

유방의 침윤성 관암종에서 Anaphase-promoting Complex의 발현과 예후 인자와의 관계

엄민섭 · 박광화 · 이광길 · 이상엽
강엽² · 정순희

연세대학교 원주의과대학 병리학교실
관동대학교 의과대학 병리학교실
³아주대학교 의과대학 의과학연구소

Relationship between Expression of Anaphase-promoting Complex and Prognostic Factors in Invasive Ductal Carcinoma of Breast

Minseob Eom, Kwang Hwa Park, Kwang Gil Lee, Sang Yeop Yi¹, Yup Kang² and Soon-Hee Jung

Department of Pathology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju, Korea;
¹Department of Pathology, College of Medicine, Kwandong University, Kangnung, Korea;
²Institute for Medical Science, School of Medicine, Ajou University, Suwon, Korea

Background : The role of the anaphase-promoting complex (APC) is to promote the degradation of mitotic cyclins and other substrates involved in sister chromatid adhesions. The APC appears to be responsible for the degradation of cyclin B and may have a potential role in the loss of control concerning cell proliferation in mammalian cells. However, a direct link between the defects in the APC components and oncogenesis has not been established. This study investigates the relationship between APC expression and variable prognostic factors in invasive ductal carcinoma of the breast. **Methods :** We evaluated 108 cases of invasive ductal carcinoma surgically resected from January, 1996 to May, 2000 at Wonju Christian Hospital, Wonju College of Medicine, Yonsei University. Immunohistochemical stains for APC, estrogen receptor, and Ki-67 were done in paraffin sections using the avidin-biotin complex method. The results were compared with clinical and pathologic parameters and flow cytometric DNA analysis factors. **Results :** Forty cases (37.0%) showed immunopositive reactions for APC. The APC positivity in histologic grades 1, 2, and 3 were 28 cases (84.4%), 33 cases (60.0%), and 7 cases (35.0%), respectively ($p=0.0011$). The APC expressions in cases with the number of mitosis of less than 10, 10-19, and more than 20 per 10 high power fields, were noted in 37 cases (75.5%), 26 cases (63.4%), and 5 cases (27.8%), respectively ($p=0.0016$). The mean value of the Ki-67 labeling index was 221.7 in the APC-positive group and 317.9 in the APC-negative group ($p=0.0091$). DNA flow cytometric analysis revealed higher APC expressions in cases with diploid patterns ($p=0.0095$). The APC expression rate increased significantly with decreasing histologic grade, with decreasing mitotic activity, in cases with a low Ki-67 labeling index, and those in the diploid group ($p<0.05$). The APC expression was not statistically correlated with clinical stage, tumor size, and estrogen receptor status. **Conclusions :** These findings suggest that positive APC expression may be considered as a good prognostic factor of invasive ductal carcinoma, and loss of APC expression may be related with the progression of breast cancer.

Key Words : Carcinoma, Infiltrating duct-Anaphase promoting complex-Cell cycle-Ploidies

접 수 : 2002년 10월 24일
게재승인 : 2003년 1월 14일

책임저자 : 정 순 희
우 220-701 강원도 원주시 일산동 162
연세대학교 원주의과대학 병리학교실
전화: 033-741-1551
Fax: 033-731-6590
E-mail: soonheej@wonju.yonsei.ac.kr

유핵세포의 세포분열은 세포주기를 통해서 이루어지는데, 세포분열에서 나온 세포는 1차 성장기(G1기), DNA 합성기(S기), 2차 성장기(G2기)와 유사분열기(M기)에 들어간 후 두 개의 딸세포로 나뉘게 된다.^{1,2} 이러한 세포주기의 진행은 각각 세포주기에 특이한 cyclin과 cyclin 의존 단백질 활성효소 (cyclin-

dependent protein kinase, CDK)에 의해서 조절된다.¹⁻³ Anaphase-promoting complex(APC)는 11개의 아형으로 이루어진 복합단백질로서 효모의 세포분열 돌연변이주로부터 그 존재가 확인되었고,^{2,3} 척추동물에서도 이에 대응하는 구조가 존재한다는 사실이 밝혀졌다.³ APC는 유사분열기 중 중기에서 후기로

의 진행을 촉진시켜 결과적으로 세포가 유사분열을 마치고 세포 주기를 나와서 두 개의 같은 DNA를 가지는 딸세포로 나뉘기도 한다.¹⁴ 따라서 APC는 세포주기 중 G2M기 동안 농도가 가장 높다.⁴ APC의 기질들이 정확한 시간에 파괴되고 합성되는 과정은 세포주기 동안 APC의 다른 기능인 ubiquitin 연결 효소의 활성화에 의해 조절된다.^{5,6} APC는 유사분열기 동안 계속 활성화 상태로 있고 성장기에도 대부분 활성화되어 있다. 1차 성장기와 DNA 합성기의 변환점에서 급격히 감소한다.^{6,7}

유사분열기 중 중기에서 후기로의 진행은 먼저 후기 억제제인 securin의 ubiquitination 과정에 의해서 시작되는데,^{4,5} securin의 파괴와 동시에 separin이 활성화된다. Separin은 염색체의 응집 복합체 중 하나의 아형을 잘라 내어 결과적으로 염색분체 응집력의 소실이 일어나고, 염색체 분리와 동시에 후기가 시작된다.^{5,8} 이 과정 중 APC에 이상이 생기면 잘못된 염색체 분리로 인해 비배수형(aneuploidy)이 발생할 수 있을 것으로 생각된다. 비배수형은 인체의 여러 암종에서 발견되고,^{9,10} 또한 유방암에서도 비배수형은 불량한 예후와 관련이 있는 것으로 알려져 있다.¹¹

침윤성 관암종은 전체 유방암의 약 65-80%를 차지한다.¹² 지금까지 알려져 있는 유방암의 예후 인자는 크게 임상적 인자와 병리학적 인자로 나눌 수 있는데, 임상적으로는 The American Joint Committee on Cancer Staging에 따른 임상병기가 예후와 관계가 있는 것으로 알려져 있다.¹³ 유방암의 예후와 관련 있는 병리학적 인자들을 보면 원격전이와 있는 경우가 가장 예후가 나쁘다. 원격전이가 없는 경우 예후에 영향을 미치는 인자로는 림프절 전이, 국소적으로 진행된 병변(피부나 수의근 침범), 종양의 크기, 조직학적 유형, 조직학적 등급,¹⁴ 여성호르몬 수용체의 유무, 종양세포의 림프관 또는 혈관 침범, 증식지수, 유세포 측정기의 결과 중 DNA 함량, 혈관 형성 정도와 종양 단백질 분해효소의 양 등이 있다.^{11,15}

이와 같이 여러 가지 예후 인자가 침윤성 유방암에서 연구되어 왔지만, 종양세포의 증식을 억제하는 유전자로 작용할 가능성이 있는 APC가 유방암을 포함한 인체의 암조직에서 어떻게 발현하는지에 관한 연구는 아직까지 보고된 바 없다. 따라서 본 연구는 유방의 침윤성 관암종에서 이미 알려져 있는 임상적 그리고 병리학적 예후 인자들과 APC의 발현을 비교함으로써, 임상 및 병리학적 예후 인자와 어떤 연관성이 있는지 알아보려고 하였다.

재료와 방법

재료

1996년 1월부터 2000년 5월까지 연세대학교 원주의과대학 부속 원주기독병원에서 침윤성 관암종으로 병리학적 진단을 받고 외과적으로 종괴나 유방절제술을 시행 받은 여성 환자 108예를 대상으로 하였다.

방법

임상정보

환자의 임상기록지와 병리진단지를 검토하여 환자의 연령, 성별, 종양의 위치, 임상병기를 조사하고 AJCC 기준에 따라 임상병기를 재검토하고 다시 분류하였다.

병리조직학적 검색

파라핀 포매 조직을 5 μ m 두께로 박절하고 헤마톡실린-에오신으로 염색된 슬라이드를 광학현미경으로 검색하여 병리진단을 확인하고, 그 중 가장 적합한 슬라이드를 선택하여 Bloom 등¹⁴에 의한 조직학적 등급을 기준으로 하여 관형성 정도, 핵등급과 유사분열수를 검토하였으며, 이를 통합한 조직학적 등급을 판정하였다.

면역조직화학염색

APC에 대한 면역조직화학염색의 일차항체(아주대학교 의과학연구소 강영 교수 제공)는 1:50으로 희석하여 사용하였고, Ki-67에 대한 일차항체는 rabbit anti-human Ki-67 (DAKO, Copenhagen, Denmark)을 1:50으로 희석하여 사용하였다. 에스트로겐 수용체에 대한 일차 항체는 ER (Novocastra, Newcastle, U. K.)을 1:50으로 희석하여 사용하였다. 면역조직화학염색은 포르말린에 고정된 파라핀 포매 조직을 5 μ m로 박절하여 코팅 슬라이드에 부착시키고 50°C에서 2시간 건조시켰다. 자일렌으로 10분간 3회에 걸쳐 파라핀을 제거하고 단계적으로 알코올에 처리하여 합수시킨 후 증류수를 사용하여 세척하였다. 항원성 회복을 위해 pH 6.0의 구연산 완충액에 슬라이드를 담근 후 마이크로웨이브 오븐에서 15분간 전처치를 시행하였다. 내인성 과산화효소의 활성화를 억제하기 위하여 0.3% 과산화수소 용액에서 20분간 처리 후 트리스 완충액을 사용하여 3회에 걸쳐 세척하였다. 이후 일차항체를 도포하여 냉장고에서 하룻밤 동안 배양 세척 후, 바이오틴이 결합된 이차항체에 20분 배양과 세척, streptavidin peroxidase에 20분간 배양하였다. 세척과정을 거친 후 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC)로 발색하고, 헤마톡실린으로 대조 염색한 다음 글리세롤로 봉합하였다.

APC에 대한 면역조직화학염색 결과의 판정은 광학현미경상 종양세포의 핵에 적갈색으로 염색되는 것을 원칙으로 하였다. APC 발현도는 크게 염색 강도와 염색된 세포의 백분율로 분리하여, 염색 강도는 염색되지 않은 경우 0점, 염색 강도가 약한 경우 1점, 중등도인 경우 2점, 그리고 강한 경우 3점으로 점수화하고, 염색된 세포의 백분율은 염색된 종양세포의 백분율에 따라 0%는 0점, 25% 미만은 1점, 25% 이상 50% 미만은 2점, 그리고 50% 이상은 3점으로 나누었다. 염색 강도와 염색 범위의 점수를 합산한 후, 점수가 0점부터 2점까지는 음성으로, 3점 이상인 경우는 양성으로 최종 판독하였다.

광학현미경 400배의 고배율 시야에서 Ki-67에 대한 면역조직화학 염색이 가장 강하게 된 부위를 다섯 군데 이상 관찰하여

최소한 1,000개 이상의 종양세포를 세어서 종양세포의 핵에 양성 반응을 보인 세포의 평균 개수에 대한 친분율을 Ki-67 표지 지수로 정의하였다. 에스트로겐 수용체에 대한 면역조직화학 염색 결과의 판정은 광학현미경 400배의 고배율 시야에서 대조염색과 비교하여 종양세포의 핵에 미만성으로 강하게 염색된 경우에 양성으로 판독하였다.

유세포 측정기를 이용한 세포주기 분석

연구 대상 108예의 파라핀 포매 조직으로부터 50 μm 두께의 절편을 2-3개 얻은 다음, 자일렌, 100% 알코올, 95% 알코올로 각각 30분씩 2회, 80% 알코올, 70% 알코올, 50% 알코올로 각각 30분씩 1회 부란시킨 후 하룻밤 냉장 보관하였다. 페트리 접시에 조직을 놓고 인산완충액을 적당량 가하며 메스로 잘게 자른 다음 혼합하여 원침하였다. 이후 0.5% 펄신을 분주하여 혼합한 후 수조기에 30분간 부란시켰다. 펄신의 작용을 정지시킨 후 원침하여 침전물에 인산완충액을 가하고 잠시 실온에 방치하였다. 나일론 망으로 2회 여과하고 1-2×10⁶/mL로 세포 수를 조정된 후 500 μL를 취하였다. Cycle TEST PLUS DNA reagent kit (Becton Dickinson, Ontario, Canada)를 이용하여 반응시킨 다음, FAC-scan (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)을 이용하여 DNA 배수성 양성, 합성기 분획, G2M기 백분율과 증식지수를 분석하였다.

통계학적 분석

SPSS프로그램을 이용하고 χ^2 검정법과 t-검정법을 사용하여 APC의 발현 정도와 임상 병기, 조직학적 등급 등의 예후 인

자와 상관관계를 조사하였다. APC의 발현과 유세포 측정기의 결과 중 DNA 배수성 양성, 합성기 분획, G2M기 백분율, 증식 지수와의 관련성을 비교하였다. 통계값은 p 값이 0.05 미만일 때 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

임상 소견

총 108예 환자의 진단 당시 연령은 24세부터 81세였으며 평균 연령은 47.5세였다. 연령별로는 20대가 5예, 30대가 20예, 40대가 42예, 50대가 23예, 60대가 15예, 70-80대가 3예로, 40대가 가장 많았다. 종양의 크기는 최장 직경 5 cm 미만이 81예(75.0%)였고, 5 cm 이상이 27예(25.0%)였다. 림프절 전이가 있는 경우가 47예(43.5%)였고 전이가 없는 경우는 61예(56.5%)였다. AJCC의 기준에 따른 병기 I은 19예(17.6%), 병기 IIA와 IIB는 65예(60.2%), 그리고 병기 IIIA와 IIIB는 24예(22.2%)로 임상병기 II인 경우가 가장 많았다.

병리학적 소견

총 108예 모두 침윤성 관암중이었고(Fig. 1), 조직학적 등급에서 핵 등급은 1등급이 6예(5.6%), 2등급이 87예(80.6%), 그리고 3등급이 15예(13.8%)로 2등급이 가장 많았다. 유사분열수는 열 군데의 고배율 시야당 10개 미만인 경우가 49예(45.4%), 10개 이상 20개 미만인 경우가 41예(37.9%), 그리고 20개 이상인 경우

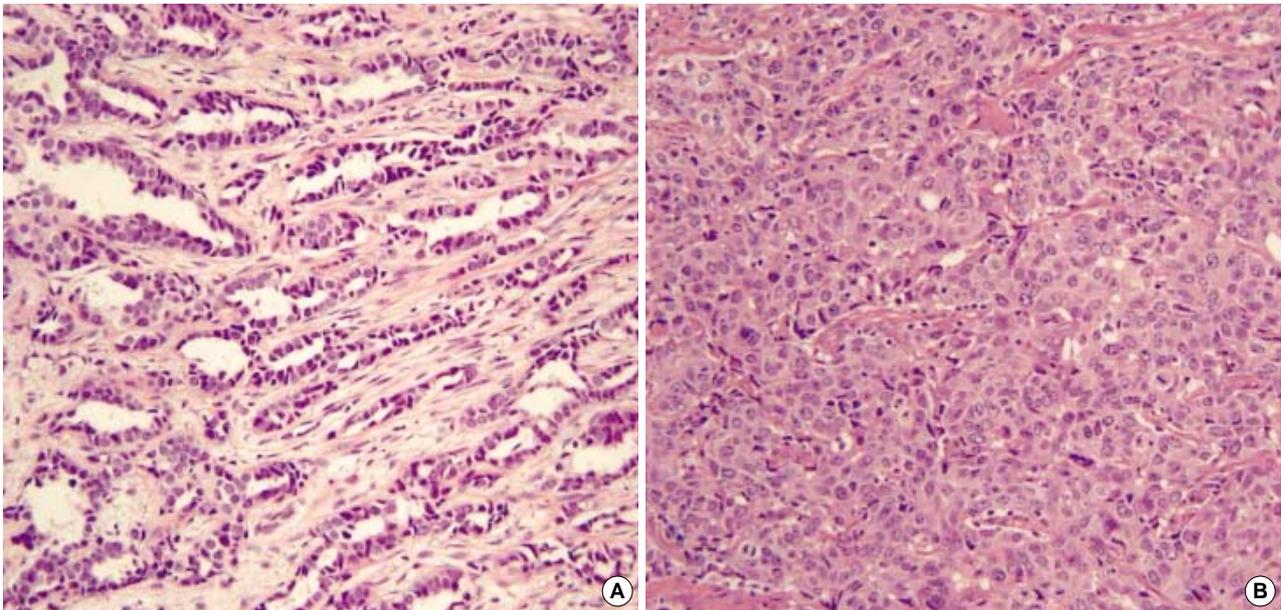


Fig. 1. Histopathologic findings of invasive ductal carcinoma. (A) A caes of histologic grade 1 tumor shows well-formed tubules, bland looking nuclei, and few mitoses. (B) A case of histologic grade 3 tumor shows solid growth pattern marked nuclear pleomorphism and numerous mitoses.

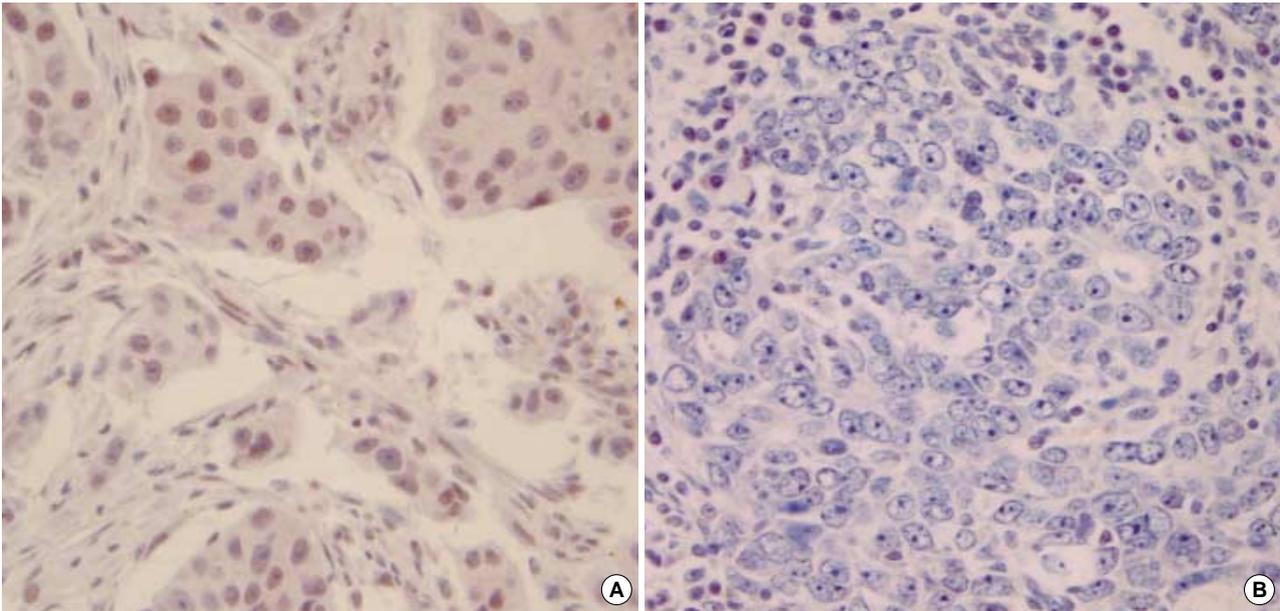


Fig. 2. Immunohistochemical findings for APC. (A) A case of invasive ductal carcinoma, histologic grade 2 shows nuclear positivity for APC. (B) A case of invasive ductal carcinoma, histologic grade 3 shows negativity for APC.

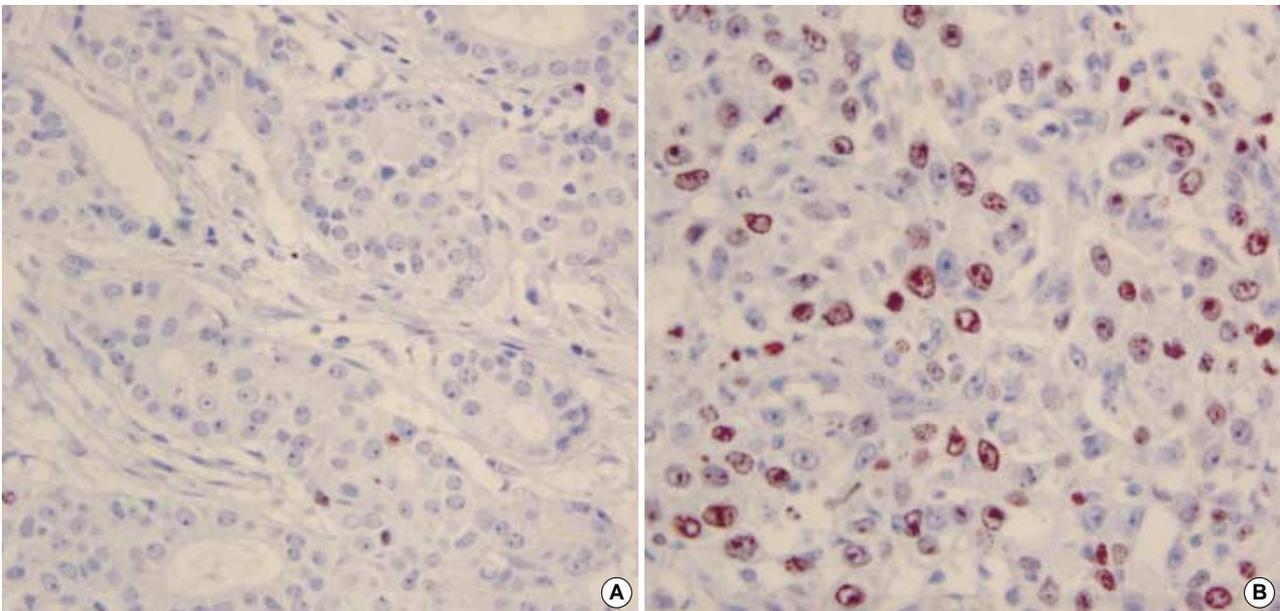


Fig. 3. Immunohistochemical findings for Ki-67. (A) A case of invasive ductal carcinoma, histologic grade 1 shows low labeling index for Ki-67. (B) A case of invasive ductal carcinoma, histologic grade 3 shows high labeling index for Ki-67.

가 18예(16.7%)로 10개 미만인 경우가 가장 많았다. 이들과 관형성 정도를 합친 조직학적 등급은 I 등급이 33예(30.6%), II 등급이 55예(50.9%), 그리고 III 등급인 경우가 20예(18.5%)로 II 등급이 가장 많았다.

면역조직화학염색 결과

APC에 대한 면역염색에서 APC 양성인 경우는 40예

(37.0%)이고 음성은 68예(63.0%)였다(Fig. 2). Ki-67에 대한 염색은 총 104예에서 시행되었는데 표지지수 최분율이 40에서 최고 610이었고, 평균값은 255.0이었다(Fig. 3). 에스트로겐 수용체에 대한 염색은 총 102예에서 시행하였는데, 양성인 경우와 음성인 경우가 동일하게 각각 51예(50.0%)였다.

총 108예 중 종양의 크기가 5 cm 미만인 경우 APC 양성인 51예(63.0%), 5 cm 이상인 경우 APC 양성인 17예(63.0%)로서 차이가 없었다. 총 108예 중 림프절 전이가 없고 APC 양성

Table 1. Relationship between APC expression and prognostic factors

Prognostic factors	No. of cases	APC expression		p-value
		Positive (%)	Negative (%)	
Clinical stage	I	19	15 (78.9)	>0.05
	II	65	39 (60.0)	
	III	24	14 (58.3)	
Nuclear grade	1	6	6 (100.0)	>0.05
	2	87	57 (65.5)	
	3	15	5 (33.3)	
Number of mitosis (/10 HPF ^a)	<10	49	37 (75.5)	0.0016
	10-19	41	26 (63.4)	
	≥20	18	5 (27.8)	
Histologic grade	1	33	28 (84.8)	0.0011
	2	55	33 (60.0)	
	3	20	7 (35.0)	
Estrogen receptor	Positive	51	36 (70.6)	>0.05
	Negative	51	27 (52.9)	
DNA ploidy pattern	Diploidy	17	16 (94.1)	0.0095
	Aneuploidy	77	44 (57.1)	

^a: high power fields.

인 경우는 29예(61.7%), 림프절 전이가 있고 APC 양성인 경우는 39예(63.9%)로 림프절 전이 유무에 따른 차이는 없었으나, AJCC 기준에 따른 임상병기에서 림프절 병기 N2 (전이된 림프절이 주변조직에 의해 고정된 경우)인 경우는 4예 모두 APC 음성이었다. 총 108예 중 AJCC 기준에 따른 임상병기에서 병기 I인 경우 APC 양성은 15예(78.9%), 병기 II인 경우 39예(60.0%), 그리고 병기 III인 경우에는 14예(58.3%)로 병기가 낮을수록 APC 발현이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다 (Table 1). 총 108예 중 핵 등급이 1인 경우 APC 양성은 6예(100.0%), 핵 등급 2인 경우 57예(65.5%), 그리고 핵 등급 3인 경우 5예(33.3%)로 핵 등급이 낮을수록 APC의 발현이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다 (Table 1). 총 108예 중 유사분열수가 열 군데 고배율 시야당 10개 미만일 때 APC가 양성인 경우가 37예(75.5%), 10-19개일 때 26예(63.4%), 그리고 20개 이상일 때 5예(27.8%)로 유사분열수가 적을수록 APC의 발현이 높았고 통계학적으로 유의한 차이가 있었다(p=0.0016) (Table 1). 총 108예 중 조직학적 등급에 따른 APC 양성률은 I 등급인 경우 28예(84.4%), II 등급인 경우 33예(60.0%), 그리고 III 등급인 경우 7예(35.0%)로, 조직학적 등급이 낮을수록 APC 양성률은 높았고, 통계학적으로 유의한 차이가 있었다(p=0.0011) (Table 1). 총 102예 중 에스트로겐 수용체에 양성인 종양에서 APC 양성인 경우는 36예(76.6%), 에스트로겐 수용체에 음성인 종양에서 APC 양성인 경우는 27예(52.9%)로 에스트로겐 수용체에 양성인 경우 음성일 때보다 APC 양성률이 높았지만 통계학적 유의성은 없었다 (Table 1).

총 104예 중 APC 양성인 경우가 음성인 경우에 비해서 Ki-67 표지지수의 평균값이 각각 221.7, 317.9로, APC 양성인 경우 Ki-67 표지지수가 낮았고 통계학적 의미가 있었다(p=0.0091).

유세포 측정기에 의한 세포주기 분석 결과

총 94예에서 유세포 측정기에 의한 DNA 량 분석이 시행되었는데, 이 중 22예는 다비배수형(multiple aneuploidy)이었다. DNA 배수성 양상은 이배수형인 경우가 17예(18.1%)였고, 비배수형인 경우가 77예(81.9%)로 대부분이 비배수형이었다. 합성기 분획은 4%에서 88%까지였고, 평균값은 19.7%였다. G2M기 백분율은 0.2%에서 24.6%까지였고, 평균값은 7.3%였다. 증식지수는 3.8%에서 73.3%까지였고, 평균값은 25.4%였다. 총 94예에서 DNA 배수성 양상이 이배수형인 경우 APC 양성률이 94.1% (16/17), 비배수형인 경우 APC 양성률이 57.1% (44/77)로 이배수형인 경우는 거의 대부분 APC가 발현되었고 통계학적으로 유의한 차이가 있었다(p=0.0095) (Table 1). 총 72예 중 합성기 분획이 평균값(19.7%) 이상인 경우에 APC 양성은 18예(64.3%), 평균값 이하인 경우 APC 양성은 30예(68.2%)로 합성기 분획의 높고 낮음에 따른 APC 발현율의 차이는 없었다(p>0.05). 총 72예 중 G2M기 백분율이 평균값(7.3%) 이상인 경우에 APC 양성이 18예(62.1%), 평균값 이하인 경우에 APC 양성은 30예(69.8%)로 G2M기 백분율의 높고 낮음에 따른 APC 발현율의 차이는 없었다(p>0.05). 총 72예 중 증식지수가 평균값(25.4%) 이상인 경우에 APC 양성은 19예(67.9%), 평균값 이하인 경우 APC 양성은 29예(65.9%)로 증식지수의 높고 낮음에 따른 APC 발현율의 차이는 없었다(p>0.05).

고찰

조직학적 등급은 침윤성 유방암의 조직학적 소견뿐만 아니라 세포학적 특징까지 포함한다. 현재까지 가장 유효하게 사용되는 등급체계는 Bloom 등¹⁴이 제시한 등급체계이다. 이 등급체계에서는 유방암의 조직학적 특성을 세 가지 요소, 즉 관 형성 정도, 핵의 과염색성과 다형성, 그리고 유사분열수로 분류한 후 각각을 점수화하여 이 점수를 합친 값을 3등급으로 분류하였다. Parham 등¹⁶에 의하면 Bloom 등에 의한 조직학적 등급의 요소 중 가장 중요한 인자가 유사분열수라고 하였고, 많은 연구자들이 유사분열수에 의미가 있다고 하였다.¹⁷⁻¹⁹ 본 연구에서는 유사분열수를 Baak 등¹⁸의 기준과 같이 10군데의 광학현미경 400배 시야에서 관찰되는 유사분열수를 1-9, 10-19, 그리고 20-30으로 나누었는데, 유사분열수가 적을수록 APC의 발현이 높았고, 이는 통계학적으로 의의가 있었다. 그러나 핵 등급은 낮을수록 APC 발현이 높은 경향을 보였으나 통계학적 의의는 없었다. 이것은 일부 집단의 증례수가 매우 적었기 때문인 것으로 생각된다. 또한 조직학적 변수 세 가지를 합한 조직학적 등급이 낮을수록 APC 발현이 높아서, 조직학적 등급과 APC 발현은 통계학적으로 의미 있는 역관계가 있었다. 이는 Yoshimoto 등²⁰이 유방암의 가장 중요한 예후 인자가 임상병기보다는 조직학적 등

급이라고 주장한 의견을 고려해 볼 때, APC 발현이 조직학적 등급과 역관계가 있다는 것은 APC 발현이 있는 경우 유방암에서 좋은 예후 인자로서 의미가 있음을 암시하는 소견이라고 생각하였다.

세포분열관계 단백질 중 과라핀 포매 조직에 면역조직화학염색을 적용할 수 있는 대표적인 것이 Ki-67이다. 이는 호지킨 림프종으로부터 유래된 세포주의 핵 성분에 대한 마우스 단세포군 항체로, 세포주기 중 분열하는 세포에서 발현되며 휴지기 세포에서는 발현되지 않는다.²¹ Isola 등¹⁵에 의하면 유방암에서 Ki-67 표지지수가 유사분열수나 조직학적 등급과는 관련이 있으나, 핵의 다형성, 관 형성 정도, 림프절 전이와는 관계가 없다고 하였다. 본 연구에서도 Ki-67 표지지수가 높은 경우 유사분열수가 많아서 Isola 등¹⁵의 결과와 비슷하였는데, Ki-67 표지지수가 낮은 경우 APC 발현이 통계학적으로 유의하게 높은 소견을 보여 Ki-67 표지지수와 유사분열수가 APC의 발현과 역관계가 있음을 알 수 있었다. APC는 인간의 암종에서 연구된 바는 없지만, 정상 세포주기의 유사분열기 중 중기에서 후기로 세포주기를 진행시켜서 세포가 유사분열을 끝내고 세포주기로부터 마치게 하는 작용을 하는 것으로 알려져 있기 때문에,¹⁴ 인간의 암종에서도 세포의 증식을 억제할 것으로 예상된다. 본 연구의 결과에서도 Ki-67 표지지수가 증가할수록 APC의 발현이 억제되는 역관계가 있음을 이러한 가설을 뒷받침해 주는 소견이라고 생각하였다.

Ki-67 표지지수가 유세포 측정기의 결과 중, DNA 배수성 양상, 합성기분획, 그리고 증식지수와 비례하여 높았고, 통계학적으로도 의미가 있었다. 이는 이배수체인 경우보다 비배수체인 경우에 Ki-67 표지지수가 의미 있게 높고, 비배수체인 경우에 Ki-67 표지지수가 종양의 합성기 분획과 밀접한 연관이 있다고 보고한 Isola 등¹⁵의 의견과 일치하였다.

유방암에서 DNA 배수성 양상에 대하여서는 다양한 연구결과가 보고되었는데, 대개 이배수체나 이배수체에 가까운 경우에 비배수체에 비하여 에스트로겐 양성률이 높아서, 치료에 대한 반응이 좋거나 조직학적 등급이 낮아서 예후가 좋은 것으로 알려져 있다.²²⁻²⁴ 그러나 Rosen¹²은 진단 당시의 임상병기와 DNA 배수성 양상 사이에는 의미가 없다고 하였다. 유세포 측정기를 이용하여 DNA 배수성 양상뿐만 아니라 합성기 분획도 알 수 있는데, 이는 예후와 밀접한 연관이 있고,²⁵ Moran 등²⁶은 이배수체인 경우에 비배수체인 경우에 비하여 합성기 분획이 낮았다고 하였다. 또한 합성기 분획이 높은 경우 에스트로겐 수용체가 음성인 경우가 많았고, 유방의 침윤성 관암종의 조직학적 분화도나 핵의 분화도와 밀접한 관계가 있었다고 하였다.²⁶ Dressler 등²⁷에 의하면 합성기 분획은 림프절 전이가 있는 경우가 전이가 없는 경우보다 높다고 하였다. 또한 Batsakis 등²⁸과 Hedley 등²⁹도 DNA 배수성 양상이 이배수성이고, 낮은 합성기 분획이 침윤성 유방암에서 예후가 좋은 인자라고 하였다. 그러나 각각의 개별적인 인자로 예후를 추정하기는 어렵고, 이배수체 종양이

더 좋은 예후를 보였다는 연구도 있다.¹² 또한 Bergers 등³⁰은 유방암 1,301예에서 DNA 배수성을 분석하였는데, DNA 배수성 양상이 유방암의 다른 예후 인자에 비교하여 임상적 중요성이 적다고 하였다. 본 연구에서는 유세포 측정기를 이용한 DNA 배수성 양상이 이배수체인 경우가 비배수체인 경우에 비해서 APC의 발현이 높았는데, APC 발현이 비배수체에서 더 낮다는 사실은 APC 발현이 부족한 경우 유사분열 과정에서 염색체 분리의 장애를 일으켜 비배수체를 유발시킬 수 있는 가능성을 시사해 준다. 이는 유사분열과정에서 염색체 분리가 정확히 이루어져야 동일한 DNA 함량을 가지는 두 개의 딸세포가 만들어져 정상적 세포분열이 종결되는데, 이 과정에 APC가 염색체 분리에 매우 중요한 역할을 한다는 점을 말해주는 것이다.^{5,8} 따라서 이는 APC 발현의 이상이 염색체분리 장애에 의한 비배수체를 유발할 가능성이 있음을 뒷받침해 주는 소견이라고 생각하였다.

본 연구에서는 유방의 침윤성 관암종에서 유사분열수를 포함한 조직학적 등급이 낮을수록, Ki-67 표지지수가 낮을수록, 그리고 DNA 배수성 양상이 이배수체일 때 APC의 발현이 높았고, 이러한 예후 인자들과 APC 발현 사이에는 역관계가 있음을 알 수 있었다. 이들 결과는 정상세포주기에서 APC의 작용이 세포분열의 진행을 억제하는 작용을 할 것이라는 가설을 뒷받침해 주었다. 이번 연구에서 환자의 생존율과 APC의 발현을 직접 비교하지는 못하였지만, APC의 발현이 유방암의 좋은 예후 인자로서 의미가 있다고 생각되었다. 나아가 APC의 발현이 낮은 경우 비배수체 유발율이 높은 점으로 보아서 APC의 소실로 인해 세포분열이 안되거나 비정상적인 DNA 함량을 갖는 딸세포로 분리되어 유방암의 진행 과정에 영향을 줄 가능성이 있다고 생각되었다. 또한 본 연구에서는 APC 단백질에 대한 연구만 시행하였기 때문에, 앞으로 더 많은 증례에서 APC에 대한 DNA와 RNA 유전자의 연구를 하여 명확한 기전을 밝혀야 할 필요가 있다고 생각한다.

참고문헌

1. Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Darnell J. Molecular cell biology. 3rd ed. New York: Scientific American Books, 1995; 177-85.
2. Page AM, Hieter P. The anaphase promoting complex. Cancer Surv 1997; 29: 133-50.
3. Page AM, Hieter P. The anaphase-promoting complex: New subunits and regulators. Annu Rev Biochem 1999; 68: 583-609.
4. Zachariae W, Nasmyth K. Whose end is destruction: cell division and anaphase-promoting complex. Genes Dev 1999; 13: 2039-58.
5. Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. Annu Rev Biochem 1998; 67: 425-79.

6. Morgan DO. Regulation of the APC and the exit from mitosis. *Nat Cell Biol* 1999; 1: E47-53.
7. Fang G, Yu H, Kirschner MW. Direct binding of CDC20 protein family members activate the anaphase-promoting complex in mitosis and G1. *Mol Cell* 1998; 2: 163-71.
8. Uhlmann F, Lottspeich F, Nasmyth K. Sister-chromatid separation at anaphase onset is promoted by cleavage of cohesin subunit Scc1. *Nature* 1999; 400: 37-42.
9. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 1998; 396: 643-9.
10. Jorgensen PM, Graslund S, Betz R, Stahl S, Larsson C, Hoog C. Characterization of the human APC1, the largest subunit of the anaphase-promoting complex. *Gene* 2001; 262: 51-9.
11. Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Pathologic basis of disease*. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999; 1114-6.
12. Rosen PP. *Rosen's breast pathology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott William and Wilkins, 2001; 325-64.
13. American Joint Committee. *Breast In: AJCC cancer staging manual*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997; 171-80.
14. Bloom HJG, Richardson WW. Histologic grading and prognosis in breast cancer. *Br J Cancer* 1957; 11: 359-77.
15. Isola JJ, Helin HJ, Helle MJ, Kallioniemi OP. Evaluation of cell proliferation in breast carcinoma: Comparison of Ki-67 immunohistochemical study, DNA flow cytometric analysis, and mitotic count. *Cancer* 1990; 65: 1180-4.
16. Parham DM, Hagen N, Brown RA. Simplified method of grading primary carcinomas of the breast. *J Clin Pathol* 1992; 45: 517-20.
17. Jannink I, van Diest PJ, Baak JPA. Comparison of the prognostic value of four methods to assess mitotic activity in 186 invasive breast cancer patients: Classical and random mitotic activity assessments with correction for volume percentage of epithelium. *Hum Pathol* 1995; 26: 1086-92.
18. Baak JPA, van Diest PJ, Peterse HL. Selection of lymph node negative unfavorable premenopausal breast cancer patients for adjuvant system therapy can be done best by the mitotic activity index (MAI). *Mod Pathol* 2000; 13: 17A.
19. Robbins P, Pinder S, de Klerk N, *et al*. Histologic grading of breast carcinomas: A study of interobserver agreement. *Hum Pathol* 1995; 26: 873-9.
20. Yoshimoto M, Sakamoto G, Ohashi Y. Time dependency of the influence of prognostic factors on relapse in breast cancer. *Cancer* 1993; 72: 2993-3001.
21. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984; 133: 1710-5.
22. Bichel P, Poulsen HS, Anderson J. Estrogen receptor content and ploidy of human mammary carcinoma. *Cancer* 1982; 50: 1771-4.
23. Frierson HF, Jr. Grade and flow cytometric analysis of ploidy for infiltrating ductal carcinomas. *Hum Pathol* 1993; 24: 24-9.
24. Cook DL, Weaver DL. Comparison of DNA content, S-phase fraction, and survival between medullary and ductal carcinoma of the breast. *Am J Clin Pathol* 1995; 104: 17-22.
25. Meyer JS, Friedman E, McCrate MM, Bauer WC. Prediction of early course of breast carcinoma by thymidine labeling. *Cancer* 1983; 51: 1879-86.
26. Moran RE, Black MM, Alpert L, Straus MJ. Correlation of cell-cycle kinetics, hormone receptors, histopathology, and nodal status in human breast cancer. *Cancer* 1984; 54: 1586-90.
27. Dressler LG, Bartow SA. DNA flow cytometry in solid tumors: Practical aspects and clinical applications. *Semin Diagn Pathol* 1989; 6: 55-82.
28. Batsakis JG, Sneige N, El-Naggar AK. Flow cytometric (DNA content and S-phase fraction) analysis of breast cancer. *Cancer* 1993; 71: 2151-3.
29. Hedley DW, Clark GM, Cornelisse CJ, Killander D, Kute T, Merkel D. Consensus review of the clinical utility of DNA cytometry in carcinoma of breast. *Cytometry* 1993; 14: 482-5.
30. Bergers E, Baak JPA, van Diest PJ, *et al*. Prognostic value of DNA ploidy using flow cytometry in 1301 breast cancer patients: Results of the prospective multicenter morphometric mammary carcinoma project. *Mod Pathol* 1997; 10: 762-8.