유방암에서 mTOR 및 pAkt의 발현과 에스트로젠/프로게스테론 수용체와의 연관성 및 예후에 관한 분석

한선욱, 김성용, 이문수, 강길호¹, 김지선², 임철완², 이지현³, 이현주⁴, 오미혜⁴, 이민혁³

순천향대학교 천안병원 외과학교실, ¹화인메트로병원 외과, ²순천향대학교 부천병원 외과학교실, ³순천향대학교 서울병원 외과학교실, ⁴순천향대학교 천안병원 병리학교실

The Relationship Between Estrogen/Progesterone Receptor and Expression of mTOR/pAkt Proteins and the Analysis of Prognosis in Breast Cancer

Sun Wook Han, Sung Yong Kim, Moon Soo Lee, Gil Ho Kang¹, Zisun Kim², Cheol Wan Lim², Jihyoun Lee³, Hyun Ju Lee⁴, Mee Hye Oh⁴, and Min Hyuk Lee³

Department of Surgery, Soonchunhyang University College of Medicine, Cheonan Hospital; ¹Department of Surgery, Hwain Metro Hospital, Cheonan; ²Department of Surgery, Soonchunhyang University, Bucheon Hospital; ³Department of Surgery, Soonchunhyang University College of Medicine, Seoul Hospital; ⁴Department of Pathology, Soonchunhyang University College of Medicine, Cheonan Hospital, Republic of Korea

Purpose: The phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway is a critical signaling pathway downstream of the growth factor receptor tyrosine kinase that regulates cell growth and survival. Rapamycin, an inhibitor of the mTOR, possesses antitumor activity against many tumors including breast cancer, especially against estrogen receptor (ER) positive breast cancer cell lines. In this study, the expression of mTOR and pAkt in breast cancer, its association with ER/progesterone receptor (PR) and prognosis were examined.

Methods: Formalin fixed paraffin-embedded 170 cases of the breast cancer were immunohistochemically stained, using rabbit monoclonal antibody mTOR and rabbit monoclonal antibody pAkt. Based on this, the expression pattern of ER/PR and mTOR/pAkt were analyzed, and outcomes were also investigated. **Results:** mTOR expression was positive in 110 of 170 cases (64.7%) and pAkt expression was positive in 130 of 170 cases (76.5%). In correlation between clinicopathologic factors and mTOR/pAkt expression, mTOR expression was correlated with ER/PR positive and pAkt expression was correlated with age (>65), postmenopause. But there is no statistically significant in correlation between survival and mTOR/pAkt expression. **Conclusion:** The expression of pAkt was correlated with postmenopausal women and increased age, and we found the expression of ER/PR increased mTOR. The results provide a rationale basis for future clinical development of mTOR inhibitor combined ER inhibitor in breast cancer.

Key Words: Breast neoplasms, Estrogen receptors, Progesterone receptors, Proto-oncogene proteins c-akt, TOR serine-threonine kinase

서 론

Mammalian target of rapamycin (mTOR)는 포유류의 세포 내에

서 세포 생존 및 성장을 촉진하는 다양한 신호 전달체계에서 발견되는 세린/트레오닌 키나아제(serine/threonine kinase)의 일종으로 phosphoinositol 3'-kinase (PI3K)/Akt 경로를 하향 조절하는 단백질이다[1,2]. 또한 mTOR가 활성화되면 40S 리보솜단백질인 p70 S6 kinase와 4E-binding protein-1 (4EBP1)을 인산화 및 활성화시켜 세포의 성장, 증식 및 단백질 전사를 촉진시키는데 유방암을 비롯한 수많은 암종에서 이러한 전달 경로에 대한 억제제가 잘 안 되고 있는 것으로 확인되고 있다[3]. 게다가 PI3K는 유방암에서 암 발생의 중재자 역할을 하는 것으로 밝혀져 있는데 PI3K의 돌연변이는 PI3K 경

Correspondence: Moon Soo Lee

Department of Surgery, Soonchunhyang University Cheonan Hospital, Soonchunhyang University College of Medicine, 31 Suncheonhyang 6-gil, Dongnam-gu, Cheonan 330-930, Korea
Tel: +82-41-570-2140/3632, Fax: +82-41-571-0129, E-mail: mslee@schmc.ac.kr

*The authors declare that they have no competing interests.

Received: October 29, 2013 Accepted: November 7, 2013

로의 신호전달을 조절하지 못하고 이를 활성화시켜 유방암의 진행에 관여하는 것으로 알려져 있다[3,4].

따라서 이러한 과정을 억제하는 mTOR 억제제는 유전자의 전사, 세포의 성장, 증식 및 혈관 신생에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며 이에 대한 연구가 진행되고 있다[5]. mTOR 억제제인 라파마이신(rapamycin)은 지용성의 마크로라이드 계열의 항진균제이며, 칠레의 이스터섬에서 발견된 *Streptomyces hygroscopicus*에서 처음으로 분리된 천연합성물로 어원은 이스터섬을 뜻하는 'Rapa Nui'에서 기원하였다[6-8]. 처음에는 항진균 작용과 면역 억제 작용에 관여하는 것으로 알려졌으나 연구자들에 의해 고형암에 대해 항암 작용이 있는 것으로 확인되었다[9]. 라파마이신은 immunophilin FK506-binding protein 12와 결합함으로써 위에서 언급한 세린/트레오닌 키나아제의 일종인 mTOR을 억제하는 것으로 밝혀졌다. mTOR의 억제는 p70 S6 kinase와 4EBP1의 탈인산화를 유도함으로써 이루어지는데 이러한 신호체계의 탈인산화가 이루어지면 세포 주기에서 나타나는 mRNA의 전사와 세포의 증식을 억제하고 G1상에서의 성장 정지가 일어난다[10].

특히 유방암에서는 에스트로겐 수용체 양성인 경우와 HER2/*neu* 양성인 경우에서 라파마이신에 효과가 있다는 연구들이 발표되었는데[2,11], 이는 특히 에스트로겐 수용체 양성인 경우와 HER2/*neu* 양성인 경우에서 pAkt 신호 전달 경로를 활성화시키므로 mTOR 억제제를 투여할 경우 유방암 억제에 효과가 있는 것으로 연구되었다.

즉, 아직 명확하게 밝혀져 있지는 않지만 mTOR/pAkt의 발현이 높을수록 유방암의 예후에 미치는 악영향을 고려해 볼 수 있다. 이에 본 연구에서는 유방암에서 mTOR/pAkt의 발현 여부를 확인하여 실제 치료에서 어느 정도의 이용가치가 있을지 확인하고자 하였으며, 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체의 발현과 mTOR/pAkt의 발현이 관련이 있는지 여부도 관찰하고자 하였다. 또한 mTOR/pAkt의 발현 여부와 나이, 종양의 크기, 임파선의 전이 여부, 폐경 여부 등과 같은 임상병리학적 예후 인자 및 생존율과의 상관관계를 분석하여 실제로 mTOR 및 pAkt의 발현이 높을수록 예후에 어떤 영향을 미치는지 확인하고 이를 예후인자로 볼 수 있는지 여부를 분석하였다.

방 법

연구 대상

2001년 1월부터 2009년 12월까지 순천향대학교 의과대학에서 원발성 유방암으로 진단되어 수술적 치료를 받은 환자 중에 파라핀 조직의 이용이 가능한 197명을 대상으로 하였으며, 이 중 추적

관찰이 되지 않은 27명을 제외한 총 170명을 대상으로 하였다. 환자는 모두 여성만을 대상으로 하였으며 환자의 임상기록지를 참고하여 진단 당시의 나이, 성별, 원발성 종양의 진단 시기, 치료 여부 등을 분석하였다. 평균 추적관찰 기간은 43.4개월(1-115개월)이었으며 조직학적 유형은 침윤성 유관암이 147예(86.5%)로 가장 많았으며, 점액성암이 10예(5.9%), 상피 내암이 8예(4.7%), 수질암이 5예(2.9%) 순이었다.

Tissue microarray의 제작

10%의 중성 포르말린에 12시간 이상 고정 후 일련의 과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 보관된 조직을 이용하였으며, 각 층의 조직 슬라이드에서 가장 대표적인 곳을 표시한 후 같은 위치의 파라핀 블록의 중앙 조직에서 조직 심(tissue core)을 취하여 tissue microarray를 제작하였다. 조직 심의 직경은 2.0 mm로 하고 하나의 파라핀 블록에 최대 48개의 조직 심이 포함되도록 제작하였다.

면역조직화학염색 및 판정

Tissue microarray slide는 4 µm의 연속 절편으로 박절하여 오븐에서 파라핀을 녹인 후 자일렌으로 파라핀을 완전히 제거하였다. 그 다음 에틸 알코올로 단계적으로 함수하고 조직 절편을 0.3% 과산화수소수에 10분간 담근 후 pH 6.0의 구연산 완충액에 담가 극 초단파에서 15분간 처리한 다음 실온에서 식혔다. 그리고 희석된 토끼 단클론 항체 mTOR (1:100, clone 49F9; Cell Signaling Technology, Danvers, USA)와 토끼 단클론 항체 pAkt (1:50, clone 736E11; Cell Signaling Technology)를 4°C의 가습 용기에서 16시간 동안 반응시켰다. 그 후 Ultravision LP kit (Lab Vision, Fremont, USA)를 이용한 항체 복합체 방법으로 면역과산화 효소 염색을 시행하고 3,3'-diaminobenzidine tetrachloride chromogen으로 발색 후 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하였다. 면역조직화학적 염색의 판독은 mTOR의 경우는 세포질과 세포막의 염색을 기준으로 하였으며 pAkt의 염색은 핵과 세포질의 염색을 모두 고려하였다. 판독은 두 명의 병리의사가 각각 독립적으로 하였으며 의견의 불일치가 있는 경우는 함께 의논하여 결과를 도출하였다. 판독방법은 반정량적 방법(semiquantitative method)를 사용하여 염색강도를 0에서 3까지 나누고, 염색범위를 0, 1 (1-10%), 2 (11-50%)와 3 (51-100%)으로 정하여 전체 점수는 이 둘을 합한 점수로 하여 음성군은 0-2점까지, 양성군은 3-6점으로 하였다.

통계학적 분석

임상병리학적 예후 인자와 에스트로겐 수용체 및 프로게스테론

수용체와 mTOR/pAkt와의 관계는 Pearson χ^2 test를 이용하여 분석하였으며, 예후와의 관련성을 보기 위해 log-Rank test를 이용하였고, SPSS version 14.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) 프로그램을 사용하였다.

결 과

환자의 임상병리학적 특성

환자의 평균 나이는 52.9세(범위, 24-83세)였으며, 추적 관찰 기간

Table 1. Clinical characteristics of patients

	No. of patients (%) (n = 170)
Age (yr)*	52.9 (24-83)
≤ 65	79 (46.5)
> 65	91 (53.5)
Menopausal status	
Premenopause	79 (46.5)
Postmenopause	91 (53.5)
Primary tumor	
T1	43 (25.3)
T2	106 (62.4)
T3	21 (12.3)
Nodal status	
N0	96 (56.5)
N1	43 (25.3)
N2	18 (10.6)
N3	13 (7.6)
Clinical stage	
0	8 (4.7)
I	28 (16.5)
II	101 (59.4)
III	30 (17.6)
IV	3 (1.8)
ER status	
Positive	100 (58.8)
Negative	70 (41.2)
PR status	
Positive	127 (74.7)
Negative	43 (25.3)
Pathologic status	
IDC	147 (86.5)
DCIS	8 (4.7)
Mucinous carcinoma	10 (5.9)
Medullary carcinoma	5 (2.9)
Operation	
MRM	79 (46.5)
SSM	16 (9.4)
BCS	70 (41.2)
Simple mastectomy	5 (2.9)

ER = estrogen receptor; PR = progesterone receptor; IDC = invasive ductal carcinoma; DCIS = ductal carcinoma *in situ*; MRM = modified radical mastectomy; SSM = skin sparing mastectomy; BCS = breast-conserving surgery.

*Median (range).

은 43.4개월(범위, 1-115개월)이었다. 환자의 폐경 여부, 종양의 병기, 에스트로겐, 프로게스테론 수용체, 병리학적 유형 및 수술에 따른 환자의 특징은 Table 1과 같다.

유방암의 임상병리학적 인자와 mTOR 및 pAkt의 발현과의 상관관계

65세를 기준으로 나이에 따른 mTOR 및 pAkt의 발현을 조사한 결과 65세 이상에서는 pAkt의 발현이 더 증가하는 것으로 나타났으나 mTOR의 경우 통계적으로 유의한 결과는 얻지 못했다. 폐경 여부에 따라서는 폐경 후 여성에서 pAkt의 발현이 더 높은 것으로 나타났으며 mTOR의 발현은 폐경 여부와 통계적으로 유의한 관계를

Table 2. Correlation between clinicopathological factors and expression of mTOR and pAkt in breast cancer

	mTOR expression (%)	p-value	pAkt expression (%)	p-value
Age (yr)		0.523		0.011
≤ 65	49/79 (62.0)		53/79 (67.1)	
> 65	61/91 (67.0)		77/91 (84.2)	
Menopausal status		0.872		0.029
Premenopause	50/79 (63.3)		54/79 (68.4)	
Postmenopause	59/91 (64.8)		75/91 (82.4)	
Primary tumor		0.869		0.557
T1	27/43 (62.8)		32/43 (74.4)	
T2	70/106 (66.0)		83/106 (78.3)	
T3	12/21 (57.1)		14/21 (66.7)	
Nodal status		0.530		0.549
N0	64/96 (66.7)		76/96 (79.2)	
N1	24/43 (55.8)		32/43 (74.4)	
N2	13/18 (72.2)		14/18 (77.8)	
N3	9/13 (69.2)		8/13 (61.5)	
ER status		0.001		0.102
Positive	75/100 (75.0)		81/100 (81.0)	
Negative	35/70 (50.0)		49/70 (70.0)	
PR status		0.043		0.460
Positive	87/126 (69.0)		99/126 (78.6)	
Negative	22/43 (51.2)		31/43 (72.1)	

Data are presented as number (%).

mTOR = mammalian target of rapamycin; ER = estrogen receptor; PR = progesterone receptor.

Table 3. Correlation between expression of mTOR and pAkt

	pAkt		Total No. (%)	p-value
	No. of positive casae (%)	No. of negative casae (%)		
mTOR				0.013
(+)	91 (53.5)	19 (11.2)	110 (64.7)	
(-)	39 (22.9)	21 (12.3)	60 (35.3)	
Total	130 (76.5)	40 (23.5)	170 (100)	

mTOR = mammalian target of rapamycin.

Figure 1. Immunohistochemical staining of mamalian target of rapamycin (mTOR) and pAkt expression in breast carcinoma. (A) mTOR-positive expression (×100). (B) mTOR-negative expression (×100). (C) pAkt-positive expression (×100). (D) pAkt-negative expression (×100).

Figure 2. Kaplan-Meier survival curve according to expression of (A) mammalian target of rapamycin (mTOR), (B) pAkt, and (C) the combination of mTOR and pAkt.

보이지 않았고 T와 N 병기 또한 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 에스트로겐 수용체와의 관계에서는 에스트로겐 수용체 양성인 경우 mTOR의 발현이 통계적으로 유의하게 높았으나 pAkt의 발현과는 통계적인 유의성이 없었다. 프로게스테론 수용체 역시 양성인 경우 mTOR의 발현이 유의하게 높았으나 pAkt의 발현과는 통계적인 유의성은 없었다(Table 2).

mTOR와 pAkt의 발현

mTOR와 pAkt의 발현 양상은 mTOR의 경우는 양성인 경우가 110예(64.7%), 음성인 경우는 60예(35.3%)로 나타났으며, pAkt의 경우는 양성인 경우가 130예(76.5%), 음성인 경우는 40예(23.5%)로 나타났다. mTOR와 pAkt 발현과의 상관관계는 mTOR의 발현이 증가할수록 pAkt의 발현도 유의하게 증가하였다(Table 3, Figure 1).

mTOR 및 pAkt의 발현에 따른 생존곡선

Kaplan-Meier 방법을 이용한 생존곡선과 mTOR 및 pAkt의 발현에 따른 상관관계에서는 통계적으로 유의한 차이가 없었으며 mTOR와 pAkt의 발현 여부를 각각 조합하여 비교 분석한 결과에서도 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Figure 2).

고 찰

유방암에서 mTOR 및 pAkt의 발현이 예후에 미치는 영향에 대한 연구가 많이 진행되고 있으나 아직은 논란이 많다. Chan 등[11]은 임상병리학적 인자 중에 암종의 크기 및 암종의 등급과 관련이 있었다고 발표하였다. 본 연구에서는 환자의 나이와 폐경 전후 상태, 암종의 크기 및 수술 당시의 임파선 전이 여부에 따른 mTOR 및 pAkt와의 관계에 대하여 조사하였는데, 암종의 크기 및 임파선 전이와는 관련이 없는 것으로 나타났으나 고령일수록 pAkt의 발현이 증가하는 것으로 나타났고, 폐경 후 여성에서도 역시 pAkt의 발현이 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 mTOR와 나이 및 폐경 여부와는 통계적으로 유의성은 없었다.

mTOR, pAkt와 유방암과의 관련성에 대한 연구가 본격적으로 시작된 것은 2000년대 들어서이다. Yu 등[12]은 2000년대 초반 라파마이신의 에스터 유도체인 cell cycle inhibitor-779 (CCL-779)를 이용하여 mTOR와 pAkt를 억제하는 것이 유방암 치료에 있어 훌륭한 목표가 될 수 있다는 것을 발표하였고, 라파마이신 또는 그 유도체를 이용하여 유방암을 치료하려는 시도는 지속되어 왔다. 특히, 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체와 mTOR/pAkt와의 관련

성에 대한 연구가 다양하게 진행되어 왔다. Chan 등[11]은 에스트로겐 수용체가 양성일 경우 pAkt의 발현이 증가한다고 발표하였고, 에스트로겐 수용체 양성인 경우에는 mTOR 및 pAkt 회로를 활성화시켜 mTOR의 하향조절을 더욱 더 가속화시킨 것으로 보고되어 있으며[13,14], 이를 근거로 Chang 등[15]은 라파마이신이 에스트로겐 수용체 양성인 환자에서 유방암의 증식을 억제한다고 발표하였고, Chollet 등[16]과 Sadler 등[17]은 호르몬 치료와 mTOR 억제제를 병합하여 유방암을 치료한 결과에 대해 보고하였다. 또한 Baselga 등[18]은 아로마타제 억제제인 레트로졸(letrozole)과 mTOR 억제제인 에버롤리무스(everolimus)를 병합하여 치료한 2상 시험결과를 발표하였는데 병합하여 사용한 군이 placebo를 사용한 군보다 치료 효과가 높다는 것을 입증하였다(57% vs. 30%, $p = 0.01$). 호르몬 치료에 저항성을 보이는 유방암의 경우에서 mTOR 억제제를 이용한 치료에 대한 연구도 이루어지고 있는데, Anagnostou 등[19]은 레트로졸이나 풀베스트란트(fulvestrant)를 단독 사용한 환자에서 라파마이신 유도체인 에버롤리무스를 병합하여 사용하였을 때 감소시키는 효과를 거둔다고 발표하였다. 최근에는 삼중음성 유방암에서 mTOR 사용에 대한 연구 결과가 발표되고 있는데, Zeng 등[20]은 삼중음성 유방암에서 라파마이신과 사이클로포스파마이드(cyclophosphamide)를 병합하여 시행한 연구에서 라파마이신이 사이클로포스파마이드의 효과를 증강시킨다는 것을 발표하였고, everolimus와 anthracycline, taxane을 병합한 임상 3상 시험도 현재 진행 중에 있다[21]. 본 연구는 총 170명의 환자를 대상으로 mTOR와 pAkt의 발현을 분석한 결과 mTOR가 발현된 환자는 110명으로 64.7%를 차지하였고, pAkt가 발현된 환자는 130명으로 76.5%를 차지하였다. 이를 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체의 발현과의 관련성을 조사하였을 때 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체의 발현이 높을수록 mTOR의 발현이 증가함을 알 수 있었다($p = 0.001$, $p = 0.028$). 이를 토대로 에스트로겐과 프로게스테론 수용체 양성인 환자에서 mTOR 억제제의 사용이 도움이 될 수 있다는 것을 이전에 발표된 연구 결과를 근거로 추측해 볼 수 있었다. 하지만 에스트로겐과 프로게스테론 수용체와 pAkt의 발현과는 유의한 상관관계가 없었다($p = 0.070$, $p = 0.251$). mTOR 및 pAkt와 생존율과의 관계는 유방암 뿐만 아니라 다른 암종에서도 연구되고 있으나 이 역시 아직은 논란 중에 있다. Yu 등[22]은 유방암에서 PI3K/pAkt 경로를 상향 조절해서 세포사멸을 막고 전이를 일으키는 CD44v6 단백질이 pAkt의 발현과 밀접한 관계가 있으며, pAkt의 발현은 유방암 환자에서 전체생존율과 무병생존율을 감소시키는 독립적인 인자로 작용함을 주장하였다. 또한 Zhou 등[23]은 mTOR와 pAkt 및 4E-BP1의 발현이 증가하면 할수록 유방암의 예후가 나빠진다고 하

였다. 유방암뿐만 아니라 다른 암종에서도 pAkt의 발현은 암종의 예후를 감소시키는 것으로 많이 보고되어 있는데, Murakami 등[24]은 비소세포암에서 pAkt의 발현 증가가 예후에 악영향을 미치는 것으로 발표하였고, Lee 등[25]은 위암에서, 그리고 Pantuck 등[26]은 신세포암에서 pAkt의 발현이 암의 예후를 감소시킨다고 보고하였다. 반면에 유방암에서 pAkt는 예후와 유의한 상관관계는 없는 것으로 발표하였으며[11], Anagnostou 등[19]은 비소세포암에서 mTOR의 발현이 조기 폐암에서 더 좋은 예후와 관련이 있다고 주장하였다. 본 연구에서는 mTOR 양성과 mTOR 음성, 그리고 pAkt 양성과 음성인 경우를 각각 네 군으로 나누어 각각의 예후를 비교하였는데, mTOR 음성 및 pAkt 음성인 군에서 누적 생존 확률이 가장 높게 나타나 mTOR 및 pAkt의 발현이 적을수록 예후가 좋은 것처럼 보이기는 하였으나 통계학적인 유의성은 나타나지 않았다($p = 0.256$). 또한 mTOR와 pAkt를 독립된 인자로 하여 예후와 상관성을 본 결과에서도 통계적인 유의성이 없었다($p = 0.182$, $p = 0.219$). 이는 170명의 환자 중 사망한 환자의 수가 15명으로 매우 적기 때문인 것으로 분석되었고 따라서 좀 더 많은 환자를 이용한 연구가 필요할 것으로 여겨진다. 앞서 언급한 바와 같이 mTOR은 pAkt 회로의 하향조절에 작용하여 세포의 성장과 증식 및 혈관신생에 관여하는 것으로 되어 있고, 따라서 예후와 관련이 있는 것으로 많이 보고되어 있다. 본 연구 결과에서도 mTOR의 발현이 증가할수록 pAkt의 발현 또한 증가하는 것으로 나타나 이의 연관성을 추측해 볼 수 있었다($p = 0.013$). 따라서, 이를 이용한 치료는 유방암 정복에 있어 새로운 개념으로 자리 잡는 것처럼 보이지만 실제 유방암에서 mTOR 억제제를 이용한 치료 결과 10% 정도의 반응을 보이는 것으로 나타나[27], 아직 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 보여진다. 또한 현재 항암제와의 병합치료와 HER2/neu에 대한 치료제와의 병합치료에 대한 연구가 계속 진행 중에 있어 그 결과를 지켜봐야 할 것으로 사료된다.

본 연구의 실험 결과를 요약하면 암종의 크기 및 임파선 전이 여부는 mTOR/pAkt의 발현과 유의한 상관관계는 없는 것으로 나타났다. 환자의 나이가 증가하고 폐경 후 여성일수록 pAkt의 발현이 증가하는 것으로 나타났으며, 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체의 발현이 증가할수록 mTOR의 발현 또한 증가하는 것으로 나타났다. 특히 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체와의 관련성은 에스트로겐 수용체 억제제와의 병합 치료에 대한 근거를 제시할 수 있을 것으로 사료된다. mTOR/pAkt와 예후와의 관련성은 통계학적인 유의성은 없는 것으로 나타났으나 이는 아직 논란의 여지가 있기 때문에 좀 더 많은 환자수를 포함시켜서 연구가 진행되어야 할 것으로 여겨진다.

REFERENCES

1. Mondesire WH, Jian W, Zhang H, Ensor J, Hung MC, Mills GB, et al. Targeting mammalian target of rapamycin synergistically enhances chemotherapy-induced cytotoxicity in breast cancer cells. *Clin Cancer Res* 2004;10:7031-42.
2. Witton CJ. Determining sensitivity to rapamycin and its analogues in breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2005;7:41-2.
3. Bachman KE, Argani P, Samuels Y, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. The PIK3CA gene is mutated with high frequency in human breast cancers. *Cancer Biol Ther* 2004;3:772-5.
4. 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* 1987;235:177-82.
5. Akcakanat A, Zhang L, Tsavachidis S, Meric-Bernstam F. The rapamycin-regulated gene expression signature determines prognosis for breast cancer. *Mol Cancer* 2009;8:75.
6. Vézina C, Kudelski A, Sehgal SN. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J Antibiot (Tokyo)* 1975;28:721-6.
7. Garber K. Rapamycin's resurrection: a new way to target the cancer cell cycle. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:1517-9.
8. Sehgal SN, Molnar-Kimber K, Ocain TD, Weichman BM. Rapamycin: a novel immunosuppressive macrolide. *Med Res Rev* 1994; 14:1-22.
9. Douros J, Suffness M. New antitumor substances of natural origin. *Cancer Treat Rev* 1981;8:63-87.
10. Meric F, Hunt KK. Translation initiation in cancer: a novel target for therapy. *Mol Cancer Ther* 2002;1:971-9.
11. Chan S. Targeting the mammalian target of rapamycin (mTOR): a new approach to treating cancer. *Br J Cancer* 2004;91:1420-4.
12. Yu K, Toral-Barza L, Discafani C, Zhang WG, Skotnicki J, Frost P, et al. mTOR, a novel target in breast cancer: the effect of CCI-779, an mTOR inhibitor, in preclinical models of breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2001;8:249-58.
13. Simoncini T, Hafezi-Moghadam A, Brazil DP, Ley K, Chin WW, Liao JK. Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol-3-OH kinase. *Nature* 2000;407:538-41.
14. Sun M, Paciga JE, Feldman RI, Yuan Z, Coppola D, Lu YY, et al. Phosphatidylinositol-3-OH Kinase (PI3K)/AKT2, activated in breast cancer, regulates and is induced by estrogen receptor alpha (ERalpha) via interaction between ERalpha and PI3K. *Cancer Res* 2001;61:5985-91.
15. Chang SB, Miron P, Miron A, Iglehart JD. Rapamycin inhibits proliferation of estrogen-receptor-positive breast cancer cells. *J Surg Res* 2007;138:37-44.
16. Chollet P, Abrial C, Tacca O, Mouret-Reynier MA, Leheurteur M, Durando X, et al. Mammalian target of rapamycin inhibitors in combination with letrozole in breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2006;7:336-8.
17. Sadler TM, Gavril M, Annable T, Frost P, Greenberger LM, Zhang Y. Combination therapy for treating breast cancer using antiestrogen, ERA-923, and the mammalian target of rapamycin inhibitor, temsirolimus. *Endocr Relat Cancer* 2006;13:863-73.
18. Baselga J, Semiglazov V, van Dam P, Manikhas A, Bellet M, Mayor-domo J, et al. Phase II randomized study of neoadjuvant everolimus plus letrozole compared with placebo plus letrozole in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27: 2630-7.
19. Anagnostou VK, Bepler G, Syrigos KN, Tanoue L, Gettinger S, Homer RJ, et al. High expression of mammalian target of rapamycin is associated with better outcome for patients with early stage lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2009;15:4157-64.
20. Zeng Q, Yang Z, Gao YJ, Yuan H, Cui K, Shi Y, et al. Treating triple-negative breast cancer by a combination of rapamycin and cyclophosphamide: an in vivo bioluminescence imaging study. *Eur J Cancer* 2010;46:1132-43.
21. Chacón RD, Costanzo MV. Triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res* 2010;12 Suppl 2:S3.
22. Yu P, Zhou L, Ke W, Li K. Clinical significance of pAKT and CD44v6 overexpression with breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136:1283-92.
23. Zhou X, Tan M, Stone Hawthorne V, Klos KS, Lan KH, Yang Y, et al. Activation of the Akt/mammalian target of rapamycin/4E-BP1 pathway by ErbB2 overexpression predicts tumor progression in breast cancers. *Clin Cancer Res* 2004;10:6779-88.
24. Murakami D, Tsujitani S, Osaki T, Saito H, Katano K, Tatebe S, et al. Expression of phosphorylated Akt (pAkt) in gastric carcinoma predicts prognosis and efficacy of chemotherapy. *Gastric Cancer* 2007; 10:45-51.

25. Lee S, Kim YC, Lee HM, Lee KS, Shin BC, Kim HS, et al. Prognostic value of phosphorylated akt and survivin expression in gastric adenocarcinoma. *Korean J Pathol* 2010;44:252-8.
26. Pantuck AJ, Seligson DB, Klatte T, Yu H, Leppert JT, Moore L, et al. Prognostic relevance of the mTOR pathway in renal cell carcinoma: implications for molecular patient selection for targeted therapy. *Cancer* 2007;109:2257-67.
27. Di Cosimo S. Controversies in breast cancer: the mammalian target of rapamycin as a target for breast cancer therapy. *Breast Cancer Res* 2009;11 Suppl 3:S25.