

## 유방암에서 KAI-1 단백질의 발현 양상: 액외부 림프절전이를 포함한 다른 예후인자와의 상관관계

이시내 · 조민선 · 성순희 · 구혜수  
김옥경 · 한운섭

이화여자대학교 의과대학 병리학교실

### KAI-1 Protein Expression in Breast Cancer: Correlation with Axillary Lymph Node Metastasis and other Prognostic Factors

Shi Nae Lee, Min Sun Cho, Sun Hee Sung, Heasoo Koo, Ok Kyung Kim, and Woon Sup Han

Department of Pathology, Medical College, Ewha Womans University, Seoul, Korea

**Background :** KAI-1 is a metastasis suppressor gene. We have evaluated the correlation between KAI-1 protein expression in ductal carcinomas of the breast and axillary lymph node metastasis. **Methods :** The expression of KAI-1 protein was confirmed by immunohistochemistry to examine breast tissues of ductal carcinomas from 50 patients with nodal metastasis and from 53 patients without metastasis. Western blot analysis was performed on fresh frozen breast tissues from 17 cases with nodal metastasis and from 19 cases without metastasis. **Results :** Immunohistochemical KAI-1 protein expression was decreased or negative in 39 out of 50 cases with metastasis (78%), compared with 8 out of 53 cases with no metastasis (15.1%). The difference was statistically significant ( $p < 0.05$ ). Immunohistochemical KAI-1 protein expression was significantly decreased in cases with higher modified Black's nuclear grade ( $p = 0.027$ ) and larger tumor size ( $p = 0.039$ ). Western blot analysis showed positive bands at 29.5 kDa in 8 out of 19 cases without metastasis (42.1%), and none of the 17 cases with metastasis showed positive bands ( $p = 0.0024$ ). **Conclusion :** These results suggest the possibility that KAI-1 might play a major role of a metastasis suppressor gene in addition to the part it plays in the growth and progression of human breast ductal carcinoma. In addition, the decreased expression of KAI-1 protein in breast ductal carcinomas could be used as a factor suggesting poor prognosis.

**Key Words :** KAI-1 protein-Breast cancer-Metastasis-Lymph node

접 수 : 2003년 4월 8일  
게재승인 : 2003년 7월 26일

책임저자 : 한 운 섭  
우 158-710 서울시 양천구 목동 911-1  
이화여자대학교 의과대학 병리학교실  
전화: 02-2650-5044  
Fax: 02-2650-5288  
E-mail: raphain@ewha.ac.kr

유방암은 전 세계적으로 여성에게 두 번째로 흔한 종양이고, 국내에서도 위암에 이어 두 번째로 흔한 암이다.<sup>1</sup> 위암, 간암, 자궁암, 폐암에 이어 다섯 번째로 사망률이 높은 암으로 서양에서와 마찬가지로 빈도가 매년 증가하는 추세에 있다.<sup>2</sup> 다른 종양에서처럼 유방암에서도 전이가 치사율을 결정짓는 중요한 역할을 하여 일단 전이가 일어나면 생존율은 매우 낮다. 유방암의 진행과정은 연속적인 유전적 변화과정에 의한 다단계 과정으로, 어떤 유전자의 소실이나 불활성화가 치사율에 결정적인 영향을 미치는 전이에 관여하는지 알게 된다면 종양의 치료와 예후에 도움이 될 것이다. 유방암의 발달 과정에 염색체 6과 11이 빈번히 소실되거나 변이되는 것이 알려졌고,<sup>3-6</sup> 유방암의 유전적 변화 과정에서 가장 빈번하게 관여하는 위치는 염색체 11p 부분이다.<sup>6-8</sup>

KAI-1은 분자량은 29,610이고 염색체 11p11.2에 위치하는 267아미노산 단백질이며, TM4SF (transmembrane 4 super-family)의 한 구성원인 CD82, CD33과 동일하다.<sup>9</sup> TM4SF 단백질들은 서로 유사한 구조로 이루어져 있으며, 생화학적으로 transmembrane domain (막횡단영역)으로 추정되는 네 개의 소수성(hydrophobic) 부위를 포함하는 구조를 공유하고 있다. TM4SF 단백질의 정확한 생화학적 기능은 정확하게 알 수가 없다. 그러나 현재까지의 연구에 의하면 이 TM4SF 단백질은 세포의 발달, 증식, 활성화 및 운동성에 관여하는 것으로 생각된다.<sup>10</sup> 적어도 세 개의 다른 TM4SF 단백질, 즉 ME491/CD63, MRP-1/CD9, KAI-1/CD82는 종양의 진행과 전이에 중요한 역할을 하는 것으로 보인다.<sup>10</sup> 악성도가 매우 높은 전립선암의 세포균주에서 KAI-1이 발현되는 경우에 폐로 전이되는 빈도가

감소되어서, 전립선암의 전이억제 인자로 처음 알려졌다.<sup>9</sup> KAI-1은 처음 발견 이후로 여러 중앙 즉 췌장암, 비소세포성 폐암, 방광암, 유방암 및 위암의 진행과정에 관여하는 것으로 알려졌다.<sup>11-13</sup> 비교적 최근에 KAI-1의 생물학적 의미를 추구하는 연구가 시작되었고, KAI-1 단백질 발현과 유방암의 림프절 전이의 관계에 대한 연구도 초기단계에 있다. 본 연구의 목적은 KAI-1 단백질 발현의 감소 또는 소실이 림프절 전이를 보이는 진행된 유방암과 어떤 상관관계를 보이는지 알아보고자 하는 것이다. 이를 위해 림프절 전이여부에 따라 KAI-1 단백질의 발현여부의 정도를 면역화학염색에서 비교 관찰하여 보고, 또한 Western blot을 이용해 KAI-1 단백질의 유무를 분석하였다. 또한 각 중앙에서 핵등급(nuclear grade), 조직학적 등급(histologic grade), 중앙의 크기, 병기, 에스트로겐 수용체(estrogen receptor)와 프로게스테론 수용체(progesterone receptor)의 발현 정도 등과 KAI-1 단백질과의 상관관계도 비교 분석하였다.

## 재료와 방법

### 재료

연구재료는 1994년 10월부터 2000년 10월까지 이화의료원의 병리과에 의뢰되어 침윤성 관암으로 진단되어 절제술을 받은 중례 중 면역조직화학 염색이 가능한 103예를 대상으로 하였다. 103예 중 53예는 액와부 림프절 전이가 없는 예이고, 50예는 림프절 전이가 있는 중례였다. 액와부 림프절 전이가 있는 50예 중 원거리 전이가 있는 5예가 포함되었다. 이 중 36예에서 동결

보관된 신선조직으로 웨스턴 흡입 분석을 시행하였다.

### 병리조직학적 검색

유방내 침윤성 관암중으로 진단 받은 103예의 슬라이드를 변형 Black 핵등급<sup>14</sup>과 변형 Bloom-Richardson의 조직학적 등급<sup>15</sup>에 따라 다시 판정하였다. 변형 Black 핵등급은 정상 유세포의 핵과 비교한 중앙세포의 핵의 형태에 따른 분류이며 저등급(grade 1), 중등급(grade 2), 고등급(grade 3)으로 구분하였다. 변형 Bloom-Richardson에 의한 조직학적 등급은 관형성(tubule formation), 핵의 과염색성(nuclear hyperchromasia), 유사분열정도에 따라 저등급(grade 1), 중등급(grade 2), 고등급(grade 3)으로 구분하였다.

### 면역조직화학 염색

에스트로겐 수용체(estrogen receptor, Novocastra, UK), 프로게스테론 수용체(progesterone receptor, Novocastra, UK), KAI-1 (CD82, Santa Cruz, California, USA)에 대한 면역조직화학 염색을 시행하였다. 10% 중성 완충 포르말린에 고정된 후 제작한 파라핀 포매조직을 4  $\mu$ m 두께로 박절하여 xylene으로 2회 탈파라핀하고, 100%, 93%, 80% 에탄올로 처리한 후 증류수로 흡수시켰다. 흡수시킨 절편을 전자레인지에 이용하여 시트르산염 완충액(citrate buffer)(pH 6.0)에 15분간 처리한 후 3% 과산화수소로 내인성 과산화효소의 작용을 억제시켰다. Tris 완충용액으로 수세한 후 일차항체로 에스트로겐 수용체(1:40희석), 프로게스테론 수용체(1:40희석)와 KAI-1 (1:250

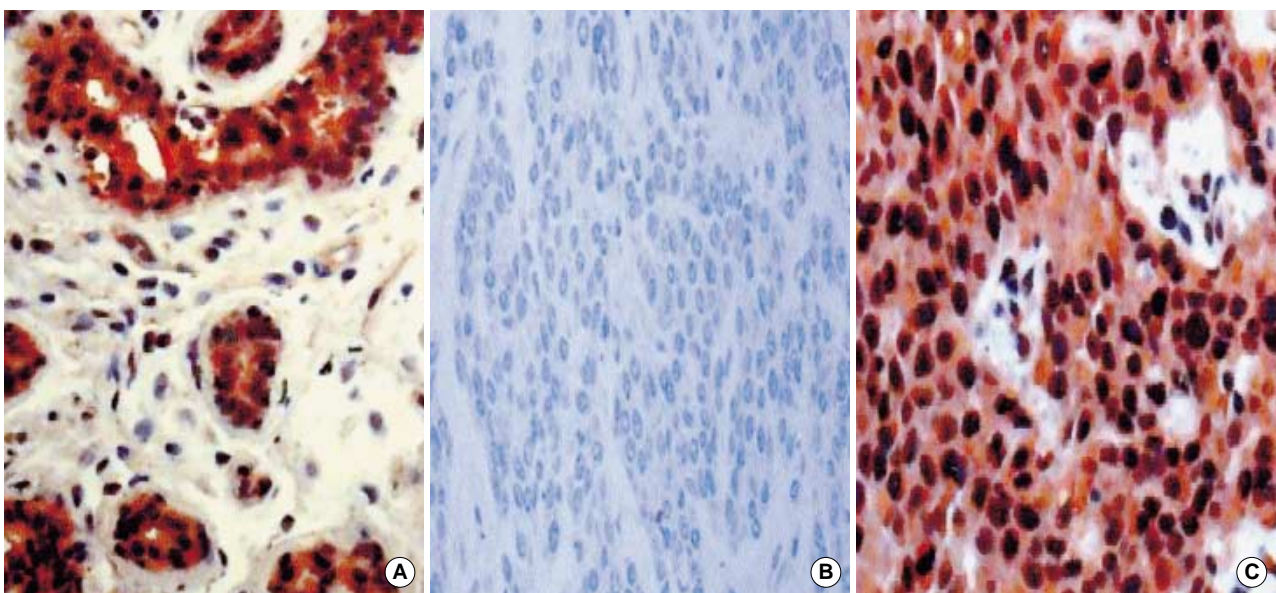


Fig. 1. (A) KAI-1 protein expression in normal breast. (B) Decreased expression of KAI-1 protein in breast cancer with lymph nodes metastases. (C) Abundant expression of KAI-1 protein in breast cancer without lymph nodes metastases.

희석)을 이용하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 tris 완충용액으로 수세하였다. biotin과 결합된 이차항체에 20분간 1회 반응시킨 후 다시 tris 완충용액으로 수세하고, streptavidin과 peroxidase가 결합된 용액에 20분간 처리하였다. 이를 수세 후 3-amino-9-ethylcarbazole (Immunotec, FR)로 발색시킨 다음 헤마톡실린으로 대조 염색을 하였다. KAI-1 면역염색의 판독은 환자의 임상상태에 대한 사전 지식이 없는 상태에서 이루어졌다. 판독방법은 주변의 정상 유선 세포와 양성 섬유선종의 세포와 같은 강도로 종양세포에 염색되는 경우를 양성으로 하였다(Fig. 1A). 양성세포의 양적 평가는 양성세포가 없거나 5% 미만인 경우는 음성(negative), 양성세포가 5-50%인 경우는 감소(decreased)(Fig. 1B), 51% 이상인 경우를 풍부(abundant)(Fig. 1C)로 분류하였다.

### Western blot 분석

림프절 전이가 있는 17예와 전이가 없는 19예의 동결 보관된 신선한 유방암 조직을 PBS (phosphate buffered saline, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM sodium phosphate dibasic, 1.8 mM potassium phosphate monobasic, pH 7.4)로 세척한 후 수술용 가위로 잘게 자르고, 약 5배 부피의 lysis buffer (10 mM Tris-acetate, 10 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 µg/mL aprotinin, pH 7.4)를 넣은 뒤에 균질화하였다. 이 후 12,000 rpm에서 30분 동안 원심 분리하여 cytosol을 얻었다. 단백질 정량은 bovine serum albumin (Sigma)을 표준액으로 하여 Bradford assay 용액(100 mg/L Coomassie Brilliant Blue G-250, 50 mL/L 95% ethanol, 100 mL/L 85% phosphoric acid) 1 mL에 시료를 5 µL를 넣고 595 nm에서 측정하여 단백질 양과 흡광도 간의 관계식을 구하였다. 분리한 표본의 5 µL의 흡광도를 측정 후 관계식을 이용하여 단백질 양을 알아내 모든 표본의 단백질 양이 동량이 되게 하였다. 분리한 표본 18 µL에 4×sample buffer (0.25 M Tris-HCl pH 6.8, 8% SDS, 40% glycerol, 20% β-mercaptoethanol) 6 µL를 첨가한 후 95°C에서 5분간 가열하였다. 5% 증적겔과 10% 분리겔상에서 100 V로 2시간 30분 동안 전기영동 하였다. 전기영동이 끝난 겔을 흡입키트(Bio-Rad)를 이용하여 전송완충액(25 mM Tris, 192 mM glycine, 0.01% SDS, 20% methanol, pH8.3)에서 90 V 1시간 30분간 흡입을 진행시킨 후 구멍 크기가 0.45 µm인 니트로셀룰로오스 막에 옮겼다. 전송이 끝난 니트로셀룰로오스 막을 Ponceau S로 염색하여 전송이 잘 되었는가를 확인하였다. 이차중류수로 세척한 후 차단 용액(5% skim milk in TBST)으로 실온에서 2시간 반응시킨 다음 차단 용액에 1:1,000으로 희석한 anti-KAI-1 항체(Santa Cruz Biotech)를 실온에서 2시간 처리하였다. 이것을 TBST 용액으로 10분간 3회 세척한 후 차단 용액에 1:5,000으로 희석한 horseradish peroxidase conjugated anti-rabbit IgG antibody (New England Biolab)를 처리하여 실온에서 1시간

반응시켰다. 그 다음 TBST 용액으로 10분간 3회 세척하였다. 결과를 확인하기 위해 화학발광 기질액인 용액 I과 용액 II (Amersham Pharmacia Biotech)를 같은 양으로 섞어 니트로셀룰로오스 막에 1분간 처리하고 X-ray film (Kodak)에 10분간 노출시키고 현상액에 1분간 담근 후 암실에서 현상하였다.

### 통계분석

통계처리는 Windows 용 SPSS 9.0 program을 사용하여, 각 군에 대하여 Chi-square test를 시행하였다. 통계적 유의성은 p 값이 0.05 이하인 경우로 하였다.

## 결 과

### 병리학적 소견

변형 Black 핵등급이 저등급(grade 1)인 경우가 27예(26.2%), 중등급(grade 2)인 경우가 54예(52.4%), 고등급(grade 3)인 경우가 22예(21.4%)였다. 조직학적 등급은 저등급이 20예, 중등급이 65예, 고등급이 18예였다. 종양의 크기는 2 cm 이하(T1)가 27예, 2 cm 초과에서 5 cm 이하(T2)가 64예, 5 cm 초과(T3)가 12예였다. 액와부 림프절 전이가 없는 경우가 53예, 림프절 전이를 보인 예가 50예였고, 이 중 뼈, 간, 흉막 등으로의 원거리 전이를 보인 경우가 5예였다.

### KAI-1 단백질의 면역조직화학 염색 소견

#### 림프절 전이여부에 따른 KAI-1 단백질 발현 양상

림프절 전이가 없는 53예 중 풍부한 양성 소견을 보인 경우는 45예(84.9%)였다. 7예(13.2%)는 감소 양상을 보였고 1예(1.9%)는 음성이었다. 림프절 전이가 있는 50예 중 풍부한 양성 소견을 보인 경우는 11예(22.0%), 감소 소견을 보인 경우는 30예(60.0%), 음성인 경우는 9예(18.0%)였다. 이들은 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(Table 1). 원거리 전이의 경우 뼈 전이가 2예, 흉막 전이는 2예, 간 전이는 1예였다. 뼈와 흉막 전이

**Table 1.** Relationship between immunohistochemical expression of KAI-1 protein and axillary lymph node metastasis of the breast cancer

Lymph nodes	KAI-1 protein expression			Total
	Negative	Decreased	Abundant	
Negative Cases (%)	1 (1.9%)	7 (13.2%)	45 (84.9%)	53 (100.0%)
Positive Cases (%)	9 (18.0%)	30 (60.0%)	11 (22.0%)	50 (100.0%)
Total	10	37	56	103

p<0.05.

**Table 2.** Relationship between immunohistochemical expression of KAI-1 protein and tumor size of the breast cancer

Tumor size	KAL-1 protein expression			
	Negative	Decreased	Abundant	Total
≤ 2 cm Cases (%)	-	7 (25.9%)	20 (74.1%)	27 (100.0%)
2-5 cm Cases (%)	8 (12.5%)	23 (35.09%)	33 (51.6%)	64 (100.0%)
>5 cm Cases (%)	2 (16.7%)	7 (58.3%)	3 (25.0%)	12 (100.0%)
Total	10	37	56	103

p=0.039.

**Table 3.** Relationship between immunohistochemical expression of KAI-1 protein and nuclear grade and histologic grade of the breast cancer

Breast cancer	KAL-1 protein expression <sup>a</sup>				
	Negative	Decreased	Abundant	Total	
Nuclear grade <sup>b</sup>	1	1	8	18	27
	2	6	18	30	54
	3	3	11	8	22
Histologic grade <sup>c</sup>	1	1	6	13	20
	2	7	23	35	65
	3	2	8	8	18
Total	10	37	56	103	

p=0.0272: <sup>a</sup> vs <sup>b</sup>, p>0.05: <sup>a</sup> vs <sup>c</sup>.

가 있는 3예에서 음성소견을, 흉막과 간 전이의 2예에서 10% 미만의 발현율을 보였다.

#### 종양의 크기에 따른 KAI-1 단백질 발현 양상

KAI-1 단백질 발현이 음성이거나 감소 소견을 보이는 경우는 2 cm 이하일 때는 27예 중 7예(25.9%), 2 cm 초과에서 5 cm 이하일 때는 64예 중 31예(48.4%), 5 cm 초과인 경우는 12예 중 9예(75%)로, 종양의 크기에 따라 KAI-1 단백질 발현 양상이 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p=0.039, Table 2).

#### 변형 Black 핵등급, 조직학적 등급과 KAI-1 단백질 발현과의 상관관계

저등급인 27예 중 18예(66.7%)에서 풍부한 양성 소견을 보였고, 음성이거나 감소 소견을 보인 경우는 9예(33.3%)였다. 중등급인 54예에서는 음성이거나 감소 소견을 보인 경우가 24예(44.4%)였고, 고등급인 22 경우에서는 14예(63.6%)에서 음성이거나 감소 소견을 보여 핵등급에 따라서 KAI-1 단백질 발현이 유의한 차이를 보였다(p=0.0272)(Table 3). 조직학적 등급과의 상관관계를 살펴보면 KAI-1 단백질 발현이 음성이거나 감소 소견을 보이는 경우는, 저등급 20예 중 7예(35.0%), 중등급 65예 중 30예(46.2%), 고등급 18예 중 10예(55.5%)로 통계적으로 유의한 차이가 없었다(p>0.05)(Table 3).

**Table 4.** Relationship between immunohistochemical expression of KAI-1 protein and tumor stage of the breast cancer

Stage	KAL-1 protein expression			
	Negative	Decreased	Abundant	Total
I, II Cases (%)	8 (9.0%)	30 (33.7%)	51 (57.3%)	89 (100.0%)
III, IV Cases (%)	2 (14.3%)	7 (50.0%)	5 (35.7%)	14 (100.0%)
Total	10	37	56	103

p&gt;0.05.

**Table 5.** Relationship between immunohistochemical expression of KAI-1 protein and estrogen receptor and progesterone receptor

Receptors	KAL-1 protein expression <sup>a</sup>				
	Negative	Decreased	Abundant	Total	
Estrogen receptor <sup>b</sup>	Negative	2	7	6	15
	Positive	3	10	14	27
Progesterone receptor <sup>c</sup>	Negative	1	7	7	15
	Positive	4	10	13	27
Total	5	17	20	42	

p>0.05: <sup>a</sup> vs <sup>b</sup>, P>0.05: <sup>a</sup> vs <sup>c</sup>.

#### 종양의 병기와 KAI-1 단백질 발현과의 상관관계

낮은 병기(I, II)에 속한 89예 중 38예(42.7%)에서 음성 또는 감소 소견을 보였고, 높은 병기(III, IV)에 속한 14예 중 9예(64.3%)에서 음성 또는 감소 소견을 보였다. 그러나 병기에 따른 KAI-1 단백질 발현은 유의한 차이가 없었다(p>0.05)(Table 4).

#### 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체와 KAI-1 단백질 발현과의 상관관계

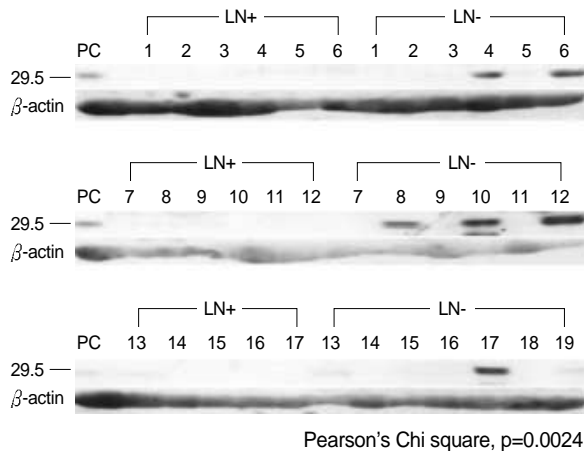
KAI-1 단백질 발현이 음성 또는 감소 소견을 보이는 경우는 에스트로겐 수용체가 음성인 15예 중 9예(60.0%), 프로게스테론 수용체가 음성인 15예 중 8예(53.4%)였고 유의한 차이가 없었다(p>0.05)(Table 5).

#### Western blot 분석

액와부 림프절 전이가 있는 17예와 림프절 전이가 없는 19예, 총 36예에서 웨스턴 블롯 분석을 시행하였다. 림프절 전이가 없는 19예 중 8예(42.1%)에서 KAI-1 단백질 발현을 보인 반면, 림프절 전이가 있는 17예는 KAI-1 단백질 발현을 보이는 경우가 한 예도 없어 이들은 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p=0.0024)(Fig. 2).

## 고찰

암에 있어 전이는 타질환과 구분되는 가장 치명적인 성질이다. 종양 세포가 원발성 부위를 떠나 순환 시스템을 통해 다른



**Fig. 2.** Western blot analysis in 36 cases of the breast cancer. Eight cases of 19 cases without lymph node metastasis show KAI-1 protein expression at approximately 29.5 KDa, while no case with lymph node metastasis show KAI-1 protein expression. PC: positive control, LN -: without lymph nodes metastases, LN +: with lymph nodes metastases.

부위로 이동 침투하여 그곳에서 성장하는 전이에는 복잡하고 많은 과정이 관여한다. 암세포가 림프절과 타장기로 퍼지고 그곳에서 성장하는 것은 환자의 임상적 예후와 생존 기간에 큰 영향을 미치므로, 임상 종양학에서 종양의 전이를 예측하는 것은 매우 중요하다. 종양세포의 유전적 불안정성은 종양의 성장과 전이를 일으키는 요인 중의 하나이다. 전이 과정에는 전이 촉진 유전자, 전이 억제 유전자 등 많은 유전자가 상호 작용을 한다. 그 중에서 전이 억제 인자의 불활성은 종양세포가 전이되는 데 관여하는 중요한 요소 중의 하나이다. 염색체 11, 특히 11p는 사람의 유방암에서 동반되는, 유전인자의 변화가 가장 흔하게 생기는 부위 중 하나로 밝혀졌다.<sup>6-8</sup> 또한 매우 전이능이 높은 유방암 세포주에 정상인 사람의 염색체 11을 심어주면 전이능이 억제되는 것이 보고되었다.<sup>16</sup>

1995년 사람의 염색체 11p11.2에 위치하는 KAI-1 유전자를 전립선암에서 전이억제인자로 처음 발견하였고, 정상 전립선 조직에서 KAI-1이 높게 발현되고 전이된 전립선 암세포주에서 그 발현이 크게 감소하는 것을 발견했다.<sup>9</sup> 또한 KAI-1 단백질 전립선암의 진행과정 중에 하향조절(down regulation)되는 것을 관찰하였다.<sup>17</sup>

KAI-1 유전자는 구조적으로 고유한 막당단백질과(membrane glycoprotein family)에 속하며, MRP-1/CD9,<sup>18</sup> KAI-1/CD82, ME491/CD63,<sup>19</sup> TAPA-1/CD81,<sup>20</sup> CD53,<sup>21</sup> CD37<sup>22</sup> 등이 막횡단 4 상과(transmembrane 4 superfamily)에 속한다. 최근 연구 결과들을 통해 이 유전자의 상과는 세포의 발달, 증식, 유동성 등을 조절하는 역할을 한다고 추정하였다.<sup>23</sup> 종양의 진행과정 중에서 KAI-1의 역할은 전립선암에서만 국한되는 것은 아니다. KAI-1의 발현이 폐의 비소세포암종 환자의 좋은 예후와 관련이 있다는 보고가 있으며,<sup>24,25</sup> 전이가 일어난 췌장암

과 고등급의 방광암에서 KAI-1의 발현이 감소되는 것이 제자리부합화(in situ hybridization)에 의해 관찰되었다.<sup>11,12</sup> 최근에 전립선, 난소, 방광, 자궁내막, 폐, 멜라닌 세포의 정상 세포와 암세포주에서 KAI-1 단백을 분석하였는데, KAI-1 단백질이 대부분의 암세포주에서 감소되었다.<sup>26</sup> 위암에서의 KAI-1 단백질 발현의 역할에 대해서는 이견이 있다. 식도암과 위암에서 제자리부합화와 Northern blot으로 측정된 KAI-1 mRNA 발현은 종양의 분화, 병기, 전이여부와 관련성을 보이지 않았다.<sup>27</sup> 그러나 Hinoda 등<sup>28</sup>이 면역염색으로 관찰한 KAI-1의 발현은 저등급(I, II) 위암에 비해 고등급(III, IV) 위암에서 감소되었다. Yang 등<sup>29</sup>이 유방암 세포주에서 암세포의 전이능과 KAI-1 mRNA가 역 상관관계를 보이는 것을 관찰하였다. 그러나 현재까지 사람의 유방암 조직에서 림프절 전이 여부에 따른 KAI-1 단백질 발현양상의 변화를 본 연구는 매우 드물다. 전이력이 높은 암세포주에서 전이억제인자로 작용하는 KAI-1 단백질이 인체 조직에서도 같은 역할을 하는지 보기 위하여, 본 연구에서는 액외부 림프절 전이가 있는 증례와 전이가 없는 증례의 유방암 조직에서 KAI-1 단백질 발현 양상을 면역염색과 웨스턴 흡입으로 비교하였다. 면역염색의 결과에서 액외부 림프절 전이가 없는 경우 53예 중 8예(15.1%)에서만 KAI-1 단백질 발현이 음성 또는 감소를 보인 반면, 액외부 림프절 전이가 있는 50예 중에서는 39예(78.0%)에서 음성 또는 감소를 보여 KAI-1 단백질이 림프절 전이가 없는 경우보다 전이가 있는 경우에 의미 있게 발현이 감소되는 것을 알 수 있었다( $p < 0.05$ ). 특히 뼈, 간, 흉막으로의 원격 전이가 있는 5예는 음성이거나 10% 미만의 발현율을 보였다. 또한 웨스턴 흡입에서도 림프절 전이가 없는 19예 중 8예(42.1%)에서 단백질 발현을 보였으나 림프절 전이가 있는 17예 중 어느 한 예도 단백질 발현을 보이지 않아( $p = 0.024$ ), 유방암에서 KAI-1 단백질발현과 림프절 혹은 원격 전이 사이에 역 상관관계가 있음을 알 수 있었다.

본 연구에서 KAI-1 단백질 발현 양상과 유방암의 핵등급, 조직학적 등급, 종양의 크기와의 상관관계를 관찰하여 보았는데, 핵등급이 증가할수록, 종양의 크기가 증가할수록 KAI-1 단백질 발현이 감소하는 것을 알 수 있었다. 핵등급이 저등급인 27예 중 18예(66.7%)에서 풍부한 양성 소견을 보였고, 음성이나 감소 소견을 보인 경우는 9예(33.3%)였다. 중등급인 54예에서는 음성이나 감소 소견을 보인 경우가 24예(44.4%)였고 고등급인 22경우에서는 14예(63.6%)에서 음성이나 감소 소견을 보여 핵등급에 따라서 KAI-1 단백질 발현이 유의한 차이를 보였다( $p = 0.0272$ ). 조직학적 등급에서도 수적으로는 등급이 증가할수록 KAI-1 단백질 발현이 감소하였으나 통계적 의의는 없었다. 종양의 크기와 KAI-1 단백질 발현과의 상관관계를 살펴보면 종양의 크기가 2 cm 이하인 경우 7예(25.9%)에서 음성 또는 감소 소견을 보인 반면, 5 cm 초과인 경우 75%(9예)에서 KAI-1 단백질 발현이 감소되었다( $p = 0.039$ ). 이런 결과는 악성도가 높은 유방암 세포주와 조직에서 KAI-1 단백질이 감소되고, 같은 조직 내에서도 저

등급의 종양세포와 정상 유관 세포와 비교해서 이형성이 심한 세포에서 KAI-1 단백질 발현이 의미 있게 낮은 것으로 보고한 Yang 등<sup>30</sup>의 연구 결과와 비슷하다. 그들은 정상 유방 조직과 관내암종(DCIS) 조직에서 KAI-1이 각각 43%, 28% 감소되거나 또는 음성인 반면, 침윤성 암종에서는 80%에서 KAI-1 발현이 감소되거나 음성이어서 KAI-1이 유방암에서 좋은 예후인자의 역할을 한다는 것을 입증했다. 종양의 병기에 따른 KAI-1 단백질 발현 양상을 살펴보면 낮은 병기(I, II)에 속한 89예 중 38예(42.7%)에서 음성 또는 감소 소견을 보였다. 그런 반면에 높은 병기(III, IV)에 속한 14예 중 9예(64.3%)에서 음성 또는 감소 소견을 보여 병기가 높을수록 KAI-1 단백질 발현이 감소하였으나 통계적 의미는 없었는데, 이는 각 군의 표본의 수가 충분하지 않아서인 것 같았다. Guo 등<sup>11</sup>은 침윤성암에서 Northern blot과 제자리부합화를 이용하여 KAI-1 mRNA가 종양의 병기와 의미 있는 역 상관관계를 보인 것을 보고했다. Yang 등<sup>29</sup>은 스테로이드 수용체를 갖는 유방암 세포주에서 수용체 음성인 세포주보다 더 높은 양의 KAI-1 RNA를 관찰했다. 그러나 본 연구에서는 에스트로겐 수용체, 프로게스트론 수용체와 KAI-1 단백질 발현 사이에는 의미 있는 연관성을 발견할 수 없었다.

유방암환자의 재발과 KAI-1 발현의 상관관계에 대한 연구에서 KAI-1 음성인 환자의 무병률이 KAI-1 양성인 종양을 가진 환자에 비해 현저히 낮은 것으로 보고되었다.<sup>13</sup> 또한 KAI-1 양성인 유방암 환자가 KAI-1 음성인 환자보다 총 생존율이 더 높은 것으로 보고되었다.<sup>30</sup> 또한 Higashiyama 등<sup>25</sup>은 KAI-1 발현이 비소세포성 폐암에서도 총 생존율과 무병률에서 좋은 예후 인자의 역할을 하는 것을 관찰하였다. 침윤성암 환자에서는 KAI-1 mRNA와 생존율 사이에 연관이 없었다.<sup>11</sup> 본 연구에서는 환자들의 생존율과 KAI-1 단백질 발현과의 상관관계에 대해서는 조사하지 못하였다. 그러나 액와부 림프절 전이가 있는 경우, 핵등급과 종양의 크기가 증가할수록 KAI-1 단백질 발현이 의미 있게 감소하는 것을 보아, 유방암에서 KAI-1 단백질이 전이억제인자의 역할을 할 뿐 아니라 종양의 진행 과정에도 관여하고, 이에 따라서 환자의 예후 추정과 치료에 이용할 수 있을 것으로 생각한다.

## 참고문헌

1. 한국인 암등록 조사자료보고서. Ministry of Health and Welfare. Seoul 1998.
2. Yoo KY, Kim DH. Trends in mortality and morbidity of uterine cervix, female breast, and ovarian cancer in Korea. *Seoul J Med* 1992; 33: 175-81.
3. Hampton GM, Mannermaa A, Winquist R, *et al.* Loss of heterozygosity in sporadic human breast carcinoma: a common region between 11q22 and 11q23.3. *Cancer Res* 1994; 54: 4586-9.
4. Gudmundsson J, Barkardottir RB, Eiriksdottir G, *et al.* Loss of heterozygosity at chromosome 11 in breast cancer: association of prognostic factors with genetic alterations. *Br J Cancer* 1995; 72: 696-701.
5. Negrini M, Rasio D, Hampton GM, *et al.* Definition and refinement of chromosome 11 regions of loss of heterozygosity in breast cancer: identification of a new region at 11q23.3. *Cancer Res* 1995; 55: 3003-7.
6. Winqvist R, Hampton GM, Mannermaa A, *et al.* Loss of heterozygosity for chromosome 11 in primary human breast tumors is associated with poor survival after metastasis. *Cancer Res* 1995; 55: 2660-4.
7. Winqvist R, Mannermaa A, Alavaikko M, *et al.* Refinement of regional loss of heterozygosity for chromosome 11p15.5 in human breast tumors. *Cancer Res* 1993; 53: 4486-8.
8. Ali IU, Lidereau R, Theillet C, Callahan R. Reduction to homozygosity of genes on chromosome 11 in human breast neoplasia. *Science* 1987; 238: 185-8.
9. Dong JT, Lamb PW, Rinker-Schaeffer CW, *et al.* KAI1, a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2. *Science* 1995; 268: 884-6.
10. Hemler ME, Mannion BA, Berditchevski F. Association of TM4SF proteins with integrins: relevance to cancer. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1287: 67-71.
11. Guo X, Friess H, Graber HU, *et al.* KAI1 expression is up-regulated in early pancreatic cancer and decreased in the presence of metastases. *Cancer Res* 1996; 56: 4876-80.
12. Yu Y, Yang JL, Markovic B, *et al.* Loss of KAI1 messenger RNA expression in both high-grade and invasive human bladder cancers. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 1045-9.
13. Huang CI, Kohno N, Ogawa E, Adachi M, Taki T, Miyake M. Correlation of reduction in MRP-1/CD9 and KAI1/CD82 expression with recurrences in breast cancer patients. *Am J Pathol* 1998; 153: 973-83.
14. Black MM, Barclay TH, Hankey BF. Prognosis in breast cancer utilizing histologic characteristics of the primary tumor. *Cancer* 1975; 36: 2048-55.
15. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; 19: 403-10.
16. Phillips KK, Welch DR, Miele ME, Lee JH, Wei LL, Weissman BE. Suppression of MDA-MB-435 breast carcinoma cell metastasis following the introduction of human chromosome 11. *Cancer Res* 1996; 56: 1222-7.
17. Dong JT, Suzuki H, Pin SS, *et al.* Down-regulation of the KAI1 metastasis suppressor gene during the progression of human prostatic

- cancer infrequently involves gene mutation or allelic loss. *Cancer Res* 1996; 56: 4387-90.
18. Ikeyama S, Koyama M, Yamaoko M, Sasada R, Miyake M. Suppression of cell motility and metastasis by transfection with human motility-related protein (MRP-1/CD9) DNA. *J Exp Med* 1993; 177: 1231-7.
  19. Hotta H, Ross AH, Huebner K, *et al.* Molecular cloning and characterization of an antigen associated with early stages of melanoma tumor progression. *Cancer Res* 1988; 48: 2955-62.
  20. Oren R, Takahashi S, Doss C, Levy R, Levy S. TAPA-1, the target of an antiproliferative antibody, defines a new family of transmembrane proteins. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 4007-15.
  21. Amiot M. Identification and analysis of cDNA clones encoding CD53. A pan-leukocyte antigen related to membrane transport proteins. *J Immunol* 1990; 145: 4322-5.
  22. Classon BJ, Williams AF, Willis AC, Seed B, Stamenkovic I. The primary structure of the human leukocyte antigen CD37, a species homologue of the rat MRC OX-44 antigen. *J Exp Med* 1989; 169: 1497-502.
  23. Wright MD, Tomlinson MG. The ins and outs of the transmembrane 4 superfamily. *Immunol Today* 1994; 15: 588-94.
  24. Adachi M, Taki T, Ieki Y, Huang CL, Higashiyama M, Miyake M. Correlation of KAI1/CD82 gene expression with good prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1996; 56: 1751-5.
  25. Higashiyama M, Kodama K, Yokouchi H, *et al.* KAI1/CD82 expression in nonsmall cell lung carcinoma is a novel, favorable prognostic factor: an immunohistochemical analysis. *Cancer* 1998; 83: 466-74.
  26. White A, Lamb PW, Barrett JC. Frequent downregulation of the KAI1 (CD82) metastasis suppressor protein in human cancer cell lines. *Oncogene* 1998; 16: 3143-9.
  27. Guo XZ, Friess H, Maurer C, *et al.* KAI1 is unchanged in metastatic and nonmetastatic esophageal and gastric cancers. *Cancer Res* 1998; 58: 753-8.
  28. Hinoda Y, Adachi Y, Takaoka A, *et al.* Decreased expression of the metastasis suppressor gene KAI1 in gastric cancer. *Cancer Lett* 1998; 129: 229-34.
  29. Yang X, Welch DR, Phillips KK, Weissman BE, Wei LL. KAI1, a putative marker for metastatic potential in human breast cancer. *Cancer Lett* 1997; 119: 149-55.
  30. Yang X, Wei L, Tang C, Slack R, Montgomery E, Lippman M. KAI1 protein is down-regulated during the progression of human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3424-9.