

## 유방암 환자에서 혈청 내 HER-2/*neu* 세포외 도메인의 측정에 대한 고찰: 조직학적 방법 및 임상병리학적 요인과의 연관성

계명대학교 의과대학 외과학교실, <sup>1</sup>진단검사의학교실, <sup>2</sup>병리학교실

강선희 · 조지형 · 하정숙<sup>1</sup> · 권선영<sup>2</sup>

### Evaluation of Serum HER-2/*neu* Extracellular Domain in Breast Cancer Patients: Correlation with Tissue HER-2/*neu* Status and Clinicopathological Factors

Sun Hee Kang, M.D., Jihyoung Cho, M.D., Jung Sook Ha, M.D.<sup>1</sup>, Sun Young Kwon, M.D., Ph.D.<sup>2</sup>

Departments of Surgery, <sup>1</sup>Laboratory Medicine and <sup>2</sup>Pathology, Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea

**Purpose:** The extracellular domain (ECD) of HER2 may be cleaved from the surface of cancer cells whereby serum HER2 ECD levels can be detected. We explored the correlation between serum HER2 ECD and tissue HER2 status and their relationship with clinicopathological parameters.

**Methods:** We included 125 patients with stage 0-3 breast cancer. The serum HER2 ECD level was measured by chemiluminescence immunoassay (ADVIA Centaur<sup>®</sup> system). The tissue HER2 status was analyzed by immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH) in all tumors. We reviewed the medical records retrospectively. The analyzed clinicopathological parameters were age, tumor size, histologic grade, vascular invasion, lymph node involvement, stage, estrogen receptor (ER) and CA 15-3.

**Results:** High serum HER2 ECD levels ( $\geq 15$  ng/ml) were reported in 15 patients (12.0%). For tissue HER 2 status, 30 patients (24.0%) had positive results in FISH and 46 patients (37.0%) had strong positive results in IHC (3+). The specificity of serum HER2 ECD was 92.6% but the sensitivity was only 26.7%. The concordance between serum HER2 ECD and FISH tests was 23.3%. High serum HER2 ECD levels were significantly associated with old age ( $P=0.005$ ), large tumor size ( $P=0.021$ ), vascular invasion ( $P=0.001$ ), lymph node involvement ( $P=0.010$ ) and advanced stage ( $P<0.001$ ). ER and CA 15-3 levels were not significantly related with serum HER2 ECD.

**Conclusion:** Serum HER2 ECD test could not be substituted for tissue HER2 status because of low concordance. However, high levels of serum HER2 were associated with large tumor size, lymph node involvement and advanced stage. We need to study serum HER2 ECD test as a role of prognostic marker. (J Korean Surg Soc 2010;78: 271-276)

**Key Words:** Serum HER2 ECD, Immunohistochemistry, Fluorescence in situ hybridization, Breast cancer  
중심 단어: 혈청 HER2 세포외 도메인, 면역조직화학염색법, 형광동소교잡법, 유방암

## 서 론

책임저자: 강선희, 대구시 중구 동산동 194  
☎ 700-712, 계명대학교 의과대학 외과학교실  
Tel: 053-250-7322, Fax: 053-250-7322  
E-mail: shkang9002@dsmc.or.kr

접수일 : 2009년 11월 4일, 게재승인일 : 2010년 1월 18일  
본 연구는 2006년도 계명대학교 비사연구기금으로 이루어졌음.

HER-2/*neu* (HER2) 유전자는 세포막 성장인자 수용체 단백질 발현시켜 세포의 성장과 분화를 촉진시킨다. 유방암 환자의 약 15~30%에서 HER2 과발현이 발견되며 재발률과 생존율에 나쁜 영향을 끼친다.<sup>(1)</sup> 최근 많은 임상연구

에서 HER2에 대한 표적 치료제인 Trastuzumab (Herceptin<sup>®</sup>) 이 전이성 유방암 뿐만 아니라 초기 유방암의 보조적 요법 후에도 재발률을 감소시키고 생존율을 연장시키는 결과가 나오면서(2,3) HER2 과발현 유무는 예후인자로서의 가치 뿐만 아니라 치료 계획에 있어서도 매우 중요한 요소가 되었다. HER2 과발현을 측정하는 방법은 암 조직에서 유전자의 증폭을 측정하는 형광동소교잡법(fluorescence in situ hybridization)과 단백질 발현을 찾는 면역조직화학염색법(immunohistochemistry)이 있다. 이러한 방법들은 조직학적 진단이므로 반드시 암 조직을 획득해야 하고, 특히 면역조직화학염색법은 판독자의 주관에 따라 결과가 달라지기도 하며 형광동소교잡법은 객관적이며 정량적 분석도 가능하지만 비용이 비싸다.(4) HER2 종양 단백질은 세포내 도메인(intracellular domain), 세포막 도메인(transmembrane domain), 세포외 도메인(extracellular domain)으로 구성되는데 세포외 도메인은 97~115 kd의 수용성 단백질로서 세포막에서 떨어져 나와 혈청으로 나오게 된다.(5) HER2 세포외 도메인이 혈청으로 분리되는 기전은 정확하게 밝혀지지는 않았지만 Codony-Servat 등(6)이 metalloprotease가 매개된다고 보고하였다. 혈청 내에 존재하는 HER2 세포외 도메인을 측정하는 방법은 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay) 또는 화학발광면역측정법(chemiluminescence immunoassay)이 있다.(7,8) HER2 세포외 도메인의 농도는 환자의 혈액을 채취함으로써 간단히 알 수 있고 시간이 지남에 따라 연속적으로 측정할 수 있기 때문에 전이성 유방암에서 표적 치료에 대한 반응평가로 이용하거나 항 호르몬 치료 또는 항암제의 효과를 평가하는 표지자로 이용한 보고들도 있다.(9-11)

본 연구는 화학발광면역측정법을 이용한 혈청 HER2 세포외 도메인의 농도와 조직을 이용한 면역조직화학염색법 및 형광동소교잡법 사이의 관계 및 임상적인 인자와의 연관성을 알아보려고 한다.

## 방 법

### 1) 재료

2006년 3월부터 2008년 6월까지 계명대학교 동산의료원 유방내분비외과에서 유방암으로 진단 및 치료를 받은 환자들 중 혈액 검사 및 형광동소교잡법 검사에 동의를 한 125명의 환자를 대상으로 하였다. 이들은 0기에서 3기까지 포함되었으며 후향적으로 병리 기록 및 의무기록을 분석하여

환자의 나이, 종양의 크기, 조직학적 등급, 혈관 침범 유무, 겨드랑이 림프절의 전이 유무, 병기, 에스트로겐 수용체(estrogen receptor), 혈청 CA 15-3의 농도를 관찰하였다.

### 2) 면역조직화학염색법

파라핀 블록을 4  $\mu$ m 두께로 박절하여 슬라이드에 부착시키고 충분히 건조시킨 후 BenchMark<sup>®</sup> XT (Ventana medical system, USA) 자동면역염색기기를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하였다. 일차항체는 polyclonal rabbit anti-human c-erbB-2 oncoprotein (A0485, DakoCytomation, Glostrup, Denmark)을 1 : 1,000으로 희석하여 이용하였다. 이러한 방법으로 슬라이드를 염색한 후 3명의 병리와 의사가 암세포의 세포막에 염색되는 정도에 따라 4가지 등급, 즉 0, 1+, 2+, 3+으로 나누어 판정하였다.

### 3) 형광동소교잡법

파라핀 고정되어 있는 조직 블록을 microtome을 이용하여 4  $\mu$ m 두께로 박절하여 슬라이드에 부착시킨 후, 탈파라핀화 및 함수 과정을 거쳐 상용화된 HER2 DNA probe kit (Vysis Inc, Downers Grove, IL, USA)를 이용하여 제조사의 지침에 따라 실험을 진행하였다.

### 4) 혈청 HER2 세포외 도메인 측정법

혈청 HER2 검사는 수술 전에 SST tube에 5 ml 정도 채혈한 후 ADVIA Centaur<sup>™</sup> (Bayer Healthcare, Tarrytown, NY, USA)를 사용하여 정량적으로 측정하였다. HER2 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 두 개의 단 클론 항체를 사용한 샌드위치 면역 측정법인 직접 화학발광면역측정법으로 실시하였다. 판정기준치(cutoff value)는 이번 연구를 시작하기 전에 제조사와 진단검사의학과에서 정상 인구와 유방암 환자를 대상으로 혈청 검사를 시행하여 15 ng/ml로 정하였다.

### 5) 통계학적 방법

모든 대상 환자는 형광동소교잡법을 실시하였고, Serum HER2 농도와 조직에서 HER2 비교 시 형광동소교잡법의 결과를 기준으로 하였다. 통계처리를 할 때 3+의 강 양성 은 모든 병리의사가 합의가 되어 양성 군으로 하였고 2+, 1+의 중간 양성은 슬라이드 재검을 해도 병리의사들 사이에서 음성과 중간 양성 합의가 되지 않아서 음성으로 하였다. SPSS 14.0을 이용하여 chi-square test를 실시하였고,

평균비교는 independent *t* test를 하였다.

## 결 과

### 1) 환자의 특징(Table 1)

평균 연령은 50.3세이며 병기 분포는 0기 14명(11.2%), 1기 26명(20.8%), 2기 60명(48.0%), 3기 25명(20.0%)이었다. 종양의 크기가 2 cm 이하는 60명(48.0%), 2.0 cm 이상은 65명(52.0%)이며, 조직학적 등급이 낮은 군은 43명(40.2%), 높은 군은 64명(59.8%)이었다. 종양의 혈관 침범이 있는 경우는 24명(23.3%), 침범이 없는 경우는 79명(76.7%)였으며 겨드랑이 림프절 전이가 있는 경우는 52명(42.0%), 전이가 없는 경우가 72명(58.0%)이었다. 에스트로겐 수용체 양성인

경우는 83명(68.0%)이며, 음성인 경우는 39명(32.0%)이었다.

전체 125명의 환자들 중 혈청 HER2 농도가 15 ng/ml 이상으로 비정상을 보인 환자는 15명(12.0%)이었다. 형광동소교잡법 검사에서 유전자 증폭을 보인 경우는 30명(24.0%)이며 면역조직화학염색법에서 강 양성으로 나온 환자는 46명(37.0%)이었다.

### 2) 면역조직화학염색법과 형광동소교잡법(Table 2)

형광동소교잡법에서 유전자 증폭을 보인 환자 30명 중 면역조직화학염색법에 강양성을 보인 환자는 24명으로 면역조직화학염색법의 민감도는 80.0%였다. 반대로 형광동소교잡법에서 유전자 증폭을 보이지 않은 환자 94명 중 면역조직화학염색법에 음성을 보인 환자는 72명으로 특이도는 76.6%였다. 형광동소교잡법에서 유전자 증폭을 보이거나 면역조직화학염색법에 10% 미만으로 나타난 환자는 6명으로 면역조직화학염색법의 위음성률은 20.0%로 나타났다( $P < 0.001$ ).

### 3) 혈청 HER2 세포외 도메인의 농도와 형광동소교잡법 (Table 3)

형광동소교잡법에 대한 혈청 HER2 세포외 도메인 농도의 민감도는 26.7%이며 특이도는 92.6%였다. 혈청 농도가 상승되어 있으나 형광동소교잡법에 음성을 보인 환자는 7

**Table 1.** Patient's characteristics

Characteristics	No. of patients (%) (n=125)
Mean age (years)	50.3
Stage	
0	14 (11.2)
I	26 (20.8)
II	60 (48.0)
III	25 (20.0)
Tumor size	
$\leq 2.0$ cm	60 (48.0)
$> 2.0$ cm	65 (52.0)
Histologic grade	
I, II	43 (40.2)
III	64 (59.8)
Vascular invasion	
Present	24 (23.3)
Absent	79 (76.7)
LN* involvement	
Negative	72 (58.0)
Positive	52 (42.0)
ER <sup>†</sup> status	
Positive	83 (68.0)
Negative	39 (32.0)
Serum HER2 ECD <sup>‡</sup> levels	
$\geq 15$ ng/ml	15 (12.0)
$< 15$ ng/ml	110 (88.0)
IHC <sup>§</sup>	
Positive	46 (37.0)
Negative	78 (63.0)
FISH <sup>  </sup> test	
Positive	30 (24.0)
Negative	95 (76.0)

\*LN = lymph node; <sup>†</sup>ER = estrogen receptor; <sup>‡</sup>ECD = extracellular domain; <sup>§</sup>IHC = immunohistochemistry; <sup>||</sup>FISH = fluorescence in situ hybridization.

**Table 2.** Association between FISH\* and IHC<sup>†</sup>

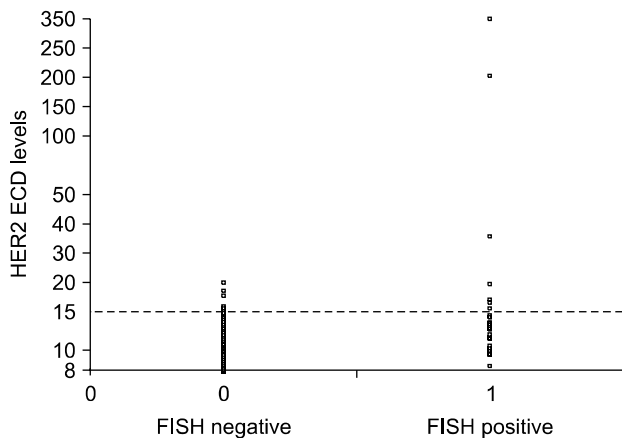
		FISH	
		Negative (%)	Positive (%)
IHC	Negative	72 (76.6)	6 (20.0)
	Positive	22 (23.4)	24 (80.0)

\*FISH = fluorescence in situ hybridization; <sup>†</sup>IHC = immunohistochemistry;  $P < 0.001$ .

**Table 3.** Association between FISH\* and serum HER2 ECD<sup>†</sup> levels

		FISH	
		Negative (%)	Positive (%)
Serum HER2 ECD levels			
< 15 ng/ml		88 (92.6)	22 (73.3)
$\geq 15$ ng/ml		7 (7.4)	8 (26.7)

Concordance 23.3%;  $P=0.005$ ; \*FISH = fluorescence in situ hybridization; <sup>†</sup>ECD = extracellular domain.



**Fig. 1.** Distribution of serum HER2 ECD levels in breast cancer patients with FISH positive or FISH negative tissue. The horizontal line indicates the cut-off value of 15 ng/ml.

명(7.4%), 형광동소교잡법에 양성을 보였으나 혈청 농도가 상승되지 않은 경우는 22명(73.3%)으로 두 검사 사이의 일치도는 23.3%였다( $P=0.005$ ). 형광동소교잡법에 유전자 증폭이 있는 군과 증폭이 없는 군의 혈청 HER2의 평균 농도는 각각 11.3 ng/ml (SD 2.38), 31.4 ng/ml (SD 70.61)로서 차이를 보였으나 통계학적 의미는 없었다( $P=0.13$ )(Fig. 1).

#### 4) 혈청 HER2 세포외 도메인 농도에 따른 임상양상 (Table 4)

혈청 HER2 세포외 도메인의 농도가 15 ng/ml 이상을 보이는 군과 그렇지 않은 군을 나누어 임상적인 특성을 비교 분석하였다. 혈청 HER2 농도가 높은 군에서 나이가 많고( $P=0.005$ ), 종양의 크기가 크고( $P=0.021$ ), 혈관 침범이 있으며( $P=0.001$ ), 겨드랑이 림프절 전이가 많고( $P=0.010$ ) 진행성 병기가 많았다( $P<0.001$ ). 그러나 조직학적 등급, 에스트로겐 수용체 발현 유무 및 혈청 CA15-3의 농도는 통계학적 의미를 보이지 않았다.

## 고 찰

HER2 종양 유전자는 세포내 신호전달 체계에서 신호의 증폭을 통해 세포의 증식과 분화에 관계하며 유방암 환자의 약 15~30%에서 과발현을 보인다.(1) 미국 암학회 및 미국 병리학회의 가이드라인에 따르면 HER2 상태를 측정하는 표준화 방법은 면역조직화학염색법과 형광동소교잡법이다. 면역조직화학염색법은 암 조직에서 과발현된 단백질을 측정하며 비교적 간단한 절차와 저렴한 비용으로 가능

**Table 4.** Relationship between serum HER2 ECD\* and clinicopathologic variables

Variables	HER2 ECD		P-value
	≥ 15 ng/ml number (%)	< 15 ng/ml number (%)	
Mean age (years)	57.8	49.3	0.005
Stage			
0	0 (0)	14 (12.7)	< 0.001
I	0 (0)	26 (23.6)	
II	5 (33.3)	55 (50.0)	
III	10 (66.7)	15 (13.6)	
Tumor size			
≤ 2.0 cm	3 (20.0)	57 (51.8)	0.021
> 2.0 cm	12 (80.0)	53 (48.2)	
Histologic grade			
I, II	3 (23.1)	40 (42.6)	0.179
III	10 (76.9)	54 (57.4)	
Vascular invasion			
Present	8 (57.1)	16 (18.0)	0.001
Absent	6 (42.9)	73 (82.0)	
LN <sup>†</sup> involvement			
Positive	11 (73.3)	42 (38.2)	0.010
Negative	4 (26.7)	68 (61.8)	
ER <sup>‡</sup> status			
Positive	6 (42.9)	33 (30.6)	0.353
Negative	8 (57.1)	75 (69.4)	
Mean CA15-3 (ng/ml)	33.2	10.47	0.061

\*ECD = extracellular domain, <sup>†</sup>LN = lymph node; <sup>‡</sup>ER = estrogen receptor.

하지만 판독자의 주관적 편견이 있을 수 있고, 형광동소교잡법은 증폭된 HER2 유전자를 검사하는 방법으로 면역조직화학염색법보다 객관적이고 정확하지만 비용이 많이 든다.(4) 반면, HER2 종양 단백질의 세포외 도메인은 세포막에서 떨어져 나가 혈액에 존재하게 되는데(5) 환자의 혈액을 채취하여 효소면역 측정법 또는 화학발광면역측정법으로 측정할 수 있다.(6,7) Ludovini 등(8)은 256명의 유방암 환자를 대상으로 수동으로(manual) 측정한 효소면역 측정법과 화학발광면역측정법의 원리를 이용한 자동화된 측정법(ADVIA Centaur<sup>TM</sup>, Bayer inc., Tarrytown, NY, USA) 두 가지를 사용하여 자동화 면역 측정법이 수동적 방법을 대체할 만큼 매우 좋은 일치도를 보여주었다. Lee 등(12)은 국내 환자를 대상으로 자동화 면역 측정법으로 원발성 유방암 환자 254명을 분석하였는데 정상 수치 이상을 보인 경우가 약 41.3%였다. 이들은 제조사에서 제시한 판정 기준치 보다 낮은 값인 10.2 ng/ml로 기준하였다. 본 연구에서는 본원에서 유방질환이 없는 30명의 정상 여성을 대상으로 측정한 결

과 97.5 percentile에 해당 했던 15 ng/ml를 기준으로 정하였으며, 이 값은 2000년 FDA에서 HER-2 면역학적 검사에 대한 결정 수치로 제시한 15 ng/ml값과 같으므로 기준으로 잡기에 무리가 없을 것으로 생각되었다. 본 연구 결과 약 12%에서 기준 판정치 보다 높은 소견을 보였다. 혈청 HER2 판정 기준치에 대한 연구로서 Kim 등(13)은 건강인 200명을 대상으로 분석한 결과 약 5.6~12.0 ng/ml의 값으로 한국인 여성의 비정상 군의 판정 기준치를 12.0 ng/ml 이상으로 제시하였으며, Kong 등(14)은 국내 건강인과 유방암 환자의 혈청 HER2 농도를 비교하여 판정 기준치를 10.2 ng/ml로 오히려 제조사의 기준보다 낮게 제시하였다. 이후 이들은 전이성 유방암 환자를 대상으로 혈청 HER2 농도로 조직의 HER2 상태를 유추해 본 결과 판정 기준치를 37 ng/ml로 상향 조정하여 민감도 66%, 특이도 95%로 보고하였다.(15)

조직학적 HER2 상태에 대한 혈청 HER2 농도 검사법의 일치도는 다양하게 보고되는데, Fomier 등(16)이 전이성 유방암 환자를 대상으로 치료 전 혈청 HER2 농도와 유방조직에서의 면역조직화학염색법 및 형광동소교잡법의 일치도를 각각 약 63.6%로 보고하였다. Ludovini 등(8)은 수술 가능한 유방암 환자를 대상으로 혈청 HER2와 조직학적 HER2 발현 상태의 일치도를 약 87.1%로 보고하였다. 그러나, Quaranta 등(7)은 혈청 HER2 농도를 효소면역측정법으로 측정하고 면역조직화학염색법과 비교하여 두 가지 방법에서 연관성을 찾을 수 없었다. 국내 환자를 대상으로 한 Kong 등(14)에 의하면 혈청 HER2 농도는 면역조직화학염색법 및 형광동소교잡법과 일치성이 없었으며, 형광동소교잡법에서 유전자 증폭을 보인 군에서도 혈청 농도의 증가를 보여주지 못했다. 본 연구에서도 혈청 HER2와 조직학적 방법들 사이의 일치도는 23.3%로 매우 낮았으며 형광동소교잡법 상에 유전자 증폭을 보이는 군과 그렇지 않은 군에서 혈청 HER2 농도는 각각 차이를 보였으나 통계학적 의미는 없었다.

혈청 HER2 농도와 임상병리학적 인자와의 분석에서 많은 연구자들이 종양의 부피(burden)와 연관 있음을 보고하였다.(12,17-19) 즉, 초기 유방암 보다는 진행성 유방암 또는 전이성 유방암에서 혈청 HER2 농도가 높았다. 본 연구에서도 혈청 HER2 농도는 종양의 크기가 크고, 림프 혈관 침범이 있으며, 진행된 병기에서 비정상 수치를 보였으나 조직학적 등급, 에스트로겐 수용체, 혈청 CA15-3과는 연관이 없었다. Harris 등(17)은 이러한 특징 때문에 혈청 HER2가 높은 군은 생존율이 낮다고 설명하였으나, Willsher 등(20)의

보고에 의하면 초기 유방암이라 하더라도 혈청 HER2 농도가 높은 환자 군은 정상인 군에 비해 생존율이 낮았다. Muller 등(10)은 전이성 유방암 환자를 대상으로 혈청 HER2 농도와 항암제 반응을 연구하였는데 항암제 치료 전에 혈청 HER2 농도가 높은 군은 생존율이 짧았으며 이러한 환자들에서는 안트라사이클린(anthracyclin)계 항암제 보다 탁산(taxane)계 항암제가 더 효과가 있었다. Lennon 등(9)에 의하면 전이성 유방암 환자의 약 69%에서 혈청 HER2 농도가 높게 나타났으며, 상승된 HER2 혈청 농도가 허셉틴(Trastuzumab, Herceptin®) 사용에 대한 반응 표시자로 유용한 지 연구하였으나 질병이 진행된 군에서도 혈청 HER2 농도는 상승하지 않아 반응 척도로서는 의미가 없었다.

## 결론

혈청 HER2 세포외 도메인은 조직학적 방법으로 측정된 HER2 발현 유무와는 매우 낮은 일치도를 보여 조직에서 HER2를 측정하는 방법을 대체할 수는 없다. 그러나 혈액에서 간단히 측정할 수 있으며 시간이 지남에 따라 연속적인 값을 구할 수 있는 장점이 있고 혈청 HER2 농도는 종양의 부피와 연관이 있으므로 향후 추적기간 동안 재발과 연관된 표시자로서 연구가 필요할 것이다.

## REFERENCES

- 1) 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.
- 2) Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that over-expresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344:783-92.
- 3) Smith I, Procter M, Gelber RD, Guillaume S, Feyereislova A, Dowsett M, et al. 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;369:29-36.
- 4) Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:118-45.
- 5) Zabrecky JR, Lam T, McKenzie SJ, Carney W. The extracellular domain of p185/neu is released from the surface of human breast carcinoma cells, SK-BR-3. *J Biol Chem* 1991;

- 266:1716-20.
- 6) Codony-Servat J, Albanell J, Lopez-Talavera JC, Arribas J, Baselga J. Cleavage of the HER2 ectodomain is a pervanadate-activable process that is inhibited by the tissue inhibitor of metalloproteases-1 in breast cancer cells. *Cancer Res* 1999;59:1196-201.
  - 7) Quaranta M, Daniele A, Coviello M, Savonarola A, Abbate I, Venneri MT, et al. C-erbB-2 protein level in tissue and sera of breast cancer patients: a possibly useful clinical correlation. *Tumori* 2006;92:311-7.
  - 8) Ludovini V, Gori S, Colozza M, Pistola L, Rulli E, Floriani I, et al. Evaluation of serum HER2 extracellular domain in early breast cancer patients: correlation with clinicopathological parameters and survival. *Ann Oncol* 2008;19:883-90.
  - 9) Lennon S, Barton C, Banken L, Gianni L, Marty M, Baselga J, et al. Utility of serum HER2 extracellular domain assessment in clinical decision making: pooled analysis of four trials of trastuzumab in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:1685-93.
  - 10) Muller V, Witzel I, Luck HJ, Kohler G, von Minckwitz G, Mobus V, et al. Prognostic and predictive impact of the HER-2/ neu extracellular domain (ECD) in the serum of patients treated with chemotherapy for metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004;86:9-18.
  - 11) Colomer R, Llombart-Cussac A, Lloveras B, Ramos M, Mayordomo JI, Fernandez R, et al. High circulating HER2 extracellular domain levels correlate with reduced efficacy of an aromatase inhibitor in hormone receptor-positive metastatic breast cancer: a confirmatory prospective study. *Cancer* 2007;110:2178-85.
  - 12) Lee JS, Min WK, Park EH, Lim WS, Choi SL, Son BH, et al. Correlation between the Her-2/neu status as determined by immunohistochemical analysis and the serum Her-2/neu concentration as determined by the use of ADVIA Cencaur<sup>®</sup> automated immunoassay in breast cancer patients. *J Breast Cancer* 2008;11:116-24.
  - 13) Kim JW, Kim SY, Lee HS, Woo HD, Son DM, Lim CW, et al. Establishment for reference range of serum HER-2/neu in Korean healthy women. *J Breast Cancer* 2006;9:301-8.
  - 14) Kong SY, Kang JH, Kwon Y, Kang HS, Chung KW, Kang SH, et al. Serum HER-2 concentration in patients with primary breast cancer. *J Clin Pathol* 2006;59:373-6.
  - 15) Kong SY, Nam BH, Lee KS, Kwon Y, Lee ES, Seong MW, et al. Predicting tissue HER2 status using serum HER2 levels in patients with metastatic breast cancer. *Clin Chem* 2006;52:1510-5.
  - 16) Fornier MN, Seidman AD, Schwartz MK, Ghani F, Thiel R, Norton L, et al. Serum HER2 extracellular domain in metastatic breast cancer patients treated with weekly trastuzumab and paclitaxel: association with HER2 status by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization and with response rate. *Ann Oncol* 2005;16:234-9.
  - 17) Harris L, Luftner D, Jager W, Robertson JF. C-erbB-2 in serum of patients with breast cancer. *Int J Biol Markers* 1999;14:8-15.
  - 18) Garoufali A, Kyriakou F, Kountourakis P, Yioti I, Malliou S, Nikaki A, et al. Extracellular domain of HER2: a useful marker for the initial workup and follow-up of HER2-positive breast cancer. *J BUON* 2008;13:409-13.
  - 19) Narita T, Funahashi H, Satoh Y, Takagi H. C-erbB-2 protein in the sera of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1992;24:97-102.
  - 20) Willsher PC, Beaver J, Pinder S, Bell JA, Ellis IO, Blamey RW, et al. Prognostic significance of serum c-erbB-2 protein in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1996;40:251-5.