

유방암에서 Ku70/80, DNA-PKcs,  
ATM의 발현 양상과 임상, 병리  
인자와의 연관성 분석

연세대학교 대학원  
의과학과  
박종필

유방암에서 Ku70/80, DNA-PKcs,  
ATM의 발현 양상과 임상, 병리  
인자와의 연관성 분석

지도교수 양 우 익

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2008년 12월

연세대학교 대학원

의과학과

박 종 필

# 박종필의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

연세대학교 대학원

2008년 12월

## 감사의 글

본 논문이 작성되는 과정에서 많은 우여곡절이 있었습니다. 전공의 업무와 병행하면서 어렵게 쓰여진 논문인지라 논문이 완성된 기쁨보다는 부족한 부분에 대한 아쉬움이 더 큰 마음입니다.

힘든 순간이 많았고, 포기하고 싶은 순간마다 질책이 아닌 이해심으로 이끌어 주셨던 양우익 선생님께 깊은 감사의 말씀을 전하고 싶습니다. 부족함이 많은 논문으로 죄송함도 함께 표하고자 합니다.

실험과정에서 어려움이 있어 곤란에 처했을 때, 바쁜 와중에도 발벗고 나서 tissue microarray 제작 및 면역염색을 손수 해주신 정형재 선생님에게도 감사의 말씀을 전합니다.

비단 논문 때문만은 아니었지만 논문작성으로 집안일에 소홀했음에도 이해해주시고 격려해주신 부모님께도 감사드립니다.

끝으로 고민과 포부를 함께 나누고, 이제는 자신의 꿈을 위해 험난한 미국행을 선택한, 친구지만 존경하는 승섭이에게 이 논문을 바칩니다.

저자 씬

# 차 례

국문요약	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	8
1. 환자군 설정 및 임상정보 확인	8
2. 병리 검색 및 tissue microarray 제작	8
3. 면역조직화학 염색 및 결과 판정	9
4. 통계 분석	10
III. 결과	12
1. 임상정보 및 조직 소견	12
2. 면역조직화학 염색 결과	13
3. 임상과 병리 인자와 면역조직화학 염색 결과 간의 연관 관계 비교	21
IV. 고찰	24
V. 결론	28
참고문헌	29
영문요약	33

그림 차례

Figure 1. Immunohistochemical expression of Ku70,  
Ku80, DNA-PKcs and ATM in invasive  
carcinoma, DCIS and normal tissue  
..... 19

## 표 차례

Table 1. The mean value of Ku70, Ku80, DNA-PKcs and ATM expression in normal, invasive carcinoma, ductal carcinoma in situ, lymph node metastasis and recurrent tissues · · · · ·	17
Table 2. Matched data analysis of the expression patterns of Ku70, Ku80, DNA-PKcs, and ATM between variant types of tissues by Wilcoxon signed rank test · · · · ·	18
Table 3. Correlation analysis of the expression of Ku70, Ku80, DNA-PKcs, and ATM between variant types of tissues · · · · ·	20

Table 4. Correlation analysis of the expression pattern of Ku70, Ku80, DNA-PKcs, and ATM in variant types of tissues . . . . .	21
Table 5. P-values of the correlation analysis between clinicopathologic factors and the expression of Ku70, Ku80, DNA-PKcs, and ATM in invasive carcinomas . . . . .	23
Table 6. Correlation analysis between nuclear and histologic grades and the expression of Ku70, Ku80, DNA-PKcs, and ATM in invasive carcinomas by ANOVA . . . . .	23



## 국문 요약

### 유방암에서 Ku70/80, DNA-PKcs, ATM의 발현 양상과 임상, 병리 인자와의 연관성 분석

Ku 단백질은 Ku70과 Ku80으로 구성되며, DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (DNA-PKcs) 과 결합하여 DNA-dependent protein kinase (DNA-PK) 를 이룸으로써, DNA double strand breaks repair에 관여한다. Ku 단백질의 발현에 문제가 생기는 경우 종양의 발생과 연관되며, 유방암에서도 연관성에 대한 연구가 진행중으로, 소규모로 진행된 기존의 연구 중 관상내피암 또는 저등급 침윤성 암종에서 발현이 증가하고, 고등급 침윤성 암종에서는 발현이 감소한다는 보고가 있었다. ATM은 DNA repair에 관여하는 것으로 널리 알려진 유전자로써, 최근 DNA-PK와의 연관성에 관한 연구들이 보고되고 있다.

이번 연구는 1992년부터 2002년까지 침윤성 유방암종으로 진단받고 유방절제술을 시행한 182 예를 대상으로 하여, 병리와 임상적 소견을 분석하고, 각 예들의 파라핀 블록으로부터 침윤성 암종, 관상내피암, 정상, 액와 림프절 전이, 재발 부위를 취하여, tissue microarray를 제작한 후, Ku70, Ku80, DNA-PKcs, ATM에 대한 면역조직화학 염색을 시행하고, 병리와 임상 인자와의 분석을 시행하였다.

면역조직화학염색 결과, 네 가지 염색 모두에서 정상에 비해 관상내피암의 발현이 증가하는 경향을 보여 주었고, 관상내피암에 비해 침윤성 암종의 발현이 감소하는 경향을 보여주었다. 각각의 염색 내에서는 정상과 종양성 병변 사이에 유의한 상관관계를 보여주었고, 각 염색 간에서도 유의한 상관관계를 보여주었다. 그리고 종양에서의 발현이 핵 등급 (nuclear grade) 과 조직 등급 (histologic grade) 이 높을수록 증가하는 경향을 나타내었고, 종양의 크기 및 액와 림프절 전이 여부와는 연관성을 보여주지 않았다.

결론적으로 유방암의 발생단계 중 증례마다 차이는 있지만 관상내피암에서는 발현이 증가하고, 침윤성 암종에서는 발현이 감소하는 경향을 보인 Ku 단백질 및 DNA-PKcs의 특징적인 면역조직화학염색의 발현 양상을 확인하였고, ATM과의 연관성도 확인할 수 있었다.

---

핵심되는 말 : 유방암, Ku70, Ku80, DNA-PKcs, ATM, 관상내피암

유방암에서 Ku70/80, DNA-PKcs, ATM의 발현 양상과 임상,  
병리 인자와의 연관성 분석

<지도 교수 양우익>

연세대학교 대학교 의과학과

박 종 필

## I. 서 론

유방암은 2003년도 U.S. Cancer Statistics Working Group의 통계에 따르면 미국 여성암 중 가장 발생률이 가장 높은 암이며, 폐암에 이어 두 번째로 흔한 사망원인이다.<sup>1</sup> 국내에서도 1999년부터 2001년 사이에 여성에서 발생한 암 중 위암에 이어 두 번째로 빈번하게 발생하고 있으며,<sup>2</sup> 2004년 암으로 인한 사망 중 위암, 폐암, 간암, 대장암, 담낭암에 이어 여섯 번째로 흔한 사망원인이었고, 유방암으로 인한 사망은 과거에 비해 점차 증가하는 양상을 보이고 있다.<sup>3</sup>

최근 들어 분자유전학의 발전에 따라 유방암에서도 여러 유전인자들의 변화가 유방암의 발생, 예후, 치료에 관련됨이 알려지고 있다. 대표적인 예로 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체, ERBB2/HER2, p53 등이 있으며, 이 중 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체, ERBB2/HER2은 발현 여부에 따라서 치료 및 예후가 달라지게 된다.

Ku 단백질은 Ku70과 Ku80으로 구성된 이형이합체성(heterodimeric) DNA 결합단백(binding protein)으로, 1981년 T. Mimori 등<sup>4</sup>이 scleroderma-polymyositis overlap syndrome 환자에서 자가항체의 주표적으로써 처음 알려지게 되었으며, 정상세포 내에서 DNA-dependent protein kinase의 catalytic subunit (DNA-PKcs) 으로 알려진 460kDa serine-threonine protein kinase와 함께 DNA-dependent protein kinase를 형성하여 DNA double strand breaks (DSBs) repair, 텔로미어(telomere) 보존, 항세포사멸(anti-apoptosis), 유전자전사(gene transcription)의 조절, ATPase 및 helicase로써의 작용 등을 하는 것으로 밝혀졌다.<sup>5</sup>

Ku 단백질은 이와 같이 다양한 기능을 수행하기 때문에 그 기능에 문제가 생기는 경우 역시 다양한 문제를 야기하게 된다. Ku 단백질의 발현이 증가하게 되면 암세포의 증식, 세포사멸(apoptosis)의 억제, 항암제 및 방사선 치료에 대한 저항성 획득 등이 일어나게 되며, Ku 단백질의 발현이 감소하게 되면, 유전자의 불안정성, 염색체 전좌(chromosomal translocation)의 증가, 종양 형성(tumorigenesis), 면역 결핍 등이 일어나게 된다.<sup>5</sup>

이와 같은 기전으로 Ku 단백질이 발암과정(carcinogenesis)에 관여한다는 사실이 밝혀진 암으로는 T 림프구 임파종(T-cell lymphoma),<sup>6</sup> 위암(gastric cancer),<sup>7</sup> 다발성 골수종(multiple myeloma),<sup>8</sup> 간세포암종(hepatocellular carcinoma),<sup>9</sup> B 림프구성 만성 림프구 백혈병(B cell

chronic lymphocytic leukemia)<sup>10</sup> 등이 있다.

유방암에서 Ku 단백질은 일반적으로 발현이 감소함으로써 암의 발생에 관여하는 것으로 알려져 있는데, 최근 몇 가지 주목할 만한 연구결과들이 보고되었다.

Moll 등<sup>11</sup>은 Ku80 면역조직화학 염색을 시행한 결과 상피내암종(carcinoma in situ)에서는 부분적으로 발현이 되었지만, 침윤성 암종(invasive carcinoma)에서는 발현이 되지 않는다고 보고하였고, Pucci 등<sup>12</sup>은 Ku70 및 Ku80에 대한 Western blot을 시행한 결과 저등급침윤성암종(low-grade invasive carcinoma, T stage 1 이면서 histologic grade 1 또는 2인 경우)에서는 Ku 단백질 발현이 증가하는 반면, 고등급침윤성암종(high-grade invasive carcinoma, T stage 2 이면서 histologic grade 2 또는 3인 경우)에서는 Ku 단백질 발현이 정상과 유의한 차이를 보이지 않으며, DNA결합활성도(binding activity)의 경우 저등급침윤성암종(low-grade invasive carcinoma)에서는 정상에 비해 증가하는 반면, 고등급침윤성암종(high-grade invasive carcinoma)에서는 정상에 비해 감소한다고 보고하였다.

Someya 등<sup>13</sup>은 110 명의 유방암 환자에서 정상과 종양조직에서 각각 Ku70 및 Ku80 면역조직화학 염색을 시행하여, 종양세포에서 Ku 단백질 발현은 정상세포의 성질을 물려받으며, 종양세포에서의 낮은 Ku 단백질 발현은 고핵등급(high nuclear grade) 및 액와 림프절(axillary lymph node) 전이와 연관성이 있다고 보고 하였다.

Ataxia-telangiectasia mutated (ATM) 유전자는 염색체 11q22-23에 위치하는 serine/threonine protein kinase로, phosphoinositide 3-kinase-related protein kinase (PIKK) 의 일종이다. ATM 유전자는 상염색체 열성 질환으로 조기발병진행성소뇌성운동실조(early onset progressive cerebellar

ataxia), oculocutaneous telangiectasia, 폐질환에 대한 감수성(susceptibility to bronchopulmonary disease), 임파종 등을 특징으로 하는 ataxia-telangiectasia에서 결손되는 것으로 처음 알려졌으나, 이후 DNA 손상 회복에 관여하는 기능, 그 중에서도 DNA double-strand breaks (DSBs) 복구에 관련되어 있음이 보고되었다.<sup>14</sup> DNA double strand break 이 발생하게 되면, ATM이 활성화 되어, 세포주기 검사지점 (cell-cycle check point) 에 신호를 보내 다음 단계로의 진행을 멈추게 하는 한편, DNA repair에 관여하는 인자들이 작용하도록 유도한다.

산발성(sporadic) 유방암에서 ATM locus의 loss of heterozygosity (LOH) 는 30-40%에서 관찰되고, 50-70%에서 정상 조직에 비해 종양조직에서 발현이 감소하는 경향을 보이는 것으로 알려져 있고,<sup>15</sup> 특히 분화가 나뉠수록 발현이 감소하는 것으로 알려져 있다.<sup>16</sup> 이는 유방암의 발암과정에 ATM이 관여하고 있음을 시사하는 것으로, 보다 명확한 기전을 알기 위해서는 추가적인 연구가 필요한 상황이다.

DNA-PKcs는 ATM와 같이 모두 phosphoinositide 3-kinase-related protein kinase (PIKK)의 일종으로, DNA double-strand breaks (DSBs) 복구에 관여하는 것으로 알려져 있다. ATM은 주로 DNA 손상시 초기 신호전달(signaling)에 관여하고, DNA-PKcs는 복구 과정에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 이들 작용의 직접적인 연관성에 대한 연구<sup>17</sup>가 진행되고 있다. Treilleux 등<sup>18</sup>은 92명은 유방암 환자를 대상으로 ATM과 DNA-PKcs에 대한 면역조직화학 염색을 시행한 연구에서 24 예의 정상 DNA-PKcs 발현을 보이는 경우 중 22 예에서 감소된 ATM의 발현을 보였고, 29 예의 경우는 DNA-PKcs와 ATM 모두 감소된 발현을 보였음을 보고하면서 ATM과 DNA-PKcs 사이에 상호 조절 작용이 존재한다는 가설을 제안하였다.

본 연구에서는 유방암의 발생과정에서 Ku70, Ku80, DNA-PKcs로 구성되는 DNA-dependent protein kinase의 발현 양상을 확인하고, 병리와 임상 인자들과의 관계에 대해 분석하며, ATM과의 연관성을 알아보고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 환자군 설정 및 임상정보 확인

연세대학교 의과대학 부속 신촌 세브란스 병원에서 1992년 1월부터 2002년 12월까지 유방암을 진단받고 유방절제술을 시행한 환자 중 병리 검색이 가능한 174명 환자의 182 예 (8 예의 양측 유방절제술 시행 환자 포함) 를 대상으로 하였다. 환자의 의무 기록을 참고하여 수술 당시의 나이, 성별, 수술 방법, 조직병리 결과, 종양의 크기, 재발 여부 등을 조사하였다.

### 2. 병리 검색과 tissue microarray 제작

#### 가. 병리조직 판독

의무기록을 통해 확인된 병리번호에 따라 기존에 제작된 hematoxylin-eosin (H&E) 염색 슬라이드를 찾고, 광학 현미경 검색을 통해 종양의 조직 유형(histologic type), 핵 등급(nuclear grade), 조직 등급(histologic grade) 등을 확인하였다.

#### 나. Tissue microarray 제작

10% 중성 포르말린에 12시간 이상 고정 후 일련의 과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 보관된 조직을 이용하였고, 각 증례의 파라핀 블록에서 대표적인 원발부위 침윤성 암종 조직, 관상내피암 조직, 정상 조직, 액와 림프절 전이 부위 조직, 재발 부위 조직을 골라 직경 5mm의 조직 심을 취하



여 tissue microarray (TMA)를 제작하였다.

### 3. 면역조직화학 염색 및 결과 판정

Ku70, Ku80, DNA-PKcs, ATM에 대한 면역조직화학 염색은 polymer/HRP (dextran polymer conjugated with horseradish peroxidase) 염색법으로 시행하였다.

파라핀으로 포매된 TMA 블록을 5 $\mu$ m 두께로 박절하여 silane coated slide 위에 조직절편을 부착시킨 후 60 $^{\circ}$ C 오븐에서 1시간 건조시켰다. 자일렌에서 탈 파라핀 과정과 고농도 알코올에서 저농도 알코올, 증류수까지의 함수과정을 거치고, 항원 부활처리를 위해 10mM 구연산 완충액 (pH6.0)에 넣고 10분간 전자레인지에서 끓인 후 꺼내어 실온에서 식혔다.

슬라이드는 내인성 과산화효소 활성도를 저지하기 위해 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 15분간 처리하고, Tris-Buffered saline(TBS)에 5분간 세척한 후 일차항체를 실온에서 2시간 반응시켰다. 일차항체로는 Ku70 (mouse monoclonal, 1:1000, Thermo Fisher Scientific, Fremont, CA), Ku80 (mouse monoclonal, 1:1000, Thermo Fisher Scientific, Fremont, CA), DNA-PKcs (mouse monoclonal, 1:1000, Thermo Fisher Scientific, Fremont, CA), ATM (mouse monoclonal, 1:200, Chemicon, Temecula, CA) 을 사용하였다.

일차항체 처리가 끝난 슬라이드는 세 차례 TBS로 세척한 후 EnVision kit (DakoCytomation, Denmark) 으로 실온에서 30분간 반응시켰고, TBS로 세 차례 세척한 후, NovaRed substrate kit (VECTOR

Laboratory, Burlingame, CA) 을 이용하여 현미경 검경 하에서 발색한 후 증류수에서 발색을 정지, Harris Hematoxylin으로 대조염색을 시행하고, 탈색과 현색 과정을 거친 후 탈수, 투명, 봉입과정을 거쳤다.

각 염색의 판정은 유방암의 에스트로젠과 프로게스테론 수용체 면역조직 화학 염색 판정 시 이용되는 Allred scoring system<sup>19</sup>을 이용하여, 염색 분포 비율과 강도를 각각 판정하여 합산하였다. 분포 비율은 각각 0% (negative), 1% 미만, 1-10%, 10-33%, 33-66%, 66-100%에 대해 0, 1, 2, 3, 4, 5점을 부여하였고, 강도는 negative, weak, intermediate, strong 으로 구분하여, 각각에 대해 0, 1, 2, 3점을 부여하여, 각 예에 대하여 0부터 8까지의 점수를 부여하였다.

#### 4. 통계 분석

Ku70, Ku80, DNA PKcs, ATM 발현 양상의 원발부위 침윤성 암종 조직, 관상내피암 조직, 정상 조직, 액와 림프절 전이 부위 조직, 재발 부위 조직 사이에 차이 및 상관관계 여부, 각 염색들 간의 상관관계, 종양 및 정상 조직에서의 발현과 나이, 조직 유형, 핵 등급, 조직 등급, 종양의 크기, 액와 림프절 전이 여부 사이의 연관성에 대해 통계적 검증을 시행하였다.

원발 부위 침윤성 암종 조직, 관상내피암 조직, 정상 조직, 액와 림프절 전이 부위 조직, 재발 부위 조직 사이에 차이에 대해서는 Wilcoxon signed rank test를, 원발 부위 침윤성 암종 조직, 관상내피암 조직, 정상 조직, 액와 림프절 전이 부위 조직, 재발 부위 조직 사이의 상관관계, 각 염색 간의 상관관계, 종양 및 정상 조직에서의 발현과 나이 사이의 상관관

계, 그리고 종양 및 정상 조직에서의 발현과 종양 크기 사이의 관계는 Pearson's correlation coefficient를, 종양 및 정상 조직에서의 발현과 조직 유형, T stage, 핵 등급, 조직 등급 사이의 관계에 대해서는 일원배치 분산분석 (ANOVA) 을, 종양 및 정상 조직에서의 발현과 액와 림프절 전이 여부와의 관계에 대해서는 t-test를 각각 이용하여 분석하였다.

통계 검증은 SPSS for Window(Version 10.0)을 사용하고, P-value가 0.05 미만인 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

### III. 결과

#### 1. 임상정보와 조직 소견

본 연구에는 174명 환자의 182 예 (8개의 양측 유방절제술 시행 환자 포함)가 포함되었다. 연령분포는 23세에서 71세까지였으며, 평균 나이는 45.04세였다.

병리 유리슬라이드 표본 판독 결과, 침윤성 암종이 존재하는 경우는 174 예였다. 병력조회 결과 나머지 8 예는 외부병원에서 절제술을 시행하고, 침윤성 암종으로 진단되었으나, 본원에서 시행한 유방절제술 결과, 남아있는 침윤성 암종이 없었던 예였다.

조직 유형 분류는 침윤성관암종 170 예, 수질암종 9 예, 점액성 암종 2 예, 침윤성 유두상 암종 1 예였다.

종양의 크기를 확인할 수 있었던 증례는 53 예였으며, 0.8cm에서 10cm까지 분포하였고, 평균 크기는 2.64cm였다. T stage 별로 각각 T1 27 예, T2 23 예, T3 3 예였다.

핵 등급과 조직 등급은 침윤성 암종이 존재하였던 174 예에 대하여 판정하였고, 핵 등급 상 1은 6 예, 2는 105 예, 3은 63 예였고, 조직 등급 상 I은 33 예, II는 91 예, III은 50 예였다.

유방절제술 당시 액와 림프절 전이가 있었던 경우는 108 예였고, 74 예에서는 액와 림프절 전이가 없었다.

TMA 블록 제작을 위해 파라핀 블록을 확인한 결과 원발 부위 침윤성 암종은 170 예, 관상내피암은 40 예, 이 중 원발 부위 침윤성 암종과 관상내피암이 함께 얻어진 경우는 32 예였고, 정상조직은 172 예, 액와 림프절

전이 부위 조직은 91 예, 재발 부위 조직은 22 예를 각각 얻어 TMA 제작에 이용할 수 있었다.

## 2. 면역조직화학 염색 결과

Ku70, Ku80, DNA-PKcs, ATM은 종양과 정상조직 모두 핵 염색 양상을 보였다. 이를 정량적으로 환산하기 위해 유방암의 에스트로젠과 프로그스테론 수용체 염색의 판정에 이용되는 Allred scoring system<sup>19</sup>을 이용하여, 각각의 염색에 대해 분포 비율(proportion)과 강도(intensity)를 구분하여 판독하고, 이를 점수화하여 합산한 후 통계 분석하였다.

### 가. Ku70

Ku70 염색 상 전체적으로는 침윤성 암종에서 5.79, 관상내피암에서 6.46, 정상에서 5.88, 액와 림프절 전이 부위에서 6.11, 재발 부위에서 6.09의 발현을 나타내었다 (Table 1).

직접 비교가 가능한 예 사이의 비교에서, 정상과 관상내피암 사이, 관상내피암과 침윤성 암종 사이, 그리고 정상과 액와 림프절 전이 사이에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (Table 2). 정상과 관상내피암 사이에서 20 예는 관상내피암에서 발현의 증가를, 4 예는 정상에서 발현의 증가를, 그리고 14 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 관상내피암과 침윤성 암종 사이에서 16 예는 관상내피암에서 발현의 증가를, 16 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다 (Fig. 1). 정상과 액와 림프절 전이 사이에서 33 예는 액와 림프절 전이에서 발현의 증가를, 16 예는 정상에서 발현의 증가를, 37 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 정상과 침윤성 암종 간의 직접 비교에서 59 예는 침윤성 암종에서 발현의 증가를, 43 예는 정상에서 발현

의 증가를, 58 예는 동일한 발현 양상을 나타내었으며, 통계적으로는 유의한 차이를 보이지 않았다.

침윤성 암종, 관상내피암, 정상, 액와 림프절 전이에서의 발현 사이에는 유의한 양의 상관관계가 있음을 보여주었다. 그러나 재발 부위와는 유의한 상관관계를 보여주지 않았다 (Table 3).

#### 나. Ku80

Ku80 염색 상 전체적으로는 침윤성 암종에서 4.65, 관상내피암에서 5.95, 정상에서 7.73, 액와 림프절 전이에서 4.83, 재발 부위에서 5.65의 발현을 나타내었다 (Table 1).

직접 비교가 가능한 예 사이의 비교에서, 정상과 침윤성 암종 사이, 관상내피암과 침윤성 암종 사이, 정상과 액와 림프절 전이 사이, 그리고 액와 림프절 전이와 재발부위 사이에 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (Table 2). 정상과 침윤성 암종 사이에서 87 예는 정상에서 발현의 증가를, 28 예는 침윤성 암종에서 발현의 증가를, 45 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 관상내피암과 침윤성 암종 사이에서는 17 예는 관상내피암에서 발현의 증가를 15 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다 (Fig. 1). 정상과 액와 림프절 전이 사이에서 47 예는 정상에서 발현의 증가를, 17 예는 액와 림프절 전이에서 발현의 증가를, 22 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 액와 림프절 전이와 재발 부위 사이에서 11 예는 재발 부위에서 발현의 증가를, 3 예는 액와 림프절 전이에서 발현의 증가를, 1 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 정상과 관상내피암 사이에서는 16 예는 관상내피암에서 발현의 증가를, 6 예는 정상에서 발현의 증가를, 16 예는 동일한 발현 양상을 나타내었으며, 통계적으로는 유의한 차이를 나타내지 않았다.

침윤성 암종, 관상내피암, 정상, 액와 림프절 전이에서의 발현 사이에는

유의한 양의 상관관계가 있음을 보여주었다. 재발 부위의 경우 액와 림프절 전이와는 유의한 양의 상관관계를 보여주었으나, 침윤성 암종, 관상내피암, 정상과는 유의한 관계를 보여주지 않았다 (Table 3).

#### 다. DNA-PKcs

DNA-PKcs 염색 상에서 전체적으로는 침윤성 암종에서 5.69, 관상내피암에서 6.40, 정상에서 5.43, 액와 림프절 전이에서 5.62, 재발 부위에서 6.95의 발현을 나타내었다 (Table 1).

직접 비교가 가능한 예 사이의 비교에서 정상과 침윤성 암종, 정상과 관상내피암, 관상내피암과 침윤성 암종, 정상과 재발 부위, 그리고 침윤성 암종과 재발 부위 사이에 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (Table 2). 정상과 침윤성 암종 사이에서 91 예는 정상에서 발현의 증가를, 39 예는 침윤성 암종에서 발현의 증가를, 30 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 정상과 관상내피암 사이에서는 28 예는 관상내피암에서 발현의 증가를, 5 예는 정상에서 발현의 증가를, 5 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 관상내피암과 침윤성 암종 사이에서 11 예는 관상내피암에서 발현의 증가를, 1 예는 침윤성 암종에서 발현의 증가를, 20 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다 (Fig. 1). 정상과 재발 부위 사이에서는 17 예는 재발 부위에서 발현의 증가를, 1 예는 정상에서 발현의 증가를, 3 예는 동일한 발현양상을 나타내었다. 침윤성 암종과 재발부위 사이에서 10 예는 재발 부위에서 발현의 증가를, 2 예는 침윤성 암종에서 발현의 증가를, 9 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다.

침윤성 암종, 관상내피암, 정상, 액와 림프절 전이에서의 발현 사이에는 유의한 양의 상관관계가 있음을 보여주었다. 그러나 재발 부위와는 유의한 상관관계를 보여주지 않았다 (Table 3).

## 라. ATM

ATM 염색 상에서 전체적으로는 침윤성 암종에서 4.57, 관상내피암에서 5.48, 정상에서 4.66, 액와 림프절 전이에서 5.36, 재발 부위에서 6.05의 발현을 나타내었다 (Table 1).

직접 비교가 가능한 예 사이의 비교에서 정상과 관상내피암, 관상내피암과 침윤성 암종, 정상과 액와 림프절 전이, 정상과 재발 부위, 침윤성 암종과 액와 림프절 전이, 그리고 침윤성 암종과 재발 부위 사이에 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (Table 2). 정상과 관상내피암 사이에서 21 예는 관상내피암에서 발현의 증가를, 1 예는 정상에서 발현의 증가를, 16 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 관상내피암과 침윤성 암종 사이에서 12 예는 관상내피암에서 발현의 증가를, 20 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다 (Fig. 1). 정상과 액와 림프절 전이 사이에서 55 예는 액와 림프절 전이에서 발현의 증가를, 11 예는 정상에서 발현의 증가를, 20 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 정상과 재발 부위 사이에서 19 예는 재발 부위에서 발현의 증가를, 2 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 침윤성 암종과 액와 림프절 전이 사이에서 35 예는 액와 림프절 전이에서 발현의 증가를, 7 예는 침윤성 암종에서 발현의 증가를, 42 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 침윤성 암종과 재발 부위 사이에서 12 예는 재발 부위에서 발현의 증가를, 2 예는 침윤성 암종에서 발현의 증가를, 7 예는 동일한 발현 양상을 나타내었다. 침윤성 암종과 정상 사이에서는 65 예는 침윤성 암종에서 발현의 증가를, 52 예는 정상에서 발현의 증가를, 43 예는 동일한 발현 양상을 나타내었지만 통계적으로는 유의한 차이를 보이지는 않았다.

침윤성 암종, 관상내피암, 정상, 액와 림프절 전이 전이에서의 발현 사이에는 유의한 양의 상관관계가 있음을 보여주었다. 그러나 재발 부위에서는



침윤성 암종, 정상, 액와 림프절 전이와 유의한 상관관계를 보이지 않았고, 관상내피암과는 오히려 역상관관계를 보여주었다 (Table 3).

마. Ku70, Ku80, DNA-PKcs, ATM 면역염색 간의 상관관계

침윤성 암종, 관상내피암, 정상, 액와 림프절 전이의 경우 네 가지 면역염색 사이에 통계적으로 유의한 상관관계를 보였다. 재발 부위에서는 Ku70과 ATM, Ku80과 DNA-PKcs, DNA-PKcs와 ATM사이에 유의한 상관관계를 나타내었다 (Table 4).

Table 1. The mean value of Ku70, Ku80, DNA-PKcs and ATM expression in normal, invasive carcinoma, ductal carcinoma in situ, lymph node metastasis and recurrent tissues

	Normal	Invasive carcinoma	DCIS	LN mets	Recur
Case No.	172	170	40	91	22
Ku70	5.88	5.79	6.46	6.11	6.09
Ku80	5.73	4.65	5.95	4.83	5.65
DNA-PKcs	5.43	5.69	6.4	5.62	6.95
ATM	4.66	4.57	5.47	5.35	6.05

DCIS: Ductal carcinoma in situ

LN mets: Lymph node metastasis

Recur: Recurrent tissue

DNA-PKcs: DNA-dependent protein kinase catalytic subunit

ATM: Ataxia-telangiectasia mutated

Table 2. Matched data analysis of the expression patterns of Ku70, Ku80, DNA-PKcs, and ATM between variant types of tissues by Wilcoxon signed rank test

Case No.		Normal- IC	Normal- DCIS	LN mets- Normal	Recur- Normal	DCIS- IC	LN mets- IC	Recur- IC	LN mets- DCIS	Recur- DCIS	Recur- LN mets
		160	38	86	21	32	84	21	21	4	15
Ku70	Negative	59	20	16	3	0	20	6	6	2	2
	Positive	43	4	33	9	16	28	9	2	1	5
	Ties	58	14	37	9	16	36	6	13	1	8
	P-value	0.509	0.003*	0.120	0.104	0.001	0.255	0.29	0.272	1.000	0.439
Ku80	Negative	28	16	47	9	0	21	5	8	2	3
	Positive	87	6	17	8	17	31	12	3	1	11
	Ties	45	16	22	4	15	32	4	10	1	1
	P-value	0.000*	0.211	0.000*	0.682	0.000	0.136	0.05	0.065	0.564	0.012*
DNA-PKcs	Negative	91	28	17	1	1	26	2	7	1	2
	Positive	39	5	42	17	11	19	10	4	0	8
	Ties	30	5	27	3	20	39	9	10	3	5
	P-value	0.020*	0.000*	0.125	0.000	0.004	0.477	0.01	0.080	0.317	0.056
ATM	Negative	65	21	11	0	0	7	2	3	0	2
	Positive	52	1	55	19	12	35	12	7	1	4
	Ties	43	16	20	2	20	42	7	11	3	9
	P-ue	0.407	0.000*	0.000*	0.000	0.002	0.000*	0.00	0.918	0.317	0.395

\*p<0.05

IC: Invasive carcinoma DNA-PKcs: DNA-dependent protein kinase catalytic subunit

DCIS: Ductal carcinoma in situ ATM: Ataxia-telangiectasia mutated

LN mets: Lymph node metastasis

Recur: Recurrent tissue

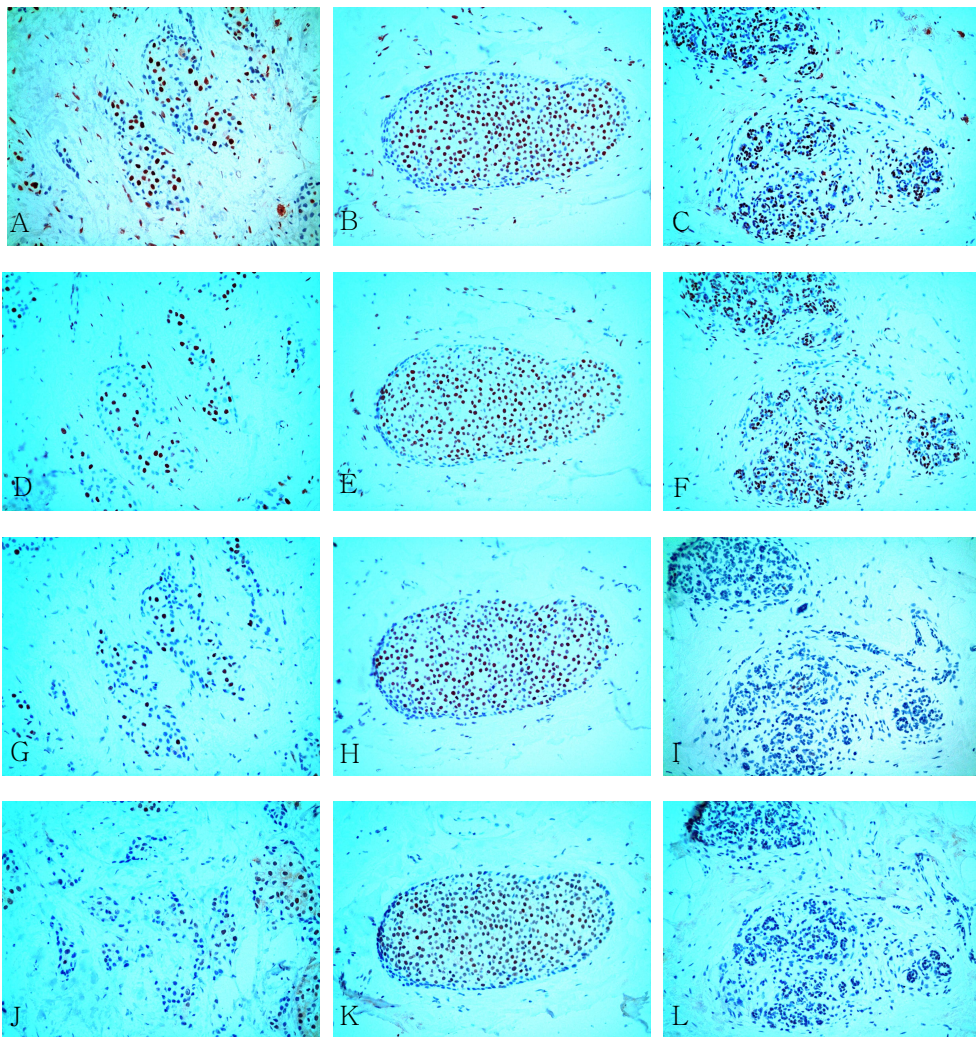


Figure 1. Immunohistochemical expression of Ku70, Ku80, DNA-PKcs and ATM in invasive carcinoma, DCIS and normal tissue. (x200) A: Ku70 in invasive carcinoma. B: Ku70 in DCIS. C: Ku70 in normal tissue. D: Ku80 in invasive carcinoma. E: Ku80 in DCIS. F: Ku80 in normal tissue. G: DNA-PKcs in invasive carcinoma. H: DNA-PKcs in DCIS. I: DNA-PKcs in normal tissue. J: ATM in invasive carcinoma. K: ATM in DCIS. L: ATM in normal tissue.

Table 3. Correlation analysis of the expression of Ku70, Ku80, DNA-PKcs, and ATM between variant types of tissues

		Normal- IC	Normal- DCIS	LN mets- Normal	Recur- Normal	DCIS- IC	LN mets- IC	Recur- IC	LN mets- DCIS	Recur- -DCIS	Recur- LN mets
Ku70	Correlation	0.250	0.440	0.489	0.069	0.559	0.296	-0.143	0.447	-0.870	-0.293
	P-value	0.001*	0.007*	0.000*	0.767	0.001*	0.006*	0.537	0.042*	0.130	0.289
Ku80	Correlation	0.401	0.739	0.456	0.079	0.656	0.510	-0.185	0.618	0.000	0.538
	P-value	0.000*	0.000*	0.000*	0.728	0.000*	0.000*	0.410	0.003*	1.000	0.038*
DNA-PKcs	Correlation	0.361	0.543	0.547	0.102	0.515	0.450	-0.048	0.345	0.816	-0.087
	P-value	0.000*	0.000*	0.000*	0.661	0.003*	0.000*	0.836	0.137	0.184	0.758
ATM	Correlation	0.465	0.456	0.439	0.153	0.521	0.414	-0.278	0.048	-1.000	-0.045
	P-value	0.000*	0.004*	0.000*	0.508	0.002*	0.000*	0.222	0.839	0.000*	0.875

\*p<0.05

IC: Invasive carcinoma      DNA-PKcs: DNA-dependent protein kinase catalytic subunit  
 DCIS: Ductal carcinoma in situ      ATM: Ataxia-telangiectasia mutated  
 LN mets: Lymph node metastasis  
 Recur: Recurrent tissue

Table 4. Correlation analysis of the expression pattern of Ku70, Ku80, DNA-PKcs, and ATM in variant types of tissues

		Ku70- Ku80	Ku70- DNA-PKcs	Ku70- ATM	Ku80- DNA-PKcs	Ku80- ATM	DNA-PKcs- ATM
Invasive carcinoma	Correlation	0.677	0.659	0.560	0.636	0.594	0.513
	P-value	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
DCIS	Correlation	0.723	0.500	0.509	0.609	0.486	0.361
	P-value	0.000*	0.001*	0.001*	0.000*	0.001*	0.022*
Normal	Correlation	0.526	0.514	0.495	0.617	0.548	0.495
	P-value	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
LN mets	Correlation	0.546	0.425	0.31	0.434	0.388	0.220
	P-value	0.000*	0.000*	0.003*	0.000*	0.000*	0.038*
Recur	Correlation	0.289	0.315	0.578	0.550	0.226	0.472
	P-value	0.193	0.153	0.005*	0.008*	0.313	0.026*

\*p<0.05 DNA-PKcs: DNA-dependent protein kinase catalytic subunit  
 ATM: Ataxia-telangiectasia mutated  
 DCIS: Ductal carcinoma in situ  
 LN mets: Lymph node metastasis  
 Recur: Recurrent tissue

### 3. 임상과 병리 인자와 면역조직화학 염색 결과 간의 연관관계 비교

#### 가. 나이

네 가지 염색 모두에서 나이와 종양 및 정상 부위의 발현 양상에는 유의한 상관관계를 보이지 않았다 (Table 5).

#### 나. 조직 유형

네 가지 염색 모두에서 조직 유형과 종양의 발현 양상 사이에는 유의한 상관관계를 보이지 않았다 (Table 5).

다. 종양의 크기 및 T stage

네 가지 염색 모두에서 종양의 크기 및 T stage와 종양의 발현 양상 사이에는 유의한 상관관계를 보이지 않았다 (Table 5).

라. 핵 등급과 조직 등급

Ku70와 DNA PKcs 염색의 경우 핵 등급 및 조직 등급이 증가할수록 발현이 증가하는 양상을 나타내었고, 통계적으로도 유의한 차이를 보여 주었다. ATM 염색의 경우 핵 등급 및 조직 등급이 증가할수록 발현이 증가하는 양상을 보였으나, 통계적인 유의성은 나타내지 않았다. Ku80 염색의 경우 핵 등급 및 조직 등급과 특이한 연관성을 보이지 않았다 (Table 6).

마. 액와 림프절 전이

수술 당시 액와 림프절 전이가 있는 군과 없는 군 사이에 종양에서의 발현 양상의 차이는 네 가지 염색 모두에서 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 5)

Table 5. P-values of the correlation analysis between clinicopathologic factors and the expression of Ku70, Ku80, DNA-PKcs, and ATM in invasive carcinomas

	Ku70	Ku80	DNA-PKcs	ATM
Age (tumor) <sup>+1)</sup>	0.253	0.524	0.712	0.822
Age (normal) <sup>+2)</sup>	0.347	0.276	0.644	0.124
Histologic type <sup>++</sup>	0.727	0.312	0.596	0.261
Tumor size <sup>+</sup>	0.097	0.563	0.237	0.193
T stage <sup>++</sup>	0.343	0.599	0.546	0.511
LN mets <sup>+++</sup>	0.059	0.804	0.227	0.493

<sup>+</sup>Analyzed by Pearson correlation efficient

<sup>++</sup>Analyzed by ANOVA

<sup>+++</sup>Analyzed by T-test

<sup>1)</sup>Correlation between invasive carcinoma and age

<sup>2)</sup>Correlation between normal tissue and age

DNA-PKcs: DNA-dependent protein kinase catalytic subunit

ATM: Ataxia-telangiectasia mutated

LN mets: presence of axillary lymph node metastasis

Table 6. Correlation analysis between nuclear and histologic grades and the expression of Ku70, Ku80, DNA-PKcs, and ATM in invasive carcinomas by ANOVA

	Ku70	Ku80	DNA-PKcs	ATM
NG 1	4.17	4.16	3.5	3
NG 2	5.69	4.69	5.54	4.56
NG 3	6.11	4.62	6.16	4.74
P-value	0.004*	0.773	0.001*	0.061
HG 1	5.24	4.42	4.97	4
HG 2	5.74	4.66	5.75	4.61
HG 3	6.22	4.8	6.08	4.88
P-value	0.011*	0.651	0.023*	0.071

\*p<0.05

DNA-PKcs: DNA-dependent protein kinase catalytic subunit

ATM: Ataxia-telangiectasia mutated

NG: Nuclear grade

HG: Histologic grade

#### IV. 고찰

유방암의 발생에 연관된 가장 주된 위험인자는 에스트로겐이다. 이는 종양 및 전암 병변(premalignant lesion)에서 증식을 유도하는 역할을 할 뿐만 아니라, 그 대사물이 자유라디칼(free radical)로써 DNA 손상을 일으켜 종양의 발생에 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>20</sup> 방사선 역시 위험 인자로서, 어린 나이에 노출되는 경우와 고용량에 노출되는 경우 유방암 발생률을 높이는 것으로 알려져 있다.<sup>20</sup> 자유라디칼 및 방사선은 주로 DNA double-strand breaks (DSBs)을 유도하며, DNA-dependent protein kinase (DNA-PK)와 ATM은 이를 회복하는 과정에 관여하는 것으로 알려져 있다.

Ku 단백질은 이형이합체성(heterodimeric) DNA결합복합체(binding complex)로써 Ku70과 Ku80으로 이루어져 있다. 이는 DNA-PKcs와 함께 복합체를 이루어 DNA-PK로써 기능하며, DNA DSBs 복구 중 non-homologous end joining에 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>5</sup> 본 연구에서는 종양 및 정상조직에서 Ku70, Ku80, 그리고 DNA-PKcs 염색이 발현하는 양상 사이에 유의한 상관관계가 있었다.

Ku 단백질 및 DNA-PKcs의 발현이 증가하게 되면 암세포의 증식, 세포사멸의 억제, 항암제 및 방사선치료에 대한 저항성 획득 등이 일어나게 되며, Ku 단백질 및 DNA-PKcs의 발현이 감소하게 되면, 유전자의 불안정성, 염색체 전좌의 증가, 종양 형성, 면역 결핍 등이 일어나게 되어, Ku 단백질과 DNA-PKcs는 발현의 증가 및 감소가 모두 종양의 발생과 연관된 것으로 알려져 있다.<sup>5</sup>

한편 유방암에서는 이들의 발현이 감소하여, 종양의 발생에 관여하는 것으로 알려져 있으며,<sup>13, 18</sup> 일부 연구에서 특이하게 관상내피암이나 조기 침



윤성 암종에서는 발현이 증가하는 것으로 보고된 바 있다.<sup>11, 12</sup> 본 연구에서는 증례마다 차이가 있지만 Ku70, Ku80 그리고 DNA-PKcs 세 가지 염색 모두에서 관상내피암의 경우가 정상에 비해 발현이 증가하는 경향을 보였고, Ku70과 DNA-PKcs에서는 통계적으로 유의한 결과를 보여주었다. 그리고 세 가지 염색 모두에서 침윤성 암종은 관상내피암에 비해 발현이 감소하는 경향을 보였고, 통계적으로도 유의한 차이를 나타내었다. 이는 정상에서 관상내피암으로 가는 과정, 또는 관상내피암에서 침윤성 암종으로 가는 과정에서 이들의 양적 표현의 변화가 나타나는 것을 시사한다. 이와 같은 현상은 기존의 연구<sup>11</sup>에서도 보고된 바 있으나, 분석된 예가 적은 수였기 때문에 단정적으로 해석하기에 무리가 따랐으나, 많은 예를 대상으로 한 본 연구에서도 이와 같은 경향을 확인할 수 있었다. 이와 같은 현상이 의미하는 바에 대해서 Ku 단백질이 다양한 기능을 가지고 있으므로 명확한 결론을 내리기는 어려울 것으로 생각한다. 또한 단백질의 발현은 증가하나, 실제로 이들의 기능이 활성화되는지에 대해서도 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각하며, 정상에 비해 관상내피암에서 발현이 증가한 부분에 대한 해석에도 어려움이 있다.

침윤성 암종과 정상 유방 조직 간의 관계에 있어서는 다소 일치되지 않는 결과를 보여주었다. Ku70 및 DNA-PKcs 염색의 경우 정상에 비해 침윤성 암종에서 증가된 발현 양상을 보인 경우가 더 많았으며, Ku80 염색의 경우는 정상에서 그 발현이 증가한 경우가 많았다. 이전의 연구<sup>13, 18</sup>에서 DNA-PK는 정상에 비해 침윤성 암종에서 발현이 감소하는 것으로 알려져 있으며, 본 연구의 결과는 이와 어긋나는 양상을 보여주고 있다. 이와 같은 결과가 나타난 이유로 면역염색을 통한 정량적 분석이 가지는 한계점을 고려해 볼 수 있겠으며, 이를 극복하기 위해서는 Western blot 등의 보다 정밀한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

액와 림프절 전이 및 재발 부위에서의 발현은 침윤성 암종의 발현 양상을 따를 것으로 예상했었고, 대부분의 경우 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나, DNA-PKcs 염색의 경우 재발 부위에서 원발 부위에 비해 증가된 발현 양상을 보여 주었다.

각각의 염색 내에서 침윤성 암종, 관상내피암, 정상, 액와 림프절 전이의 발현 사이에 양의 상관관계를 보여 주었고, 이는 기존의 연구<sup>13</sup>와도 부합하는 내용으로 정상세포가 가지는 DNA-PK의 발현양상이 종양으로도 전달됨을 시사한다고 할 수 있겠다. 하지만 재발부위의 경우에는 일관된 결과를 보여주지 않았고, 재발되는 경우 새로운 clonal selection에 의해 진행되는 것으로 추측해 볼 수 있겠다.

나이 및 조직 유형과는 유의한 연관성을 보이지 않았다. 조직 유형의 경우, 본 연구에 포함된 대부분이 침윤성 관암종이었고, 나머지의 경우 수질암종 9 예, 점액성 암종 2 예, 침윤성 유두상 암종 1 예로 이루어져 있었다. 점액성 암종과 침윤성 유두상 암종의 경우 증례의 수가 적어 통계적 유의성을 갖는다고 보기 어려웠으며, 비교적 흔한 침윤성 소엽 암종 등이 포함되지 않아 본 연구만으로 조직 유형에 따른 발현 양상의 차이에 대해 결론을 내리기는 어려울 것으로 생각한다.

종양의 크기 또는 T stage도 DNA-PK의 발현과 연관성이 없는 것으로 나타났다. 일부 연구<sup>12</sup>에서 조기 T stage 침윤성 암종에서 DNA-PK의 발현이 증가한다는 보고가 있었으나, 이는 10 예 미만을 연구한 것으로, 이번 많은 증례를 대상으로 한 본 연구는 상이한 결과를 보여주었다.

핵 등급 및 조직 등급이 증가할수록 침윤성 암종에서 Ku70 및 DNA-PKcs 염색의 발현도 증가하는 것으로 나타났고, 이는 Someya 등<sup>13</sup>의 연구와는 다른 결과를 보여주었다. Someya 등은 110명의 유방암 환자를 대상으로 한 연구에서 핵 등급에 따라 1인 군과 2 또는 3인 군을 나누

어 비교하였고, 상대적으로 1인 군이 Ku70/80 염색에서 강한 발현을 보이는 것으로 보고하였으나, 통계적 유의성을 보여주지는 못하였다. 반면 Treilleux 등<sup>18</sup>은 92명의 유방암 환자를 대상으로 한 연구에서 본 연구와 같이 등급이 증가함에 따라 DNA-PKcs의 발현도 증가함을 보여주었고, 통계적 유의성도 확인하였다. 본 연구의 결과도 Treilleux 등의 결과와 같이, 핵 등급 및 조직 등급이 증가할수록 침윤성 암종에서 DNA-PK의 발현도 증가하였다.

유방절제술 시행시 액와 림프절 전이가 있는 군과 없는 군 사이의 비교에서 Ku70 및 DNA-PKcs 염색의 경우 전이가 있는 군에서 보다 높은 발현 양상을 보였으나 통계적 유의성은 보여주지 못했다. Ku80 염색의 경우는 반대로 전이가 없는 group에서 보다 높은 발현 양상을 보였으나 역시 통계적 유의성은 보여주지 못하였다. 이는 이전의 보고<sup>13</sup>에서 Ku70/80의 낮은 발현이 높은 빈도의 액와 림프절 전이와 연관성이 있다는 내용과는 일치하지 않는 결과였다.

ATM은 세포분열 과정 중 세포주기 검사지점에서 잘못된 DNA를 인지하는 기능을 하는 것으로 알려져 있다. 정상인의 경우 1%에서 ATM locus의 loss of heterozygosity (LOH) 를 보이지만, 산발성 유방암에서는 30-40%에서 LOH가 관찰되고, 50-70%에서 정상 조직에 비해 종양조직에서 발현이 감소하는 경향을 보이는 것으로 알려져 있다.<sup>15</sup>

ATM과 DNA-PK 사이의 연관성에 대해서 최근 연구들이 보고되고 있다. ATM은 DNA 손상시 이를 인지하는 시작 신호전달 (initiation signaling) 과정에, DNA-PK는 non-homologous end-joining repair에 직접 관여하고 있으며, 이들의 작용 사이에 직접적인 연관성이 있음을 보여주는 연구<sup>21</sup>가 보고되고 있다. 본 연구에서도 ATM과 DNA-PKcs 사이에 발현이 유사한 양상을 보여주었는데, 면역염색들 간의 상관관계에 있어 침윤성

암종, 관상내피암, 정상, 액와 림프절 전이의 경우 통계적으로 유의한 상관 관계를 보여준 것뿐만 아니라, 정상에 비해 관상내피암에서 발현이 증가했다가, 침윤성 암종이 되면 다시 감소하는 경향 역시 확인되었다. 그밖에 통계적인 유의성은 보여주지 못하였지만, 핵 등급 및 조직 등급이 증가할수록 발현이 증가하는 경향을 보이는 것 역시 유사하였다. 이 결과로써 두 가지 사이에 연관되는 구체적인 기전을 파악하기는 어려우나, 종양의 발생 과정에서 두 가지가 연관되어 있음을 뒷받침한다고 추측할 수 있었다.

## V. 결론

유방암에서 Ku 단백 및 DNA-PKcs는 정상에 비해 관상내피암에서 발현이 증가하고, 침윤성 암종이 되면 발현이 감소하는 경향을 보이며, 핵 등급 및 조직 등급이 증가할수록 침윤성 암종에서 발현이 증가하는 양상을 나타낸다. ATM의 경우 Ku 단백 및 DNA-PKcs와 유사한 발현 양상을 나타내었으며, 이는 ATM에 이들과 연관되어 작용함을 시사하는 간접적인 증거라 할 수 있겠다.

## 참고문헌

1. U.S. Cancer Statistics Working Group. United States Cancer Statistics: 2003 Incidence and Mortality (preliminary data). 2006 and National Vital Statistics Vol. 53, No. 5, 2004.
2. 한국중앙암등록본부·국립암센터, 한국중앙암등록사업연례보고서, 2003.
3. 통계청, 2004년 사망원인통계연보
4. Mimori T, Akizuki M, Yamagata H, Inada S, Yoshida S, Homma M. Characterization of a high molecular weight acidic nuclear protein recognized by autoantibodies in sera from patients with polymyositis-scleroderma overlap. *J Clin Invest* 1981;68:611-20.
5. Gullo C, Au M, Feng G, Teoh G. The biology of Ku and its potential oncogenic role in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2006;1765:223-34.
6. Li GC, Ouyang H, Li X, Nagasawa H, Little JB, Chen DJ, et al. Ku70: a candidate tumor suppressor gene for murine T cell lymphoma. *Mol Cell* 1998;2:1-8.
7. Lim JW, Kim H, Kim KH. Nuclear factor-kappa B regulates cyclooxygenase-2 expression and cell proliferation in human gastric

cancer cells. *Lab Invest* 2001;81:349-60.

8. Tai YT, Podar K, Kraeft SK, Wang F, Young G, Lin B, et al. Translocation of Ku86/Ku70 to the multiple myeloma cell membrane: functional implications. *Exp Hematol* 2002;30:212-20.

9. Tong WM, Cortes U, Hande MP, Ohgaki H, Cavalli LR, Lansdorp PM, et al. Synergistic role of Ku80 and poly (ADP-ribose) polymerase in suppressing chromosomal aberrations and liver cancer formation. *Cancer Res* 2002;62:6990-6.

10. Klein A, Miera O, Bauer O, Golfier S, Schriever F. Chemosensitivity of B cell chronic lymphocytic leukemia and correlated expression of proteins regulating apoptosis, cell cycle and DNA repair. *Leukemia* 2000;14:40-6.

11. Moll U, Lau R, Sypes MA, Gupta MM, Anderson CW. DNA-PK, the DNA-activated protein kinase, is differentially expressed in normal and malignant human tissues. *Oncogene* 1999;18:3114-26.

12. Pucci S, Mazzarelli P, Rabitti C, Gai M, Gallucci M, Flammia G, et al. Tumor specific modulation of KU70/80 DNA binding activity in breast and bladder human tumor biopsies. *Oncogene* 2001;20:739-47.

13. Someya M, Sakata K, Matsumoto Y, Satoh M, Narimatsu H,

Hareyama M. Immunohistochemical analysis of Ku70/86 expression of breast cancer tissues. *Oncol Rep* 2007;18:1483-7.

14. Lavin MF. Ataxia-telangiectasia: from a rare disorder to a paradigm for cell signalling and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:759-69.

15. Hall J. The Ataxia-telangiectasia mutated gene and breast cancer: gene expression profiles and sequence variants. *Cancer Lett* 2005;227:105-14.

16. Ding SL, Sheu LF, Yu JC, Yang TL, Chen BF, Leu FJ, et al. Abnormality of the DNA double-strand-break checkpoint/repair genes, ATM, BRCA1 and TP53, in breast cancer is related to tumour grade. *Br J Cancer* 2004;90:1995-2001.

17. Gurley KE, Kemp CJ. Synthetic lethality between mutation in *Atm* and DNA-PK(cs) during murine embryogenesis. *Curr Biol* 2001;11:191-4.

18. Treilleux I, Chapot B, Goddard S, Pisani P, Angèle S, Hall J. The molecular causes of low ATM protein expression in breast carcinoma: promoter methylation and levels of the catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase. *Histopathology* 2007;51:63-9.

19. Leake R, Barnes D, Pinder S, Ellis I, Anderson L, Anderson T et

al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *J Clin Pathol* 2000;53:634-5.

20. Lester SC. The Breast. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editors, *Robbins and cotran pathologic basis of disease*. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2005. p1119-54.

21. Arlander SJ, Greene BT, Innes CL, Paules RS. DNA protein kinase-dependent G2 checkpoint revealed following knockdown of ataxia-telangiectasia mutated in human mammary epithelial cells. *Cancer Res* 2008;68:89-97.



## Abstract

### Expression pattern of Ku70/80, DNA-PKcs and ATM in breast cancer and analysis of association with clinicopathologic factors

Jong-Pil Park

*Department of Medical Science*

*The graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Woo-Ick Yang)

Ku is heterodimeric DNA binding protein composed of Ku70 and Ku80. With DNA-PK catalytic subunit (DNA-PKcs), it makes DNA-dependent protein kinase (DNA-PK), which has an important role in DNA double strand break repair. Impairment of Ku is associated with tumorigenesis in diverse tumor. In breast cancer, the previous studies have reported that Ku expression is increased in DCIS or low-grade invasive carcinoma and decreased in high-grade invasive carcinoma. ATM is well-known gene, which has DNA repair function, and the association with DNA-PK has been reported in recent studies.

182 mastectomy samples, including 8 bilateral breast cancer patients operated from 1992 to 2002 in Severance Hospital were included in this study. Tissue array, composed of primary tumor tissue including DCIS, normal tissue, tissue from lymph node metastasis and tissue from recurred tissue, was made, and immunohistochemical staining for DNA-PKcs, Ku70, Ku80 and

ATM were performed and analyzed.

All four proteins demonstrated the increased expression in DCIS compared with normal tissue and invasive carcinoma. The expression of each protein in tumor and normal tissue shows significant correlation, and parallel expression patterns between each protein are noted. Increased expression of Ku70, DNA-PKcs and ATM in primary tumor with high nuclear and histologic grade was also noted, but tumor size (T stage) and the presence of axillary lymph node metastasis did not have influence on the expression of Ku70, Ku80, DNA-PKcs and ATM in primary tumor.

In breast cancer, the tendering of increased expression of Ku70/80 and DNA-PKcs in DCIS compared with normal tissue and invasive carcinoma, and the relationship with ATM were confirmed.

---

Key word: breast cancer, Ku70, Ku80, DNA-PKcs, ATM, DCIS