

유방의 양성 및 악성 유두상 종양에서 Cyclin D1, MIB-1, p53 및 c-erbB-2 발현

김태현, 윤기영

고신대학교 의학부 일반외과학교실

Expressions of Cyclin D1, MIB-1, p53, and c-erbB-2 in Benign and Malignant Papillary Lesion of the Breast

Tae Hyun Kim, Ki Young Yoon

Department of General Surgery, Kosin University College of Medicine, Pusan, Korea

Abstract

Background Histological differentiation between papillary carcinoma from benign papilloma of the breast is difficult in some instances, and papillomas can undergo malignant transformation. The author investigated the expression of cyclin D1, MIB-1 (Ki-67), p53, and c-erbB-2 to assess the diagnostic value of these markers in distinguishing papillary carcinoma from papilloma of the breast.

Methods Immunohistochemical stains for cyclin D1, MIB-1, p53, and c-erbB-2 were performed in 30 cases of papilloma (20 cases of single lesion and 10 cases of multiple lesion) and 8 cases of papillary carcinoma of the breast.

Results Labelling index of cyclin D1 was significantly higher in 8 papillary carcinomas (36.7 ± 27.0) than in 30 papillomas (3.5 ± 4.2) ($P=0.001$). MIB-1 labelling index was 4.9 ± 5.9 in 8 papillary carcinomas and 0.4 ± 1.4 in 30 papillomas, and there was statistically significant difference ($P=0.0225$). P53 protein expression rate was significantly higher in 8 papillary carcinomas (87.5%) than in 30 papillomas (30.3%) ($P=0.00541$). There were no difference of cyclin D1, MIB-1, and p53 expression between solitary intraductal papillomas and multiple papillomas. In all benign and malignant papillary lesions, c-erbB-2 expression was not seen.

Conclusions These results suggest that cyclin D1, MIB-1, and p53 might be useful markers for distinguishing papillary carcinomas from papillomas of the breast.

Key Words: Breast, Papilloma, Papillary carcinoma, Cyclin D1, MIB-1, p53

서론

유방의 양성 유두종은 10% 미만의 빈도를 보이는 세 번째로 흔한 유방의 양성 종양이며, 혈성 유두분비의 가장 흔한 원인이다. 유두상 암종은 전체 유방암종의 1-2%로 드물게 발생하며, 비교적 예후가 좋은 편이다.^{1,2)} 육안적으로 양성 유두종을 제외한 양성 유두종

은 대부분 병변의 크기가 3cm를 넘지 않으나 유두상 암종은 더 크고, 현미경적 소견상 유두상 암종의 경우 양성 유두종에 비해 종양세포의 모양이 더욱 일정하며, 근상피세포나 아포크린성 화생을 보이는 세포가 관찰되지 않고, 간질 성분이 거의 없으며 유사분열을 보이는 세포가 많고, 핵의 비정형성이 관찰된다고 알려져 있다.³⁾ 그러나 때로는 이러한 형태학적 소견만으로 감별이 어려운 양성과 악성간의 경계성 병변이 관찰되며³⁾ 양성 유두종에서 악성 변화를 보이는 경우도 있어^{2,4)} 감별이 용이하지 않다.

교신저자 : 김 태 현
TEL 051-240-6462 · FAX 051-246-6093
E-mail: gskitah@ns.kosinmed.or.kr

면역조직화학염색이 부가적인 진단방법의 하나로서 시도되고 있으며, Papotti 등⁵⁾은 actin 염색을 통하여 유두상 암종 조직에서 근상피세포의 소실을 확인하는 것이 진단에 도움이 된다고 하였으며, CEA (carcinoembryonic antigen)가 유두상 암종 조직의 약 85%에서 발현되나 양성 유두종 조직에서는 발현되지 않는다고 하였다.

세포주기 조절에서 가장 중요한 시기는 G₁-S 이행단계이며, 이 단계에서 cyclin은 CDK (cyclin dependent protein kinase)와 함께 복합체 형태로서 조절작용을 하는데 대표적인 복합체가 cyclin D-CDK4 또는 cyclin D-CDK6이다. 이러한 복합체를 억제 조절하는 것은 INK (inhibitors of CDK4 and CDK6) 단백질로 p16^{INK4b}, p15^{INK4b}, p18^{INK4b}, p19^{INK4d}가 이에 속한다.⁶⁾ Rb (retinoblastoma)단백은 G₀/G₁ 단계에서 저인산화 상태로 활성화되어 E2F와 같은 전사인자와 결합하여 세포가 S기로 진행하는 것을 억제하는 종양억제 유전자로 알려져 있다. cyclin D1-CDK4/6 복합체는 Rb 단백질과 접촉하여 Rb 단백을 인산화시켜 불활성화 함으로써 세포증식을 유도할 수 있으며, 이러한 과정은 또한 p16^{INK4b}과 같은 억제제에 의해 조절된다.⁷⁾ Saddik 등⁸⁾은 세포주기 조절인자인 cyclin D1의 발현율이 양성 유두종에 비해 유두상 암종에서 의미있게 높았다고 하였고, Weinstein 등⁹⁾은 유방병변에서 cyclin D1의 과발현이 악성과 양성을 구분하는데 유용하다고 하였다.

MIB-1은 세포의 증식능을 나타내는 표지자로서 정상 또는 종양세포에서 세포주기의 G₁ S, G₂ 및 M기에 발현되고 휴지기에서는 발현되지 않는 비 히스톤 핵단백의 일종이다.¹⁰⁾ MIB-1은 휴지기를 제외한 모든 세포주기에서 발현하므로 G₁에서 S로 이행하는 단계에만 작용하는 cyclin D1과 비교하여 세포의 증식능을 보는데 유용하다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하며⁸⁾ 변형된 p53 11 유전자에 의해 생성된 p53 단백질은 야생형에 비해 매우 안정된 상태로서 세포의 핵에 축적된다. 그러므로 면역조직화학 염색상 야생형의 p53 유전자를 가진 정상세포에서는 p53 단백질이 발현되지 않으나 변이형 p53 유전자를 가진 세포에서는 p53 단백질의 발현을 관찰할 수 있다.¹¹⁾ p53 유전자는 정상적으로 손상 받은 세포의 증식을 억제시키므로써 종양의 발생을 억제하나 DNA 손상이 있을 때는 오히려 종양의 발생을 유발하는 것으로 알려져 있으며,⁸⁾ 유방암에서 p53 단

백의 발현 빈도는 15%에서 49%까지 다양하게 보고되고 있다.¹²⁻¹⁴⁾

c-erbB-2 역시 17번 염색체에 존재하는 암유전자로서 구조적으로 표피 성장인자 수용체 (EGFR, epidermal growth factor receptor)와 유사하므로 c-erbB-2를 분비하는 종양은 소량의 성장인자에 의해서도 과다한 성장을 보일 수 있으며 유방암종에서 c-erbB-2가 발현되는 경우 예후가 나쁘다는 보고도 있다.^{15,16)}

유방의 양성 및 악성 유두상 종양의 감별진단에 있어 cyclin D1, MIB-1, p53, 그리고 c-erbB-2 발현의 유용성에 대해서는 아직 연구가 미흡한 실정이다. 이에 본 연구는 양성 유두종과 유두상 암종 조직에서 면역조직화학염색을 이용하여 cyclin-D1과 MIB-1, 그리고 p53과 c-erbB-2의 발현정도를 알아보고, 양성 및 악성의 감별이 조직학적으로 어려울 때 이들의 발현이 감별에 도움이 되는지 평가하고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

가. 연구 재료

1992년 1월부터 1997년 12월까지 인제대학교 부속 부산백병원 일반외과에서 유방 생검 및 유방 적출술을 통해 얻어진 조직 중에서 양성 유두종으로 진단된 30예와 유두상 암종으로 진단된 8예를 대상으로 하였다.

30예의 양성 유두종과 8예의 유두상 암종의 H-E 염색표본은 재검경하여 병리조직학적 진단을 확인하였다. 양성 유두종은 단일성 종양 20예와 다발성 종양 10예로 구성되어 있으며, 다발성 유두종 중 1예는 비정형 관상피증식증을 동반하고 있었다. 유두상 암종의 경우 단일 종괴로 발견된 경우가 6예, 다발성 종괴로 발견된 경우가 2예이었으며, 종양세포의 핵의 이형성 정도가 저등급인 경우가 3예, 중등도 4예, 고도 1예이었다.

나. 연구 방법

1. 환자의 연령

병력지를 조사하여 진단 당시 환자의 연령을 기록하였다.

2. 면역조직화학 염색

연구대상 38예의 H-E 염색표본을 재검색하여 가장 적당한 파라핀 블록을 선택한 후 파라핀 블록을 $4\mu\text{m}$ 두께로 박절하여 organic silane이 미리 처리된 슬라이드에 올린 다음 60°C 의 열판에서 24시간동안 부착시킨 후 xylene으로 탈파라핀하고, 100%, 95%, 70% 알코올로 함수시켰다. 포르말린 고정으로 인하여 조직내 감추어진 항원을 노출시키기 위해 citric acid 용액에 담구어 microwave oven을 이용하여 10분간 가열한 후 30분간 실온에 두었다. 내인성 peroxidase의 차단을 위하여 3% 과산화수소수로 15분간 처리하고 증류수로 수세하였다. 이후의 과정은 DAKO사의 LSAB (labeled streptavidin biotin) kit를 이용하여 시행하였다. 15분간 normal goat serum을 처리한 후 일차항체인 cyclin D1 (R-124, Santa Cruz, USA), MIB-1 (18-0192, Zymed, USA) p53 (M7001, DAKO, Denmark), c-erbB-2 (18-0111, Zymed, USA)를 각각 1:1000, 1:80, 1:100, 1:50으로 희석하여 처리한 후 실온에서 60분간 반응시켰다. TBS (Tris buffer saline)로 10분간 3차례 수세한 후 2차 항체인 horse biotinylated anti-rabbit IgG (1:50 in TBS, Sigma)을 실온에서 30분간 반응시켰다. TBS로 다시 3차례 수세한 후 streptavidin으로 실온에서 30분간 반응시킨 후 TBS로 수세하고 AEC (amino-ethyl-carbazole)로 10-20분간 실온에서 발색시켰다. Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하고 Crystal mount를 사용하여 봉입하였다. 음성 대조 표본은 일차항체 대신 TBS를 사용하여 위와 동일한 방법으로 염색하였다.

3. 면역조직화학 염색의 판정

Cyclin D1과 MIB-1은 종양세포의 핵에 적갈색으로 염색된 경우를 양성으로 판독하였으며, 각 증례별로 400배 시야에서 200개의 세포를 세어 표지지수를 구하였으며, p53은 양성세포의 숫자에 관계없이 상피세포의 핵에 뚜렷하게 적갈색으로 염색된 경우에 양성으로 판독하였다. c-erbB-2는 종양세포들의 80% 이상에서 세포막에 뚜렷하게 적갈색으로 염색된 경우를 양성^{16,17)}으로 판독하였다.

4. 통계학적 처리

양성 유두종과 유두상 암종에서의 cyclin D1, MIB-1의 표지지수 비교에는 Wilcoxon rank sum test를, p53과 c-erbB-2의 양성율 비교에는 Fisher's exact test를 각각

이용하였다. p값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결과

가. 평균 연령

전체 환자의 나이는 20세에서 71세였으며 평균 나이는 44.6 ± 11.4 세였다. 각 질환별 평균 나이는 단일성 유두종 40.8세, 다발성 유두종 43.7세, 유두상 암종 49.8세로서 점차 증가하는 양상을 보였으나 각 질환간에 유의있는 차이는 없었다 (Table 1).

Table 1. Histologic diagnosis and age distribution of the subjects

Histologic diagnosis	No.	Age (Years)	
		Mean $\pm$ S.D.	Min. ~ Max.
Papilloma	30	43.1 ± 10.0	20 ~ 64
Single intraductal papilloma	20	42.9 ± 10.0	20 ~ 59
Multiple papilloma	10	44.0 ± 10.5	26 ~ 64
Papillary carcinoma	8	49.8 ± 15.0	30 ~ 71
Total	38	44.7 ± 11.4	20 ~ 71

The mean age of each group were not significantly different ($p > 0.05$).

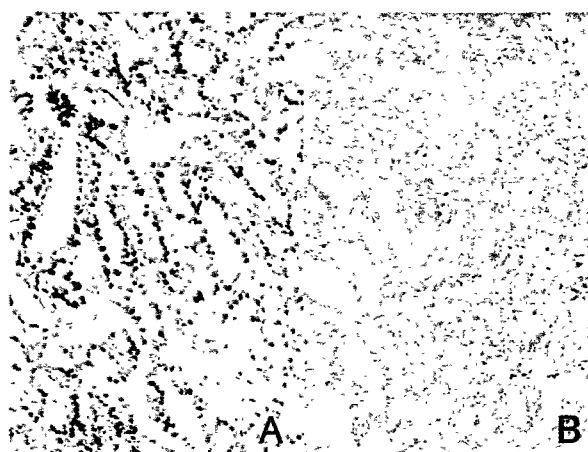


Fig. 1. Cyclin D1 expression.

Frequent nuclear positive reaction in papillary carcinoma (A) and Sparsely scattered cyclin D1 positive cells in benign papilloma (B).

나. Cyclin D1 발현

유두상 암종 8예의 cyclin D1 표지지수는 36.7 ± 27.0 (0.0-92.0)으로서 양성 유두종 30예의 3.5 ± 4.2 (0.0-18.0)에 비해 유의있게 높았다 ($p=0.001$) (Fig. 1). 양성 유두종 중에서 단일성 유두종과 다발성 유두종의 cyclin D1 표지지수는 각각 3.4 ± 4.2 와 3.9 ± 4.6 으로서 다발성 유두종에서 약간 높았으나 차이가 거의 없었다 (Table 2).

다. MIB-1 발현

MIB-1의 표지지수는 유두상 암종의 경우가 4.9 ± 5.9 (0.0-15.0)로서 양성 유두종에서의 0.4 ± 1.4 (0.0- 2.5)에 비해 유의있게 높았다 ($p=0.0225$) (Fig. 2). 그러나

양성 유두종 중에서 단일성 유두종과 다발성 유두종의 MIB-1 표지지수는 0.4 ± 1.7 와 0.4 ± 0.8 로서 거의 차이가 없었다 (Table 2).

라. P53 발현

P53 단백질은 유두상 암종 8예 중 7예 (87.5%)에서, 양성 유두종은 30예 중 9예 (30.0%)에서 발현되어 암종에서의 p53 발현율이 현저히 높았다 ($p=0.00541$) (Fig. 3). 그러나 단일성 유두종과 다발성 유두종의 발현율은 각각 30.0%로 차이가 없었다 (Table 3).

마. C-erbB-2 발현

C-erbB-2는 양성 유두종과 유두상 암종 모두에서 발현되지 않았다.

Table 2. Labelling index (LI) of Cyclin D1 and MIB-1 in the papillary lesion of the breast

Histologic diagnosis	No	Cyclin D1* (%)	MIB-1** (%)
		LI (Range)	LI (Range)
Papilloma	30	3.5 ± 4.2 (0~18.0)	0.4 ± 1.4 (0~7.5)
Single intraductal papilloma	20	3.4 ± 4.2 (0~18.0)	0.4 ± 1.7 (0~7.5)
Multiple papilloma	10	3.9 ± 4.6 (0~14.5)	0.4 ± 0.8 (0~2.5)
Papillary carcinoma	8	36.7 ± 27.0 (0~92.0)	4.9 ± 5.9 (0~15)

The mean expression levels of cyclin D1* and MIB-1** in papillary carcinomas were significantly higher than those of papillomas by Wilcoxon rank sum test (* $p=0.001$ and ** $p=0.0225$).

Table 3. Expression of p53 in the papillary lesions of the breast

Histologic diagnosis	Positive (%)	Negative (%)
Papilloma	9 (30.0)	21 (70.0)
Single intraductal papilloma	6 (30.0)	14 (70.0)
Multiple papilloma	3 (30.0)	7 (70.0)
Papillary carcinoma	7 (87.5)	1 (12.5)

The expressions of p53 in papillary carcinomas were significantly higher than those of papillomas by Fisher's exact test ($p=0.00541$).

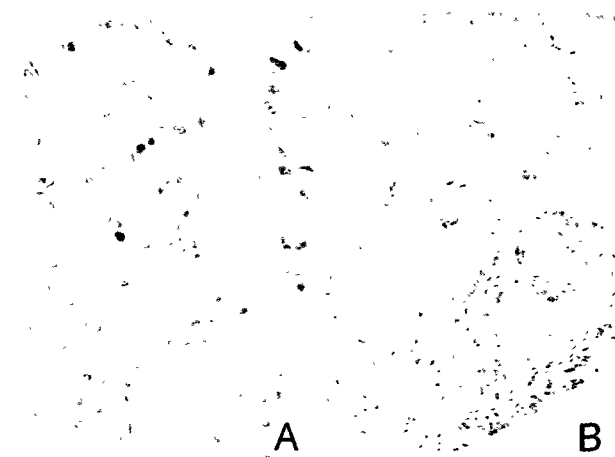


Fig. 2. MIB-1 Immunostain.
High MIB-1 labelling index in papillary carcinoma (A).
Sparsely scattered MIB-1 positive cells in benign papilloma (B).

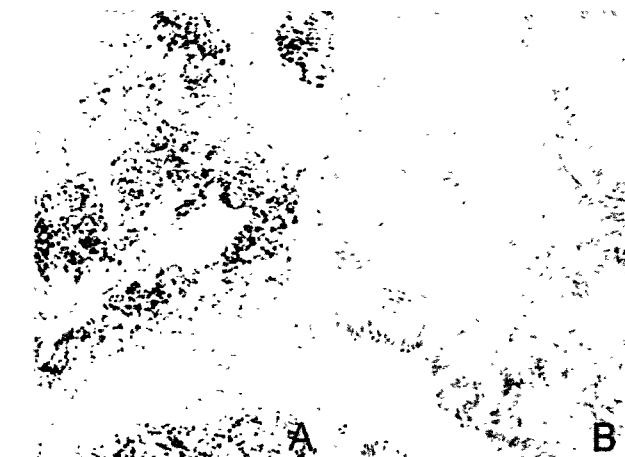


Fig. 3. p53 expression.
Nuclear positive reaction in papillary carcinoma (A), and
p53 negative in benign papilloma (B).

고찰

유방의 양성 유두종은 단일성 혹은 다발성으로 발생할 수 있으며, 단일성 유두종은 주로 유두하에 위치한 주유관에서 발생하고 폐경기를 전후한 50대 여성에서 가장 호발하고 장액성 또는 혈성의 유두 분비물을 보인다.¹⁹⁾ 다발성 유두종은 주로 유방의 변연부에서 관찰되며 단일성 종양에 비해 약 10년 정도 젊은 나이의 여성에서 발병율이 높다고 알려져 있다.²⁰⁾ 그러나 본 연구에서는 단일성 유두종의 경우 다발성 유두종보다 오히려 약간 젊은 연령에서 발병하여 차이를 보였다.

양성 유두종은 직경이 1cm 이하로 크기가 작으며 확장된 유관이나 낭성 병변 내에서 섬세한 용모상 혹은 분지상 성장을 하여 stalk을 지닌 경우도 있으나 sessile polyp으로 나타나기도 하며, 쉽게 부서진다. 현미경 소견상 종양은 유두상 성장을 하며, 각각의 유두는 섬유혈관성 결합조직으로 구성된 중심축과 이를 둘러싸는 한 층의 입방형 또는 원주형의 상피세포와 근상피세포로 구성되어 있다. 부위에 따라서 다양한 형태와 크기의 관상 구조의 증식이나 충실성 상장을 관찰할 수 있으며, 상피세포의 아포크린 화생이나 간질의 경화와 초자양화도 흔히 발견된다. 때로 상피세포가 비정형성을 보일 경우 유두상 암종과의 감별이 필요하다. Kraus와 Neubecker²¹⁾는 조직소견상 유두상 암종과 양성 유두종의 차이점을 기술하였는데, 근상피세포가 발견되지 않고, 세포의 심한 비정형성과 비정상적인 유사분열상을 보이며, 중심부위 혈관 결합조직의 소실과 증식된 관상 조직 내 규칙적으로 배열된 소내강이 보이고, 간질의 경화나 초자양화가 없으며, 상피세포의 아포크린 화생이 발견되지 않는 경우 양성보다는 악성을 더 의심할 수 있다고 하였다. 유두종이 유두상 암종의 전구 병변인지에 대한 논란이 계속되어져 왔으나²²⁾ 현재 단일성 관내 유두종은 양성이며 유두상 암종의 전구 병변이 아니라는 견해가 지배적이다.²³⁻²⁵⁾ 그러나 다발성 유두종은 재발을 잘하고 유두상 암종으로 진행하는 위험도가 있기 때문에 이를 구별해야 하며²⁶⁾ 조직학적으로 섬유낭종성 변화에서 관찰되는 관내 상피세포의 유두상 증식과는 다르다.²⁰⁾

Cyclin D1은 정상적으로 세포주기의 G1 단계에서 핵 내에 최고로 축적된 후 S 단계에서 대부분이 없어

지며 성장인자들의 자극에 의해 그 합성이 증가되는 것으로 알려져 있다.²⁷⁾ Cyclin D1은 Rb 단백질과의 상호작용을 통해 Rb 단백 또는 다른 성장 억제 인자들의 기능을 억제하여 세포의 변형 및 증식을 초래할 수 있다.^{28,29)} Cyclin D1 단백질은 염색체의 11q13 부위에 위치하는 CCND1 유전자에 의해 합성된다. 유방 암종의 약 10-20%에서 11q13 부위의 증폭이 관찰된다고 하며, cyclin D1 단백질의 과발현 또한 30%-80% 정도로 나타나 연구자에 따라 매우 다양하다.³⁰⁻³²⁾ 이처럼 cyclin D1 단백질의 과발현이 유전자 증폭보다 높은 것은 cyclin D1 발현이 유전자 증폭 이외의 유전자의 돌연변이나 전위에 의해 일어날 수 있음을 나타내며, 호르몬, 특히 에스트로겐에 대한 민감도의 증가에 의한 결과에 기인한다고 알려져 있다.³³⁾

Weinstat-Saslow 등⁹⁾은 in situ hybridization을 이용하여 유방병변에서 cyclin D1 mRNA를 측정하였는데 cyclin D1의 과발현이 양성 및 비정형 관상피증식 증에서는 20%, 저등급 관상피내암종 76%, 고등급 관상피내암종 87% 및 침윤성 유방암종에서는 72%로서 cyclin D1의 과발현이 유방암종의 침윤 정도와 관련있다고보다 양성 및 악성의 구분에 유용한 것으로 보고하였다. Saddik 등⁸⁾은 8예의 양성 유두종과 6예의 유두상 암종조직에서 cyclin D1에 대한 면역조직화학 염색을 시행한 결과 유두상 암종에서 cyclin D1에 양성을 보이는 표지 지수가 89 ± 18 로 양성 유두종의 8 ± 7 에 비해 유의하게 높았다고 하였다. 본 연구에서도 cyclin D1의 표지 지수가 유두상 암종에서 36.7 ± 27.0 으로 양성 유두종의 3.5 ± 4.2 보다 유의하게 높아서 유방의 유두상 병변에서 양성 및 악성의 감별에 유용할 것으로 추정된다.

침윤성 유방암종에서 Cyclin D1의 발현은 에스트로겐 수용체의 발현과 의미있는 비례관계를 보이는 것으로 밝혀진 바 있는데, 이는 에스트로겐이 다른 여러 성장인자들과 함께 초기 및 중기 G1기에서 cyclin D1 단백질을 증가시켜 세포의 증식을 자극하기 때문일 것으로 추정되며, 유방암종에서 11q13 유전자의 증폭이 cyclin D1의 발현 뿐 아니라 에스트로겐 수용체의 발현과도 비례한다는 연구 결과도 보고되어 있다.^{34,35)} 특히 Gillett 등³⁵⁾은 cyclin D1이 침윤성 유방암종에서 에스트로겐 수용체의 발현과 연관성이 있어 cyclin D1이 발현되는 경우 호르몬 치료에 대한 반응성과 환자의 예후가 좋은 것으로 나타난

반면 유세포분석에 의한 세포증식능과는 연관성이 없다고 보고하였다. Surtherland 등³⁶⁾은 정상 유방세포들의 배양실험에서 cyclin D1은 에스트로겐을 포함한 호르몬들이 유방 상피 세포들의 증식에 영향을 미치는 데 관여한다고 하였다. 그러나 Kenny 등³⁷⁾은 에스트로겐 수용체 양성인 유방암종의 경우에 cyclin D1 mRNA의 측정치가 높을수록 재발율, 국소 및 원격 전이율, 사망률이 모두 유의있게 높았으며 에스트로겐 수용체가 발현되지 않는 경우에는 관련성이 없었으므로 cyclin D1의 발현이 에스트로겐 수용체 양성인 유방암종에서 환자에서 나쁜 예후를 예측할 수 있는 인자라고 하였다.

Ki-67은 G0를 제외한 G, S, G2, M기에서 정상적으로 발현되는 세포 증식과 관련된 핵항원이고¹⁰⁾, MIB-1 단클론성 항체는 Ki-67항원을 인식한다³⁸⁾. Saddik 등⁸⁾은 Ki-67 면역조직화학염색상 유두상 암종세포의 표지자수가 13 ± 6 으로서 양성 유두종에서의 8 ± 2 에 비해 유의있게 높았다고 하였다. 그러나 Ki-67의 경우 유두상 암종과 양성 유두종에서의 발현율의 차이가 cyclin D1에 비해 낮았으며 유두상 암종에서 cyclin D1의 발현율은 평균 89%인데 비해 Ki-67에 양성인 세포는 13%로 큰 차이를 보이므로 유두상 암종에서 cyclin D1의 과발현이 세포의 증식과 직접 관련된 것이 아님을 시사한다고 주장하였다. 본 연구에서도 cyclin D1과 MIB-1 모두 유두상 암종에서의 발현율이 양성 유두종에 비해 높았으며, cyclin D1 발현율이 MIB-1의 발현율보다 높게 나타나 Saddik 등⁸⁾의 연구 결과와 유사하였다. 이는 cyclin D1이 암종의 발생에 있어 단독으로 작용하기보다는 다른 암유전자의 도움을 필요로 한다는 다른 연구자들의 견해와 부합하였다.³⁹⁾ 또한 세포주기의 G1기를 조절하는 어떤 기전에 의해 cyclin D1의 기능이 조절될 것으로 추정되었는데 Wagasugi 등⁴⁰⁾의 연구에서 30예의 유방암종 중 25예 (83%)에서 E2F-1의 유리를 억제하는 저인산화형태의 Rb 단백질이 관찰되었으며 나머지 5예에서만 과인산화형태의 Rb 단백질이 관찰된 점은 이와 같은 사실을 뒷받침해주는 결과로 생각된다.

야생형의 p53 유전자는 DNA가 손상된 세포에서 증가되어 세포 주기를 정지시키므로써 손상된 DNA가 복구될 수 있는 시간을 제공하거나, 혹은 손상받

은 세포가 더 이상 복제되지 못하도록 apoptosis를 유도하는 역할을 한다. p53 유전자는 세포 주기의 G1-S기를 정지시키고 이 과정은 cyclin/CDK의 복잡한 상호작용에 의하여 p53 단백질의 축적이 cyclin D1의 발현을 유도한다는 의견도 있으나⁴¹⁾ 유방암에서 p53 단백질은 변이형 p53유전자로부터 생성되며, 조직학적 분화도가 낮을수록, 세포의 증식능이 높을수록, 유사분열수가 많을수록, 그리고 에스트로겐 수용체가 음성인 경우에 발현율이 더 높다는 보고들이 있다.¹⁵⁾ 본 연구에서 유두상 암종의 p53 단백질의 발현율은 87.5%로 유두종에서의 30%보다 유의있게 높았다. 그러나 이러한 결과는 다른 연구자들¹²⁻¹⁴⁾이 침윤성 유방암종에서의 발현율을 15%에서 49%로 보고한 것에 비해 매우 높았다.

C-erbB-2 유전자의 증폭은 유방암종에서 흔히 나타나는데, 유방암종에서 c-erbB-2가 발현되는 경우는 예후가 불량할 것으로 예상되고 있으며, 발현율은 보고자에 따라 17.0%에서 37%로 다양하다.^{42,43)} 최근의 후향적 조사를 보면 수술 후 예후가 양호한 임파절 전이 음성 환자에서 c-erbB-2의 과발현은 재발의 위험이 크고 불량한 생존율을 보이는 지표가 된다고 하였다⁴⁴⁾. C-erbB-2 단백질은 종양세포의 증식을 유도하므로 c-erbB2의 과발현과 세포주기의 S-phase fraction 그리고 Ki-67의 과발현이 비례관계를 가진다는 보고도 있으나^{15,43)} 논란의 여지가 있으며 c-erbB-2 과발현이 세포의 증식과 관계가 있는 경우는 epidermal growth factor가 함께 발현되는 경우에 한한다는 의견도 있다.¹⁶⁾ Leal 등⁴⁵⁾이 낭내 (intracystic) 유두상 암종을 대상으로 한 연구에 의하면 c-erbB-2는 총 29예 중 오직 1예의 낭내 유두상 암종에서만 발현되었으며 매우 약하며 국소적인 발현양상이 관찰되었다고 하였다. 이는 낭내 유두상 암종의 경우 다른 침윤성 혹은 관내 유방암종에 비해 대부분 핵등급이 낮거나 중등도이며 괴사소견은 관찰되지 않고 에스트로겐 수용체에 높은 양성율을 보이는 점과 관련이 있을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 유두상 암종 8예 및 양성 유두종 30예 모두에서 c-erbB-2 단백질의 발현은 관찰되지 않았다.

종합하여 유방의 유두상 병변에 있어 유두상 암종과 양성 유두종 간에 면역조직화학염색상 cyclin D1, MIB-1, p53 단백질 발현은 유의있는 차이가 있어 유두상 암종과 양성 유두종의 감별에 유용성이 있다고

생각되었다. 그러나 단일성 및 다발성 유두종 간의 cyclin D1, MIB-1, p53 단백 발현의 차이가 거의 없었다. 또한 c-erbB-2 는 유두상 암종과 양성 유두종에서 모두 발현되지 않았으므로 감별에 도움이 되지 않았다.

결론

유방의 유두상 암종 8예와 양성 유두종 30예를 대상으로 면역조직화학염색을 이용하여 cyclin D1, MIB-1, p53, c-erbB-2의 발현을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 유두상 암종 8예의 cyclin D1 표지지수는 36.7 ± 27.0 로서 양성 유두종 30예의 3.5 ± 4.2 에 비해 현저하게 높았다 ($p=0.001$).
2. MIB-1의 표지지수는 유두상 암종의 경우가 4.9 ± 5.9 로서 양성 유두종의 0.4 ± 1.4 에 비해 유의하게 높았다 ($p=0.0225$).
3. P53 단백질은 유두상 암종 8예 중 7예 (87.5%), 양성 유두종 30예 중 9예 (30.0%)에서 발현되어 암종인 경우 발현율이 현저히 높았다 ($p=0.00541$).
4. 양성 유두종에서 단일성 유두종과 다발성 유두종의 cyclin D1, MIB-1, p53 단백 발현율의 차이가 없었다.
5. C-erb-B2는 양성 유두종과 유두상 암종 모두에서 발현되지 않았다.

결론적으로 유두상 암종에서 양성 유두종에 비해 cyclin D1, MIB-1, p53 단백 발현이 모두 유의하게 높았으므로 이들에 대한 면역조직화학염색이 조직학적으로 감별이 어려운 유두상 암종과 양성 유두종의 감별에 있어 부수적으로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Carter D: Intraductal papillary tumors of the breast: a study of 76 cases. *Cancer* 39: 1689-1962, 1979
2. Foote FW Jr, Stewart FW: A histologic classification of carcinoma of the breast. *Surgery* 19: 74-99, 1946
3. Rosen PP: *Rosen's Breast Pathology*. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven; 341-354, 1997

4. Buhl-Jorgesen SE, Fischermann K, Johansen H, Peterson B: Cancer risk in intraductal papilloma and papillomatosis. *Surg Gynecol Obstet* 127: 307-313, 1968
5. Rosen PP, Oberman HA: Invasive carcinoma. In: *Tumors of the Mammary Gland*. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology; 157-257, 1992
6. Landberg G, Roos G: The cell cycle in breast cancer. *APMIS* 105: 575-589, 1997
7. Sherr CJ: Cancer cell cycles. *Science* 274: 1672-1677, 1996
8. Saddik M, Lai R, Medeiros LJ, McCourt A, Brynes RK: Differential expression of cyclin D1 in breast papillary carcinomas and benign papillomas. An immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med* 123: 152-156, 1999
9. Weinstat-Saslow D, Merino MJ, Manrow RE, et al: Overexpression of cyclin D1 mRNA distinguishes invasive and in situ breast carcinomas from non-malignant lesions. *Nat Med* 1: 1257-1260, 1996
10. Weikel W, Beck T, Mitze M, Knapstein PG: Immunohistochemical evaluation of growth fractions in human breast cancer using monoclonal antibody Ki-67. *Breast Cancer Res Treat* 18: 149-154, 1991
11. Levine AJ, Momand J, Finlay CA: The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 320: 84-85, 1986
12. Chang HK, Lee CH, Huh MH: Expression of p53, bcl-2 proteins and estrogen receptors in human breast cancer. *Korean J Pathol* 1996;30:662-70
13. Jeon HB, Loo BH, Chae YS: Relation between p53 overexpression and established prognostic factors in breast cancer. *J Korean Surg* 48: 648-660, 1995
14. Cattoretti G, Rilke F, Andreola S, D'Amato L, Delia D: p53 expression in breast cancer. *Int J Cancer* 41: 178-183, 1988
15. Barbareschi M, Leonardi E, Mauri FA, Serio G, Palma PD: p53 and c-erbB-2 protein expression in breast carcinomas. *Am J Clin Pathol* 98: 408-418, 1992
16. Wright C, Nicholson S, Angus B, et al: Relationship between c-erbB-2 protein product expression and response to endocrine therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 65: 118-121, 1992
17. Bacus SS, Ruby SG, Weinberg DS, et al: HER-2/neu oncogene expression and proliferation in breast cancer. *Am J Pathol* 137: 103-111, 1990
18. Van De Vijver MJ, Peterse JL, Moot WJ, et al: Neu-protein overexpression in breast cancer. *N Engl J Med* 319: 1239-1245, 1988
19. Moross T, Lang AP, Mahoney L: Tubular adenoma of breast. *Arch Pathol Lab Med* 107: 84-86, 1983
20. Rosen PP, Oberman HA: Benign epithelial lesions. In: *Tumors of the Mammary Gland*. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology; 72-78, 1992
21. Kraus FT, Neubecker RD: The differential diagnosis of papillary tumors of the breast. *Cancer* 15: 444-455, 1962
22. Rosen PP: Arthur Purdy Stout and papilloma of the breast. Comments on the occasion of his 100th birth day. *Am J*

- Surg Pathol 10(Suppl 1): 100-107, 1986
23. Lewison EF, Lyons JG Jr: Relationship between benign breast disease and cancer. Arch Surg 66: 94-114, 1953
24. Stout AP, Phillips JS: The papillary neoplasm of the breast. Benign intraductal papilloma. Ann Surg 133: 18-36, 1951
25. Snyder WH, Chaffin L: Main duct papilloma of the breast. Arch Surg 70: 680-685, 1955
26. O'Hara MF, Page DL: Adenomas of the breast and ectopic breast under lactational influences. Hum Pathol 16: 707-713, 1985
27. Lukas J, Pngano M, Staskova Z, Draetta G, Bartek J: Cyclin D1 protein oscillates and is essential for cell cycle progression in tumor cell lines. Oncogene 9: 707-718, 1994
28. Bates S, Peter G: Cyclin D1 as a cellular proto-oncogene: Cancer Biol 6:73-82, 1995
29. Kim DH, Nam ES, Shin HS, et al: Cyclin D1 expression in 101 cases of breast carcinoma. Korean J Pathol 32: 266-272, 1998
30. Bartkova J, Lukas J, Muller H, Lutzhoft D, Strauss M, Bartek J: Cyclin D1 expression and function in human breast cancer. Int J Cancer 57: 353-761, 1994
31. Zhang SY, Caamano J, Cooper F, Guo X, Klein-Szanto AJ: Immunohistochemistry of cyclin D1 in human breast cancer. Am J Clin Pathol 102: 695-698, 1994
32. Zukerberg LR, Yang WI, Gadd M, et al: Cyclin D1(PRAD1) protein expression in breast cancer: approximately one-third of infiltrating mammary carcinomas show overexpression of the cyclin D1 oncogene. Mod Pathol 8: 560-567, 1995
33. van Diest PJ, Michalides RJ, Jannink L, et al: Cyclin D1 expression in invasive breast cancer. Correlations and prognostic value. Am J Pathol 150: 705-711, 1997
34. Michalides R, Hageman P, van Tinteren H, Weintjens E, Klopemaker R, Peterse J: A clinicopathological study on overexpression of cyclin D1 and of p53 in a series of 248 patients with operable breast cancer. Br J Cancer 73: 728-734, 1996
35. Gillett C, Smith P, Gregory W, et al: Cyclin D1 and prognosis in human breast cancer. Int J Cancer(Pred Oncol) 69: 92-99, 1996
36. Sutherland RL, Watts CKW, Musgrove EA: Cyclin gene expression and growth control in normal and neoplastic human breast epithelium. J Steroid Biochem Mol Biol 47: 1-6, 1993
37. Kenny FS, Hui R, Musgrove EA, Gee JMW, Blamey RW, Nicholson RI, Sutherland RL, Robertson JFR: Overexpression of cyclin D1 messenger RNA predicts for poor prognosis in estrogen receptor-positive breast cancer. Clin Cancer Res 5: 2069-2076, 1999
38. Sjöström J, Blomqvist C, Heikkilä P, Boguslawski KV, Räsänen-Sokolowski A, Bengtsson NO, et al: Predictive value of p53, mdm-2, p21, and mib-1 for chemotherapy response in advanced breast cancer. Clin Cancer Res 6(8): 3103-3110, 2000
39. Bodrug SE, Warner BJ, Bath ML, Lindermna GJ, Harris AW, Adams JM: Cyclin D1 transgene impedes lymphocyte maturation and collaborates in lymphomagenesis with the myc gene. EMBO J. 13: 2124-2130, 1994
40. Wakasugi E, Kobayashi T, Tamaki Y, et al: Analysis of phosphorylation of pRb and its regulatory proteins in breast cancer. J Clin Pathol 50: 407-412, 1997
41. Chen X, Bargonetti J, Prives C: p53, through p21(WAF1/CIP1) induces cyclin-D1 synthesis. Cancer Res 55: 4257-4263, 1995
42. Marks JR, Humphrey PA, Wu K, et al: Overexpression of p53 and HER-2/neu proteins as prognostic markers in early stage breast cancer. Ann Surg 219: 332-341, 1994
43. Davidoff AM, Herdon II JE, Glover NS, et al: Relation between p53 overexpression and established prognostic factors in breast cancer. Surgery 110: 259-264, 1991
44. Feeney DH, Torrance GW, Goldsmith GH, Fulong W, and Boyle MH: multi-attribute approach to population health status, Proceedings of 153rd annual meeting of the American Statistical Association, session 180, Measuring Health Status: Survey-Based Approaches, San Francisco, August 10, 1993
45. Leal C, Costa A, Fonseca D, Lopes P, Bento MJ, Lopes C: Intracystic(encysted) papillary carcinoma of the breast: A clinical, pathological, and immunohistochemical study. Hum Pathol 29: 1097-1104, 1998