

## 젊은 한국인 유방암 환자에서 BRCA1/2 돌연변이와 호르몬 수용체, HER-2 상태에 관한 연구

순천향대학교 의과대학 방사선종양학교실\*, 병리학교실<sup>†</sup>

최두호\* · 진소영<sup>†</sup> · 이동화<sup>†</sup> · 김은석\* · 김용호\*

**목적:** 40세 이하의 젊은 여성 유방암 환자는 나이 든 여성 보다 BRCA1과 BRCA2 배선돌연변이의 빈도가 상대적으로 높다. 유방암 가족력이 있거나 젊은 나이에 유방암을 진단받은 백인 여성들의 BRCA1/2 돌연변이 암에 대한 연구에서 면역조직화학적으로 BRCA1/2 돌연변이 음성인 암과 다른 특성이 발견되었다. 이 연구의 목적은 유방암 가족력과 관계없이 젊은 나이에 유방암이 발생한 한국 여성을 대상으로 BRCA1/2 돌연변이 유무에 따라, 그리고 BRCA1과 BRCA2 각각의 돌연변이에 따라 면역조직화학적 특성으로 상호간의 구별이 가능한지, 면역조직화학적 검사로 BRCA1/2 돌연변이의 가능성을 알아보는 것이 가능한지를 조사하는데 있으며 BRCA와 관련된 암의 예후인 자로서의 역할도 분석하였다.

**대상 및 방법:** BRCA1/2 검사를 시행한 40세 이하의 한국인 젊은 여성 유방암 환자의 유방암 수술 후 병리조직을 찾아서 조직미세배열법으로 슬라이드를 만들었다. 이 검체들의 병리조직, 등급, 림프절 전이, T 병기, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 및 HER-2 상태와 BRCA1/2의 관계를 비교하였다. 그리고 이 환자들의 BRCA 돌연변이 상태와 면역조직학적, 병리학적 상태와 예후 인자로서의 역할도 조사하였다.

**결과:** BRCA1/2 돌연변이를 조사한 101명 중 14명에서 16개의 돌연변이가 있었으며(13.9%), 유방암-난소암 가족력이 있는 경우(4/14, 28.6%), 양측성 유방암이 있는 경우(3/9, 33.3%)에 BRCA1/2 돌연변이 빈도가 높았다. 에스트로겐 수용체 음성인 경우 BRCA1/2 양성인 19.4% (12/62)로 에스트로겐 수용체 양성 비율 5.1% (2/37)에 비해 유의하게 높았고(p=0.038), HER-2 음성인 경우 BRCA1/2 돌연변이 음성 비율이 16.5% (13/79)로 양성 비율 4.5% (1/22)에 비해 높은 경향을 보였으며(p=0.073), 프로게스테론 수용체는 차이가 없었다. 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 및 HER-2 모두 음성인 경우(triple negative)는 BRCA1/2 돌연변이 비율이 24.2% (8/33)로 매우 높았다. 종양의 크기, 림프절 전이 상태, HER-2 상태는 단변량 변수와 다변량 변수 모두에서 무병 생존에 유의한 영향을 미치는 인자 이었으나 BRCA1/2 돌연변이 상태는 무병 생존에 유의한 인자가 아니었다.

**결론:** 면역조직화학적으로 에스트로겐 수용체나 HER-2 음성을 보이는 젊은 유방암 환자에서 BRCA1/2 돌연변이 발생이 유의하게 높았으며, 프로게스테론 수용체까지 모두 음성인 경우 BRCA1/2 돌연변이가 있을 확률이 24.2%로 높아서 유방암 유전자 돌연변이 가능성을 예측하는데 도움을 줄 수 있다. 한국인 젊은 여성 유방암 환자에서 BRCA1/2 돌연변이 상태가 무병 생존에 유의한 인자는 아니었으나 좀 더 많은 환자와 긴 추적관찰 기간의 추가적인 연구가 필요하다.

**핵심어:** 유방암, BRCA1/2 돌연변이, 호르몬 수용체, HER-2

### 서론

유방암은 여성암 중에서 전 세계적으로 가장 흔한 암으로 여성의 건강에 심각한 영향을 미치고 있다. 유방암의 이환율은 인종에 따라서 다양한 특성을 보인다. 한국인 여성 유방암은 서구에 비해 상대적으로 빈도가 낮았으나 최근에 그 비율이 급격히 증가하여 2001년부터 여성암 중에서 발생빈도 1위를 차지하게 되었다.<sup>1)</sup> 우리나라 여성 유방

이 논문은 2008년 1월 17일 접수하여 2008년 2월 18일 채택되었음.

책임저자: 최두호, 삼성서울병원 방사선종양학과

Tel: 02)3410-2612, Fax: 02)3410-2619

E-mail: dohochoi@hanmail.net

본 연구는 2005년도 순천향대학교 학술연구비의 일부 지원으로 수행되었음.

암의 가장 큰 특징 중의 하나는 암에 걸리는 연령이 매우 낮다는 것으로 여성유방암의 평균 연령이 45~46세로 서구 여성 유방암 평균 연령에 비해 약 15년 젊고 40세 이하의 젊은 여성 유방암 환자가 약 25%를 차지하여 서구 백인 여성 유방암 5%에 비해 비율이 높다. 이러한 특징은 우리나라 뿐 만아니라 다른 동양인에서도 관찰 되고 있는데 타이완의 경우도 폐경전 유방암 환자가 전체의 60% 이상을 차지하여 40세 이하가 30% 가까운 비율을 차지한다고 하며<sup>2)</sup> 이 결과들은 한국인 또는 아시아인의 유방암 발생에 특징적인 유전적 요소가 일부 있음을 암시하고 있다.

유방암을 발생시키는 유전자 돌연변이 중에서 대표적인 BRCA1과 BRCA2는 유방암 가족력을 가진 환자에서 발견되고 분리되어 염기서열 배열이 모두 밝혀진지가 10년이 넘었으나 각각 수천 개의 아미노산의 정보가 담긴 큰 유전자로 돌연변이의 검사과정이 복잡하고 비용이 많이 들어 주로 서구 여성을 대상으로 연구가 되었다. 수년 전부터 우리나라 환자들을 대상으로 시행된 일부 연구의 결과는 유방암 유전자 돌연변이가 서구 여성의 돌연변이와 다른 패턴을 보여주고 있는데 대표적인 것이 BRCA1/2 돌연변이의 약 50%는 서구인들에게서 발견되지 않았던 위치에서 발견되었다.<sup>3~5)</sup> 젊은 여성 유방암 환자는 폐경기가 지난 여성 유방암환자에 비해 예후가 좋지 않다고 알려져 있으며 우리나라 환자들을 대상으로 시행된 연구에서도 같은 결과를 보이고 있다.<sup>6,7)</sup> 유방암 유전자 BRCA1/2 돌연변이는 유방암-난소암 가족력이 있거나 양측성, 다발성 유방암 및 남성 유방암에서도 빈도가 높으나 공통적인 요인은 젊은 여성에서 많이 발생한다. 젊은 여성 유방암은 일반적으로 예후가 나쁜 여러 가지 특징을 많이 가지고 있으므로 BRCA1/2 유전자 돌연변이 여부와 나쁜 예후인자와의 관계에 관한 연구가 필요하다. 그러나 현재까지 BRCA1/2 돌연변이 상태와 면역조직화학적 표지자들 특히 호르몬 수용체와 HER-2에 관한 연구는 BRCA1/2 결과가 나온 후부터 시작 되었으나<sup>8,9)</sup> 구미 선진국 백인 여성들을 대상으로 한 것 이외에는 거의 없는 실정이다. 지금까지 나온 결과들은 BRCA1/2 돌연변이가 있는 환자의 종양은 예후가 나쁜 조직학적 특성이 있고 에스트로겐 수용체(ER) 음성, 프로게스테론 수용체(PR) 음성과 HER-2 음성의 비율이 높으며 BRCA1 돌연변이가 있는 종양 조직에서 더 뚜렷한 경향을 보이고 있다.

면역조직화학적 생체표지자, 특히 호르몬 수용체 검사는 현재 우리나라의 많은 병원에서 유방암 수술 후 조직을 가지고 일상적으로 시행하고 있으며 HER-2 검사도 시행하는 병원이 많으나 각각 다른 시간대에 다른 조건으로 염색을

시행하고 판독도 여러 병리학자가 다른 기준으로 하고 있으므로 결과의 일관성을 가지기 어렵다. 그러나 새로 개발된 조직미세배열법(tissue microarray, TMA) 방법으로 만든 슬라이드에는 많은 환자의 조직표본을 한 슬라이드에 담아 같은 조건에서 염색을 하여 판독하므로 결과의 일관성을 기대할 수 있고 신뢰할 수 있는 자료를 얻을 수 있다.<sup>10,11)</sup> 이 연구의 대상은 Breast Cancer Alliance Foundation (<http://www.breastcanceralliance.org>)과 Susan G. Komen Foundation (<http://www.komen.org>)의 지원을 통해 2차에 걸쳐 한국인 40세 이하의 젊은 유방암 환자를 대상으로 BRCA1/2 돌연변이 검사에 관하여 전매특허를 보유했던 Myriad Genetics Laboratory에서 시행한 101명의 환자를 대상으로 하였다. 대규모 환자 연구를 위해 45세 이하의 폐경기전 유방암 환자의 병리 파라핀 조직 표본을 이용하여 조직미세배열법으로 만든 슬라이드들의 호르몬 수용체, HER-2 등을 염색한 자료에서 이 101명의 환자 자료를 따로 모아서 BRCA1/2 돌연변이 상태와 병리적, 면역조직화학적 특성, 생존 여부 등의 관계를 비교 분석하였다. 이 연구의 목적은 한국인 BRCA1/2 돌연변이 환자의 종양도 백인의 종양처럼 ER 음성, PR 음성, HER-2 음성 비율이 높은지 여부, BRCA1과 BRCA2에 따라 특성이 다른지 여부와 3가지 모두 음성일 경우 BRCA1/2 돌연변이가 얼마의 비율로 발생되는지를 조사하고 실제로 BRCA1/2 검사를 위한 자료로 쓰일 수 있을지를 조사하며 BRCA1/2 돌연변이에서 발생한 유방암이 환자의 치료 후 예후에 미치는 영향을 조사하는데 있다.

## 대상 및 방법

유방암-난소암 가족력과 관계없이 40세 이하의 유방암 환자 중에서 BRCA1/2 검사를 동의하는 환자를 대상으로 하였다. 총 101명 중에서 96명은 순천향대학교 병원에서 수술을 시행하였고 3명은 외부병원에서 방사선치료를 위해 의뢰된 환자이며 2명은 타병원에서 치료 후 BRCA1/2 검사를 위해 내원한 환자였다. 환자의 나이는 18세~40세(중앙값 35세)이었고 병리조직은 침윤성 유관암이 86개로 대부분을 차지하였다. 수술은 유방보존수술이 60례로 가장 많았고 방사선치료는 유방 보존수술을 시행한 60례와 변형 근치적 유방 절제술을 시행한 환자 중에서 액와 림프절 전이가 4개 이상인 경우를 포함하여 모두 78명에서 시행되었다. 종양의 크기에 따른 T 병기는 T1이 52명, T2가 43명으로 대부분을 차지하였으며 크기는 0.5 cm~6.5 cm 사이이며 중앙값은 2.0 cm이었고 41명에서 림프절 전이가 양성

이었다(Table 1).

유방암 유전자의 인종적 특성에 관한 연구로 IRB를 통과한 후 환자들은 유전자 검사의 필요성과 유용성에 대한 설명을 듣고 검사 동의서를 작성하였으며 검사 결과는 본인에게만 통보되고 병원의 차트, 기록지등 공식기록에는 남기지 않았으며 검사 결과지는 연구자가 따로 보관하였다. 96명의 환자의 유방암 조직 파라핀 블록은 젊은 여성 유방암 환자에서 조직미세배열법을 이용한 생체표지자의 연구

일환으로 제작을 계획한 TMA를 위해 의뢰하였으며 나머지 5명은 의뢰한 병원에서 보내온 검사 결과지를 토대로 합쳐서 분석하였다. 2007년 8월까지의 추적관찰 기간 중에서 처음 재발한 부위가 국소재발 5명, 림프절 전이 3명, 원격전이 9명이었고 13명은 재발 후 사망하였으며 4명은 추적관찰 기간까지 생존해 있었다.

BRCA1/2 검사는 환자의 말초혈액에서 10 ml를 채취하여 검사 기관으로 보냈으며 첫 번째 연구 대상 60명은 대학의 연구소에서 DNA를 추출하였고 나머지 41명은 BRCA1/2 direct sequencing을 시행한 검사기관에서 직접 시행하였다. BRCA1/2 DNA의 full sequencing은 Myriad Genetics Laboratory (salt Lake City, UT, USA)에서 시행하였으며 자세한 방법은 이전의 연구에서 기술하였다.<sup>3,12)</sup>

TMA 만드는 방법은 순천향대학병원 병리과에 보관되어 있는 포르말린 고정 유방암 조직 중에서 대상 균을 찾아서 H-E 염색 슬라이드와 비교하여 병리학자가 종양조직을 찾아 TMA를 할 곳을 2군데 표시하였다. 이 표시된 부위를 직경 1 cm의 원통형으로 뽑아내어서 tissue microarray를 이용하여 새로운 파라핀 블록에 옮겼다. 실온에 보관된 TMA block은 10 um 두께로 전체 코어의 70% 이상 및 파라핀 블록이 전면이 노출 될 때까지 천천히 trimming한 후 얼음판에 올린 후 실온에서 5분간 방치하였다. 그리고 TMA block을 microtome으로 3~5 um 두께로 커팅한 후 커팅된 연속 리본 슬라이드는 차가운 물 (실온)에서 조심스럽게 펼쳐서 1차 주름을 펴주고 1개씩 분리 후 약 40도의 수조에서 2차 주름을 펴준 후 주름이 펴진 슬라이드를 슬라이드에 일정 방향으로 부착시켜 건조 시켰으며 이 과정은 (주)이수애피스에서 시행하였다.

TMA를 만든 후 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 에스트로겐, 프로게스테론 수용체의 염색은 제작된 Tissue Microarray 파라핀 블록을 4 μm의 두께로 연속 박절하여 H-E 염색과 면역조직화학적염색을 시행하였다. 탈 파라핀과 함수과정을 거친 후 citrate buffer용액에서 10분간 전자레인지로 가열하여 숨겨진 항원을 노출하였다. LSAB universal kit<sup>®</sup> (Dako, CA, USA)를 이용하여 avidin-biotin peroxidase complex (ABC)법으로 면역조직화학적염색을 시행하였다. 일차항체로는 에스트로겐 수용체(Dako, Denmark)와 프로게스테론 수용체(Dako, Denmark)를 각각 1 : 30배로 희석하여 37°C에서 1시간 동안 배양하였다. 발색제로는 aminoethyl carbazole (AEC)을 사용하였다. Mayer's hematoxylin으로 대조염색 후 Crystal mount<sup>®</sup> (Biomedica, CA, USA)로 봉입하였다. 판독은 고배율시야 4군데 이상을 관찰하여 종양세포의 핵에 적갈색으로 염색되는 세포의 비율에 따라 10% 이하

Table 1. Characteristics of Korean Patients with Early-onset Breast Cancer (n=101)

Characteristics	No. of patients	BRCA mutation	
		Yes (n=14)	No (n=87)
Age			
≤35	54	8	46
36~40	47	6	41
Histology			
DCIS	5	0	5
Invasive ductal	86	13	73
Invasive lobular	1	0	1
Mucinous	2	0	2
Medullary	4	1	3
Tubular	2	0	2
Juvenile secretory	1	0	1
Operation			
BCS*	60	9	51
MRM <sup>†</sup>	33	5	28
Skin M <sup>‡</sup>	8	0	8
Radiotherapy			
Yes	73	11	62
No	28	3	25
T stage			
T0	3	0	3
T1	52	6	46
T2	43	8	35
T3	3	0	3
Histologic grade			
I	32	6	26
II	66	7	59
III	3	1	2
Nodal status			
LN-	61	7	54
LN+	40	7	33
Family history			
No	87	10	77
Yes	14	4	10
Bilateral breast cancer			
Yes	9	3	6
No	92	11	81

\*breast conservative surgery, <sup>†</sup>modified radical mastectomy, Skim, <sup>‡</sup>skin sparing mastectomy

일 때 0점, 11~25%일 때 1점, 26~50%일 때 2점, 51~75%일 때 3점, 76% 이상일 때 4점으로 나누었다. 또한 염색강도에 따라 음성일 때 0점, 약할 때 1점, 중등도 2점, 강할 때 3점으로 나누었다. 양성 세포의 비율점수와 핵 염색강도 점수의 합이 0점이면 음성, 1~3점이면 약 양성, 4~5점이면 중등도 양성, 6~7점이면 강양성으로 판정하였으며 통계처리를 위해 실제로 호르몬 보조 요법에 적용 되는대로 음성과 약양성은 음성으로, 중등도 양성과 강 양성은 양성으로 분류하였다. HER-2의 염색도 제작된 Tissue Microarray 파라핀 블록을 4µm의 두께로 연속 박절하여 탈 파라핀과 함유과정을 거친 후 citrate buffer용액에서 10분간 진자레인지로 가열하여 숨겨진 항원을 노출하였다. LSAB universal kit® (Dako, CA, USA)를 이용하여 avidin-biotin peroxidase complex (ABC)법으로 면역조직화학염색을 시행하였다. 일차항체로는 c-erb B2 (Dako, Denmark)를 1 : 250배로 희석하여 실온에서 1시간 배양하였다. 이차염색 후 발색제로는 amino-ethyl carbazole (AEC)을 사용하였다. Mayer's hematoxylin으로 대조염색 후 Crystal mount® (Biomedex, CA, USA)로 봉입하였다. 결과판독은 중앙세포막을 따라 염색되는 정도에 따라 음성은 0점, 일부 세포에서 약한 염색을 보일 때 1점, 일부 세포이지만 강한 염색일 경우 또는 대부분 세포가 중등도 염색일 경우 2점, 대부분의 세포가 강한 염색일 때 3점으로 계산하여 2점 이상을 양성으로 판독하였다. Fig. 1은 TMA를 시행하여 만든 슬라이드의 H-E 염색사진을 12.5배 확대한 사진이며 Fig. 2는 TMA 슬라이드의 ER염색에서 강한 양성 사진 예를 보여주고 있다

모든 환자의 임상적, 병리적 특성, 면역조직화학적 검사 결과 자료 및 치료 후 환자의 추적 검사 결과 등은 SPSS (Statistical Package for the Social Science) version 10에 입력하고 분석하였다. 두 군 간의 비교는 카이제곱 검정이 사용되었고 생존 분석은 Kaplan-Meier 방법을 사용하였으며 각 군 간의 생존 비교는 log-rank test를 사용하였다. 다변량 분석을 위해서는 Cox Proportional Hazard Model을 사용하였고 p 값이 0.05 이하인 경우 통계적으로 의미가 있는 것으로 처리하였으며 p 값이 0.05~0.1 사이에 있는 경우 경계의 의미를 가지는 것으로 해석하였다.

**결 과**

BRCA1과 BRCA2 돌연변이는 모두 14명에서 16개가 관찰 되었고 그 중 두 명은 BRCA1과 BRCA2가 동시에 돌연변이가 있는 희귀한 사례이었다.<sup>13)</sup> 그리고 아직까지는 의미를 알기 곤란한 변이(variants of unknown significance)도

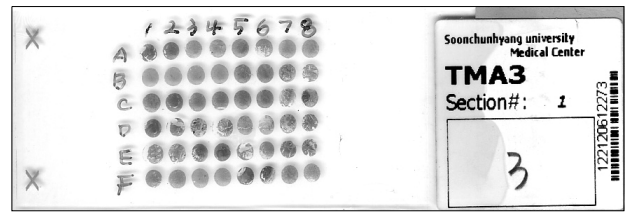


Fig. 1. Tissue microarray H-E staining whole mount view, (×12.5).

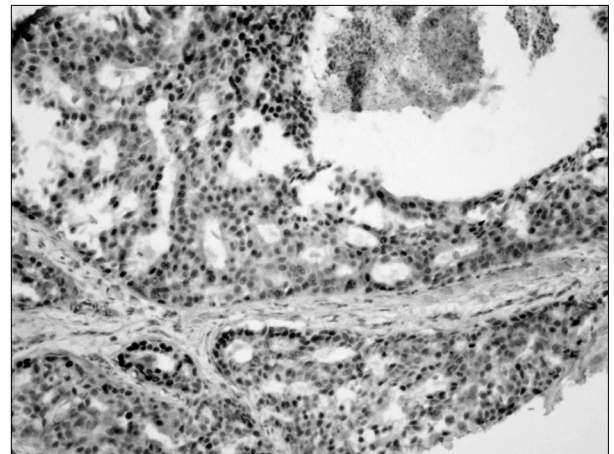


Fig. 2. Immunohistochemical staining of estrogen receptor. Diffuse strong positive staining is seen in the nuclei of most tumor cells (×200).

12례가 되었다. BRCA1/2 돌연변이는 35세 이하 뿐만 아니라 36-40세 사이의 환자에서도 10% 이상(12.7%) 높은 비율로 양성이었다. 조직병리학적 소견 상 대부분의 돌연변이가 우리나라에서 가장 흔한 invasive ductal carcinoma에서 나왔으며 medullary carcinoma에서 25%의 돌연변이 비율을 보였다(Table 1). 조직학적 등급, 병기, 림프절 전이는 BRCA1/2 돌연변이와 관련성이 없었으며 유방암-난소암 가족력이 있을 경우는 28.5% (4/14), 양측성 유방암 일 경우는 33.3% (3/9)에서 돌연변이가 관찰 되었다.

ER 양성 비율은 38.6%, PR 양성비율도 46.5%로 낮았으며 HER-2 양성비율은 21.8%이었다(Table 2). ER 상태와 BRCA1/2 돌연변이 관계는 ER 음성인 경우 BRCA1/2 돌연변이 양성 비율이 19.4% (12/62)로 ER 양성 5.1% (2/37)에 비해 유의하게 돌연변이 비율이 높았으며 (p=0.038), PR은 음성과 양성에 따른 BRCA 돌연변이 차이가 없었고 HER-2 음성일 때 BRCA 돌연변이가 16.5% (13/79)로 양성일 때 4.5% (1/22)에 비해 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다. BRCA1과 BRCA2를 따로 구분하여 각각 ER, PR, HER-2상태와 비교한 결과 BRCA1에서는 8명중 7명에서

Table 2. Relation between BRCA1/2 Status and Immunohistochemical Biomarkers

Biomarkers	No BRCA1/2	BRCA1 mutation (n=8)	BRCA2 mutation (n=6)
ER			
Positive	39	0	2
Negative	62	8	4
PR			
Positive	47	1	3
Negative	54	7	3
HER-2			
Positive	22	0	1
Negative	79	8	5

ER 음성 이었고 PR도 8명 중 7명에서 PR 음성인 반면 BRCA2에서는 6명중 5명이 ER 음성이었으나 PR은 6명 중 3명에서 PR 음성이 나와서 PR 양성 비율이 50%로 전체 PR 양성 비율 46.5%와 비슷하였다. HER-2도 BRCA1의 경우 8명 모두 HER-2 음성이었고 BRCA2의 경우는 6명 중 5명만 HER-2 음성이었다. ER, PR, HER-2 모두 음성인 triple negative tumor의 경우 33명 중 8례에서 BRCA1/2 돌연변이 양성이 나와서 24.2%의 높은 양성율을 보였다.

무병 생존율에 관한 분석에서 T 병기와 액와 림프절 전 이상태는 통계적으로 매우 유의하게 ( $p < 0.01$ ) 예후인자 이었으며 HER-2 음성인 경우 10년 무병생존율이 87.1%로 HER-2 양성 10년 무병 생존율 62.9% 비해 유의하게 높았다(Fig. 3,  $p=0.010$ ). BRCA1/2 돌연변이 음성인 경우 10년 무병 생존율이 80.9%로 BRCA1/2 돌연변이 양성 88.9%에 비해 낮았으나 통계적으로 유의하지는 않았다(Fig. 4,  $p=0.277$ ). 무병 생존율에 대한 분석에서 T 병기, 림프절 전 이 여부, HER-2 는 단변량 및 다변량 분석에서 모두 유의한 예후인자 이었으며 ER 및 PR도 BRCA1/2 돌연변이와 함께 인자로서의 역할은 없었다.

고 찰

유방암 유전자 BRCA1과 BRCA2는 주로 구미 선진국 백인 환자를 대상으로 연구 되었으며 백인의 민족 사이에도 차이를 보이고 있는데 유태인의 다수 종족인 Askenazi 종족은 일반인에서도 2%정도에서 유방암 유전자 BRCA1과 BRCA2 중에서 특정부위의 돌연변이를 가지고 있으며 젊은 여성 유방암환자에서는 30% 정도에서 돌연변이가 발견되고 있다.<sup>14)</sup> 그리고 유태인들은 BRCA1/2의 많은 부위 중에서 특정 위치에 있는 돌연변이가 전체 돌연변이의 대부분을 차지하는 founder mutation이 존재하며 아이슬란드인

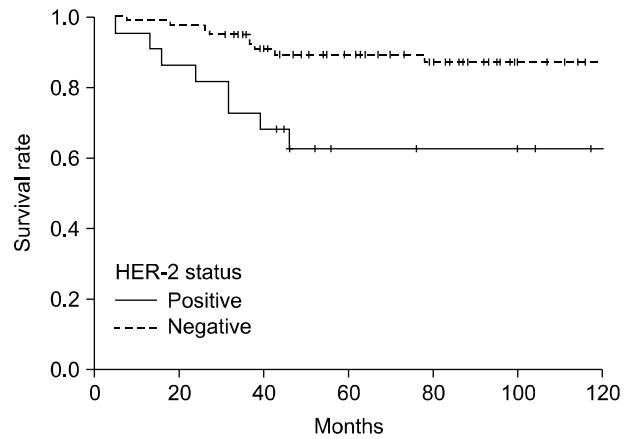


Fig. 3. Disease free survival rate by HER-2 status ( $p=0.010$ ).

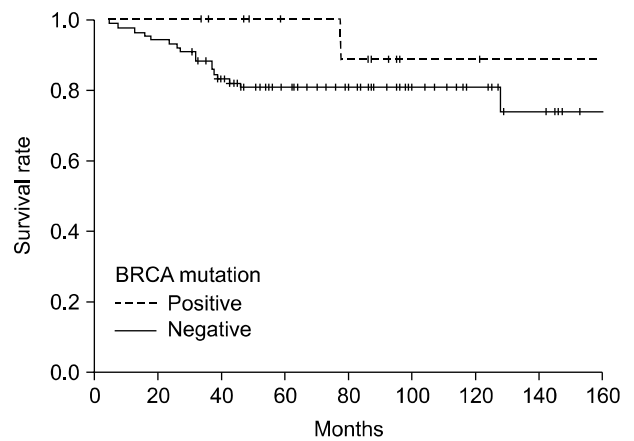


Fig. 4. Relation between disease free survival rate and BRCA1/2 mutation status ( $p=0.277$ ).

도 BRCA2의 특정위치에 생기는 돌연변이가 대부분을 차지하고 있다.<sup>15)</sup> 그 이외의 민족은 젊은 여성에서 5~10% 정도에서 돌연변이 양성 비율을 보이고 유방암-난소암 가족력이 있는 경우 가족력의 정도에 따라 20~40% 정도의 돌연변이가 발견되고 있으며 우리나라의 유방암-난소암 가족력이 있는 경우의 연구에서도 가족력이 있는 경우의 비율이 서구인과 비슷하고 가족력과 관계없이 젊은 여성 유방암 환자를 대상으로 한 연구에서 유방암 돌연변이 비율은 10~20% 사이로 유태인과 다른 백인의 BRCA1/2 돌연변이 비율의 중간 정도를 차지하는 양상을 보이고 있으나 특정한 것은 돌연변이의 50% 정도가 다른 민족에서는 발견되지 않은 새로운 위치의 돌연변이들이다.<sup>3~5)</sup>

유방암 유전자 BRCA1이나 BRCA2의 돌연변이가 잘 관찰 되는 환자는 유방암 또는 난소암의 가족력이 있거나 젊은 나이에 발생한 환자 이외에 양측성 유방암이 있거나 한

쪽에 유방암이 있어도 두 군데 이상의 quadrant에 발생하거나 남성 유방암에서 돌연변이 양성 비율이 높다고 알려져 있으며 병리 조직상 medullary carcinoma의 비율이 높다고 한다. 한국인 젊은 여성 유방암 환자 101명에 대한 분석에서도 젊은 여성 유방암 자체의 양성 비율이 14% 정도로 높고 가족력이 있는 경우는 28.5%, 양측성 유방암이 있는 경우도 33.3%로 서구인의 비율과 비슷하다. 조직병리학적 소견상 숫자가 적었으나 medullary carcinoma에서 25%의 높은 비율로 BRCA1/2 양성으로 나왔으며 지금까지 나온 결과들과 비슷한 양상을 보이고 있다.

BRCA 돌연변이와 관련된 종양의 조직 병리적 특성은 백인들을 대상으로 여러 그룹에서 연구되었는데 가장 대규모로 연구가 진행된 것은 Breast cancer Linkage Consortium (BLCL)에서 시행되었으며 BRCA1이나 BRCA2 돌연변이 종양은 산발성 종양과 여러 가지의 다른 특징이 있음을 보여주고 있다. 조직 병리상 invasive ductal adenocarcinoma가 가장 흔하며 medullary carcinoma에서 특히 BRCA1 관련 종양이 많다고 하며 본 연구의 패턴과 비슷한 결과를 보여주고 있다.<sup>16)</sup> 그리고 BRCA1 관련 종양은 광범위한 괴사를 보여주는 경우가 많으며 분화도가 나쁜 (grade 3) 종양의 비율이 높다고 한다. 본 논문의 결과에서는 유방암 병리조직의 코어가 1 mm 미만이므로 광범위한 괴사 (extensive areas of necrosis)를 비교하기가 곤란 하였다. BRCA2 관련 종양도 invasive ductal carcinoma가 가장 흔하지만 tubular-lobular group의 병리 소견을 가지는 경우가 많다는 보고도 있으나 다른 논문들은 산발성 유방암과 비교하여 관련성이 없다고 보고하고 있다.<sup>16)</sup>

호르몬 수용체와 BRCA1 관련 종양의 관계에서 ER 음성은 BRCA1 종양의 큰 특징이다. Johannsson 등<sup>17)</sup>이 BRCA1과 ER 음성과의 관계를 처음 발표 한 후 많은 논문들에서 BRCA1 종양이 60% 정도에서 90% 정도까지 ER 음성임을 보고하고 있는데 본 연구에서도 대상 환자의 숫자는 적으나 87.5% (7/8)에서 ER 음성으로 외국의 자료와 비슷하다. BRCA1 관련 암은 대체로 젊은 여성에서 많이 발생하므로 젊은 여성 유방암에서 ER 음성 비율이 높기 때문에 생각할 수도 있으나 같은 나이의 산발성 유방암과 비교해도 ER 음성이 높다고 한다.<sup>18)</sup> ER과 BRCA1의 관련성과 마찬가지로 PR 음성도 BRCA1 종양과 관련성 많으며 그 정도는 ER 보다 덜한 경우가 많은데 본 연구에서도 PR 음성이 BRCA1 종양과 높은 관련성을 보여 주었다. BRCA2 종양과 호르몬 수용체와의 관계는 BRCA1 관련 종양 만큼 뚜렷하지 않았으며 과거에는 BRCA1 종양과 산발성 종양의 중간 특징을 가진 것으로 생각하기도 했으나 현재는 산발

성 유방 종양과 호르몬 수용체의 관계와 비슷하다고 한다. 본 연구에서도 BRCA2 관련 종양은 ER 음성의 비율은 높았으나 PR 음성의 비율은 50%로 산발성 종양과 비슷하였다.

HER-2 단백질 과발현은 산발성 유방암 20~30%에서 관찰되고 있는데 HER-2 과발현 종양은 호르몬 치료에 반응이 적으나 anthracyclin 포함된 항암제에 대한 반응이 좋으며 trastuzumab 치료에 반응을 잘한다. BRCA1 관련 종양 중에서 HER-2 과발현은 매우 드물다고 알려져 있는데<sup>18,19)</sup> 일부의 자료는 10% 이상에서 HER-2 과발현이 관찰된다고 하였으나 HER-2 과발현을 면역조직화학적 염색으로만 검사하여 2+, 3+를 양성으로 판정하였으나 오늘날은 3+는 대부분 FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) 에서도 유전자 증폭이 관찰되나 2+의 경우 20% 정도에서만 FISH에서도 양성 반응을 보이므로 실제로 유전자 증폭까지 일어난 BRCA1 관련 종양은 HER-2 양성인 경우가 극히 드물며 본 연구에서도 8명의 BRCA1 관련 종양에서 한명도 HER-2 양성이 관찰되지 않았다. BRCA2 관련 유방암과 HER-2의 관계는 BRCA1 종양만큼 특징적이지는 않으며 일부의 연구자들은 산발성 유방암과 비슷한 비율로 관찰 된다고 하며<sup>20)</sup> 일부에서는 BRCA 관련 유방암처럼 HER-2 과 발현이 거의 관찰되지 않는다고 한다.<sup>17~19)</sup> 본 연구에서도 BRCA2 관련 암에서는 6명 중 한명은 HER-2 과발현을 보였다. BRCA1 돌연변이 종양에서 특히 HER-2 과발현이 관찰되지 않는 이유는 둘 다 13번 염색체에 위치하고 있는데 BRCA1 locus의 heterozygote 소실이 일어나는 동안 근처에 있는 HER-2 allele 중의 하나도 물리적으로 결손이 같이 일어나기 때문으로 해석하기도 한다.<sup>21)</sup>

호르몬 수용체, HER-2와 BRCA1/2 관련 종양의 관계 이외에 몇 가지 다른 마커들도 연구가 진행되었다. BRCA1과 p53은 둘 다 종양 억제 유전자로서 DNA 이중 나선 손상 복구와 아포토시스 등에 같은 기전으로 관여하고 있으며 BRCA1 관련 종양에서는 p53 면역조직화학적 염색에서 양성 반응을 보이는 비율이 높다고 하지만 BRCA2 에서는 호르몬 수용체, HER-2와 마찬가지로 상반된 결과들이 나오고 있다.<sup>18)</sup> 본 연구에서는 p53에 대한 TMA 염색은 시행하지 않았다. 그러나 현재까지 나온 한국인 유방암 유전자 돌연변이 상태에 관한 논문들 중에서 조직병리학적 특성에 대한 논문은 한 등<sup>22)</sup>이 최근에 보고한 논문에서 BRCA1/2 모두를 포함한 12례에서 호르몬 수용체 음성의 비율이 높다고 보고했을 뿐 BRCA1과 BRCA2를 나누어서 임상적 특성과 면역조직화학적특성을 비교한 논문은 없어서 이 논문이 최초의 보고이며 한국인 BRCA1/2 돌연변이 보

유자의 유방암 종양도 지금까지 백인을 중심으로 나온 결과와 비슷한 양상을 보이는 것을 알 수 있었다.

최근의 cDNA microarray 연구에 의하면 대부분의 BRCA1 관련 종양은 basal type의 유전자 발현 특성을 가지고 있고 BRCA2 관련 종양은 그 경향이 덜 하다고 한다.<sup>23)</sup> 현재까지의 앞에서 언급한 연구들의 결과로 BRCA1/2 돌연변이 보유자에서 발생한 유방암은 산발성 유방암에 비해 다른 특징을 보이며 특히 BRCA1은 더 뚜렷한 경향을 보이는데 이러한 사실로부터 유추해 낼 수 있는 중요한 임상적 적용은 이 결과를 유방암 유전자 검사에 응용하는 것이다. 현재까지 유방암-난소암 가족력이나 젊은 나이에 발생한 유방암이 유전자 돌연변이가 있을 가능성이 큰 것으로 생각되고 있는데 이러한 임상적 자료에 조직 병리적 특성을 결합하면 유방암환자에서 BRCA1/2 돌연변이가 있을 가능성이 많은 환자들을 구분하는데 적절하게 이용될 수 있다. 즉 유방암의 가족력이 없어도 invasive ductal carcinoma 이면서(medullary carcinoma도 가능) ER 음성, PR 음성, HER-2 음성인 환자는 BRCA1 유전자 돌연변이의 가능성 매우 높고 BRCA2의 가능성도 많다. 한 연구 보고는 35세 이하의 유방암 환자로 ER 음성이고 invasive ductal carcinoma, 등급이 3인 환자는 BRCA1 돌연변이 가능성이 27%라고 하며<sup>19)</sup> 본 연구에서도 40세 이하에서 triple negative (ER-, PR-, HER-2-)의 경우 24% 즉 4명 중 한명이 BRCA1이나 BRCA2 유전자 돌연변이를 보유하고 있어서 검사가 필요한 군으로 분류할 수 있었다.

BRCA1/2 돌연변이와 예후와의 관계는 아직 명확하지 않다. Adem 등<sup>24)</sup>은 BRCA1/2 돌연변이 보유자와 산발성 유방암 환자의 치료 및 예방적 치료를 위해 절제한 유방의 암전단계 조직과 암조직의 조직병리학적 비교 연구를 통해 BRCA1/2 돌연변이 보유자는 산발성 암환자에 비해 암의 전단계로 생각되는 proliferative fibrocystic change (PFC)가 한쪽 유방암 절제술을 받은 유방조직에서 적게 나오고 (7% vs 25%) 예방적 양측 유방 절제술을 받은 경우에는 대조군이 PFC가 36% (7/19) 나온 것에 비해 11명 중 한명도 PFC가 관찰되지 않았다고 한다. 그리고 침윤성 유방암 뿐만 아니라 상피내암도 BRCA1/2 돌연변이 보유자의 암은 조직학적 등급이 높고 괴사가 많다고 한다. 이러한 결과들은 BRCA1/2 돌연변이에서 발생한 암은 산발성 암보다 암이 진행 되는 과정이 가속화 된다고 설명할 수 있다. 또한 이 연구 논문과 현재까지의 다른 연구 결과에서 확인된 바와 같이 BRCA 관련암 특히 BRCA1은 예후가 나쁘다고 알려진 ER, PR이 음성인 경우가 많다. 따라서 이론적으로는 BRCA 돌연변이가 발생한 암은 예후가 나쁠 가능성이 많

다. 그러나 현재까지 나온 결과는 산발성 암과 비교해서 예후의 차이가 없다는 결과가 많으며 일부 결과는 BRCA1/2 돌연변이군이 예후가 나쁘다고 보고하고 있다. 예후가 나쁠 것으로 예측되는 BRCA1이 30명 이상 포함된 연구들 11개 중에서 8개의 연구는 예후 차이가 없다고 보고하고 있으며<sup>25~27)</sup> 200명 이상의 가장 많은 환자를 대상으로 한 연구에서도 예후의 차이를 발견할 수 없었고,<sup>28)</sup> 가장 최근에 나온 결과들도 예후의 차이를 발견할 수 없었다.<sup>29~30)</sup> 예후에 영향을 미칠 수 있는 다른 인자로는 DNA를 복구하는 기능이 있는 BRCA가 돌연변이를 일으킨 암은 DNA를 손상시키는 효과가 있는 항암제인 Mitomycin C나 Cisplatin에 민감하며 spindle에 작용하는 Taxanes 과 Vinca Alkaloid 저항성을 가질 수 있다.<sup>31)</sup> BRCA1/2 돌연변이가 있는 난소암은 항암화학요법시 BRCA1/2 관련 종양이 반응이 좋은데 난소암 치료에 Cisplatin이 포함되기 때문으로 설명하고 있다. 이상의 결과로 BRCA1/2 관련 종양은 예후가 나쁠 수 있으나 많은 연구 결과는 예후 인자가 아니며 본 연구에서도 BRCA1/2 돌연변이 환자의 예후가 오히려 좋으나 통계적인 의의가 없었으며 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 한국인 젊은 유방암 환자 중에서 BRCA1/2 관련 종양은 서구인과 비슷한 양상을 보이며 Triple negative 즉 ER 음성, PR 음성, 그리고 HER-2 음성일 경우 BRCA1/2 돌연변이 가능성이 4명 중 한명 정도로 비율이 높으므로 그 환자들을 대상으로 BRCA1/2 유전자 돌연변이 검사가 필요하다. 그리고 BRCA1/2 관련 유방암의 예후가 산발성 유방암과 차이가 없음도 확인되었다. 그러나 한국인에서 BRCA1/2 연구는 아직 일부 병원에서만 시행하고 있으며 대상 환자 수가 적으므로 보다 많은 환자를 대상으로 추적 기간을 충분히 한 연구가 필요하다.

## 참 고 문 헌

1. Ministry of Health and Welfare. Annual report of the Central Cancer Registry in Korea, Seoul. Ministry of Health and Welfare 2001
2. Cheng SH, Tsou MH, Liu MC, et al. Unique features of breast cancer in Taiwan. Breast Cancer Res Treat 2000;63: 213-223
3. Choi DH, Lee MH, Bale AE, Carter D, Haffty BG. Incidence of BRCA1 and BRCA2 mutations in young Korean breast cancer patients. J Clin Oncol 2004;22:1638-1645
4. Kang HC, Kim IJ, Park JH, et al. Germline mutations of BRCA1 and BRCA2 in Korean breast and/or ovarian cancer families. Hum Mutat 2002;20:235

5. Ahn SH, Son BH, Yoon KS, et al. BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Korean breast cancer patients at high risk of carrying mutations. *Cancer Lett* 2007;245:90-95
6. Park BW, Kim SI, Kim EK, Yang WI, Lee KS. Impact of patients age on the outcome of primary breast cancer. *J Surg Oncol* 2002;80:12-18
7. Han W, Kim SW, Park IA, et al. Young age: an independent risk factor for disease free survival in women with operable breast cancer. *BMC Cancer* 2004;17:82
8. Loman N, Johannsson O, Bendahl PO, Borg A, Femo M, Olsson H. Steroid receptors in hereditary breast carcinomas associated with BRCA1 or BRCA2 mutations or unknown susceptibility genes. *Cancer* 1998;83:310-319
9. Armed JE, Trute L, White D, et al. Distinct molecular pathogenesis of early-onset breast cancers in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a population-based study. *Cancer Res* 1999;59:2011-2017
10. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998;4:844-847
11. Rimm DL, Camp RL, Charette LA, Costa J, Olsen DA, Reiss M. Tissue microarray: a new technology for amplification of tissue resources. *Cancer J* 2001;7:24-31
12. Choi DH, Lee MH, Haffty BG. Is the BRCA germline mutation a prognostic factor in Korean patients with early-onset breast carcinomas? *J Korean Soc Ther Radiol Oncol* 2003;21:149-157
13. Choi DH, Lee MH, Haffty BG. Double heterozygotes for non-Caucasian families with mutations in BRCA-1 and BRCA-2 genes. *Breast J* 2006;12:216-220
14. Abeliovich D, Kaduri L, Lerer I, et al. The founder mutations 185delAG, and 5382insC in BRCA1 and 6174delT in BRCA2 appear in 60% of ovarian cancer and 30% of early-onset breast cancer patients among Ashkenazi women. *Am J Hum Genet* 1997;60:505-514
15. Johannesdottir G, Gudmundsson J, Bergthorsson JT, et al. High prevalence of the 999del5 mutation in Icelandic breast and ovarian Cancer patients. *Cancer Res* 1996;56:3663-3665
16. Lakhani SR, Easton DF, Stratton MR. Pathology of familial breast cancer: differences between breast cancers in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations and sporadic cases. *Breast Cancer Linkage Consortium. Lancet* 1997;349:1505-1510
17. Johannsson OT, Idvall I, Anderson C, et al. Tumour biological features of BRCA1-induced breast and ovarian cancer. *Eur J Cancer* 1997;33:362-371
18. Palacios J, Honrado E, Osorio A, et al. Immunohistochemical characteristics defined by tissue microarray of hereditary breast not attributable to BRCA1 or BRCA2 mutations: differences from breast carcinomas arising in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Clin Cancer Res* 2003;9:3606-3614
19. Lakhani SR, van de Vijver MJ, Jacquemier J, et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. *J Clin Oncol* 2002;20:2310-2318
20. Erola H, Heikkaila P, Tamminen A, Aittomaki K, Blomqvist C, Nevanlinna H. Histopathological features of breast tumors in BRCA1, BRCA2 and mutation-negative breast cancer families. *Breast Cancer Res* 2005;7:R93-100
21. Grushko TA, Blackwood MA, Schumm PL, et al. Molecular-cytogenetic analysis of HER-2/neu gene in BRCA1-associated breast cancers. *Cancer Res* 2002;62:1481-1488
22. Han SH, Lee KR, Lee DG, Kim BY, Lee KE, Chung WS. Mutation analysis of BRCA1 and BRCA2 from 793 Korean patients with sporadic breast cancer. *Clin Genet* 2006;70:496-501
23. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2000;406:747-752
24. Adem C, Reynolds C, Soderberg CL, et al. Pathologic characteristics of breast parenchyma in patients with hereditary breast carcinoma, including BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Cancer* 2003;97:1-11
25. Hamann U, Sinn HP. Survival and tumor characteristics of German hereditary breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2000;59:185-192
26. Eerola H, Vahteristo P, Sarantaus L, et al. Survival of breast cancer patients in BRCA1, BRCA2, and non-BRCA1/2 breast cancer families: a relative survival analysis from Finland. *Int J Cancer* 2001;93:368-372
27. EL tamer M, Russo D, Troxel A, et al. Survival and recurrence after breast cancer in BRCA1/2 mutation carriers. *Ann Surgical Oncol* 2004;11:157-164.
28. Brekelmans CT, Seynaeve C, Menke-Pluymers M, et al. Survival and prognostic factors in BRCA1-associated breast cancer. *Ann Oncol* 2006;17:391-400
29. Musolino A, Bella MA, Bortesi B et al. BRCA mutations, molecular markers, and clinical variables in early-onset breast cancer: a population-based study. *Breast* 2007;16:280-292
30. Brekelmans CT, Tilanus-Linthorst MM, Seynaeve C, et al. Tumour characteristics, survival and prognostic factors of hereditary breast cancer from BRCA2-, BRCA1-, and non-BRCA1/2 families as compared to sporadic breast cancer cases. *Eur J Cancer* 2007;43:867-876
31. Kennedy RD, Quinn JE, Mullan PB, Johnston PG, Harkin DP. The role of BRCA1 in the cellular response to chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1659-1668



---

*Abstract*

---

## **A Study on BRCA1/2 Mutations, Hormone Status and HER-2 Status in Korean Women with Early-onset Breast Cancer**

Doo Ho Choi, M.D.\* , So Young Jin, M.D.<sup>†</sup> , Dong Wha Lee, M.D.<sup>†</sup> ,  
Eun Seog Kim, M.D.\* and Yong Ho Kim, M.D.\*

Departments of \*Radiation Oncology, and <sup>†</sup>Pathology,  
Soonchunhyang University College of Medicine, Seoul, Korea

**Purpose:** Women with breast cancer diagnosed at an age of 40 years or younger have a greater prevalence of germline BRCA1 and BRCA2 mutations than the prevalence of women with breast cancer diagnosed at older ages. Several immunohistochemical characteristics have been identified in breast cancers from studies of Caucasian women with BRCA1/2 mutations having familial or early-onset breast cancers. The aim of this study is to determine whether early-onset breast cancer in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers, who were not selected from a family history, could be distinguished by the use of immunohistochemical methods and could be distinguished from breast cancer in women of a similar age without a germline BRCA1 or BRCA2 mutation. We also analyzed the prognostic difference between BRCA1/2 related and BRCA1/2 non-related patients by the use of univariate and multivariate analysis.

**Materials and Methods:** Breast cancer tissue specimens from Korean women with early-onset breast cancers were studied using a tumor tissue microarray. Immunohistochemical staining of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) and HER-2, as well as the histology and grade of these specimens, were compared. The prognostic impact of immunohistochemical and histological factors as well as the BRCA1/2 mutation status was investigated separately.

**Results:** There were 14 cases and 16 deleterious BRCA1/2 mutations among 101 patients tested. A family history (4/14) and bilateral breast cancers (3/9) were high risk factors for BRCA1/2 mutations. BRCA1/2-associated cancers demonstrated more expression of ER-negative (19.4% versus 5.1%,  $p=0.038$ ) and HER-2 negative than BRCA1/2 negative tumors, especially for tumors with BRCA1 tumors. The BRCA1/2 mutation rate for patients with triple negative tumors (negative expression of ER, PR and HER-2) was 24.2%. Tumor size, nodal status, and HER-2 expression status were significantly associated with disease free survival, as determined by univariate and multivariate analysis, but the BRCA1/2 status was not a prognostic factor.

**Conclusion:** Breast cancer that occurs in women with a germline BRCA1 or BRCA2 mutations have recognizable immunohistochemical features, which may be useful in identifying individuals that are more likely to carry germline mutations. Although the BRCA1/2 mutation status was not a prognostic factor in Korean women with early-onset breast cancer, more cases with a longer follow-up period are needed for further study.

---

**Key Words:** Breast cancer, BRCA1/2 mutation, Hormone receptor, HER-2