

## 에스트로겐 수용체 $\beta$ 발현과 유방암 재발과의 관련성

강수환 · 최정은 · 이수정  
영남대학교 의과대학 외과학교실

### The Relationship Between the Expression of Estrogen Receptor $\beta$ and Recurrence in Breast Cancer

Su Hwan Kang, Jung Eun Choi, Soo Jung Lee

*Department of Surgery, College of Medicine,  
Yeungnam University, Daegu, Korea*

#### — Abstract —

**Background:** It has been reported that estrogen receptor beta (ER $\beta$ ) mRNA expression was down-regulated during carcinogenesis and was inversely related to estrogen receptor alpha (ER $\alpha$ ) expression in breast cancer. The association of ER $\beta$  mRNA expression to tamoxifen resistance has also been reported. In this study, the expression of ER $\alpha$  and ER $\beta$  via immunohistochemistry (IHC) and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was prompted, and an attempt was made to find out the relationship between ER $\beta$  expression and recurrence in the hormonal therapy group, and between ER $\beta$  expression and known prognostic factors.

**Methods:** Tumor specimens were obtained at surgery from 67 female breast cancer patients during the period of September 1995 to December 2000. All the specimens were frozen in liquid nitrogen and kept at  $-70^{\circ}\text{C}$  until they were used. The medical records were analyzed retrospectively. The expressions of ER were analyzed using IHC and RT-PCR methods.

**Results:** The median follow-up was at 93.0 months (range: 14-157 months). The percentage of ER $\alpha$ +/ER $\beta$ +, ER $\alpha$ +/ER $\beta$ -, ER $\alpha$ -/ER $\beta$ +, and ER $\alpha$ -/ER $\beta$  group were 35.9% 9.4%, 47.2%, and 7.5%, respectively, in 53 patients with hormonal therapy. ER $\beta$  was positive in 42 (82.3%) of 51 ER-positive patients. In the hormonal therapy group, the recurrence rates of each group

was 15.8%, 0%, 40.0%, and 0%, respectively. In this group, the ER $\beta$  expression tended to recur, but there was no clinical significance (p=0.084).

**Conclusion:** The ER $\beta$  expression may be a predictive marker of a poor response to endocrine therapy in breast cancer patients, although this needs to be confirmed in additional studies.

**Key Words:** Breast neoplasms, Endocrine therapy, Estrogen receptor  $\beta$

## 서 론

에스트로젠 (estrogen)은 유방암의 발생과 진행과정에서 중요한 역할을 하며, 이러한 에스트로젠의 생물학적 효과는 에스트로젠 수용체 (estrogen receptor, ER)를 통하여 이루어지므로 침윤성 유방암에서 호르몬 수용체의 존재 유무는 예후인자로서의 가치와 더불어 호르몬 억제요법에 대한 가장 강력한 치료 예측인자로 인정받고 있다.<sup>1,2</sup> 따라서 유방암을 치료하는 모든 기관에서 호르몬 수용체에 대한 검사를 시행하고 있으며, 그 결과에 따라 ER 또는 프로그스테론수용체 (progesterone receptor, PR) 중 어느 하나라도 양성이면 수술 후 보조요법으로 항암화학치료 시행 유무와 관계 없이 호르몬치료가 기본적인 치료법으로 선택된다.

ER의 아형 중 최초로 기술된 ER $\alpha$ 가 존재하는 암종은 항에스트로젠 치료에 효과를 보이는 반면, 존재하지 않는 경우는 소수의 환자에서만 치료 반응을 보인다.<sup>3</sup> 그러나 ER $\alpha$ 가 양성인 일부 환자에서 항에스트로젠 치료에 반응을 보이지 않고, 또한 치료반응을 보였던 환자에서 재발이나 전이가 관찰되는 점으로 이들 환자에서 항에스트로젠 치료에 대한 반응을 예측할 수 있는 인자가 필요하다.<sup>4</sup>

1996년에 발견된 또 다른 에스트로젠 수용체인 ER $\beta$ 는 에스트로젠의 생물학적 기능을 증대하는 중요한 매개자로 알려져 있으나,<sup>5</sup> ER $\beta$ 의 생물학적 작용기전에 대해서는 밝혀진 바가 미미한 실정이다. 또한 ER $\beta$ 의 발견 이후 ER $\beta$ 의 유방암 발암과정에서의 역할과 예후인자와의 상관성에 대한 연구가 진행되어 왔으나 임상에서 적용하기에는 서로 상반된 결과를 보고하였다.<sup>6-14</sup>

ER $\beta$  발현과 항호르몬치료에 대한 반응 여부와의 관계는 주로 ER $\alpha$  양성인 환자에서 이루어져 ER $\beta$  발현이 호르몬 치료에 잘 반응함을 예견한다는 주장과 함께,<sup>9,15-17</sup> 그와는 반대로 치료에 대한 불량한 반응을 예측하게 한다는 보고도 있다.<sup>18-21</sup> 최근에는 ER $\alpha$ 에 음성이면 ER $\beta$ 에 양성인 환자에서 항에스트로젠인 타목시펜 (tamoxifen)을 사용할 경우 양호한 치료반응을 보인다고 하여, ER $\beta$ 에 대한 검사가 ER $\alpha$ 에 음성인 환자에서 타목시펜 치료를 할 환자를 선택하는 데 사용할 수 있음을 제시하였다.<sup>22</sup> 국내의 한 보고에서도 ER $\beta$ 의 호르몬치료에 대한 예측인자로서의 의의를 알아보기 위해 ER $\alpha$ 가 음성인 환자를 대상으로 분석하여 ER $\beta$ 의 발현이 항에스트로젠 치료에 미치는 효과를 규명하고자 하였다.<sup>23</sup> 그러나 ER $\beta$ 에 대

한 국내의 연구는 드문 편이다.<sup>23-25</sup>

이에 저자들은 유방암 조직내의 에스트로겐 수용체를 단일클론항체를 이용한 면역조직학적 염색법과 reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 방법으로 측정하여 종양의 크기, 조직학적 등급, 액외부립프절 전이 등 임상병리학적 변수와 c-erbB2 발현 등의 예후인자들과의 관련성을 알아보고자 하였다. 또한 호르몬치료를 받은 유방암 환자에서 ER $\beta$ 의 발현이 재발율 및 무병생존율에 어떠한 영향을 미치는 지를 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 대상

1995년 9월부터 2000년 12월까지 영남대학교병원에서 침윤성 유방암으로 진단되어 수술적 치료를 받은 환자 중 동결 보관된 유방조직의 상태가 양호한 67명을 대상으로 하였다. 대상환자에 대한 자료는 전향적으로 수집된 데이터베이스를 이용하였으며, 환자의 임상적 특징, 수술 후 보조치료 방법 및 병리학적 특징에 대해 후향적으로 분석하였다. 대상환자를 나이는 50세 기준 (50세 이하, 50세 초과), 원발종양의 크기 및 액외부립프절 전이 유무에 따라 구분하였다. 조직학적 등급은 Scarff-Bloom-Richardson (SBR) 분류법에 따라 등급 I, II, III으로 분류하였다. 임상병기는 American Joint Committee on Cancer (AJCC)의 TNM 병기에 따라 분류하였다.<sup>26,27</sup>

### 방법

- 1) ER, PR과 c-erbB2의 측정: 면역조직화학적 염색

각 증례당 가장 잘 보존된 블록 한 개를 선택하여 4-5  $\mu$ m 두께로 절편을 만들어 100% xylene으로 파라핀을 제거한 후 100%, 90% 및 75% 알코올로 재수화하였다. 3% 과산화수소를 5분간 적용시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척한 다음 protein blocker (Zymed, USA)를 10분간 도포하였다. ER과 PR에 대한 일차항체는 ER-IL (Novocastra, UK)과 PGR-IL (Novocastra, UK)을 희석하지 않고 사용하였으며 c-erbB2에 대한 일차항체는 NCL-CB11 (Novocastra, UK)을 1:40으로 희석하여 각각 상온에서 1시간 부치시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척하였다. 그 후 이차항체인 Link antibody (LSAB kit, DAKO, USA)를 37°C에서 30분간 도포한 후 Tris 완충액으로 3회 세척하였다. Streptavidin-HRP (Zymed, USA)로 30분간 도포한 다음 Tris 완충액으로 3회 세척한 후 DAB (Diaminobenzidine tetrachloride)를 5-10분간 도포하여 발색하였고, 10% Mayer's hematoxylin으로 대조염색 하였다.

호르몬 수용체에 대한 면역조직화학염색 결과는 전체 종양세포의 10% 이상이 염색되었을 때 수용체 양성으로 판독하였다.<sup>13,17</sup> C-erbB2 발현 정도에 대해서는 DAKO의 평점시스템을 적용하여 0, 1+는 C-erbB2 유전자 과발현이 없는 것으로 정의하였고 2+와 3+는 C-erbB2 유전자 과발현이 있는 것으로 정의하였다.<sup>28</sup>

- 2) ER $\alpha$ 와 ER $\beta$ 의 mRNA 발현 측정: RT-PCR

영하 70°C에 동결 보관된 유방암 조직으로부터 분리해서 만들어진 total RNA를 reverse transcription 방법을 이용하여 cDNA를 합성 후 에스트로겐 수용체  $\alpha$ 와  $\beta$ 에 대한 primer를

이용하여 PCR을 시행하였다.

Total RNA는 동결 보관된 지방암조직으로부터 chomczynski와 Sacchi가 보고한 방법대로 추출하였다.<sup>29</sup> 분리된 total RNA 3 µg에 oligo dT 100 pmol을 첨가하고 70°C 5분, ice 5분, 상온에서 각각 5분씩 반응시킨 후, dNTP mixture와 MMLV reverse transcriptase를 첨가하고 37°C에서 1시간 반응하여 cDNA를 합성하였다.

합성된 cDNA 1 µl에 GADPH, ERα 및 ERβ에 대한 primer를 각각 25 pmol씩 첨가하고 dNTP 혼합액과 1 unit의 Taq Polymerase를 첨가한 후 반응시켰다 (Table 1). ERα에 대해서는 PCR 산물 0.5 µl에 동일한 primer와 dNTP 혼합액과 Taq polymerase를 첨가하고 2번 더 PCR을 시행하였다. ERβ를 측정하기 위해 PCR 산물 0.5 µl에 동일한 primer를 첨가하고 dNTP 혼합액에서 dCTP 대신 1 µCi의 [<sup>32</sup>P]dCTP를 첨가하고 동일 조건에서 PCR을 한번 더 시행하였다. PCR 산물은 1.2% agarose로 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 178 bp의 GADPH 밴드와 483 bp의

ERα 밴드를 확인하였다. PCR 산물을 7M Urea가 함유된 6% polyacrylamide gel에서 전기영동한 후 gel을 건조시키고 -70°C에서 밤새 X-ray film에 노출시킨 후 현상하여 증폭된 472 bp의 ERβ 밴드를 확인하였다.

### 3) 통계학적 분석

ERβ의 발현과 재발을 포함한 임상병리학적 예후인자와의 관련성을 카이제곱검정을 이용하여 통계적으로 검증하였고, ERβ의 발현에 따른 환자들의 무병생존율 혹은 전체생존율의 차이는 Kaplan-Meier test를 이용하여 평가했으며 log-rank test로 유의성을 평가하였다. 무병생존에 영향을 미치는 다양한 인자들의 상대적인 기여도를 평가하기 위해 Cox proportional hazard model을 사용하였다. 통계 분석에 사용한 프로그램은 SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, USA)이며, p값이 0.05 미만일 경우에 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

## 결 과

Table 1. Primers used in polymerase chain reactions

		Sequence (5'-3')
GADPH	Sense	ACCCACTCCTCCACCTTTG
	Antisense	CTCTTGTGCTCTTGCTGGG
	Condition	95°C 30 sec, 60°C 30sec, 72°C 30 sec, 25 cycles
ERα	Sense	CAGGGGTGAAGTGGGGTCTGCTG
	Antisense	ATGCGGAACCGAGATGATGTAGC
	Condition	95°C 30 sec, 60°C 30 sec, 72°C 30 sec, 30 cycles
ERβ	Sense	TGTTACGAAGTGGGAATGTGA
	Antisense	TCTTGTTCTGGACAGGGAGT
	Condition	95°C 30 sec, 60°C 30 sec, 72°C 30 sec, 30 cycles

ERα: estrogen receptor (ER) alpha, ERβ: ER beta.

Table 2. Characteristics of the patients

Characteristics	No of patients (%)
Age (years)	
$\leq 50$	46 (68.7)
$> 50$	21 (31.3)
Operation	
BCS	15 (22.4)
Mastectomy	52 (77.6)
Tumor size (cm)	
$\leq 2$	23 (34.3)
2.1-5	38 (56.7)
$> 5$	6 (9.0)
Node status	
N-	28 (41.8)
N+	39 (58.2)
Stage	
I	15 (22.4)
II	31 (46.3)
III	20 (29.8)
IV	1 (1.5)
Histologic grade	
1	10 (15.9)
2	15 (23.8)
3	38 (60.3)
Chemotherapy	
No	9 (13.4)
Yes	58 (86.6)

BCS: breast conserving surgery.

대상환자의 평균 연령은 45.7세 (23세-67세)였다. 종양의 크기가 2 cm 이하인 경우가 23예 (34.3%), 2-5 cm 39예 (56.7%), 5 cm 보다 큰 경우는 6예 (9.0%)였다. 대상 환자 중 15예 (22.4%)에서 유방보존술이 시행되었으며, 52명 (77.6%)의 환자가 유방절제술을 시행 받았다. 림프절 전이가 없었던 군이 28예 (41.8%), 림프절 전이가 있었던 군이 39예 (58.2%)였다. 이 중 1-3개의 림프절 전이를 보인 군이 18예, 4-9개의 전이를 보인 군이 12예 였으며 9명의 환자는 10개 이상의 광범위한 림프절 전이가 있었다. 임상 병기는 병기 I이 15예 (22.4%), 병기 II 31예 (46.3%), 병기 III 20예 (29.8%)였으며 진단 당시 병기 IV인 경우가 1예였다. 조직학적 병기는 1이 10예 (15.9%), 2가 15예 (23.8%), 3이 38예 (60.3%)였다. 58명 (86.6%)의 환자가 수술 후 항암화학요법을 받았다 (Table 1). 대상환자 중 53명 (79.1%)의 환자가 호르몬요법으로 타목시펜을 투여 받았다. 추적관찰 기간의 중앙값은 93.0개월 (14개월-157개월)이었으며, 추적관찰 기간 중 20명의 환자가 재발하였고, 19명이 사망하였다.

### 임상병리학적 소견

대상환자의 특징은 Table 2에 요약하였다.

### 면역조직화학염색법과 RT-PCR법의 비교

면역조직화학염색을 이용한 ER 발현을 측정

Table 3. Relationship between immunohistochemical stain and RT-PCR for estrogen receptor

RT-PCR	IHC		Total (%)
	ER+ (%)	ER- (%)	
ER $\alpha$ +/ER $\beta$ +	20 (39.2)	5 (31.3)	25 (37.3)
ER $\alpha$ +/ER $\beta$ -	5 (9.8)	3 (18.8)	8 (11.9)
ER $\alpha$ -/ER $\beta$ +	22 (43.1)	7 (43.8)	29 (43.3)
ER $\alpha$ -/ER $\beta$ -	4 (7.8)	1 (6.3)	5 (7.5)
Total	51 (100)	16 (100)	67 (100)

ER $\alpha$ : estrogen receptor (ER) alpha, ER $\beta$ : ER beta, IHC: immunohistochemistry, RT-PCR: reverse transcription polymerase chain reaction.

한 결과 67명의 환자 중 51예 (76.1%)가 ER 발현 양성이었으며, 16예 (23.9%)가 ER 발현 음성이었다. RT-PCR로 측정된 호르몬수용체의 발현은 ER $\alpha$ +/ER $\beta$ +가 25예 (37.3%), ER $\alpha$ +/ER $\beta$ - 8예 (11.9%), ER $\alpha$ -/ER $\beta$ + 29예 (43.3%)였고 ER $\alpha$ -/ER $\beta$ -인 경우가 5예 (7.5%)로 가장 적은 분포를 보였다 (Fig. 1, Table 3).

**ER $\beta$ 의 발현과 임상병리학적 인자와의 관련성**

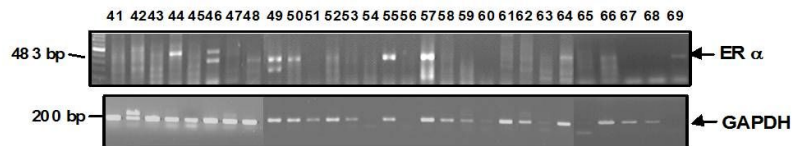
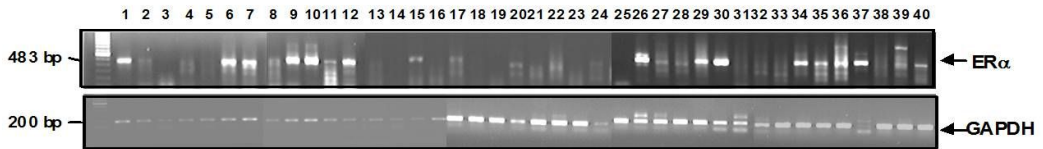
ER $\beta$ 의 발현은 나이, 수술방법, 종양의 크기, 조직학적 등급, PR 발현 유무, C-erbB2의 과 발현 유무, p53 발현 유무 및 보조항암화학요법 시행 유무 등과 통계학적으로 유의한 관련

성을 보이지 않았다 ( $p > 0.05$ ). 하지만 ER $\beta$ 가 발현된 경우 통계학적으로 유의하게 림프절 전이율이 높았으며 ( $p = 0.025$ ), 종양의 림프혈관침윤이 많았다 ( $p = 0.005$ ) (Table 4). ER $\beta$  양성인 54예 중 18예 (33.3%)와 ER $\beta$ 에 음성인 13예 중 2예 (15.4%)에서 재발이 발생하였으며 두 군간에 통계학적으로 유의한 재발율의 차이는 없었다 ( $p = 0.204$ ).

**생존율 분석**

대상환자들의 임상병리학적 인자들에 대한 무병생존율의 단변량 분석 결과 나이가 젊을수록 (50세 미만), 종양의 크기가 클수록, 림프절

**ER  $\alpha$**



**ER  $\beta$**

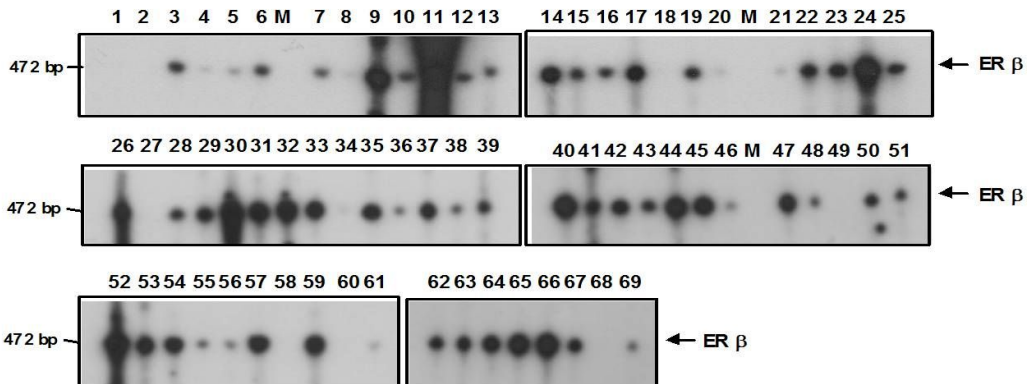


Fig. 1. Representative agarose gel showing RT-PCR products for ER $\alpha$  and ER $\beta$ .

전이율이 있을 때 및 종양의 임상병기가 높을수록 무병생존율이 낮았다 ( $p < 0.05$ ). 항암화학치료를 받은 환자가 받지 않은 환자에 비해 무병

생존율이 낮았다 ( $p = 0.047$ ). 종양의 조직학적 등급, ER $\alpha$  및 ER $\beta$ 의 발현, PR 발현 및 C-erbB2의 과발현은 무병생존율과 관련성이 없었다

Table 4. Relationship between ER $\beta$  expression and clinicopathologic factors

Characteristics	ER $\beta$ negative (%)	ER $\beta$ positive (%)	<i>p</i> value
Age (years)			0.620
$\leq 50$	9 (69.2)	37 (68.5)	
$> 50$	4 (30.8)	17 (31.5)	
Operation			0.419
BCS	4 (30.8)	11 (20.4)	
Mastectomy	9 (69.2)	43 (79.6)	
Tumor size (cm)			0.451
$\leq 2$	5 (38.5)	18 (33.3)	
2.1-5	8 (61.5)	30 (55.6)	
$> 5$	0	6 (11.1)	
Node status			0.025
N-	9 (69.2)	19 (35.2)	
N+	4 (30.8)	35 (64.8)	
Histologic grade			0.721
1	3 (23.1)	7 (14.0)	
2	3 (23.1)	12 (24.0)	
3	7 (53.8)	31 (62.0)	
LVI			0.005
Negative	10 (76.9)	17 (34.0)	
Positive	3 (23.1)	33 (66.0)	
ER $\alpha$			0.324
Negative	5 (38.5)	29 (53.7)	
Positive	8 (61.5)	25 (46.3)	
PR			0.317
Negative	6 (46.2)	17 (31.5)	
Positive	7 (53.8)	37 (68.5)	
C-erbB2			0.168
Negative	10 (76.9)	49 (90.7)	
Positive	3 (23.1)	5 (9.3)	
Chemotherapy			0.256
No	3 (23.1)	6 (11.1)	
Yes	10 (76.9)	48 (88.9)	
Recurrence			0.204
No	11 (84.6)	36 (66.7)	
Yes	2 (15.4)	18 (33.3)	

BCS: breast conserving surgery, ER $\alpha$ : estrogen receptor (ER) alpha, ER $\beta$ : ER beta, LVI: lymphovascular invasion, PR: progesterone receptor.

( $p > 0.05$ ). 전체생존율은 종양의 크기가 클수록 ( $p < 0.001$ ), 림프절 전이가 있을 때 ( $p = 0.006$ ) 및 임상병기가 높을수록 ( $p < 0.001$ ) 통계학적으로 유의하게 낮았다. 환자의 나이, 종양의 조직학적 등급, ER $\alpha$ , ER $\beta$  및 PR의 발현 유무, C-erbB2 과발현 유무 등과 전체생존율 사이에는 통계학적으로 유의한 관련성이 없었다 ( $p > 0.05$ ) (Table 5). 다변량분석을 시행한 결과 림프절 전이 유무만이 무병생존율과 전체생존율에 대한 독립적인 예후인자로서 통계학적 유의성이 있었다 ( $p < 0.05$ )

**호르몬요법과 ER $\beta$  mRNA 발현**

대상환자 중 53명 (79.1%)의 환자가 호르몬요법으로 타목시펜을 투여 받았다. 이 중 ER $\alpha$ +/ER $\beta$ +가 19예 (35.8%), ER $\alpha$ +/ER $\beta$ - 5예 (9.4%), ER $\alpha$ -/ER $\beta$ + 25예 (47.2%)였고 ER $\alpha$ -/ER $\beta$ -가 4예 (7.5%)였다. 각 군에서의 재발율은 각각 15.8% (3예), 0%, 40.0% (10예) 및 0%로 모든 재발 환자가 ER $\beta$ 가 양성이었다. 호르몬요법을 받은 환자들의 ER $\beta$  발현 유무에 따른 재발율 및 무병생존율은 ER $\beta$ 가 양성인 군에서 낮은 것으로 나타났으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다 ( $p = 0.084$ ) (Fig. 2).

Table 5. Univariate analysis of relapse free survival and overall survival by prognostic factors for patients with breast cancer

Characteristics		5 year RFS (%)	<i>p</i> value	5-year OS (%)	<i>p</i> value
Age	≤50	59.7	0.013	63.6	0.110
	>50	89.7		85.7	
Tumor size (cm)	≤2	77.6	<0.001	81.4	<0.001
	2.1-5	72.7		73.0	
	>5	0		33.3	
Lymph node status	negative	89.3	0.004	87.7	0.006
	positive	54.3		57.4	
Stage	I	86.7	<0.001	92.8	<0.001
	II	83.0		78.6	
	III	36.7		60.0	
Histologic grade	I	80.0	0.287	100	0.116
	II	86.6		86.6	
	III	64.2		78.9	
ER $\alpha$ expression	negative	60.7	0.142	76.5	0.251
	positive	77.9		84.8	
ER $\beta$ expression	negative	84.6	0.267	84.6	0.691
	positive	65.7		79.6	
PR expression	negative	60.8	0.219	82.6	0.505
	positive	73.5		79.5	
C-erbB2 over-expression	negative	70.5	0.523	83.0	0.470
	positive	60.0		62.5	
Chemotherapy	No	100	0.047	100	0.054
	Yes	64.2		77.6	

ER $\alpha$ : estrogen receptor (ER) alpha, ER $\beta$ : ER beta, LVI: lymphovascular invasion, PR: progesterone receptor, RFS: relapse free survival, OS: overall survival.



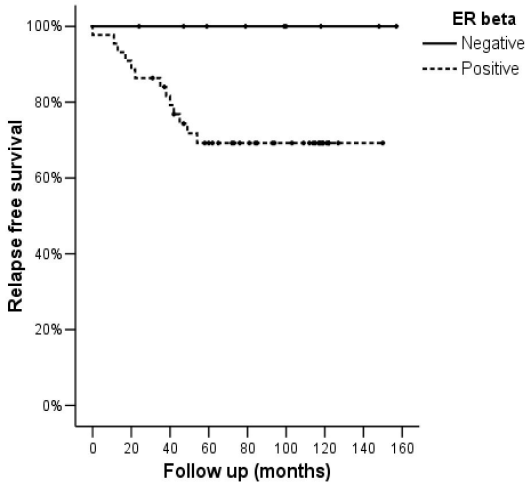


Fig. 2. Kaplan-Meier curves for ER $\beta$  expression in breast cancer patients treated with tamoxifen. There was no significant different in relapse free survival (log-rank test,  $p=0.084$ ).

## 고찰

유방암에서 ER $\alpha$ 가 양성인 경우 음성인 경우에 비해 양호한 예후를 보여주는 것으로 알려져 있지만, 이와는 달리 비교적 최근에 발견된 ER $\beta$  기능에 대해서는 아직 완전히 규명되지 않았다. ER $\beta$ 의 유방암 발암에서의 역할과 예후인자와의 상관성에 대한 연구가 진행되어 왔으나 서로 상반된 결과를 보고하였다.<sup>6,11,30</sup> 정상 유방조직이 증식을 거쳐 관내암종, 유방암으로 진행함에 따라 ER $\beta$ 가 점차적으로 소실되고, 유방암 조직에서 주변의 정상 유방조직 및 양성 병변보다 발현이 감소되어 ER $\beta$ 가 발암과정을 억제하는 역할을 한다는 주장이 있지만,<sup>11,30</sup> 다른 보고에서는 ER $\beta$  발현이 증가될 때 유방암의 발암이 촉진된다는 보고도 있다.<sup>6</sup>

예후인자적 측면에서도 ER $\beta$ 의 발현이 양호한 임상병리학적 인자와 관련성이 있고 좋은 임상경과를 보인다는 주장과, 반대로 ER $\beta$ 의

발현이 불량한 예후의 지표라는 주장이 대립하고 있다. 많은 보고에서 ER $\beta$  발현과 나이, 림프절 전이, 종양의 크기, 조직학적 등급과는 관련성이 없었지만,<sup>10,12-13,15-17,22,25</sup> Jarvinen 등<sup>8</sup>은 ER $\beta$ 의 발현이 림프절 전이가 없거나 낮은 조직학적 등급을 보인 경우에서 높다고 하였다. 반대로 ER $\beta$  발현이 높은 핵등급, 림프절 전이와 관련성이 있고, 재발한 환자에서 높게 발현된다는 점으로 ER $\beta$  발현이 불량한 예후지표라는 보고도 있다.<sup>7,14,24</sup> 저자들의 연구에서도 ER $\beta$ 가 발현된 유방암에서 림프절 전이율이 높고 림프혈관침윤의 빈도가 높은 결과를 보여 후자의 보고와 유사한 결과를 보여주었다.

이렇게 서로 다른 결과의 원인은 대상환자의 선정방법, 환자수, ER $\beta$ 의 검색방법의 차이에 따른 것이라고 할 수 있을 것이다. 이전의 연구 결과에서도 측정법에 따라 결과가 상이하게 보고되는 것을 볼 수 있다. 즉, 14C8과 같은 단일클론 항체를 일차항체로 사용하여 면역화학염색법으로 ER $\beta$ 를 검출한 연구들의 경우, ER $\beta$ 의 발현이 환자의 나이, 종양 크기, 조직학적 유형, 림프절 전이 유무, 조직학적 등급, 임상 병기 등과 관련성이 없는 것으로 보고하고 있다.<sup>16,22-23,25</sup> 하지만 이러한 단백검출 방법이 아닌, 본 연구와 같이 RT-PCR법을 이용한 연구에서는 mRNA의 발현이 호르몬치료에 대한 반응이 불량할 것으로 예측할 수 있는 인자로 보고하고 있다.<sup>18-21</sup> Balfe 등<sup>31</sup>에 따르면 ER $\alpha$ 는 mRNA와 protein 발현 사이에 유의한 관련성이 있으나, ER $\beta$ 의 경우에는 일치율이 54% 밖에 되지 않는다고 하였다.

ER $\alpha$ 의 발현은 유방암 치료의 중요한 영역인 항에스트로겐 약물에 대한 반응을 가장 정확히 예측할 수 있으며, 항에스트로겐 치료선택의

유일한 지표로서 중요한 임상적 의의가 있다. 그러나 ERa에 양성인 환자의 일부에서 호르몬 치료에 반응하지 않고, 또 처음에 치료반응을 보였던 환자에서도 재발이나 원격전이가 발생하여 보다 정확히 호르몬 치료반응을 예측할 수 있는 인자가 필요한 실정이다.<sup>4</sup> 또 다른 ER인 ERβ의 발현 유무가 호르몬 치료반응을 예견할 수 있는지에 대한 연구가 진행되고 있다. Mann 등<sup>9</sup>과 Myers 등<sup>16</sup>은 타목시펜 치료를 한 환자에서 ERβ 발현이 양호한 예후와 관계 있다고 하였고, Hopp 등<sup>15</sup>은 타목시펜 치료를 한 환자에서 ERβ 발현이 양호한 무병생존율 및 전체생존율을 가져온 반면 호르몬 치료를 하지 않은 환자에서는 이러한 관련성이 관찰되지 않는다고 하였다. Borgquist 등<sup>17</sup>도 ERβ 발현은 전체 환자의 예후와 관련성이 없으나, 타목시펜 치료를 한 경우 ERa+/ERβ+인 경우에 ERa+/ERβ-인 경우보다 양호한 무병생존율을 보인다고 하여 ERβ 발현이 호르몬 치료의 반응을 예견하는 인자가 될 수 있음을 제시하였다. ERa가 존재하지 않는 환자의 경우 타목시펜에 5-10% 정도에서 치료반응을 보이는데 치료반응의 기전과 치료효과를 예견하는 인자에 관해서는 아직까지 밝혀져 있지 않다.<sup>32,33</sup> Gruvberger-Saal 등<sup>22</sup>은 2년간 타목시펜으로 치료한 유방암 환자에서 ERβ가 발현된 경우 양호한 생존율을 보였으며, 특히 ERa 음성인 환자에서 통계학적 유의성이 더 높았다고 하였다. 반면 ERa 양성인 환자에서는 ERβ 발현에 따른 생존율의 차이는 없었다. 따라서 ERa 음성인 유방암 환자에서 ERβ의 발현이 타목시펜 치료 효과를 예견할 수 있다고 하였다.

본 연구에서는 전체환자에 대한 무병생존율 및 전체생존율 분석에서 ERβ 발현 유무에 따

른 재발율과 생존율에 유의한 차이는 없었다. 단변량분석에서 무병생존율과 관련성을 보인 환자의 나이, 종양의 크기, 림프절 전이 및 임상병기 중 림프절 전이 유무 만이 다변량분석 결과 유의한 예후인자로 나타났다. 호르몬치료를 받은 환자군만을 대상으로 한 분석에서는 무병생존율에 있어 유의한 차이를 보이진 않았으나 ERβ가 발현된 군에서 높은 재발률을 보였다.

결론적으로 본 연구에서는 유방암에서 ERβ 발현의 예후인자적 가치는 확인할 수 없었다. 하지만 호르몬요법을 받은 환자들에서는 ERβ의 발현이 통계적 유의성은 없었으나 높은 재발의 경향을 보여주어 호르몬요법에 대한 불량한 예측인자로서의 가능성을 확인할 수 있었다. 따라서 측정방법을 통일하고 더 많은 임상 증례를 통해 검증한다면 ERβ의 발현이 유방암 환자에서 호르몬 치료에 대한 반응을 예견할 수 있는 인자로서 사용될 수 있을 것으로 생각한다.

### 감사의 글

이 논문은 2001년도 재단법인 천마의학연구 재단 지원에 의하여 이루어 졌음

### 참 고 문 헌

1. Green S, Walter P, Kumar V, Krust A, Bornert JM, Argos P, et al. Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A. Nature 1986;320:134-9.
2. Greene GL, Gilna P, Waterfield M, Baker A, Hort Y, Shine J. Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. Science 1986;231:1150-4.

3. Osborne CK. Tamoxifen in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 1998;339:1609-18.
4. Clarke R, Liu MC, Bouker KB, Gu Z, Lee RY, Zhu Y, et al. Antiestrogen resistance in breast cancer and the role of estrogen receptor signaling. *Oncogene* 2003;22:7316-39.
5. Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:5925-30.
6. Hu YF, Lau KM, Ho SM, Russo J. Increased expression of estrogen receptor beta in chemically transformed human breast epithelial cells. *Int J Oncol* 1998;12:1225-8.
7. Speirs V, Parkes AT, Kerin MJ, Walton DS, Carleton PJ, Fox JN, et al. Coexpression of estrogen receptor alpha and beta: poor prognostic factors in human breast cancer? *Cancer Res* 1999;59:525-8.
8. Järvinen TA, Peltö-Huikko M, Holli K, Isola J. Estrogen receptor beta is coexpressed with ERalpha and PR and associated with nodal status, grade, and proliferation rate in breast cancer. *Am J Pathol* 2000;156:29-35.
9. Mann S, Laucirica R, Carlson N, Younes PS, Ali N, Younes A, et al. Estrogen receptor beta expression in invasive breast cancer. *Hum Pathol* 2001;32:113-8.
10. Omoto Y, Inoue S, Ogawa S, Toyama T, Yamashita H, Muramatsu M, et al. Clinical value of the wild-type estrogen receptor beta expression in breast cancer. *Cancer Lett* 2001;163:207-12.
11. Shaaban AM, O'Neill PA, Davies MP, Sibson R, West CR, Smith PH, et al. Declining estrogen receptor-beta expression defines malignant progression of human breast neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2003;27:1502-12.
12. Nakopoulou L, Lazaris AC, Panayotopoulou EG, Giannopoulou I, Givalos N, Markaki S, et al. The favourable prognostic value of oestrogen receptor beta immunohistochemical expression in breast cancer. *J Clin Pathol* 2004;57:523-8.
13. Choi Y, Pinto M. Estrogen receptor beta in breast cancer: associations between ERbeta, hormonal receptors, and other prognostic biomarkers. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2005;13:19-24.
14. Skliris GP, Leygue E, Curtis-Snell L, Watson PH, Murphy LC. Expression of oestrogen receptor-beta in oestrogen receptor-alpha negative human breast tumours. *Br J Cancer* 2006;95:616-26.
15. Hopp TA, Weiss HL, Parra IS, Cui Y, Osborne CK, Fuqua SA. Low levels of estrogen receptor beta protein predict resistance to tamoxifen therapy in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:7490-9.
16. Myers E, Fleming FJ, Crotty TB, Kelly G, McDermott EW, O'higgins NJ, et al. Inverse relationship between ER-beta and SRC-1 predicts outcome in endocrine-resistant breast cancer. *Br J Cancer* 2004;91:1687-93.
17. Borgquist S, Holm C, Stendahl M, Anagnostaki L, Landberg G, Jirstrom K. Oestrogen receptors alpha and beta show different associations to clinicopathological parameters and their co-expression might predict a better response to endocrine treatment in breast cancer. *J Clin Pathol* 2008;61:197-203.
18. Cappelletti V, Celio L, Bajetta E, Allevi A, Longarini R, Miodini P, et al. Prospective evaluation of estrogen receptor-beta in predicting response to neoadjuvant antiestrogen therapy in elderly breast cancer patients. *Endocr Relat Cancer* 2004;11:761-70.
19. Chang HG, Kim SJ, Chung KW, Noh DY, Kwon Y, Lee ES, et al. Tamoxifen-resistant breast cancers show less frequent methylation

- of the estrogen receptor beta but not the estrogen receptor alpha gene. *J Mol Med (Berl)* 2005;83:132-9
20. Murphy LC, Leygue E, Niu Y, Snell L, Ho SM, Watson PH. Relationship of coregulator and oestrogen receptor isoform expression to de novo tamoxifen resistance in human breast cancer. *Br J Cancer* 2002;87:1411-6.
  21. Speirs V, Skliris GP, Burdall SE, Carder PJ. Distinct expression patterns of ER alpha and ER beta in normal human mammary gland. *J Clin Pathol* 2002;55:371-4.
  22. Gruvberger-Saal SK, Bendahl PO, Saal LH, Laakso M, Hegardt C, Edén P, et al. Estrogen receptor beta expression is associated with tamoxifen response in ERalpha-negative breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13:1987-94.
  23. Park MH, Ryu HS, Ro HW, Cho JS, Yoon JH, Jegal YJ, et al. The clinical significance of the estrogen receptor beta expression for endocrine therapy in patients with eralpha-negative and progesterone receptor-positive breast carcinoma. *J Breast Cancer* 2009;12:156-62. Korean.
  24. Baek JM, Sung GY, Lee DS, Chun KH, Lee DH, Seo YJ, et al. Expression of estrogen receptor beta, estrogen receptor alpha and cyclooxygenase II in advanced breast cancer. *J Breast Cancer* 2005;8:45-51. Korean.
  25. Kim SI, Park SO, Jung SY, Yang WI, Park BW. Comparison of estrogen receptor beta expression between breast cancer and normal mammary tissue and relationship with clinicopathological factors. *J Breast Cancer* 2005;8:99-104. Korean.
  26. Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology. Recommendations for the reporting of breast carcinoma. *Hum Pathol* 1996;27:220-4.
  27. Greene FL. American Joint Committee on Cancer, American Cancer Society. *AJCC cancer staging manual*. 6th ed. New York: Springer-Verlag; 2002.
  28. Lee JS, Kim HS, Jung JJ, Lee MC, Park CS. Expression of vascular endothelial growth factor in adenocarcinomas of the uterine cervix and its relation to angiogenesis and p53 and c-erbB-2 protein expression. *Gynecol Oncol* 2002;85:469-75.
  29. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162:156-9.
  30. Roger P, Sahla ME, Mäkelä S, Gustafsson JA, Baldet P, Rochefort H. Decreased expression of estrogen receptor beta protein in proliferative preinvasive mammary tumors. *Cancer Res* 2001;61:2537-41.
  31. Balfe P, McCann A, McGoldrick A, McAllister K, Kennedy M, Dervan P, et al. Estrogen receptor alpha and beta profiling in human breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2004;30:469-74.
  32. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy. 133 randomised trials involving 31,000 recurrences and 24,000 deaths among 75,000 women. *Lancet* 1992;339:1-15.
  33. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet* 1998;351:1451-67.