

유방암에서 면역조직화학염색법을 이용한 Insulin-like Growth Factor-I Receptor (IGF-IR)와 Insulin Receptor Substrate-1 (IRS-1) 발현의 임상적 의의

가톨릭대학교 의과대학 외과학교실 의정부성모병원 외과

홍태호 · 최승남 · 김정수 · 김기환 · 서학준 · 김지일
안창혁 · 박우찬 · 오세정 · 정상설 · 임근우

The Clinical Application of Insulin-like Growth Factor-I Receptor (IGF-IR) and Insulin Receptor Substrate-1 (IRS-1) Expression in Breast Cancer

Tae Ho Hong, Seung Nam Choi, Jeong Soo Kim, Kee Hwan Kim, Hak Jun Seo, Ji Il Kim, Chang Hyeok Ahn, Woo Chan Park, Se Jeong Oh, Sang Seul Jung and Keun Woo Lim

Department of Surgery, Uijongbu St. Mary's Hospital, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Uijongbu, Korea

Purpose: The insulin-like growth factor (IGF) system performs multiple functions in the regulation of breast cancer cell growth. The IGF system is comprised of a complex network of ligands, receptors and related signaling proteins. Two receptors are recognized, the insulin-like growth factor-I receptor (IGF-IR) and the insulin-like growth factor-II receptor (IGF-IIR), one of which, the IGF-IR, is a transmembrane heterodimer structurally similar to the insulin receptor. The activation of the IGF-IR results in the recruitment of adapter proteins, which adapter proteins used by the insulin-like growth factor-I (IGF-I) to transduce its signal to the insulin receptor substrate-1 (IRS-1). This study investigated the relationship between IGF-IR and IRS-1 by using an immunohistochemical staining technique.

Methods: IGF-IR and IRS-1 expression was detected by immunohistochemical staining using paraffin sections in 123 invasive breast carcinoma cases. The results were evaluated with the survival rate and the clinicopathological prognostic variables such as the patient's age, the clinical

stage, the histological grade, the estrogen receptor (ER) and the progesterone receptor (PR).

Results: The results showed that IGF-IR and IRS-1 expression positively correlated with the ER and PR, and an inverse relationship was found between the IGF-IR and IRS-1 and histological grades. No association was observed between the IGF-IR and IRS-1 and the patient's age and clinical stage. In survival analysis, there was no definite association between the expressions of IGF-IR and IRS-1 and the disease free survival rate.

Conclusion: IGF-IR and IRS-1 appear to play a role in the progression and differentiation of breast cancer in association with the ER and the PR. (*Journal of Korean Breast Cancer Society* 2003;6:283-290)

Key Words: Breast cancer, Immunohistochemical stain, IGF-1R, IRS-1

중심 단어: 유방암, 면역조직화학염색, 인슐린 유사 성장인자 수용체-I, 인슐린수용체 기질 단백질-1

서론

최근 인체의 암 발생 기전에 관여하는 여러 가지 성장인자, 수용체, 암유전자 및 암 억제 유전자 등에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 유방암의 발생, 분화 및 성장에도 이런 여러 가지 요인들이 상호작용한다는 것이 밝혀져 있다. 실제로 일부 유방암 세포의 성장에 에스트로겐이 필요하다는 사실은 이미 잘 알려져 있으며 이를 이용한 치료도 임상에서도 쓰이고 있다. 이러한 에스트로겐 이외에도 유방암 세포가 성장하고 전이하는 데는 여러 성장인자와 사이토카인(cytokines)들을 필요로 한다는 것이 알려져 있으며,(1) 그중 대표적인 펩타이드 성장인자인 인슐린유사성장인자(Insulin-like Growth Factor (IGF))이다.

책임저자 : 김정수, 경기도 의정부시 금오동 65-1

☎ 480-130, 가톨릭대학교 의정부성모병원 외과

Tel: 031-820-3048, Fax: 031-847-2717

E-mail: drbreast@catholic.ac.kr

접수일 : 2003년 11월 15일, 게재승인일 : 2003년 12월 18일

IGF는 유방을 포함한 다양한 조직에 존재하며 정상세포의 성장과 발달에 영향을 미칠 뿐 아니라 종양의 성장과 분화에도 관여하는 것으로 알려져 있다. 그 수용체는 IGF-IR와 IGF-IIR 두 개로 구성되어 있으며, IGF체계에서 수용체 자극 후의 신호전달 단계에서 중요한 역할을 하는 단백질로 Insulin Receptor Substrate (IRS)가 소개되었고, (2) 이에는 IRS-1, IRS-2, IRS-4가 포함되며 에스트로겐 수용체 양성인 유방암 세포에서는 IRS-1이 주요 신호전달물질로 작용한다는 사실이 밝혀져 있다. (1-3)

그간의 연구들에 의하면 유방암을 비롯하여 폐암, (4) 대장암, (5) 위암, (6) 간암, (7) 전립선암 (8) 등에서 IGF는 강력한 성장인자로서 작용한다고 알려져 있으나 IGF의 조직에 대한 기능은 내분비 형식 외에도 촉진비, 자가분비 등의 방식을 취하므로 IGF를 암종조직 자체에서 측정하는 것은 그 결과에 대한 해석에 논란이 많을 뿐 아니라 측정 방법도 매우 복잡한 것으로 알려져 있다. 이와 구조적 동종으로 높은 친화성을 갖는 6가지의 인슐린유사성장인자 결합단백질(insulin-like growth factor binding protein, IGFBP)은 IGF의 작용을 증가시키기도 하는 동시에 억제 작용도 함으로써 암종에서의 IGF의 발현도에 대한 평가를 한층 더 복잡하게 하였다. (9,10) 반면에 IGF-I의 기능은 주로 세포막에서 세포질 내에 걸쳐 존재하는 펩타이드 수용체에 의해 나타나므로 IGF-IR에 대한 관심이 최근 증가되면서 여러 가지 연구 결과들이 보고되고 있다. (11)

본 연구에서는 유방암세포에서 면역조직화학염색법을 이용하여 IGF-IR와 IRS-1의 발현양상과 임상병기, 조직학적 분화도, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체의 상관관계를 분석하고 아울러 재발과의 관계를 알아보려고 하였다.

방 법

1) 연구 대상

가톨릭대학교 의정부성모병원에서 1992년부터 2002년까지 유방암으로 근치절제술을 시행받은 환자를 대상으로 수술 후 추적관찰이 가능하며 질환의 경과에 따른 일 반적인 보조요법(보조적 방사선치료, 보조적 항암화학요법, 보조적 호르몬요법)을 시행받았던 환자에서 유방 조직의 양이 충분하고 파라핀 블록의 보존 상태가 양호한 123 명을 연구대상으로 하였다.

2) 연구 방법

(1) 환자의 병력: 환자의 병록지와 병리 보고서를 검토하여 수술 당시 환자의 연령, 조직학적 분화도, 임상병기, 치료방법, 재발 및 전이 여부, 생존에 관한 자료를 조사하였고, 의무기록과 전화를 통하여 각 환자에서 유방절제술 시행일로부터 사망일까지의 생존기간을 산출하였는데 관

찰 종료기간까지 살아있거나 추적 중단된 환자는 마지막 생존이 확인된 날에 관찰중단(censor)한 것으로 처리하였다. 무병 생존기간은 유방절제술을 시행받은 날부터 재발이 확인된 날까지로 정의하였으며, 재발이 없었던 환자는 최종 추적일까지를 무병 생존기간으로 하고 그 시점에서 관찰 중단된 것으로 처리하였다.

(2) 암종의 조직학적 분류와 임상병기: 암종의 조직 분화도는 Bloom & Richardson 등급 체계 (12)에 따라 관형성 정도(tubule formation), 핵의 모양(pleomorphism) 및 유사분열수(mitoses)를 각각 관찰하여 1개만 보이는 경우를 slight, 2개 또는 3개가 보이는 경우를 moderate, 4개 이상 보이는 경우를 marked degree로 세분하여 각각 1, 2, 3점을 주어서 각각을 더한 값이 3~5점이면 I등급(고분화), 6, 7점은 II등급(중분화), 8, 9점을 III등급(저분화)로 분류하였다. 또한 임상병기는 American Joint Committee on Cancer (AJCC)의 분류에 따랐다.

(3) 면역조직화학 염색: 수술 시 얻은 조직을 중성 포르말린 용액에 고정하여 파라핀에 포매하고 4 um 두께로 잘라 'probe on plus' 슬라이드에 부착시키고 xylene으로 3분간 3회 담구어 파라핀을 제거한 후, 100%, 85%, 70%, 50% 알코올에 3분씩 처리 후 증류수에 넣어 흡수화하였다. 10 mM Citrate용액 pH 6.0 (IRS-1)과 1 mM EDTA, pH 8.0 (IGF-IR) buffer에 넣어 microwave를 이용하여 15분간 끓인 후 충분히 식혔다. H₂O₂를 이용하여 peroxidase를 blocking시키고 1차 항체 IGF-IR (1 : 100) (Neomarkers), IRS-1 (1 : 200) (Santa cruz biotechnology, Inc)를 이용하여 실온 또는 4°C에서 하룻밤 반응시켰다. Histostain-Plus kit (Zymed, San Francisco, CA)을 사용하여 TBS용액으로 씻은 후 2차 항체인 biotinylated polyvalent antibody (Histostain-Plus, Zymed, San Francisco, CA)를 실온에서 10분간 반응시켜 TBS용액으로 씻고 streptavidine peroxidase와 10분간 반응시켰다. TBS용액으로 씻고 발색시약인 DAB로 5분간 반응시킨 후 물로 세척하고 hematoxylin으로 대조염색한 후 알코올과 xylene으로 탈수시켜 canada balsam으로 봉입하여 현미경으로 검경하였다.

(4) 면역조직화학 염색결과 판정: 슬라이드는 광학 현미경을 사용하여 판독하였고, 검사자 2명이 각각 판독한 것을 종합하여 결과를 내고 판독의 정확도를 기하기 위하여 이미 판독한 조직 표본들을 무작위 추출하여 반복 관찰하였다. 모든 슬라이드는 임상 결과나 병리 조직적 자료를 모르는 상태에서 면역염색에 대한 평가를 하였다.

발현의 정도는 반정량적 평점체계를 이용하여 표현하였는데 염색 강도에 따라 none 또는 very weak: 0점, weak: 1점, moderate: 2점, strong: 3점으로 분류하였고, 염색 범위에 대한 평가는 조직 표본을 400배율로 관찰하여 10 시야에서 염색된 세포수의 비를 산출하여 양성 세포율(%)로 하고 0~10%: 0점, 10~40%: 1점, 40~80%: 2점, 80% 이

상인 경우: 3점으로 하여 양성반응의 강도와 범위에 대한 점수를 합산하여 0에서 6점까지 점수를 산정하였다. 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체는 중앙세포의 핵에 10% 이상 염색이 되는 경우를 양성으로 판정하였다.

(5) 통계처리: 환자의 나이, 임상병기, 조직학적 분화도, 에스트로겐과 프로게스테론 수용체의 발현 여부와 IGF-IR와 IRS-1의 발현 정도를 윈도우즈용 SPSS (version 10.0) 통계 프로그램을 이용하여 Pearson Chi-Square test를 실시하였고, IGF-IR와 IRS-1의 발현에 따른 생존율 분석을 Kaplan-Meier 방법에 의하여 구하였다. 모든 통계 검정은 P값이 0.05 이하일 때 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 인정하였다.

결 과

1) 임상조건

환자의 연령은 18세에서 84세로 평균 50.1세였다. 추적 관찰 기간은 19개월에서 117개월(중앙값 57개월)로 이 기간 중에 사망이 확인된 환자는 3명, 재발은 17명이었다. 사망한 환자 중 한 명은 유방암의 다발성 전이에 의한 전신 질환으로 사망하였고 나머지 2명은 유방암의 재발이나 진행과는 상관없이 심혈관 질환에 의한 사망이었다.

재발의 경우 골 전이가 5예(29.4%)로 가장 많은 빈도를

Table 1. Correlation between IGF-IR and IRS-1 expression and age

IGF-IR	Number	Age (mean)	P value
Negative	42	49.4	0.611
Positive	81	50.5	

IRS-1	Number	Age (mean)	P value
Negative	27	48.4	0.385
Positive	96	50.6	

Table 2. Correlation between IGF-IR and IRS-1 expression and stage

	IGF-IR (-)	IGF-IR (+)
Grade I	9 (25.0%)	27 (75.0%)
Grade II	19 (32.2%)	40 (67.8%)
Grade III	14 (50.0%)	14 (50.0%)
P-value	0.042	

차지하였고 폐전이가 4예(23.5%), 반대편 쇄골상부 림프절 및 액와 림프절 2예(11.8%), 간전이 2예(11.8%), 뇌전이 1예(5.9%), 동측 흉벽의 국소 재발 1예(5.9%)였고, 간, 폐, 골등의 다발성 전이가 2예(11.8%)에서 있었다. 근치 수술 후 재발까지 또는 최종 추적일까지로 정의한 무병 생존기간은 4개월에서 117개월로 중앙값은 47개월이었다.

2) 조직학적 소견

침윤성 관암종이 92예(74.8%)이고 침윤성 소엽암이 31예(25.2%)였다. 환자의 병기별로는 병기 I 36예(29.3%), 병기 II 59예(48.0%), 병기 III 25예(20.3%), 병기 IV가 3예(2.4%)이었고, 조직 분화도에 따라서 I등급 36예(29.3%), II등급 59예(48.0%), III등급이 28예(22.8%)였다.

3) 면역조직화학 염색 결과와 예후 인자와의 상관성

IGF-IR의 면역 양성 반응은 중앙 세포의 세포막과 세포질에 적갈색으로 표현되었고 IRS-1의 경우에는 세포질 이외에도 핵주위 침착이나 핵 자체에서 양성 반응을 보였다 (Fig. 1). IGF-IR와 IRS-1의 발현율은 반정량적 평점 체계

Table 3. Correlation between IGF-IR and IRS-1 expression and grade

	IRS-1 (-)	IRS-1 (+)
Grade I	2 (5.6%)	34 (94.4%)
Grade II	17 (28.8%)	42 (71.2%)
Grade III	8 (28.6%)	20 (71.4%)
P-value	0.018	

	IGF-IR (-)	IGF-IR (+)
Stage I	16 (38.1%)	20 (24.7%)
Stage II	15 (35.7%)	44 (54.3%)
Stage III	10 (23.8%)	15 (18.5%)
Stage IV	1 (2.4%)	2 (2.5%)
P-value	0.253	

	IRS-1 (-)	IRS-1 (+)
Stage I	9 (33.7%)	27 (28.1%)
Stage II	10 (37.0%)	49 (51.0%)
Stage III	8 (29.6%)	17 (17.7%)
Stage IV	0 (0.0%)	3 (3.1%)
P-value	0.337	

Table 4. Correlation between IGF-IR and IRS-1 expression and estrogen & progesterone

	IGF-IR (-)	IGF-IR (+)	IRS-1 (-)	IRS-1 (+)
ER (-)	30 (71.4%)	38 (46.9%)	24 (88.9%)	44 (45.8%)
ER (+)	12 (28.6%)	43 (53.1%)	3 (11.1%)	52 (54.2%)
P-value	0.010		0.001	

	IGF-IR (-)	IGF-IR (+)	IRS-1 (-)	IRS-1 (+)
PR (-)	28 (66.7%)	37 (45.7%)	19 (70.4%)	46 (47.9%)
PR (+)	14 (33.3%)	44 (54.3%)	8 (29.6%)	50 (52.1%)
P-value	0.027		0.039	

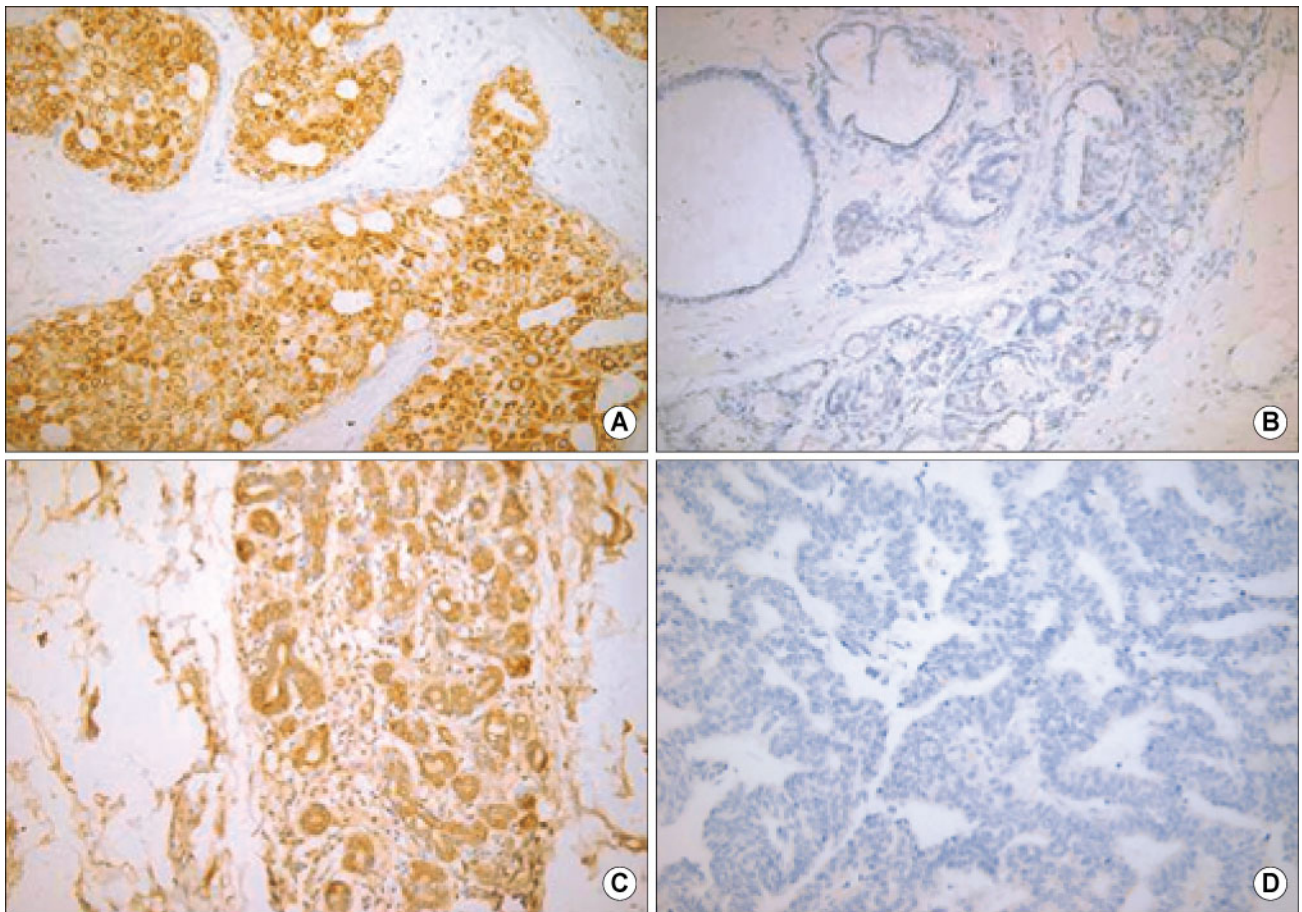


Fig. 1. Immunohistochemical stain. A. This shows a grade II ductal carcinoma exhibiting strong expression of IGF-IR (cytoplasmic and membrane staining). B. This shows a grade II ductal carcinoma exhibiting negative expression of IGF-IR. C. This shows a grade I ductal carcinoma exhibiting strong expression of IRS-1 (cytoplasmic and membrane staining). D. This shows a grade II ductal carcinoma exhibiting negative expression of IRS-1.

에 따른 점수, 0~2점까지를 음성으로 하고 3~4점까지를 양성으로 하였을 때 각각 65.9%와 78.0%였다. 에스트로겐 수용체는 123예 가운데 55예(44.7%)가 양성이고, 프로그

스테론 수용체에서도 123예 가운데 55예(44.7%)가 양성이었다.

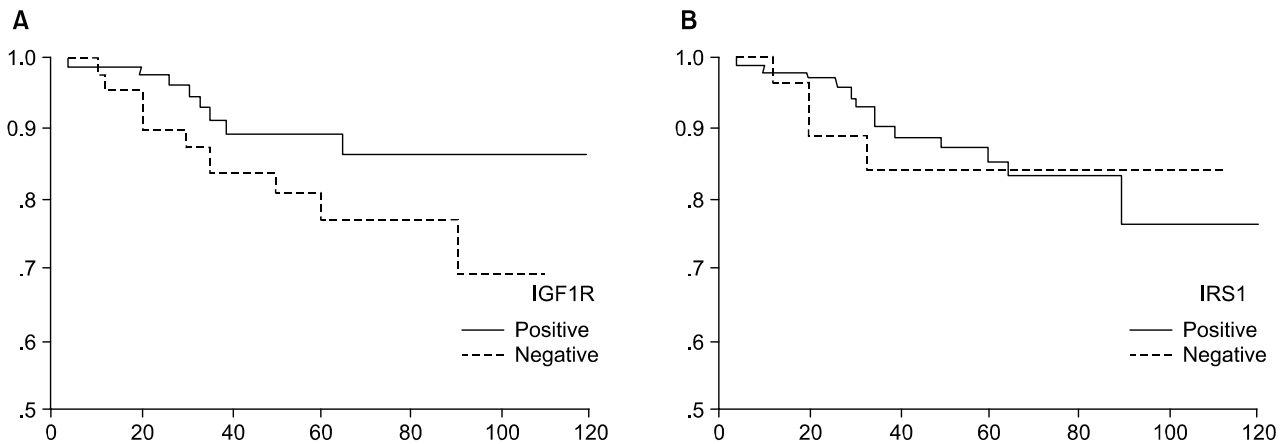


Fig. 2. Association between IGF-IR (A) and IRS-1 (B) expression and disease free survival.

(1) 환자의 나이, 임상병기 및 조직학적 분화도에 따른 IGF-IR와 IRS-1의 발현도: IGF-IR의 경우 양성군과 음성군 간의 환자의 평균 나이는 각각 50.5세와 49.4세로 차이가 없었고($P=0.611$), IRS-1의 경우도 양성군과 음성군의 평균 나이는 각각 50.6세와 48.4세로 역시 차이를 보이지 않았다($P=0.385$)(Table 1). AJCC 임상병기의 구분에 따른 IGF-IR나 IRS-1의 발현 양상에서도 통계학적으로 유의한 차이가 없었다($P=0.749$)(Table 2). 조직학적 분화도에 따른 발현 양상을 분석해 보면 분화도가 낮을수록 IGF-IR와 IRS-1의 발현율이 낮으며 통계학적으로 유의하였다(각각 $P=0.042$, 0.018)(Table 3).

(2) 에스트로겐과 프로게스테론 수용체의 발현에 따른 IGF-IR와 IRS-1의 발현도(Table 4): 에스트로겐 수용체 양성군에서 IGF-IR의 발현은 음성군에서 보다 유의있게 높게 나타났고($P=0.010$), IRS-1의 경우도 양성군에서의 발현이 음성군에서 보다 유의있게 높게 나타났다($P=0.001$). 마찬가지로 프로게스테론 수용체 양성군에서 IGF-IR의 발현은 음성군에서 보다 유의있게 높게 나타났고($P=0.027$), IRS-1의 경우도 양성군에서의 발현이 음성군에서 보다 유의있게 높게 나타났다($P=0.039$).

(3) IGF-IR와 IRS-1의 발현도와 재발과의 관계(Fig. 2): 5년 무병생존율은 IGF-IR 양성인 군에서 89%, 음성인 군에서 77%로 양성인 군에서 더 높게 나타났으나 통계학적인 의미는 없었다($P=0.1162$). IRS-1의 경우 5년 무병생존율은 양성군에서 85%, 음성군에서 84%로 두 군 간의 차이가 거의 없었다.

고 찰

유방암은 우리나라에서도 서구의 경우와 마찬가지로 지속적인 증가 추세를 보여 2001년도 한국중앙암등록 사업 연례보고서에 따르면 여성 암의 1위를 차지한다고 하

였다.(13) 유방암의 발생이 복합적 인자에 의해 기인되듯이 그 예후 또한 복잡한 요인들에 관련되어 있다. 임상경과가 환자에 따라 상이한 현상은 여러 암들의 공통된 특징이지만 유방암이 지니는 특성을 여러 각도에서 관찰하면 상당히 많은 예후 인자들을 발견할 수 있으며, 현재 이러한 임상적 경과를 예측할 수 있는 예후 인자로서는 환자의 연령, 폐경 상태, 종양의 크기, 림프절 전이 유무, 조직학적 아형 및 암 유전자, 암 억제 유전자, 성장 인자, 증식력의 측정, 호르몬 수용체 유무, 핵등급 및 조직 등급 등이 소개되어 있다.(14) 이러한 예후인자들의 분류는 생존율 및 재발률의 예측성이라는 장점뿐만 아니라 수술 후 추가적인 치료를 결정하는 판단 인자로도 적용할 수 있기 때문에 더욱 큰 의미가 있다.

최근 유방암을 비롯하여 폐암, 대장암 등 여러 가지 원발성 암에서는 정상 세포보다 성장인자 및 그의 수용체가 증가되어 있으며, 이들 악성 종양의 악성도 및 예후와 관련이 있는 것으로 보고되면서 이에 대한 연구가 활발히 진행 중이다.

지금까지 보고된 인체 내의 여러 가지 성장 요소에는 IGF-I, epidermal growth factor (EGF), platelet-derived growth factor (PDGF), fibroblast growth factor (FGF) 등이 있는데 이들 성장요소는 실질세포(parenchymal cell) 혹은 지지세포(mesenchymal cell)에 의해 분비되어 내분비 혹은 측분비로, 또는 암세포 자체에 의한 자가분비 형태로 세포증식에 관여한다.(15)

이들 중 IGF 체계는 리간드, 수용체, 결합단백으로 구성되는 복합 성장인자계이며 리간드인 IGF-I와 IGF-II는 인슐린과 구조적 상동성을 가지고 있고, 각각의 수용체와 결합하여 세포 성장과 분화를 조절하는데 중요한 역할을 한다. 유방암에서 이들 IGF 체계는 암종의 증식, 세포고사(apoptosis)의 억제, 형질 전환 자극을 유발하며 방사선 치료나 항암 치료에 대한 유방암 세포의 저항성을 높여 준

다는 보고들이 있다.(16)

IGF-I의 세포에 대한 영향은 주로 IGF-I이 세포 내의 IGF-IR에 결합함으로써 이루어진다. IGF-IR은 Ullrich 등이 처음 human term placental cDNA library로부터 복사하였고 그것의 아미노산 서열이 밝혀졌으며, 이를 바탕으로 생체 내외의 여러 모델에서 IGF-IR의 표현이 어떻게 조절되는지에 대한 연구가 가능하게 되었다.(17) 이러한 IGF-IR은 한 개의 폴리펩타이드 체인으로서 인슐린 수용체와 같이 $\alpha\beta$ 이성이분자체 구조를 가지고 있다. α 및 β 아단위는 하나의 유전자(인간에서 그 유전자는 15번 염색체에 존재한다)로부터 전사되어 1,367개의 아미노산으로 번역된 다음 가수분해되어 α 아단위, β 아단위와 두 아단위 사이를 이어주는 이황화결합으로 연결된다. IGF-I에 결합하는 부위는 α 아단위로, IGF-I외에 IGF-II와 인슐린과도 어느 정도 반응하는 것으로 알려져 있다. IGF-IR의 β 아단위는 세포막에 걸쳐있는 타이로신 키나제(tyrosine kinase)로서 α 아단위로부터 받은 신호를 세포 안으로 전달하는 역할을 한다. 즉 IGF-IR은 인슐린 수용체와 마찬가지로 β 아단위의 타이로신 키나제 도메인을 활성화시키고 세포 내의 여러 기질을 인산화시켜 세포 내 신호전달을 일으킨다.(18,19)

이러한 세포 내 신호 전달 체계에서 IGF-IR와 결합하여 신호를 전달하는 단백질로 IRS family가 알려져 있고, 이에는 IRS-1, IRS-2, IRS-4가 포함되며 이 중 IRS-1이 대표적인 물질로 18개의 타이로신 인산화 부위를 가지며, IGF-IR로부터의 복잡한 신호를 전달한다. 에스트로겐 수용체 양성인 유방암 세포에서는 IRS-1이 주요 신호전달 물질이고 음성인 유방암 세포에서는 IRS-2가 주요 신호전달물질로 알려져 있다.(1,20)

Lee 등(21)은 에스트라디올이 IGF-IR와 IRS-1의 발현을 유발하며 IGF-IR의 인산화를 자극하고 IRS-1 같은 단백질을 유도하여 신호를 전달한다고 보고하였고, Peyrat 등(22)은 IGF-I에 의한 신호전달은 반대로 에스트로겐 수용체의 인산화와 활성화를 자극한다고 하였다. 지금까지의 연구에 의해 에스트로겐 수용체 발현은 유방암의 예후 인자로 실제 임상에서 사용되며 지난 수년간 치료에 직접 이용하게 되었으나 아직까지 IGF-I신호 체계는 최근에 관심을 갖고 연구되고 있는 단계로 유방암에서의 그 발현에 대한 결과도 서로 상충되는 부분이 많아 현재까지 논란이 되고 있다.

유방암에서의 IGF-IR의 발현율은 Railo 등(23)이 방사면역법을 이용한 결과로 39~93%라고 보고하였고 면역조직화학염색을 통해 조사한 결과는 Happerfield 등(24)에 의해 90%라고 보고된 바 있다. Lee나 Peyrat 그리고 Bonnetterre 등은 양성이나 정상 유방조직에서는 IGF-IR의 발현이 현저히 낮다고 보고하였다.(22,25,26) 그러나 Bernd, Happerfield 등의 보고는 양성이나 정상 유방 조직에서 오히려

강하게 표현되고 유방암에서도 조직학적 분화도가 나쁜 암종을 제외한 경우에는 대체로 높게 발현되고 분화도가 나쁠수록 그 발현율은 떨어진다고 보고하였다.(24,27)

본 연구에서는 반정량적 평점체계를 통해 현미경하 고배율시야에서 10 시야에서 염색된 세포수의 비가 10% 이상이고 염색이 어느 정도 강도로 나타날 경우를 양성으로 판정하였고 이 경우에 IGF-IR는 유방암조직 123예 중 81예가 양성으로 나타나 양성률은 65.9%로 나왔고 IRS-1은 123예 중 96예가 양성으로 나와 78.0%로 나왔다. 본문에 언급하지 않았으나 양성 유방질환 20예를 대상으로 별도로 IGF-IR와 IRS-1에 대한 염색을 시행한 결과에서도 매우 높은 강도로 염색됨을 확인하였고(Fig. 3) 양성률은 각각 92%와 95%였다. 이러한 결과는 Bernd와 Happerfield의 결과와 유사하다 하겠다.

이와 같이 보고자에 따라 차이를 보이는 것은 검체가 파라핀 포매 조직 또는 신선 조직의 차이, 조직의 고정방법, 항체의 선택 및 희석정도, 판독 기준에 따른 차이와 면역조직화학 염색법에 의한 연구와 동위원소가 부착된 리간드를 이용한 방법의 차이 등에 의한 것이라 생각된다. 동위원소가 부착된 리간드를 사용하는 방법은 방사면역법(Radioimmunoassay)이나 자가방사기록법(Autoradiography) 등이 있으며 이는 검사과정의 복잡하고 많은 양의 조직이 필요하며 채취 및 보관의 어려움이 있어 조직의 상태에 따라 결과가 일정하지 않으나 비교적 민감도가 높은 장점이 있다. 반면 면역조직화학 염색법은 수용체의 이질성과 암세포의 다양한 간질요소 때문에 민감도가 다소 떨어진다고 보고되어 있으나, 조직의 크기가 작거나 항원의 양이 적을 때에도 유용하게 사용될 수 있고 단일 클론항체가 개발됨에 따라 개개의 세포단위에서는 더 선명하고 특이도가 높게 나타나며, 반정량적 분석을 가능하게 하는 동시에 세포 내의 수용체의 존재 위치를 직접 확인할 수 있는 장점이 있다.(28,29)

한편 호르몬 수용체와의 연관성에 대한 연구는 비교적 보고자마다 일치된 결과를 보여 에스트로겐과 프로게스테론 수용체 양성군에서 IGF-IR 및 IRS-1의 발현이 의의 있게 높게 나타난다고 하였다.(22,30) 이러한 연구들은 IGF체계가 에스트로겐 수용체의 인산화를 유도함으로써 에스트로겐 수용체를 활성화시키고, 역으로 에스트로겐 수용체는 IGF의 작용에 필요한 유전자의 전사를 조절한다는 것을 확인함으로써 에스트로겐 수용체와 IGF체계와의 기능적 연관성을 밝힌 바 있다. 본 연구에서도 에스트로겐과 프로게스테론 수용체 양성군에서 IGF-IR와 IRS-1 모두 의의 있게 높게 발현되는 결과를 얻어 기존의 연구 결과를 뒷받침하는 동시에 에스트로겐 수용체와 IGF체계와의 기능적 연관성을 간접적으로 보여주고 있다. 염색반응의 판독 기준에 있어서는 검사자 마다의 차이를 최소화하기 위해 염색 강도와 염색 범위를 각각 나누어 점수를

합한 것을 이용하였으나 이러한 반정량적 평점체계는 한계가 있어 정량화되고 객관적인 판정 기준이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

에스트로겐 수용체 음성이 종양세포의 미분화를 반영하는 것으로 나쁜 예후와 관련된 것은 이미 알려진 사실이다. 본 연구에서는 조직 분화도가 나쁠수록 IGF-IR와 IRS-1의 발현도가 의의 있게 낮게 나타나는 것을 확인하였는데 이 같은 결과는 Bernd와 Happerfield 등의 연구 결과와 일치하는 것으로 간암에 대한 연구에서도 유사한 결과가 보고된 바 있다.(6) 이는 IGF-IR가 세포의 성장과 발달에 중요한 역할을 하고 형질 전환의 유지에 필요한 인자라는 것을 감안할 때 IGF-IR가 발현되는 종양은 적어도 IGF-I에 의한 생화학적 성장조절이 유지되는 상태라 볼 수 있겠고, IGF-IR의 발현도가 낮은 종양은 종양 세포의 미분화를 반영하는 것으로 세포 성장조절에 관한 전반적인 신호체계의 이상을 의미하는 것이며 나아가 나쁜 예후와 관련이 있을 것이라 생각된다.

본 연구에서 5년 무병 생존율에 대한 결과는 IGF-IR 양성군에서 음성군보다 약간 높게 나타났으나 통계학적인 의미는 없었고, IRS-1의 경우에는 양성군과 음성군의 차이가 나타나지 않았다. 이 같은 결과에 대해서는 본 연구의 대상 환자군의 선정에 있어서 파라핀 포매 조직의 상태가 양호한 표본을 먼저 선정한 후에 대상 환자를 파악하게 되는 후향적 연구 방법을 택한 결과 재발한 환자군의 숫자가 너무 적어 적절한 비교를 할 수 없었다고 생각된다.

결 론

저자들은 1992년부터 2002년까지 가톨릭대학교 의과대학 의정부성모병원 외과에서 유방암으로 진단받고 수술을 받은 123명의 환자를 대상으로 IGF-IR와 IRS-1의 면역조직화학 염색을 시행하여 그의 발현도를 조사하였고, 환자의 연령, 임상병기, 조직학적 분화도, 에스트로겐과 프로게스테론 수용체, 무병 생존율과의 상관관계를 비교분석하였다.

결론적으로 IGF-IR와 IRS-1의 발현은 환자의 연령과 임상병기에 따라서는 의의 있는 차이를 발견할 수 없었다. 에스트로겐 수용체 양성군에서 IGF-IR와 IRS-1의 발현도가 음성군에서 보다 의의있게 높게 나타났고 프로게스테론 수용체 양성군과 음성군에서도 같은 결과를 보였다. 이로써 유방암에서 IGF체계와 에스트로겐, 프로게스테론 호르몬 수용체는 세포의 성장조절에 밀접한 관계를 갖고 있다는 것을 확인할 수 있었다. 조직학적 분화도와 관계에선 분화도가 낮을수록 IGF-IR와 IRS-1의 발현이 낮게 나타나는 것을 확인할 수 있었는데 이는 세포 성장조절에 관한 전반적인 신호체계의 이상을 의미하는 것으로 나쁜

예후와 관련이 있을 것이라 생각된다. 하지만 무병 생존율에 대한 비교 결과에서는 IGF-IR와 IRS-1 모두에서 양성군과 음성군의 의의 있는 차이를 발견할 수 없어서 단독 예후인자로서 의의를 밝힐 순 없었는데 이는 재발 환자군의 숫자가 너무 적어 적절한 비교를 할 수 없었던 데에 기인한다고 생각된다. 앞으로 이에 대한 관심 있는 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) Sachdev D, Yee D. The IGF system and breast cancer. *Endocrine-Related Cancer* 2001;8:197-209.
- 2) Yu H, Rohan T. Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1472-89.
- 3) Stewart AJ, Johnson MD, May FE, Westley BR. Role of insulin-like growth factors and the type I insulin-like growth factor receptor in the estrogen-stimulated proliferation of human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1990;265:21172-8.
- 4) Yu H, Spitz MR, Mistry J, Gu J, Hong WK, Wu X. Plasma levels of insulin-like growth factor-I and lung cancer risk: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:151-6.
- 5) Ma J, Pollak MN, Giovannucci E, Chan JM, Tao Y, Hennekens CH, et al. Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor(IGF)-I and IGF-binding protein-3. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:620-5.
- 6) Guo YS, Beauchamp RD, Jin GF, Townsend CM, Thompson JC. Insulin-like growth factor-binding protein modulates the growth response to insulin-like growth factor I by human gastric cancer cells. *Gastroenterology* 1993;104:1595-1604.
- 7) Nehrass D, Klimek F, Bannasch P. Overexpression of insulin receptor substrate-1 emerges early in hepatocarcinogenesis and elicits preneoplastic hepatic glycogenosis. *Amer J Pathol* 1998; 152:341-5.
- 8) Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci E, Gann PH, Ma J, Wilkinson P, et al. Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study. *Science* 1998;279: 563-6.
- 9) Ricort JM, Binoux M. Insulin-like growth factor(IGF) binding protein-3 inhibits type 1 IGF receptor activation independently of its IGF binding affinity. *Endocrinology* 2001;142:108-13.
- 10) Toniolo P, Bruning PF, Akhmedkhanov A, Bonfrer JM, Koenig KL, Lukanova A, et al. Serum insulin-like growth factor-I and breast cancer. *Int J Cancer* 2000;88:828-32.
- 11) Baserga R. The insulin-like growth factor I receptor: A key to tumor growth? *Cancer Res* 1995;55:249-52.
- 12) Bloom HKG, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1,409 cases of which have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957;11:359-77.
- 13) Ministry of Health and Welfare, Republic of Korea. Annual Report of of the Central Cancer Registry in Korea (2001.1 ~

2001. 12), 2002.
- 14) Chevallier B, Mosseri V, Dauce JP, Bastit P, Julien JP, Asselain B. A prognostic score in histological node negative breast cancer. *Br J Cancer* 1990;61:436-440.
- 15) Lee AV, Yee D. Insulin-like growth factors and breast cancer. *Biomed Pharmacother* 1995;49:415-21.
- 16) Turner BC, Haffty BG, Narayanan L, Yuan J, Havre PA, Gumbs AA, et al. Insulin-like growth factor-I receptor over-expression mediates cellular radioresistance and local breast cancer recurrence after lumpectomy and radiation. *Cancer Res* 1997;57:3079-83.
- 17) Ullrich A, Gray A, Tam AW, Tang-Feng T, Tsubokawa M, Colloins C, et al. Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity. *EMBO J* 1986;5:2503-12.
- 18) Xihong Zhang, Douglas Yee. Tyrosine kinase signalling in breast cancer: Insulin-like growth factor and their receptors in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2000;2:170-5.
- 19) De Meyts P, Willach B, Christoffersen CT, Urso B, Gronskov K, Latus LJ, et al. The insulin-like growth factor-I receptors: structure, ligand-binding mechanism and signal trasduction. *Horm Res* 1994;42:152-69.
- 20) Molloy CA, May FE, Westley BR. Insulin receptor substrate-1 expression is regulated by estrogen in the MCF-7 human breast cancer cell line. *J Biol Chem* 2000;175:12565-71.
- 21) Lee AV, Jackson JG, Gooch JL, Hilsenbeck SG, Coronado-Heinsohn E, Osborne CK, et al. Enhancement of insulin-like growth factor signaling in human breast cancer: estrogen regulation of insulin receptor substrate-1 expression in vivo and in vitro. *Mol Endocrinol* 1999;3:787-96.
- 22) Peyrat JP, Bonnetterre J, Beuscart R, Djiane J, Demaille A. Insulin-like growth factor I receptor (IGFI-R) in human breast cancer. Relation to estradiol and progesterone receptors. *Cancer Res* 1988;48:6429-33.
- 23) Railo M, Smitten K, Pekonen F. The prognostic value of insulin-like growth factor-I in breast cancer patients. Results of a follow up study on 126 patients. *Eur J Cancer* 1994;30:307-11.
- 24) Happerfield LC, Miles CW, Barnes DM, Thomsen LL, Smith P, Hanby A. The localization of the insulin-like growth factor receptor 1 (IGFR-1) in benign and malignant breast tissue. *J Pathol* 1997;183:412-7.
- 25) Lee AV, Hilsenbeck SG, Yee D. IGF system components as prognostic markers in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998;47:295-302.
- 26) Peyrat JP, Bonnetterre J. TypeIIIGF receptor in human breast diseases. *Breast Cancer Res Treat* 1992;22:59-67.
- 27) Schnarr B, Strunz K, Ohsam J, Benner A, Wacker J, Mayer D. Down-regulation of insulin-like growth factor-I receptor and insulin receptor substrate-1 expression in advanced human breast cancer. *Int J Cancer* 2000;89:506-13.
- 28) Cheng L, Binder SW, Fu YS, Lewin KJ. Demonstration of estrogen receptors by monoclonal antibody in formalin-fixed breast tumors. *Lab Invest* 1988;58:346.
- 29) Andersen J, Orntoft T, Poulsen HS. Semiquantitative oestrogen receptor assay in formalin-fixed paraffin sections of human breast cancer tissue using monoclonal antibodies. *Br J Cancer* 1986;53:691.
- 30) Stoll BA. Oestrogen/insulin-like growth factor-I receptor interaction in early breast cancer: clinical implications. *Ann Oncol* 2002;13:191-6.