

난소암에서 HER-2/*neu* 유전자 증폭과 Platinum-based 항암화학요법 반응도와의 연관성에 관한 연구

서울대학교 의과대학 산부인과학교실

강순범 · 노주원 · 이철민 · 김용범 · 김재원 · 박노현 · 송용상 · 이효표

=Abstract=

HER-2/*neu* Oncogene Amplification; A Factor for Predicting Response of Platinum-based Combination Chemotherapy in Ovarian Cancers

Soon Beom Kang, M.D., Ju Won Roh, M.D., Chul Min Lee, M.D.,
Yong Beom Kim, M.D., Jae Weon Kim, M.D., Noh Hyun Park, M.D.,
Yong Sang Song, M.D., Hyo Pyo Lee, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

Background: The HER-2/*neu* proto-oncogene (also known as c-ErbB-2) encodes a 185 kD transmembrane glycoprotein with intrinsic tyrosine kinase activity. Many studies revealed the correlation between the aberrant overexpression of HER-2/*neu* oncogene and poor prognosis of the malignant tumors such as breast, stomach, colon, lung cancers. But the significance of HER-2/*neu* oncogene overexpression as a prognostic factor in ovarian cancer remains controversial.

Objective: The aims of this study were to assess the prevalence of HER-2/*neu* oncogene amplification by polymerase chain reaction(PCR) and to evaluate the prognostic significance of HER-2/*neu* oncogene overexpression in terms of chemo-responsiveness and survival rate.

Materials and methods: This study included 32 patients with advanced ovarian cancers(24 epithelial ovarian cancers, 2 Brenner tumors, 2 malignant mixed müllerian tumors, 2 granulosa cell tumors, 1 struma ovarii, 1 Krukenberg tumor). All patients had underwent staging laparotomy, and postoperative adjuvant chemotherapy with platinum-based combination chemotherapy. PCR was performed using tissues preserved in liquid nitrogen at the time of debulking operation. Overexpression of HER-2/*neu* oncogene was defined as being equal to or greater than 1.5 a.u. We analyzed whether the HER-2/*neu* overexpression correlated with chemoresponsiveness and 5-year survival rate(5-YSR).

Result: HER-2/*neu* oncogene amplification was present in all of the ovarian cancers(32/32). Significant overexpression[*gene copy number*(GCN) ≥ 1.5 a.u.] was present in 13 of 32 ovarian cancers(41%) and 12 of 24 epithelial ovarian cancers (50%). The clinical response rate to chemotherapy in high copy group(GCN ≥ 1.5 a.u.) was 67%(8/12) and that of low copy group(GCN < 1.5 a.u.) was 92%(11/12)($p > 0.05$). Pathologic response rate to chemotherapy was 0%(0/5) and 50%(3/6), respectively($p > 0.05$). 5-YSR was 8% in high copy group and 25% in low copy group, but this difference was not statistically significant($p = 0.17$).

Conclusion: HER-2/*neu* overexpression might be a poor prognostic factor, but this difference was not definitely elucidated by statistical analysis in this study. Larger scaled prospective randomized study is needed to define the prognostic significance of the HER-2/*neu* overexpression in ovarian cancer.

Key words: HER-2/*neu* overexpression, Ovarian cancer, Prognostic factor

I. 서 론

악성 종양의 발생과정에서 암유전자(oncogene)와 암억제유전자(tumor suppressor gene)가 암 발생과정에 있어서 가장 핵심적인 역할을 할 것으로 생각되고 있다. 최근 분자생물학의 급속한 발달에 힘입어 이러한 악성 종양과 관련된 유전자 분석이 보편화되어 악성 종양에서의 유전자의 역할에 대한 연구가 매우 활발히 이루어지고 있으며, 이는 암발생의 원인을 밝히고 나아가 유전자 치료의 가능성을 제시할 수 있는 가장 중요한 연구로 인정되고 있다.

현재까지 암유전자는 약 60여가지가 알려져 있으며, 이 중 HER-2/*neu*는 유방암, 위암, 대장암, 췌장암, 폐암 등에서 과발현이 증명되었으며, 특히 유방암에서는 HER-2/*neu* 암유전자의 과발현이 암세포의 등급, 전이 및 생존율 등의 예후 인자와 밀접한 관련성이 있는 것으로 알려져 있다.¹⁻⁵⁾ 최근 이러한 결과를 바탕으로 HER-2/*neu* 단백질에 대한 항체(HerceptinTM)가 개발되어 임상시험을 거쳐 HER-2/*neu* 단백질이 과발현되는 유방암에 대하여 효과가 있다는 결과를 얻었으며, FDA의 공인을 얻어 사용되고 있다. 이러한 결과는 향후 암치료에 있어서 유전자 치료의 가능성을 더욱 밝게하고 있다.

그러나 난소암에 대해서는 일치된 의견을 제시하지 못하고 있는데, 일부의 저자들은 HER-2/*neu* 암유전자의 과발현이 예후와는 연관성이 없다고 주장하는 반면,^{6,7)} 다른 저자들은 HER-2/*neu* 암유전자의 과발현이 불량한 예후를 나타내는 지표라고 주장하고 있다.³⁾ 이러한 차이는 많은 부분이 각기 다른 실험 방법과 보존상태가 다른 조직을 사용하였음에 기인하는 것으로 추정되고 있다.⁸⁻¹¹⁾

이에 저자들은 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction)을 통한 유전자 증폭의 정량적 측정이 가

능해짐에 따라, DNA 수준에서 HER-2/*neu* 암유전자의 증폭정도를 측정하고, 항암제 반응성 및 생존율과의 연관관계에 대하여 분석하고자 하였다.

II. 연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

연구의 대상은 서울대학교병원 산부인과에서 1989년 1월부터 1993년 12월까지 수술을 시행 받고 난소암으로 진단 받은 FIGO 병기 3, 4기 진행성 난소암 환자 중 질소냉동조직이 보관되어 있던 32예로 하였다. 환자들은 임상적으로 난소암이 의심되어 이학적 검사, 압표식자 검사, 골반초음파 검사, 상부위장관 조영검사, 하부위장관 조영검사, 경정맥요로조영술(IVP), 컴퓨터 단층촬영(CT) 혹은 자기공명촬영(MRI) 검사를 시행하였으며, 필요한 경우 간-비장 조영검사, 복부 초음파 검사, 골주사 검사(Bone Scan)를 시행하여 암전이 여부를 확인하였다. 환자들은 시험적 개복술을 시행하여 전자궁적출술, 양측 자궁부속기 절제술, 대장막하 대망제거술 및 종괴제거술을 시행하여 FIGO의 방법에 따라 수술적 병기를 설정하였다. 수술 후 platinum을 포함하는 복합항암화학요법을 3주 간격으로 6회 시행하였고, 복합항암화학요법 종료 후 이학적 검사, 초음파, CA-125, 골반 CT 혹은 MRI 등의 임상검사에서 잔존 병소가 없음이 확인된 경우에 임상적 완전관해(clinical complete remission)로 판정하였으며, 종괴의 부피가 50% 이상 소실되고 증상의 호전이 있거나, CA-125가 90% 이상 감소한 경우를 부분적관해로 정의하였다. 항암제에 대한 반응은 부분적관해 및 완전관해인 경우를 모두 항암제에 대한 반응이 있는 것으로 판정하였다. 잔존 병변의 증거가 없고, 임상적 완전관해를 보인 환자에 대하여는 이차 추시개

복술을 시행하여 병리학적 관해 여부를 확인하였다. 이차 추시개복술시 다수의 생검표본과 골반강 내 세척세포진 검사상 암세포가 발견되지 않았던 경우에 병리학적 완전관해(pathologic complete remission)로 정의하며, 임상적 완전관해를 보이지 않거나 복수의 천자에서 세포진 검사가 양성 혹은 타장기로의 전이가 확인된 경우에 이차 추시개복술을 시행하지 않고 taxol, ifosfamide, hexamethylmelamine 등을 이용한 구제화학요법을 시행하였다.

2. 연구 방법

1) 표본 채취

액체질소에 보관된 조직에서 병리소견을 재확인하고 조직을 1.5ml eppendorf tube에 넣고 DNA를 추출하였다. 검체의 바로 옆 조직을 채취한 후 Hema-toxylin-Eosin 염색을 하여 병리조직학적 소견을 Histological Typing of Ovarian Tumors (WHO)에 따라 재판독하였다¹²⁾. 대조군으로는 정상태반조직을 사용하였다.

2) DNA 추출

조직 0.5ml 정도를 유발에 넣고 액화질소를 이용하면서 분말화 시킨 후 1.5ml 용기에 옮겨 TEN buffer용액(50mM Tris, 1mM EDTA, 0.1mM NaCl) 500μl, 10% SDS용액 25μl, pro-K 10μl (20mg/ml)과 혼합하여 37℃에서 밤새 방치하였다. 이 용액에 동량의 PCI(phenol, chloroform, isoamylalcohol) 용액을 넣고 5초간 교반한 후 12,000rpm에서 10분간 원심분리하였다. 용액의 상층부를 취하여 100% cold ethanol을 2배 용량, 3M Na-acetate를 1/10용량을 혼합한 후, -80℃에서 30분간 방치하여 침전물을 형성시키고 이를 12,000rpm에서 20분간 원심분리한 후 침전이 형성된 것을 확인하고 상층액을 조심스럽게 제거하였다. 이 용액에 70% cold ethanol 1ml를 조심스럽게 혼합한 후 12,000rpm에서 5분간 원심분리하여 다시 상층액을 제거하고 건조시킨 후 증류수 200μl를 넣어 추출물을 녹인 후 냉동보관하였다. 분광비색계(spectrophotometer)를 이용하여 OD260에서의 흡광도를 측정하여 추출된 DNA의 농도를 결정하였으며 E(260nm/280nm) 1.7~2.0으로 DNA의 순도를 확인하였다.

3) Oligonucleotide의 합성

표식유전자로는 베타글로빈(β -globin)을 사용하였다. 베타글로빈의 최종산물물은 260 basepair(이하 bp로 약함)이다.^{13,14)} HER-2/*neu*의 시발물질(primer)로는 2122~2219의 세포막투과성 부위로 최종산물물은 98bp이며 이들 모두 외부 의뢰하여 제작하였다. (Korea Biotec. Inc.)

primer	sequences
β -globin	PCO3 5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3'
	GH20 5'-CAACTTCATCCACGTTTCACC-3'
HER2a	5'-CCTCTGACGTCCATCATCTC-3'
HER-2/ <i>neu</i> HER2b	5'-ATCTTCTGCTGCCGTCGCTT-3'

4) PCR

검체 DNA 1μl (200ng/μl)에 반응혼합물 49μl (50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 10mM Tris-HCl, pH 8.3; 100μM dNTP; 0.5μM primers; D.W. 18μl; mineral oil 2방울; 2units Taq polymerase)을 혼합한 후 DNA thermal cycler(Perkin Elmer Cetus, CA)을 사용하여 전체 PCR 35주기를 시행하였으며 각 주기마다 denaturing 94℃ 1분, annealing 55℃ 1분, elongation 72℃ 1분을 시행하고 1주기에서 94℃ 5분의 denaturing과 final extension으로 72℃ 10분을 시행하였다. PCR이 끝난 DNA용액 중 5μl의 시료를 취하여 표지물질과 함께 섞은 다음 8% polyacrylamide gel(PAG)에서 100volts, 60분간 전기영동을 시행하였으며, 전기영동이 끝난 PAG는 ethidium bromide 용액에서 15분간 염색한 후 자외선 투조기(UV transilluminator) 하에서 증폭된 DNA 띠 유무를 관찰하고, ASA 감도 3,000의 흑백 폴라로이드 카메라로 촬영하여 즉시 판독하였다.

5) 유전자 증폭수 측정

염영농도계(imaging densitometer; Model GS-700, Bio-Rad Laboratories, CA)를 이용하여 검체 띠와 베타글로빈 띠 밀도의 최고점의 비율을 계산하고 정상 태반조직의 유전자증폭수(gene copy number)를 1로 하여 검체의 유전자증폭수를 결정하였다. 유전자증폭수의 분류는 기존의 연구자들이 정의한 바 대로, 유전자증폭수 1.5 a.u.(arbitrary unit) 미만을 저증

폭군(low copy number), 유전자증폭수 1.5 a.u. 이상을 고증폭군(high copy number)으로 정의하여 비교 분석하였다.^{15,16)}

3. 통계 분석

HER-2/*neu* 암유전자의 과발현여부에 따른 환자의 연령, 수술 전 CA-125의 농도는 Pearson's χ^2 test를 이용하였으며, 고증폭군과 저증폭군간에 세포유형 및 임상적 관해율, 병리학적 완전관해율 등은 Fisher's exact test를 이용하여 분석하였으며, 두 군간의 생존율의 비교분석은 Log-rank 방법을 적용하였다. 단, HER-2/*neu* 암유전자의 과발현여부와 예후와의 관련성에 관한 분석을 시행함에 있어서는 조직학적 세포유형에 따른 예후의 차이를 최소화하기 위하여 비상피성 난소암은 제외하고 시행하였다(n=24). 모든 통계처리는 SPSS version 7.52를 사용하였다.

III. 결 과

HER-2/*neu* 종양유전자는 32예의 난소종양에서 모두 증폭이 확인되었다(Fig. 1). 환자의 평균나이는 56(39-72)세이고, 32명의 환자중 23명은(71.9%) 난소암 3기였으며, 9명은(29.1%) 난소암 4기였다. 병리학적 분류에 따르면 24명이(75%) 상피성 난소암이었으며, 8명이(25%) 비상피성 난소암이었으며, 이중 장액성 난소암이 17명으로(53.1%) 가장 많았다.(Table 1)

32예의 난소종양 중에서 유전자증폭수 1.5 a.u. 이

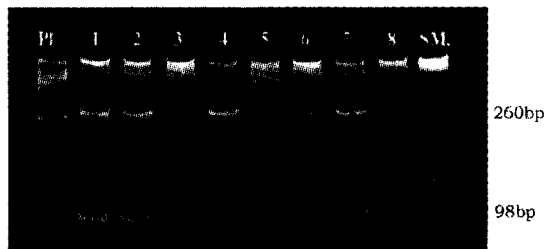


Fig 1. Eight samples of 32 HER-2/*neu* PCR product on a polyacrylamide gel.

PI., placenta; lane 1,2,3,4,7, high copy products; lane 5,6,8, low copy products; SM, size marker

상의 과발현을 보인 경우는 상피성 난소암 환자 24예 중에서 12예(50%), 비상피성 난소암환자 8예 중에서 1예(12%)이었다. 상피성 난소암환자 24예 중에서 유전자증폭수 1.5 a.u. 이상의 고발현군과 1.5 a.u. 미만의 저발현군간의 나이, 병기, 조직학적 분포, 수술전 혈중 CA-125 농도 등은 통계적인 차이를 보이지 않았다.(Table 2)

상피성 난소암에서 항암제에 대한 임상적 반응 여부를 보면 HER-2/*neu* 암유전자 고발현군 12명 중 8명(67%)에서 반응을 보였고, 저발현군에서는 12명중 11명(92%)에서 반응을 나타내어, 저발현군에서 항암제에 대한 반응도가 높은 경향을 보였으나, 통계적으로 유의하지는 않았다(p=0.59). 이차치시개복술은 저발현군 6예, 고발현군 5예에서 시행하였으며, 이를 통해 얻은 병리학적 결과에서 완전관해를 보인 경우는 고발현군에서 0% (0/5) 저발현군에서 50%(3/6)이었으나 표본수가 적어 두 군간의 통계적으로 유의한 차이는 없었다.(p=0.18)(Table 3)

상피성 난소암환자의 HER-2/*neu* 암유전자의 발현에 따른 5년 생존율은, 고발현군에서 8%(평균생존기간=27개월), 저발현군에서 25%(평균생존기간=35개월)를 보여, 저발현군에서 다소 높은 생존율을 보였으나, 이 역시 두군간에 통계적 유의성은 없었다.(p=0.17)(Fig. 2)

Table 1. Patients Characteristics

Characteristics	Patients Number
Entered	32
Age(range)	56 (39-72)
FIGO* stage (%)	
III	23 (71.9%)
IV	9 (29.1%)
Histologic type	
epithelial	24 (75.0%)
serous	17 (53.1%)
mucinous	2 (6.3%)
endometrioid	5 (15.6%)
non-epithelial	8 (25.0%)
MMMT**	2 (6.3%)
Brenner tumor	2 (6.3%)
Granulosa cell tumor	2 (6.3%)
Struma ovarii	1 (3.1%)
Krukenberg tumor	1 (3.1%)

FIGO* : International Federation of Gynecology and Obstetrics, MMT** : malignant mixed müllerian tumor

Table 2. Correlation between HER-2/*neu* oncogene amplification and clinico-pathological parameters

Parameters	Patients Number	HER-2/ <i>neu</i> expression (%)		p value
		< 1.5 copies a.u.	≥ 1.5 copies a.u.	
Histology (n=32)				
Epithelial	24	12	12	0.10
Nonepithelial	8	7	1	
Age (n=32)		53(±9.64)	59(±6.18)	0.08
Stage (FIGO) (n=24)				
stage III	17	8	9	1.00
stage IV	7	4	3	
CA-125 (n=24) (mIU/mL)		1,987(±2,513)	1,744(±1,968)	0.81

a.u. : arbitrary unit, * : number of epithelial ovarian cancers

IV. 고 찰

c-erbB-2라고도 알려져 있는 HER-2/*neu* 암단백은 상피성장인자 결합단백과 유사한 구조를 가지고 있으며, 이는 악성종양의 암화과정에 관여하는 것으로 알려져 있는 세포막투과성(transmembrane) 결합 단백질이며 tyrosine kinase의 작용을 가지고 있다^{17,18)}. HER-2/*neu* 암유전자는 17번 염색체의 장완에 위치하며, ethylnitrosourea에 노출된 생쥐의 신경아세포 종에서 처음으로 발견되었으며, 또한 사람의 표피 성장인자 수용체(epidermal growth factor receptor)와 유사한 구조를 가지고 있어 HER-2라고도 불리게 되어, 후에 결합되어 현재와 같은 이름으로 쓰이게 되었다.¹⁹⁾ HER-2/*neu* 암유전자의 발현의 기전으로는 점돌연변이, 과발현, 전이 등의 여러 가지 가설들이 논의되고 있으나, 가장 유력하게 생각되는 기전은 과발현이며, 이에 의해 리간드가 없는 상태에서도 tyrosine kinase의 역할을 하는 것으로 생각되고 있다¹⁷⁾. 일단 활성화가 일어나면 이는 세포의 성장과 분화에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 이는 HER-2/*neu* 암유전자에 대한 항체를 NIH 3T3 세포주에 투여하였을 때 세포의 증식이 억제되는 것으로도 알 수 있다.²⁰⁾ HER-2/*neu* 암유전자의 과발현은 유방암, 위암, 대장암, 췌장암, 폐암 등 많은 선암에서 보고되고 있으며, 특히 유방암에서는 HER-2/*neu* 암유전자의 과발현이 암세포의 분화도, 전이 정도 및 생존율과도 밀접한 연관성이 있다고 보고되고 있다.^{2,5,21)}

부인암 영역에 있어서도 자궁내막암, 자궁경부

Table 3. Correlation between HER-2/*neu* overexpression and clinical response rate to chemotherapy in epithelial ovarian cancers (n=24).

	Patients Number		p value
	low copy group (<1.5 a.u.)	high copy group (≥1.5 a.u.)	
Clinical response to chemotherapy			
responsive	11	9	0.59
resistant	1	3	
Pathologic response to chemotherapy (second look operation)			
negative	6	5	0.18
positive	3	0	
Survival			
median survival (range)	35 months (15-55)	27 months (19-35)	0.17
5-YSR	25%	8%	

a.u. : arbitrary unit, 5-YSR : 5-year survival rate

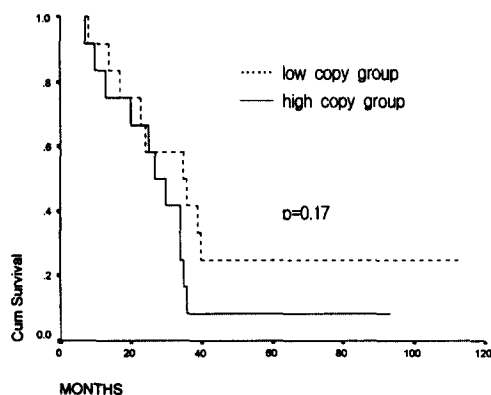


Fig 2. Association between survival rate and HER-2/*neu* gene copy number by log rank test.

암, 난소암, 혼합 밀러씨 종양 (MMMT) 등에서 HER-2/*neu* 암유전자의 발현이 확인된바 있으나, 아직 임상적 중요성에 대해서는 일치된 견해를 보이지 않고 있다.^{22,26)} 뚜렷한 예후인자가 없는 난소암의 경우 HER-2/*neu* 암유전자의 과발현이 유용한 예후인자로서 쓰일 수 있을 것으로 기대하였으나, 많은 연구에도 불구하고, 저자마다 다른 결과를 제시하고 있다. 일부의 저자에서는 HER-2/*neu* 암유전자의 과발현과 항암치료제에 대한 저항성, 이차치수 개복술시 양성률, 생존률의 저하 등이 의미있게 관련되어 있어, HER-2/*neu* 암유전자의 과발현이 난소암의 불량한 예후를 시사하는 인자로서의 이용 가능성을 주장하였으나,^{21,27)} 다른 저자들은 HER-2/*neu* 암유전자의 과발현과 난소암의 발생이나 불량한 예후등과는 관련을 짓기 힘들다고 발표한 바 있다.^{28,29)} 이러한 상반된 결과의 이유로서는, HER-2/*neu* 암유전자가 난소암의 예후와 뚜렷한 관련이 없기 때문으로 해석할 수도 있겠으나, 연구자마다 이용한 실험방법, 사용된 종양조직의 질, 그리고 항체의 종류에 따라 발현률에 차이가 있었을 가능성을 고려해야 한다.

실제로 연구자들이 암유전자의 과발현을 확인하는 방법으로는 단클론항체를 이용하는 면역조직화학염색법 (immunohistochemical staining), Northern blot analysis, Southern blot analysis, flow cytometry 등의 여러 가지 방법이 있으며, 각각의 방법은 장단점을 지니고 있어, 사용하는 방법에 의해 결과에 많은 차이가 나는 것으로 알려져 있다. 사실상 HER-2/*neu* 암유전자의 발현도에 대한 연구에서도 방법에 따라 다른 결과를 보이고 있는데, 파라핀 포매조직을 이용한 면역조직화학염색법으로는 16-33% 정도의 c-erbB-2 단백발현이 보고되었으며,^{6,21,27,30)} Southern blotting을 이용한 방법으로는 약 8-70% 정도의 발현율이 보고된 바 있다.^{21,31)}

그러므로 본 연구자들은 기존의 여러 연구자들에 의한 연구결과가 일치하지 않는 이유를 HER-2/*neu* 발현을 검사하는 검체의 대상이 DNA, mRNA, 혹은 단백질 등으로 다양하였으며, 검체의 종류에 따라 연구방법도 PCR, RT-PCR, 면역조직화학염색법, Southern blotting, Northern blotting 등으로 다양하였고, 조직의 질에 있어서도 액체 질소에 냉동보관된 조직과 파라핀 포매조직 등 서로 다른 조직을 이용하

였음에 있다고 보고, 가장 이상적인 방법에 의한 연구를 통하여 결과를 얻고자 하였다. 이에 저자들은 현재까지의 방법중 DNA 발현정도를 가장 민감하게 검출할 수 있는 중합효소연쇄반응을 이용하여 DNA 발현정도를 정량화하여 임상지표와 비교하고자 하였다. 또한 가능한 한 유전자의 손상을 최소화하기 위하여 액체질소에 신선냉동 보존되었던 조직을 이용하였다.

최근에 개발되어 널리 쓰이고 있는 중합효소연쇄반응은 과거에 많이 사용되었던 면역조직화학염색법, Southern blotting 등에 비하여 DNA 수준에서 HER-2/*neu* 암유전자의 발현 정도를 비교적 정확히 정량적으로 분석할 수 있으며, 적은 양의 조직으로도 검사가 가능하고, 조직의 정제과정에 크게 영향을 받지 않으며, 시간이 적게 걸리고, 손상된 DNA의 양에 따라 영향을 받지 않아 정확한 HER-2/*neu* 암유전자의 발현 정도를 계산할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 그러나 비록 PCR방법이 다른 방법에 비하여 DNA의 손상정도에 영향을 적게 받는다고는 하지만 어느정도는 DNA의 상태에 따라 증폭정도에 영향을 미칠 수 있다는 점을 기억해야 한다. 실제로 PCR을 이용해 HER-2/*neu* 암유전자의 발현 정도를 연구한 논문에서도 일치된 결과를 보이지 않고 있는데, Hruza 등¹⁵⁾은 파라핀 포매조직을 이용한 PCR 실험에서 HER-2/*neu* 암유전자의 과발현이 약 40% 정도이며 예후와는 관련성이 없어 예후인자로서의 유용성은 없다고 보고하였으며, 1995년 발표된 Medl 등³²⁾의 연구에서도 같은 발표를 한 바 있다. 그러나 이와는 반대로 Wong 등¹⁶⁾은 HER-2/*neu* 암유전자의 과발현과 예후와의 연관성이 뚜렷하지는 않지만 잠정적인 예후인자로서의 가능성을 인정한 바 있다. 현재까지 난소암에서 밝혀진 HER-2/*neu* 암유전자에 대한 결과를 정리하면 약 30% 이상의 난소암에서 양성률을 나타내며, FIGO병기가 진행될수록 과발현율이 증가한다는 것에는 견해를 같이하고 있다.^{33,34)}

본 연구에서는 진행성 난소암 32예 모두에서 HER-2/*neu* 암유전자의 발현을 확인할 수 있었다. 또한 과발현도 상피성 난소암 24예 중 12예(50%)에서 발견되어, 다른 연구에 비하여 높은 결과를 나타내었다. 이는 과거에 밝혀진 바와 같이 병기가 증가할수록 HER-2/*neu* 암유전자의 발현빈도가 증가하는

것을 고려할 때, 본 연구에서 쓰인 검체가 난소암 3기와 4기의 진행된 난소암을 대상으로 하여 높게 나왔을 가능성이 있으며, 또한 본 연구에서 사용된 검체가 수술 직후 액체질소에 냉동 보관되어 보관상태가 양호하기 때문에 높은 양성률을 얻을 수 있었던 것으로 추정된다. 본 연구의 결과는 HER-2/neu 암유전자가 난소암에 발생에 관여할 가능성을 시사한다고 할 수 있겠으나, 통계적 유의성을 확인하지는 못하였다.

예후와의 관련성에 있어서는 저발현을 보인군에서 항암제에 대해 부분적 관해 이상의 반응을 보인 경우가 92%(11/12), 5년 생존률 25%(평균생존기간=35개월)로 과발현군의 67%(8/12), 8%(평균생존기간=27개월)에 비해 다소 높은 경향을 보이긴 했으나, 통계학적 유의성은 없었다($p>0.05$). 마찬가지로 임상적 완전관해를 보인 환자를 대상으로 시행한 이차추시개복술에서도 병리학적 완전관해를 보인 경우가 저발현군에서는 6명중 3명에서(50%) 병리학적 완전관해를 나타내었고, 고발현군에서는 5명 모두가 병리검사에서 암조직이 발견되어서(0%) 저발현군에서 임상적 관해와 마찬가지로 병리학적 완전관해도 높은 경향을 나타내었으나, 대상 표본의 수가 적어 통계학적인 유의성을 논할 수는 없었다. 본 연구의 결과로서는 HER-2/neu 암유전자의 과발현이 진행성 난소암에 있어서 예후인자로서의 임상적 의의를 가진다고 말할 수는 없겠으나, 본 연구의 대상 검체가 소수임을 감안할 때, 단정적으로 부정적인 결론을 짓기는 어려우리라 사료되며, 향후 좀더 많은 수의 검체를 대상으로한 같은 방법의 연구가 이루어져야 할 것이다.

본 연구는 DNA 단계에 있어서는 가장 정확한 정량적 측정을 할 수 있는 것으로 알려져 있는 PCR을 이용하여 HER-2/neu 암유전자의 정량적 측정에 성공함으로써, 비록 본 연구에서는 대상 검체의 수가 적어 단정적으로 결론짓기는 어렵다고 하더라도, 향후 본 연구에서와 같은 방법을 이용하여 많은 검체를 대상으로 연구를 시행한다면 현재 논란이 되고 있는 난소암에서의 HER-2/neu 암유전자와 난소암의 예후와의 관련성에 대해 정확히 평가할 수 있으리라 생각되며, 향후 이를 통하여 HER-2/neu 유전자 치료 적용 가능성을 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

-참고문헌-

1. Gullick WJ. The role of the epidermal growth factor receptor and the c-erbB-2 protein in breast cancer. *Int. J. Cancer* 1990;5(suppl):55.
2. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, et al. HER-2/neu oncogene protein and prognosis in breast cancer. *J Clin Oncol* 1989;7:1120.
3. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer; Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987;235:177.
4. Dati C, Muraca R, Tazardes O, et al. c-erbB-2 and ras expression levels in breast cancer are correlated and show a cooperative association with unfavorable clinical outcome. *Int J Cancer* 1991;47:833.
5. Tiwari RK, Borgen PI, Wong GY, et al., HER-2/neu amplification and overexpression in primary human breast cancer is associated with early metastasis. *Anti-cancer Res* 1992;12:419.
6. Rubin SC, Finstad CL, Wong GY, et al. Prognostic significance of HER-2/neu expression in advanced epithelial ovarian cancer; a multivariate analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:162.
7. Fajac A, Berard J, Lhomme C, et al. c-erbB-2 gene amplification and protein expression in ovarian epithelial tumors: Evaluation of their respective prognostic significance by multivariate analysis. *Int J Cancer* 1995;64:146.
8. Haldane JS, Hird V, Hughes CM, et al. c-erbB-2 oncogene expression in ovarian cancer. *J Pathol* 1990;162:231.
9. Tyson FL, Soper JT, Daley L, et al. Overexpression and amplification of the c-erbB-2(HER-2/neu) proto-oncogene in epithelial ovarian tumors and cell lines. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1988;29:417.
10. Sasano H, Garrett CT. Oncogenes in gynecological tumors. *Curr Pathol* 1992;85:357.
11. Rubin SC, Finstad CL, Federici MG, et al. Prevalence and significance of HER-2/neu expression in early epithelial ovarian cancer. *Cancer* 1994;73:1456.
12. Servo S, Scully R and Sobin L. Histologic typing of ovarian tumors; in *International Histological Classification of Tumors*. Geneva, World Health Organization 1973;9.
13. Schechter AL, Stern DF, Vaidyanathan L, et al. The HER-2/neu oncogene: An erb-B-related gene coding a 185,000-Mr tumour antigen. *Nature* 1984;312:513.
14. Frye RA, Benz CC, Liu E. Detection of amplified oncogene by differential polymerase chain reaction. *Onco-*

- gene 1989;4:1153.
15. Hruza C, Dobianer K, Beck A, et al. HER-2 and INT-2 amplification stimulation by quantitative PCR in paraffin-embedded ovarian cancer tissue samples. *Eur J Cancer* 1993;29A:1593.
 16. Wang D, Konishi I, Koshiyama M, et al. Expression of c-erbB-2 protein and epidermal growth factor receptor in endometrial carcinomas. *Cancer* 1993;72:2628.
 17. Bacus SS, Zelnick CR, Plowman G, et al. Expression of the erbB-2 family of growth factor receptors and their ligands in breast cancers. Implication for tumor biology and clinical behavior. *Am J Clin Pathol* 1994; 102(Suppl 1):S13.
 18. De Potter CR. The neu-oncogene: More than a prognostic indicator? *Hum Pathol* 1994;25:1264.
 19. Padly LC, Shih C, Cowing D, et al. Identification of a phosphoprotein specifically induced by the transforming DNA of rat neuroblastomas. *Cell* 1982;28:865.
 20. Bargmann CL, Hung MC, Weinberg RA. Multiple independent activations of the neu oncogene by a point mutation altering the transmembrane domain of p185. *Cell* 1990;61:203.
 21. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al. Studies of the HER-2/neu protooncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989;244:707.
 22. Costa MJ and Walls J. Epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 oncoprotein expression in female genital tract carcinosarcomas (malignant mixed müllerian tumors). *Cancer* 1996;77:533.
 23. Monk BJ, Chapman Ja, Johnson GA, et al. Correlation of C-myc and HER-2/neu amplification and expression with histopathologic variables in uterine corpus cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:1193.
 24. Neilsen AL, Nyholm HC. p53 Protein and c-erbB-2 protein(p185) expression in endometrial adenocarcinoma of the endometrioid type. An immunohistochemical examination on paraffin sections. *Am J Clin Pathol* 1994;102:76.
 25. Brumm C, Riviere A, Wilckens C, et al. Immunohistochemical investigation and northern blot analysis of c-erbB-2 expression in normal, premalignant and malignant tissues of the corpus and cervix uteri. *Virch Arch A Pathol Anat Histopathol* 1990;417:477.
 26. Kihana T, Tsuda H, Teshima S, et al. Prognostic significance of the overexpression of c-erbB-2 protein in adenocarcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1994;73: 148.
 27. Berchuck A, Kamel A, Whitaker R, et al. Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1990; 50:4087.
 28. Singleton TP, Perrone T, Lakely G, et al. Activation of c-erbB-2 and prognosis in ovarian carcinoma. *Cancer* 1994;73:1456.
 29. Wilkinson N, Todd N, Buckely CH, et al. An immunohistochemical study of the incidence and significance of c-erbB-2 oncoprotein overexpression in ovarian neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 1991;1:285.
 30. Zhang X, Silva E, Gershenson D, et al. Amplification and rearrangement of c-erbB protooncogene in cancer of human female genital tract. *Oncogene* 1989;4:985.
 31. Katsaros D, Zola P, Theillet C, et al. Amplification and/or overexpression of c-myc and c-erbB-2 oncogene is associated with aggressive biological behavior in human ovarian carcinoma. *Cancer Res* 1991;32:291.
 32. Medl M, Sevela P, Czerwenka DK, et al. DNA amplification of HER-2/neu and INT-2 oncogenes in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1995;59:321.
 33. Seidman JD, Frisman DM and Norris HJ. Expression of HER-2/neu protooncogene in serous ovarian neoplasm. *Cancer* 1992;70:2857.
 34. Kacinski BM, Mayer AG, King BL, et al. neu protein overexpression in benign, borderline and malignant ovarian neoplasm. *Gynecol Oncol* 1992;44:245.