

유방의 관암종과 소엽암종의 조직학적 감별 시 E-cadherin 단백질 발현 양상

장은덕 · 이안희 · 이은정 · 강석진
강창석

가톨릭대학교 의과대학 임상병리학교실

접 수 : 2002년 6월 7일
게재승인 : 2002년 9월 16일

책임저자 : 이 안 희
우 403-720 인천시 북구 부평동 665
가톨릭의과대학 성모자애병원 임상병리과
전화: 032-510-5537
Fax: 032-510-5881
E-mail: anhilee@olmh.cuk.ac.kr

*본 논문은 가톨릭의과대학 성모자애병원
임상의학 연구비와 가톨릭 중앙의료원 논
문 게재비 지원을 받았다.

E-cadherin Expression in Distinguishing Ductal and Lobular Carcinomas of the Breast

Eundeok Chang, Anhi Lee, Eunjung Lee, Seokjin Kang and Changsuk Kang

Department of Clinical Pathology, The Catholic University of Korea, College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Most breast carcinomas are easily categorized as ductal or lobular. However, in some cases the distinction can be difficult since some tumors may have intermediate features of these two. Prior studies suggest that E-cadherin is useful to classify tumors as ductal or lobular, as it is lost in lobular but not in ductal carcinomas. **Methods** : We studied the histologic features and E-cadherin expression by immunohistochemistry in 57 cases of breast carcinomas, which were divided into three groups based on histology. Group 1 included 4 cases of infiltrating lobular carcinoma (IFL) and 1 case of lobular carcinoma *in situ* (LCIS) (n=5). Group 2 included infiltrating ductal carcinoma (IFD) with some features of IFL (n=48). Group 3 included a solid type of intraductal carcinoma (DCIS) (n=4). E-cadherin staining was scored as negative or positive. **Results** : All 5 cases from group 1 were E-cadherin negative, and all 4 DCIS cases were positive. Only 2 (0.04%) of the 48 cases from group 2 were E-cadherin negative. **Conclusions** : Our findings suggest that the majority of cases with morphologically IFD with some IFL features are ductal. E-cadherin immunostaining is of value in helping to characterize breast carcinomas with indeterminate morphologic features.

Key Words : Breast Neoplasms—Cadherins—Immunohistochemistry

대부분의 유방암종에서 형태학적으로 소엽암종과 관암종의 구분이 가능하다. 그러나 때로는 세포 모양과 형태학적 진단 기준으로 감별이 어려운 경우가 있으며, 간혹 감별이 전혀 불가능한 예도 있다. 또한, 조직학적 아형이 증례에 따라 다양하게 나타나므로 관찰자 사이의 의견이 서로 다르고 주관적인 경우도 많다. 예후 판정의 측면에서나 객관적인 기준을 정립하려는 시도에서도 이들을 감별할 방법을 연구할 필요가 있다. 임상적으로도 소엽암종과 관암종은 약간의 차이가 있으며 침윤소엽암종의 약 20% 정도는 양측성으로 발생하고, 동측 유방 내에서도 다발성으로 발생하는 경향이 있다. 유방암종의 예후에 영향을 주는 중요 인자 중의 하나인, 조직학적 유형에 따라서도 생존율의 차이가 있으며 5년 생존율은 침윤관암종이 29%, 침윤소엽암종이 34%으로 침윤소엽암종에서 약간 높다.^{1,2} 비침윤성인 소엽내암종과 관내암종의 경우에도 환자의 치료나 예후에 있어서 차이가 크다.³ 소엽내암종에서는 주의 깊게 관찰하고 타목시펜으로 치료하나, 관내암종인 경우 국소절제술, 방사선치료나 유방절제술까지 하기도 한다.³ 소엽내암종이 있는 경우 침윤성 유방

암종의 발생 확률이 일반인에게서보다 9배 높으므로 정확한 진단을 요하게 된다.^{4,5} 이와 같이 환자의 치료나 예후, 생존율에 차이가 있으므로 병리의사는 조직학적으로 정확한 진단을 하고, 만약 공존하는 암종인 경우 그 구성이 어느 정도인지를 임상에게 알려줄 필요가 있다.^{4,5} 그러나 일반적으로 이를 감별하는 방법으로 현미경 소견상 특징적인 조직학적 소견에 의해 분류를 하며 여러 아형도 광학현미경상의 형태학적 소견에 의존하였다.⁵

E-cadherin은 막투과성 당단백질로 유사한 형태의 세포와 서로 결합하며 관이나 창문이 있는 구조(관암종에 국한) 형성에 꼭 필요하나, 소엽암종에서는 없거나 감소된다.⁶ 많은 저자들의 연구에서도 E-cadherin 항체가 관구조를 이루는 세포막에 반응하나 소엽암종의 세포막에서는 반응을 하지 않았다고 하였다.⁶⁻⁹ 그러므로 조직학적으로 감별이 어려운 암종의 경우 E-cadherin 면역염색 양상은 이들의 감별에 도움이 될 수 있다.⁶⁻¹⁰ 이에 저자들은 E-cadherin 면역염색을 시행하여 관암종과 소엽암종의 감별에 이용하고자 하였다.

재료와 방법

재료

저자들은 가톨릭 의과대학 성모자애병원, 의정부 성모병원과 성 빈센트 병원에서 1999년 1월부터 2002년 1월까지 최근 3년간 적출된 유방암중 중 소엽암중(침윤 또는 소엽내암중)으로 진단되었거나 침윤관암중과 침윤소엽암중이 혼합되었다고 진단된 예, 그리고 소엽내암중과 조직학적 소견이 유사한 관내암중의 총실형으로 진단되었던 예 등 모두 57예를 대상으로 하였다. 단, 일반형의 침윤관암중과 관내암중은 제외하였다. 서로 다른 병리 의사에 의해서 조직학적으로 진단이 일치한 종양을 세 군으로 분류하였는데, 제 1군은 소엽암중군 5예(침윤소엽암중 4예, 소엽내암중 1예), 제 2군은 침윤관암중과 함께 국소적으로 침윤소엽암중의 조직학적 소견을 포함한 군 48예, 제 3군은 관내암중의 총실형으로 소엽내암중과 조직학적 소견이 유사하여 감별을 요하는 군 4예로 분류하였다.

방법

면역조직화학 염색

파라핀 포매조직을 두께 4-5 μm 절편으로 박절하고 크실렌으로 5분간 3회 탈파라핀시킨 후 무수알코올, 90%, 75% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 처리하여 함수시켰다. 조직 절편에 있는 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위해 0.3% hydrogen peroxide-methanol에 10분간 처리한 후 증류수로 세척하였다. 절편을 50 mM Tris 완충용액(TBS, pH 7.5)으로 수세

한 후 비특이적 항원을 제거하기 위해 30분간 염소혈청과 반응시켰다. 여분의 용액을 제거한 후 일차 항체로 E-cadherin (monoclonal 1:50, Zymed, San Francisco, U.S.A.)을 실온에서 2시간 동안 작용시켰다. 일차 항체 반응 후 절편을 TBS로 5분간 3회 수세하고, biotin이 부착된 이차 항체(1:300, Zymed)와 작용시킨 후 통상적인 avidin-biotin complex법으로 20분간 반응시켰다. 발색제는 3-amino-9-ethyl carbazole (AEC)를 사용하였고, Mayer's hematoxylin으로 대조염색하여 glycerol gelatin으로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

면역조직화학 결과 판정

종양세포의 발현 정도가 광학현미경 하에서 인접한 정상 관이나 소엽들과 같은 정도로 염색된 경우를 양성, 정상 관과 소엽들은 양성으로 염색되었으나 종양 세포는 전혀 반응하지 않았을 경우를 음성이라고 판정하였다.

결 과

E-cadherin 발현 양상은 세포막을 따라 염색되었고 분명하게 염색되어 쉽게 관독할 수 있었으며, 관내암중과 정상 관과 소엽들은 모두 같은 정도로 강하게 양성을 보였다. 관내암중은 강한 양성을 보였으며 침윤관암중에서도 전 범위에서 관세포의 세포막에 강하게 양성을 보였다. 제 1군인 소엽암중군은 5예 모두 음성이었으며, 소엽내암중에서 종양 세포가 관구조를 따라 자라 들어가는 파제트모양 확산을 관찰할 수 있었다(Fig. 1A). 이 암중 세포는 E-cadherin 염색상 음성이었고 피복한 상피세포층

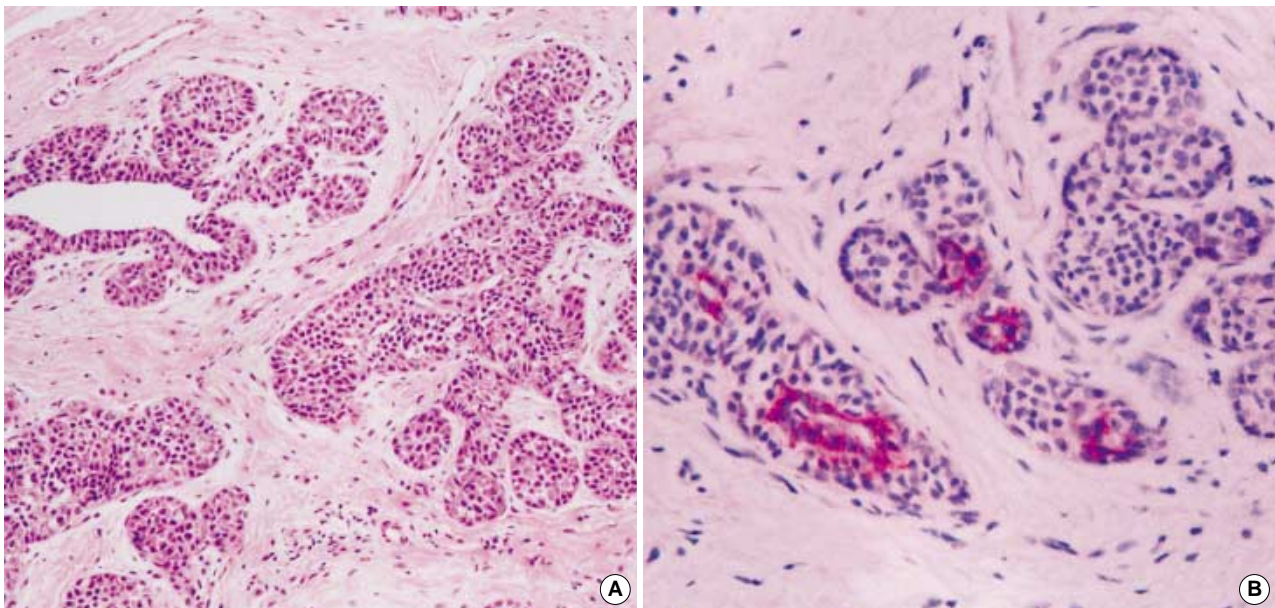


Fig. 1. Group 1 cases (A) HE section shows lobular carcinoma *in situ* with pagetoid fashion. (B) E-cadherin immunostaining of lobular carcinoma *in situ* shows the absence of staining in ducts. The attenuated normal epithelial cells are positive.

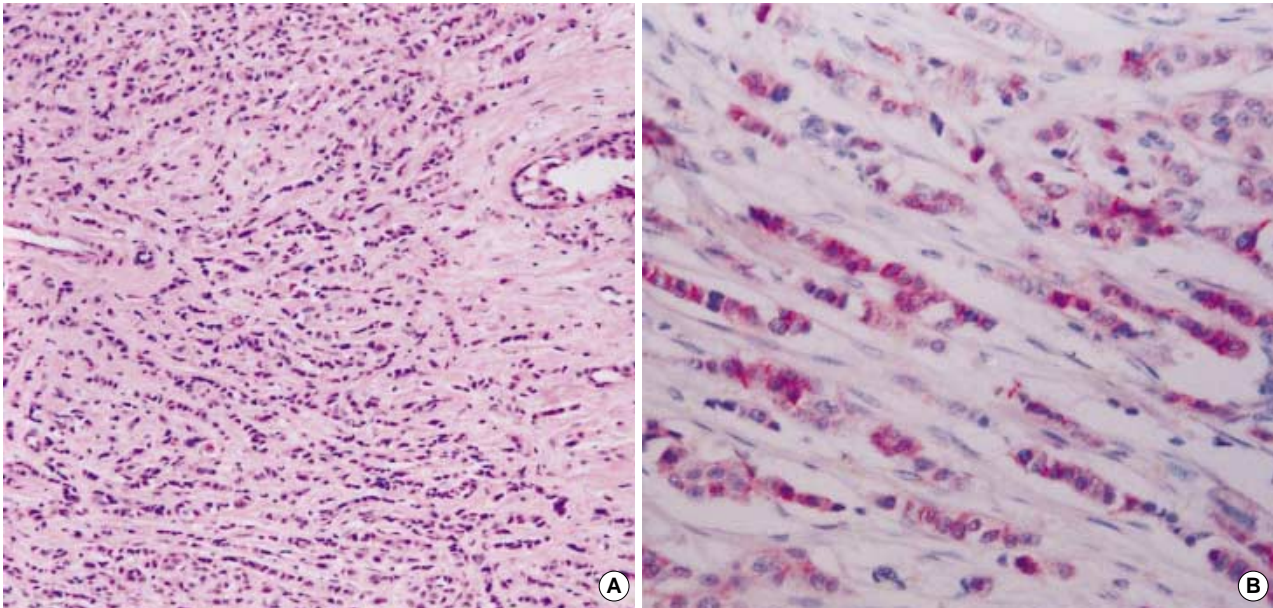


Fig. 2. Group 2 cases (A) HE section shows diffuse infiltrating tumor cells. (B) However, E-cadherin immunostaining shows strong positivity in infiltrating ductal carcinoma.

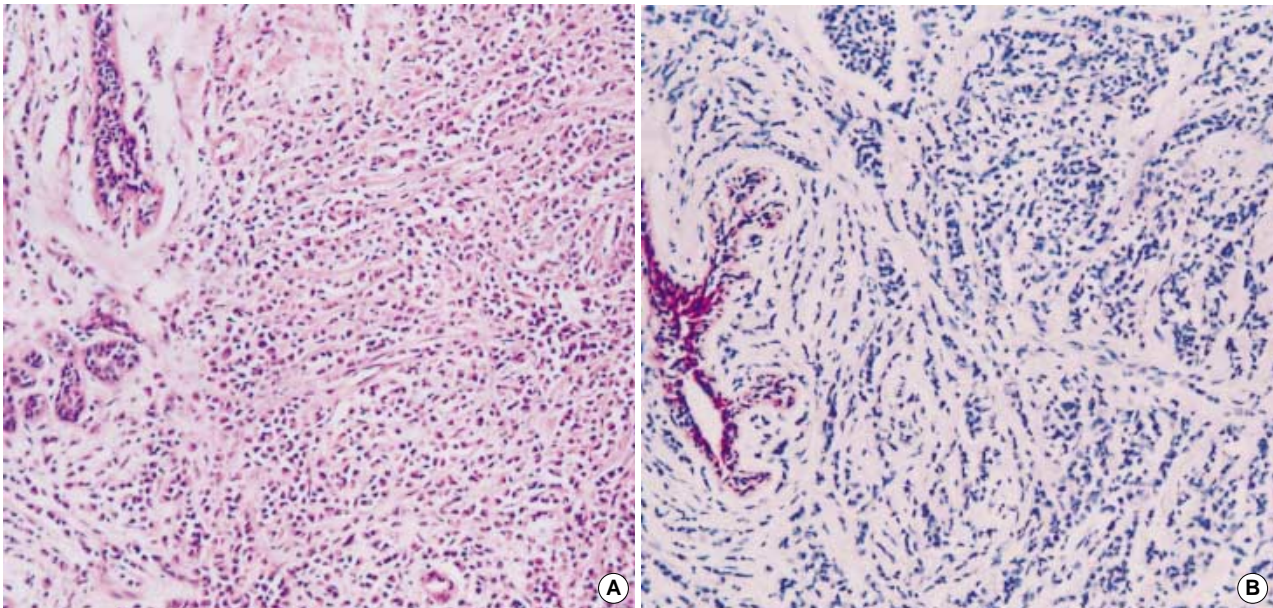


Fig. 3. Group 2 cases (A) HE section shows diffuse infiltrating tumor cells. (B) The infiltrating lobular carcinoma is E-cadherin negative, where the residual normal ductal epithelial cells are positive.

은 양성이었다(Fig. 1B). 침윤관암종과 침윤소엽암종의 조직학적 소견을 포함한 제 2군은 48예 중 46예에서 양성이었다고 보았다. 2예가 음성이었다. 즉, 작거나 중등도 크기의 중앙 세포가 밀집한 섬유성 버팀질 내에 한 줄로 서서 일렬중대로 침윤하는 양상을 보여 광학현미경 소견상 침윤소엽암종의 전형적인 조직학적 소견을 나타내었다(Fig. 2A). 그러나 E-cadherin 염색상 양성이어서(Fig. 2B) 이것이 침윤관암종임을 확인할 수 있었고, 중앙 세포

가 관 구조를 형성하지 않고 광범위 성장을 보이고 일렬 배열상으로 침윤하는 조직학적 분화도 등급 3에 해당한다고 보았다. 2예에서 침윤소엽암종의 전형적인 조직학적 소견을 보였고(Fig. 3A), E-cadherin 염색상 음성이어서(Fig. 3B) 침윤소엽암종을 확인하였다. 제 3군인 관내암종의 총실형은 4예 모두 양성이었다(Fig. 4).

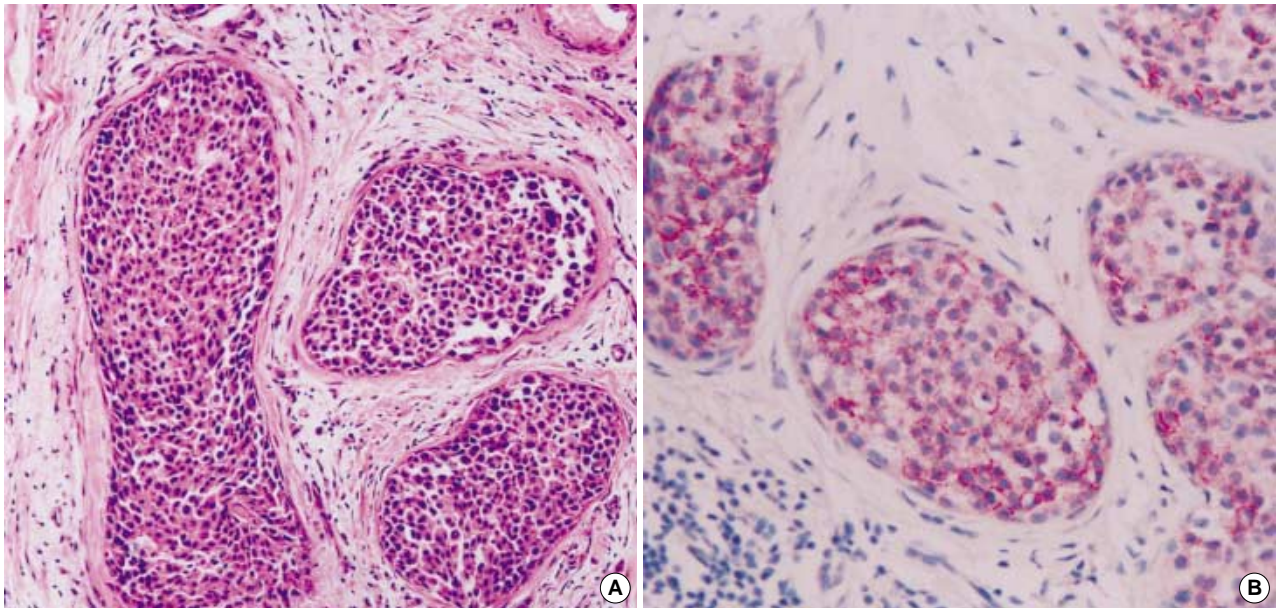


Fig. 4. Group 3 cases (A) HE section shows small neoplastic cells in a solid growth pattern of ductal carcinoma *in situ*. (B) Corresponding E-cadherin immunostain shows positive.

고찰

많은 저자들의 연구에서 E-cadherin은 칼슘 의존성 세포막 단백질로서 암종의 침윤성 성장 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는 세포부착물질(cell adhesive molecule)로, 정상 상피세포 간의 부착에 필수적이고 분화에도 중요한 역할을 한다고 보고하였다.^{8,10-13} 이 단백질의 발현이나 구조에 변화가 생기면 유착접합에 장애를 유발하며, E-cadherin 발현이 소실 되면 종양의 분화도가 나빠고 원격전이의 가능성이 높아지는 것으로 미루어, E-cadherin이 상피세포 종양의 침윤이나 전이를 억제하는 역할을 한다고 하였다.^{11,13,14} 즉 E-cadherin의 발현은 대부분 종양의 침윤이나 전이에 대한 연구였다. 그러나 최근 연구에서, 침윤소엽암종에서 유전자 암호된 E-cadherin 돌연변이와 동시에 E-cadherin 단백질 소실이 면역염색으로 관찰되었다.¹⁰ 소엽암종에서 E-cadherin 단백질 발현의 소실은 E-cadherin 유전자의 돌연변이 불활성화(mutational inactivation)에 의한 것으로 보며, 침윤소엽암종의 약 2/3에서 E-cadherin 유전자의 돌연변이 불활성화를 보인다고 하였다.⁸ 이러한 E-cadherin 단백질의 특성과 소엽암종에서의 형태학적 소견과의 연관성에 대한 설명은, E-cadherin에 의해 중재된 세포간 부착기능이 상실되어 소엽암종에서의 특징적인 광범위 성장 형태를 이루는 것으로 추측하였다.^{12,15} 그러나 다양한 인체 종양에서도 E-cadherin 발현이 감소되거나 나타나지 않는 것으로 보고되어 있고,^{8,9} 침윤소엽암종뿐 아니라 소엽내암종인 초기에도 발견되므로 E-cadherin 발현 소실이 반드시 침윤의 시작단계에서 중요한 역할을 할 뿐 아니라 초기 문지기 역할을 하여 소엽내암종 형성에도 동

반된다고 하였다.^{10,16} 이와 같은 연구 결과를 이용하여 유방암종에서 소엽암종과 관암종의 감별 시 세포 모양과 형태학적 진단 기준만으로 구별이 어려운 경우 E-cadherin 면역염색을 시행하여 이용하였다. 광학현미경 소견상 침윤관암종의 종양 세포는 관구조와 집단을 형성하며 종양 세포 사이로 섬유 조직의 증식을 관찰할 수 있고, 일렬 배열상, 소집단, 판상집단, 관상, 선구조 또는 이상의 구조가 혼합하는 양상으로 배열할 수 있다. 반면 침윤소엽암종의 조직학적 소견은 작거나 중등도 크기의 종양 세포가 밀집한 섬유성 버팀질 내에 한 줄로 서서 일렬중대로 침윤하는 양상을 보인다.⁵ 그러나 조직학적 분화도 등급 3의 침윤관암종과 침윤소엽암종의 구별이 어려운 경우가 빈번하며, 두형의 종양이 공존하는 수도 있다.^{5,6,8,9} 관내암종의 경우에도 성장 유형은 다양하며 서로 다른 유형이 혼합되어 나타나는 경우가 많고, 충실형은 종양 세포들이 관강을 완전히 채우고 있는 유형으로서 종양 세포는 작고 균일하거나 중간 크기 또는 크고 다형성을 나타내어, 소엽내암종의 접착력이 떨어져 있는 종양 세포들과 유사하여 감별이 어려운 경우가 흔하다.⁹ 또한 소엽암종화가 저등급의 종양 세포로 이루어지면 소엽내암종과의 감별이 어렵다.⁹ 이의 감별에 E-cadherin 면역염색을 시행하여 E-cadherin 단백질 발현 여부에 따라 소엽암종과 관암종에 대한 보다 정확한 진단을 할 수 있겠다. 소엽암종에서는 E-cadherin 단백질 발현이 소실되어 발현되지 않으나, 관암종에서는 발현되었다.^{6,8-10}

E-cadherin 단백질 발현 정도는 대부분의 연구 결과에서 일치하였으며, Moll 등⁸은 조직학적 분화도가 좋은 침윤관암종의 78%에서 강한 양성을 보였고, 조직학적 분화도가 나쁜 침윤관암종의 모든 예에서도 양성을 보였으나 이 중 54%에서 약한 양

성을 보였다. 이와 대조적으로, 침윤소엽암종에서는 아형이 전형적인 형이거나 충실형에서 22예 중 19예에서 전혀 발현되지 않았으며, 나머지 3예도 약한 반응을 보였다고 보고하였다.⁸ 또한, 관내암종의 경우 모든 예에서 양성이었으며, 소엽내암종에서는 모두 음성이었다.^{6,8-10} 관내암종의 경우 조직학적 등급이나 조직학적 유형에 따라서 E-cadherin 단백질 발현에 차이는 없었다.⁹ Charpin 등¹¹은 동결 조직에서 E-cadherin 단백질 발현 양을 측정 한 결과 소엽암종에서보다 관암종에서 더 강하게 발현되었으며 조직학적 분화도가 나쁜 고등급의 종양에서보다 조직학적 분화도가 좋은 저등급 종양에서 강하게 발현되었는데, 이는 림프절 전이나 종양의 크기와는 무관하다고 하였다.¹⁷ Jacobs 등⁹은 E-cadherin 단백질 발현이 말초관소엽 단위에 부분적으로 침범된 경우에도 이를 명백하게 밝혀주는 데 이용할 수 있으며, 비정형 상피세포 증식을 포함한 형태학적으로 불명확한 병소를 분류하는 경우에도 E-cadherin 면역염색을 일상적으로 시행하여야 한다고 주장하였다. 이런 연구 결과로서 E-cadherin 단백질 발현의 소실은 유방의 소엽암종의 종양형성 중 초기 사건이고 상피성 분화의 일부 소실을 의미하며, 현미경 소견상 소엽내암종에서의 종양 확산과 침윤소엽암종에서의 광범위한 침윤을 나타낸다고 하였다.⁸

본 연구의 결과에서도 소엽암종군은 5예 모두 음성으로 발현되었다. 제 3군인 관내암종의 충실형은 4예 모두 양성으로 소엽내암종과 감별이 어려운 예들이었으나 결과적으로 관내암종을 확인하였다. 현미경 소견상 침윤소엽암종의 조직학적 소견이 혼합된 군으로 진단되었던 제 2군은 48예 중 2예를 제외하고 46예에서 양성으로 발현되었다. 즉, 침윤소엽암종의 전형적인 조직학적 소견을 보였지만, 침윤관암종의 조직학적 분화도 등급 3으로 종양 세포가 관구조를 형성하지 않고 일렬 배열상으로 침윤한 것으로 보였다.

결론적으로, 소엽내암종과 침윤소엽암종에서 E-cadherin 단백질이 소실되어 발현되지 않았으나 관내암종과 침윤관암종에서는 강하게 발현되었다. 이와 같은 연구 결과를 이용하면 E-cadherin 단백질 발현의 유무로 충실형의 관내암종과 소엽암종화 또는 소엽내암종과의 감별에 도움이 될 것이며, 조직학적 분화도가 나쁜 고등급의 침윤관암종과 침윤소엽암종의 감별에 유용하리라 생각한다.

참고문헌

- Silverstein MJ, Lewinsky BS, Waisman JR, *et al.* Infiltrating lobular carcinoma. Is it different from infiltrating duct carcinoma? *Cancer* 1994; 73: 1673-7.
- Lester SC, Cotran RS. The breast. In: Cotran RS, Kumar V, Collins T, eds. Robbins pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999; 1093-117.
- Lagios MD. Ductal carcinoma *in situ*: controversies in diagnosis, biology, and treatment. *Breast J* 1995; 1: 68-78.
- Page DL, Kidd TE, Dupont VD, Simpson JF, Rogers LW. Lobular neoplasia of the breast: Higher risk for subsequent invasive cancer predicted by more extensive disease. *Hum Pathol* 1991; 22: 1232-9.
- Rosen PP. Rosen's breast pathology. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997; 227-75.
- Goldstein NS, Bassi D, Watts JC, Layfield LJ, Yaziji H, Gown AM. E-cadherin reactivity of 95 noninvasive ductal and lobular lesions of the breast. Implications for the interpretation of problematic lesions. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 534-42.
- Lishman SC, Lakhani SR. Atypical lobular hyperplasia and lobular carcinoma in situ: surgical and molecular pathology. *Histopathology* 1999; 35: 195-200.
- Moll R, Mitze M, Frizen UH, Birchmeier W. Differential loss of E-cadherin expression in infiltrating ductal and lobular breast carcinomas. *Am J Pathol* 1993; 143: 1731-42.
- Jacobs TW, Pliss N, Kouria G, Schnitt SJ. Carcinomas in situ of the breast with indeterminate features. Role of E-cadherin staining in categorization. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 229-36.
- De Leeuw WJF, Bex G, Vos CBJ, *et al.* Simultaneous loss of E-cadherin and catenins in invasive lobular breast cancer and lobular carcinoma in situ. *J Pathol* 1997; 183: 404-11.
- Charpin C, Garcia S, Bouvier C, *et al.* E-cadherin quantitative immunocytochemical assays in breast carcinomas. *J Pathol* 1997; 181: 294-300.
- Rasbridge SA, Gillett CE, Sampson SA, Walsh FS, Millis RR. Epithelial (E-) and placental (P-) cadherin cell adhesion molecule expression in breast carcinoma. *J Pathol* 1993; 169: 245-50.
- Shiozaki H, Oka H, Inoue M, Tamura S, Monden M. E-cadherin mediated adhesion system in cancer cells. *Cancer* 1996; 77: 1605-13.
- Sormunen RT, Leong ASY, Vaaraniemi JP, Fernando SSE, Eskelinen SM. Immunolocalization of the fodrin, E-cadherin, and β -catenin adhesion complex in infiltrating ductal carcinoma of the breast-comparison with an *in vitro* model. *J Pathol* 1999; 187: 416-23.
- Bex G, Cleton-Hansen AM, Strumane K, *et al.* E-cadherin is inactivated in a majority of invasive human lobular breast cancers by truncation mutations throughout its extracellular domain. *Oncogene* 1996; 13: 1919-25.
- Vos CB, Cleton-Hansen AM, Bex G, *et al.* E-cadherin inactivation in lobular carcinoma in situ of the breast: an early event in tumorigenesis. *Br J Cancer* 1997; 76: 1131-3.
- Gamallo C, Palacios J, Suarez A, *et al.* Correlation of E-cadherin expression with differentiation grade and histological type in breast carcinoma. *Am J Pathol* 1993; 142: 987-93.