

유방암조직 내 Keratins 및 Vimentin 발현과 유방암전이와의 관계

전남대학교 의과대학 외과학교실, ¹병리학교실

제갈영종 · 윤 정 한 · 박 창 수¹

Co-relationship between Expression of Keratins and Vimentin in Breast Cancer Tissues and Metastases of Breast Cancer

Young-Jong Jegal, Jung-Han Yoon and Chang-Soo Park¹

Departments of Surgery and ¹Pathology, Chonnam University Medical School, Chonnam, Korea

Purpose: the most important biological behavior of breast cancer is its invasive potential and many efforts was made to reveal the factors related with the invasiveness of breast cancer cells. Some researchers reported that intermediate filament biology could represent an emerging and exciting field in tumor biology with respect to tumor aggressiveness and invasiveness. There are some experimental evidences that co-expression of vimentin, a interfilament marker indicative of mesenchymal lineage, and cytokeratin interfilaments can be correlated with invasiveness and metastatic deposits. So, we tried to determine the role of intermediate filaments such as cytokeratins and vimentin with respect of bone marrow micrometastases.

Methods: Expression of cytokeratins 8, 18, 19 and vimentin were immunohistochemically evaluated. Detection of bone marrow micrometastases was preformed through RT-PCR targeting mRNA of cytokeratin 19.

In order to compare the study group by the expression extent of cytokeratins, the case expressing 50% or more of observed cells was classified into the case with high expression and the case expressing 49% or less was classified into the case with low expression.

Results: The only cytokeratin of high expression representing the risk of bone marrow micrometastases was cytokeratin 8. Vimentin expression by itself did not show any

significance indicating bone marrow micrometastases. However, The cases possessing cytokeratin 8, 18, and 19 expression, altogether 75% or more showed a significantly high risk to bone marrow micrometastases. In that cases, addition of vimentin expression allowed a more higher possibility of bone marrow micrometastases.

Conclusion: A high expression of cytokeratin 8 among cytokeratins was related with bone marrow metastases. However, vimentin expression by itself did not show any relationship with bone marrow metastases. So, a further study is needed in order to reveal the role of vimentin expression in progression and metastases of breast cancer. (*Journal of Korean Breast Cancer Society* 2003;6:148-154)

Key Words: Cytokeratins, Vimentin, Bone marrow micrometastases

중심 단어: 유방암, 유전자침

서 론

유방암은 유방에 국한된 국소적인 질환형태가 아니라 전신적인 질환이며 따라서 수술적 치료와 함께 전신적인 치료 즉 각종 약물치료로 전이와 진행을 조절함으로써 치료를 도모하고자 하는 형태가 최근의 치료경향이다. 따라서 유방암의 전이와 진행과정에서 주도적이고 중요한 역할을 수행하는 인자들을 찾고자 하는 노력이 진행되고 있지만 암전이와 진행은 조직과 혈관계 내에서 암세포들의 침윤과 이동이 다단계적인 과정을 거쳐 이루어지기 때문에 한두 가지 인자만 가지고 암세포들의 침윤능력을 판단하기가 어렵다. 본 연구자 역시 그동안 유방암 환자에서 원발성 유방암 환자에서 골수미세전이 검색을 시작한 이래(1) 골수미세전이의 기전과 전이에 기여하는 중요 인자들 중 실제 임상적으로 활용 가능한 인자들을 찾기 위한 연구를 계속하여 왔다. 그 결과 혈관신생도와 PAI-1의 경우 골수미세전이와 의미 있는 상관관계를 확인할 수 있었지만 실질적으로 골수전이 여부를 완전하게 예측하는 데는 미흡하였다.(2,3) Intermediate filament biology는 세포생물학적 측면에서 최근들어 각광을 받게된 분야로서 조직특

책임저자 : 제갈영종, 광주광역시 동구 학 1동 8번지
☎ 501-757, 전남대학교병원 외과
Tel: 062-220-6453, 6456, Fax: 062-227-1635
E-mail: yjjegal@chonnam.ac.kr

접수일 : 2003년 5월 27일, 게재승인일 : 2003년 8월 5일
본 연구는 2001년도 전남대학교 병원 임상연구소의 연구비지원에 의해 이루어진 것임.

이성을 가지고 있어 세포들의 생물학적 기능을 설명하는데 중요한 요소가 될 수 있을 것으로 보고되고 있다. Intermediate filament와 관련되어 유방암의 진행과정 중 관찰되는 유전자발현의 변화 중의 하나로 이른바 epithelial to mesenchymal transition (EMT)의 발생이 있으며 이 과정 중 vimentin intermediate filaments이 cytokeratin interfilaments에 덧붙여 발현하게 된다고 보고되고 있다.(4-7) 이러한 현상은 특히 유방암의 전이능과 관련되어 있을 것으로 추정되며 실제 고등급의 유관암이나 수질양 암에서 vimentin이 더 잘 발현되고 림프절전이가 있거나 재발을 보인 환자의 조직에서도 발현이 증가되고 있음이 보고되고 있다.(8) 유방암 세포주를 이용한 시험관검사에서도 vimentin과 cytokeratin interfilaments의 동시발현을 보이는 경우 보다 고도의 침윤능력을 가지고 있으며 athymic nude mice에 주사한 경우 국소침윤과 혈행성전이를 증명할 수 있었다고 하였다.(9)

이렇듯 고도의 전이성 종양세포들이 상피형과 기질형의 사이형태인 이른바 interconverted phenotype을 보인다는 점을 고려할 때 유방암의 골수전이에서 interconverted phenotype을 결정하는 vimentin과 함께 intermediate filaments 단백질 중의 한 요소인 cytokeratins의 역할을 확인하는 연구가 필요하다.

방 법

본 연구에서 검색한 유방암 조직 내 intermediate filament들은 cytokeratins 중 유관강 내 상피세포들을 규정하는 Keratin 8, 18, 19와 함께 간엽조직을 규정하는 vimentin이었다. 이들의 발현여부는 면역조직화학적 염색법을 이용하여 확인하였고 유방암의 전이는 림프절 전이와 골수미세전이 여부를 검색하되 림프절 전이는 통상적인 H & E 염색법으로 관찰하고 골수미세전이는 cytokeratin 19의 mRNA를 표적으로 하는 RT-PCR법을 이용하여 검색하였다.

1) Cytokeratins와 Vimentin 검색

(1) 면역조직화학적 염색법: 10% 중성포르말린에 고정 후 제작된 파라핀 포매괴로부터 4 μ m 두께의 연속 절편을 만들고 이를 Probe-On 슬라이드에 부착 건조시켜 이용하고 전 염색과정은 Microprobe Immuno/DNA 염색기(Bio-medex)를 이용하여 시행하였다. Cytokeratins 발현을 확인하기 위한 일차항체들은 K8 (Dako, 1 : 100), K18 (Boehringer, 1 : 60), K19 (Progen, 1 : 20), Vimentin (Coulter Immun) 등이었다. 양성반응세포의 판정은 염색강도에 관계없이 일단 염색이 이루어진 경우로 종양세포의 밀집이 가장 많은 부분에서 고배율로 관찰하여 백분율로 산정하였다.

(2) 양성도 판정: Cytokeratins 및 vimentin 모두에서 저배

율상 세포의 밀집도가 가장 높은 부분을 확인하고 고배율 검색상 관찰한 200개 이상의 세포에서 염색강도와 관계없이 염색발현되는 세포 수를 세어 %를 계산하였으며 0에서 4까지의 등급으로 구분하여 염색발현세포들이 전혀 관찰되지 않는 경우 0, 1~25%이면 1등급, 26~50%이면 2등급, 51~75%이면 3등급, 76% 이상이면 4등급으로 하였다. 이중 cytokeratin 고발현군은 3등급 이상, 저발현군은 2등급 이하로 분류하였다.

2) 골수미세전이 검색

검색에 사용한 골수는 유방절제술 중 확보된 시야에서 흉골로부터 골수천자침을 이용하여 10 ml씩을 채취하고 유방암세포의 골수 내 미세전이 여부를 확인하기 위하여 Keratin 19의 mRNA를 target으로 한 RT-PCR 검사법을 시행하였다.

(1) MCF-7 세포주의 배양과 유방암 환자로부터의 골수 확보: 대조군으로 이용할 human mammary cell line인 MCF-7 세포(ATCC HTB22)를 10% FBS가 함유된 RPMI 1640배지에서 배양하였다. 그리고 유방암 환자로부터 채취한 골수는 Ficoll/Hypaque를 통한 원심분리 후 interphase의 세포만을 추출하여 보관하였다.

(2) RNA 추출: RPMI 1640배지에서 배양한 MCF-7 세포를 450 \times g으로 원심분리한 후 PBS로 세척하였다.

골수 추출물 역시 1,030 \times g으로 5분간 원심분리한 후 새로운 시험관으로 buffy coat를 옮기고 잔존해 있는 적혈구는 RBC lysis buffer (0.15 mol/L ammonium chloride, 0.01 mol/L potassium bicarbonate, 0.1 mol/L edathamil)을 가하여 10분간 흔들어 용해시켰다. Trypan blue exclusion 방법으로 세포의 숫자와 생존율을 검사하고 백만 내지는 천만 개의 세포를 500 μ l의 핵산추출물(4 mol/L guanidine isothiocyanate, 0.5% Sarkosyl, 25 mmol/L sodium citrate, pH 7.0)과 0.1 mol/L 2-mercaptoethanol에 부유시킨 다음 -70 $^{\circ}$ C에서 냉

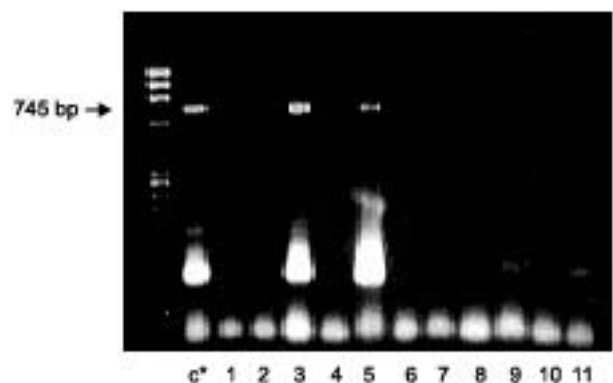


Fig. 1. RT-PCR results: The cases (3 and 5) showing 745bp band indicate bone marrow micrometastases.

동시켰다.

그리고 시료를 녹여 phenol/chloroform/isoamyl alcohol로 추출하고 95% ethanol과 3 mol/L sodium acetate (pH 5.2)로 핵산을 침전시켰다.

(3) 역전사 반응: 10 μ l의 RNA, 4.25 μ l의 DEPC H₂O, 0.5 μ l의 random primer를 섞어 70°C에서 10분간 반응시킨 후 얼음에 2분간 방치시켰다. 여기에 1.5 μ l의 dNTP, 0.5 μ l의 RNasin, 5 μ l의 5X reaction buffer, 2.5 μ l 100 mM dithiothreitol, 1 μ l의 MMLV를 가하여 42°C에서 1시간 반응시키고 70°C에 10분간 방치하여 반응을 마쳤다.

(4) 중합효소연쇄반응에 의한 Keratin 19 DNA의 증폭: 본 실험은 PERKIN ELMER (GeneAmp PCR system 9600)를 이용하여 실시하였다. Two step PCR을 시행하기 위하여 1쌍의 primer A, B (5'-AAGCTAACCATGCAGAACCTCAACGACCGC-3', 5'-TTATTGGCAGGTCAGGAGAAGAGCC-3')와 1쌍의 nested primer C, D (5'-TCCCGCGACTACGCCACTACTACACGACC-3', 5'-CGCGACTTGATGTCCA TGAGCCGCTGGTAC-3')을 합성하였다.

1차 PCR은 cDNA 5 μ l에 각각 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 0.001% (w/v) gelatin, 200 μ M dNTP, 50 mM MgCl₂와 primer A, B 그리고 1.25 U Taq DNA polymerase를 가하여 총 25 μ l를 준비한 후 기본적으로 다음의 3단계를 35주기 반복함으로써 DNA를 증폭시켰다.

Denaturation 단계는 95°C에서 50초, annealing과 polymerization 단계는 72°C에서 2분 30초간 시행하고 35주기의 마지막 주기에서는 72°C에서 10분간 반응시켰다.

반응이 끝난 후 반응 혼합액 중에서 1 μ l만을 사용하여 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 0.001% (w/v) gelatin, 200 μ M dNTP, MgCl₂와 nested primer C, D 그리고 1.25 U Taq DNA polymerase를 가하여 총 25 μ l의 혼합반응액을 준비한 뒤 2차 PCR의 35주기 반응을 반복하였다. 반응이 끝난 후 각 25 μ l의 반응혼합액 중 12 μ l를 취하여 1%의 agarose gel에서 loading하였다. 이때 low range DNA size standard로 ϕ 174를 Hae III로 잘랐다.

그리고 80 V의 일정한 전압에서 1시간 동안 전기영동을 실시한 다음 한천상에서 이동한 DNA band를 ethidium

bromide염색에 의하여 자외선 투시기상에서 관찰하고 UV photographic apparatus (polaroid, cambridge, MA)를 이용하여 사진을 찍었다. 그리고 대조군으로 설정된 MCF 세포주에서와 같이 745 bp에서의 band가 확인된 예를 골수 내 전이가 있는 것으로 판단하였다.

3) 통계학적 검증

Fischer's exact test와 Pearson Chi-square test를 이용하였으며 P 수치가 0.05 이하인 경우 통계적 의의가 있는 것으로 판정하였다.

결 과

유방암조직 cytokeratin 8, 18, 19 발현은 대상군 모든 예에서 1등급 이상으로 이루어졌다.

Cytokeratin 8의 경우 고발현군 44예 중 15예(34.1%)에서 골수전이가 관찰된 데 비하여 저발현군 16예 중 1예(6.3%)에서 골수전이가 관찰되어 Cytokeratin 8 고발현군에서의 골수전이빈도가 의미있게 높았다(Table 1).

Cytokeratin 18의 경우에는 고발현군 49예 중 15예(30.6%)에서 저발현군 11예 중 1예(9.1%)에서 골수전이가 확인되어 고발현군에서의 골수전이빈도가 높았으나 통계적인 의의는 없었다(Table 2).

Cytokeratin 19의 경우에서도 고발현군의 골수전이 빈도

Table 1. Incidence of bone marrow metastases according to expression of CK8

Grade	Bone marrow metastases			
	+	-	Total	
High	15 (34.1%)	29	44	P=0.046
Low	1 (6.3%)	15	16	
Total	16	44	60	

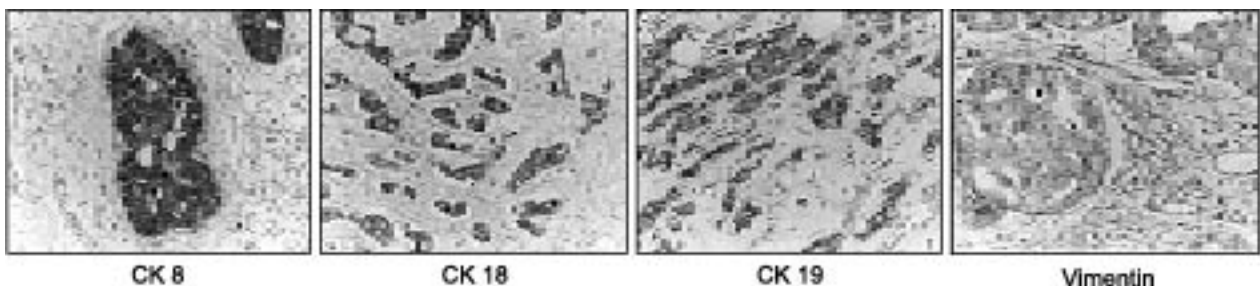


Fig. 2. Immunohistochemical staining for cytokeratins 8, 18, and 19 show positively stained cancer cells with red-colored cytoplasm.

Table 2. Incidence of bone marrow metastases according to expression of CK18

Grade	Bone marrow metastases			
	+	-	Total	
High	15 (30.6%)	34	49	P=0.259
Low	1 (9.1%)	10	11	
Total	16	44	60	

Table 3. Incidence of bone marrow metastases according to expression of CK19

Grade	Bone marrow metastases			
	+	-	Total	
High	15 (26.8%)	41	56	P=1.000
Low	1 (25%)	3	4	
Total	16	44	60	

Table 4. Incidence of bone marrow metastases according to expression of vimentin

Grade	Bone marrow metastases			
	+	-	Total	
High	6 (27.3%)	16	22 (36.7%)	P=1.000
Low	10 (26.3%)	28	38	
Total	16	44	60	

가 26.8% (15/56), 저발현군에서의 골수전이빈도는 25% (1/4)으로 통계적으로 유의있는 차이를 보이지 않았다 (Table 3).

Vimentin발현은 대상군의 36.7% (22/60)에서 관찰되었으며 골수전이는 vimentin발현 양성군의 27.3% (6/22), vimentin 발현 음성군의 26.3% (10/38)에서 이루어져 유의있는 차이를 보이지 않았다 (Table 4). 즉 vimentin발현이 골수전이 가능성에 기여한다는 사실은 확인할 수 없었다.

그런데 vimentin발현 양성군 중 cytokeratin 8, 18, 19가 공히 4등급 발현, 합계 12점을 보인 9예 중 6예(66.7%)에서 골수전이가 이루어진 데 비하여 11점 이하인 경우에는 모든 예에서 골수전이가 없었으며 이는 통계적으로 의의가 있었다. Vimentin발현 음성군에서도 합계 12점인 경

Table 5. Incidence of bone marrow metastases related to co-expression of cytokeratins (CKs) and vimentin

In vimentin (+)

Sum of score (expression grade of CKs)	Bone marrow metastases			
	+	-	Total	
= 12	6 (66.7%)	3	9	P=0.003
< 12	0	13	13	
Total	6	16	22	

In vimentin (-)

Sum of score (expression grade of CKs)	Bone marrow metastases			
	+	-	Total	
= 12	7 (46.7%)	8	15	P=0.03
< 12	3 (13.0%)	20	23	
Total	10	28	38	

우 46.7% (7/15), 합계 11점 이하인 경우에는 13% (3/23)로서 역시 유의있는 차이를 보였다 (Table 5). 이는 cytokeratins의 과발현이 골수전이의 가능성을 제시해 주는 중요한 요소이며 vimentin 발현은 단독으로는 골수전이 발생과 관련성은 없지만 cytokeratins 과발현군에서 vimentin발현을 보이는 경우에는 골수전이의 가능성이 의미있게 더 높아진다는 사실을 제시해 준다.

고 찰

유방암에서 종양의 전이능 및 공격성을 판단할 수 있는 종양인자들을 찾기 위한 다양한 연구가 활발히 이루어지고 있으나 아직도 이러한 종양특성을 규정하는 보다 결정적인 인자들의 규명이 이루어지지 못하고 있다.

Intermediate filaments는 직경 6~10 nm의 다중체로서 eukaryotic cells의 세포골격의 중요한 성분들을 형성하고 있다고 알려져 있으며 최근들어 세포 내 그리고 세포와 세포 외 기질 간의 신호전달, 세포운동성, 종양세포의 침윤성 등과 같은 다양한 역동적 세포기능에 있어서도 intermediate filaments가 관여하고 있다는 사실이 새롭게 밝혀졌으며(4,5,7) 활발히 연구되고 있는 intermediate filaments로는 cytokeratins와 vimentin 등이 있다. 본 연구에서 검토된 cytokeratins 8, 18, 19는 단순 상피성 cytokeratins로서 모든 유방암에서 발현되고 있으며(10) 본 연구에서도 연구 대상으로 하였던 유방암조직 모두에서 이들 cytokeratin들

의 발현이 이루어지고 있음을 확인할 수 있었다. 이에 비해 vimentin은 정상적으로는 섬유모세포나 hematopoietic cells와 같은 간엽기원의 세포들과 관련되어 있는 intermediate filament protein으로서 대부분의 정상적인 상피세포들에는 존재하고 있지 않다. 그리고 세포질 내 vimentin 발현은 광범하게 분포되어 자주 분명한 perinuclear & subplasmalemmal accentuation을 보인다고 하였다.(11) 그런데 상피암세포들에서 vimentin의 획득은 세포-세포간 접착성의 감소와 관계가 있으며 탈락되는 상피세포에서의 vimentin발현이 이를 설명해줄 수 있다.(12) 즉 vimentin의 존재는 독립적으로 생존할 수 있는 상피세포들의 성질을 나타낸다.(13) Sommers 등(14)은 유방암세포 군주 중 가장 덜 분화되고 섬유모세포적 세포주인 경우 vimentin양성이면서 keratins발현치가 낮은 특성을 가지고 있다고 하였다.

즉 vimentin발현과 cytokeratins의 발현여부를 판단하는 것이 유방암의 공격성과 전이능을 판단할 수 있는 중요한 인자로서 활용될 수 있다는 것이다.

이상의 보고들에 근거하여 저자들은 vimentin과 cytokeratins들의 발현도가 유방암의 혈행성 전이와 어떠한 관련성을 가지고 있는지를 확인하고자 하였다.

유방암에서의 vimentin 발현빈도는 12~60%(11,15)로 보고되고 있는데 본 연구에서는 36.7%의 발현율을 보였다. 유방암세포들은 epithelial intermediate filament marker인 keratin만을 발현하고 있어야 되는데 이렇듯 최대 60%에서 vimentin의 발현이 관찰되고 있으며 이런 vimentin발현은 불량한 예후와의 연관된다고 보고되고 있으며 반대로 흑간의 keratins 즉 K18 등의 발현증가는 양호한 예후와 관련되어 있다는 것이 보고되고 있는 등 아직도 유방암조직에서 이러한 intermediate filaments의 의미에 대하여 확실한 결론이 이루어지지 못하고 있는 실정이다.

Raymond 등(8)은 침윤성 유관암의 16%에서 종양세포들 중 60% 이상이 vimentin과 cytokeratin의 면역염색이 관찰되었다고 하였다. Keratin과 vimentin의 발현이 공히 50~100% 이상 관찰된 예는 대상군 중 19%였다고 하였다.

본 연구에서는 대상군의 모든 예에서 cytokeratins는 1등급 이상의 발현을 가지고 있었고 이 중 가장 고등급 발현도를 보인 cytokeratin은 cytokeratin 19이었다.

이를 근거로 할 때 유방암의 골수미세전이를 검색하는 대상 cytokeratin으로 cytokeratin 19를 활용함은 타당하다고 판단된다.

Hendrix 등(9)은 intermediate filaments proteins의 발현이 조직 특이성을 가지고 있음에 착안하여 MCF-7 유방암 세포주에 vimentin과 keratins를 모두 발현시키는 MoVi clones를 transfection시켰다. 그 결과 증식력, clonogenic potential, 종양성의 증가를 관찰하였고 SCID mouse를 이용한 연구에서는 림프절전이 증가함을 보고하였다.

Vimentin발현양성의 유방암 세포주들이 vimentin 음성의 동일한 세포주들과 비교하여 Boyden chamber assay에서 증가된 침윤성을 보이고 있음을 보고하고 있다.(17)

Domagala 등(8)도 림프절전이가 없는 경우 원발종양에서의 vimentin발현여부와 원격전이 사이에 연관성을 가지고 있음을 보고하였다. 즉 vimentin발현양성의 경우 원격전이의 가능성이 49%인 데 비하여 vimentin발현음성의 경우 단지 27%였다고 하였다. 그리고 혈행성전이와 관련하여 림프절전이음성과 림프절전이 양성군에서 보이는 원격전이 가능성의 차이를 설명해주는 것이 바로 vimentin발현음성군이었던다고 하였다. 이렇듯 vimentin발현이 원격전이발생과 밀접한 관련성을 가지고 있다는 보고가 있는가 하면 반대되는 의견도 있다.

Hendrix 등(9)은 SCID mouse model을 이용한 동물실험에서 단순히 vimentin intermediate filaments의 획득만으로 전이성 표현능을 부가하는 데 충분치 못하다고 보고하였다. Sommers 등(18)도 vimentin cDNA를 MCF-7세포주에 감작시켜도 침윤능력의 변화가 없었다고 하였다.

Domagala 등(16)은 vimentin발현이 고도의 성장분화를 가지고 있거나 ER치가 낮은 유방암에서 더 잘 이루어지고 있다고 보고하였다. 즉 이런 경우 종양세포들 중 50% 이상이 vimentin과 keratin의 공동발현을 보였지만 vimentin발현이 주변 림프절전이나 보다 큰 원발종양의 필수적인 요건은 아니라고 하였다. 그러나 ER에 무관한 유방암 중 불량한 예후를 보이는 별개의 군을 확인하는 데 도움을 줄 수 있을 것으로 보고하였다. 이렇듯 유방암에서 vimentin발현이 어떠한 임상병리학적 의미를 가지고 있는지에 대하여는 아직 분명한 결론이 나오지 않는 상태이다. 본 연구에서도 vimentin발현이 단독적으로는 골수 미세전이에 어떠한 의미를 부여하지는 못하고 있음을 확인할 수 있었다.

그러나 cytokeratins가 모두 고발현을 보이고 있는 군에서 vimentin발현이 이루어진 경우에 그렇지 않는 군에 비해 보다 통계적으로 유의 있게 골수미세전이 빈도가 증가함이 관찰되었다.

Thomas 등(19)은 폐경 후 유방암 환자의 파라핀 포매피를 이용한 면역조직화학적 염색법으로 keratin과 vimentin의 발현을 관찰하고 이를 기존의 다른 생물학적 표식자 및 환자의 생존율과 비교하여 분석한 결과 vimentin발현은 keratin발현과 역상관관계를 보이지만 조직학적 등급, 핵등급, Ki67 성장분획 등과는 손상관 관계를 가지고 있음을 관찰하였다. 또한 고keratin발현/vimentin음성군 또는 저keratin발현/vimentin양성군이 keratin과 vimentin이 비슷한 양으로 발현된 군에 비해 더 불량한 예후를 보이고 있음을 관찰하고 결국 keratin과 vimentin intermediate filament의 상대적 발현도가 유방암의 예후와 종양의 표현형을 결정하는데 더 중요하다고 보고하였다.

Fuchs 등(4)도 80예의 침윤성 유관암과 6개의 세포주를 대상으로 keratin 8, 18, 19 발현을 면역조직화학적 염색법으로 검색하고 환자들에 대한 10년간의 후향적 추적검사를 시행하였다. 그 결과 불량한 예후를 보였던 대부분의 유방암조직에서 luminal keratins의 발현이 의미 있게 억제된 데 비하여 특이하게 vimentin의 발현이 21.3%에서 이루어지고 있음을 관찰하였다. 이 중 epithelial keratins K8과 K18이 소실되고 mesenchymal vimentin이 발현되고 있는 경우에 조기 전이와 불량한 임상결과가 연관성을 가지고 있음을 보고하였다.

이는 cytokeratins의 고발현과 vimentin의 공동발현이 골수미세전이와 더 관련성을 보였던 본 연구와 상충되는 결과이다. 그러나 본 연구의 결과는 Nude mouse에서 cytokeratins와 vimentin을 동시 발현시킨 결과 국소침윤과 혈행성전이가 증가하였다는 Hendrix의 보고(9)와는 일치된다.

따라서 cytokeratins 및 vimentin 발현의 의미를 규명하기 위해서는 보다 많은 cytokeratins 저발현군 및 vimentin 발현군의 증례 확보를 통한 추가연구가 필요하다고 생각된다.

결 론

유방암조직 내 cytokeratin 중 cytokeratin 8이 단독으로는 유방암의 골수미세전이와의 의미있는 관련성을 가지고 있었으나 vimentin 발현과 골수미세전이와의 관련성은 확인할 수 없었다.

Cytokeratin 8, 18, 19가 모두 75% 이상의 고발현 시 골수미세전이의 빈도가 증가되었으며 vimentin 발현이 함께 이루어진 경우에는 골수미세전이의 빈도가 더욱 의의 있게 증가하였다.

REFERENCES

- 1) Chung SH, Yoon JH, Jaegal YJ. Study of bone marrow micrometastases in breast cancer patient. *J Kor Cancer Assoc* 1998;30:1147-55.
- 2) Choi NS, Jaegal YJ, Yoon JH, Park CS. A study for correlation between bone marrow micro-metastases and tumor angiogenesis in breast cancer. *J Korean Cancer Assoc* 2000; 32:253-60.
- 3) Yoon JH, Jaegal YJ, Suh SP. The relationship between plasminogen activator inhibitor-1 and bone marrow micrometastases in breast cancer. *J Kor Surg Soc* 2001;61:373-8.
- 4) Fuchs IB, Buehler H, Schouli J, Lichtenegger W, Schaller G. The implications of malignant alternations in cytoskeletal proteins on keratin-based analyses in breast cancer. presented in poster, 23rd Annual San Antonio Breast Cancer Symposium, 2000
- 5) Hendrix MJC, Seftor EA, Chu YW, Trevor KT, Seftor REB. Role of intermediate filaments in migration, invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1996;15:507-25.
- 6) Kirschmann DA, Seftor EA, Nieva DRC, Mariano NE, Hendrix MJC. Differentially expressed genes associated with the metastatic phenotype in breast cancer. *Breast Cancer Res & Treat* 1999;55:127-36.
- 7) Skalli O, Goldman RD. Recent insights into the assembly, dynamics, and function of intermediate filament networks. *Cell Motil* 1991;19:67-79.
- 8) Domagala W, Striker G, Szadowska A, Dukowicz A, Harezga B, Osborn M. p53 protein and vimentin in invasive ductal NOS breast carcinoma-relationship with survival and sites of metastases. *Eur J Cancer* 1994;30A:1527-34.
- 9) Hendrix MJ, Seftor EA, Seftor RE, Trevor KT. Experimental co-expression of vimentin and keratin filaments in human breast cancer cells results in phenotypic interconversion and increased invasive behavior. *Am J Pathol* 1997;150:483-95.
- 10) Santini D, Ceccarelli C, Taffurelli M, Pileri S, Marrano D. Differentiation pathways in primary invasive breast carcinoma as suggested by intermediate filament and biopathological marker expression. *J Pathol* 1996;179:386-91.
- 11) Raymond WA, Leong A S-Y. Co-expression of cytokeratin and vimentin intermediate filament proteins in benign and neoplastic breast epithelium. *J Pathol* 1989;157:299-306.
- 12) Lane EB, Hogan BLM, Kurkinen M, Garrels JJ. Co-expression of vimentin and cytokeratins in parietal endodermal cells of early mouse embryo. *Nature* 1983;303:701-4.
- 13) Ramaekers FCS, Haag D, Kent A, Moesker O, Jap PHR, Vooijs GP. Coexpression of keratin- and vimentin-type intermediate filaments in human metastatic carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983;80:2618-22.
- 14) Sommers CL, Byers SW, Thompson EW, Torri JA, Gelmann EP. Differentiation state and invasiveness of human breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res & Treat* 1994;31:325-35.
- 15) Azumi N, Batifora H. The distribution of vimentin and keratin in epithelial and nonepithelial neoplasms. A comprehensive immunohistochemical study on formalin and alcohol-fixed tumors. *Am J Clin Pathol* 1987;88:286-96.
- 16) Domagala W, Lasota J, Bartkowiak J, Weber K, Osborn M. Vimentin is preferentially expressed in human breast carcinomas with low estrogen receptor and high Ki67 growth fraction. *Am J Pathol* 1990;136:219-27.
- 17) Thompson EW, Paik S, Brunner N, Sommers CL, Zugmaier G, Clarke R, et al. Association of increased basement membrane invasiveness with absence of estrogen receptor and expression of vimentin in human breast cancer cell lines. *J Cell Physiol* 1992;150:534-44.
- 18) Sommers CL, Heckford SE, Skerker JM, Worland P, Torri J, Thompson EW, et al. Loss of epithelial markers and acquisition of vimentin expression in adriamycin and vinblastine-resistant human breast cancer cell lines. *Cancer Research*

1992;52:5190-7.

- 19) Thomas PA, Kirschmann DA, Cerhan JR, Folberg R, Seftor EA, Sellers TA, et al. Association between keratin and ve-

mentin expression, malignant phenotype, and survival in postmenopausal breast cancer patients. Clin Cancer Res 1999; 5:2698-703.
