

위선암의 Cathepsin D 발현에 대한 면역조직화학적 분석

아주대학교 의과대학 ¹외과학교실, ²병리학교실, ³경희분당차병원

한상욱¹ · 주희재² · 조용관¹ · 이경포³ · 김명욱¹

= Abstract =

Immunohistochemical Analysis of the Expression of Cathepsin D in Human Gastric Adenocarcinoma

Sang-Uk Han, M.D.¹, Hee-Jae Joo, M.D.², Yong-Kwan Cho, M.D.¹, Kyung-Po Lee³
and Myung-Wook Kim, M.D.¹

Department of ¹Surgery and ¹Pathology, Ajou University School of Medicine;
Department of ³Surgery, Kyunghee Pundang Cha General Hospital

Purpose: Cathepsin D is an acidic lysosomal proteinase involved in intracellular protein turnover. Increased levels of this enzyme have been reported to be indicators of aggressive tumor behavior in some human tumors. In gastric cancer, increased expression of cathepsin D has been reported to be an independent prognostic factor.

Materials and Methods: We used standard immunohistochemical techniques on formalin-fixed, paraffin-embedded tissues to examine the expression of the cathepsin D in fifty five gastric adenocarcinomas. And we compared these with other indicators of aggressive tumor behavior including stage of disease, tumor size, lymphatic invasion, neural invasion, Lauren classification, disease recurrence and survival.

Results: Positive granular cytoplasmic staining for cathepsin D was detected in 100% of the tumors and strongly positive staining was found in 53%. However, the intensity of the staining varied from cell to cell in the same carcinoma tissue as well as among samples. Positive staining also was seen in normal foveolar epithelial cells, parietal cells, macrophages and ganglion cells. Our results did not show any correlation between the expression of cathepsin D and other indicators of aggressive tumor behavior. But the group having more intensely stained margins showed the tendency to frequent lymphatic invasion.

Conclusion: We conclude that the results obtained using polyclonal antibodies to cathepsin D do not support the prognostic usefulness of immunohistochemical analysis of this proteinase in tumor cells in human gastric adenocarcinoma, but this study may offer some useful indicator for further pathophysiological studies on gastric adenocarcinoma.

Key Words: Cathepsin D, Gastric adenocarcinoma, Prognosis, Immunohistochemical analysis

서 론

위암의 정확한 예후 인자를 파악하는 것은 치료 방침의 결정에 있어서 중요한 부분이다. 위선암에 있어서 현재까지 알려진 예후 인자 중 가장 중요한 인자는 원발 병소의 침윤 깊이, 임파절 전이 그리고 주변장기의 침범 여부 등을 들 수 있으나 조기 위암도 약 3~10%에서 재발을 하므로(1) 보다 정확하고 독립적인 예후 인자의 발견 및 개발이 절실하다고 하겠다.

악성 종양의 침범이나 전이 과정에 관여하는 인자로서 성장 인자나 암유전자의 생산물, 단백질 분해효소(proteinase) 등이 알려져 있는데, 그 중 하나인 cathepsin D는 위를 비롯하여 다양한 조직에 분포하는 aspartic proteinase로서 정상세포의 lysosome내에서 작용한다(2). 실험적으로 밝혀진 cathepsin D의 기능으로는 세포분열을 촉진하는 기능(3)과 세포의 기질(extracellular matrix)을 용해하는 기능(4,5) 등이 알려져 있는데 이를 통해 cathepsin D가 종양의 침윤 및 전이 등에 관여할 것 이란 추측을 해볼 수 있다. 최근에는 cathepsin D의 암세포내 농도나 분포 양상이 종양의 악성 정도를 반영한다는 보고가 많고, 특히 유방암에서는 독립적인 예후 인자로서의 역할도 많이 보고 되었다.

저자들은 정상인의 위에서도 cathepsin D가 많이 발현되므로 cathepsin D는 위암의 국소 침윤이나 전이에 관여할 것으로 추측되어, 그 예후 인자로서의 가치를 평가하기 위해 55명의 위선암 조직을 대상으로 면역조직화학적 염색을 시행하였다.

대상 및 방법

1) 연구 대상

아주대학병원 외과에서 수술을 시행한 환자 중에서 94년 6월부터 수술한 위선암 환자들을 수술한 순서대로 각 병기마다 약 9명씩 55명을 선정

하였고, 이들의 Hematoxylin-eosin 염색 표본을 검토하여 파라핀 포매조직의 상태가 양호한 조직을 대상으로 하였다. 이들의 평균 나이는 54.0 ± 13.1 (평균 \pm 표준편차)세로서 26세에서 79세까지 분포 하였으며 남자는 33명, 여자는 22명이었다. 대상 환자들은 모두 위아전절제술(39명)이나 위전절제술(16명)을 시행 받았다. American Joint Committee on Cancer(AJCC, 1992)의 규정에 따라 병기를 분류하였을 때 Ia기는 9명(16.4%), Ib기는 7명(12.7%), II기는 8명(14.5%), IIIa기는 9명(16.4%), IIIb기는 10명(18.2%), IV기는 12명(21.8%)이었다.

2) 면역조직화학적 검사방법

일차 항체로는 상품화된 polyclonal rabbit anti-cathepsin D(DAKO Co., CA)를 이용하였고, 면역조직화학적 염색은 LSAB kit(DAKO Co., CA)를 이용하여 labelled streptavidin biotin방법으로 시행하였다. 조직 슬라이드는 xylene으로 탈파라핀 과정을 거친 후 ethanol로 수화하였고, 내인성 과산화 효소의 활동을 억제시키기 위해 3% H₂O₂/100% methanol액으로 처리하였다. 일차 항체는 1:300으로 희석하였으며 상온에서 20분간 반응시켰고 AEC(Aminoethylcarbazole)로 발색하여 hematoxylin으로 대조 염색하였다. 면역조직화학적 염색을 시행한 슬라이드를 광학현미경에서 검색하여 암세포에서 발현을 전혀 발견할 수 없는 경우를 음성, 10% 미만의 암세포에서 양성 발현을 보인 경우를 1+, 10%에서 50% 이내의 암세포가 양성인 경우를 2+, 50% 이상에서 양성을 보이나 약하게 발현된 경우를 3+, 50% 이상에서 양성을 보이며 강하게 발현된 경우를 4+로 정의하였다. 그리고 대상 슬라이드에서는 음성인 경우가 없어 통계처리의 편의를 위하여 1+와 2+를 약양성, 3+와 4+를 강양성으로 다시 분류하여 보았다. 양성 대조로는 강하게 발현된 대식세포로 정하였다(Fig. 1).

3) 통계처리 방법

Cathepsin D의 과발현여부와 전통적 예후인자

Fig. 1. Positive immunohistochemical staining for cathepsin D. Granular cytoplasmic staining is located along the luminal side of well differentiated carcinoma cells. Macrophages(arrow) in the stroma are heavily expressed with anticathepsin D(LSAB, ×200).

들과의 상관성의 검정은 교차표를 이용한 Chi-Square test를 시행하였고 연속적인 수치를 보인 인자들(종양의 침윤도, 병기, 임파절 전이, 분화도, Lauren 분류, 나이, 종양의 크기 등)은 Spearman 상관계수를 이용하였다. 또한 환자들의 생존율은 Kaplan-Meier법으로 산출하였으며 cathepsin D의 발현의 차이에 따른 생존율의 유의성은 log rank test로 검정하였다. 모든 통계는 p값이 0.05 이하인 경우를 유의있는 것으로 판정하였다.

결 과

대상 환자들은 조기위암은 12명(22%), 진행성 위암은 43명(78%)이었고, 분화도에 따라 고분화 위선암은 4명(7.3%), 중분화 위선암은 8명(14.5%), 저분화 위선암은 27명(49.1%), 인환세포암은 16명(29.1%)이었다. Lauren의 분류에 따르면 장형은 33명(60.0%), 미만형은 14명(25.4%), 혼합형은 8명(14.5%)이었다. 암주변의 조직에서의 임파관 침습은

17명(30.9%)에서 보였고, 신경 침습은 15명(27.3%)에서 보였다.

전체 55명의 대상 조직은 cathepsin D의 면역조직화학적 염색에 모두 양성을 보였는데 1+는 9명(16.4%), 2+는 17명(30.9%), 3+는 16명(29.1%), 4+는 13명(23.6%)였다. 이를 다시 분류하여 1+와 2+를 약양성, 3+와 4+를 강양성으로 구분하였을 때 약양성은 26명(47.3%), 강양성은 29명(52.7%)로 서로 비슷한 분포를 보였다.

면역조직화학적 염색으로 나타난 cathepsin D의 발현을 보면 정상 세포로는 위소와상피세포(foveolar epithelium), 위벽세포(parietal cell), 대식세포(macrophage), 신경절세포(ganglion cell) 등이 염색되었고 위소와상피세포의 경우 내강쪽으로 치우쳐서 약하게 염색이 되었다(Fig. 2). 그러나 위선암세포는 다양한 발현 양상을 보였는데, 종양 세포의 내강 쪽이나(Fig. 1) 기저막 쪽으로(Fig. 3) 치우쳐 염색이 되거나, 혹은 세포질내에 미만형으로 고른 분포를 보였다(Fig. 4). 통계적 의미는 찾지 못

Fig. 2. Cathepsin D in normal gastric foveolar epithelium and adenocarcinoma. Anticathepsin D is expressed along the luminal side(arrow) of normal foveolar epithelium(LSAB, $\times 200$).

Fig. 3. Cathepsin D expression in gastric adenocarcinoma. Strong immunoreaction for cathepsin D is recognized along the basement membranes of the tumor cells(LSAB, $\times 200$).

Fig. 4. Cathepsin D in gastric adenocarcinoma. Diffuse cytoplasmic expression of cathepsin D is recognized in the tumor cells(LSAB, $\times 100$).

하였지만 고분화암은 염색이 내강 쪽으로 치우치는 경향을 보였고 저분화암이나 인환세포암은 세포질내에 미만형의 분포를 보이는 경향을 보였다. 또한 55예중 43예(78.2%)에서는 암조직 전체에 같은 정도의 강도로 발현을 보인 반면, 나머지 12예(21.8%)에서는 암의 변연부위에서 다른 부위보다 더 강한 발현을 보였다(Fig. 5).

Cathepsin D의 발현정도를 약양성과 강양성으로 구분하여, 이를 여러 인자와 비교하여 보았다. 위선암을 병기, 침윤도, 임파절 전이, 원격 전이 등으로 분류하여 cathepsin D의 발현정도와 비교하였을 때 모두 의미있는 차이를 보이지 않았다(Table 1). 약양성인 경우는 평균 연령이 50.3 ± 12.8 세였고 강양성인 경우는 57.3 ± 12.6 세로 cathepsin D 발현이 강한 군의 연령이 유의하게 높았다(Table 2, $p < 0.05$). Cathepsin D 발현이 약양성으로 나온 군의 종양의 직경의 평균은 4.6 ± 2.9 cm이었고 강양성군의 평균은 5.5 ± 3.0 cm이었는데 이들 간에도 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$). 또한 위선

Fig. 5. Cathepsin D is strongly expressed at the advancing margin(arrow) of adenocarcinoma(LSAB, $\times 40$).

Table 1. Cathepsin D(CD) as compared with TNM classification in gastric adenocarcinoma

	CD weakly* positive(%)	CD strongly positive(%) [†]	P
Stage [†]			NS [§]
Ia	5(56)	4(44)	
Ib	3(43)	4(57)	
II	5(63)	3(37)	
IIIa	1(11)	8(89)	
IIIb	4(40)	6(60)	
IV	8(67)	4(33)	
Primary Tumor(T) [†]			NS
T1	5(42)	7(58)	
T2	5(83)	1(17)	
T3	11(37)	19(63)	
T4	5(71)	2(29)	
Nodal involvement(N) [†]			NS
N0	11(61)	7(39)	
N1	5(29)	12(71)	
N2	6(46)	7(54)	
N3	4(57)	3(43)	
Distant Metastasis(M)			NS
M0	23(45)	28(55)	
M1	3(75)	1(25)	

*: The term weakly means that there were positive cells less than 50%.

[†] Strongly means there were positive cells more than 50%.

^{||} The statistical analysis was performed using spearman correlation coefficient([†]) or Chi-Square test(^{||}), and the results suggest that cathepsin D expression did not significantly correlate with any parameters.

[§] not significant

암의 분화도나 Lauren 분류에 따라서 구분한 장형과 미만형 사이에서도 발현의 차이를 찾지 못하였고, 임파관 침습이나 신경 침습의 유무에 따라서도 유의한 차이를 발견할 수 없었다(Table 2). 그러나 통계학적으로 의미는 없었지만 임파관이나 신경을 침습한 종양세포들은 주변 종양세포에 비해 cathepsin D가 더 강하게 발현되는 경향을 발견할 수 있었다(Fig. 6).

Table 2. Cathepsin D(CD) as compared with other known prognostic factors in gastric adenocarcinoma

	CD weak positive(%)	CD strongly positive(%)	P
Mean age(years)*	50.3 ± 1	2.857.3 ± 12.6	0.47
Differentiation			NS [†]
Well differentiated	1(25%)	3(75%)	
Moderately differentiated	4(50%)	4(52%)	
Poorly differentiated	3(48%)	14(52%)	
Signet ring cell	8(50%)	8(50%)	
Lauren classification [§]			NS
Intestinal	16(48)	17(52)	
Diffuse	7(50)	7(50)	
Mixed	3(38)	5(62)	
Lymphatic invasion [§]			NS
No	18(47)	20(53)	
Yes	8(47)	9(53)	
Neural invasion [§]			NS
No	19(48)	21(52)	
Yes	7(47)	8(53)	

Note: The statistical analysis was performed using studentest(*), Spearman correlation coefficient([§]) or Chi-Square test(), and the results suggest that cathepsin D expression did not significantly correlate with any parameters except age.

NS*: not significant

대상 환자들을 Kaplan Meier법으로 생존율을 분석한 결과 약양성군의 평균 생존기간은 25.6개월, 강양성군의 평균 생존기간은 23.1개월이었고 log rank test로 비교한 결과 두 군 간에는 유의한 차이가 없었다(Fig. 7, p>0.05). 또한 약양성군에서는 26명중 6명(23%)이 재발을 하였고 강양성군에서는 29명중 7명(24%)이 재발을 하여 cathepsin D의 발현이 재발에 전혀 영향을 주지 못하였다.

55명의 대상 환자중 43명(77%)은 cathepsin D의 발현이 전체 암조직에서 고르게 분포하였는데 반해 나머지 12명(23%)의 조직에서는 암조직의 변연에서 다른 부위보다 더 강하게 발현되는 양상을 보였는데, 전자의 경우 9명(21%)에서 재발이 발생한 것에 비해 후자의 경우 4명(33%)이 재발

Fig. 6. Strong expression of cathepsin D is recognized at tumor emboli(arrow) in the lymphatics(LSAB, ×200).

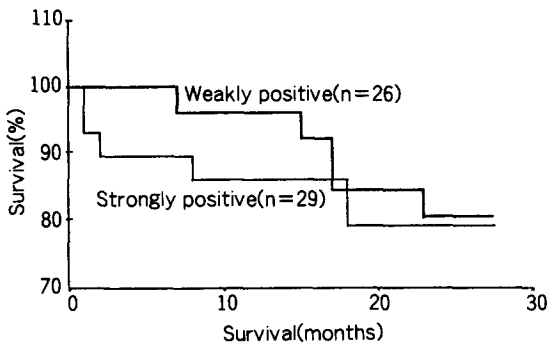


Fig. 7. Survival of patients to immunohistochemical staining for cathepsin D. No significant survival differences were found between two groups according to log rank test($p < 0.05$).

Table 3. Relationship between marginally intensely stained carcinoma cells and lymphatic invasion

Staining for cathepsin D	Lymphatic invasion(-)	Lymphatic invasion(+)
Evenly stained	33(87%)	10(59)
Marginally stained	5(13%)	7(41%)

Note: The statistical analysis was performed using Chi-Square test, and the results show the tendency to lymphatic invasion in intensely stained carcinoma cells at the margin of carcinoma tissues($p < 0.05$).

고 찰

을 하여 암조직의 변연에 더 강한 염색을 보인 군에서 재발율이 높았으나 통계적 의의는 없었다 ($p > 0.05$). 그러나 변연에서 더 강하게 염색을 보인 군에서는 임파관 침습을 더 잘하는 경향을 발견할 수 있었다(Table 3, $p < 0.05$).

Cathepsin D는 단백질분해효소로서 aspartic proteinase의 일종이다. 분자량이 52,000Da일 때는 비활성인 pro-cathepsin D로 mannose-6-phosphate 수용체와 결합하여 Golgi체로 운반된 후 endosome에 싸여 lysosome에 도달하며, 분자량이 48,000Da인 중간형태를 거쳐 분자량이 34,000Da인 최종활성화

형태로 변하는 것으로 알려져 있다(6). Cathepsin D는 pepsin, gastrin, renin 등과 유사한 분자구조를 가지고 있는데, 후자들은 각각 인체의 위나 신장 등에만 분포하는 특이성이 있으나 cathepsin D는 비장, 간, 위장관, 폐, 뇌 등 여러 장기에 분포하는데, 이렇게 넓은 분포에 대한 널리 분포하는 이유에 대해서는 밝혀지지 않았다(2). 정상 위의 점막에는 pepsinogen I, pepsinogen II, slow moving proteinase, cathepsin D 등 네가지의 aspartic proteinase가 존재하는데 이들은 각각 위의 다양한 세포에서 발현을 보이고, 위선암의 경우도 각종 암세포마다 이 aspartic proteinase에 대해 다양한 발현을 보인다고 한다(7). 비활성화 상태의 pro-cathepsin D에 대한 기능은 실험실에서 밝혀졌는데 첫째, 산성의 pH 환경에서 기저막이나 proteoglycan 등을 자가분해하는 역할이 있고(4,5), 둘째, 에스트로젠이 결핍된 MCF-7 세포주에서 mitogenic activity가 있다고 한다(3). 이러한 사실은 비록 그 기전이 밝혀지지 않았지만 cathepsin D가 종양의 침윤이나 전이에 관여함을 시사한다. Cathepsin D를 전혀 분비하지 못하는 쥐 종양 세포주에게 human procathepsin D gene을 주입하였을 때 전이 능력이 상승한다는 보고는 이를 뒷받침한다(8).

Cathepsin D의 예후 인자로서의 역할은 특히 유암에서 많이 연구되었다. 정상 유방 세포에서는 대부분의 active form cathepsin D가 lysosome에서 만들어지고 procathepsin D는 미량만 분비되지만, 유암 세포주에서는 세포질내에서 procathepsin D의 처리가 지연되어 lysosome속에서 축적되고 상당량의 procathepsin D가 분비 되는데 이 전구물질이 종양의 침윤을 촉진한다고 한다(9). 일반적으로 유암의 세포내 cathepsin D의 농도가 증가할수록 예후가 나쁘고 전이의 가능성이 높은 것으로 알려져 있으나(10,11), 면역조직화학적 염색을 하였을 때 임파절 전이가 있는 유암의 경우는 cathepsin D에 양성을 보이면 예후가 좋다는 보고도 있는 반면(12), 예후 인자로서 역할을 하지 못한다는 보고도 있다(13~15). 우리나라의 보고(16,17)도 의미있는 역할을 발견하지 못하였다.

Johnson등(18)은 유암에서 예후 인자로서의 의미는 cathepsin D에 대한 암자체의 발현보다는 주변 염증세포의 발현이 더 중요하다고 하였다.

저자들은 위선암의 cathepsin D에 대한 면역조직화학적 염색을 시행한 결과 정상세포로는 위소와상피세포, 위벽세포, 대식세포, 신경절 세포 등에서 발현됨을 관찰할 수 있었는데, Matsuo등(19)과 Saku등(20)도 같은 결과를 보고하였다. 정상 위소와상피세포에서는 cathepsin D가 대부분 내강쪽으로 치우치며 뚜렷한 점상으로 염색이 되었고, 반면에 위선암세포에서는 세포질에 전반적으로 퍼진, 보다 미세한 점상의 염색을 관찰할 수 있었다. 이는 정상 세포에서는 cathepsin D가 lysosome내에서만 존재하여 특정한 기능을 발휘하지만 암세포로 진행될수록 lysosome의 기능이 상실되어 cathepsin D의 전구물질이 세포질로 쉽게 분비되어 나타나는 현상으로 추측된다. 양성 위궤양에서도 cathepsin D의 발현이 높는데 이 때는 주로 염증세포의 침윤에 의한 것으로 설명되고 있다(21).

위암의 cathepsin D의 면역조직화학적 염색에 대한 양성율은 보고자에 따라 다르지만, 저자들의 경우 대상 조직마다 그 염색의 강도는 다양하였지만 모든 위선암의 조직에서 양성 염색을 관찰할 수 있었다. 그리고 정상 상피세포나 고분화암의 발현은 주로 내강 쪽으로 치우친 반면, 저분화암이나 인환세포암으로 갈수록 미만형으로 분포하는 경향을 발견하였는데 이는 고분화암에서는 cathepsin D가 어떤 일정한 방향성을 가지고 세포질내에서 분화된 기능을 하는 것으로 사료되며 저분화암에서는 cathepsin D가 방향성을 잃으면서 세포의 조절능력을 벗어난 기능을 하는 것으로 추측하여 볼 수 있다. Saku등(20)은 정상 위점막 세포에서 cathepsin D가 존재하다가 고분화암의 위선암이 되었을 때 cathepsin D의 발현이 사라진 후, 저분화암으로 진행될수록 다시 발현이 나타나는 현상을 관찰하여 cathepsin D가 위선암의 분화의 진행에 어떤 역할을 한다고 발표하였다.

저자들의 연구 결과를 보면 위선암의 여러 예후인자, 즉, 종양의 침윤도, 임파절 전이 여부, 원

격 전이 여부, 병기, Lauren 분류, 임파관 침습, 신경 침습 등과의 비교에서 유의한 상관관계를 찾을 수 없었다. 또한 cathepsin D의 발현도에 따른 생존율의 차이나 재발의 차이도 발견할 수 없었다. 대신에 거의 모든 인자에 대해 발현도가 고른 분포를 보이는 특징을 발견하였고 다만 나이가 증가할수록 cathepsin D의 강도가 증가하는 현상을 발견하였다. Theodoropoulos등(22)은 위선암의 면역조직화학적 염색으로 에스트로젠 수용체와 cathepsin D의 발현을 관찰한 결과, 둘 다 모두 양성인 경우에서 예후가 좋았다고 하였다. 일반적으로 유암환자들의 에스트로젠 수용체는 폐경기 이전보다는 폐경기 이후에서 그 양성율이 높는데(23), cathepsin D는 에스트로젠의 영향을 받아 발현되는 단백질이므로 에스트로젠 수용체가 양성인 경우 cathepsin D의 양성률이 높다는 보고(22)도 있으므로 위선암에서도 고령일수록 cathepsin D의 발현이 높다고 생각한다. 따라서 대상환자들의 에스트로젠 수용체의 여부에 대한 검정이 차후 필요할 것으로 사료된다.

Cathepsin D는 종양의 침윤에 관여하는 것으로 알려져 있어 위선암의 전체 부위중 정상 위조직으로의 침투 현상을 관찰할 수 있는 변연에서 중심부위보다 특히 발현이 더 강하게 된 조직을 21.8%에서 관찰할 수 있었는데 이 경우는 재발율이 높았고, 임파관 침습이 더 많이 동반되어 있었다. 따라서 저자들은 cathepsin D의 발현이 암조직의 변연에서 더 강하게 나타났을 경우 나쁜 예후를 보일 것이라는 추측을 하였다. Matsuo등(18)은 75%의 위선암 조직에서 변연에 더 강한 염색을 관찰하였는데, 특히 저분화암에서 많이 발생하였고 임파절 전이의 발생율이 더 많았으며 이들의 예후는 좋지 않았다고 한다.

결 론

Cathepsin D의 발현은 모든 위선암환자에게서 정도의 차이는 있으나 100%에서 발견할 수 있어 위선암의 진행에 있어서 어떤 역할을 할 것이라

는 추측을 할 수 있었고, 나이가 증가할수록 더 강한 발현을 보여 cathepsin D의 발현은 에스트로젠 등의 호르몬의 영향을 받고 있을 것이라는 추측을 하였다. 임상 및 병리학적인 예후 인자들과의 상관관계를 찾을 수 없었고 생존율에도 영향을 미치지 못함을 알 수 있어 위선암에 있어서 cathepsin D의 발현 양상은 예후인자로서의 의미는 없어 보인다고 사료된다. 그러나 암조직의 변연에서 더 강한 발현을 보인 환자에서 임파관 침습이 많이 동반되었고 재발율이 높았기에 cathepsin D는 위선암의 병리생리학적인 연구의 도구로서 사용될 가치가 있다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. David RF, John HD. Early gastric cancer. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 401-421.
2. Ried WA, Valler MJ, Kay J. Immunolocalization of cathepsin D in normal and neoplastic human tissues. *J Clin Pathol* 1986; 39: 1323-1330.
3. Rochefort H, Capony F, Garcia M, Cavailles V, Freiss G, Chambon M, Morisset M, Vignon F. Estrogen-induced lysosomal protease secreted by breast cancer cells: a role in carcinogenesis? *J Cell Biochem* 1987; 35: 17-29.
4. Briozzo P, Morisset M, Capony F, Rougeot C, Rochefort H. In vitro degradation of extracellular matrix with Mr 52,000 cathepsin D secreted by breast cancer cells. *Cancer Res* 1988; 48: 3688-3692.
5. Montcourrier P, Mangeat PH, Salazar G, Morisset M, Sahuquet A, Rohfort H. Cathepsin D in breast cancer cells can digest extracellular matrix in large acidic vesicles. *Cancer Res* 1990; 50: 6045-6054.
6. Morisset M, Capony F, Rochefort H: Processing and estrogen regulation of the 52-Kilodalton protein inside MCF7 breast cancer cells. *Endocrinology* 1986; 119: 2773-21.
7. Shiraishi T, Samloff IM, Taggart RT, Stemmermann GN. Slow moving proteinase in gastric cancer and its relationship to pepsinogens I and II. An immunohistochemical study. *Digestive Disease and Science* 1988; 33: 1466-1472.
8. Garcia M, Derocq D, Pujol P, Rochefort H. Overexpression of transfected cathepsin D in transformed cells increases their malignant phenotype and me-

- tastatic potency. *Oncogene* 1990; 5: 1809-1814.
9. Capony F, Rougeot C, Montcourrier P, Cavaillès V, Salazar G, Rochefort H. Increased secretion, altered processing and glycosylation of pro-cathepsin D in human mammary cancer cells. *Cancer Res* 1989; 49: 3904-3909.
 10. Thorpe SM, Rochefort H, Garcia M, Freiss G, Christensen IJ, Khalaf S, Paolucci F, Pau B, Rasmussen BB, Rose C. Association between high concentration of Mr 52,000 cathepsin D and poor prognosis in primary human breast cancer. *Cancer Res* 1989; 49: 6008-6014.
 11. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Chirgwin JM, McGuire WL. Cathepsin D and prognosis in breast cancer. *N Engl J Med* 1990; 322: 297-302.
 12. Henry JA, McCarthy AL, Angus B, Westley BR, May EB, Nicholson S, Cairns J, Harris AL, Horne CHW. Prognostic significance of the estrogen-regulated protein, cathepsin D, in breast cancer. An immunohistochemical study. *Cancer* 1990; 65: 265-271.
 13. Castiglioni T, Merino MJ, Elsner B, Lah TT, Sloane BF, Emmert-Buck MR. Immunohistochemical analysis of cathepsins D, B and L in human breast cancer. *Hum Pathol* 1994; 25: 857-862.
 14. Domagala W, Striker G, Szadowska A, Dukowicz A, Weber K, Osborn M. Cathepsin D in invasive ductal NOS breast carcinoma as defined by immunohistochemistry. No correlation with survival at 5 years. *Am J Pathol* 1992; 141: 1003-1012.
 15. Kandalaf PL, Chang KL, Ahn CW, Traweek ST, Mehta P, Battifora H. Prognostic significance of immunohistochemical analysis of cathepsin D in low-stage breast cancer. *Cancer* 1993; 71: 2756-2763.
 16. 박광화, 박병우, 이경식, 이광길. 면역조직화학적 염색에 의한 Cathepsin D의 발현과 다른 유암 예후인자와의 비교. *대한병리학회지* 1994; 28: 612-619.
 17. 한세환, 노동영, 최국진, 김진복, 이왕재, 박인애. 유암조직에서 카텡신-D의 발현과 임상병리학적 예후인자들과의 상관관계. *대한암학회지* 1993; 25: 658-663.
 18. Johnson MD, Torri JA, Lippman ME, Dickson RB. The role of cathepsin D in the invasiveness of human breast cancer cells. *Cancer Res* 1993; 53: 873-877.
 19. Matsuo K, Kobayashi I, Tsukuba T, Kiyoshima T, Ishibashi Y, Miyoshi A, Yamamoto K, Sakai H. Immunohistochemical localization of cathepsin D and E in human gastric cancer. A possible correlation with local invasive and metastatic activities of carcinoma cells. *Hum Pathol* 1996; 27: 184-190.
 20. Saku T, Sakai H, Tsuda N, Okabe H, Kato Y, Yamamoto K: Cathepsin D and E in normal, metaplastic, dysplastic, and carcinomatous gastric tissue: an immunohistochemical study. *Gut* 1990; 31: 1250-1255.
 21. Plebani M, Basso D, Rugge M, Vianello F, Di Mario F. Influence of *Helicobacter pylori* on trypsin and cathepsin D in peptic ulcer. *Digestive Disease and Science* 1995; 40: 2473-2476.
 22. Theodoropoulos GE, Lazaris ACH, Panoussopoulos D, Davaris P, Golematis BCH. Significance of estrogen receptors and cathepsin D tissue detection in gastric adenocarcinoma. *J Surg Oncol* 1995; 58: 176-183.
 23. Wittliff JL. Steroid-hormone receptors in breast cancer. *Cancer* 1984; 53: 630-643.
-