

위암환자의 종양표지자로서 혈액내 c-erbB-2 종양단백의 탐색

연세대학교 의과대학 연세암연구소, 연세암센터, 내과학교실, 외과학교실

정현철 · 안중배 · 박준오 · 조재용 · 라선영
이종인 · 이해란 · 유내춘 · 김주항
노재경 · 노성훈 · 민진식 · 김병수

아주대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실

이화대학교 의과대학 내과학교실¹

영남대학교 의과대학 내과학교실²

인하대학교 의과대학 임상병리학교실³

임호영 · 이기범 · 최진혁¹ · 이경희² · 김진주³

= Abstract =

Detection of Soluble c-erbB-2 Oncoproteins in the Serum of Gastric Cancer Patients as a Tumor Marker

Hyun Cheol Chung, Joong Bae Ahn, Joon Oh Park, Jae Yong Cho
Sun Young Rha, Chong In Lee, Hye Ran Lee
Nae Choon Yoo, Joo Hang Kim, Jae Kyung Roh
Sung Hoon Noh, Jin Sik Min, Byung Soo Kim

*Institute for Cancer Research, Yonsei Cancer Center,
Department of Internal Medicine, General Surgery,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

Ho Yeong Lim, Kyi Beom Lee, Jin Hyuk Choi¹, Kyung Hee Lee², Jin Ju Kim³

Department of Internal Medicine, Pathology, Ajou University School of Medicine, Suweon, Korea

¹Department of Internal Medicine, Ewha Women's University College of Medicine, Seoul, Korea

²Department of Internal Medicine, Yeongnam University College of Medicine, Taegy, Korea

³Department of Clinical Pathology, Inha University College of Medicine, Sunghnam, Korea

A soluble fragment of the c-erbB-2 oncoprotein become detectable in the serum of the breast cancer patients by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). To evaluate the clinical significance of soluble c-erbB-2 in gastric cancer, we measured the serum levels in 45 normal healthy persons and in 86 gastric cancer patients.

Fifty-five patients were underwent surgery(47 curative surgery, 8 palliative surgery) and

*본 연구는 94년도 연세대학교 의과대학 김명선 재단 연구비의 지원으로 수행 되었음.

thirty-one patients were inoperable(18 advanced, 8 relapsed, 6 progressed after palliative surgery). The c-erbB-2 serum levels were below 14 U/ml in normal persons. Three of 86(3.5%) samples from gastric cancer patients had elevated serum c-erbB-2 level. In 55 operated patients, all serum samples were negative for c-erbB-2. Elevated serum levels were predominantly found in patients with initially advanced cancers(3/18: 16.7%). In 22 operated cases, immunohistochemical staining showed 36.4% c-erbB-2 positive ratio(8/22) in tissues. Comparing the results from sera and tissues studies, the sensitivity of serum ELISA assay was too low even if the specificity was high.

Our data suggest that the soluble c-erbB-2 oncoprotein can be a tumor marker only in advanced stage of gastric cancer. Further studies are warranted to elucidate the discrepancy between the serum and tissue results in operable early stage gastric cancer.

Key Words: Gastric cancer, Serum c-erbB-2, ELISA

서 론

위암은 우리나라 성인 남녀에서 가장 발생빈도가 높은 암으로 적극적 치료가 필수적으로 요구되는 질환임에도 불구하고 대부분 진행된 상태에서 진단되어 완치율이 50% 내외에 불과하다¹⁾. 따라서 치료율을 증가시키기 위하여 보다 새로운 치료법의 개발과 재발율이 높은 고위험도 환자군을 선점 및 예측할 수 있는 종양표지자에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

neu 종양형성 유전자는 발암물질로 유발된 쥐의 신경아세포종에서 처음 관찰되었으며, 사람의 c-erbB-2 유전자와 동일함으로 밝혀졌다²⁾. c-erbB-2 단백질은 분자량 185 kD의 세포표면 당단백으로 세포막 바깥쪽의 ligand 부착부위와 tyrosine kinase의 기능이 있는 세포막 내부 구조물로 구성되어 있으며 유방암세포주에서 이 유전자의 증폭과 단백질의 발현이 처음 관찰되었다³⁾. 이후 p¹⁸⁵ 단백질에 대한 단클론항체의 개발로 유방암, 췌장암, 폐선암, 난소암 및 위선암 조직의 20~40%에서 c-erbB-2 단백질의 발현이 관찰되었다^{4~7)}.

c-erbB-2 단백질발현의 임상적 의의는 임파절 전이가 있는 유방암에서는 아직 뚜렷한 결론을 얻지 못하고 있는 반면^{8~10)}, 임파절 전이가 없는 유방암에서는 예후가 불량함으로 보고되고 있다^{5,7,11)}. 그 외에 난소암, 폐암 및 위암에서도 c-erbB-2 단백질발현이 불량한 예후를 보임이 관찰되었다^{5~7)}. 이와같이 c-erbB-2 단백질발현이 예후가 불량한 기전으로 항암제에 대한 약제 내성이 제시되었으며, 실제 in vitro 검사에서 위암세포주와 유방암세포주에서 c-erbB-2 단백질발현이 5-fluo-

rouracil에 내성이 있음이 관찰되었다⁹⁾. 따라서 위암 환자에서 c-erbB-2 단백질발현 여부가 환자의 예후예측과 약제선택 기준으로서 임상적 유용성이 제시되고 있다.

그러나 현재까지 c-erbB-2 단백질발현 여부가 모두 면역조직화학적 염색법에 의해 시행되어 온 바, 그 결과를 얻기까지 상당한 시간이 소요된다는 점이 즉각적 임상적용을 어렵게 하였다. 최근 면역학의 발달로 종양환자의 혈액내에서 순환하는 여러가지 종양표지자의 추적 가능성이 높아졌으며, enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)에 의한 면역활성도(immuno reactivity)가 질병의 활성도와 일치함이 보고되었다^{12~14)}. 또한 동물실험에서 MDA-MB-361 유방암 세포주를 이식한 nude생쥐의 혈액에서 c-erbB-2 종양단백이 관찰되었으며¹⁵⁾, 실제 유방암 환자의 혈액에서도 c-erbB-2 종양단백의 용해성 형태가 관찰되어^{16~19)}, 임상적응용의 가능성이 제시되었다^{16~19)}.

본 연구에서는 c-erbB-2 단백질항원의 세포막 외부구조에 대한 단클론항체를 사용하여 위암환자의 혈액내에서 c-erbB-2 단백질의 증가여부와 그 빈도를 조사하고, 그 결과를 면역조직 화학적 염색에 의한 결과와 비교하여 임상적 유용성을 조사하였다.

대상 및 방법

1) 대상환자

대상환자는 조직학적으로 위선암이 확진된 86예로 하였다. 정상대조군은 연간 시행하는 정기 신체검사상 정상이며 특이한 자각증상이 없는 성인 남녀 45예로

하였다.

2) 혈액채취

혈액채취 시간은 아침 식전으로 통일하였으며, 수술이 시행될 환자는 수술시행전에, 수술이 불가능한 환자에서는 방사선치료나 항암약물치료 시행전에 혈액을 채취한 후 혈청을 분리하여 검사하였다. 혈액은 용혈이 발생하지 않도록 하였고 컴퓨터 단층촬영 등 여러 가지 검사가 시행된 날은 채혈하지 않도록 하였다. 검사가 채혈 24시간내에 시행될 경우는 혈청을 2~8°C에 보관하다가 시행하였다. 검사가 채혈 24시간 이후에 시행될 경우는 냉동보관 하였으며, 혈청의 반복적 냉동과 용해는 피하도록 하였다. 냉동혈청의 용해시는 실온에서 점진적으로 용해토록 하였으며, pipetting 전에 가볍게 흔든 후 시작하였다.

3) 암의 침윤도 기준

수술후 병리조직 검사상 해부학적 병기를 AJCC 병기(20) 설정기준에 의해 분류하여 암의 침윤도를 정하였다.

4) 혈중 c-erbB-2 측정

각 실험체마다 항체(Triton, USA)가 coat된 2개의 시험관을 사용하였고, 매 실험시 2개의 대조군 시험관을 사용하였다. 200 μ l의 검체 희석용액과 50 μ l의 혈청 및 200 μ l의 anti-c-erbB-2 conjugate를 각 시험관에 투여후 뚜껑을 닫고 가볍게 흔들어 섞고 실온에서 2시간 배양하였다. 다음 200 μ l의 linking 용액을 각 시험관에 주입한 후 뚜껑을 닫고 가볍게 흔들어 섞고 다시 실온에서 2시간동안 배양하였다. 배양후 상층액을 완전히 제거하고 2 ml의 세척액으로 시험관을 3회 반복 세척한 후 시험관을 탈지면 위에 거꾸로 세워 시험관에 남아 있는 수분을 완전히 제거하였다. 1 ml의 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine(TMB) 용액을 각 시험관에 투여하고서 실온에서 15분간 배양한 후 정지액 1 ml를 각 시험관에 투여하고 2시간내에 450 nm에서 각 시험관의 흡광도를 측정하였다. Calibrator액의 흡광도에 의한 표준곡선을 computer를 사용하여 point-to point 곡선과 공식을 구하고 각 검체의 흡광도를 이에 대입하여 c-erbB-2 면역활성도(immunoreactivity)를 계산하여 U/ml로 구하

였다. 표준검체의 1 U/ml은 95%이상의 순도로 순수 분리된 c-erbB-2 종양단백 0.25 ng/ml에 해당하는 단위로 정하였다. 정상기준을 정상인 c-erbB-2치의 (평균+2x 표준편차)미만으로 하였다.

5) 면역조직화학염색법

단클론항체로 사람의 c-erbB-2 항원에 대한 mouse 항체(Triton, USA)를 사용하였다. 조직표면에 존재하는 비특이 수용체를 제거하기 위해 blocking액 100 μ l를 점적한 후 37°C 가습함온기에서 20분간 배양하였다. 배양후 슬라이드를 세척하지 않고 기울여서 과다한 용액을 제거하고 1:200으로 희석한 1차항체 100 μ l를 점적하고 슬라이드를 다시 37°C 가습함온기에 넣고 30분간 배양한 다음 phosphate-buffered saline(PBS)으로 10분씩 3회 세척하였다. 2차 항체를 100 μ l 점적한 후 37°C 가습함온기에서 30분간 배양하고 PBS로 10분씩 3회 세척한 다음 슬라이드를 3'-3'-diaminobenzidine(DAB) 용액에 담근후 수시로 현미경 하에서 발생여부를 관찰하였다. 이후 중류수로 10분간 세척하고 methyl-green으로 대조염색하였다. 양성유무의 판정기준은 2인의 판독자가 별도로 현미경 하에서 슬라이드를 검사하여 판정하였다.

6) 통계학적 처리

각 군간의 비교는 Student t-test로 하였다.

결 과

1) 대상환자의 임상적 특성

정상대조군 45예의 남녀비는 1.6:1(28:17)이었으며 중앙연령은 49세(30~73세)였다. 환자군 86예의 남녀비는 1.7:1(54:32)이었으며 중앙연령은 56세(24~77세)로 두군간의 유의한 차이는 없었다. 수술이 가능하여 수술전 혈액채취가 시행된 환자는 55예로 이중 47예가 근치적 위절제술을 시행받았고(전위절제술 18예, 부분위절제술 29예), 8예에서는 고식적 위절제술이 시행되었다(전위절제술 5예, 부분위절제술 3예). 고식적 위절제술을 시행받은 8예중 2예는 난소전이, 2예는 간전이, 3예는 복막전이, 1예는 난소와 복막전이 가 관찰되었다. 수술이 시행된 환자의 수술 후 병리학적 병기는 병기I 12예(IA 5예, IB 7예), II 12예, III

20예(IIIA 7예, IIIB 13예), IV 3예였다. 수술이 불가능하였던 환자는 총 31예로 이중 근치적 수술후 재발한 환자가 8예(암종중 5예, 암종중 및 국소재발 1예, 암종중 및 간전이 1예, 간전이 1예), 고식적수술후 잔존암이 진행된 환자가 5예(암종중 4예, 암종중 및 간전이 1예)였으며 초진시에 진행성 위암인 환자가 18예(암종중 11예, 간전이 3예, 암종중 및 간전이 1예, 쇄골상 임파절 및 간전이 1예, 쇄골상임파절 및

폐전이 1예, 쇄골상임파절전이 및 암종중 1예)였다. 병리학적 유형은 고분화선암 2예, 중중도분화선암 17예, 미분화선암이 46예, 입환세포암이 16예였다 (Table 1).

2) 정상대조군 및 환자군의 혈중 c-erbB-2치

정상대조군 45예의 혈중 c-erbB-2는 8.3 ± 2.8 U/ml(범위 3.5~13.4)였다. 정상기준을 (평균+2×표준편차)미만으로 정하였으며, 이 값은 13.9 U/ml로 14 U/ml이상인 경우를 양성으로 정하였다. 모든 정상인은 양성기준인 14 U/ml미만이였다. 위암환자군 총 86예의 혈중 c-erbB-2는 10.4 ± 39.5 U/ml이였고, 수술이 가능하였던 환자군은 6.0 ± 2.6 U/ml, 수술이 불가능하였던 환자군은 18.3 ± 6.49 U/ml로 각 군간에 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 수술이 불가능한 환자군 중 진단시부터 암이 진행되어 수술이 불가능하였던 환자군의 혈중 c-erbB-2는 21.2 ± 86.4 U/ml로 정상대조군에 비해 증가하였다(p=0.002)(Table 2).

3) 환자군의 혈액 및 위암조직에서 c-erbB-2의 양성률

총 86예의 위암환자중 혈중 c-erbB-2가 양성으로

Table 1. Patient characteristics

Control group	45
male: female	28:17(1.6:1)
age: range(years)	30-73
median(years)	49
Patient group	86
male: female	54:32(1.7:1)
age: range(years)	24-77
median(years)	56
Type of surgery	
curative surgery	47
subtotal gastrectomy	29
total gastrectomy	18
palliative surgery	8
subtotal gastrectomy	3
total gastrectomy	5
unresectable	31
advanced	18
relapsed	13
Stage	
I	12
IA	5
IB	7
II	12
III	20
IIIA	8
IIIB	12
IV	3
pathology	
well differentiated	2
moderately differentiated	17
poorly differentiated	46
undifferentiated	3
mucinous	2
signet ring cell	16

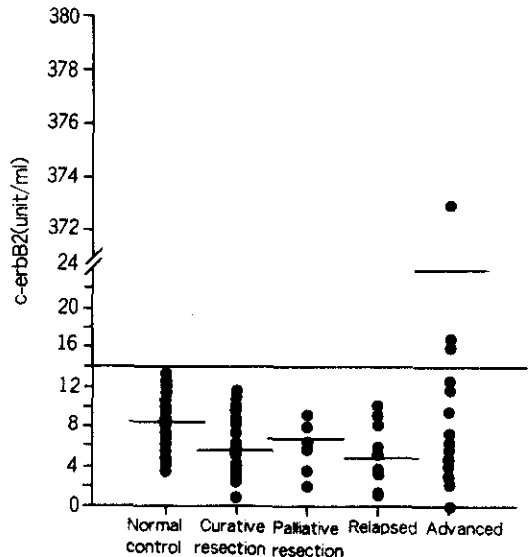


Fig. 1. Serum c-erbB-2 levels in 45 control and 86 cancer patients.

Table 2. c-erbB-2 levels in normal control and gastric cancer group

Group	Number of patient	Serum level(U/ml) (mean ± SD)	p-value*
Normal control group	45	8.3 ± 2.8 (3.5 ~ 13.4)	
Gastric cancer group	86	10.4 ± 39.5 (0.1 ~ 372.9)	
resectable	55	6.0 ± 2.6 (0.9 ~ 11.6)	
curative surgery	47	5.9 ± 2.6 (0.9 ~ 11.6)	0.56
palliative surgery	8	6.5 ± 2.4 (2.1 ~ 9.3)	0.67
unresectable	31	18.3 ± 6.49 (0.1 ~ 372.9)	
relapsed	13	5.9 ± 3.1 (1.5 ~ 10.1)	0.48
advanced	18	27.2 ± 86.4 (0.1 ~ 372.9)	0.002

SD: standard deviation, *: comparison to normal control group

Table 3. Expression of serum and tissue c-erbB-2 oncoproteins

Disease state	Serum ELISA	Tissue immunohistochemistry
	number of / number of positive / total patients patients / (%)	number of positive / number of patients / total patients (%)
Resectable	0/55(0.0)	8/22(36.4)
curative surgery	0/47(0.0)	5/19(26.3)
palliative surgery	0/ 8(0.0)	3/3(100.0)
Unresectable	3/31(9.7)	ND
relapsed	0/13(0.0)	ND
advanced	3/18(16.7)	ND
Total	3/86(3.5)	8/22(36.4)

ND: not done

관찰된 환자는 3예(3.5%)였으며 이들 3예는 모두 진단시 진행성 위암이었다(암종중 1예, 암종중 및 간전이 1예, 쇄골상임파절 및 간전이 1예)(Fig. 1). 면역조직화학염색법에 의한 원발병소에서 c-erbB-2 발현유무의 관찰은 수술이 시행되었던 환자 55예중 22예(근치적 수술 19예, 고식적 수술 3예)에서 가능하였다.

근치적 위절제술이 시행되었던 환자 19예중 5예(26.3%), 고식적 위절제술이 시행되었던 환자 3예(난소전이 1예, 간전이 1예, 복막전이 1예)중 3예 모두에서 c-erbB-2의 발현이 관찰되어, 총 22예중 8예(36.4%)의 조직에서 c-erbB-2가 양성이었다(Table 3).

Table 4. Comparison between serum & tissue c-erbB-2 oncoprotein expression

	Serum		Total
	Positive	Negative	
Tissue positive	0	8	8
Tissue negative	0	14	14
Total	0	22	22

sensitivity=0/8(0%), specificity=14/14(100%), accuracy=14/22(64%)

4) 혈액과 조직절편에서 c-erbB-2발현의 비교

조직절편에서 c-erbB-2발현이 관찰되지 않은 환자 14예 모두에서 혈중 c-erbB-2는 관찰되지 않아 위양성율이 낮으며 특이성(specificity)은 높았다. 그러나 조직에서 c-erbB-2발현이 관찰된 8예 모두에서도 혈청 c-erbB-2는 음성으로, 감수성(sensitivity)도 매우 낮았다(Table 4).

고 찰

c-erbB-2 종양단백의 발현은 유방암에서 가장 많이 조사되었으며, 최근까지 면역조직화학적 염색법에 의해서 약 9~38%의 양성율이 관찰되었다^{21,22}. c-erbB-2 발현시에 무병생존기간과 전체 생존기간이 불량함이 많은 연구에서 보고되었으나²³⁻²⁵, 일부 연구에서는 예후와 무관하다고 하여²⁶⁻²⁸, 예후 인자로서의 가치에 대해 아직 논란이 되고 있다.

이와같이 연구자에 따라 서로 상이한 결과가 나타난 주된 원인으로 면역조직화학적 염색시에 필요한 paraffin 포매조직의 처리과정 차이 혹은 사용한 항 c-erbB-2 항체의 특이도와 감수성의 차이가 제시되었다²⁹. 따라서 염색법에 의한 c-erbB-2의 추적은 정도 관리(quality control)를 시행하는데 많은 어려움이 따르며 또한 조직절편을 만든후 염색이 가능하기 때문에 실제 결과를 얻기까지 상당한 시간이 소요되는 단점이 있다. 최근 c-erbB-2 종양단백의 세포막 외부구조(external domain)가 세포막으로부터 분리되어 혈액내에 존재하고, 이 단백질에 대한 항체의 형성도 혈

액내에 존재함이 관찰되었으며^{17,30}, 아울러 이 종양 단백질에 대한 단클론항체를 사용하여 혈중에 존재하는 c-erbB-2를 정상적으로 측정가능하게 되었다^{19,31-33}. 저자 등은 한국에서 가장 많은 위암조직에서도 면역조직화학적 염색에 의해 30%에서 c-erbB-2의 발현을 관찰한 바³⁴, 실제 위암환자의 혈액내에서 순환하고 있는 c-erbB-2 종양단백의 발현여부 및 빈도를 조사하고자 하였다.

본 연구에서는 정상대조군의 혈중 면역활성도(immunoreactivity)를 조사하여 이들의 평균에 2배의 표준편차를 더한 값을 정상범위의 상한값(cut-off value)으로 정하였고, 이 경우 모든 정상인의 값은 이 상한값 미만이었다. 이 상한값의 정의 및 그 수치는 보고자마다 달라, 본 연구와 동일한 항체를 사용한 Leitzel등³¹은 임의로 5 U/ml로 정의하였고, Kandle등³³은 본 연구와 동일한 공식을 사용하였으나 상한값은 10 U/ml로 본 연구보다 낮았다. Isola등¹⁹은 양성종양인 환자들을 정상대조군으로 하였으며 이들은 (평균+3배 표준편차)를 정상 기준으로 하여 상한값이 20 U/ml이었고, Kath등³²은 본 연구와 다른 항체를 사용하여 30 HNU/ml까지를 정상범위로 하였다. 이와같이 서로 사용한 항체가 다르거나, 정상대조군의 선정기준 차이에 따라 정상범위의 차이가 혈중 용해성 c-erbB-2 종양단백의 발현빈도에 영향을 끼치는 인자로 작용할 수 있겠다.

Brandt-Rauf등³⁵은 폐암이 진행함에 따라 혈중 c-erbB-2 종양단백의 발현율이 증가함이 보고하였고, 실제 유방암 환자에서도 수술이 불가능하게 국소적으로 진행되거나 원격전이가 있는 경우 c-erbB-2 종양단백의 발현율이 훨씬 높게 나타났다. Kath등³²은 수술이 가능하였던 환자 30예에서는 혈중 c-erbB-2 종양단백이 관찰되지 않았으나, 원격전이가 있는 환자의 43%에서 혈중 c-erbB-2가 관찰되었으며 특히 골전이 보다는 visceral 장기 전이시에 그 발현율이 더 증가한다고 하였다. Isola등¹⁹도 병기 I, II에서는 양성율이 7.4%에 불과하나, 병기 III, IV에서는 50%의 환자에서 발현함을 보고하였다. Leitzel등³¹은 진행성 혹은 원격전이가 발생한 경우 23%에서 혈중 c-erbB-2 종양단백이 관찰된다고 하였으나 이들의 정상범위는 비교적 낮아(5 U/ml), 정상범위를 본 연구에서와 같이 14 U/ml로 할 경우 양성율은 11%에 불과하다.

반면 Kandle등³³⁾은 양성기준 10 U/ml을 사용하여 병기 I, II에서는 34%, 병기 III, IV에서는 61%의 높은 양성율을 보고하였다. 이들의 결과를 종합하면 비교적 종양의 burden이 낮아 수술이 가능한 병기 I, II의 경우 10% 내외의 양성율이 관찰되며, 국소진행 혹은 원격전이가 있고 특히 타 장기로의 전이가 있어 종양의 burden이 증가하는 경우에는 양성율이 20~50%로 증가되고 있음을 알 수가 있다. 따라서 양성기준을 정하는데 있어 보다 객관적이고 명확한 상한값을 정함이 시험오차를 줄이는 방법이 되겠다. 본 연구에서도 장기는 다르나 수술이 시행된 55예 모두에서 혈중 c-erbB-2 종양 단백질이 관찰되지 않았다. 반면 수술이 불가능 하였던 환자 31예중 3예(9.7%)에서 c-erbB-2 종양단백이 관찰되었고 특히 이들 31예중 수술후 재발된 환자를 제외할 경우 진단 당시에 종양 burden이 심한 18예중 3예(16.7%)에서 관찰되었다. 이들 3예중 2예는 간장 및 쇄골상 임파절 부위에 원격전이가 발생한 환자로 혈중 c-erbB-2 종양단백의 발현유형은 유방암과 같이 종양의 burden이 많은 경우에서 관찰되었다. 특기할 점은 근치적 수술후 재발한 환자나 고식적 절제술후 잔존암이 진행된 환자의 혈액에서는 혈중 c-erbB-2 종양단백이 관찰되지 않은 점에 대한 추가적 관찰이 필요하겠다.

ELISA법에 의한 c-erbB-2 측정의 정확도를 확인하기 위해서는 면역조직화학적염색법의 결과와 비교함이 바람직하다. 실제 유방암에서는 병이 국소적인 경우 조직에서 c-erbB-2 종양단백이 발현되어도 혈중에서 c-erbB-2 종양단백의 관찰이 어려우나³²⁾, 암이 진행된 경우는 매우 높은 정확도로 관찰되었다¹⁹⁾. 반면 Kandle등³³⁾은 면역조직화학적 염색과 혈중 발현도는 전혀 일치하지 않았다고 하였으나 이들의 경우 염색에 의한 양성율이 50%로 일반 보고자들의 비해 매우 높을 뿐더러, 혈중 c-erbB-2 발현율도 매우 높아 이에 대한 보다 세밀한 분석이 필요하겠다. 본 연구에서는 불행히도 수술이 불가능하였던 환자의 조직절편을 구하지 못하여 혈중 c-erbB-2 종양단백 양성이 관찰된 3예의 조직에서 c-erbB-2 종양단백의 발현 유무를 조사하지 못하였다. 반면 수술후 재발하였던 환자 3예의 조직에서는 c-erbB-2의 발현이 염색상 관찰되지 않았고, 재발후에도 혈중 c-erbB-2가 관찰되지 않음을 확인할 수 있었다. 수술이 가능하고 조직절편을 구할 수

있어 c-erbB-2염색이 시행된 환자는 총 22예였다. 이 중 8예(36.4%)의 조직절편에서 c-erbB-2가 관찰되어 양성율은 다른 보고자들과 유사하였으나^{36,37)}, 이들 모두 혈액에서는 c-erbB-2 종양단백이 관찰되지 않았다. 또한 조직절편에서의 c-erbB-2 종양단백 양성율은 위암이 복강내 타 장기로 전이되어 고식적 절제술이 시행되었던 환자에서 높았으나, 이들 모두 혈액에서는 c-erbB-2 종양단백이 관찰되지 않았다. 따라서 혈액소견과 조직염색 소견을 비교시 특이도는 100%로 위 양성율이 없었으나 감수성이 매우 낮아 실제로 임상적 응용이 용이하지 않을 것으로 생각된다. 즉 암이 진행되고 수술이 불가능할 경우 종양 burden을 추적하는 인자로서의 유용성은 가능할지 모르나 수술이 가능한 위암에서 향후 예후인자로서의 사용은 불가능하겠다.

이와같이 조직과 혈액내 결과에서 차이가 발생하는 이유로서 몇 가지 가능한 점이 있는데, 첫째는 c-erbB-2 종양단백 항원의 변화로 암세포에서는 관찰이 되나 세포막으로부터 분리후 혈액내에서 추적이 어려워 위음성으로 나타날 수가 있겠다. 둘째는 위의 암조직에서 분리되어 혈액내로 도출한 c-erbB-2 종양단백이 간 문맥을 지나는 과정에서 제거될 수 있는 점이다. 이러한 현상은 원격전이 장기에서 분비된 c-erbB-2 단백질은 간 문맥을 거치기 전에 말초혈액에서 관찰될 수 있어 그 발현율이 높다고 추정할 수 있겠다. 셋째로 가능한 이유는 c-erbB-2 종양단백의 혈액내 안정성이다. 그러나 본 연구에서는 혈액내 c-erbB-2 종양단백이 관찰된 환자의 혈액을 3회 냉동과 용해를 반복후, 혹은 수시간 실온보관후 측정하여도 동일한 양성결과를 얻을 수 있어 c-erbB-2 종양단백의 불안정성에 의해 위음성 결과가 나타날 가능성은 비교적 적다고 할 수 있겠다.

결론적으로 본 연구결과 유방암에서와 마찬가지로 위암에서도 종양 burden이 많고 수술이 불가능한 경우에서 주로 c-erbB-2 종양단백이 혈액에서 관찰되며 수술이 가능한 경우는 관찰되지 않았다. 따라서 수술이 가능한 경우에는 면역조직화학적염색결과와는 달리 혈액내 c-erbB-2 종양단백은 예후예측인자로서의 사용이 불가능한 반면, 종양 burden이 많은 경우는 암의 경과에 따라 종양 burden의 추적인자로서 혈중 c-erbB-2 종양단백의 사용가능성을 제시하였다.

결 론

정상대조군 45예와 위암환자 86예의 혈액에서 c-erbB-2 종양단백의 존재여부를 단클론항체를 사용하여 ELISA 법으로 조사하였다. 정상대조군의 혈중 정상면역활성도의 범위를 (평균+2×표준편차)미만으로 정하였으며, 이 경우 정상범위의 상한치가 14 U/ml로 정상대조군은 모두 14 U/ml 이하였다. 위암환자 86예 중 3예(3.5%)에서 혈액내 c-erbB-2 종양단백 양성으로 관찰되었으며 3예 모두 진단시 원격장기로 전이되어 이미 수술이 불가능한 환자였다. 22예에서 수술후 조직절편을 이용하여 면역조직화학적 염색이 시행되었으며 이 중 8예(36.4%)에서 c-erbB-2 양성이었다. 그러나 8예 모두 혈액 c-erbB-2는 음성으로 나타나, 특이도는 높은 반면 감수성은 매우 낮았다. 따라서 위암환자 혈액내에서 c-erbB-2 종양단백의 발현은 종양 burden이 많음을 의미하므로, 수술이 불가능하게 진행된 위암에서는 c-erbB-2 종양단백이 암 진행표지자로 사용될 가능성이 제시되나, 수술이 시행된 환자에서는 그 감수성이 매우 낮아 예후인자로서의 유용성은 없을 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- 1) Kim BS, Chung HC, Roh JK, Park YJ, Koh EH, Kim JH, Min JS, Lee KS, Lee KB, Youn JK: A controlled trial of 5-FU, doxorubicin(Fa) chemotherapy vs FA-polyadenylic, polyuridylic acid(Poly-AU) chemoimmunotherapy for locally advanced gastric cancer after curative resection. *Proc Am Soc Clin Oncol* 10: 134, 1991
- 2) McGuire HC, Greene MI: The neu(c-erbB-2) oncogene. *Semin Oncol* 16: 148-155, 1989
- 3) King CR, Kraus MH, Aronson SA: Amplification of a novel v-erbB-related gene in a human mammary carcinoma. *Science* 229: 974, 1985
- 4) Tandon AK, Clark GM, Chamnes GC, Ullrich A, McGuire WL: HER-2/neu oncogene protein and prognosis in breast cancer. *J Clin Oncol* 7: 1120, 1989
- 5) Berchuck A, Kamel A, Whitaker R: Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res*

- 50: 4087, 1990
- 6) 고은희, 윤정구, 유내춘, 최진혁, 임호영, 김주함, 노재경, 김병수, 김태수, 최의목, 민진식, 이경식: 유방암 및 위암세포주에서 erbB-2 유전자 과표현과 5-FU내성: 제 18회 대한암학회학술대회 초록집 p11, 1992
- 7) Kern JA, Schwrtz DA, Nordberg JE: p185^{neu} expression in human lung adenocarcinomas predicts shortened survival. *Cancer Res* 50: 5184, 1990
- 8) Wright C, Angus B, Nicholson S: Expression of cerb-B-2 oncoprotein: A prognostic indicator in human breast cancer: *Cancer Res* 49: 2087, 1989
- 9) Zhou DJ, Ahuja H, Cline MJ: Proto-oncogene abnormalities in human breast cancer: c-erbB-2 amplification does not correlate with recurrence of disease. *Oncogene* 4: 105, 1981
- 10) 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* 235: 177, 1987
- 11) Paterson MC, Dietrich KD, Danyluk J, Paterson AHG, Lees AW, Jamil N, Hansen J, Jenkins H, Krasuse BE, McBlain WA, Slamon DJ, Fournery RM: Correlation between c-erbB-2 amplification and risk of recurrence disease in node-negative breast cancer. *Cancer Res* 51: 556, 1991
- 12) Weber W, Gill GN, Spiess J: Production of an epidermal growth factor receptor-related protein. *Science* 224: 294, 1984
- 13) Gatanaga T, Hwang C, Kohr W: Purification and characterization of an inhibitor(soluble tumor necrosis factor receptor) for tumor necrosis factor and lymphotoxin obtained from the serum ultrafiltrates of human cancer patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 8781, 1990
- 14) Rubin LA, Nelson DL: The soluble interleukin-2 receptor: Biology, function and clinical application. *Ann Intern Med* 113: 619, 1990
- 15) Langton BC, Crenshaw MC, Chao LA: An antigen immunologically related to the external domain of gp185 is from nude mouse tumors over expressing the c-erbB-2(HER-2/neu) oncogenes, *Cancer Res* 51: 2593, 1991
- 16) Mori S, Mori Y, Mukaiyama T: In vitro and in vivo release of soluble erbB-2 protein from human carcinoma cells. *Jpn J Cancer Res* 81: 489, 1990
- 17) Pupa SM, Menard S, Morelli D, Pozzi B, DePalo G, Colnaghi MI: The extracellular domain of the c-

- erbB2 oncoprotein is released from tumor cells by proteolytic cleavage. Oncogene 8: 2917, 1993*
- 18) Disis ML, Calenoff E, McLaughlin G: *Existent T cell and antibody immunity to HER-2/neu protein in patients with breast cancer. Cancer Res 54: 16, 1994*
 - 19) Isola JJ, Holli K, Oksa H, Teramoto Y, Kallioniemi OP: *Elevated erbB-2 oncoprotein levels in preoperative and follow-up serum samples define an aggressive disease course in patients with breast cancer. Cancer 73: 652, 1994*
 - 20) Beahrs OH, Myers MH, AJCC: *Manual for staging of cancer, 3rd ed., Philadelphia, JB Lippincott, p67, 1987*
 - 21) Barnes DM, Lammie GA, Milis RR, Gulick WL, Allen DS, Altman DG: *An immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 expression in human breast carcinoma. Br J Cancer 58: 448, 1988*
 - 22) Depotter CR, Beghin C, Marak AP, Vandekerckhove D, Roels HJ: *The neu oncogene protein as a predictive factor for haematogenous metastases in breast cancer patients. Int J Cancer 45: 55, 1990*
 - 23) Gullick WJ, Love SB, Wright C, Barnes DM, Gusterson B, Harris AL, Altman DG: *c-erbB-2 protein overexpression in breast cancer is a risk factor in patients with involved and uninvolved lymph nodes. Br J Cancer 63: 434, 1991*
 - 24) Rlike F, Colnaghi MI, Cascinelli N, Andreola S, Baldini MT, Bufalino R, Della G, Menard S, Pierotti MA, Tustori A: *Prognostic significance of HER-2/neu expression in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. Int J Cancer 49: 44, 1991*
 - 25) Press MF, Pike MC, Chazin VR, Hungk G, Udove JA, Markowicz M, Danyluk J, Godolphin W, Sliwkowski M, Alita R, Brandeis J, Paterson MC, Slamon DJ: *HER-2/neu expression in node-negative breast cancers: direct tissue quantitation by computerized image analysis and association of overexpression with increased risk of recurrent disease. Cancer Res 53: 4960, 1993*
 - 26) Clark GM, McGuire WL: *Follow-up study of HER-2/neu amplification in primary breast cancer. Cancer Res 51: 944, 1991*
 - 27) Gusterson BA, Machin LG, Gullick WJ, Gibbs NM, Powles TJ, Elliott C, Ashley S, Monaghan P, Harrison S: *c-erbB-2 expression in benign and malignant breast disease. Br J Cancer 58: 453, 1988*
 - 28) Kury F, Sliutz G, Schemper M, Reiner G, Reiner A, Jakesz R, Wrba F, Zeillinger R, Knogler W, Huber J, Holzner H, Spona J: *HER-2 oncogene amplification and overall survival of breast carcinoma patients. Eur J Cancer 26: 946, 1990*
 - 29) Press MF, Hung G, Gadolphin W, Slamon DJ: *Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue samples: Potential source of error in immunohistochemical studies of oncogene expression. Cancer Res 54: 2771, 1994*
 - 30) Pupa SM, Menard S, Colnaghi MI: *Antibody response against the c-erbB-2 oncoprotein in breast carcinoma patients. Cancer Res 53: 5864, 1993*
 - 31) Leitzel Kim, Teramoto Y, Sampson E, Mauceri J, Langton BC, Demers L, Podczaski E, Harvey H, Shambaugh S, Volas G, Weaver S, Lipton A: *Elevated soluble c-erbB-2 antigen levels in the serum and effusions of a proportion of breast cancer patients. J Clin Oncol 10: 1436, 1992*
 - 32) Kath R, Hoffken K, Otte C, Metz K, Scheulen ME, Hulskamp F, Seeber S: *The neu-oncogene product in serum and tissue of patients with breast carcinoma. Ann Oncol 4: 585, 1993*
 - 33) Kandl H, Seymour L, Bezwoda WR: *Soluble c-erbB-2 fragment in serum correlates with disease stage and predicts for shortened survival in patients with early-stage and advanced breast cancer. Br J Cancer 70: 739, 1994*
 - 34) 정현철, 백순명, 고은희: *Overexpression of erbB-2 protein in gastric cancer. 제 2회 연세 암연구소 심포지움 초록집 p11, 1991*
 - 35) Brandt-Rauf PW, Luo JC, Carney WP, Smith S, DeVivo I, Miling C, Hemminki K, Koskinen H, Vainio H, Neugut Ai: *Detection of increased amounts of the extracellular domain of the c-erbB-2 oncoprotein in serum during pulmonary carcinogenesis in humans. Int J Cancer 56: 383, 1994*
 - 36) Yonemura Y, Ninomiya I, Ohoyama S, Kimura H, Yamaguchi A, Fushida S, Kosaka T, Miwa K, Miyazaki I, Endou Y, Tanaka M, Sasaki T: *Expression of c-erbB-2 oncoprotein in gastric carcinoma. Cancer 67: 2914, 1991*
 - 37) Paik SM, Chung HC, Yang WI, Kim, HK, Choi IJ, MIN JS, Tefft MC, Pickle L, Kim, BS: *Overexpression of erbB-2 protein in gastric cancer. Proc Am Assoc Cancer Res 32: 291, 1991(abstract)*