

45세 이하의 유방암환자에서 조직미세배열법을 이용한 면역조직화학적 생체표지자의 역할

순천향대학교 방사선종양학교실*, 병리학교실[†], 내과학교실[‡], 외과학교실[§]

김은석* · 최두호* · 진소영[†] · 이동화[†] · 박희숙[‡] · 이민혁[§] · 원종호[‡] · 김용호* · 이규택[‡] · 김성용[§]

목적: 45세 이하의 유방암 환자의 종양조직의 파라핀 블록을 조직미세배열법(Tissue Microarray, TMA)으로 만들어 에스트로겐 수용체(ER), 프로게스테론 수용체(PR), HER-2, COX-2 및 Survivin 등 5가지의 생체표지자의 발현상태와 상호관계, 환자의 치료 후 추적관찰 상태와 관련성을 분석하여 예후인자로서의 의의를 연구하는 데 있다.

대상 및 방법: 1994년 3월부터 2005년 8월까지 수술을 시행한 45세 이하의 유방암 환자 중에서 TMA 분석이 가능한 212명의 환자를 대상으로 하였다. 환자의 나이는 23세부터 45세까지로 중앙 나이가 39세이었으며 최소 추적관찰기간은 24개월, 중앙 추적 관찰기간은 60개월이었다. 45세 이하의 환자를 선택한 후 수술 조직표본을 찾아 HE 염색된 슬라이드를 통해 암 부위를 표시한 후 TMA 장비를 통해 미세조직배열을 만들었다. 그리고 다섯 가지 생체표지자에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하였으며 병리전문의가 판독하였다. 그리고 이 결과와 환자들의 연령, 병기, 림프절 전이, 수술방법, 다양한 약물요법과 가족력 등 여러 가지 인자와 환자의 추적 관찰 결과를 입력하여 예후인자들을 분석하였다.

결과: T 병기에 따른 환자 분포는 T1이 90명, T2가 101명으로 다수를 차지하였고 105명(49.5%)에서 액와 림프절 전이가 있었다. 모든 환자의 5년 무병 생존율과 5년 생존율은 각각 82.3%, 90.4%이었으며 36명의 환자가 국소 재발이나 원격전이가 추적 관찰기간에 발생하였고 20명은 암과 관련하여 사망하였다. ER, PR, HER-2, COX-2, 그리고 survivin의 양성 발현비율은 각각 38.2%, 45.3%, 25.9%, 41.5%와 43.4%이었으며 종양의 크기, 나이, 림프절 전이의 여부, 호르몬 수용체의 상태, 그리고 HER-2의 상태가 무병 생존기간에 대한 단변량 분석상 중요한 예후인자이었으며 생존율에 미치는 영향은 종양의 크기, 림프절의 전이, 호르몬 수용체, 그리고 HER-2의 발현이었다. COX-2나 survivin은 예후인자로서의 역할을 찾을 수 없었으나 HER-2와 COX-2가 동시에 발현되는 경우에 예후가 나쁜 경향을 관찰할 수 있었다. 다변량 분석상 오직 T-병기와 림프절의 전이 여부만이 중요한 예후 인자였고 ER은 경계의 의미가 있었다.

결론: 45세 이하의 여성 유방암 환자에서 호르몬 수용체 상태와 HER-2는 예후인자였고 COX-2와 survivin은 예후인자로서의 역할을 찾을 수 없었다.

핵심용어: 유방암, 조직미세배열법, 생체표지자

서론

한국인 여성 유방암은 최근 급격히 증가하고 있으며 젊은 여성의 비율이 다른 인종에 비해 상대적으로 높는데 아시아의 다른 나라들도 비슷한 양상을 보이고 있다.^{1,2)} 젊은 여성의 유방암은 나이 든 여성의 유방암에 비해 상대적으

로 악성도가 높고 조직학적 분화도도 나쁘고, S-분획이 높으며, 호르몬 수용체 음성의 비율이 높고, 같은 병기에서 나이가 상대적으로 많은 여성군에 비해 예후가 나쁘다.^{3,4)} 그리고 유방암은 인종에 따라 다른 특성이 있는 것으로 밝혀져 있는데 흑인은 백인보다 호르몬 수용체 음성 빈도가 높고 악성도가 높아서 같은 병기의 환자라도 흑인이 백인보다 치료 결과가 나쁜 근거가 된다고 하였으며^{5,6)} 한국인은 백인보다 HER-2의 단백질 과발현 또는 유전자 증폭이 많다고 한다.⁷⁾

현재까지 유방암의 예후인자나 치료 효과를 예측할 수 있는 종양표지자들과 생체표지자에 대한 많은 연구가 되

이 논문은 2008년 1월 16일 접수하여 2008년 2월 14일 채택되었음.
책임저자: 최두호, 삼성서울병원 방사선종양학과
Tel: 02)3410-2612, Fax: 02)3410-2619
E-mail: dohochoi@hanmail.net

어 왔으나 대부분은 증거가 불충분하여 임상에 실제로 적용하고 있는 경우는 많지 않다. 미국 임상종양학회의 2007년도 유방암에 대한 종양표지자의 사용 권고안에 의하면 호르몬 수용체(ER, PR)와 HER-2는 예후판정과 내분비치료, anti-HER-2 치료 등에 이용되는 충분한 근거가 있어 검사를 권고하고 있으나, p53이나 Catepsin D, cyclin E 등은 검사를 임상적으로 권고하기에는 근거가 충분하지 않다고 한다.⁸⁾ 그 외의 표지자로, 최근 저자들의 연구에서 수술을 시행한 환자의 병리조직을 염색하여 분석한 결과 COX-2가 예후인자로서 역할의 가능성을 보였다⁹⁾. 아포프토시스 억제 유전자 가족군의 하나인 survivin의 증가는 유방암에서는 이론의 여지가 많았으나^{10~12)} 최근의 연구 결과들은 예후에 영향을 주는 인자로서 중요성을 보여주고 있다^{13~15)}.

이러한 결과들은 대부분이 구미 선진국의 여성을 대상으로 폐경기 이후의 여성 유방암 환자가 대부분을 차지하고 있다. 서구에서는 드물지만 우리나라에서는 흔한 젊은 여성 유방암에 대한 연구는 별로 없다. 또한, 여러 가지 생물학적인 표지자에 대한 연구를 전통적인 방법으로 진행하려면 많은 시간과 노동집약적인 노력이 필요하다. 새로 개발된 조직미세배열(Tissue Microarray, TMA)법은 한 슬라이드에 많은 환자의 조직표본을 담아서 같은 조건에서 면역조직화학 염색을 시행할 수 있으므로 많은 자료를 대상으로 연구하는 데 편리하게 사용될 수 있다.

이 연구는 한국인 여성 유방암 진단 연령의 중앙값인 45세를 기준으로 하여,¹⁶⁾ 45세 이하의 한국인 여성 유방암 환자의 TMA를 만들어서 그 환자들의 치료 후 추적 검사 결과와 임상적 병리적 특성을 에스트로겐 수용체(ER), 프로게스테론 수용체(PR), HER-2뿐만 아니라 COX-2, survivin과의 관계를 연구하여 예후인자로서의 의의를 조사하는데 목적이 있다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

순천향대학교병원에서 1994년 3월부터 2005년 8월까지 45세 이하의 원발성 유방암 환자 중 수술을 시행하고 종양의 파라핀 조직이 남아있는 경우를 대상으로 하였다. 파라핀블록을 미세박절 후 H-E 염색하여 종양이 있는 것이 확인된 214명 환자의 파라핀블록에 2곳 코어를 포시하였다. 이수엠피스(주) 검사센터에 의뢰하여 조직미세배열을 하는 기계를 이용하여 2 mm 지름의 조직을 채취하여 한 개의 파라핀블록에 24명의 환자로부터 얻은 48개의 조직을 포매하여 TMA를 만들었다. TMA를 만들고 난 후 재 H-E 염

색 표본 제작을 하여 종양의 존재를 확인한 결과 한 명은 2개의 코어 모두에서 종양이 발견되지 않았고, 한 명은 이시성(metachronous) 양측 유방암의 조직이 확인되어 제외하였다. 10명은 한쪽 코어에만 종양이 있었으나 나머지 한쪽 코어로부터 정보를 얻을 수 있어 모두 212명의 자료를 분석할 수 있었다. 환자의 나이는 22~45세까지이며 나이의 중앙값은 39세이고 35세 이하가 63명으로 전체의 29.7%를 차지하였다. 수술 방법은 113명에서 변형 근치적 유방절제술을 시행하였고 19명은 단순 유방절제술이나 피부 보존 유방절제술을 시행하였으며 유방 보존수술은 78명에서 시행하였고 나머지 2명은 한쪽은 유방 보존술, 반대쪽 유방암은 변형 근치적 유방절제술을 시행하였다. 종양의 크기는 수술 후 병리적 소견을 기준으로 0.9~10 cm 사이이었으며 T 병기에 따른 분류는 T0 (DCIS) 6명(2.8%), T1 90명(42.5%), T2 101명(47.6%), T3 15명(7.1%)으로 T1과 T2가 많은 부분을 차지하였다(Table 1). 병리조직 검사상 양측성 유방암은 모두 10명이었으며 모두 침윤성 관암종(infiltrating ductal carcinoma)이었다. 편측 유방암의 조직유형은 상피내암종(ductal carcinoma in situ; DCIS)이 모두 6명이었고 수질암종(medullary carcinoma) 4명, 관상암종(tubular carcinoma) 1명, 소엽암종(lobular carcinoma) 2명, Paget disease 1명이었으며 나머지는 모두 침윤성 관암종이었다.

모든 환자에서 액와 림프절 절제술을 시행하였으며 림프절 전이가 있는 환자는 105명(49.5%)이었고 림프절 전이의 개수는 1~45개로 넓은 범위로 분포하고 있었다. 림프절의 전이가 있는 105명 중에서 1개의 전이가 있는 경우가 24명(23.1%)이었고 그다음은 3개 21명(20.2%), 2개 13명(12.5%), 4개 9명(8.7%) 순이었다. 림프절의 전이가 4개 이상인 고 위험군의 환자는 47명으로 전체 림프절 전이 환자의 44.2%를 차지하였다.

유방보존수술을 시행한 모든 환자는 수술 후 방사선치료를 시행하였으며 방사선치료는 2000년까지는 4 MV 선형가속기를 사용하였으며 2000년부터는 6 MV 선형가속기를 사용하였다. 전 유방에 5040 cGy/28 fx 치료 후 1400 cGy/7 fx boost 치료를 하였으며 액와림프절의 전이가 4개 이상일 때 림프절 부위에 5040 cGy 방사선치료를 시행하였다. 유방절제술을 시행한 경우 림프절의 전이가 4개 이상이거나 원발 병소의 크기가 5 cm 이상일 때 흉벽과 림프절의 전이 부위에 5040 cGy 치료를 시행하였다. 항암제는 치료 당시에 보편적으로 사용되는 항암제 요법(regimen)을 사용하였는데 가장 많이 사용한 항암제는 cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil (CMF) 요법으

Table 1. Characteristics of Patients with Young Breast Cancer (n=212)

Characteristics	n (%)
Age, years	
23~35	63 (29.7)
36~45	149 (70.3)
Tumor stage	
DCIS* (T0)	6 (2.8)
T1	90 (42.5)
T2	101 (47.6)
T3	15 (7.1)
Axillary lymphnode status	
0	107 (50.5)
1~3	58 (27.4)
4 or more	47 (22.1)
Surgical method	
MRM [†]	113 (53.3)
BCS [‡]	78 (36.7)
MRM+BCS	2 (1.0)
Others [§]	19 (9.0)
Chemotherapy regimen	
CMF	124 (58.5)
CAF [¶]	14 (6.6)
CEF [#]	14 (6.6)
AC-T ^{**}	14 (6.6)
Other regimen	19 (9.0)
No chemotherapy	17 (8.0)
Family history of breast cancer	
Yes	19 (9.0)
No	124 (58.5)
Unknown	69 (32.5)
Relapse-first site	
Local	5
Nodal	5
Distant metastasis ^{††}	26

*ductal carcinoma in situ, [†]modified radical mastectomy, [‡]breast conservative surgery, [§]skin sparing mastectomy or simple mastectomy, ^{||}cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil, [¶]cyclophosphamide, doxorubicin, and fluorouracil, [#]cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil, ^{**}cyclophosphamide and doxorubicin, ^{††}2 cases had simultaneous local and distant metastasis

로 124명이었으며 나머지는 cyclophosphamide, doxorubicin, and fluorouracil (CAF) 14명, cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil(CEF) 14명, cyclophosphamide and doxorubicin (AC)-taxol 14명 순서였다. 내분비 치료는 항암치료 후 ER과 PR 결과에 따라 시행하였으며 내분비 치료만 시행한 환자는 14명으로 tamoxifen 7명, toremifen 7명이었다. 1명은 경구용 항암제만 사용하였으며 3명은 항암치료나 내분비 치료를 시행하지 않았다. 유방암 가족력에 대한 조사는 모

두 143명에서 자료를 찾을 수 있었으며 19명에서 3대에 걸친 유방암 가족력에서 양성을 보여서 13.3%에서 가족력을 확인할 수 있었다.

추적관찰 기간 중 모두 36명이 재발하였는데 처음 재발한 부위는 유방 4명, 림프절의 전이 5명 국소와 원격전이가 동시에 발생한 경우가 2명이었고 원격전이가 처음 발견된 부위는 골전이 10명, 폐전이 10명, 간전이 7명, 그리고 뇌전이 2명(중복 포함) 순서이었으며, 재발 기간은 3개월부터 78개월 사이에 발생하였으며 중앙값이 26개월이고 17명이 2년 이내에 재발하였다. 2007년 8월 추적관찰 기간까지 20명이 재발 때문에 사망하였으며 3명은 국소재발 후 재수술을 시행하여 무병 상태로 지내고 있고 13명은 암을 지닌 채 생존해 있었다.

2. 방법

1) 조직미세배열(TMA) 제작

보관된 포르말린 고정 파라핀 포매 유방암 조직 중에서 45세 이하의 대상 군을 찾아서 H-E 염색 슬라이드를 재검색하고 병리전문의가 중앙 부위를 찾아 TMA를 할 곳을 2군데 표시하였다. 이 표시된 부위를 미세조직배열기를 이용하여 지름 2 mm의 원통형으로 뽑아내어서 새로운 파라핀 블록에 옮겼다. TMA block을 microtome으로 3~5 μm 두께로 박절한 후 주름을 펴주고 슬라이드에 일정 방향으로 부착시켜 건조시켰다. 이 과정은 (주)이수애피스에서 시행하였다.

제작된 조직미세배열 파라핀 블록을 4 μm의 두께로 연속 박절하여 각각의 면역조직화학적염색을 시행하고 관찰하였다.

2) 면역조직화학적염색(Immunohistochemical staining)

(1) 에스트로겐, 프로게스테론 수용체(ER, PR): 고배율 시야에서 4군데 이상을 관찰하여 종양세포의 핵에 적갈색으로 염색되는 세포의 비율에 따라 10% 이하일 때 0점, 11~25%일 때 1점, 26~50%일 때 2점, 51~75%일 때 3점, 76% 이상일 때 4점으로 나누었다. 또한, 염색강도에 따라 음성일 때 0점, 약할 때 1점, 중등도 때 2점, 강할 때 3점으로 나누었다. 양성 세포의 비율 점수와 핵 염색강도 점수의 합이 0점이면 음성, 1~3점이면 약양성, 4~5점이면 중등도 양성, 6~7점이면 강 양성으로 판정하였으며 중등도 양성 이상을 호르몬 수용체 양성군으로 분류하였다.

(2) c-erb B2 (HER-2): 판독은 종양세포의 세포막을 따라 염색되는 정도에 따라 음성은 0점, 일부 세포에서 약한 염색을 보일 때 1점, 일부 세포이지만 강한 염색일 경우 또는 대부분 세포가 중등도 염색일 경우 2점, 대부분 세포가 강한 염색일 때 3점으로 계산하여 2점 이상을 양성으로 판독하였다.

(3) COX-2: 판독은 세포질에 양성으로 염색된 세포의 비율을 0% 때 0점, 10% 미만일 때 1점, 10~50% 때 2점, 50~80% 때 3점, 80% 이상을 4점으로 계산하고, 염색강도를 음성 0점, 약 양성 1점, 중등도 양성 2점, 강 양성 3점으로 계산한 후 양성으로 염색된 종양세포의 비율점수와 염색강도 점수의 합이 0~6점일 때 COX-2 음성, 7~12점일 때 COX-2 양성으로 판독하였다.

(4) Survivin: 판독은 종양세포의 핵 또는 세포질에 염색된 경우의 비율로 계산하였다. 염색된 부위가 없거나 양성으로 염색된 부위가 5% 미만일 때 음성으로 해석하였다. 5% 이상 염색된 경우 비율에 따라 30% 미만 1점, 30~60% 중등도 2점, 60% 이상을 3점으로 표시하였으며, 통계처리를 위해 3점을 양성군으로 분류하였다.

3. 통계처리

모든 환자의 임상적, 병리적 특성, 면역조직화학염색 검사 결과 자료 및 치료 후 환자의 추적 검사 결과 등을 SPSS (Statistical Package for the Social Science) version 10에 입력하고 분석하였다. 상관관계 분석은 Pearson의 Correlation Coefficients가 사용되었고 생존 분석은 Kaplan-Meier 방법을 사용하였으며 각 군 간의 생존 비교는 log-rank test를 사용하였다. 다변량 분석을 위해서는 Cox Proportional Hazard Model을 사용하였고 p값이 0.05 이하일 때 통계적으로 의미가 있는 것으로 처리하였으며 p값이 0.05~0.1 사이에 있는 경우 경계의 의미가 있는 것으로 해석하였다.

결 과

1. 면역조직화학염색

총 212명 중 202명에서 2개의 코어에서 종양조직의 분석이 가능하였으며 10명에서는 1개의 코어에서 나온 결과만으로 자료를 분석하였다. Fig. 1은 전체 TMA 슬라이드의 면역조직화학염색 표본이다. ER, PR, HER-2 (Fig. 2), COX-2와 survivin의 양성 판독 비율은 각각 38.2%, 45.3%, 25.9%, 41.5% 및 43.4%이었다.

2. 상관관계 분석

ER과 다른 인자들과의 관계에서 나이, T 병기, 림프절의 전이뿐만 아니라 PR과는 매우 유의한 상관관계를 가지고 있으며(p=0.0000) HER-2와도 경계의 관련성을 보여주고 있으나 COX-2, survivin과는 유의한 연관성이 없었다(Table 2). PR의 경우도 T 병기(p=0.005), 나이(p=0.0000), 림프절의 전이(p=0.045)와 상관관계가 있었으며 HER-2와도 경계의 유

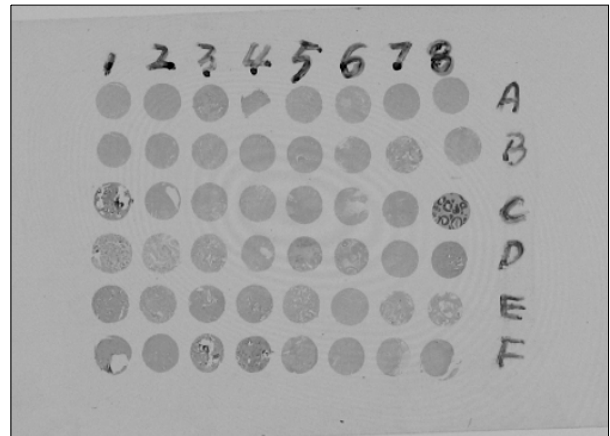


Fig. 1. Tissue microarray overview of the early-onset breast cancer (Immunohistochemistry for c-erb B2, whole mount view).

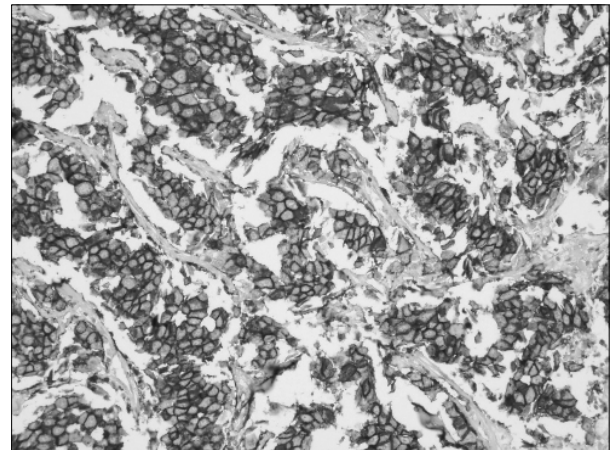


Fig. 2. Immunohistochemistry of breast cancer tissue microarray for c-erb B2. Diffuse strong positive membranous expression is seen (ABC, ×200).

Table 2. Correlation between Clinicopathologic Characteristics, Other Biomarkers and Expression of Estrogen Receptor in Young Korean Women with Breast Cancer

Characteristics	Pearson correlation	Significance (2-tailed)
T-stage	-0.157*	0.022
Age	0.256 [†]	0.000
Axillary lymphnode status	-0.147*	0.033
Progesterone receptor	0.513 [†]	0.000
HER-2	-0.133	0.053
COX-2	0.027	0.694
Survivin	0.095	0.168

*correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed), [†]correlation is significant at the 0.01 level

의성이 있었지만(p=0.064), COX-2나 survivin과는 관련성이 없었다. HER-2의 경우 T 병기(p=0.012), 림프절의 전이(p=0.024)와 유의한 상관관계를 보였고 ER, PR과도 경계의 관련성을 보였으나 COX-2, survivin과는 상관관계를 보이지 않았다. COX-2의 경우 림프절의 전이와 상관관계를 보였으나 다른 모든 예후인자와는 유의성을 보이지 않았고 survivin은 T 병기와 경계의 유의성을 지닌 상관관계가 있었으나(p=0.086) 다른 인자와의 상관관계는 없었다.

3. 예후인자

T 병기, 나이, 액와림프절의 전이 및 5개의 생체표지자와 5년 무병 생존율 및 5년 생존율을 분석하였다. 종양의 크기에 따른 T 병기는 무병 생존율과 생존율이 모두 유의한 차이를 보였다(Table 3). 림프절의 전이 여부는 가장 강력한 예후인자로서 림프절의 전이가 없는 경우, 1~3개 양성일 때, 4개 이상 전이가 있는 경우에서 각각의 5년 무병 생존율은 94.5%, 82.7%, 49.9%이었고(p=0.0000) (Fig. 3) 5년 생존율도 각각 98.0%, 93.8%, 64.6%로 유의한 차이를 보였다(p=0.0000). 45세 이하의 젊은 여성을 대상으로 한 이번 연구에서 나이를 다시 나누어 진단 당시 나이가 적은 여성(35세 이하)은 35세~45세 사이의 여성보다 5년 무병 생존율이 유의한 차이가 있었으며(p=0.0014) 5년 생존율도 경계영역의 유의한 차이가 있어(p=0.0779) 35세 미만 여성군이 예후가 나빴다(Table 3). 호르몬 수용체인 ER, PR의 발현 여부도 무병생존율과 생존율에 영향을 미치는 중요한 인자로 나타났다. 본 연구에서 HER-2의 경우 FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) 확인은 못하였으나 2+로 과발현 하였을 때 HER-2 과발현과 무병생존율은 유의한 차이가 있었다(Fig. 4). COX-2나 survivin은 과발현을 보인 환자에서 예후가 나쁜 경향을 볼 수 있었으나 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다(Fig. 5). COX-2와 HER-2가 동시에 발현하지 않은 186명 중 29명이 재발하였고 동시에 발현한 환자 26명 중 7명이 재발하여 재발 비율이 동시발현 환자에서 높았으며(15.6% vs 27%) 5년 무병생존율도 84.3% vs 71.4%로 낮았으나 동시에 양성인 환자군의 숫자가 26명으로 적어서 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다(p=0.2731) (Fig. 6).

치료 방법에 따른 치료 실패 양상을 분석한 결과 유방 보존수술을 시행한 환자의 경우 원발 병소의 크기가 유방 절제술을 시행한 경우에 비해 상대적으로 작은 경우가 많았고 예후도 상대적으로 좋았으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 항암치료나 내분비 치료에 따른 결과 분석에 의하면 내분비 치료만 시행한 경우 재발 위험이 낮고 ER 또는

Table 3. Prognostic Significance for Relapse Free and Overall Survival Rate of Selected Parameters by Univariate Analysis

Characteristics	No. of patients	5 Y RFSR [†]	p-value*	5 Y OSR [‡]	p-value
T-stage					
T0	6	100		100	
T1	90	90.7	0.0010	100	0.0138
T2	101	77.0		84.2	
T3	15	60.0		78.8	
LN status					
0	107	94.5		98.0	
1~3	61	82.7	0.0000	93.8	0.0000
4 or more	44	49.9		64.6	
Age					
23~35	63	69.8	0.0014	82.3	0.0779 [§]
36~45	149	87.7		94.3	
ER					
Negative	131	76.3	0.0062	86.8	0.0370
Positive	81	92.5		96.8	
PR					
Negative	116	76.5	0.0073	83.9	0.0056
Positive	96	89.5		98.8	
Her-2					
Negative	157	86.4	0.0107	94.4	0.0065
Positive	55	71.3		81.0	
Cox-2					
Negative	128	83.2	NS [‡]	91.1	NS
Positive	88	81.5		89.4	
Survivin					
Negative	120	83.9	NS	90.1	NS
Positive	92	80.5		91.0	
Chemotherapy					
CMF	124	87.6		94.5	
Others	71	66.5	0.0006	77.4	0.0127
No chemotherapy	19	100		100	
Surgery					
Conservative surgery	78	87.3	NS	94.3	NS
Mastectomy	134	79.4		88.2	

*log-rank test, [†]5 year relapse free survival rate, [‡]5 year overall survival rate, [§]marginally significant, [‡]not significant

PR이 양성인 경우가 많아서 예후가 가장 좋았으며, 그 이외는 주로 CMF 요법을 사용하였고 위험 인자가 많거나 림프절의 전이 개수가 많은 경우는 CMF 요법 이외의 다른 항암요법을 사용하였는데 이군에서 예후가 나빴으며 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

다변량 분석에 의한 예후인자 분석에서 ER과 PR은 correlation이 너무 높아 한 가지만 parameter로 정하고 Cox

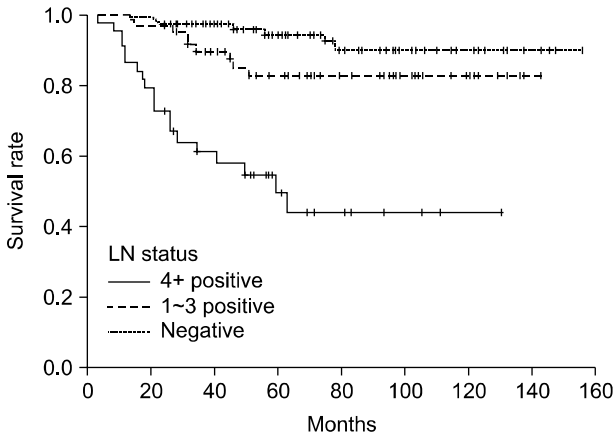


Fig. 3. Kaplan-Meier estimates for disease free survival by axillary lymph node metastatic status.

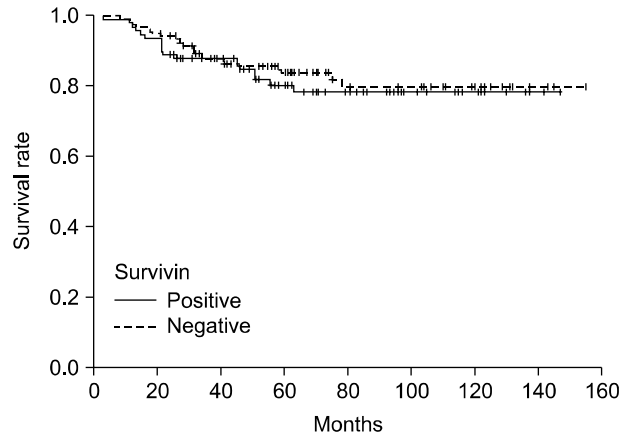


Fig. 5. Relapse free survival differences of patients dichotomized by the immunohistochemical survivin expression.

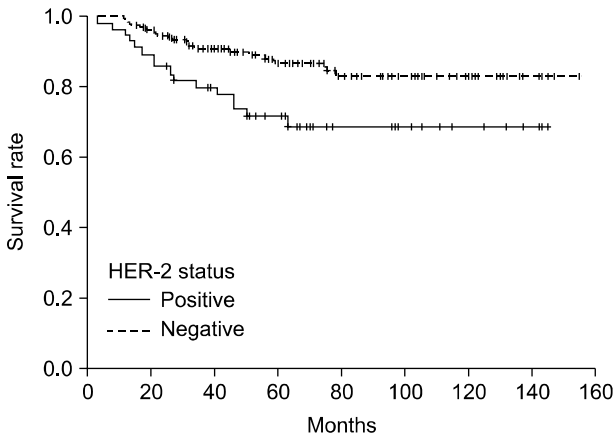


Fig. 4. Relationship between disease free survival and HER-2 status.

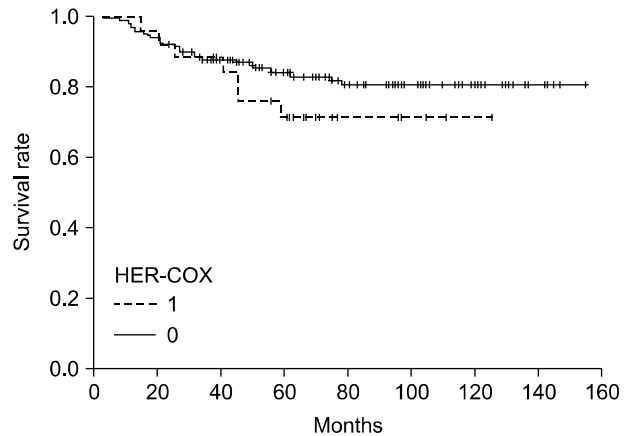


Fig. 6. Relapse free survival rate differences of patients dichotomized by coexpression of COX-2 and HER-2.

regression analysis를 시행한 결과 무병생존율에 영향을 미치는 인자는 림프절의 전이와 T 병기는 중요한 예후인자 이었고 호르몬 수용체 발현은 경계의 의미가 있었으며 생존율에 영향을 미치는 분석에서는 다변량 분석상 오직 림프절의 전이만이 유의한 차이를 보였다($p=0.0043$, 95% Confidence Interval for Exp (B)=1.357~4.796). T 병기는 경계의 유의성만 있었다($p=0.078$, Table 4).

고안 및 결론

젊은 여성 유방암 환자는 나이 든 유방암 환자보다 예후가 불량하다고 알려졌다.^{3,4)} 젊은 여성의 유방암은 종양의 분화도가 나쁘고 S-분획이 많으며 상피내암종 성분이 광범위하고 빨리 자라고 유방촬영술상 조기 발견이 상대적으로 어려우며 호르몬 수용체 음성이 많은 등 여러 가지 요

인이 예후에 나쁘게 작용하고 있다. 젊은 여성 유방암의 비율이 상대적으로 많은 우리나라의 연구 결과도 비슷하다. 박 등¹⁷⁾의 1,098명의 유방암환자를 장기 추적 관찰에 의하면 젊은 여성의 10년 무병 생존율은 57.7%로 나이 든 여성의 76.2%에 비해 유의하게 생존율이 낮았으며($p < 0.0001$) 다변량 분석상에서도 통계적으로 유의한 차이를 보인다고 하였다. 한 등¹⁸⁾에 의하면 1990년부터 1999년까지 치료한 2,040명의 유방암 환자의 후향적 분석에서도 35세 이하의 젊은 여성의 림프절 음성군에서는 유의한 차이를 보이지 않았으나 림프절의 전이가 있는 환자군에서 나이 든 여성군에 비해 예후가 매우 불량하고($p < 0.0001$) 다변량 분석에서도 젊은 연령에서 재발 가능성이 유의하게 높았다($p=0.010$). 본 연구에서도 유방암 환자의 35세 미만군이 35세 이상군에 비해 생존율이 유의하게 낮았고 ER 및 PR 음성과 상관관계가 있었으나 다변량 분석에서는 중

Table 4. Multivariate Analysis for Relapse Free Survival of Selected Parameters

Parametes	B	SE	Wald	Significance	Exp	95%CI* for Exp (B)	
						Lower	Upper
T-stage	0.670	0.287	4.754	0.029	1.872	1.065	3.288
LN status	0.970	0.239	16.552	0.000	2.639	1.653	4.213
Age	-0.517	0.348	2.212	0.137	0.596	0.301	1.179
ER	-0.834	0.468	3.178	0.075	0.434	0.174	1.086
HER-2	0.178	0.372	0.230	0.631	1.195	0.577	2.477
COX-2	0.066	0.349	0.036	0.851	1.068	0.539	2.118
Survivin	0.332	0.354	0.876	0.349	1.393	0.696	2.789

*confidence interval

오한 예후인자로 작용하지를 않았다. 그 이유는 이 연구의 대상 모두가 비교적 예후가 불량할 것으로 생각되는 45세 이하를 대상으로 했기 때문이고, 추적 관찰기간이 비교적 짧았으며(중앙 추적 기간 값 60개월, 최소 관찰기간 24개월), 35세 이하의 환자 숫자가 위에서 언급한 두 연구 결과에서 박 등¹⁷⁾은 183명, 한 등¹⁸⁾은 256명인데 비해 본 연구에서는 35세 이하의 환자가 63명으로 적었기 때문으로 생각된다. 그리고 우리나라의 여성 유방암은 20대 이하의 아주 젊은 층에서도 종종 발생하는데 최근의 연구에 의하면 20대의 여성 유방암은 30대보다 임상적 병리적 차이가 별로 없고 예후가 더 불량한 경향을 보이지만 통계적으로 유의할 정도의 차이는 아니라고 보고하고 있다.¹⁹⁾

인종에 따른 임상적, 병리적, 면역조직화학적 차이도 많은 문헌에서 보고되고 있는데,^{4,7)} 한국의 젊은 여성 유방암 환자를 대상으로 시행한 생체표지자에 대한 연구는 거의 없다. 많은 젊은 여성 유방암 환자를 대상으로 생체표지자를 이용하여 여러 가지 면역조직화학적 검사를 시행하여 예후를 밝히려는 전통적인 방법으로는 많은 시간과 노동 집약적인 노력이 필요하다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 미세조직배열법이 Kononen 등²⁰⁾에 의해 처음 개발되었다. 전통적인 방법에 의한 연구를 할 경우 이 연구는 212개의 슬라이드를 만들어 각각의 표지자에 대해 면역조직화학적 염색을 시행해야 한다. 반면에, TMA 방법으로는 모든 환자의 병리조직표본을 단지 몇 개의 슬라이드에 모두 담을 수 있다. 또한, 같은 조건하에서 진행되므로 민감도와 특이도가 높을 수 있다. 다만, 종양의 다양성 때문에 각각의 배열된 조그마한 조직 표본이 그 환자 종양의 전체를 대표하지 못할 수 있다는 한계점이 있으나 이 문제가 연구대상 예수가 충분하다면 예후인자를 분석하는데 영향을 주지 않는다고 하며,²¹⁾ 2개의 디스크 코어만으로도 전체 조직의 95% 이상을 나타낸다고 하므로²²⁾ 본 연구에서는 10명을 제외하고는 모두 한 환자로부터 두 개의 코어를

얻어 분석하였으므로 이러한 편차에 따른 오류는 적다고 생각한다.

2007년 미국 임상종양학회의 유방암 권고안에 따르면 ER과 PR은 모든 침윤성 유방암에서 검사가 시행되어야 하며 치료계획에 영향을 줄 경우 전이성 압도 측정을 고려하라고 권고하고 있다.⁸⁾ 폐경 전과 폐경 이후의 모든 환자에서 스테로이드 호르몬 수용체는 초기 유방암에서부터 전이성 암까지 내분비 치료로 효과가 있을 환자들을 확인하기 위해 그 상태를 알아야 한다. 상피내암종 환자는 임상적으로 ER, PR을 측정하는 것에 대한 근거 자료는 불충분하다. ER과 아마도 PR 양성인 종양은 예후가 좋으며 또한 내분비 치료의 반응이 좋을 것으로 예측할 수 있다.^{23,24)} ER 또는 PR이 양성일 때 할 수 있는 내분비 치료는 tamoxifen, 외과 또는 화학적 난소제거술, aromatase inhibitors (anastrozole, letrozole, exemestane)와 비가역적 ER 억제제인 fulvestrant 등이 현재 처방되고 있다. 그러나 ER과 PR의 측정, 특히 면역조직화학적 검사는 표준화가 잘되어있지 않아서 재현성과 정확도가 부족하므로 개선이 필요할 것으로 지적되고 있다.

젊은 여성 유방암 환자를 대상으로 TMA 방법에 의한 예후인자의 조사에서도 백인 또는 흑인의 예후는 호르몬 수용체 상태에 따라 영향을 받으며²⁵⁾ 우리나라 환자들을 대상으로 시행한 본 연구에서 ER, PR은 모두 중요한 예후인자로 작용하고 있다. 최근의 Bentzon 등²⁶⁾의 연구에 의하면 1989년부터 2004년까지 26,944명의 원발성 유방암 환자의 치료 후 결과 분석에서 나이가 증가함에 따라 ER의 양성 비율이 높아지며 다변량 분석에서도 ER의 양성은 예후에 좋은 영향을 미치지만 이 효과는 첫 5년에만 국한된다고 한다. 또한, ER 음성 환자의 첫 5년간 나쁜 예후인자로서의 역할은 나중에 ER 양성 환자보다 약간 우수한 잔존하는 예후로 남게 된다고 하며 이러한 결과는 5년 후 내분비치료의 지침을 설계하는데 참고해야 한다고 하였다.

Tyrosine kinase receptor HER-2는 EGFR family의 하나로 전체 유방암 환자의 20~30% 정도에서 증폭 또는 과발현되며 나쁜 예후와 관련이 되어 있어서²⁷⁾ 원발성 유방암이나 재발시 HER-2 검사를 권고하고 있는데 보조적 치료나 전이성 유방암의 치료에 anti-HER-2인 trastuzumab의 선택에 도움을 주려는 경우에 특히 필요하다. 또한, HER-2가 과발현 또는 증폭된 환자는 anthracyclin을 기반으로 한 항암제의 보조적 치료에 큰 이득을 얻는 레벨 II의 증거가 있어 임상에 이용되고 있다. 그러나 trastuzumab 치료를 하였을 때 non-anthracycline 항암치료도 같은 효과를 가지며 HER-2 상태는 내분비치료에 영향을 주지 않는다. HER-2 과발현 환자의 전이성 유방암에 대한 anti-HER-2 치료제는 현재 임상에 많이 적용되고 있으며 neoadjuvant로 쓰일 뿐만 아니라 초기유방암에서도 보존적 치료제로서도 효과가 입증되어서²⁸⁾ 일부 국가에서는 임상 적용이 권고되고 있다.

그 이외의 종양 표지자들은 연구가 되고 있으나 증거가 불충분하여 전반적으로 권고되고 있지는 않다. 최근에는 multiparameter gene expression을 이용한 분석이 연구되고 있는데 Oncotype Dx assay, Mamma Print assay, Rotterdam Signature, Breast Cancer Gene Expression Ratio 등이 연구 중이다. 우리나라 젊은 여성암의 HER-2에 대한 연구는 최 등⁵⁾에 의하면 HER-2 과발현 또는 증폭이 백인 젊은 여성 유방암 환자보다 비율이 높으며 나쁜 예후 인자로 작용한다고 한다.²⁹⁾ 다른 연구 결과는 예후에 영향을 주거나³⁰⁾ 영향이 없다고 보고하는 경우도 있었다.³¹⁾ ER, PR, HER-2 이외의 biomarker는 예후인자로서의 역할에 증거가 충분하지 못하지만 본 연구에서는 COX-2와 survivin이 젊은 여성 유방암 환자에서 예후에 영향을 미치는지 다른 연구 자료와 관련성이 있는지에 대한 연구를 시행하였다.

Cyclooxygenase-2 (COX-2)는 프로스타글란딘 세포내 산화효소로 외부의 자극에 새로 유도되고 합성되어 염증 등의 증세를 일으키며 유사분열, 세포접합, 면역체계의 감시와 세포자멸에 영향을 주어 암의 발생에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌으며 metalloproteinase 등의 합성에도 관여하고 혈관성장인자의 형성이나 미세혈관의 형성에도 관여한다고 알려졌다. 그리고 COX-2의 활성을 억제하는 아스피린 등의 비스테로이드성 소염진통제나 다른 COX-2 억제제인 celecoxib 등이 유방암의 발생을 억제한다고 알려졌다.^{32,33)} COX-2는 HER-2 양성 환자에서 과발현 되고³⁴⁾ 다른 나쁜 예후인자와도 관련이 있어서 유방암의 나쁜 예후인자 중의 하나로 밝혀지고 있다.^{35,36)} 국내에서의 연구 결과는 안 등³⁷⁾에 의하면 COX-2가 HER-2 과발현과 관계가

높으며 COX-2 자체는 예후인자가 아니나 HER-2와 같이 발현된 경우 나쁜 예후인자로 작용할 수 있다고 하였다. 본 연구 결과도 COX-2 자체가 독립된 예후인자로서의 역할을 보여주지는 못했으나 COX-2와 HER-2가 동시에 양성일 때 5년 무병생존율이 71.4%로 다른 환자군의 84.3%에 비해 예후가 나쁜 경향을 보여 주고 있다. 최근의 많은 환자를 대상으로 TMA 기법으로 시행한 COX-2와 관련된 연구에서 Zerkowski 등³⁸⁾은 ER, PR 음성과 상관관계가 유의하였고 핵등급과 관련이 있었으며, 다변량 분석에서도 종양의 크기, 림프절의 전이, ER, PR, HER-2, 핵등급과 무관하게 예후인자로 작용함을 밝혔다. 따라서 본 연구에서도 대상 환자 수가 많으면 통계적으로 유의한 예후인자로 작용할 수 있을 것으로 예측된다.

대부분 종양은 아포토시스 신호에 결핍되어 있으며 아포토시스 억제자 유전자 가족의 구성은 caspases의 내인성 억제자의 역할을 하는데 지금까지 8개의 IAP 가족 구성원이 알려져 있는데 그중에 survivin은 아포토시스 억제와 유사분열의 조절을 하는 이중적인 역할을 하여 주목 받고 있다.³⁹⁾ Survivin은 성인 조직에서는 매우 낮은 수준으로 발현되어 있으며⁴⁰⁾ 정상세포의 분열과 염색체 분리에 역할을 하는데 암 특이적 발현이 있고 survivin이 증가하면 정상세포의 주기조절을 방해하고 세포분열 중에 방추의 결손을 가져오거나 비정상적인 염색체의 조합을 진행하게 한다.⁴¹⁾ Survivin이 유방암 환자의 예후에 미치는 영향은 논란이 많다. Kennedy 등¹⁰⁾에 의하면 293명의 침윤성 유방암 환자에서 면역조직화학적 검사상 60%가 survivin에 대해 양성 반응을 보였고 환자의 나이, 종양의 크기, 림프절의 전이 상태, ER 상태에 관계없이 예후가 좋다고 하였다. Tanaka 등¹¹⁾의 167명의 침윤성 유방암 환자에서 면역조직화학적 방법으로 연구한 결과에 따르면 survivin 양성이 예후가 나쁜 경향을 보였으나 유의한 차이를 발견할 수 없었으며 다른 결과들도 예후인자가 아님을 나타내고 있다.¹²⁾

그러나 최근에 나온 연구 결과들은 대부분에서 survivin이 예후인자임을 나타내고 있다. Span 등¹³⁾은 survivin mRNA 농도에 따른 연구에서 높은 survivin mRNA 농도는 젊은 여성, ER 음성, PR 음성과 관계가 깊고 다변량 분석상에서도 무병생존율은 림프절의 전이($p < 0.001$) 보다는 유의성이 작지만 나이($p = 0.027$) 보다는 통계적 유의성이 높은 나쁜 예후인자였고 생존율에서는 림프절의 전이와 survivin 모두($p < 0.001$) 매우 유의한 상관관계가 있었다. 최근 2006~2007년도에 나온 연구 자료들은 대부분에서 survivin이 예후인자로서 중요성을 나타내고 있으며^{14,15)} 새로운 생체표지자로 이용 될 수 있음을 보여주고 있으며 또

한 새로운 치료제 개발의 표적이 될 수 있음을 시사하고 있다. 이렇게 연구 결과에서 예후의 차이를 보이는 것은 최근의 연구 논문들이 대상 환자의 숫자가 많거나 환자의 수술 시 종양조직의 동결 절편을 이용한 mRNA 농도 측정 등의 방법을 사용했거나 재발이 확인된 많은 환자의 병리 조직만을 따로 모아 연구를 한 경우가 많았기 때문으로 생각되고 있다. 본 연구에서도 survivin이 예후에 나쁜 영향을 미치는 경향을 확인할 수 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 그러나 앞으로 더 많은 수를 대상으로 연구한다면 유의성을 확인할 수 있으리라 생각한다.

치료 방법에 따른 한국인 젊은 여성 유방암환자의 예후에 관한 분석에서 유방보존수술 후 방사선치료를 시행한 경우와 유방절제술을 시행한 군의 비교에서 유방절제술을 시행한 군에서 종양의 크기가 비교적 큰 경우가 많았으나 예후에는 큰 차이가 없었다. 이러한 결과는 유방보존수술이 초기 암에만 국한되어 시행되는 것이 아니라 예후가 나쁠 수 있는 인자를 가진 환자에게도 많이 시행되고 있음을 보여주고 있다. 항암치료나 내분비 치료의 형태에 따른 결과 분석에서 CMF 요법을 사용한 경우보다 다른 항암요법을 사용한 경우 예후가 나쁘며, 이것은 예후가 나쁜 인자를 가졌을 때보다 집중적이고 강한 항암제를 치료함에도 불구하고 결과는 나쁘다는 것을 의미하며 젊은 여성 자체가 예후가 나쁘는데 그중에서도 예후가 더 나쁜 여러 인자를 가졌을 때 현재의 치료 방법이 충분하지 못하므로 치료 방법을 개선하고 더욱 효율적인 새로운 표적 치료제의 개발이나 현재 개발된 치료 방법들의 적절한 임상적 적용이 필요할 것으로 생각된다.

한국인 젊은 여성 유방암 환자를 대상으로 TMA 기법을 이용한 여러 가지 biomarker의 예후인자를 분석한 본 연구에서 T 병기, 나이, 림프절의 전이뿐만 아니라 예후인자로 확인되고 있는 ER, PR 및 HER-2는 예후에 중요한 인자였다. 그러나 최근 예후인자로 많이 연구되고 있는 COX-2와 survivin은 예후가 나쁜 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이를 보여주지 못하였다. 그 이유는 대상 환자의 숫자가 충분히 많지 못하고 추적 관찰기간이 다소 짧아서 앞으로 생길 수 있는 치료 실패가 덜 관찰되었기 때문으로 생각되고 있으며 좀 더 많은 환자를 대상으로 추적 기간을 늘여서 추가로 연구하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

한국인 45세 이하의 여성 유방암 환자에서 호르몬 수용체 상태와 HER-2는 예후인자였고 COX-2와 survivin은 예후인자로서의 역할을 찾을 수 없었다. 젊은 여성 유방암에서 생체표지자들의 역할을 더 정확하게 규명하려면 더 많은 환자를 대상으로 장기간의 추적관찰을 통해 추가적

인 연구를 하는 것이 필요하다.

참 고 문 헌

1. Cheng SH, Tsou MH, Liu MC, et al. Unique features of breast cancer in Taiwan. *Breast Cancer Res TR* 2000;63: 213-223
2. Ministry of Health and Welfare. Annual report of the central cancer registry in Korea, Seoul. Ministry of Health and welfare 2001
3. Chung M, Chang HR, Bland KI, Wanebo HJ. Younger women with breast cancer have a poor prognosis than older women. *Cancer* 1996;77:97-103
4. Shavers VL, Harlan LC, Stevens JL. Racial/ethnic variation in clinical presentation, treatment, and survival among breast cancer patients under 35. *Cancer* 2003;97:134-147
5. Hunter CP. Epidemiology, stage at diagnosis, and tumor biology of breast carcinoma in multiracial and multiethnic populations. *Cancer* 2000;88:1193-1202
6. Chen VW, Correa P, Kurman RJ, et al. Histological characteristics of breast carcinoma in blacks and whites. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994;3:127-135
7. Choi DH, Shin DB, Lee MH, et al. A comparison of five immunohistochemical biomarkers and HER-2/neu gene amplification by fluorescence in situ hybridization in white and Korean patients with early-onset breast carcinoma. *Cancer* 2003;98: 1587-1595
8. Harris L, Herbert F, Mennel R, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:5287-5312
9. Choi DH, Kim ES, Kim YH, et al. Prognostic significance of COX-2 expression in young Korean patients with invasive breast carcinoma. *Suppl. J Clin Oncol* 2005;23:829
10. Kennedy SM, Driscoll LO, Purcell R, et al. Prognostic importance of survivin in breast cancer. *Brit J Cancer* 2003;88: 1077-1083
11. Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, Nohara T, Iwamoto M, Tanigawa N. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000;6:127-134
12. O'Driscoll L, Linehan R, Kennedy S, et al. Lack of prognostic significance of survivin, survivin deltaEx3, survivin-2B, galectin-3, bag-1, bax-alpha and MRP-1 mRNAs in breast cancer. *Cancer Lett* 2003;201:225-236
13. Span PN, Sweep FC, Wiegerinck ET, et al. Survivin is an independent prognostic marker for risk stratification of breast cancer patients. *Clin Chemistry* 2004;50:1986-1993
14. Al-joudi FS, Iskandar ZA, Hasnan J, et al. Expression of survivin and its clinicopathological correlations in invasive ductal carcinoma of the breast. *Singapore Med J* 2007;48:607-614
15. Barnes N, Haywood P, Flint P, Knox WF, Bundred NJ.

- Survivin expression in situ and invasive breast cancer related to COX-2 expression and DCIS recurrence. *Br J Cancer* 2006;30:253-258
16. **Son BH, Kwak BS, Kim JK, et al.** Changing patterns in the clinical characteristics of Korean patients with breast cancer during the last 15 years. *Arch Surg* 2006;141:155-160
 17. **Park BW, Kim SI, Kim EK, Yang WI, Lee KS.** Impact of patients age on the outcome of primary breast cancer. *J Surg Oncol* 2002;80:12-18
 18. **Han W, Kim SW, Park IA, et al.** Young age: an independent risk factor for disease free survival in women with operable breast cancer. *BMC Cancer* 2004;17:82
 19. **Jung MS, Yoon HS, Park EH, Son BH, Ahn SE.** Clinical characteristics and prognosis of breast cancer in very young Korean women. *Global Breast Conference 2007 Abstract # GBCC01-032*
 20. **Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al.** Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998;4:844-847
 21. **Torhorst J, Bucher C, Kononen J, et al.** Tissue microarrays for rapid linking of molecular changes to clinical endpoints. *Am J Pathol* 2001;159:2249-2256
 22. **Rimm DL, Camp RL, Charette LA, Costa J, Olsen DA, Reiss M.** Tissue microarray: a new technology for amplification of tissue resources. *Cancer J* 2001;7:24-31
 23. **Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG).** Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials. *Lancet* 2005;365:1687-1717
 24. **Ravdin PM, Green S, Dorr TM, et al.** Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1992;10:1284-1291
 25. **Choi DH, Kim S, Rimm DL, Carter D, Haffty BG.** Immunohistochemical biomarkers in patients with early-onset breast carcinoma by tissue microarray. *Cancer J* 2005;11:404-411
 26. **Bentzen N, Duing M, Rasmussen BB, Mouridsen H, Kroman N.** Prognostic effect of estrogen receptor status across age in primary breast cancer. *Int J Cancer* 2007;24 (Republication ahead of print).
 27. **Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL.** Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987;235:177-182
 28. **Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al.** Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Eng J Med* 2005;353:1659-1672
 29. **Choi DH, Lee MH, Ahn YH, et al.** Characteristics of HER-2/neu Oncogene in Korean women with early-onset breast cancer by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *J Breast Cancer* 2003;6:255-262
 30. **Han SW, Yun IJ, Noh DY, Choe KJ, Song SY, Chi JG.** Abnormal expression of four novel molecular markers represents a high aggressive phenotype in breast cancer. Immunohistochemical assay of p53, nm23, erbB-2, and Cathepsin D protein. *J Surg Oncol* 1997;65:22-27
 31. **Park KM, Kim JY, Lim SJ.** Comparing fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry to direct HER-2/neu status in breast carcinoma. *Korean J Pathol* 2002;36:243-248
 32. **Singer-Ranger G, Mokbel K.** The role of cyclooxygenase-2 (COX-2) in breast cancer and implications of COX-2 inhibition. *Eur J Surg Oncol* 2002;28:729-737
 33. **Half A, Tang XM, Gwyn K, Sahin A, Wathen K, Sinicrope FA.** Cyclooxygenase-2 expression in human breast cancers and adjacent ductal carcinoma in situ. *Cancer Res* 2002;62:1676-1681
 34. **Subbaramaiah K, Norton L, Gerald W, Dannenberg AJ.** Cyclooxygenase-2 is overexpressed in HER-2/neu positive breast cancer. *J Biol Chem* 2002;277:18649-18657
 35. **Ristimaki A, Sivula A, Lundin J, et al.** Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res* 2002;62:632-635
 36. **Spizzo G, Gastl G, Wolf D, et al.** Correlation of COX-2 and Ep-CAM overexpression in human invasive breast cancer and its impact on survival. *Br J Cancer* 2003;88:574-578
 37. **Ahn JH, Kim SB, Ahn SH, et al.** Clinical value of cyclooxygenase expression in human breast carcinoma. *Cancer Res Treat* 2004;36:192-198
 38. **Zerkowski MP, Camp RL, Burtness BA, Rimm DL, Chung GG.** Quantitative analysis of breast cancer tissue microarrays shows high COX-2 expression is associated with poor outcome. *Cancer Invest* 2007;25:19-26
 39. **Altieri DC.** Validating survivin as a cancer therapeutic target. *Nat Rev Cancer* 2003;3:46-54
 40. **Ambrosini G, Adida C, Altieri DC.** A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997;3:917-921
 41. **Krajewska M, Krajewski S, Banares S, et al.** Elevated expression of inhibitor of apoptosis proteins in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2003;9:4914-4925

Abstract

The Role of Immunohistochemical Biomarkers as Prognostic Factors by the Use of a Tissue Microarray in Breast Cancer Patients Under 45-years-old

Eun Seog Kim, M.D.^{*}, Doo Ho Choi, M.D.^{*}, So Young Jin, M.D.[†], Dong Wha Lee, M.D.[†], Hee Sook Park, M.D.[‡], Min Hyuk Lee, M.D.[§], Jong Ho Won, M.D.[‡], Yong Ho Kim, M.D.^{*}, Kyu Taek Lee, M.D.[‡] and Sung Yong Kim, M.D.[§]

Departments of ^{*}Radiation Oncology, [†]Pathology, [‡]Medicine, and [§]General Surgery, Soonchunhyang University School of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: This study evaluates the association of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), Her-2, COX-2, and survivin with the clinicopathological features and outcomes in young Korean women with breast cancer using recently developed tissue microarray (TMA) technology.

Materials and Methods: A cohort of 212 young patients with breast cancer diagnosed at the age of 45 years or younger from March 1994 to August 2005, were enrolled in this study. The age range of patients was 23~45 years (median age, 39 years). The minimum and median follow-up periods were 24 months and 60 months, respectively. Serial sections of primary tumors were processed by the use of a TMA for immunohistochemical staining for five biomarkers. The correlation of these five biomarkers and the clinicopathological features and outcomes were analyzed by statistical methods.

Results: The majority of the patients were stage T1 (90 patients) or T2 (101 patients), and 105 patients (49.5%) had an axillary node metastasis. The 5-year overall and relapse free survival rates for all of the patients were 90.4% and 82.3%, respectively, and 36 patients had a locoregional or distant metastasis as a first event. Positive expression of ER, PR, Her-2, COX-2, and survivin was determined in 38.2%, 45.3%, 25.9%, 41.5%, and 43.4%, of the tumor samples, respectively. Tumor stage, nodal status, age, as well as expression of ER, PR, and HER-2 status were significantly associated with the disease free survival rate. Tumor stage, nodal status, as well as expression of ER, PR, and HER-2 were significantly related with the overall survival rate. Expression of COX-2 and survivin were not single independent prognostic factors for the disease free and overall survival rate although co-expression of HER-2 and COX-2 had a tendency as a poor prognostic factor. By multivariate analysis, only T stage and lymph node status were significant prognostic factors, and ER status was a marginally significant prognostic factor ($p=0.075$).

Conclusion: Expression of ER, PR and HER-2 were significant prognostic factors for the relapse free and overall survival rate. Expression of COX-2 and survivin were not prognostic factors for young women with breast cancer.

Key Words: Breast cancer, Tissue microarray, Biomarkers