tumor (A) and lymph node (B). Intense staining patterns in cytoplasm and cell membrane observed ($\times 200$).

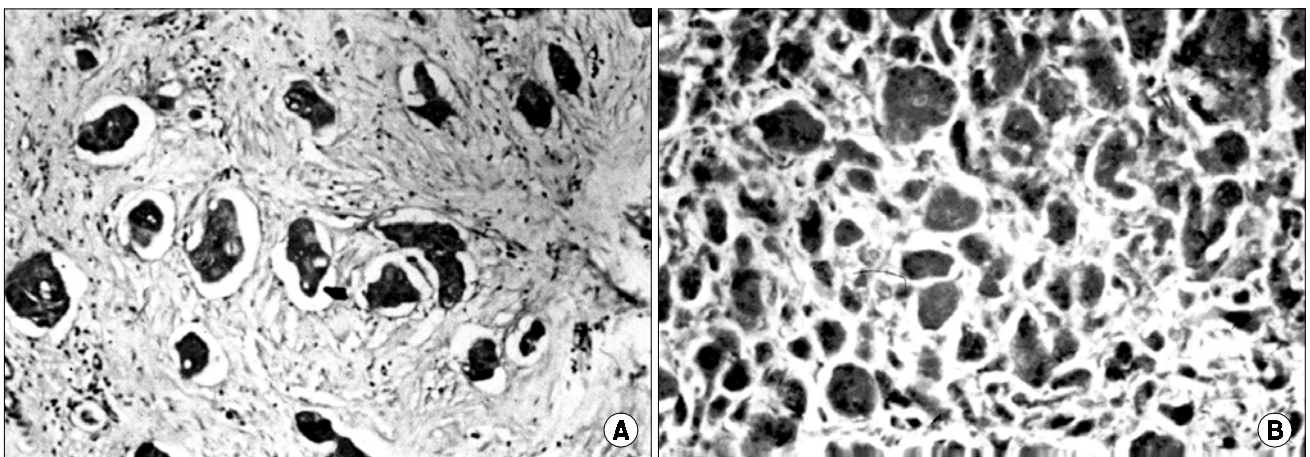


Fig. 4. Immunohistochemistry for Pgp in primary tumor (A) and lymph node (B). Plasma membrane and cytoplasmic staining patterns were observed ($\times 200$).

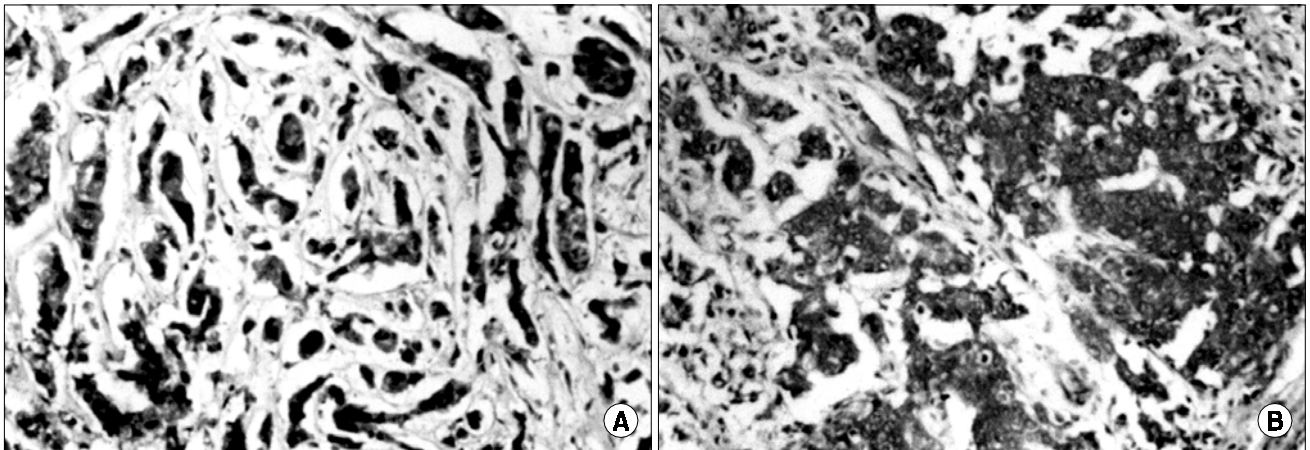


Fig. 5. Immunohistochemistry for bcl-2 in primary tumor (A) and lymph node (B). Intense cytoplasmic granular staining patterns were observed ($\times 200$).

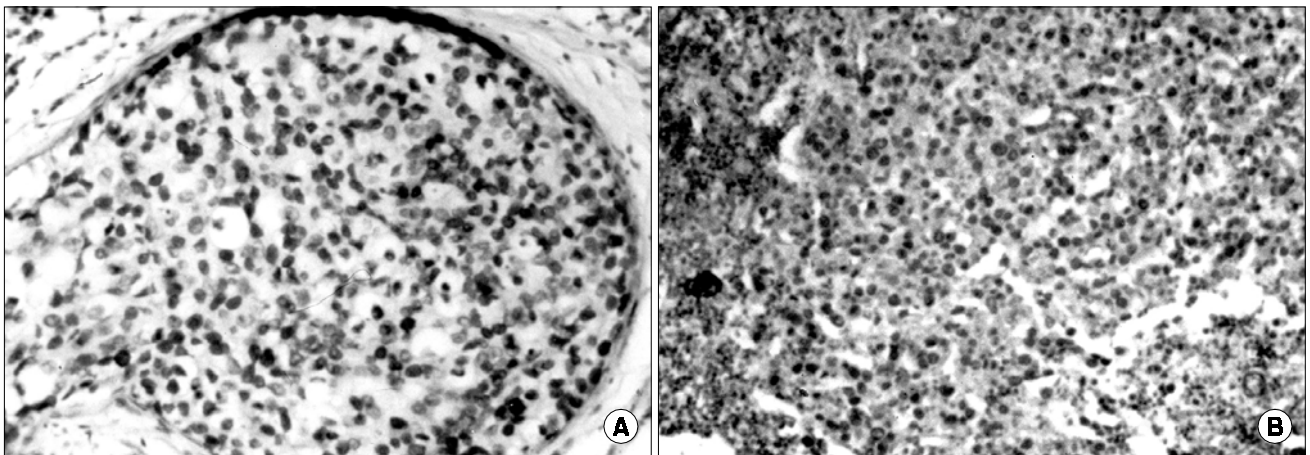


Fig. 6. Immunohistochemistry for p53 in primary tumor (A) and lymph node (B). Intense nuclear staining patterns were observed ($\times 200$).

이 1% 이상이면 양성발현으로 판정하였다.(1-4)

(4) 통계적 검증: 면역조직화학 발현양상의 변화에 따른 통계적 의의를 확인하기 위한 검증은 McNemar test를 이용하였고, 조직학적 분화도에 따른 비교분석에서는 Spearman's rho coefficient of relation을 이용하여 $r > 0.5$, $P > 0.05$ 인 경우에 통계적인 의의가 있다고 판정하였다.

결 과

1) 원발종양과 전이 림프절간의 생물학적 특징의 비교

조직학적 등급의 비교는 총 82예에서 이루어졌으며 (Table 1), 원발종양에서의 등급분포는 1등급 17예(20.7%), 2등급 47예(57.3%), 3등급 18예(22%)인데 비하여 전이림프절에서의 등급분포는 1등급 10예(12.2%), 2등급 42예(51.2%), 3등급 30예(36.6%)였다. 이 중 원발종양의 조직학적 등급이

Table 1. Comparison of histologic grade between primary tumor and lymph node (LN)

Tumor LN	I	II	III	Total	
I	7	3	0	10	rs=0.555 P<0.001
II	10	27	5	42	
III	0	17	13	30	
Total	17	47	18	82	

3등급인 경우에 전이림프절에서의 등급이 1등급으로 저하되는 예는 없었다. 그리고 원발종양과 비교하여 전이림프절에서도 등급이 일치된 예는 47예(57.3%), 등급 상승된 예는 27예(32.9%), 등급 저하된 예는 8예(9.8%)로서 등급 상승

이 많았다($r=0.555$, $P<0.001$).

ER 발현은 총 82예에서 비교 관찰하였는데(Table 2), 원발종양에서의 양성발현은 26예(31.7%), 전이림프절에서의 양성발현은 20예(24.4%)였다. 원발종양에서의 양성발현이 전이림프절에서 계속일치된 예는 26예 중 9예(34.6%), 원발종양에서의 음성발현이 전이림프절에서도 계속 일치한 예는 56예 중 45예(80.4%)로 전반적인 일치도는 65.8%였으며 음성발현일치도가 다소 높은 경향을 보이기는 하였으나 역시 변화양상에서 통계적으로 유의 있는 차이를 보이지 않았다.

PR 발현도 총 82예에서 비교관찰하였는데(Table 3), 원발종양에서의 양성발현은 30예(36.6%), 전이림프절에서의 양성발현은 24예(29.3%)였다. 원발종양에서의 양성발현이 전이림프절에서도 일치된 예가 30예 중 16예(52%), 원발종양에서의 음성발현이 전이림프절에서도 일치된 예는 52예 중

44예(84.6%)로서 전반적인 일치도는 73.2%였으며 ER검색에서와 마찬가지로 음성발현의 일치도가 더 높은 경향을 보이기는 하였으나 변화양상에서의 통계적인 차이점은 확인할 수 없었다.

c-erbB2 발현은 총 52예에서 비교관찰하였으며(Table 4), 원발종양에서의 양성발현은 15예(28.8%), 전이림프절에서의 양성발현은 13예(25%)였다. 원발종양에서의 양성발현이 전이림프절에서도 일치된 예는 15예 중 11예(73.3%), 원발종양에서의 음성발현이 전이림프절에서 일치한 예는 37예 중 35예(94.6%)로 전반적인 일치도는 88.4%였으며 음성발현일치도가 좀 더 많았지만 통계적인 유의는 없었다.

Pgp발현은 총 52예에서 관찰하였으며(Table 5), 원발종양에서의 양성발현은 40예(76.9%), 전이림프절에서의 양성발현은 42예(80.8%)였다. 이 중 원발종양에서의 양성발현이 전이림프절에서 일치된 예는 40예 중 36예(90%), 원발종양

Table 2. Change of ER expression between primary tumor and lymph node (LN)

Tumor LN	Between primary tumor and lymph node (LN)				LN1 LN2	Between lymph nodes (LNS)			
	Positive	Negative	Total	P value		Positive	Negative	Total	P value
Positive	9	11	20	P=0.256	Positive	3	3	6	P=1.000
Negative	17	45	62		Negative	3	11	14	
Total	26	56	82		Total	6	14	20	

Table 3. Change of PR expression

Tumor LN	Between primary tumor and lymph node (LN)				LN1 LN2	Between lymph nodes (LNS)			
	Positive	Negative	Total	P value		Positive	Negative	Total	P value
Positive	16	8	24	P=0.200	Positive	6	2	8	P=0.256
Negative	14	44	58		Negative	5	7	12	
Total	30	52	82		Total	11	9	20	

Table 4. Change of c-erbB2 expression

Tumor LN	Between primary tumor and lymph node (LN)				LN1 LN2	Between lymph nodes (LNS)			
	Positive	Negative	Total	P value		Positive	Negative	Total	P value
Positive	11	2	13	P=0.508	Positive	6	3	9	P=0.654
Negative	4	35	39		Negative	2	9	11	
Total	15	37	52		Total	8	12	20	

Table 5. Change of P-glycoprotein expression

LN	Tumor	Between primary tumor and lymph node (LN)				LN1 LN2	Between lymph nodes (LNS)			
		Positive	Negative	Total	P value		Positive	Negative	Total	P value
	Positive	8	3	11	P=0.479		Positive	36	6	42
	Negative	4	6	10			Negative	5	4	9
	Total	40	12	52			Total	13	7	20

Table 6. Change of bcl-2 expression

LN	Tumor	Between primary tumor and lymph node (LN)				LN1 LN2	Between lymph nodes (LNS)			
		Positive	Negative	Total	P value		Positive	Negative	Total	P value
	Positive	26	7	33	P=0.481		Positive	10	1	11
	Negative	11	8	19			Negative	5	4	9
	Total	37	15	52			Total	15	5	20

Table 7. Change of p53 expression

LN	Tumor	Between primary tumor and lymph node (LN)				LN1 LN2	Between lymph nodes (LNS)			
		Positive	Negative	Total	P value		Positive	Negative	Total	P value
	Positive	17	7	24	P=0.549		Positive	6	3	9
	Negative	4	24	28			Negative	1	10	11
	Total	21	31	52			Total	7	13	20

에서의 음성발현이 전이림프절에서 일치된 예는 12예 중 6예(50%)로 전반적인 일치도는 80.8%였으며 양성발현 유지 가능성이 높아 보이는 하였으나 변화양상에 대한 통계적인 의의는 확인할 수 없었다.

bcl-2 발현은 총 52예에서 관찰하였으며(Table 6), 원발종양에서의 양성발현은 37예(71.2%), 전이림프절에서의 양성발현은 33예(63.5%)였다. 원발종양에서의 양성발현이 전이림프절에서 계속 일치된 예는 37예 중 26예(70.3%), 원발종양에서의 음성발현이 전이림프절에서 계속 일치된 예는 25예 중 12예(46.7%)로 전반적인 일치도는 65.4%였으며 본 연구에서 검색한 인자들 중 가장 일치도가 낮았지만 변화양상에서 의의 있는 차이는 없었다.

p53발현도 총 52예에서 비교 관찰하였는데(Table 7), 원발종양에서의 양성발현은 21예(40.4%), 전이림프절에서의 양성발현은 11예(46.2%)였다. 원발종양에서의 양성발현이 전

이림프절에서 일치된 예는 21예 중 17예(81%), 원발종양에서의 음성발현이 전이림프절에서 일치된 예는 31예 중 24예(77.4%)로 전반적인 일치도는 78.8%였으며 역시 통계적으로 의의있는 변화양상을 확인할 수는 없었다.

2) 전이림프절들간 생물학적 특징의 비교

2개 이상의 림프절전이를 보인 20예를 대상으로 하였다. ER의 경우 림프절 간에 양성발현이 일치된 경우는 6예 중 3예(50%), 음성발현의 일치는 14예 중 11예(78.6%)로서 전반적인 일치율은 70%였으며 마찬가지로 발현양상에서 통계적으로 유의한 차이는 확인할 수 없었다(Table 2).

PR의 경우 림프절간 양성발현의 일치는 11예 중 6예(54.5%), 음성발현의 일치는 9예 중 7예(77.8%)로서 전반적인 발현일치율은 65%였으나 통계적으로 의의 있는 발현양상의 차이는 확인되지 않았다(Table 3).

c-erbB2의 경우 림프절간 양성발현이 일치된 예는 9예 중 6예(66.6%), 음성발현이 일치한 예는 11예 중 9예(81.8%)로 전반적인 일치율은 75%였으며 음성발현의 일치율이 높아 보였지만 역시 발현양상에서의 통계적인 차이는 없었다(Table 4).

Pgp의 경우 림프절들에서 양성발현이 일치된 예는 13예 중 8예(61.5%), 음성발현이 일치된 예는 7예 중 4예(57.1%)로서 림프절간의 전반적인 일치율은 60%였으며 발현양상에 있어서 통계적인 차이점은 확인되지 않았다(Table 5).

bcl-2의 경우 림프절들간 양성발현이 일치된 예는 15예 중 10예(66.6%), 음성발현이 일치된 예는 5예 중 4예(80%)로서 전반적인 일치율은 75%였으며 역시 발현양상에서의 통계적인 차이점은 확인할 수 없었다(Table 6).

p53의 경우 림프절들간 양성발현이 일치된 예는 7예 중 6예(85.7%), 음성발현의 일치는 13예 중 10예(76.9%)로서 전반적인 일치율은 80%였으며 발현양상에서 통계적으로 유의한 차이를 확인할 수는 없었다(Table 7).

고 찰

지금까지 유방암종의 생물학적 공격성에 대한 연구는 대부분 원발종양을 대상으로 이루어졌으며 유방암종의 생물학적 공격성을 결정하는 인자들로 조직학적 분화도, ER, PR, c-erbB2 암단백, 그리고 DNA함량이나 합성기 분획 등이 많이 이용되고 있다.(1) Castiglioni 등(2)은 원발종양에서 p53과 c-erbB2발현을 면역조직화학적 염색에 의해 관찰하고 각종 임상병리학적 인자 및 5년 무병생존율과의 관계를 분석한 결과 p53과 5년 무병생존율 사이에 역관계가 성립하고 있음을 보고하였고 c-erbB2 역시 림프절전이 환자에서의 무병생존율과 상관관계가 있음을 확인하였다. Zhang 등(3)은 1~3개의 액와림프절 전이를 보인 유방암 환자에서 원발종양내 bcl-2 발현의 상실, p53 및 c-erbB2의 과발현 등이 생존율에 유의 있는 영향을 주었다고 보고하였고 Bebenek 등(4) 역시 병기 2기의 유방암 환자에서 c-erbB2, p53 종양단백이 공격적인 종양태도를 결정하는 독립적인 분자표식자라고 주장하였다. Mitra 등(5)은 c-erbB2 과발현이 예후와 연관될 수 있는 것은 과발현과 전이된 액와림프절의 개수 사이에 상관성을 가지고 있기 때문이라고 주장하였고 He 등(6)은 액와림프절 전이를 보인 진행유방암 환자들을 대상으로 Pgp 발현의 예후인자로서의 가치를 확인할 수 있었다고 하였다. Linn 등(7)은 전이병소에서의 Pgp 발현빈도(58%)가 원발종양에서의 발현빈도(29%)에 비해 더 높다고 보고하면서 Pgp 발현이 낮은 전체생존율과 관련성을 보이는 중요한 예후인자이며, 보다 악성화를 나타내는 표현형으로 주장하였다.

이상과 같이 원발종양의 생물학적 태도와 관련된 다양한 인자 즉 ER, PR, Pgp, c-erbB2, bcl-2, p53 등이 유방암 환자의

예후에 중요한 역할을 하고 있다고 보고되어왔다. 한편 상기인자들의 예후인자로서의 가치가 액와림프절 전이유무에 따라 달라진다는 주장(8)도 있다. 즉 림프절 전이가 있는 경우와 림프절 전이가 없는 경우에서 상기 열거된 각종 생물학적 인자들의 예후적 가치가 달라진다는 것이다. 따라서 환자의 예후는 전이발생이라는 변수가 있기 때문에 전이병변에서의 생물학적 공격성의 확인이야말로 진정한 의미의 예후 결정이나 치료방침의 결정에서 중요한 부분을 차지해야 할 것으로 판단되나 지금까지 전이림프절에서 침윤세포의 생물학적 태도는 배제된 채 단순히 전이 개수와 전이단계만을 가지고 환자의 예후와 연관성을 추구해왔다.

최근 들어 전이액와림프절의 임상적 의의를 단순히 침윤여부나 전이 개수 이상의 의미를 부여하고자 하는 다양한 시도가 이루어졌는데 강 등(9)은 원발종양과 전이액와림프절에서 종양세포군들에 대한 유세포측정 결과 양 군 간에 세포군의 성질이 서로 다를 수 있음을 확인하고 액와림프절 전이를 가진 환자에서 원발종양과는 별도로 림프절전이세포들의 DNA ploidy형과 합성기 분획이 유방암에서 추가적인 예후인자로 활용될 수 있을 것이라고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 유방암종의 생물학적 공격성을 결정하는 데 관여하는 다양한 종양내 생물학적 그리고 조직학적 인자들을 중심으로 원발종양과 전이림프절간의 생물학적 태도의 차이점 및 변화양상을 확인하고자 하였다.

유방암종은 다양한 분화도를 가지고 있는 세포들로 이루어져 있지만 지금까지 전이는 원발종양으로부터 저분화 세포군들에 의해서만 선택적으로 이루어질 것으로 예상해왔다.(9) Toshiaki 등(10)은 bromodeoxyuridine을 이용한 증식력 검사에서 조직학적 등급이 종양행동을 결정하는 중요한 인자임을 보고하였다. 본 연구에서도 원발종양에 비해 전이림프절에서의 조직학적 분화도가 고등급, 즉 저분화되고 있음을 유의 있게 확인할 수 있어 일단 전이병소 암세포들의 특성은 원발종양에 비해 저분화되는 경향을 보인다는 가설은 확인할 수 있었다.

한편 저분화세포들은 ER음성세포들과 관련되어 있는 성향을 가지고 있으므로, 전이병소에서의 조직학적분화와 관련된 연구는 ER 및 PR의 비교연구로 비교적 많이 보고되고 있다. ER은 오래전부터 유방암성장과 진행에서 호르몬 감수성을 평가할 수 있는 예측인자로 활용되어 왔고 또한 이미 잘 알려진 중요한 예후인자이기도 하다. ER 발현은 암의 진행 및 전이과정 중에도 결코 변하지 않는다는 주장이 있었다. Habel 등(11)은 원발종양과 추후 나타난 원격전이 병변에서의 ER발현양상이 80%에서 일치하며 병변이 진행중에도 대부분의 종양에서 수용체 발현상태는 변하지 않았다고 보고하였다. 또한 원발종양과 속발성 종양에서 동시 또는 순차적으로 획득한 조직에서는 물론이거니와 화학요법이나 방사선치료를 시행 받은 경우라 하더라도 모든 종양내 ER함량은 장기간에 걸쳐 안정적으로 유지되는 성질에

서 확인되었듯이 ER은 유방암의 가장 안정적인 생물학적 특징이라는 보고도 있다.(12)

그러나 ER음성세포들이 일반적으로 ER양성세포들에 비해 더 높은 전이능을 가지고 있다는 점을 예상한다면 ER양성의 원발종양이더라도 전이병소에서는 ER음성으로 변할 가능성이 제기된다. 즉 유방암종에서 ER발현은 영구적인 표현형이 아니며 원발종양에서의 양성발현이 국소림프절이나 전이병소에서는 음성발현으로 변화되면서 더욱 공격적인 생물학적 태도를 보이며 세포적 조절능이 상실된다는 것이다(13,14). ER발현도의 일치율에 있어서 본 연구에서는 65.8%로 Gorlich 등(15)의 보고(88.5%)에 비해서는 낮은 일치율을 보였다. Gorlich 등(15)은 원발종양과 전이림프절에서 공히 에스트로겐수용체 양성발현을 보인 25예 중 22예에서는 전이림프절에서의 에스트로겐수용체 함량수치가 원발종양보다 더 높았다고 하였다. 본 연구에서도 ER수용체의 정량분석을 실시하지는 않았지만 세포의 밀집도 등을 고려할 때 전이림프절에서의 발현세포의 양이 원발종양에 비해서 더 많음을 관찰할 수 있었다. 사실 전이림프절에서의 ER치가 원발종양에 비해 더 높게 나왔다는 결과(12)는 ER발현검색에서 면역조직화학적 염색법이 아니라 biochemical dextran charcoal방법을 이용하였기에 상대적으로 원발종양보다는 전이림프절에서의 더 높은 세포밀집에 의한 것이라는 판단을 할 수 있다. 또한 63예의 재발병소에서 수용체발현의 변화를 관찰한 결과 32예(51%)에서 원발병소에서의 ER음성이 전이병소에서도 유지되었고 13예(21%)에서 원발병소의 ER양성이 원발병소에서도 유지되었지만 11예(17.5%)에서는 ER양성에서 ER음성으로 변하고 7예(11.1%)에서는 ER음성이 ER양성으로 변화되었음을 확인할 수 있었다고 하였다.(15)

본 연구에서는 원발종양에서 ER양성이었던 예들 중 65.4%가 전이림프절에서는 ER음성으로 변화하였고 원발종양에서 ER음성이었던 예들 중 19.6%에서 ER양성으로 변화되어 ER양성발현이 음성발현으로 변화될 가능성이 높아 보이는 하였으나 통계적인 의미는 확인할 수 없었다. 하지만 이러한 결과들은 ER발현여부가 유방암세포들의 영구적으로 확정된 표현형은 아니라는 보고들(13,14)을 뒷받침해주고 있다. 그리고 대부분의 원발종양에서 관찰되는 ER양성과 ER음성세포들의 공존이 전이가 진행되면서 결과적으로는 ER양성세포들이 ER음성으로 변화되고 궁극적으로 호르몬치료를 반응할 수 있는 증례가 호르몬 치료에 반응치 않는 상태로 변화되리라는 예측을 하게 한다. ER발현양성인 유방암의 경우에도 호르몬 치료에 단지 60% 정도만이 반응을 보이고 이에 비해 ER발현음성인 경우에도 10% 정도에서는 호르몬 치료에 반응을 보이는 이유는 물론 약제내성의 측면에서도 설명할 수 있겠지만 본 연구에서도 관찰되었듯이 전이병소에서의 호르몬 수용체 발현양상의 변화도 중요한 이유가 될 수 있을 것으로 생각한다.

Brankovic-Magic 등(16)도 원발종양과 원격전이 병소에서의 ER 및 PR치가 의미 있게 차이가 있음을 관찰하고 원격전이병소에서의 수용체 상태를 원발병소에서의 수용체 상태로 예측할 수 없다고 보고하였다.

본 연구에서도 전이림프절에서 원발종양에 비해 종양세포들이 조직학적으로 덜 분화되는 의미 있는 변화경향은 확인할 수 있었으나 스테로이드 수용체의 함량도 더 적은 세포들이 전이의 대부분을 차지한다는 Gorlich(15)의 보고보다는 Tani(17)의 보고에 더 근접하는 결과를 보이고 있다. Tani 등(17)은 원발종양과 전이병소 및 전이림프절에서의 ER발현양상에 대한 비교연구에서 연속적인 검색을 시행한 결과에서는 8%에서, 동시 검색으로 이루어진 결과에서는 19%에서 수용체 발현양상이 서로 다르게 나타났다고 하였으며 결론적으로 전이는 원발종양으로부터 저분화, 수용체 음성의 세포군들만에 의해 선택적으로 이루어지는 것이 아니라고 주장하였다.

c-erbB2는 유방암의 진행에 관여하며 임상적으로는 호전적인 생물학적 태도를 결정하는 중요한 대표적인 인자로 알려져 있으며, 원발 유방암조직에서의 과발현율은 통상 9~48.6%로 보고되고 있다.(18-20) Iglehart 등(21)은 c-erbB2과 발현을 보이는 원발종양 23예에서 그 전이림프절군을 대상으로 면역조직학적 비교를 한 결과 1예에서 발현강도의 저하를, 1예에서만 음성발현을 관찰하였고 대부분에서는 발현강도 및 수치가 비슷하였다고 보고하면서 c-erbB2의 변화가 전이과정 중에도 계속 유지된다고 주장하였다. 본 연구에서는 대상 원발종양에서의 양성발현율은 28.8%였으며 원발종양과 전이림프절에서의 발현 일치율이 88.4%로서 발현양상에서의 의미 있는 변화는 없어 기존의 주장들과 일치하는 소견을 보였다.

Pgp는 drug efflux pump에 관여함으로써 다약제내성에서 중요한 역할을 하고 있으며 원발종양에서의 발현도는 29~55%(7,22)로 보고되고 있다.

He 등(6)은 액와림프절 전이를 보인 진행유방암 환자들을 대상으로 Pgp발현도의 예후인자로서의 의미를 확인한 바 의미 있는 관계를 확인할 수 있었다고 하였다. Linn 등(7)은 전이병소에서의 Pgp발현빈도(58%)가 원발종양에서의 발현빈도(29%)에 비해 더 높다고 보고하면서 Pgp발현이 낮은 전체생존율과 관련성을 보이는 중요한 예후인자이며, 보다 악성화를 나타내는 표현형으로 주장하였다. 본 연구에서 원발종양에서의 Pgp양성발현율(76.0%)은 기존보고들의 양성발현율보다 약간 더 높았으며 전이림프절에서의 양성발현율(80.8%) 역시 더 높기는 하였지만 통계적인 차이를 보이지 않아 Linn 등(7)의 보고와는 다른 결과를 보였다. 이의 가능한 이유로는 면역조직화학적 염색을 이용한 유방암종에서 Pgp발현검색은 관찰시야에서도 극도의 이질성을 가지고 있으며 사용하는 단클론항체에 따라 보고되는 양성발현율 역시 차이가 많다는 점을 예상할 수 있다.(23) 그러

나 본 연구에서는 일단 원발종양과 비교하여 전이림프절에서의 발현양상에서는 의미 있는 차이를 발견할 수 없었다는 점을 확인할 수 있었다.

Bcl-2 암유전자는 세포고사를 억제함으로써 세포의 수명을 연장시키는 성질을 부여해준다. 특히 종양에서는 clonal selection을 촉진하여 침윤성 세포들의 생존기간을 증가시켜주는 데 중요한 역할을 담당하고 있다고 보고되고 있다.(24)

Villar 등(25)은 원발종양에서의 bcl-2 양성발현이 59.4%에서 관찰되었고 전이림프절에서는 65%에서 양성발현되고 원발종양과 전이병소에서의 발현 불일치는 50예 중 단지 3예(6%)에서 관찰되었다고 하였다. 이 중 2예는 원발종양은 양성발현인데 비하여 전이림프절에서는 음성발현으로 전환되었고 1예는 음성발현의 원발종양으로부터 양성발현을 획득하였다. 본 연구에서 원발종양에서의 양성발현은 대상군의 71.2%로 약간 높았으며 원발종양과 전이림프절에서의 발현일치율은 65.4%로서 본 연구에서 관찰한 인자들중 가장 낮은 일치율을 보였다. 그러나 원발종양에서의 발현율과 전이림프절에서의 발현율의 비교에서는 거의 차이가 없었다. 발현율의 차이는 역시 국소적인 관찰로서 검색해야하는 면역조직화학적 방법의 한계점과 함께 종양병소내에서 관찰될 수 있는 국소적이고 이질적인 세포고사현상에 의한 것으로 추측된다. 그리고 Villar 등(25)은 원발종양으로부터 림프절 전이로 진행되면서 세포고사의 증가가 이루어지지만 이러한 과정 중에 bcl-2는 의미 있는 역할을 하지 못하는 것으로 보고하였는데 본 연구에서도 양군간의 발현율의 차이가 없다는 것이 이를 다시금 증명해준다고 볼 수 있다.

종양억제유전자인 p53은 세포증식과 세포고사 등 세포주기에서 중요한 역할을 담당하고 있는 단백을 생성하면서 한편으로는 유전자의 변화가 암 진행의 초기과정 중에 나타나 세포증식을 강화하고 종양을 보다 더 공격적인 표현형으로 유도한다고 알려져 있으며, 높은 악성능을 의미하며, 불량한 예후를 나타내는 가장 강력한 생표식자 중의 하나로 보고되고 있다.(26) 유방암의 원발종양에서 면역조직화학적 염색법으로 관찰된 양성발현빈도는 24~50%까지 보고되고 있으며,(26,27) 본 연구에서는 40.4%로 Bebenek (4)의 보고(45%)와 비슷하다.

Davidoff 등(27)은 원발종양과 전이림프절에서의 p53발현을 면역조직학적 비교한 결과 모두에서 일치된 발현양상과 강도를 보였고 원발종양과 전이림프절의 어느쪽에서든지 양성발현이 단독으로 관찰되지는 않았다고 하였다. 본 연구에서도 원발종양과 전이림프절 사이에 유의 있는 발현율의 차이는 없었으나 Davidoff(27)의 보고와는 달리 양성발현을 보인 원발종양 21예 중 4예(19%)에서 전이림프절에서는 음성발현으로, 또한 음성발현으로 판정된 양성종양 31예 중 7예(22.6%)에서 양성발현으로 변화하는 결과를 보였

다. Noguchi 등(28)은 유방암에서 p53발현이 전이가능성의 장소를 예견할 수 있는 인자로 보고하였으며 원발종양에서의 p53 양성발현시 원격전이가 이루어지는 경우 전이장소는 뼈나 내장보다는 연부조직인 경우가 유의 있게 많았다고 보고되고 있다.(29)

본 연구로 일부 전이림프절에서 종양세포들의 생물학적 태도가 원발종양과는 다른 변화를 보이기는 하나 전반적으로 변화양상을 규정할 수 있는 원칙이나 유의 있는 발현변화는 없다는 사실을 확일할 수 있었다. 또한 전이림프절 사이에도 각기 다른 생물학적 특성을 가지고 있음도 관찰할 수 있었지만 역시 유의 있는 변화규칙은 확인할 수 없었다. 따라서 전이병소의 생물학적 특성은 별도의 조직채취가 가능하여 생물학적 태도를 확인할 수 있는 방법이 있는 경우는 제외하고 일단은 원발종양의 생물학적 특성에 근거한 치료를 시행하여도 무방할 것으로 판단된다.

결 론

82예의 전이림프절을 가진 침윤성 유관암들을 대상으로 원발종양과 전이림프절 간의 생물학적 특성의 변화양상을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 전이림프절의 조직학적 등급은 원발종양에 비해 유의 있게 고등급화되었다.
- 2) 일부 전이림프절에서의 생물학적 특성의 변화에도 불구하고 estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), bcl-2, c-erbB2, p53, P-glycoprotein 등의 생물학적 특성의 발현은 원발종양에 비해 유의 있는 차이와 변화양상을 보이지 않았다.
- 3) 전이림프절 간에서도 생물학적 특성의 발현은 유의 있는 차이를 보이지 않았다.

상기결과는 전이림프절의 종양세포들은 원발종양에 비해 유의 있는 생물학적 특성은 조직학적 등급 상승화였고 다른 생물학적 특성의 발현에서는 일부 전이림프절에서의 변화에도 불구하고 원발종양에 비해 유의 있는 차이 및 변화양상의 규칙을 보이지 않았다. 전이림프절에서 원발종양과는 다른 생물학적 태도를 보인 경우를 중심으로는 향후 추적관찰을 통하여 원발종양에서의 발현 및 전이림프절에서의 발현 중에서 어떠한 소견이 이러한 향후 재발과 원격 전이장소 선정에 더 유의 있는 관련성을 가지고 있는지를 판정하는 연구가 추가되어야 할 것으로 생각한다.

REFERENCES

- 1) Holli K, Isola J, Cuzick J. Low biologic aggressiveness in breast cancer in women using hormone replacement therapy. J Clin Oncol 1998;16:3115-20.
- 2) Castiglioni T, Elsner B, Curutchet HP, Montessinos M,

- Debonis D. Immunohistochemical analysis of p53 and c-erbB2 in breast cancer. *Medicina B Aires* 1995;55:415-20.
- 3) Zhang G, Tsuda H, Adachi I, Fukutomi T, Yammamoto H, Hirohashi S. Prognostic indicators for breast cancer with one to three regional lymph node metastases, with special reference to alternations in expression levels of bcl-2, p53 and c-erbB-2 proteins. *Japanese J Clin Oncol* 1997;27:371-77.
 - 4) Bebenek M, Bar JK, Harlozinska A, Sedlaczek P. Prospective studies of p53 and c-erbB-2 expression in relation to clinico-pathological parameters of human ductal breast cancer in the second stage of clinical advancement. *Anticancer Res* 1998; 18(1B):619-23.
 - 5) Mittra I, Redkar AA, Badwe RA. Prognosis of breast cancer; evidence for interaction between c-erbB2 overexpression and number of involved axillary lymph nodes. *J Surg Oncol* 1995; 60(2):106-11.
 - 6) He L, Hao C, Lin B, Wang Y, Gao F. P-glycoprotein expression in primary breast cancer. *Chin Med Sci J* 1995;10(1): 12-15.
 - 7) Linn SC, Giaccone G, van Diest PJ, Blokhuis WM, van der Valk P, van Kalken CK, et al. Prognostic relevance of P-glycoprotein expression in breast cancer. *Ann Oncol* 1995;6: 679-85.
 - 8) Masatsugu S, Takazo O, Kiyotsugu Y, McGuire WL. Steroid receptors in human breast cancer. *Cancer Res* 1978;38:4289-91.
 - 9) Kang HS, Youn YK, Oh SK, Choe KJ, Noh DY. Flow cytometric analysis of primary tumors and their corresponding metastatic nodes in breast cancer. *Breast Cancer Res & Treat* 2000;63:81-7.
 - 10) Toshiaki M, Tamotsu T, Makoto H, Toshiko Y, Hiroshi H. Histologic grade in invasive ductal carcinoma of breast correlates with the proliferative activity evaluated by BrdU: An immunohistochemical study including correlations with p53, c-erbB2 and estrogen receptor status. *Pathol International* 1996;46:417-25.
 - 11) Habel LA, Stanford JL. Hormone receptors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15:209-19.
 - 12) Mobbs BG, Fish EB, Pritchard KI, Oldfield G, Hanna WH. Estrogen and progesterone receptor content of primary and secondary breast carcinoma: Influence of time and treatment. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987;23:819-26.
 - 13) Morrow A, Jordan VC. Molecular mechanisms of resistance to tamoxifen therapy in breast cancer. *Arch Surg* 1993;128: 1187-91.
 - 14) Paik S, Hartmann DP, Dickson RB, Lippman ME. Antiestrogen resistance in ER positive breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 1994;31:301-7.
 - 15) Gorlich W, Jandrig B. Steroid hormone receptors related to parameters characterizing the biology of human breast cancer. *Tumori* 1993;83:930-7.
 - 16) Brankovic-Magic MV, Nikolic-Vukosavljevic DB, Neskovic-Konstantinovic ZB, Kanjer KS, Spuzic IV. Variations in the content of steroid receptors in breast cancer. Comparison between primary tumors and metastatic lesions. *Acta Oncol* 1988;31:629-33.
 - 17) Tani E, Nordenskjold B, Humla S, Skoog L. Estrogen receptor content in primary breast carcinomas and their metastases. *Anticancer Res* 1988;8:169-72.
 - 18) Barnes DM, Lammie GA, Millis RR. An immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 expression in human breast carcinoma. *Br J Cancer* 1988;58:448-52.
 - 19) Wright C, Angus B, Nicholson S. Expression of c-erbB-2 oncoprotein: A prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Res* 1989;49:2087-2090.
 - 20) Yokota T, Imamura M, Teshima S, Suzuki H, Tezuka F, Kikuchi S, et al. c-erb B-2, p53 protein expression and steroid hormone receptors in breast carcinomas: an immunohistochemical study. *Anticancer Res* 1999;19:4007-12.
 - 21) Iglehart JD, Kraus MH, Langton BC, Huper G, Kerns BJ, Marks JR. Increased erbB-2 gene copies and expression in multiple stages of breast cancer. *Cancer Res* 1990;50:6701-7.
 - 22) Filipits M, Suchomel RW, Dekan G, Haider K, Valdimarsson G, Depisch D, et al. MRP and MDR1 gene expression in primary breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 1996;2:1231-7.
 - 23) De La Torre M, Larsson R, Nygren P, Lindgren A, Bergh J. Expression of the multidrug-resistance gene product in untreated human breast cancer and its relationship to prognostic markers. *Acta Oncol* 1994;33:773-7.
 - 24) Strasser A. The role of physiological cell death in neoplastic transformation and anti-cancer therapy. *Int J Cancer* 1999;81: 505-11.
 - 25) Villar E, Redondo M, Rodrigo I, Garcia J, Avila E, Matilla A. bcl-2 expression and apoptosis in primary and metastatic breast carcinomas. *Tumor Biol* 2001;22:137-45.
 - 26) Schimmelpenninck H, Eriksson ET, Zetterberg A, Auer GU. Association of immunohistochemical p53 tumor suppressor gene protein overexpression with prognosis in highly proliferative human mammary adenocarcinomas. *World J Surgery* 1994;18:827-32.
 - 27) Davidoff AM, Kerns BJM, Iglehart D, Marks JR. Maintenance of p53 alternations throughout breast cancer progression. *Cancer Res* 1991;51:2605-10.
 - 28) Noguchi S, Koyama H, Kasugai T, Tsuji N, Tsuda H, Akiyama F, et al. The possible prognostic significance of p53 immuno-

staining status of the primary tumor in patients developing local recurrence after breast-conserving therapy. *Oncology* 1998;55:450-5.

29) Paradiso A, Tommasi S, Barletta A, Leone B, Lacava J,

Vellejo C, et al. Metastatic site and p53 primary tumorexpression in previously untreated stage IV breast cancer patients. *Anticancer Res* 1999;19:4523-8.
