

## ORIGINAL ARTICLE

## 유방암에서 Survivin 발현의 예후인자적 가치

오재원<sup>1</sup> · 양우익<sup>2</sup> · 이미정<sup>3</sup> · 박세호<sup>1</sup> · 박병우<sup>1,3</sup> · 이경식<sup>4</sup>연세대학교 의과대학<sup>1</sup>외과학교실 · <sup>2</sup>병리학교실 · <sup>3</sup>Brain Korea 21 프로젝트, <sup>4</sup>CHA의과대학 외과학교실

## The Prognostic Significance of Survivin Expression in Breast Cancer

Jae-Won Oh<sup>1</sup>, Woo-Ick Yang<sup>2</sup>, Mi Jeong Lee<sup>3</sup>, Seho Park<sup>1</sup>, Byeong-Woo Park<sup>1,3</sup>, Kyong-Sik Lee<sup>4</sup>Departments of <sup>1</sup>Surgery and <sup>2</sup>Pathology, <sup>3</sup>Brain Korea 21 Project, Yonsei University College of Medicine, Seoul; <sup>4</sup>Department of Surgery, Pochon CHA University College of Medicine, Seongnam, Korea

**Purpose:** Survivin is a member of the inhibitors of apoptosis family. It has recently comes into the limelight as a promising tumor marker, but many previous reports have shown controversial results regarding the significance and prognostic value of a survivin expression. In this study we determined the correlation between the survivin expression and the conventional prognostic markers and we also investigated the outcomes according to the localization of the survivin expression. **Methods:** Tissue microarray (TMA) blocks were made with formalin-fixed paraffin-embedded tissues from 185 breast cancer patients and the immunohistochemical staining was done using an anti-survivin antibody. Among these, 157 patients were available for a survivin expression. The conventional clinicopathologic features and overall survival were correlated with the localization of the survivin expression. **Results:** Survivin was expressed in 101 breast cancers (64.3%). A higher cytoplasmic survivin expression were noted in the older group ( $p=0.003$ ), in the node-negative cancers ( $p=0.012$ ), in the earlier tumor stages ( $p=0.012$ ) and in the cancers that had not been treated with adjuvant chemotherapy ( $p=0.014$ ). On the contrary, a higher nuclear survivin expres-

sion was inversely correlated with an estrogen expression ( $p=0.006$ ) and a progesterone receptor ( $p=0.043$ ) expression. In terms of survival, a cytoplasmic expression was associated with improved overall survival ( $p=0.01$ ) but a nuclear survivin expression was correlated with unfavorable overall survival ( $p=0.002$ ). A high cytoplasmic to nuclear ratio of survivin was associated with improved overall survival ( $p=0.001$ ) conversely, increased nuclear to cytoplasmic survivin ratio was correlated with unfavorable overall survival ( $p<0.0001$ ). Multivariate analysis revealed that nuclear survivin expression ( $p=0.001$ ) and high nuclear to cytoplasmic survivin ratio ( $p=0.012$ ) were independent predictor of overall survival. **Conclusion:** Survivin is frequently expressed in primary breast cancer. A cytoplasmic survivin expression is a good prognostic predictor for patients with axillary node negative early breast cancers and a nuclear survivin expression is a worse independent predictor of overall survival for patients with axillary node positive breast cancers.

Key Words: Breast neoplasms, Prognostic factor, Survivin

중심단어: 유방암, 예후인자, 서바이빈

## 서론

암세포는 정상세포에 비해 원발 부위를 떠나 다른 부위로 이동하는 전이와 세포사멸 조절기능이 마비되어 비정상적으로 성장을 하는 특성을 갖고 있다. 항암화학요법이나 방사선요법으로 인해 암세포가 사멸하는 과정이 대부분 세포자멸사(apoptosis)를 통해 이루어진다고 알려져 있고 종양세포의 가장 큰 특징 중 하나가 세포자멸이 잘 일어나지 않는 점이라는 것을 생각해볼 때, (1) 세포

## 책임저자: 박병우

120-752 서울시 서대문구 신촌동 134, 연세대학교 의과대학 외과  
Tel: 02-2228-2100, Fax: 02-313-8289

E-mail: bwpark@yumc.yonsei.ac.kr

접수일: 2009년 4월 3일 게재승인일: 2009년 6월 2일

본 논문은 2002년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원(R13-2002-054-03001-0) 및 Brain Korea 21 Project for Medical Science의 지원을 받아 수행된 연구임.

자멸의 억제가 암 발생과 치료 과정에 중요한 역할을 하고 있다는 것을 짐작할 수 있다.

최근 유방암에 관련하여 유전자와 단백질에 관한 연구들이 진행되면서 다양한 기능이 밝혀지기 시작하고 있으며 이들의 특성이 발암기전에 어떠한 영향을 주는지 파악하는 것이 필요하다. 종양 유전자와 종양억제유전자 그리고 세포사멸을 유도하는 관련 유전자들의 결합이 암 발생 과정에 관여하는 중요 유전자로 밝혀져 있으며(2) 세포자멸사와 관련 있는 유전자로 활발한 연구가 진행 중인 유전자 중 하나가 Inhibitor of Apoptosis (IAP)이다. IAP는 현재까지 약 20여 종이 보고되고 있으며, 이 중에서 인간에서는 survivin을 포함하여 8종류가 알려져 있다.(3)

Survivin은 IAP군 가운데서도 세포자멸사를 억제하고, 세포주기를 조절하는 이중적 기능을 수행하고 있어 주목을 끌고 있다.(4) Survivin의 세포분열 조절에 관해서는 최근까지의 연구결과에 의해 많이 알려져 있어 G2-M기에서 세포분열 방추사의 미세관과 상호작용하여 세포의 증식을 조절하는 것으로 밝혀져 있다.(2) 많은 시험관 실험과 동물실험을 통해 survivin은 caspase-9의 활성화 과정을 억제하고 생체 내 미토콘드리아 자연사 과정의 순차적 개시를 억제 함으로써 작용을 나타낼 것으로 생각되지만 아직 명확하게 밝혀지지 않았다.(3)

Survivin은 성인의 여러 장기에서 발생한 종양에 특이적으로 발현되는 성질을 갖고 있는 점으로 인해 종양의 진단적 표지자 또는 항암제의 표적물질 후보로 주목 받고 있다. Survivin은 대부분의 인체 암에서 과발현되며, 세포자멸사의 억제, 암세포의 과다한 증식, 신생혈관 형성 및 항암치료에 대한 저항성 등과 관련되어 암의 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다.(5-7) 특히 대장, 직장 및 위장을 포함한 소화기 종양과 방광암 등에서는 예후 및 치료 효과의 판단에 survivin은 중요한 표지자가 되고 있고 최근에 survivin을 이용한 새로운 항암제 개발이 성과를 거두고 진행되면서 여러 종류의 암종에서 survivin 발현 양상에 대한 다양한 기법을 이용한 연구가 이루어지고 있다.(8) 난소암에서도 survivin cDNA를 형질전환(transfection) 시키면 taxanes에 저항성이 생기며 survivin 발현의 감소가 etoposide나 5-FU, 방사선치료의 효과를 높인다는 연구결과들이 보고되고 있어,(9-11) survivin 발현은 예후뿐 아니라 치료효과를 예측할 수 있는 인자로서의 가치도 가지고 있다.

현재 유방암에서도 survivin에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나 예후인자적 가치에 있어 이견이 있는 상태이다. 본 연구에서는 유방암에서 survivin 발현의 빈도와 발현 부위에 따른 종양의 크기, 병기, 조직 등급, 호르몬 수용체상태 등 기준에 알려져 있는 임상 및 병리적 표지자 사이의 상관성을 보다 정확히 알고 장기 추적관찰을 통한 생존율 분석에 의한 유방암 예후인자로서의 의

의를 밝혀 생물학적 특성에 따른 치료적용을 제시하고자 하였다.

## 방 법

### 연구 대상

1991년 1월부터 2001년 12월까지 연세대학교 세브란스병원에서 유방암으로 수술받은 환자 중 파라핀블록 보존상태가 양호한 185명의 환자의 조직을 대상으로 Tissue Microarray (TMA)를 제작하였으며, 이 중 survivin 면역조직화학 염색이 가능하였던 157명의 환자를 대상으로 하였으며 조직이 떨어져 나갔거나 crushing artifact 등이 심해 판독이 불가능했던 28에는 대상에서 제외되었다. 이들의 중앙추적관찰 기간은 70 (2-177)개월이었다.

### 면역조직화학염색

각 층의 파라핀 블록에서 얻은 유방암 조직의 Hematoxylin-Eosin 염색표본을 재 검토했어 상태가 양호하고 종양을 대표할 수 있는 부위와 정상조직을 채취하여 제작한 TMA를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하였다. 파라핀에 포매된 조직은 4-5  $\mu$ m 두께로 박절하여 슬라이드를 만든 후 xylene에서 탈파린된 과정을 거친 후 알코올을 거쳐 증류수로 10분간 흡수처리 하였다. 일차 항체는 survivin 항체(1:150; Novus Biologicals, Littleton, USA)를 이용하였다. 목적 항원의 노출을 극대화 하기 위하여 pH 6.0의 10 mM citrate 완충용액에 슬라이드를 담근 후, 전자레인지로 이용하여 마이크로파를 12분간 쪄고 후 상온에서 냉각시켰다. 내인성 과산화수소를 억제하기 위해 3% 과산화수소수에 10분간 처치 후 Tris buffered saline (TBS)으로 세 차례 세척하고 일차항체를 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 TBS로 5분 간격으로 세 차례 세척하였다. Peroxidase가 부착된 Polymer detection kit (Zymed, San Francisco, USA)에 20분간 상온에서 작용 후 세척하고 발색제로는 Diaminobenzidine (DAB) kit (Zymed)를 사용하였다. Mayer hematoxylin으로 대조염색하고 세척한 후 96% 알코올, 100% 알코올을 거쳐 봉입하여 슬라이드를 완성한 후 현미경으로 관찰하였다.

### 면역조직화학염색 결과의 판정

Survivin 발현은 종양세포의 핵과 세포질에 염색된 경우를 구분하여 판정하였다(Figure 1). 종양세포의 5% 미만이 염색되는 경우를 0으로, 5%에서 25% 미만이 염색된 경우 1+, 50% 미만이 염색된 경우 2+, 그리고 50% 에서 75% 미만의 염색을 보인 경우 3+, 75% 이상의 종양세포가 염색된 경우를 4+로 판독하였으며, survivin 양성 정의는 1+ 이상으로 하였다. Survivin 발현 비

울은 세포질과 핵에서의 발현의 정도가 2배 이상 차이가 나는 경우와 그렇지 않은 경우로 구분하였다. 호르몬수용체 발현 유무의 판정은 면역조직화학 염색상 10% 이상의 종양세포가 핵 염색을 보이는 경우 양성으로 정하였으며, HER2의 양성판정은 종양세포의 10% 이상이 강한 세포막염색을 보이는 3+ 인 경우 만을 양성으로 하였다.

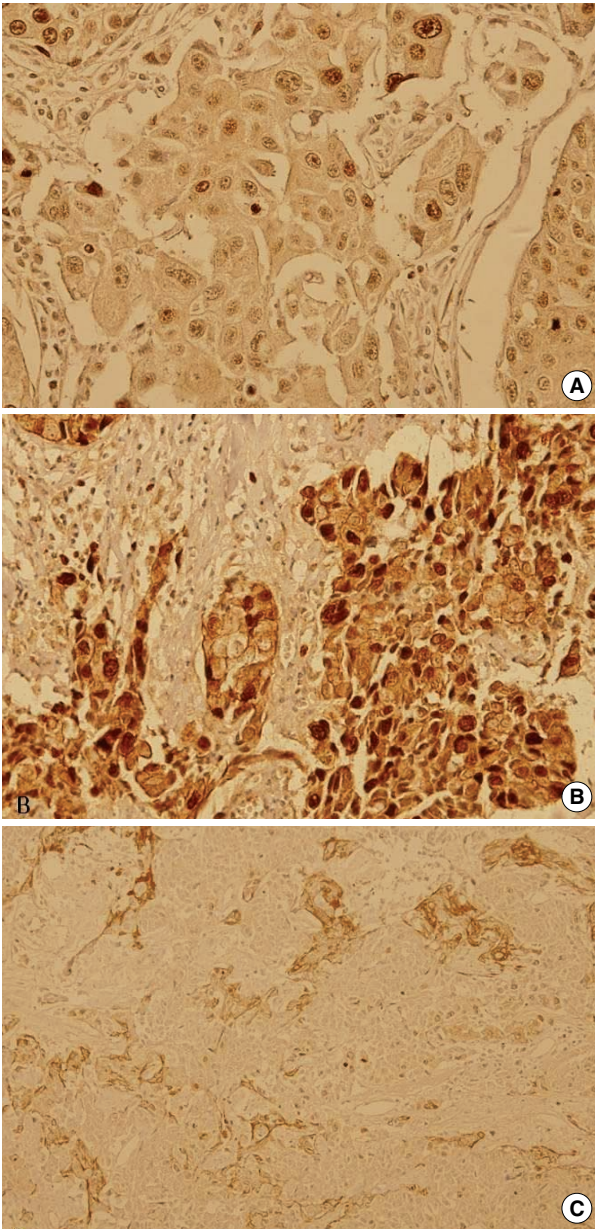


Figure 1. Immunohistochemical staining results for survivin (DAB with hematoxylin counterstaining). (A) Nuclear staining of survivin (x200), (B) Cytoplasmic and nuclear staining of survivin (x200), (C) Cytoplasmic staining of survivin (x200) in invasive ductal carcinoma.

**통계 분석**

Survivin 발현이 확인된 전 예에서 나이, 종양의 크기, 액와림프절 전이 유무, TNM 병기, 조직등급, HER2 발현 유무, 호르몬수용체 발현 유무, 수술 후 보조치료 유무의 임상 및 병리적 특성과 survivin 발현 유무와의 관계는 교차분석을 이용하였고, Pearson’s Chi-test와 Fisher 정확확률검정을 이용하여 분석하였다. Survivin 발현부위에 따른 유방암환자의 생존율의 차이는 Kaplan-Meier 분석 후 log-rank 검정으로 유의성을 평가하였으며, cox proportional hazard model을 이용하여 독립적인 설명변수를 알아보았다. 통계 분석은 Window용 SPSS version 12.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) 프로그램을 이용하였으며, 통계 유의성은 p값이 0.05 이하인 경우로 하였다.

**결 과**

**대상환자의 특성**

환자의 연령분포는 23세에서 70세로 평균연령은 45.4세였고, 35세 이상이 127예(80.9%)였다. 종양의 크기는 2-5 cm이 95예(60.5%)로 가장 많았으며, 액와림프절 양성이 98예(62.4%), TNM 병기는 2기와 3기 환자가 134예(85.3%)로 대부분을 차지하였고, 조직 등급 II와 III이 86예(69.4%)이었다. 호르몬수용체 양성은 에스트로겐, 프로게스테론이 각각 76예(48.4%), 57예(36.3%)이었으며, HER2 양성은 42예(47.8%)이었다. 수술 후 보조요법은 호르몬치료를 시행 받은 경우가 68예(44.7%), 방사선치료를 시행 받은 경우가 49예(33.1%), 항암치료를 시행 받은 경우가 106예(68.8%)였다(Table 1).

**Survivin 발현**

Survivin 발현은 대상환자 157명 중 101예(64.3%)에서 확인되었다. Survivin 발현이 확인된 환자를 세포질과 핵으로 구분하였을 때는 각각 64예(40.8%)가 세포질 양성이었으며, 75예(47.1%)에서 핵 발현 양성이었다. 세포질과 핵에서 발현이 모두 음성인 경우는 35예였고, 모두 양성인 경우는 19예였다. 발현 비율의 차이는 세포질에서의 발현이 핵에 비해 2배 미만인 경우는 105예(66.9%) 2배 이상인 경우는 52예(33.1%)였으며, 핵에서의 발현이 세포질에 비해 2배 미만인 경우는 116예(73.9%) 2배 이상은 41예(26.1%)였다(Table 2).

**Survivin 발현의 위치에 따른 임상 및 병리적 특성**

Survivin 발현을 세포질과 핵으로 구분하여 각각의 경우 임상 및 병리적 특성을 비교하였다. 세포질 발현 유무를 기준으로 하였을 때 발병연령이 높고( $p=0.003$ ), 액와림프절 전이가 없으며( $p=$

Table 1. Patients characteristics

	No. of patients	%
Age (yr)		
<35	30	19.1
≥35	127	80.9
Size		
<2 cm	52	33.1
2-5 cm	95	60.5
>5 cm	10	6.4
Lymph node status		
Negative	59	37.6
Positive	98	62.4
TNM stage		
1	23	14.6
2	84	53.5
3	50	31.8
Histologic grade		
I	38	30.6
II+III	86	69.4
ER		
Negative	81	51.6
Positive	76	48.4
PR		
Negative	100	63.7
Positive	57	36.3
HER2		
Negative	46	52.3
Positive	42	47.7
Hormonal therapy		
No	84	55.3
Yes	68	44.7
Radiation therapy		
No	99	66.9
Yes	49	33.1
Chemotherapy		
No	48	31.2
Yes	106	68.8

ER=estrogen receptor; PR=progesterone receptor.

0.012), TNM 병기가 낮을수록( $p=0.012$ ) 세포질 양성의 빈도가 높았다. 그 외 수술 후 보조요법에 있어 액와림프절 전이와 병기가 높았던 세포질 발현 음성군에서 항암치료가 통계적으로 유의하게 많이 시행되었다( $p=0.014$ ). 핵 발현의 유무를 기준으로 하였을 때는 조직학적 등급이 높을수록 핵 발현 양성의 빈도가 높아지는 경향을 보였으며( $p=0.051$ ), 에스트로겐 그리고 프로게스테론 수용체 음성의 빈도가 핵 발현 양성 군에서 통계적으로 높았다( $p=0.006$ ,  $p=0.03$ ) (Table 3).

### Survivin 발현과 예후와의 상관관계

Survivin 세포질 발현이 확인된 경우의 5년 전체생존율은 74.87%로 세포질 발현이 확인되지 않은 경우의 52.52%에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였다( $p=0.01$ ). Survivin 발현이 핵

Table 2. Localization of survivin expression by immunochemical methods

	No. of patients	%
Cytoplasm and/or nucleus		
Negative	56	35.7
Positive	101	64.3
Cytoplasm		
Negative	93	59.2
Positive	64	40.8
Nucleus		
Negative	83	52.9
Positive	75	47.1
Both cytoplasm and nucleus		
Negative	35	22.3
Positive	19	12.1
Cytoplasmic to nuclear ratio		
<2	105	66.9
≥2	52	33.1
Nuclear to cytoplasmic ratio		
<2	116	73.9
≥2	41	26.1

에서 확인된 경우의 5년 전체생존율은 46.97%로 핵에서의 발현이 음성이었던 경우의 5년 전체생존율 74.66%에 비해 통계적으로 유의하게 감소하였다( $p=0.0016$ ) (Figure 2). 세포질과 핵에서의 발현비율에 따른 생존율의 차이는 세포질에서의 발현이 핵에서의 발현에 비해 2배 이상 많았던 경우의 5년 전체생존율은 79.50%로 2배 미만의 49.67%에 비해 유의하게 증가하였고( $p=0.0006$ ), 핵에서의 발현이 세포질에서의 발현에 비해 2배 이상 많았던 경우는 5년 전체생존율이 31.56%로 2배 미만의 70.25%에 비해 유의하게 감소되었다( $p<0.0001$ ) (Figure 3). Survivin이 세포질과 핵에서 모두 양성인 군과 모두 음성인 군( $p=0.1243$ ), 하나라도 양성인 군( $p=0.3676$ ) 사이의 예후 차이 그리고 세포질 혹은 핵에서 발현 양성 군과 모두 음성인 군 사이에서 생존율의 차이는 보이지 않았다( $p=0.775$ ).

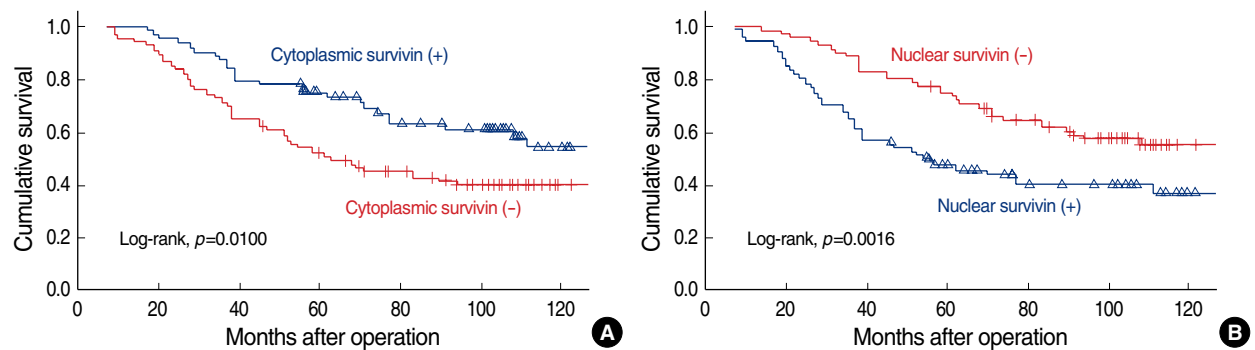
### 생존 분석

단변량 분석상, 발병연령 간(35세 미만 vs 35세 이상), 액와림프절 전이 유무 간, 조직 등급 간(I vs II, III), survivin 세포질과 핵 발현 간, 세포질과 핵에서의 각각의 survivin 발현 비율 차이 간(<2 vs ≥2), 프로게스테론 수용체 발현 간 의미 있는 생존결과 차이를 나타냈으며 에스트로겐 수용체 발현 유무는 통계학적 경향만을 나타냈다. 종양의 크기(2 cm 미만 vs 2 cm 이상), 수술 후 보조요법 유무 간에는 통계적으로 의미 있는 생존율의 차이는 없었다(Table 4). 다중회귀 분석상 발병연령( $p=0.039$ ), 림프절 전이 여부( $p=0.016$ ), survivin 핵 발현 여부( $p=0.001$ ), 세포질에 대한 핵에서의 survivin 발현 비율 차이( $p=0.012$ ) 생

**Table 3.** Association between survivin expression and tumor characteristics

	C-expression		p-value	N-expression		p-value
	Negative (93)	Positive (64)		Negative (83)	Positive (74)	
Age (yr)			0.003			0.688
<35	25 (26.9)	5 (7.8)		17 (20.5)	13 (17.6)	
≥35	68 (73.1)	59 (92.2)		66 (79.5)	61 (82.4)	
Tumor size			0.385			0.274
<2 cm	30 (32.3)	22 (34.4)		30 (36.2)	22 (29.7)	
2-5 cm	55 (59.1)	40 (62.5)		50 (60.2)	45 (60.8)	
>5 cm	8 (8.6)	2 (3.1)		3 (3.6)	7 (9.5)	
LN status			0.012			0.189
Negative	27 (29.0)	32 (50.0)		27 (32.5)	32 (43.2)	
Positive	66 (71.0)	32 (50.0)		56 (67.5)	42 (56.8)	
TNM stage			0.012			0.547
1	13 (14.0)	10 (15.6)		13 (15.7)	10 (13.5)	
2	42 (45.2)	42 (65.6)		41 (49.4)	43 (58.1)	
3	38 (40.8)	12 (18.8)		29 (34.9)	21 (28.4)	
Histologic grade			0.297			0.051
I	21 (27.3)	17 (36.2)		25 (39.1)	13 (21.7)	
II+III	56 (72.7)	30 (63.8)		39 (60.9)	47 (78.3)	
HER2 status			0.194			0.099
Negative	23 (48.9)	23 (56.1)		22 (55.0)	24 (50.0)	
Positive	24 (51.1)	18 (43.9)		18 (45.0)	24 (50.0)	
ER			0.108			0.006
Negative	53 (57.0)	28 (43.7)		34 (41.0)	47 (63.5)	
Positive	40 (43.0)	36 (56.3)		49 (59.0)	27 (36.5)	
PR			0.129			0.030
Negative	64 (68.8)	36 (56.3)		46 (55.4)	54 (73.0)	
Positive	29 (31.2)	28 (43.7)		37 (44.6)	20 (27.0)	
HTx			0.124			0.441
No	51 (58.0)	33 (51.6)		48 (60.0)	36 (50.0)	
Yes	37 (42.0)	31 (48.4)		32 (40.0)	36 (50.0)	
RTx			0.339			0.738
No	55 (64.0)	44 (71.0)		50 (64.1)	49 (70.0)	
Yes	31 (46.0)	18 (29.0)		28 (35.9)	21 (30.0)	
CTx			0.014			0.602
No	21 (23.3)	27 (42.2)		23 (28.8)	25 (33.8)	
Yes	69 (76.7)	37 (57.8)		57 (71.2)	49 (66.2)	

C-expression=cytoplasmic expression; N-expression=nuclear expression; LN=lymph node; ER=estrogen receptor; PR=progesterone receptor; HTx=hormone therapy; RTx=radiation therapy; CTx=chemotherapy.



**Figure 2.** Kaplan-Meier survival estimates for positive and negative cases of breast cancer regarding (A) cytoplasmic survivin expression and (B) nuclear survivin expression.

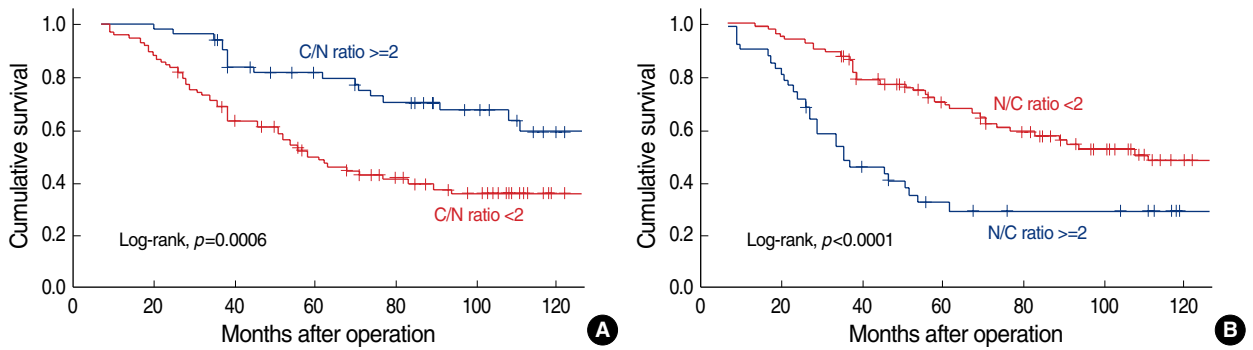


Figure 3. Kaplan-Meier survival estimates for using a ratio of 2 as a cutoff. (A) cytoplasmic to nuclear survivin expression ratio and (B) nuclear to cytoplasmic survivin expression ratio.

Table 4. Prognostic significance of clinicopathologic variables

Variables	Risk rate	95% CI	p-value
Age (<35 vs ≥35)	0.532	0.320-0.887	0.013
Tumor size (<2 cm vs ≥2 cm)	0.926	0.584-1.468	0.743
LN metastasis (negative vs positive)	1.889	1.147-3.114	0.013
Histologic grade (I vs II, III)	1.786	1.040-3.067	0.035
Cytoplasmic survivin (negative vs positive)	0.540	0.336-0.868	0.011
Nuclear survivin (negative vs positive)	2.132	1.363-3.335	0.001
Cytoplasmic to nuclear ratio (<2 vs ≥2)	0.402	0.234-0.688	0.001
Nuclear to cytoplasmic ratio (<2 vs ≥2)	2.642	1.658-4.210	<0.001
ER status (negative vs positive)	0.654	0.419-1.022	0.059
PR status (negative vs positive)	0.514	0.313-0.843	0.008

LN=lymph node; ER=estrogen receptor; PR=progesterone receptor.

종과 관련된 독립적인 예측인자였으며, survivin 세포질 발현이 양성인 경우와( $p=0.053$ ), 핵에 대한 세포질에서의 발현 비율의 차이가 2배 이상인 경우는 생존율이 증가하는 경향을 나타내었다( $p=0.051$ ) (Table 5).

**액와림프절 전이와 병기별 생존율 분석**

Survivin 세포질 발현과 액와림프절 전이 유무에 따른 생존율의 차이는 액와림프절 전이가 음성인 군에서 세포질 발현 양성인 경우 통계적으로 증가된 생존율이 확인되었고( $p=0.0003$ ), 액와림프절 양성인 경우는 의미 있는 생존율의 차이를 확인할 수 없었다( $p=0.8297$ ) (Figure 4). Survivin 핵발현과 액와림프절 전이 유무에 따른 생존율의 차이는 액와림프절 전이가 음성인 경우에는 통계적으로 생존율의 차이가 없었지만( $p=0.9228$ ), 액와림프절 전이가 양성인 경우는 핵 발현 양성인 군에서 의미 있는 생존율의 감소를 확인할 수 있었다( $p=0.0001$ ) (Figure 5). 병기별 survivin

Table 5. Multivariate Cox proportional hazard model for overall survival

Variables	Risk rate	95% CI	p-value
Age (<35 vs ≥35)	0.566	0.330-0.972	0.039
LN metastasis (negative vs positive)	2.046	1.141-3.668	0.016
Histologic grade (I vs II, III)	1.551	0.889-2.706	0.122
Cytoplasmic survivin (negative vs positive)	0.571	0.324-1.008	0.053
Nuclear survivin (negative vs positive)	2.258	1.370-3.721	0.001
Cytoplasmic to nuclear ratio* (<2 vs ≥2)	0.524	0.274-1.001	0.051
Nuclear to cytoplasmic ratio* (<2 vs ≥2)	2.010	1.116-3.466	0.012
PR status (negative vs positive)	0.678	0.392-1.170	0.163

CI=confidence interval; LN=lymph node; PR=progesterone receptor. \*Adjusted for age, lymph node metastasis, histologic grade and PR status.

발현에 따른 생존율의 차이에 있어서는 세포질 발현유무에 따른 생존율의 차이가 통계적으로 유의한 경우는 TNM 병기 1기에서만 세포질 발현 양성인 경우 생존율의 증가가 확인되었다( $p=0.04$ ) (Figure 6). 핵 발현 유무에 따른 생존율의 차이는 TNM 병기 2기( $p=0.0062$ ), 3기( $p=0.0516$ )에서 모두 핵 발현 양성인 경우 유의한 생존율의 감소를 확인할 수 있었다(Figure 7).

**고 찰**

유방암에서의 survivin 발현율은 60–90% 정도로 보고되고 있다.(12–14) 이전 보고들에서 survivin 발현 양성군의 차이가 나는 원인은 실험방법의 차이가 중요한 요인으로 사료되는데, RT-PCR이나 ELISA를 이용하여 정량적으로 분석하여 양성군을 결정한 연구와 면역조직화학 염색을 통해 양성군을 정한 연구로 대변되며, ELISA를 이용한 Ryan 등(14)의 연구에서는 90%의 양성

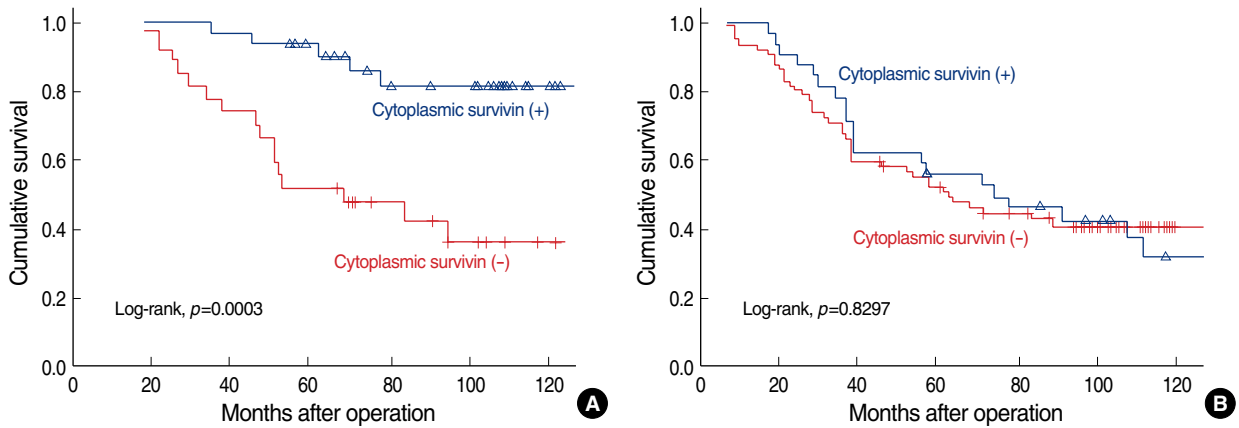


Figure 4. Kaplan-Meier survival curve according to lymph node negative group (A) and lymph node positive group (B) categorized by cytoplasmic survivin expression.

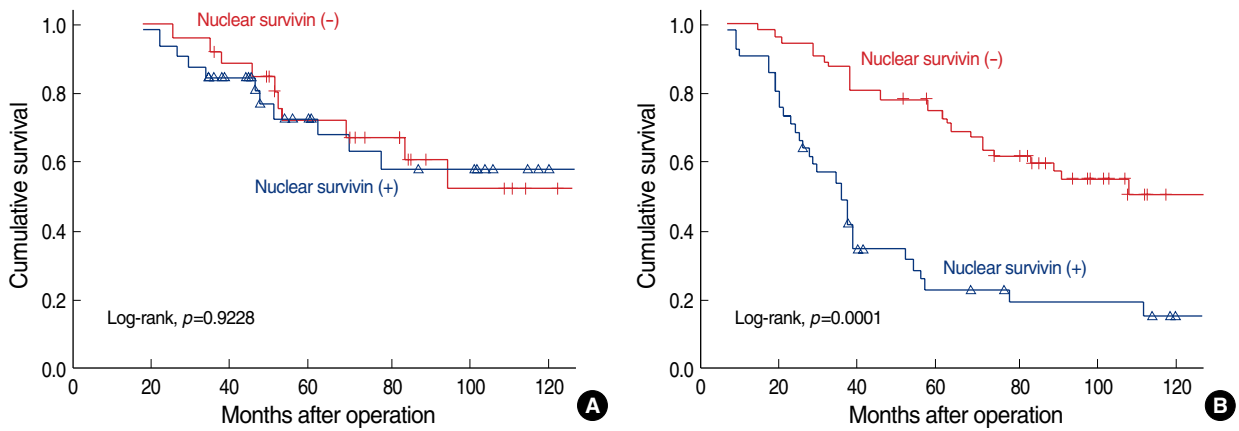


Figure 5. Kaplan-Meier survival curve according to lymph node negative group (A) and lymph node positive group (B) categorized by nuclear survivin expression.

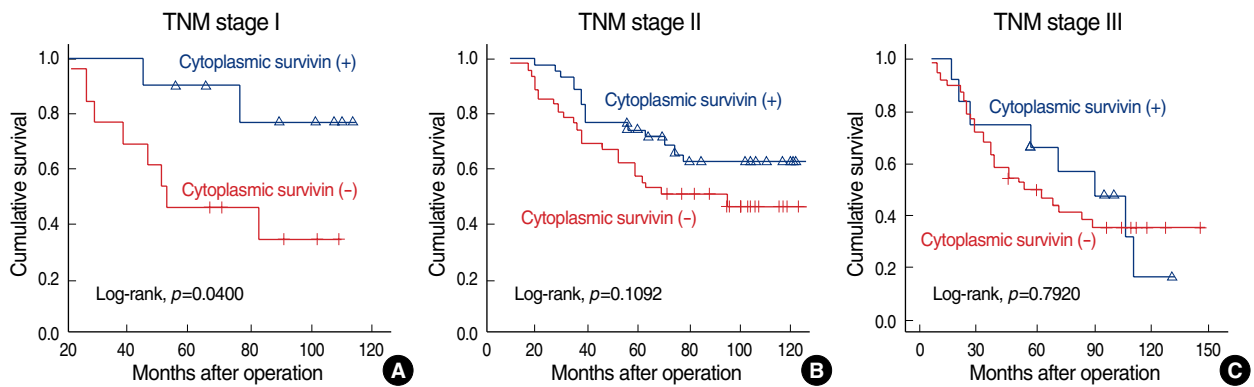


Figure 6. Kaplan-Meier survival curve according to TNM stage categorized by cytoplasmic survivin expression.

를 보고 하였고, survivin 발현은 유전자 전사단계에서 조절되므로 전자의 경우가 survivin 양성의 빈도가 높게 나타났다. (15, 16) 유방암에서 발현의 증가를 확인한 것은 survivin의 세포 주

기 조절과 항세포자멸사 기능이 유방암 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 본 연구에서는 survivin 양성의 빈도가 101예(64.3%)로 면역조직화학 염색을 이용한 다른 연구들과 비슷한

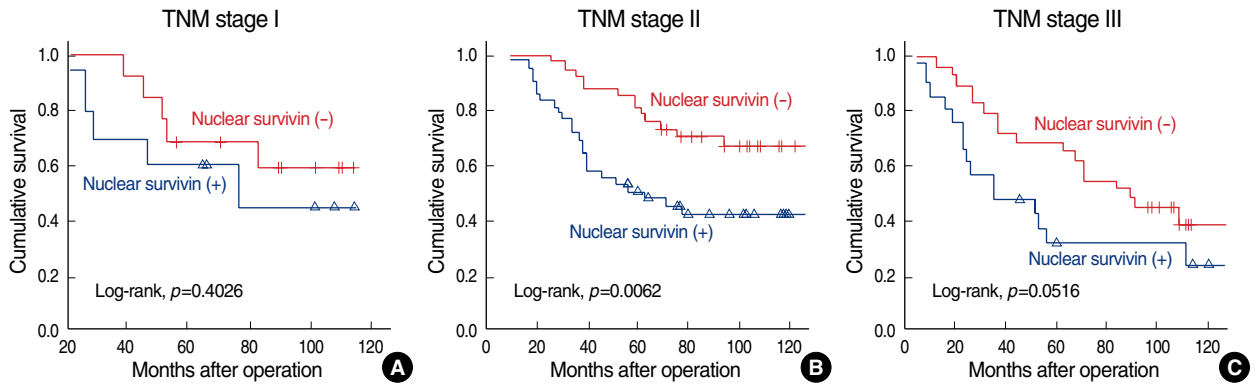


Figure 7. Kaplan-Meier survival curve according to TNM stage categorized by nuclear survivin expression.

결과를 보였고, 세포질 발현 양성의 빈도는 64예(40.8%), 핵 발현 양성의 빈도는 75예(47.1%)였다. 반면 중례마다 대조군으로 포함되어 있었던 정상 조직에서는 발현이 거의 없었다. 이처럼 survivin은 세포질과 핵에 발현될 수 있으나 발현의 표현이 복잡적이고 결과를 확인하는데 있어 기술적인 문제들이 있어 각각의 발현 빈도와 예후인자적 가치를 다른 연구들이 드문 것이 현실이다.

Survivin 발현과 임상 및 병리적 특성과의 유의성에 있어서 Span 등(17)은 높은 핵등급과 에스트로겐 수용체 음성과 관계가 있다고 보고하고, Asanuma 등(18)은 HER2 발현과의 연관성을 보고하였다. 다른 예후인자와의 관련성에 관해서도 Tsuji 등(19)은 survivin 발현은 p53유전자의 이상과 관련이 있다고 보고하고 있으며 Ryan 등(14)은 survivin 발현의 정도가 종양의 조직 등급이 올라갈수록, HER2 발현이 증가되어 있을수록, 호르몬 수용체 음성, 혈관상피성장인자가 양성일수록 증가된다고 보고하였다. 이와는 반대로 survivin 발현과 발병나이, 임상병기, 종양의 크기, 임파선 침범 여부, 호르몬 수용체 발현 등의 임상과 병리적 특성과의 유의성을 찾지 못한 연구결과들도 있다. (20,21) 본 연구에서는 survivin 발현이 세포질에서 확인된 경우 발병연령, 액와림프절 전이 유무, 종양의 병기에 있어 양성군이 음성군에 대해 연령이 많고, 액와림프절 전이가 적으며 병기가 낮은 상관관계를 확인할 수 있어 양호한 예후를 가질 것으로 예측할 수 있었으며, 핵에서의 survivin 발현이 양성일 때 여러 임상 및 병리적 요인 중 호르몬 수용체 음성인 경우가 많은 것으로 조사되어 불량한 예후와 관계될 것으로 예측할 수 있었다.

Survivin의 유방암에서의 발현이 갖는 임상적 의의에 대한 결과는 아직 이견이 많다. Tanaka 등(20)은 survivin 발현은 세포자멸사와 연관이 있지만 예후와 임상양상의 차이에 있어서는 직접적인 연관성을 발견하지 못하였으며, O'Driscoll 등(22)도 survivin 발현의 차이에 따른 예후인자적 가치를 발견하지 못하였다. Survivin의 예후인자로서의 가치에 대해 언급한 연구결과도 양

호한 예후와 불량한 예후를 보고하는 상반되는 결과들이 보고되고 있으며, Span 등(17)은 survivin 발현이 젊은 나이, 호르몬 수용체 음성인 환자에서 호발하였으며 독립적인 음성 예후인자임을 보고하였다. Ryan 등(14)은 survivin 발현을 정량적으로 측정하여 다른 생물학적 인자와의 상관관계와 음성 예후인자로서의 가치에 대해 보고하였다. Hinnis 등(23)도 면역조직화학염색을 통해 확인한 survivin 발현이 짧은 생존기간과 관련된다고 보고하였다. 반면 Kennedy 등(13)은 핵에서의 survivin 발현은 양호한 예후와 관계된다고 보고하였는데 본 연구와 반대되는 결과로 핵내 survivin 발현과 임상과 병리적 요인과의 연관성에 있어 호르몬 수용체와의 유의성이 없는 상반된 결과와, survivin 발현 양성을 20%에 기준을 두고 예후를 분석하였다는 점에 있어 차이가 있다. 이처럼 핵과 세포질의 survivin 발현을 확인하는 것이 여러 요인들로 인해 어렵고 따라서 자칫 상반된 결과를 나타낼 수 있지만, 발현위치에 따른 survivin의 기능과 작용은 예후에 있어 다른 결과를 나타낼 것으로 예상할 수 있는 바 발현위치를 구분하여 예후를 확인하는 연구들이 더욱 진행되어야 할 것으로 생각된다.

Survivin의 세포사멸사와 핵분열에 대한 이중적 기능에 의해 환자의 예후가 survivin의 세포 내 분포에 따라 달라진다는 연구 결과들이 있다. Survivin 발현에 관한 대부분의 연구에서 survivin 단백질이 세포질에 우세하게 발현되지만 최근 유방암을 포함한 몇몇 종양의 연구에서 핵에 우세하게 발현될 뿐 아니라 핵 발현 여부가 예후와 좀더 밀접한 관련이 있다는 보고가 있다. Survivin 발현에 대한 여러 인체암 연구에서 핵 발현과 세포질 발현에 따른 결과에 의하면 위암, 골육종에서는 survivin의 핵 발현이 좋은 예후를 나타내며, 세포질 발현은 예후와 관련이 없는 것으로 보고되고 있으며, (24) 최근의 식도암과 비소세포폐암종에 대한 연구결과에 의하면 survivin 핵 발현이 이들 암환자의 낮은 생존율과 유의한 관계가 있다고 보고하고 있다. (25,26) 저자 등의 연구결과는 survivin 세포질 발현 양성인 경우는 양호한 예후를 나



타내었는데 대상군의 액와림프절 전이 양성도와 병기에 있어 음성인 군과의 차이가 있어 액와림프절 전이 유무와 병기별 분석을 시행하였으며, 생존율의 차이는 액와림프절 음성군, TNM 병기 1기 환자군에서만 확인되어 진행된 병기의 환자에서의 의의는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 반면 survivin 핵 발현 양성인 경우는 불량한 예후를 나타내었는데 액와림프절 전이 유무와 병기별 분석에서도 액와림프절 양성군과, TNM 병기 2기 3기 환자군에서도 발현에 따른 생존율의 차이를 확인할 수 있었다.

유방암 내에서 survivin 발현이 갖는 임상적 의의가 재현성을 갖지 못하는 이유에 대해 Li 등(27)은 19가지의 다른 종양의 핵 내 survivin 발현에 따른 예후차이에서 9개의 연구에서는 좋지 않은 예후를 5개의 연구에서는 좋은 예후를 보고 하였는데, 상반된 결과의 해석이 나온 것에 대해 면역조직화학적 염색의 판정 시 조직이나 이미지의 부적절한 처리로 인해 해석이나 판단의 결정에 오류를 범할 수 있고 이를 방지하기 위해 Western blot을 통한 확인이 필요할 수도 있다고 언급하였다. 최근 Brennan 등(28)의 연구는 면역조직화학적 염색의 판정에 있어서 문제점을 자동화된 화소측정 방법과 세포질과 핵에서의 염색 정도 차이를 비율로 보완하여 분석하였으며 핵 내 survivin 발현이 불량한 예후와 연관된다는 보고를 하였다. 본 연구에서는 통상적인 판독 방법을 사용하였고 survivin 면역염색에 대한 단점과 결과 차이를 보완할 수 있는 영상분석의 방법은 사용하지 않아 이전의 연구결과들에서 있을 수 있었던 오류에서 완전하지 못한 점이 있지만 survivin 발현 비율의 차이를 조사하여 핵에 대한 세포질에서의 발현 비율과 생존율과의 경향성을 세포질에 대한 핵에서의 발현 비율이 생존과 관련된 예후인자임을 확인하였으며 핵 발현 정도가 세포질 발현에 비해 예후인자적 가치가 높을 것으로 생각되었다.

Fortugno 등(29)은 세포질과 핵에서의 survivin 발현은 사용하는 염색시약에 의해서도 결과의 차이가 있을 수 있다고 보고하였다. 그 외 에도 세포 내에서 특이 장소에 존재하는 survivin의 여러 변종들도 각기 다른 임상예후를 나타내는데 중요한 기능을 담당할 것으로 여겨지고, survivin의 핵 혹은 세포질 내에서의 발현이 각각 다른 조절기능을 갖고 있으며 핵 내 발현은 주로 세포증식에 관여하며, 반대로 세포질 내의 발현은 세포증식보다는 생존을 조절하는 기능을 하는 것으로 여겨지고 있기 때문에 생각된다.(30,31) Survivin이 유방암에 있어 중요한 예후인자로서 가치를 갖기 위해서는 지금의 면역조직화학적 염색의 결과 해석과 판정의 재현성에 있어 문제가 생길 수 있어 결과를 객관적으로 측정할 수 있는 방법의 연구와, 여러 survivin 아형에 대한 연구, 세포자연사에 관여하는 기전에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 생각된다.

## 결론

Survivin은 유방암 환자의 과반수 이상에서 발현되고 survivin 발현 유무는 림프절전이 여부와 함께 전체생존율에 영향을 주는 요인으로 보여진다. 예후인자적 가치에 있어 세포질 발현 여부는 액와림프절 전이 음성인 초기 유방암에서, 핵 발현 여부는 액와림프절 전이가 있는 진행성 유방암에서도 의미 있는 것으로 생각된다. 아울러 survivin은 유방암에 있어 새로운 예후인자로 그리고 암 치료의 새로운 표적물질로의 가능성이 기대되지만 아직까지 상반되는 연구결과들이 보고되고 있으므로 더욱 많은 연구들이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Jiang X, Wilford C, Duensing S, Munger K, Jones G, Jones D. Participation of survivin in mitotic and apoptotic activities of normal and tumor-derived cells. *J Cell Biochem* 2001;83:342-54.
2. Li F, Ambrosini G, Chu EY, Plescia J, Tognin S, Marchisio PC, et al. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature* 1998;396:580-4.
3. LaCasse EC, Baird S, Komeluk RG, MacKenzie AE. The inhibitors of apoptosis (IAPs) and their emerging role in cancer. *Oncogene* 1998;17:3247-59.
4. Altieri DC. Validating survivin as a cancer therapeutic target. *Nat Rev Cancer* 2003;3:46-54.
5. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997;3:917-21.
6. Kawasaki H, Altieri D, Lu CD, Toyoda M, Tenjo T, Tanigawa N. Inhibition of apoptosis by survivin predict shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5071-4.
7. Ikeguchi M, Kaibara N. Survivin messenger RNA expression is a good prognostic biomarker for oesophageal carcinoma. *Br J Cancer* 2002;87:883-7.
8. Wall NR, O'Connor DS, Plescia J, Pommier Y, Altieri DC. Suppression of survivin phosphorylation on Thr34 by flavopiridol enhances tumor cell apoptosis. *Cancer Res* 2003;63:230-5.
9. Zaffaroni N, Pennati M, Colella G, Perego P, Supino R, Gatti L, et al. Expression of the anti-apoptotic gene survivin correlates with taxol resistance in human ovarian cancer. *Cell Mol Life Sci* 2002;59:1406-12.
10. Zhang W, Chen X, Qiu F. An antisense plasmid targeting survivin expression induces apoptosis and sensitizes hepatocarcinoma cells to chemotherapy. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2003;23:

- 387-91.
11. Cao C, Mu Y, Hallahan DE, Bo Lu. XIAP and survivin as therapeutic targets for radiation sensitization in preclinical models of lung cancer. *Oncogene* 2004;23:7047-52.
  12. Kayaselcuk F, Nursal TZ, Polat A, Noyan T, Yildirim S, Tarim A, et al. Expression of survivin, bcl-2, P53 and bax in breast carcinoma and ductal intraepithelial neoplasia (DIN 1a). *J Exp Clin Cancer Res* 2004;23:105-12.
  13. Kennedy SM, O'Driscoll L, Purcell R, Fitz-Simons N, McDermott EW, Hill AD, et al. Prognostic importance of survivin in breast cancer. *Br J Cancer* 2003;88:1077-83.
  14. Ryan BM, Konecny GE, Kahlert S, Wang HJ, Untch M, Meng G, et al. Survivin expression in breast cancer predicts clinical outcome and is associated with HER2, VEGF, urokinase plasminogen activator and PAI-1. *Ann Oncol* 2006;17:597-604.
  15. Altieri DC. Validating survivin as a cancer therapeutic target. *Nat Rev Cancer* 2003;3:46-54.
  16. Bao R, Connolly DC, Murphy M, Green J, Weinstein JK, Pisarcik DA, et al. Activation of cancer-specific gene expression by the survivin promoter. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:522-8.
  17. Span PN, Sweep FC, Weigerinck ET, Tjan-Heijnen VC, Manders P, Beex LV, et al. Survivin is an independent prognostic marker for risk stratification of breast cancer patients. *Clin Chem* 2004;50:1986-93.
  18. Asanuma H, Torigoe T, Kamiguchi K, Hirohashi Y, Ohmura T, Hirata K, et al. Survivin expression is regulated by coexpression of human epidermal growth factor receptor 2 and epidermal growth factor receptor via phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signalling pathway in breast cancer cells. *Cancer Res* 2005;65:11018-25.
  19. Tsuji N, Furuse K, Asanuma K, Furuya M, Kondoh K, Kamagata C, et al. Mutations of the p53 gene and loss of heterozygosity at chromosome 17p13.1 are associated with increased surviving expression in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004;87:23-31.
  20. 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;6:127-34.
  21. Chu JS, Shew JY, Huang CS. Immunohistochemical analysis of survivin expression in primary breast cancers. *J Formos Med Assoc* 2004;103:925-31.
  22. O'Driscoll L, Linehan R, M Kennedy S, Cronin D, Purcell R, Glynn 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;201:225-36.
  23. Hinnis AR, Lockett JC, Walker RA. Survivin is an independent predictor of short-term survival in poor prognostic breast cancer patients. *Br J Cancer* 2007;96:639-45.
  24. Okada E, Murai Y, Matsui K, Isizawa S, Cheng C, Masuda M, et al. Survivin expression in tumor cell nuclei is predictive of a favorable prognosis in gastric cancer patients. *Cancer Lett* 2001;163:109-16.
  25. Grabowski P, Kühnel T, Mühr-Wilkenshoff F, Heine B, Stein H, Höpfner M, et al. Prognostic value of nuclear survivin expression in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2003;88:115-9.
  26. Lu B, Gonzalez A, Massion PP, Shyr Y, Shaktour B, Carbone DP, et al. Nuclear survivin as a biomarker for non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 2004;91:537-40.
  27. Li F, Yang J, Ramnath N, Javle MM, Tan D. Nuclear or cytoplasmic expression of survivin: what is the significance? *Int J Cancer* 2005;114:509-12.
  28. Brennan DJ, Rexhepaj E, O'Brien SL, McSherry E, O'Connor DP, Fagan A, et al. Altered cytoplasmic-to-nuclear ratio of survivin is a prognostic indicator in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:2681-9.
  29. Fortugno P, Wall NR, Giodini A, O'Connor DS, Plescia J, Padgett KM, et al. Survivin exists in immunochemically distinct subcellular pools and is involved in spindle microtubule function. *J Cell Sci* 2001;115:575-85.
  30. Mahotka C, Wenzel M, Springer E, Gabbert HE, Gerharz CD. Survivin-deltaEx3 and survivin-2B: two novel splice variants of the apoptosis inhibitor survivin with different antiapoptotic properties. *Cancer Res* 1999;59:6097-102.
  31. Badran A, Yoshida A, Ishikawa K, Goi T, Yamaguchi A, Ueda T, et al. Identification of a novel splice variant of the human anti-apoptosis gene survivin. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;314:902-7.