

The Prognostic and Predictive Value of EGFR and HER-2 in Advanced Non-small Cell Lung Cancer Patients Who Are Treated with Cisplatin and Paclitaxel

Purpose: Although both platinum-based drugs and third-generation drugs are commonly used as first-line therapy for patients with advanced, unresectable non-small cell lung cancer, their effectiveness and clinical outcomes vary. We investigated whether epidermal growth factor receptor (EGFR) and HER-2 were correlated with the chemoresponse and survival after treatment with a cisplatin plus paclitaxel regimen. **Materials and Methods:** Forty-nine tumors were analyzed by chromogenic in situ hybridization (CISH) for EGFR and HER-2 gene amplification. **Results:** Twenty-eight patients (57%) achieved a partial response (PR), 13 (27%) showed stable disease (SD) and 8 (16%) had progressive disease (PD). EGFR and HER-2 amplification was identified in 43% and 57% of the tumors, respectively. EGFR amplification revealed no association with either a chemoresponse or survival, whereas HER-2 was amplified more frequently in the patients with PD (88% vs. 54%, respectively, $p=0.06$) and in the patients with shorter survival (12 months vs. 20 months respectively, $p=0.027$). **Conclusion:** The evaluation of HER-2 gene amplification is a promising approach for identifying those patients who are most likely to benefit from combination chemotherapy with cisplatin and paclitaxel. (J Lung Cancer 2009;8(1):13-20)

Key Words: Non-small cell lung carcinoma, Epidermal growth factor receptor, HER-2, Chromogenic in situ hybridization

Jinyoung Yoo, M.D.¹
Byoung Yong Shim, M.D.² and
Seok Jin Kang, M.D.¹

Departments of ¹Pathology and ²Internal Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Received: February 10, 2009
Accepted: April 8, 2009

Address for correspondence
Seok Jin Kang, M.D.
Department of Pathology, St. Vincent's Hospital, The Catholic University of Korea, 93, Ji-dong, Paldal-gu, Suwon 442-723, Korea
Tel: 82-31-249-7591
Fax: 82-31-244-6786
E-mail: sjkang@catholic.ac.kr

This work was supported by a 2008 research grant from St. Vincent's Hospital.

서 론

폐암은 전세계적으로 남녀 모두에서 암 사망의 주요 원인이다. 전체 폐암의 약 80%는 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer)으로, 수술로 완전 절제가 가능한 경우를 제외하고는 예후가 매우 나쁘다. 진행 병기로 수술 절제가 불가능한 비소세포 폐암 환자군에서 1990년대에 개발된 3세대 약물들과 백금유도체의 병용처방은 이전의 처방보다 부작용이 적고 효과가 더 좋아서 진행성 비소세포 폐암에 대한 1차 처방으로 널리 쓰인다. 이러한 병용 항암화학요법에 의해 생존율과 삶의 질 향상이 있었지만 그래도 5년 생존율은 15% 미만이다(1). 특히 이들 항암제들의 독성과 경제적 부담 때문에 어떤 환자가 반응이 좋고 예후가 좋을 지를 미리 예측할 수 있는 인자들을 찾는 일은 매우 중요하다. 기존에 알려진 예후인자로 병기, 활동도, 체중 감소 등이 있지만(2)

이들의 가치는 매우 제한적이다. 지금까지 예후를 예측하거나 치료 방침을 결정하는 데 도움이 될만한 다양한 분자생물학적 인자들을 대상으로 많은 연구가 시행되었지만 치료에 대한 종양의 반응 여부나 생존 기간에 대한 독립적인 예후인자는 아직 확실히 밝혀진 바 없다.

Epidermal growth factor receptor (EGFR)는 잘 알려진 종양 유전자(oncogene) 중 하나로 인체 내 상피성 수용체인 티로신 키나제에 속하는 세포막 당단백으로서, 비소세포 폐암 및 여러 상피성 암종에서 EGFR의 과발현이 관찰된다(3). 이러한 과발현이 임상병리학적 인자나 환자의 생존과 상관관계가 있는 지를 파악하기 위한 여러 연구는 서로 상반되는 결과를 보여주고 있다. 일부에서는 EGFR 단백 과발현을 보이는 환자의 생존 기간이 더 길다고 하나 다른 연구자들은 더 짧다고 하였다(4,5).

한편 HER-2는 EGFR과 함께 제1형 성장 인자 수용체에

속하며 EGFR과 80%에서 구조적으로 일치하고 티로신 키나제 활성을 가지는 185 kDa의 세포막 당단백(p185)이 암호화되어 있다(6). HER-2 발현이나 유전자 증폭은 인체의 다양한 고형성 암종에서 관찰되지만 비소세포 폐암에서의 연구는 미미한 편이다. 예후와의 연관성도 연구자에 따라 상이한 결과를 보고하고 있는데, 유방암과 난소암에서 항암제에 대한 내성을 유도한다는 보고가 있는 반면, 상관성이 없다는 보고도 있고, 비소세포 폐암에서도 생존 기간 감소와 관련이 있다고 하기도 하고 예후와 상관성이 없다는 기술도 있다(7-10).

이에 저자들은 진행성 비소세포 폐암 환자 가운데 paclitaxel과 cisplatin 병용 처방으로 1차 항암치료를 받은 환자를 대상으로 색소원제자리부합화 검사법으로 EGFR과 HER-2의 유전자 증폭을 조사하고, 이들 항암제에 대한 종양의 반응 및 생존 기간과 비교하여 임상 소견과의 상호연관성을 분석해서, 치료 반응을 예측하는 예후인자로서의 가능성을 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1) 연구 대상

2001년 1월부터 2007년 3월까지 가톨릭대학교 성빈센트 병원에서 조직학적으로 비소세포 폐암으로 진단받고 병기가 3B기나 4기인 환자로 cisplatin과 paclitaxel 병용 항암 치료를 받은 49명을 대상으로 하였다. 병기는 American Joint Committee on Cancer의 분류를 따랐으며(11), 치료에 대한 반응은 RECIST 기준에 따라 다음과 같이 분류하였다(12). 임상적으로 계측 가능한 병변이 소실되고 4주 이상 유지된 경우는 완전완화(complete remission, CR), 계측 가능한 병변의 최장 직경 합이 30% 이상 감소하면서 4주 이상 지속되고 새로운 병변이 생기지 않으며 다른 병변의 진행이 없는 경우는 부분완화(partial remission, PR), 그리고 새로운 병변의 발생 없이 병변의 최장 합이 30% 이하로 줄거나 20% 이하로 증가하면 안정(stable disease, SD), 한 개 이상 병변에서 20% 이상 증가하거나 새로운 병변이 발견된 경우는 진행(progressive disease, PD)으로 하였다.

또한 병리진단 보고서와 조직슬라이드를 재검토하여 조직학적 유형과 등급을 확인하고, 대상 환자의 의무기록과 추적조사를 통해 성별, 연령, 흡연력 등 임상 양상, 병기, 생존 유무와 생존 기간을 조사하였다. 추적 기간은 환자가 생존한 경우 진단일로부터 2007년 12월까지, 사망한 경우에는 사망일까지로 하였다. 전체 환자의 중앙 추적 기간은 13개월(3~38개월)이었고 추적 관찰 기간 중 38명이 사망하

였다.

2) 색소원제자리부합화 검사법(chromogenic in situ hybridization, CISH)

과라핀 포매 조직을 3 μ m 두께로 박절하여 자일렌으로 탈파라핀 시킨 후, Spot-Light FFPE reagent Kit (Zymed, San Francisco, CA, USA)를 사용하여 이전에 기술된 방법에 따라 색소원제자리부합화를 시행하였다(13). 먼저 준비된 슬라이드 위에 탐식자(Spot Light Digoxigenin labeled EGFR or HER-2, Zymed)를 떨어뜨린 후 덮개 유리를 덮고 고무시멘트로 주위를 봉한 다음, 어둡고 습한 기구 안에서 5분간 94°C로 변성시키고 이후 37°C에서 10시간 이상 부합시켰다. 또 비특이 결합 억제 용액으로 실온에서 10분간 처리하고, 조직 위에 mouse anti-digoxigenin을 충분히 도포한 다음 30분간 실온에서 방치하였다. 그 후 polymerized HRP-goat anti-mouse를 도포하고 실온에서 30분간 작용시키고 발색제인 DAB와 반응시켰다. 그리고 마지막으로 헤마톡실린으로 대조 염색 후 광학현미경으로 관찰하였다. 유전자 증폭 판정은 400배 시야에서 광학현미경으로 관찰하여 적어도 30개의 중앙 세포 핵에서 핵 한 개당 5개 이상의 신호가 관찰될 때를 양성으로 판독하였다(13).

3) 통계학적 분석

임상기록을 통해 확인한 환자의 연령, 성별, 병기, 치료반응, 생존 기간과 색소원제자리부합화에 의한 EGFR과 HER-2 유전자 증폭 결과를 관찰 변수로 하였다. 색소원제자리부합화 결과와 임상적 인자들간의 연관성은 chi-square법으로 SPSS 프로그램(윈도우즈 표준버전 13.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 검정하였고, 생존 기간의 분석은 Kaplan-Meier 방법을 이용한 log-rank법으로 유의성을 판별하였다. 그리고 Cox 회귀모형을 이용하여 생존에 영향을 미치는 인자들의 독립적인 예후인자로서의 가치 여부를 분석하였다. 결과는 중앙값과 95% 신뢰구간으로 표시하였으며 통계적 p값이 0.05 미만인 경우 유의한 것으로 정의하였다.

결 과

대상 환자군의 나이는 35~79세까지로 평균 59.5세였으며, 남자가 각각 30명, 19명이었고, 비흡연자가 14명, 흡연력을 가진 환자가 35명이었다. T2가 14명, T3 7명, T4 28명이었으며, N0 3명, N1 6명, N2 13명, N3 27명이었고, 병기별로는 3B기가 15명, 4기가 34명이었다. 전체 환자 중 11명에

Table 1. Clinicopathologic Features and Their Relationship with Tumor Response to Chemotherapy

Variables	No. (%)	Responder (%)	Non-responder (%)	p value
Age (years)				
Mean	59.5±9.5			0.114
<60	23 (47)	12 (52)	11 (48)	
≥60	26 (53)	16 (62)	10 (38)	
Gender				0.138
Male	30 (61)	19 (63)	11 (37)	
Female	19 (39)	9 (48)	10 (52)	
Smoking				0.148
Never-smoker	14 (29)	6 (42)	8 (58)	
Current or ex-smoker	35 (71)	22 (63)	13 (37)	
T				0.291
T2, T3	21 (43)	12 (57)	9 (43)	
T4	28 (57)	16 (57)	12 (43)	
N				0.894
N0	3 (6)	2 (67)	1 (33)	
N1~3	46 (94)	26 (57)	20 (43)	
Stage				0.114
IIIB	15 (31)	11 (73)	4 (27)	
IV	34 (69)	17 (50)	17 (50)	
Histology				0.053
Squamous cell carcinoma	20 (41)	16 (80)	4 (20)	
Adenocarcinoma	24 (49)	9 (38)	15 (62)	
Large cell carcinoma	5 (10)	3 (60)	2 (40)	
Differentiation				0.462
Well differentiated	4 (8)	3 (75)	1 (25)	
Moderately differentiated	23 (47)	10 (43)	13 (57)	
Poorly differentiated	22 (45)	15 (68)	7 (32)	
Total	49	28 (57)	21 (43)	

서 흉막 삼출이 있었는데 그 중 3명이 병기 3B였다. 종양의 조직학적 유형에 따라 분류하면 편평세포암종 20예, 선암종 24예, 대세포암종 5예였으며, 분화가 좋은 종양 4예, 중등도 23예, 분화가 나쁜 종양 22예였다. 항암제 치료 후 종양의 반응에서는 PR이 28명(57%), SD와 PD가 각각 13명(27%), 8명(16%)이었다(Table 1).

편평세포암종이 60.9세, 선암종이 58.3세로 선암종 환자가 편평세포암종 환자보다 중앙 연령값이 적었다($p=0.90$). 또한 편평세포암종 환자 중 90% (18/20)가 흡연력이 있는 반면, 선암종 환자의 경우 58% (14/24)가 흡연력이 있었다. 종양 반응은 조직학적 형태에 따라 차이를 보여 편평세포암종 환자의 80% (16/20)가 PR을 보인 반면, 선암종 환자의 경우 38% (9/24)에서 PR을 보였다($p=0.053$) (Table 1).

EGFR 유전자 증폭은 21예(43%)에서 관찰되었는데, 임상 병리학적 인자들과의 연관성은 없었다(Table 2, Fig. 1A). HER-2 증폭은 28예(57%)에서 관찰되었다(Table 2, Fig. 1B).

병기 III기보다 IV기에서 양성률이 높았지만(40% vs. 65%), 이는 통계적으로 유의하지 않았다($p=0.112$). PD 환자 8명 중 7명에서(88%) HER-2 유전자 증폭을 보인 반면, PR 환자는 54% (15/28)만이 유전자 증폭을 보였고, 이 차이는 통계적으로 유의 수준에 근접하였다($p=0.060$). 기타 인자들과의 상관관계는 없었다.

한편 이들의 중앙 생존 기간은 14.4개월이었는데, 그 중 HER-2 유전자 증폭을 보이는 환자의 생존 기간은 12개월로 유전자 증폭을 보이지 않는 환자의 20개월에 비해 훨씬 짧았다($p=0.027$). 그 밖에 병기 III기($p=0.058$), 편평세포암종($p=0.036$), PR 환자($p=0.013$)의 경우 생존 기간이 더 길었다(Table 3).

단변량 분석에서 의미있는 인자들을 대상으로 Cox 회귀 모형 분석을 실시한 결과, 종양의 반응만이 환자의 생존과 유의한 상관관계를 보였는데, 상대위험도는 PR이나 SD인 경우 0.332배($p=0.031$) 감소하였다(Table 4).

Table 2. Association between Clinicopathologic Variables and Gene Amplification of EGFR and HER-2

Variables	EGFR		HER-2	
	Amplified (%)	p value	Amplified (%)	p value
Age (years)		0.876		0.646
< 60 (n=23)	11 (48)		14 (61)	
≥ 60 (n=26)	10 (38)		14 (54)	
Gender		0.956		0.62
Male (n=30)	13 (43)		18 (60)	
Female (n=19)	8 (42)		10 (53)	
Smoking		0.943		0.533
Never-smoker (n=14)	6 (43)		7 (50)	
Current or ex-smoker (n=35)	15 (43)		21 (60)	
T		0.227		0.529
T2, T3 (n=21)	10 (48)		11 (52)	
T4 (n=28)	11 (39)		17 (61)	
N		0.276		0.4
N0 (n=3)	1 (33)		2 (67)	
N1 ~ 3 (n=46)	20 (43)		26 (57)	
Stage		0.718		0.112
IIIB (n=15)	6 (40)		6 (40)	
IV (n=34)	15 (44)		22 (65)	
Histology		0.575		0.8
Squamous cell carcinoma (n=20)	8 (40)		11 (55)	
Adenocarcinoma (n=24)	11 (46)		14 (58)	
Large cell carcinoma (n=5)	2 (40)		3 (60)	
Differentiation		0.102		0.135
Well differentiated (n=4)	2 (50)		2 (50)	
Moderately differentiated (n=23)	7 (30)		11 (48)	
Poorly differentiated (n=22)	12 (55)		15 (68)	
Tumor response		0.204		0.06
Partial response (n=28)	13 (46)		15 (54)	
Stable disease (n=13)	5 (38)		6 (46)	
Progressive disease (n=8)	3 (38)		7 (88)	
Total	21 (43)		28 (57)	

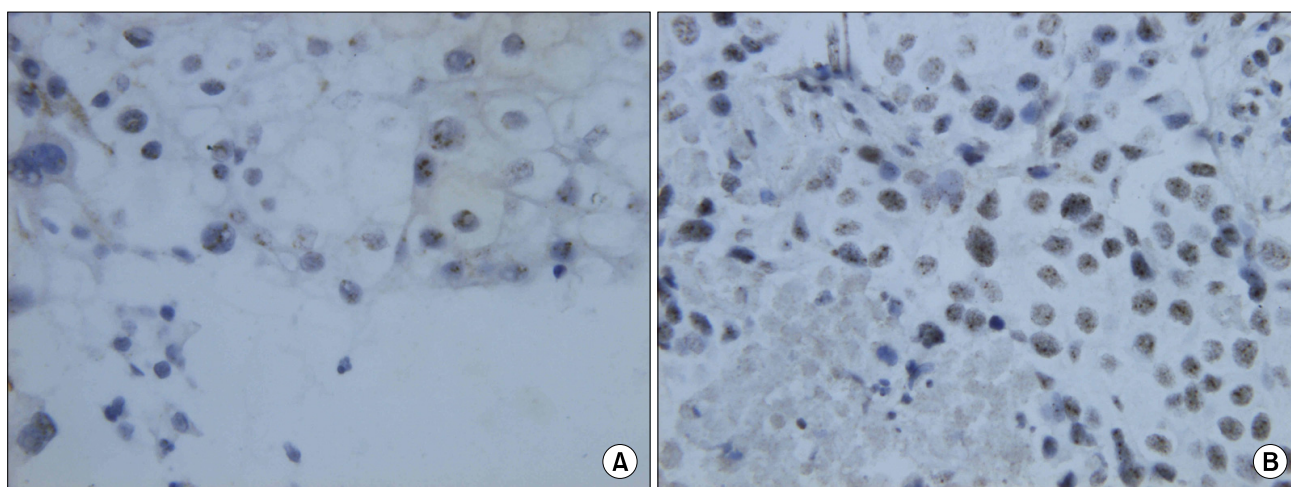
**Fig. 1.** EGFR (A) and HER-2 (B) gene amplification by chromogenic in situ hybridization. A typical gene amplification appears as a cluster of multiple individual gene copies (CISH, ×400). EGFR: epidermal growth factor receptor.

Table 3. Association between Clinicopathologic Variables and Median Survival

Variables	Median survival ±SD (months)	95% CI	p value
Age (years)			0.269
< 60	17±4.372	8.098 ~ 25.235	
≥ 60	14±2.214	9.496 ~ 18.174	
Gender			0.361
Male	14±1.881	10.314 ~ 17.686	
Female	20±3.119	13.888 ~ 26.112	
Smoking			0.227
Never-smoker	18±3.165	11.796 ~ 24.204	
Current or ex-smoker	15±2.098	10.887 ~ 19.113	
T			0.16
T2	12±2.980	6.158 ~ 17.842	
T3	14±3.879	6.396 ~ 21.604	
T4	20±2.980	14.158 ~ 25.842	
N			0.889
N0	20±9.798	0.796 ~ 39.204	
N1	12±3.286	5.559 ~ 18.441	
N2	14±4.866	4.463 ~ 23.537	
N3	15±2.882	9.350 ~ 20.650	
Stage			0.058
IIIB	16±4.508	6.163 ~ 23.837	
IV	12±2.325	10.443 ~ 19.557	
Histology			0.036
Squamous cell carcinoma	18±4.837	8.519 ~ 27.481	
Adenocarcinoma	14±2.078	9.927 ~ 18.073	
Large cell carcinoma	8±0.816	6.400 ~ 9.600	
Differentiation			0.366
Well differentiated	24±14.697	0.000 ~ 52.806	
Moderately differentiated	16±2.695	10.717 ~ 21.283	
Poorly differentiated	14±4.297	5.578 ~ 22.422	
Tumor response			0.013
Partial response	20±8.490	3.359 ~ 36.641	
Stable disease	15±1.708	11.653 ~ 18.347	
Progressive disease	10±3.933	2.292 ~ 17.708	
EGFR			0.438
Not-amplified	13±2.735	7.639 ~ 18.361	
Amplified	15±2.950	9.218 ~ 20.782	
HER-2			0.027
Not-amplified	20±4.218	11.732 ~ 28.268	
Amplified	12±2.851	6.412 ~ 17.588	

SD: standard deviation, CI: confidence interval, EGFR: epidermal growth factor receptor

고안 및 결론

EGFR과 HER-2는 항암화학치료나 방사선치료에 대한 민감성이나 저항성과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다(14,15). 본 연구에서는 paclitaxel과 cisplatin 병용처방에 따라 1차 항암치료를 받은 진행성 비소세포 폐암 환자를 대상으로 색소원제자리부합화 검사법으로 EGFR과 HER-2 유전자 증폭을 조사하고 병용 항암제에 대한 종양의 반응 및

예후와의 상관관계를 비교 분석하였다. 그 결과 EGFR은 종양의 반응이나 생존과 직접적인 연관성을 보이지 않았으나, HER-2는 종양의 반응뿐 아니라 환자의 생존 기간과도 연관이 있었다.

EGFR은 폐암, 유방암, 두경부암 등에서 비정상적으로 높게 발현되는데 암세포의 성장, 주위 조직으로의 침습이나 다른 장기로의 전이가 활성화되어 생존율에 부정적인 영향을 주는 것으로 알려져 있다(1,3,4). 최근 진행성 비소세포

Table 4. Univariate and Multivariate Analyses of Cox Proportional Hazard Model

Variables	Level	Hazard ratio	95% CI	p value
a) Univariate analysis				
Age (in years)	≥60 vs. <60	0.988	0.950 ~ 1.029	0.565
Smoking	Current or ex-smoker vs. Never-smoker	1.298	0.565 ~ 2.983	0.539
Stage	IV vs. IIIB	1.137	0.581 ~ 2.214	0.708
Histology	Non-squamous vs. Squamous	1.714	0.943 ~ 3.114	0.077
Tumor response	PR or SD vs. PD	0.323	0.129 ~ 0.809	0.016
EGFR	Amplified vs. Not amplified	0.996	0.781 ~ 1.269	0.971
HER-2	Amplified vs. Not amplified	1.718	0.888 ~ 2.326	0.108
b) Multivariate analysis				
Age (in years)	≥60 vs <60	0.994	0.952 ~ 1.038	0.792
Smoking	Current or ex-smoker vs. Never-smoker	1.837	0.667 ~ 5.133	0.246
Stage	IV vs. IIIB	1.018	0.283 ~ 1.438	0.279
Histology	Non-squamous vs. Squamous	2.036	0.977 ~ 4.242	0.058
Tumor response	PR or SD vs. PD	0.332	0.129 ~ 0.809	0.031
EGFR	Amplified vs. Not amplified	1.084	0.827 ~ 1.419	0.56
HER-2	Amplified vs. Not amplified	1.744	0.810 ~ 3.756	0.155

CI: confidence interval, PR: partial response, SD: stable disease, PD: progressive disease, EGFR: epidermal growth factor receptor

폐암 환자에게 gefitinib과 같은 EGFR 억제제가 FDA (The United States Food and Drug Administration)의 공인을 받아 상용화되어, 동양인, 여성, 비흡연자, 선암종에서 효과가 현저히 좋고, 특히 EGFR 돌연변이가 있는 환자의 경우 60~80%의 반응률을 보인다고 한다(16-18). EGFR이 방사선 조사에 대한 저항성과 관련이 있으며(19), 수술한 비소세포 폐암 환자의 림프절 전이나 불량한 예후에 대한 예측인자라는 주장이 있다(3). 그러나 국소적 치료(수술이나 방사선 조사)가 어려운 진행된 비소세포 폐암에 대한 1차 처방으로 정립된 3세대 약물과 백금 유도체 병용처방에 대한 중량의 반응에서 EGFR의 역할에 대한 연구는 문헌 검색상 찾을 수 없었다. 저자들의 연구 결과 EGFR은 1차 병용처방의 효과 및 생존 기간과 무관하였다. 하지만 지금까지 이에 대한 연구가 전무한 데다 폐암의 치료 방침 면에서 EGFR이 차지하는 비중이 매우 크다는 점과 대상 증례의 크기나 특성, 분석 방법 등을 고려해 볼 때 향후 더 많은 증례를 대상으로 추가적인 연구가 필요하다고 하겠다.

한편, 유방암과 난소암 세포주에서 anti-HER-2가 cisplatin의 세포 독성을 증가시켜 종양세포가 잘 반응하였다는 보고가 있다(20). 또한 비소세포 폐암 세포주를 이용한 생체 외 실험에서 비소세포 폐암에 많이 쓰이는 Doxorubicin, Etoposide, Cisplatin 및 Melphalan 등 네 가지 약제에 대한 내성(chemoresistance)과 p185를 암호화하는 HER-2 발현과의 연관성을 본 연구에서, 고농도의 p185가 Melphalan을 제외한 나머지 세 종류의 약제에 대한 내성과 상관관계를 보였었다(9). 이는 본 연구 결과를 뒷받침하는 사례들이다. 1차

병용 항암제로 치료 후 PD인 환자의 88%에서 HER-2 증폭이 관찰된 반면, PR을 보인 환자의 54%만이 HER-2 증폭을 보여(p=0.060), 치료 반응과 밀접한 연관이 있음을 제시하였다. 더군다나 HER-2 유전자 증폭이 관찰된 환자의 생존기간이 유전자 증폭이 없는 환자들보다 훨씬 짧았으며 이는 통계적으로 매우 유의하였다(12개월 vs. 20개월: p=0.027). 따라서 HER-2 유전자 증폭은 진행성 비소세포 폐암 환자의 paclitaxel과 cisplatin 병용 항암제에 대한 중량의 반응과 생존에 대한 불리한 예후인자로서의 가치가 있다고 생각한다. 그러나 다변량 분석상 통계적 유의성은 없었는데 이는 대상 증례 수가 적었기 때문인 것으로 추정된다.

어떤 기전을 통해 HER-2가 약제 내성을 유도하는 지는 아직 명확하게 밝혀진 바 없다. HER-2 과발현이 높은 세포 증식능과 연관이 있는 것으로 알려져 있지만, p185가 세포 증식능(S-phase fraction과 doubling time)과 상관없이 약제 내성의 유일한 예측인자로 작용하였다는(9,21) 점으로 미루어 세포증식능과 무관한 다른 기전이 관여하는 것으로 보인다. 따라서 본 연구의 표본을 대상으로 HER-2가 약제 내성을 유도하는 다른 기전, 특히, DNA 복구나 항암제 해독 등에 관여하는 유전자들에 관한 연구가 절실하다고 판단되어 저자들의 실험실에서 현재 진행 중이다.

비소세포 폐암에서 HER-2 단백 발현율은 선암종 28~80%, 편평세포암종 2~45%, 대세포암종 0~20%이다(22). HER-2 과발현이 환자의 생존이나 치료 반응에 미치는 영향에 대해서 중요한 역할을 한다는 연구 결과와 그렇지 않다는 상반된 견해가 존재한다(10,22-26). 이처럼 다른 결과가

나타나는 것은 각 연구자가 이용한 대상 증례군의 특성 때문일 수 있다. 조직학적 유형에 따라 분리한 경우와 다 포함한 경우, 수술만 한 환자, 수술 전후 보조 방사선 치료나 보조 항암화학치료를 한 환자, 수술 불가능한 환자의 경우 방사선 치료 유무, 처방한 항암제 종류, 순차적 또는 동시 항암화학방사선 치료를 한 환자 등 다양한 환자군을 대상으로 했을 가능성이 있다. 이 점에 대한 정확한 기록은 기술에서 대개 누락되어 있다. 또한 대상 증례 수나 검색 방법의 차이 때문일 가능성도 완전히 배제하기 어렵다. 본 연구에서 저자들은 색소원제자리부합화 검사법을 이용하였다. 색소원제자리부합화 검사법은 DNA 탐식자를 이용하는 새로운 방법으로 면역조직화학염색처럼 peroxidase 반응으로 유전자의 증폭을 검출할 수 있다. 기존의 형광제자리부합화 검사법도 종양 세포의 핵에서 유전자의 복제 수를 정량화할 수 있는 좋은 방법이지만, 병리검사실에서 일반적으로 사용하지 않는 형광현미경이 필요하고 형광 신호의 빠른 소멸로 결과의 장기간 보관이 어렵다는 단점이 있다. 향후 동질 환자군의 증례 누적과 충분한 추적 조사 기간, 다양한 검색법을 이용한 광범위한 HER-2 연구를 시행해서 이를 검증한다면 예후 예측인자로서 유용한 지표로 사용될 수 있을 것이다.

REFERENCES

1. Jemal A, Chu KC, Tarone RE. Recent trends in lung cancer mortality in the United States. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:277-283.
2. Brundage MD, Davies D, Mackillop WJ. Prognostic factors in non-small cell lung cancer: a decade of progress. *Chest* 2002; 122:1037-1057.
3. Suzuki S, Dobashi Y, Sakurai H, Nishikawa K, Hanawa M, Ooi A. Protein overexpression and gene amplification of epidermal growth factor receptor in nonsmall cell lung carcinomas: an immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study. *Cancer* 2005;103:1265-1273.
4. Toschi L, Cappuzzo F. Understanding the new genetics of responsiveness to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Oncologist* 2007;12:211-220.
5. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Cappuzzo F, et al. Combination of EGFR gene copy number and protein expression predicts outcome for advanced non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *Ann Oncol* 2007;18:752-760.
6. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptors shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985;230: 1132-1139.
7. Ménard S, Valagussa P, Pilotti S, et al. Response to cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in lymph node-positive breast cancer according to HER2 overexpression and other tumor biologic variables. *J Clin Oncol* 2001;19:329-335.
8. Meden H, Marx D, Roegglen T, Schauer A, Kuhn W. Overexpression of the oncogene c-erbB-2 (HER2/neu) and response to chemotherapy in patients with ovarian cancer. *Int J Gynecol Pathol* 1998;17:61-65.
9. Tsai CM, Levitzki A, Wu LH, et al. Enhancement of chemosensitivity by tyrphostin AG825 in high-p185 (neu) expressing non-small cell lung cancer cells. *Cancer Res* 1996;56:1086-1074.
10. Greatens TM, Niehans GA, Rubins JB, et al. Do molecular markers predict survival in non-small-cell lung cancer? *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1093-1097.
11. Sobin LH, Fleming ID. TNM classification of malignant tumors, fifth edition (1997). Union internationale contre le cancer and the American joint committee on cancer. *Cancer* 1997;80:1803-1804.
12. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:205-216.
13. Tanner M, Gancberg D, Di Leo A, et al. Chromogenic in situ hybridization: a practical alternative for fluorescence in situ hybridization to detect HER-2/neu oncogene amplification in archival breast cancer samples. *Am J Pathol* 2000;157:1467-1472.
14. Baselga J, Seidman AD, Rosen PP, Norton L. HER2 overexpression and paclitaxel sensitivity in breast cancer: therapeutic implications. *Oncology (Williston Park)* 1997;11:43-48.
15. Schneider S, Uchida K, Brabender J, et al. Downregulation of TS, DPD, ERCC1, GST-Pi, EGFR, and HER2 gene expression after neoadjuvant three-modality treatment in patients with esophageal cancer. *J Am Coll Surg* 2005;200:336-344.
16. Jänne PA, Gurubhagavatula S, Yeap BY, et al. Outcomes of patients with advanced non-small cell lung cancer treated with gefitinib (ZD1839, "Iressa") on an expanded access study. *Lung Cancer* 2004;44:221-230.
17. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness if non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350:2129-2139.
18. Cappuzzo F. Should every lung cancer patients be tested for EGFR mutation? *Expert Opin Ther Targets* 2006;10:789-791.
19. Tsutsui S, Kataoka A, Ohno S, Murakami S, Kinoshita J, Hachitanda Y. Prognostic and predictive value of epidermal growth factor receptor in recurrent breast cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:3454-3460.
20. Hancock MC, Langton BC, Chan T, et al. A monoclonal antibody against the c-erbB-2 protein enhances the cytotoxicity of cis-diaminedichloroplatinum against human breast and ovarian tumor cell lines. *Cancer Res* 1991;51:4575-4580.
21. Tsai CM, Yu D, Chang KT, et al. Enhanced chemoresistance by elevation of p185neu levels in HER-2/neu-transfected human lung cancer cells. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:682-684.

22. Selvaggi G, Scagliotti GV, Torri V, et al. HER-2/neu over-expression in patients with radically resected nonsmall cell lung carcinoma: impact on long-term survival. *Cancer* 2002; 94:2669-2674.
 23. Harpole DH Jr, Marks JR, Richards WG, Herndon JE 2nd, Sugarbaker DJ. Localized adenocarcinoma of the lung: oncogene expression of erbB-2 and p53 in 150 patients. *Clin Cancer Res* 1995;1:659-664.
 24. Pfeiffer P, Clausen PP, Andersen K, Rose C. Lack of prognostic significance of epidermal growth factor receptor and the oncoprotein p185HER-2 in patients with systemically untreated non-small-cell lung cancer: an immunohistochemical study on cryosections. *Br J Cancer* 1996;74:86-91.
 25. Tsai CM, Chang KT, Perng RP, et al. Correlation of intrinsic chemoresistance of non-small-cell lung cancer cell lines with HER-2/neu gene expression but not with ras gene mutations. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:897-901.
 26. Pastorino U, Andreola S, Tagliabue E, et al. Immunocytochemical markers in stage I lung cancer: relevance to prognosis. *J Clin Oncol* 1997;15:2858-2865.
-