

유방암 환자에서 c-erbB-2, p53, bcl-2, 그리고 c-myc의 발현유무와 임상적 의의

순천향대학교 천안병원 외과학교실, ¹방사선종양학교실, ²예방의학교실, ³병리학교실

최남규 · 김성용 · 김태윤 · 채만규 · 백무준 · 임철완 · 박내경 · 이문수 · 김형철 · 김창호 · 이민혁
송옥평 · 김은석¹ · 황규윤² · 양승하³ · 조무식

Clinical Correlation of c-erbB-2, p53, bcl-2, and c-myc Expression in Patients with Breast Cancer

Nam Kyu Choi, M.D., Sung Yong Kim, M.D., Tae Yun Kim, M.D., Man Kyu Chae, M.D., Moo Jun Baek, M.D., Chul Wan Lim, M.D., Nae Kyung Park, M.D., Moon Soo Lee, M.D., Hyung Chul Kim, M.D., Chang Ho Kim, M.D., Min Hyuk Lee, M.D., Ok Pyung Song, M.D., Eun Seog Kim, M.D.¹, Kyu Yoon Hyang, M.D.², Seung Ha Yang, M.D.³ and Moo Sik Cho, M.D.

Departments of Surgery, ¹Radiation Oncology, ²Preventive Medicine and ³Pathology, College of Medicine, Soonchunhyang University, Chunan, Korea

Purpose: Breast cancer is a common malignant tumor in Korean women. Various oncogenes have been demonstrated in malignant tumor cells. There were many reports on the relationship between the prognosis and the tumor markers, particularly c-erbB-2, p53, bcl-2, and c-myc. However, this relationship is controversial. The aim of this study was to perform immunohistochemical staining for the c-erbB-2, p53, bcl-2, and c-myc antigenic protein in breast cancer patients, to evaluate the expression rate of each antigen, and to compare the correlations with the patients' prognosis.

Methods: The medical records of 80 patients who were diagnosed with breast cancer and who were treated with a mastectomy between January 1993 and December 1996 at Soonchunhyang University Chunan Hospital were selected according to the condition of the paraffin block fixation. The prognostic factors were investigated. The immunohistochemical expression of c-erbB-2, p53, bcl-2, and c-myc was examined and compared with the survival rate using a

Kaplan-Meier estimate and a log rank test.

Results: Eighty patients (79 females, 1 male) were included in this study, with a mean (SD) age of 48.2 (10.6) years and follow-up duration of 59.9 (24.9) months. The overall mortality was 41.3 (33/80)% and the mean (SD) survival time was 77 (4) months. The overall 5-year survival rate was 63.3%. Among the study variables, the tumor stage was a significant predictor of survival showing a significantly low survival rate in tumor stage III. The tumor size and lymph node metastasis were significantly associated with the survival rate in patients with breast cancer.

Conclusion: c-erbB-2, p53, bcl-2, and c-myc might be useful prognostic factors, even though a statistical significance was not achieved. (*Journal of Korean Breast Cancer Society* 2002;5:125-134)

Key Words: Breast cancer, Prognostic factor, c-erbB-2, p53, bcl-2, c-myc

중심 단어: 유방암, 예후인자, c-erbB-2, p53, bcl-2, c-myc

서 론

유방암은 우리나라의 여성에서 흔히 발생하는 악성 종양 중 하나이며, 임상적 혹은 생물학적으로 매우 다양한 특징을 나타내므로 병인론과 환자의 예후와 관련하여 이런 경과를 설명하는 예후인자를 알아내기 위해 현재까지도 많은 연구가 진행되어 왔다. 일반적으로 알려진 액와림프절의 전이상태, 조직학적인 아형, 원발종양의 크기, 핵등급 및 조직등급, 호르몬 수용체 유무 등이 표준적인 예후인자로 쓰이고 있으나,⁽¹⁾ 표준적으로 쓰이고 있는 예후인자들만으로는 좀 더 보조치료를 위해 세분하지 못하기에 이를 위해 내부적인 종양의 특성을 밝히기 위하여 종양표지자들 중 일반적으로 많이 알려진 c-erbB-2, p53, bcl-2, c-myc을 이용하여 이들 종양표지자 발현에 따른 유방암 환자의 병리조직학적 특성과 예후인자로서의 상관관계 등을 알아보고자 본 연구를 진행하였다.

책임저자 : 김성용, 충남 천안시 봉명동 23-20
☎ 330-721, 순천향대학교 천안병원 외과학교실
Tel: 041-570-2145, Fax: 041-571-0129
E-mail: sykim@schch.co.kr

접수일 : 2002년 3월 27일, 게재승인일 : 2002년 4월 4일
본 논문의 요지는 2001년 외과 추계통합학술대회에서 구연됨.

c-erbB-2 종양 유전자는 구조적으로 표피성 성장인자 수용체와 유사하고 밀접한 관련이 있지만 다른 염색체에 위치해 있다. 유방암에서 c-erbB-2의 표출률은 10~51%로 보고자들에 따라 차이를 보이고 있으나,(2,3) 최근에는 c-erbB-2의 과잉표출이 각종 암 특히 유방암에서 환자의 예후와 관련이 있는 것으로 알려져 이에 대한 monoclonal antibody인 Transumab (Herceptin[®], Genentech/Roche, Basel, Switzerland)을 이용한 target therapy도 시행하고 있다.(4)

p53 유전자는 세포의 증식을 조정하는 기능을 갖고 있으며, 면역 조직 염색에 의해 야생형 p53 단백질은 정상조직과 세포에서는 검출이 안 되지만, 돌연변이형은 과잉표출된 것이 쉽게 관찰된다. 돌연변이에 의한 p53의 비활성화는 정상세포의 악성변화를 일으킨다. 유방암에서 p53의 표출률은 보고자들에 따라 차이를 보여 23~46%로 알려져 있다. Isola 등(5)은 p53의 표출과 환자의 예후 불량 사이에 의미 있는 관련성이 있다고 하였다.

bcl-2 proto-oncogene은 여포성 B 세포 림프종에서 흔히 나타나는 14번째와 18번째 염색체 전위의 조사과정에서 발견되었으며, 26 kDa 막 중앙단백질을 부호화한다. bcl-2 단백질은 미토콘드리아 막, 핵외피, 그리고 내형질세막에 위치해 있다. 유방암에서 bcl-2의 표출률은 53~82%로 보고자들에 따라 차이를 보이고 있다. Reed(6)는 유방암에서 bcl-2의 표출이 환자의 양호한 예후와 관련이 있다고 보고하고 있다.

c-myc 종양 유전자는 62 kDa 단백질 산물로 짧은 반감기를 가지고 핵관련성을 보이며, 정상 그리고 악성조직에서 세포분열과 분화를 조절하는 데 중요한 것으로 알려져 있으며, 많은 연구에서 c-myc 종양유전자가 세포주기에서 G0에서 G1으로의 과정을 조절한다는 것을 예상하는 근거를 제공하였고, c-myc의 과잉 표출이 불량한 예후와 연관이 있다고 하였다.(7) 유방암에서 c-myc의 표출률은 60%에서 100%까지로 보고자에 따라 차이를 보이고 있다.

저자들은 유방암에서 환자의 예후와 관련하여 조직학적 소견에 따른 c-erbB-2, p53, bcl-2, c-myc의 표출률 그리고 이들 항원 간의 상관관계 및 예후인자로서의 가치를 알아보고자 유방암 환자 80예를 대상으로 이들 항원의 일차항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

방 법

1) 실험대상

1993년 1월부터 1996년 12월까지 4년간 순천향대학교 천안병원에서 유방암으로 진단 받고 수술 당시 전이가 없었으며, 유방암 수술을 받은 환자 중 외래 추적관찰이 가능했고, paraffin 포매 조직의 보존상태가 양호한 80명의 환자를 대상으로 이들의 의무기록을 참조하여 예후인자를 분석하였다. 환자들의 생존율을 Kaplan-Meier 방법으로 비교하였

으며 log rank test로 검정하였다.

2) 실험방법

(1) 면역조직화학적 염색: 대상환자의 파라핀절편을 탈파라핀과 등급 알코올을 거쳐 함수시킨 후 항원부활을 위해 microwave oven에서 10분간 가열 처리하였다. 조직내의 내인성 과산화효소를 차단하기 위해 3% 과산화수소-메타놀 용액에 30분간 작용시킨 후 증류수로 수세하였고, avidin과 biotin의 차단은 blocking kit(Zymed, San Francisco, CA, USA)를 사용하였으며, 실온에서 각각 30분씩 작용시킨 후 phosphate buffered saline (PBS)으로 3분씩 3회 수세하였다. c-erbB-2, p53, bcl-2, c-myc에 대한 일차항체로 rabbit anti-human c-erbB-2(DAKO, Carpinteria, CA, USA), mouse anti-p53(DAKO, Carpinteria, CA, USA), mouse anti-bcl-2(DAKO, Carpinteria, CA, USA), NCL-cMYC(Novocastra Laboratories, Newcastle, CA, USA)를 작용시킨 후 2시간 부란시켰다. 그 후 PBS로 3분씩 3회 수세하고 LAB kit(DAKO, Carpinteria, CA, USA)를 이용하여 이차항체와 streptavidin peroxidase(DAKO, Carpinteria, CA, USA)를 각각 30분씩 작용시켰다. PBS로 3분씩 3회 수세한 후 DAB kit(Zymed, San Francisco, CA, USA)로 발색시키고 수세하였으며 hematoxylin으로 핵염색을 하여 탈수 및 투명과정을 거쳐 Balsam 봉입 후 광학현미경으로 관찰하였다.

(2) 면역조직화학적 염색의 판독: 대상환자의 임상병리학적 소견에 대한 사전 지식이 없는 병리의사가 각 조직절편 중 저배율의 현미경 시야로 염색여부를 확인 후 고배율 시야에서 염색된 종양세포수 및 염색강도를 표시하였다.

결 과

1) 대상환자의 전반적 특성

대상환자를 유형별로 보면 침윤성 유관암 64예, 침윤성 소엽암 2예, 관내암 4예, 유두상암 6예, 수질성암 4예였다. 이들의 평균연령은 48.2세였다. 암의 발생부위는 우측 예가 41예 그리고 좌측 예가 39예였고, 세분하면 상외측이 46예로 가장 많은 비율을 차지하였다. 유방암을 Nottingham modification of the Bloom-Richardson system(8)에 의한 핵등급에 따라 분류하면 핵등급 I이 29예, 핵등급 II가 40예 그리고 핵등급 III가 11예였다. 유방암 중 유방절제술에 의해 림프절 전이여부가 확인된 예는 39예였으며, AJCC 암 병기 분류(9)에 의한 중앙기는 0기가 1예, 1기가 7예, 2기가 45예, 3기가 27예였다(Table 1).

유방암에서 c-erbB-2, p53, bcl-2 그리고 c-myc는 면역효소에 의한 염색에서 종양조직의 국소 및 전체 부위에서 표출을 보였다. p53은 핵에, c-erbB-2는 세포막과 세포질에 그리고 bcl-2와 c-myc는 세포질에 염색되었으며 표출률은 Table 2와 같다.

Table 1. General characteristics of 80 study subjects

Variable	Number of patients (%)
Age	
< 40	18 (22.5)
40~49	28 (35.0)
50~59	21 (26.3)
> 60	13 (16.3)
Tumor side	
Left	39 (48.8)
Right	41 (51.3)
Tumor location	
Center	5 (6.3)
LIQ	5 (6.3)
LOQ	5 (6.3)
UIQ	14 (17.5)
UOQ	46 (57.5)
WB	5 (6.3)
T stage*	
0	2 (2.5)
1	9 (11.3)
2	44 (55.0)
3	17 (21.3)
4	8 (10.0)
N stage*	
0	41 (51.3)
1	19 (23.8)
2	15 (18.8)
3	5 (6.3)
TNM stage*	
0	1 (1.3)
1	7 (8.8)
2-A	27 (33.8)
2-B	18 (22.5)
3-A	18 (22.5)
3-B	9 (11.3)
Nuclear grade [†]	
I	29 (36.3)
II	40 (50.0)
III	11 (13.8)

*AJCC cancer staging manual; [†] Nottingham modification of Bloom-Richardson System.

추적기간 중 33예(41.3%)가 사망하였고 이들의 평균(SD) 생존기간은 77(4)개월이었으며 5년 생존율은 63.3%였다 (Table 3, Fig. 1). 생존율과 유의한 관련성을 보인 변수는 암 병기와 종양의 크기 및 림프절 전이여부였으며, 특히 암병기 3기가 유의하게 낮은 생존율을 보였고 종양의 크기가 클수록, 림프절 전이가 많을수록 생존율이 유의하게 낮았다 (Table 2, Fig. 2~4).

Table 2. Survival by pathologic parameter and tumor marker expression

Variable	Survival time Mean (SD)	Mortality, n/N (%)	P-value
Age			
< 40	66 (8)	8/18 (44.4)	NS
40~49	84 (6)	10/28 (35.7)	
50~59	79 (8)	8/21 (38.1)	
> 60	64 (9)	7/13 (53.8)	
Side			
Left	75 (5)	17/39 (43.6)	NS
Right	77 (6)	16/41 (39.0)	
Nuclear grade			
I	72 (7)	13/29 (44.9)	NS
II	79 (5)	14/40 (35.0)	
III	67 (5)	6/11 (54.5)	
c-erbB-2			
-	79 (5)	6/17 (35.3)	NS
+	75 (7)	10/25 (40.0)	
++	61 (9)	5/11 (45.5)	
+++	78 (5)	12/27 (44.4)	
p-53			
-	76 (5)	12/35 (34.3)	NS
+	91 (14)	1/6 (16.7)	
++	67 (8)	7/13 (53.8)	
+++	70 (7)	13/26 (50.0)	
bcl-2			
-	73 (5)	18/38 (47.4)	NS
+	75 (10)	5/13 (38.5)	
++	63 (8)	6/11 (54.5)	
+++	88 (8)	4/18 (22.2)	
c-myc			
-	67 (5)	19/36 (52.8)	NS
+	71 (8)	10/24 (41.7)	
++	85 (11)	3/11 (27.3)	
+++	97 (6)	1/9 (11.1)	
Estrogen receptor			
-	72 (5)	25/53 (47.2)	NS
+	85 (8)	5/16 (31.3)	
++	74 (11)	1/5 (20.0)	
+++	81 (13)	2/6 (33.3)	
T stage			
0	NA	0/2 (0)	P<0.05
1	85 (10)	2/9 (22.2)	
2	87 (5)	11/44 (25.0)	
3	62 (6)	12/17 (70.6)	
4	29 (6)	8/8 (100)	
N stage			
0	97 (3)	4/41 (9.8)	P<0.05
1	77 (7)	9/19 (47.4)	
2	34 (5)	15/15 (100)	
3	32 (7)	5/5 (100)	
TNM stage			
< 1	NA	0/8 (0)	P<0.05
2	95 (4)	7/45 (15.6)	
3	39 (4)	4/39 (10.3)	

by Log rank test.

SD = standard deviation; NS = not significant; NA = non applicable.

Table 3. Treatment and prognosis

Variable	No. (%)
Operation	
Auchincloss	36 (45.0)
Patey	20 (25.0)
Quadrant+Ax	4 (4.0)
RM	4 (5.0)
Scanlon	16 (20.0)
Survive	
Yes	47 (58.8)
No	33 (41.3)
Follow up time, month, mean (SD)	59.9 (± 24.9)
Survival time, month, mean (SD)	77.0 (± 4.0)
Survival rate	
2 year	(88.8)
3 year	(83.8)
4 year	(69.8)
5 year	(63.3)

No. = number of patients; Ax = axillary dissection; RM = radical mastectomy.

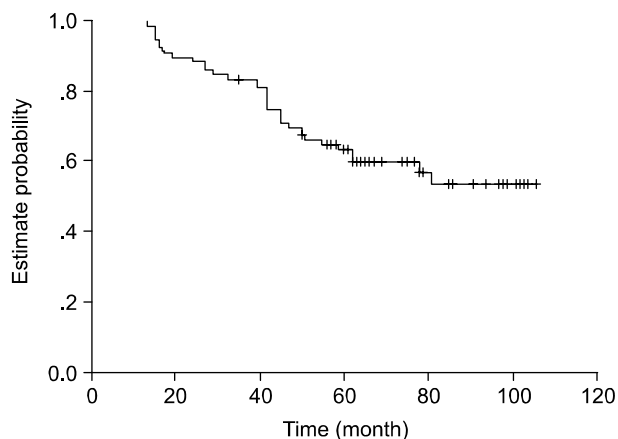


Fig. 1. Kaplan-Meier cumulative survival curve.

2) c-erbB-2의 표출

유방암에서 c-erbB-2의 표출률은 78.8%였고, 유형에 따른 표출률은 관내암과 유두상암이 침윤성 관암과 소엽암 그리고 수질성암에 비해 높은 표출률을 보였으나 통계학적 의미는 없었다(Table 4). 발생부위에 따른 표출률은 우측이나 좌측에 사이에 통계학적인 유의성은 없었고, 핵 분화도에 따른 표출률 역시 핵등급에 따라 유의한 차이를 보이지 않았다. 림프절 전이여부에 따른 표출률은 전이 예가 비전이에 비해 약간 높았으나(Table 5), 유의한 차이를 보이지는

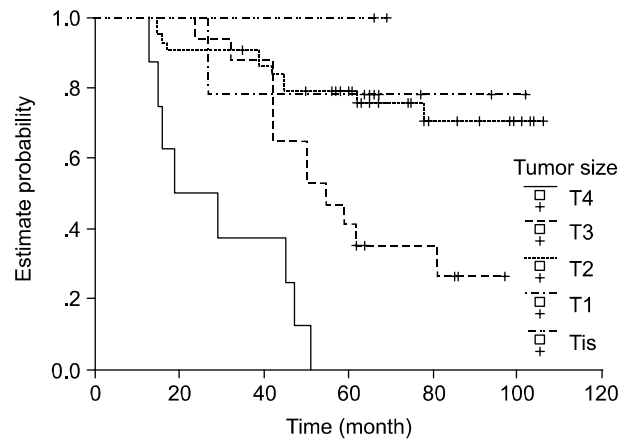


Fig. 2. Kaplan-Meier survival curve by tumor size.

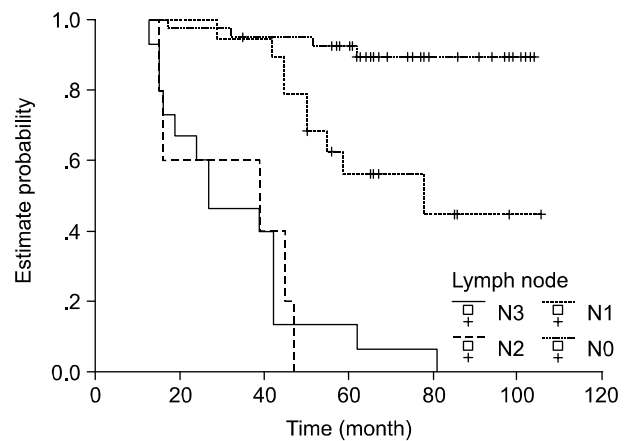


Fig. 3. Kaplan-Meier survival curve by lymph node metastasis.

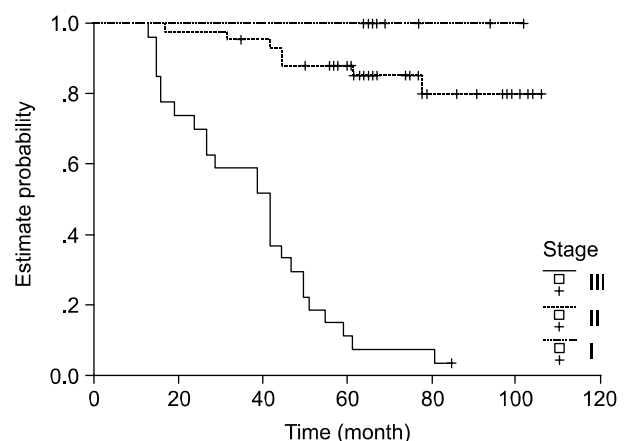


Fig. 4. Kaplan-Meier survival curve by UICC tumor stage.

못했고, 생존율과 연관성도 없었다(Fig. 5).

3) p53의 표출

유방암에서 p53의 표출률은 56.3%였다. 유형에 따른 표

Table 4. Expression of c-erbB-2, p53, bcl-2, c-myc according to pathologic types of breast carcinomas

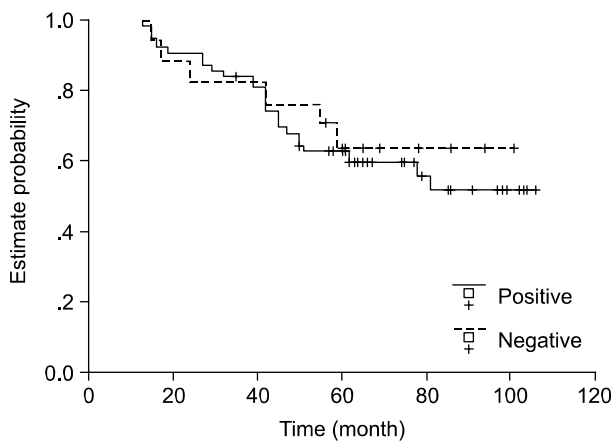
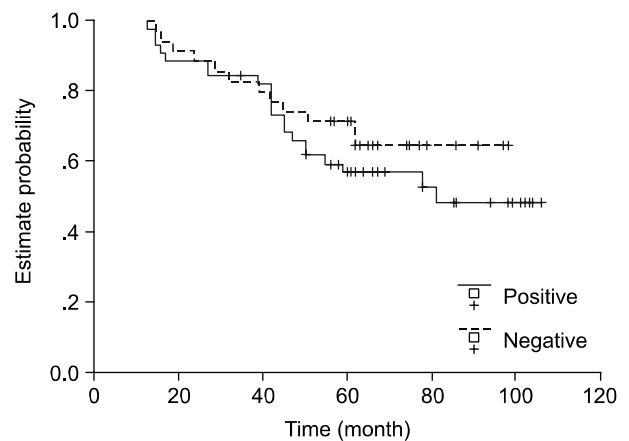
	No.	c-erbB-2	p53	bcl-2	c-myc
Infiltrating ductal carcinoma	64	49 (76.6)	39 (60.9)	33 (51.6)	36 (56.3)
Infiltrating lobular carcinoma	2	1 (50.0)	2 (100)	1 (50.0)	1 (50.0)
Intraductal carcinoma	4	4 (100)	1 (25.0)	3 (75.0)	3 (75.0)
Papillary carcinoma	6	6 (100)	1 (16.7)	5 (83.3)	4 (66.7)
Medullary carcinoma	4	3 (75.0)	2 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Total	80	63 (78.8)	45 (56.3)	42 (52.5)	44 (55.0)

No. = number of patients; () = %.

Table 5. Expression of c-erbB-2, p53, bcl-2, c-myc according to histopathologic findings in breast carcinomas

	No.	c-erbB-2	p53	bcl-2	c-myc
Side					
Right	41	33 (80.5)	19 (46.3)	21 (51.2)	18 (43.9)
Left	39	30 (76.9)	26 (66.7)	21 (53.8)	26 (66.7)
Nuclear grade					
I	29	23 (79.3)	14 (48.3)	20 (69.0)	21 (72.4)
II	40	31 (77.5)	23 (57.5)	19 (47.5)	22 (55.0)
III	11	9 (81.8)	8 (72.7)	3 (27.3)	1 (9.1)
L/N metastasis					
Absent	41	30 (73.2)	20 (48.8)	22 (53.7)	27 (65.9)
Present	39	33 (84.6)	25 (64.1)	20 (51.3)	17 (43.6)

No. = number of patients; L/N = lymph nodes, () = %.


Fig. 5. Kaplan-Meier survival curve by c-erbB-2.

Fig. 6. Kaplan-Meier survival curve by p-53.

출혈은 침윤성 관암과 소엽암이 관내암과 유두상암에 비해 높았으나 유의차는 없었다(Table 4). 발생부위에 따른 표출률은 우측 예에 비해 좌측 예가 높았으나 유의하지 않았고, 핵 분화도에 따른 표출률은 핵등급이 높아짐에 따라 표출

률이 높았으나 역시 유의하지 않았고, 림프절 전이여부에 따른 표출률도 전이 예가 비전이 예에 비해서 표출률이 높았으나, 유의하지 않았다(Table 5). 생존율과 연관성도 없었다(Fig. 6).

4) bcl-2의 표출

유방암에서 bcl-2의 표출률은 52.5%였다. 유형에 따른 표출률은 관내암과 유두상암이 침윤성 유관암과 소엽암 그리고 수질성암에 비해 표출률이 높았으나 유의차는 없었다 (Table 4). 발생부위에 따른 표출률은 우측 예의 표출률이 약간 높았고, 핵 분화도에 따른 표출률은 핵등급이 높아짐에 따라 표출률은 낮았으며, 림프절 전이여부에 따른 표출률은 비전이 예의 표출률이 약간 높았으나, 통계적으로 유의하지 않았고 (Table 5), 생존율과 연관성도 없었다 (Fig. 7).

5) c-myc의 표출

유방암에서 c-myc의 표출률은 55.0%였다. 유형에 따른 표

출률은 관내암과 유두상암의 표출률이 침윤성 유관암과 소엽암 그리고 수질성암에 비해 높았으나 유의차는 없었다 (Table 4). 발생부위에 따른 표출률은 좌측 예의 표출률이 높았고, 핵 분화도에 따른 표출률은 핵등급이 높아짐에 따라 표출률은 낮았다. 림프절 전이여부에 따른 표출률은 비전이 예의 표출률이 높았으나, 역시 유의차는 없었다 (Table 5). 생존율과의 연관성도 없었다 (Fig. 8).

6) c-erbB-2, p53, bcl-2 그리고 c-myc의 상관관계

유방암에서 p53의 표출을 보인 예와 표출이 없는 예에서 bcl-2의 표출률은 각각 31.1%와 80.0%였으며, bcl-2가 표출을 보인 예와 그리고 표출이 없는 예에서 p53의 표출률은 각각 33.3%와 81.6%로 p53과 bcl-2는 유방암에서 반대의 상

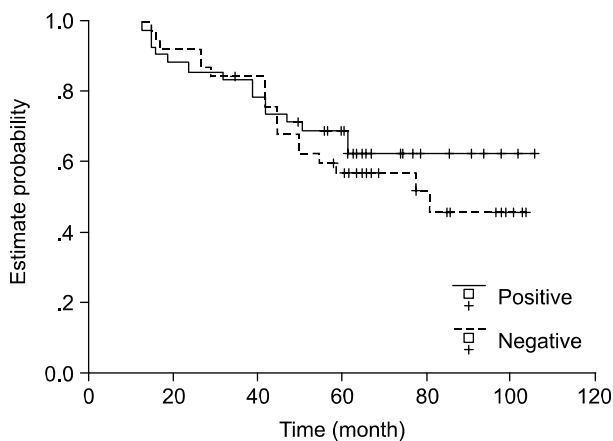


Fig. 7. Kaplan-Meier survival curve by bcl-2.

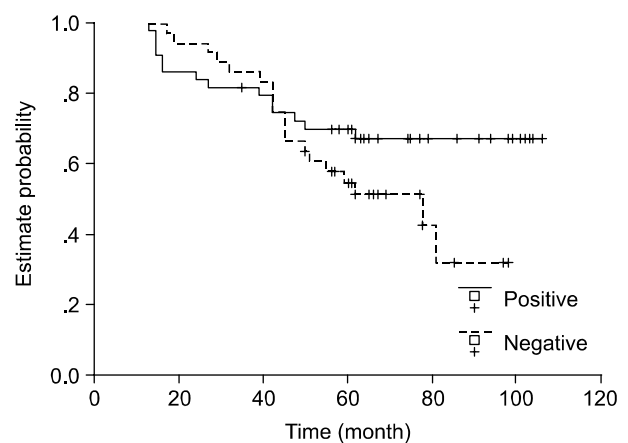


Fig. 8. Kaplan-Meier survival curve by c-myc.

Table 6. Interrelationship between c-erbB-2, p53, bcl-2, c-myc in breast carcinomas.

	No.	c-erbB-2	p53	bcl-2	c-myc
c-erbB-2					
-	17		11 (64.7)	7 (41.2)	7 (41.2)
+	63		34 (54.0)	35 (55.6)	37 (58.7)
p53					
-	35	30 (85.7)		28 (80.0)	20 (57.1)
+	45	33 (73.3)		14 (31.1)	24 (53.3)
bcl-2					
-	38	30 (78.9)	31 (81.6)		14 (36.8)
+	42	33 (78.6)	14 (33.3)*		30 (71.4)
c-myc					
-	36	28 (77.8)	22 (61.1)	12 (33.3)	
+	44	35 (79.5)	23 (52.3)	30 (68.2)*	
Total	80	63 (78.8)	45 (56.3)	42 (52.5)	44 (55.0)

No. = number of patients; () = %.

*P<0.05

관관계($P < 0.05$)를 보였다. bcl-2가 표출을 보인 예와 표출이 없는 예에서 c-myc의 표출률은 각각 71.4%와 36.8%의 표출률을 보였으며, c-myc가 표출을 보인 예와 표출이 없는 예에서 bcl-2는 각각 68.2%와 33.3%의 표출을 보여 유방암에서 bcl-2와 c-myc는 상관관계를 보였다. 이외의 항원 간의 상관관계는 각각 약간의 차이는 있으나 유의한 차이는 없었다(Table 6).

고 찰

항암 치료에 대한 발전에도 불구하고 유방암 환자의 생존율은 아직까지 획기적으로 향상되지 않고 있다. 유방암 환자의 예후를 정하는 데에 종양세포의 배수성(ploidy), 세포증식능 그리고 estrogen 수용체와 progesterone 수용체 같은 생물학적 매개변수가 중요한 것으로 알려져 있으며, 최근에는 proto-oncogenes의 표출이 예후인자로서의 가치가 인정되고 있다. 종양 유전자 산물은 정상적인 세포의 분화에 중요한 역할을 하며 종양 유전자의 조절과 표출에서의 변화는 악성전환과 관련이 있다고 한다.

유방암 환자에서 c-erbB-2의 표출률은 본 실험에서 64%로 다른 보고자들의 10~51%에 비해 높았다. 본 실험에서 유방암의 유형에 따라 c-erbB-2는 관내암과 유두상암이 전 예에서 표출을 보여 침윤성의 관암과 소엽암 그리고 수질성암에 비해 높은 표출률을 보였으나 침윤성 관암을 제외하고는 증례수가 적어 정확한 비교는 곤란하였다. 이 성적은 관내암에서의 표출률이 침윤성암에서 보다 높다고 하는 보고와는 일치하였으나, Pavelic 등(10)과 Berger 등(11)은 c-erbB-2의 표출률이 관내암보다 침윤성암에서 높다고 보고하였다. 본 실험에서 c-erbB-2는 유방암의 핵등급 I(79.3%), 핵등급 II(77.5%), 핵등급 III(81.8%)로 환자의 예후 불량과 관련성이 없었다. Moriki 등(12)은 c-erbB-2의 표출이 높은 핵등급과 관련성이 있으나 전이여부와는 관련성이 없다고 하였으며, Heatley 등(13)은 c-erbB-2의 과잉표출이 종양의 크기, 조직학적 핵등급, 림프절 전이여부에 따라 차이를 보였으나 림프절 전이와의 관련성만이 통계학적 의미를 보인다고 하였다. McCann 등(14)과 Slamon 등(15)은 c-erbB-2의 과잉표출이 조직학적 핵등급, 림프절 전이, 질환의 재발 그리고 환자의 생존과 관련이 있다고 하였으며, Tandon 등(16)과 Wright 등(17)은 Western blot와 면역조직학적 연구에서 이 종양 유전자가 유방암 환자에서 가치 있는 예후 표지자라고 하였다. 그러나 Ali 등(18)과 van De Vijver 등(19)은 유방암에서 c-erbB-2는 예후와 관련성이 없다고 하여 본 실험의 결과와 일치하였다.

유방암에서 p53의 표출률은 23~46%로 보고자들에 따라 차이를 보이고 있으며, 본 실험에서는 56.3%로 비교적 높았다. 유방암의 유형에 따라 본 실험에서 관내암과 유두상암이 침윤성의 관암과 소엽암 그리고 수질성암에 비해 극히

낮은 표출률을 보였으나 유의차는 없었다. Rosen 등(20)은 p53의 표출률이 종양의 조직학적 유형과 관련성을 보여 유두상암, 소엽암 그리고 관암에 비해 수질성암에서 높다고 하였고, Poller 등(21)은 침윤성 관암이 51%로 침윤성 소엽암의 8.3%에 비해 높으며, 수질성암이 63.6%라고 하였다. 또한 그는 다른 연구 보고에서 p53의 표출 및 p53 유전자의 돌연변이가 유방암의 초기단계에서 나타나며 관내암이 침윤성으로의 진행에 중요할 것이라고 추측하였다. 본 실험에서 p53은 조직학적 핵등급이 높아짐에 따라 표출률이 높았으나, 증례수가 적어 유의차는 없었고, 림프절 전이 예가 비전이 예에 비해 높은 표출률을 보여 유방암에서 p53의 표출은 환자의 예후 불량과 관련성이 추정되었다. Moriki 등(12)은 p53 유전자의 과잉표출은 유방암이 증식활성도 그리고 조직학적 핵등급과 관련성이 있으며 종양의 활동적인 진행과 관련이 있을 것으로 추측하였으며, Gohring 등(22)은 유방암에서 p53의 표출이 종양의 조직학적 핵등급과 의미 있는 관련성이 있다고 하였다. Davidoff 등(23)은 유방암에서 p53의 표출률이 림프절 전이 예가 비전이 예에 비해 높으며, p53의 표출이 환자의 예후와 관련이 있다고 하였다. 또한 Barnes 등(24)은 림프절 전이 예와 비전이 예 모두에서 p53의 표출과 환자의 예후 불량 사이에 의미 있는 관련성이 있다고 하였다. 위의 보고자들은 조직학적 핵등급 및 림프절 전이와 관련하여 유방암에서 p53의 표출이 환자의 예후와의 관련이 있음을 주장하는 것으로 본 실험의 결과와 일치하고 있다.

유방암에서 bcl-2의 표출률은 보고자들에 따라 차이를 보여 53~82%였으며, 본 실험에서는 52.5%로 비교적 낮은 표출률을 보였다. 본 실험에서 bcl-2는 관내암과 유두상암이 침윤성 관암과 소엽암, 수질성암에 비해 높은 표출률을 보였으나 유의차는 없었다. Lee 등(25)은 유방암에서는 침윤성 암이 49.5%, 관내암이 71.45로 관내암의 표출률이 높으며, bcl-2의 활성도의 소실이 종양의 진행과 상호관련이 있을 것으로 추측하였다. 또한 Sierra 등(26)도 bcl-2의 변화된 표출이 종양의 성장에 관여하며 유방암의 진행에 중요할 것이라고 하였다. 본 실험에서 유방암의 조직학적 핵등급에 따른 bcl-2의 표출률은 핵등급이 나빠짐에 따라 낮았으며, 이러한 결과는 유방암에서 bcl-2의 표출변화가 암세포의 탈분화 현상과 관련이 있을 것으로 추정된다. 그러나 림프절 전이여부에 따라서는 비전이 예가 전이 예에 비해 약간 높았다. Lee 등(25)은 유방암에서 bcl-2의 표출률이 핵등급이 좋은 예가 높아 bcl-2는 유방암에서 암세포의 탈분화와 종양의 진행을 억제하고 예후와 관련하여 그 의미는 불확실하지만 양호한 예후와 관련이 있을 것이라고 추측하였다. 또한 Leek 등(27)도 유방암에서 bcl-2의 소실은 환자의 예후 불량과 관련이 있다고 하였다. Sierra 등(26)은 림프절 전이 예에서는 bcl-2의 표출률이 72.2% 그리고 비전이 예에서는 45.7%의 표출률을 보이며, 또한 bcl-2의 표출을 보이는

예에서는 bcl-2의 표출이 없는 예에 비해 3배정도 높은 림프절 전이를 보인다고 하였다. 본 실험의 결과는 조직학적 핵등급에 따라서는 Lee 등(25)과 일치하였고, 림프절 전이여부에서는 Sierra 등(26)과는 약간의 차이를 보였다. 본 실험의 결과 유방암에서 bcl-2의 표출은 암세포의 탈분화와 관련성이 추정되었으나 예후와 관련 림프절 전이 여부와 따라서는 상반된 결과를 보여 더 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

유방암에서 c-myc의 표출률은 본 실험에서 55.0%로 다른 보고자들의 60~100%에 비해 낮았다. Varley 등(28)과 Tavassoli 등(29)은 유방암에서 c-myc 유전자의 증폭이 각각 22%와 21%에서 관찰된다고 하였다. 본 실험에서 유방암의 유형에 관내암과 유두상암이 침윤성 관암 및 소엽암, 수질성암에 비해 c-myc의 높은 표출률을 보였으나 유의차는 없었다. Hehir 등(7)은 비침윤성 암과 침윤성 관암에서 유사한 과잉표출을 보인다고 하였으며, Pavelic 등(30)은 유방암 조직에서 c-myc의 표출이 심한 heterogeneity를 보이며 c-myc의 표출을 보이는 세포의 비율이 비침윤성암에 비해 침윤성암에서 높으며 암의 악성도와 관련이 있다고 하였다. 또한 Varley 등(28)은 22%에서 c-myc 유전자의 증폭(2~10배)이 침윤성 유방암에서 발견되었으며 c-myc 유전자 변이와 환자의 불량한 예후 사이에 의미 있는 관련성을 보인다고 하였다. 본 실험에서 c-myc의 표출률은 유방암의 조직학적 핵등급이 나빠짐에 따라 낮았고, 비전이 예가 전이 예에 비해 높았다. Sikora 등(31)과 Stewart 등(32)은 면역 염색을 이용한 연구에서 저분화형에 비해 고분화형에서 표출률이 높다고 하여 본 실험의 결과와 일치하였으나, Tavassoli 등(29)은 21%에서 c-myc의 증폭이 관찰되었으며 이들 예 중 82%가 핵등급 III였고, 핵등급 I은 없었으며, 이러한 결과는 c-myc의 증폭이 종양의 나쁜 핵등급과 관련성을 의미한다고 하여 본 실험과 차이를 보였다. 림프절 전이여부에 따라서는 유방암에서 c-myc가 림프절 전이와 관련성이 없다는 보고들이 있어 차이를 보였다. 유방암에서 환자의 예후와 c-myc의 관련성에 대해 c-myc 유전자 산물의 낮은 표출이 환자의 예후 불량과 관련이 있다고 하는 보고가 있으나, Locker 등(33)은 c-myc가 환자의 생존과 무병기간을 예견하지 않으며 예후 측정에 유용하지 않다고 하여 보고자들에 따라 차이를 보이고 있다. 본 실험은 증례수가 적어 통계학적 의미는 없으나 유방암 환자의 예후를 측정하는 데 중요한 조직학적 핵등급 그리고 림프절 전이와 c-myc 사이에 관련성이 추정된 것은 의미 있는 것으로 환자의 양호한 예후와 관련성이 추측되었다.

유방암에서 bcl-2와 c-myc의 상관관계에 대한 연구보고가 없어 비교하여 설명하기는 어렵지만 본 실험에서 bcl-2와 c-myc는 각각 전체 표출률, 조직학적 유형과 핵등급, 림프절 전이여부에 따라 비슷한 표출 양상을 보였으며, bcl-2 표출 예에서 c-myc의 표출률이 높았고, c-myc 표출 예에서

bcl-2의 표출률이 높아 두 항원 사이에 밀접한 상관관계($P < 0.05$)를 보였다. 유방암에서 p53과 bcl-2는 조직학적 유형, 핵등급에 따라 상반된 표출 양상을 보였으며, p53 표출 예에서 bcl-2의 표출률이 낮았고, bcl-2 표출 예에서 p53의 표출률이 낮아 반대의 상관관계($P < 0.05$)를 보였다. 강 등(34)은 유방암에서 bcl-2는 분화가 좋은 경우에 표출률이 높고, p53은 분화가 나쁜 경우에 높아 bcl-2와 p53은 서로 상반된 작용을 하는 것으로 추정하였으며, Grczyca 등(35)과 Silvestrini 등(36)도 bcl-2와 p53의 표출 사이에 반대의 상호관계성이 있다고 하여 본 실험이 결과와 일치하고 있다. 이러한 두 항원 사이의 관계는 야생형 p53은 bcl-2에 의해 조절되고 특히 Bax의 기능을 항진시켜 apoptosis를 유도시키지만 돌연변이형 p53은 apoptosis를 막아 상대적으로 bcl-2의 표출을 저하시키며 bcl-2가 양성인 세포에서는 p53이 작용을 못해 기능적으로 bcl-2 (특히 BCL-XL)가 p53을 압도하는 것에 기인하는 것으로 생각된다. 본 실험에서도 림프절 전이 여부에 따라 p53에서는 림프절 전이 예에서, bcl-2는 비전이 예에서 보다 높은 표출률을 보이고 있음을 알 수 있다. 본 실험에서 bcl-2와 c-myc 그리고 p53과 bcl-2의 관계 이외의 다른 항원 사이에서는 의미 있는 관계성이 없었다. 유방암에서 p53과 c-erbB-2의 상관관계에 대해서는 p53이 세포의 증식도 그리고 c-erbB-2이 과잉표출과 직접적인 상호관련성이 있다고 하는 보고(37)와 c-erbB-2와 p53는 상호관련성이 없다고 하는 상반된 보고(38)가 있어 보고자에 따라 차이를 보이고 있다.

결 론

환자들의 평균 연령은 48.2세였고, 평균 관찰 및 추적 기간은 59.9개월로 5년 정도였으며, 추적기간 중 사망한 예는 전체 80예 중 33예로 mortality rate는 41.4%였고, 이들의 평균 생존기간은 77개월로 전체 5년 생존율은 63.6%이었다.

여러 가지 변수 중에서 암 병기가 생존율과 관련된 의미 있는 인자였고, 특히 암 병기 3기의 환자들이 낮은 생존율을 보였으며, 종양의 크기와 액와 림프절 전이 여부가 유방암 환자들의 생존율과 관련하여 의미 있게 나타났다. 그러나 본 연구의 목적인 c-erbB-2, p53, bcl-2와 c-myc는 data상 통계적으로 의미 있지는 않았으나 모집단이 좀 더 크거나 좀 더 추적관찰 기간이 길었다면 하는 아쉬움이 남았다. 추후 좀 더 data를 보강하여 본다면 예후인자로서 의미가 있다고 할 수 있겠다.

REFERENCES

- 1) Page DL, Jensen RA, Simpson JF. Routinely available indicators of prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998;51:195-208.

- 2) Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989;244:707-12.
- 3) Gasparini G, Gullick WJ, Maluta S, Dalla Palma P, Caffo O, Leonardi E, et al. c-erbB-3 and c-erbB-2 protein expression in node negative breast carcinoma--an immunocytochemical study. *Eur J Cancer* 1994;30A:16-22.
- 4) Hiroshi T. Prognostic and predictive value of c-erbB-2 (HER-2/neu) gene amplification in human breast cancer. *Breast Cancer* 2001;8:38-44.
- 5) Isola J, Visakorpi T, Holli K, Kallioniemi OP. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1109-14.
- 6) Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 1994;124:1-6.
- 7) Hehir DJ, McGreal G, Kirwan WO, Kealy W, Brady MP. c-myc oncogene expression: a marker for females at risk of breast carcinoma. *J Surg Oncol* 1993;54:207-9.
- 8) Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991;19:403-10.
- 9) Fleming ID, Cooper JS, Hensen DE, Hutter RVP, Kennedy BJ, Murphy GP, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997. p.171-180.
- 10) Pavelic ZP, Pavelic L, Lower EE, Gapany M, Gapany S, Barker EA, et al. C-myc, c-erbB-2, and Ki-67 expression in normal breast tissue and in invasive and noninvasive breast carcinoma. *Cancer Res* 1992;52:2597-602.
- 11) Berger MS, Locher GW, Saurer S, Gullick WJ, Waterfield MD, Groner B, et al. Correlation of c-erbB-2 gene amplification and protein expression in human breast carcinoma with nodal status and nuclear grading. *Cancer Res* 1988;48:1238-43.
- 12) Moriki T, Takahashi T, Tanioka F, Yamane T, Hara H. Proliferative activity in breast carcinoma evaluated by BrdU and PCNA. *Pathol Res Pract* 1995;191:1122-32.
- 13) Heatley M, Maxwell P, Whiteside C, Toner PG. c-erbB-2 oncogene product expression depends on tumor type and is related to oestrogen receptor and lymph node status in human breast carcinoma. *Pathol Res Pract* 1993;189:261-6.
- 14) McCann A, Dervan PA, Johnston PA, Gullick WJ, Carney DN. C-erbB-2 oncoprotein expression in primary human tumors. *Cancer* 1990;65:88-92.
- 15) 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* 1987;235:177-82.
- 16) Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Ullrich A, McGuire WL. HER-2/neu oncogene protein and prognosis in breast cancer. *J Clin Oncol* 1989;7:1120-8.
- 17) Wright C, Angus B, Nicholson S, Sainsbury JR, Cairns J, Gullick WJ, et al. Expression of c-erbB-2 oncoprotein: A prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Res* 1989;49:2087-90.
- 18) Ali IU, Campbell G, Lidereau R, Callahan R. Lack of evidence for the prognostic significance of c-erbB-2 amplification in human breast carcinoma. *Oncogene Res* 1988;3:139-46.
- 19) van De Vijver M, Peterse JL, Mooi WJ, Wisman P, Lomans J, Dalesio O, et al. Neu-protein overexpression in breast cancer. Association with comedo-type ductal carcinoma in situ and limited prognostic value in stage II breast cancer. *N Engl J Med* 1988;319:1239-45.
- 20) Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD, Cranor M, Borgen P, Norton L. P53 in node-negative breast carcinoma: An immunohistochemical study of epidemiological risk factors, histological features, and prognosis. *J Clin Oncol* 1995;13:821-30.
- 21) Poller DN, Hutchings CE, Galea M, Bell JA, Nicholson RA, Elston CW, et al. P53 protein expression in human breast carcinoma: relationship to expression of epidermal growth factor receptor, c-erbB-2 protein overexpression, and oestrogen receptor. *Br J Cancer* 1992;66:583-8.
- 22) Gohring UJ, Scharl A, Heckel C, Ahr A, Crombach G. P53 protein in 204 patients with primary breast carcinoma-immunohistochemical detection and clinical value as a prognostic factor. *Arch Gynecol Obstet* 1995;256:139-46.
- 23) Davidoff AM, Kerns BJ, Iglehart JD, Marks JR. Maintenance of p53 alterations throughout breast cancer progression. *Cancer Res* 1991;51:2605-10.
- 24) Barnes DM, Dublin EA, Fisher CJ, Levison DA, Millis RR. Immunohistochemical detection of p53 protein in mammary carcinoma. *Human Pathol* 1993;24:469-76.
- 25) Lee HD, Koo JY, Jung WH. Correlation of bcl-2 expression with clinicopathological feature in breast cancer. *Yonsei Medical J* 1997;38:206-11.
- 26) Sierra A, Lloveras B, Castellsague X, Moreno L, Garcia-Ramirez M. Bcl-2 expression is associated with lymph node metastasis in human ductal breast carcinoma. *Int J Cancer* 1995;60:54-60.
- 27) Leek RD, Kaklamanis L, Pezzella F, Gatter KC, Harris AL. Bcl-2 in normal human breast and carcinoma, association with oestrogen receptor-positive, epidermal growth factor receptor-negative tumors and in situ cancer. *Br J Cancer* 1994;69:135-9.
- 28) Varley JM, Swallow JE, Brammar WJ, Whittaker JL, Walker RA. Alteration to either c-erbB-2 (neu) or c-myc protooncogenes in breast carcinomas correlate with poor short-term prognosis. *Oncogene* 1987;1:423-30.
- 29) Tavassoli M, Quireke P, Farzaneh F, Lock NJ, Mayne LV, Kirkham N. C-erbB-2/c-erbA co-amplification indicative of lymph node metastasis, and c-myc amplification of high tumor grade, in human breast carcinoma. *Br J Cancer* 1989;60:505-10.
- 30) Pavelic ZP, Steele P, Preisler HD. Evaluation of c-myc pro-

- tooncogene in primary human breast carcinomas. *Anticancer Res* 1991;11:1421-7.
- 31) Sikora K, Chan S, Evan G, Gabra H, Markham N, Stewart J, et al. C-myc oncogene expression in colorectal cancer. *Cancer* 1987;59:1289-95.
- 32) Stewart J, Evan G, Watson J, Sikora K. Detection of the c-myc oncogene product in colonic polyps and carcinomas. *Br J Cancer* 1986;53:1-6.
- 33) Locker AP, Dowle CS, Ellis IO, Elston CW, Blamey RW, Sikora K, et al. C-myc oncogene product expression and prognosis in operable breast cancer. *Br J Cancer* 1989;60:669-72.
- 34) Kang HJ, Kim SW, Yun YK, Oh SK, Choe KJ, Noh DY. Expression of p53, c-erbB2, bcl-2, cathepsin D in infiltrating ductal cancer of the breast. *J Korean Breast Cancer Society* 2001;42:144-51.
- 35) Gorczyca W, Markiewski M, Kram A, Tuziak T, Domagala W. Immunohistochemical analysis of bcl-2 and p53 expression in breast carcinomas: Their correlation with Ki-67 growth fraction. *Virchows Arch* 1995;426:229-33.
- 36) Silvestrini R, Veneroni S, Daidone MG, Benini E, Boracchi P, Mezzetti M, et al. The bcl-2 protein: A prognostic indicator strongly related to p53 protein in lymph node negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:499-504.
- 37) Reed W, Hannisdal E, Boehler PJ, Gundersen S, Host H, Nesland JM. The prognostic value of p53 and c-erbB-2 immunostaining is overrated for patients with lymph node negative breast carcinoma: A multivariate analysis of prognostic factors in 613 patients with a follow-up of 14~30 years. *Cancer* 2000;88:804-13.
- 38) Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD, Cranor M, Borgen P, Norton L. Immunohistochemical detection of HER-2/neu in patients with axillary node negative breast carcinoma. A study of epidemiologic risk factors, histologic feature and prognosis. *Cancer* 1995;75:1320-6.