

유방암의 분자병리

배 영 경

영남대학교 의과대학 병리학교실

서 론

유방암도 인체 다른 암과 마찬가지로 연속적으로 일어난 유전자 변이들이 축적되고, 정상 세포가 일련의 형태학적 변화를 거쳐 암이 발생하는 것으로 인식되고 있다 (1) (Fig. 1). 종양유전자의 활성화(증폭)와 종양억제 유전자의 불활성(돌연변이, 결손, promoter hypermethylation)을 야기하는 유전적 변이들이 다발성으로 일어나 점진적으로 축적되고 서로 밀접하게 연관됨으로써 암 발생에 이르게 된다. 유방암의 극히 일부는 부모로부터 물려받은 특정 유전자의 germ-line mutation과 밀접한 관련이 있으나, 대부분의 유방암은 체세포에 발생하는 산발성 유전자 변이 (sporadic and somatic mutation)로 인해 발생한다. 하지만 워낙 많은 유전자가 복잡하게 연관되어 있어 유방암 발생에 이르는 분자병리학적 기전을 명확하게 규명하기는 힘들다. 여기에서는 유전성 유방암과 산발성 유방암의 유전적 배경과 유방암에서 흔히 관찰되는 genetic, epigenetic alteration을 최근 보고된 연구 결과와 함께 설명하고자 한다.

I. 유전성 유방암

유방암의 5 - 10%를 차지하며 부모로부터 물려받은 유전자 돌연변이와 밀접한 관련이 있다. 침투도(돌연변이를 가진 사람들 중 암이 발생하는 사람의 수)가 높고 상염색체 우성으로 유전되는 유전자 가운데 가장 중요한 두 가지가 *BRCA1*과 *BRCA2*이다. 이들 유전자에 돌연변이가 있는 여성의 경우 일생을 사는 동안 유방암에 걸릴 확률은 60 - 85%이며, 산발성 유방암 환자의 평균 연

령보다 약 20세 어린 나이에서 암이 발생한다. *BRCA1* 유전자 돌연변이가 있는 경우 난소암 발생 위험은 20 - 40%로 증가하며, *BRCA2* 돌연변이가 있는 경우 난소암 발생위험은 10 - 20%로 다소 낮지만, 남성 유방암 발생과 밀접한 관련이 있다. *BRCA1*이나 *BRCA2* 돌연변이가 있는 사람은 발병 위험도는 유방암이나 난소암에 비해 낮지만 대장암, 전립선암, 췌장암 등도 발생할 수 있다. *BRCA1*과 *BRCA2*는 각각 염색체 17q21과 13q12.3에 위치하며 81kb(1863 amino acids)와 84kb (3418 amino acids)로 크기가 상당히 큰 유전자이다. 현재까지 밝혀진 *BRCA* 유전자의 기능은 종양억제유전자로서 염색체의 구조와 총체성 (integrity)을 유지하는 역할을 하고 DNA 복구와 재조합, 세포주기 조절, 유전자 전사 조절 등에 관여하는 것으로 알려져 있다 (2). 유전성 유방암에서 한 개의 mutant allele은 상염색체 우성 유전에 의해 부모로부터 물려받은 것이고, 나머지 allele에 somatic mutation이 일어난 결과 유전자의 기능이 소실된다 (Fig. 2). 유전성 유방암을 의심해 보아야 하는 경우로는 가족 중 젊은 나이에 유방암으로 진단 받은 환자가 여러 명 있을 때, 양측 유방에 암이 발생한 경우, 남성 유방암 환자가 있을 때, 유방암과 난소암을 동시에 가진 가족이 있는 경우 등이다 (3). *BRCA1* 돌연변이를 가진 유방암 환자의 조직학적 특징은 암세포의 분화가 나쁘고 주변조직과 경계가 좋은 합포체 성장을 하며 심한 림프구 침윤을 동반하고 호르몬 수용체 음성이며 *p53* 돌연변이가 흔하고 *c-erbB-2 (Her2/neu)* 과발현이 없다 (4). *BRCA2* 돌연변이 관련 유방암은 산발성 유방암의 조직학적 소견과 큰 차이를 보이지 않는다. 산발성 유방암에서 *BRCA1/BRCA2* 돌연변이 빈도는 상당히 낮지만 환자의 약 50%에서 *BRCA1* 단백질발현이 감소되거나 소실되는데 그 기전은 대개 이형접합성 소실(loss of heterozygosity: LOH)과 promoter hypermethylation이며, *BRCA1* 발현감소는 나쁜 예후 인자로 작용한다 (5, 6). 가족성 유방암 (familial breast cancer)의 약 25%

통신저자 : 배영경
대구시 남구 대명5동 317 - 1, 영남대학교 의과대학 병리학교실
Tel. (053)620 - 3336, Fax. (053)656 - 1429
E-mail: ykbae@ynu.ac.kr

는 *BRCA1/BRCA2* 돌연변이에 의해 발생하며, 또 일부는 *P53*, *PTEN*, *STK11/LKB1*, *ATM*, *CHEK2*, *MLH1/MSH2* 유전자들의 돌연변이와 관련 있으나, 가족성 유방암의 약 2/3에서는 아직 원인 유전자가 규명되어 있지 않다.

II. 산발성 유방암

1. 유방암에서 관찰되는 유전적 변이의 유형들

1) DNA Content

유방암의 약 70%는 염색체의 중복(duplication) 또는 통째로 소실된 결과 (whole chromosome loss) 홀배수체(an euploid)이다. S-phase fraction이 높게 나타나는 증식성 유방암은 조직학적 등급이 높고 홀배수체인 경우가 많다.

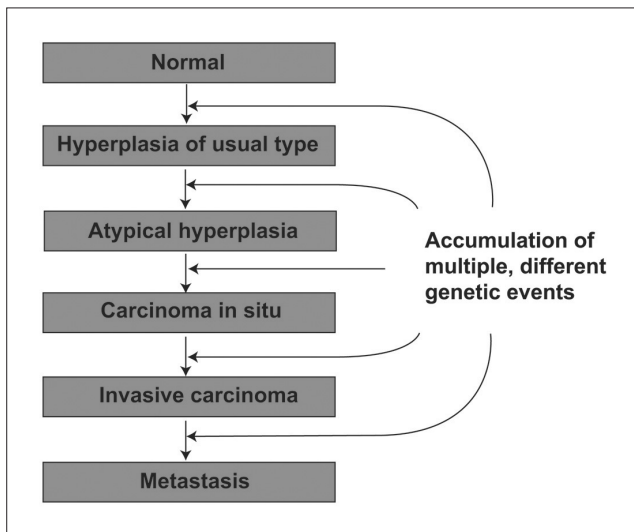


Fig. 1. Multistep carcinogenesis of human breast

2) Gain or Loss of Genetic Material

Allelotyping(PCR with highly polymorphic markers, LOH study)이나 comparative genomic hybridization(CGH)을 이용하여 관찰할 수 있으며 요즘은 CGH-array를 이용하여 한번에 많은 부위에 대한 검색이 가능하다.

(1) Gain of genetic material

염색체의 일부가 증폭되어 그곳에 존재하는 유전자의 기능이 극대화되고 유전자 산물이 과발현되거나, mitotic non-dysjunction으로 염색체 장지(long arm)나 단지(short arm)가 통째로 획득되는 경우이다. 염색체가 통째로 획득되는 것은 주로 1q와 8q에서 일어나며, 증폭이 흔히 일어나는 염색체 부위는 11q13, 16p11, 17q11.2, 17q24, 20q13으로, 유방암의 약 15-20%에서 관찰된다 (7) (Fig. 3). 그러나 증폭 부위에 존재하는 유전자에 관해서는 극히 일부만 알려져 있어 앞으로 이에 대한 규명이 필요하다.

(2) Loss of genetic material

염색체 결손은 유방암에서 흔히 관찰되며 결손된 부위에 존재하는 유전자들의 기능 및 유방암 발생에 미치는 영향에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않다. 염색체 결손은 전암병변인 상피증식에서부터 관찰되기 시작해서 관상피내암종, 침윤암종으로 갈수록 유전자 결손을 나타내는 빈도가 증가한다. 유방암에서 흔히 소실되는 염색체 부위는 1p, 3p, 6q, 8p, 9q, 11p, 13q, 16q, 17p, 17q 등이며, 종양억제유전자들이 결손 부위에 존재한다 (7).

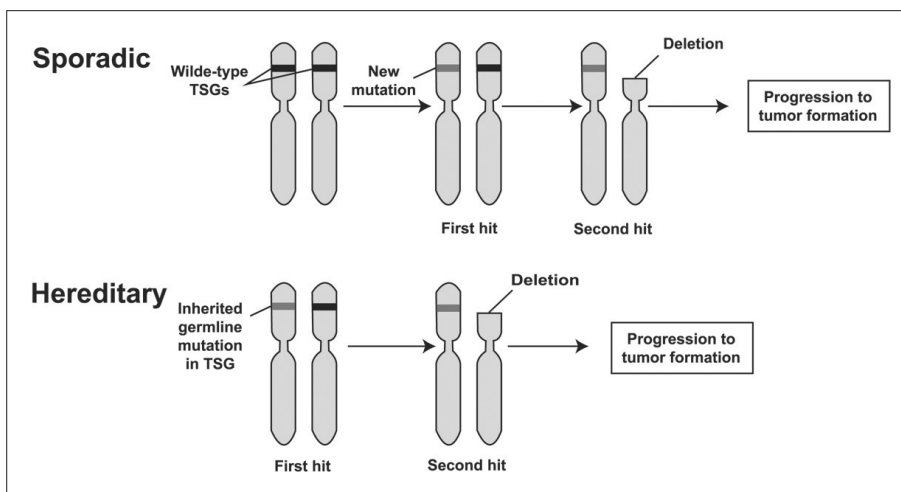


Fig. 2. Mechanisms of tumor suppressor gene (TSG) inactivation

(3) 유방의 전암병변과 유방암의 조직학적 유형에 따른 유전적 변이들

관상피증식(usual ductal hyperplasia)의 37%가 유전자의 한 부위 이상에서 LOH를 보이며, 비정형 관상피증식, 관상피내암종, 침윤성 관암종으로 진행할수록 LOH를 나타내는 유전자 부위는 증가한다 (1). 관상피내암종에서 16q, 17p, 17q 부위의 LOH가 높은 빈도로 관찰되어 이들 부위에 존재하는 유전자의 기능 소실이 관상피내암종 발생에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 침윤성 유방암 주위에 존재하는 관상피내암종에서 침윤성 암을 동반하지 않은 관상피내암종에 비해 2p, 11p, 17q에서 더 높은 빈도의 LOH를 보여 이 부위의 유전자 결함이 침윤성 암으로 진행하는데 결정적인 역할을 할 것임을 암시한다. 또한 원발 병소에 비해 전이 병소의 암 조직에서 1p35, 3p21.3, 16q22-q23, 7q31, 15q 부위의 결손이 더 흔한 빈도로 관찰되어 암의 파급 및 전이에 관여하는 유전자들이 이 부위에 존재할 것으로 생각된다. 관상피내암종에서도 핵등급이 높을수록 LOH를 나타내는 유전자 부위가 의미 있게 증가하여 조직학적 소견의 진행에 따라 유전적 변이도 진행하고 축적됨이 증명되었다 (8).

점액암종은 관상피내암종이나 침윤성 관암종에 비해 상당히 낮은 LOH 빈도를 보여 암발생에 이르는 분자병리 기전이 이들과는 다름을 시사한다 (9). 관상암종(tubular carcinoma) 역시 침윤성 관암종에 비해 낮은 빈도의 유전자 변이를 보이고, 16q 소실이 유의하게 많으며 17p 소실의 빈도는 낮았다 (10).

3) 현미부수체 불안정성 (Microsatellite instability)

DNA mismatch repair gene (*MLH1*, *MSH2*, *PMS1*,

PMS2, *MSH6*, *MSH3*)의 돌연변이와 그 결과 나타나는 현미부수체 불안정성은 유방암에서 거의 관찰되지 않으며 유방암 발생에 큰 역할을 하지 못하는 것으로 알려져 있다 (11).

4) Promoter Hypermethylation

DNA methylation은 염기배열 변화 없이 메틸기가 cytosine 염기에 붙는 현상으로, 그 결과 유전자 발현이 직접적으로 억제되거나 돌연변이가 일어나기 쉬운 상태가 된다. 종양억제유전자의 promoter hypermethylation은 정상세포가 종양세포로 전환되는 초기 단계부터 관찰되며 암발생에 이르는 중요한 기전 중의 하나로 잘 알려져 있다 (12).

유방암 조직에서도 많은 유전자들이 promoter hypermethylation 결과 발현이 억제되어 있음이 밝혀졌으며, 대표적인 유전자들로는 *BRCA1*, *GSTP1*, *p16^{INK4A}*, *cyclin D2*, *ER*, *RAR β* , *THR β* , *HOX5A*, *RASSF1A*, *Twist*, *HIN1*, *CDH1* 등이 있다. 이 가운데 *BRCA1*, *GSTP1*, *p16^{INK4A}*, *CDH1* methylation은 다른 암에 비해 유방암에서 빈번하게 관찰되며, 전체 유방암의 약 73%가 이들 네 가지 유전자 중 한 개 이상에서 methylation을 보였다 (13).

많은 유전자를 대상으로 한 연구에서 유방암은 대장암에서 관찰되는 CpG island methylator phenotype (CIMP)은 존재하지 않으며, 조직학적 유형에 따른 methylation 유형도 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 그러나 *BRCA1*이 점액암종에서 유의하게 높은 빈도의 methylation을 보여, 선별된 유전자의 methylation profile에 따라 유방암의 molecular classification이 가능함을 시사하고 있다 (14).

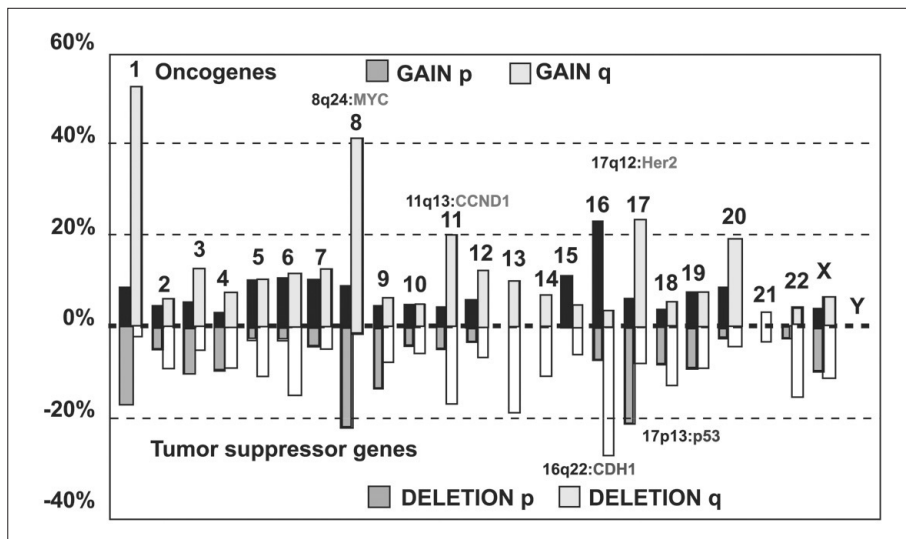


Fig. 3. Frequently amplified or deleted chromosomal regions in breast cancers and several candidate genes in these regions (modified from Fig. 2 in Ref. 7).

2. 현재까지 밝혀진 유방암 발생과 관련 있는 유전자들

1) 종양유전자의 증폭 및 과발현

(1) *c-erbB-2* (Her2/neu) (17q21)

성장인자 수용체군(growth factor receptor family)에 속하는 transmembrane receptor를 암호화하며 유방암의 약 25%에서 증폭에 의해 과발현된다. 증폭된 유전자에 의해 생성된 세포막 수용체는 성장인자의 결합 없이도 지속적으로 세포증식을 위한 신호를 세포 내로 전달하므로 암발생을 유도한다. *c-erbB-2* 유전자의 과발현이 있는 유방암 세포주는 침윤 및 전이 능력이 증가되어 있고, *c-erbB-2* 유전자의 과발현이 있는 유방암 환자들이 과발현이 없는 환자들에 비해 나쁜 예후를 보인다. *C-erbB-2* 유전자 과발현은 유방암 조직에서 면역조직화학염색이나 fluorescent in situ hybridization (FISH)을 이용하여 찾아낼 수 있다 (Fig. 4). 최근에는 변형된 *c-erbB-2* 유전자 산물에 대한 단클론 항체 (Herceptin®)가 개발되어 이를 이용한 표적치료 (targeted therapy)가 임상에 적용되고 있다 (2).

(2) Cyclin D1 (11q13)

세포주기조절인자로 cdk4와 복합체를 이루어 G1→S transition과 Rb 인산화를 조절한다. 유방암의 약 40-50%에서 과발현되며, 약 20%는 증폭에 의해 과발현되지만 나머지는 다른 기전이 작용할 것으로 추측하고 있다 (15).

(3) Cyclin E

세포주기조절인자로 cdk2와 결합하여 cyclin D1/cdk4 복합체와 마찬가지로 G1→S transition에 관여한다. 유전자 증폭은 유방암의 2% 미만에서 관찰되나 약 20-30% 유방암에서 cyclin E 과발현이 보고되어 있다. Cyclin E/cdk2 복합체의 조절단백인 p27 발현소실 유무와 상관없이 cyclin E 과발현은 유방암의 나쁜 예후인자로 밝혀져 있어 cyclin E와 유방암 발생과의 밀접한 관련성을 확인할 수 있다 (16).

(4) MYC (8q24)

세포성장, 분화, 세포자멸사에 관여하는 transcription factor를 암호화하며 유방암의 15-20%에서 증폭에 의해 과발현된다. 소수에서는 유전자 증폭 없이 유전자 재배열에 의해 과발현 되기도 한다. MYC 과발현은 ornithine decarboxylase나 *cyclin D2* 같은 세포성장 관련 유전자의 지속적인 전사를 유도함으로써 종양을 발생시킨다고 알려져 있다 (7).

(5) Bcl-2/Bax

Bcl-2 (18q21.3)는 “antiapoptotic” 유전자로 세포사를 억제하여 종양발생을 촉진하므로 종양유전자로 분류된다. *Bcl-2*는 정상 유방조직 뿐만 아니라 유방암의 약 30-45%에서 발현되고 종양이 진행할수록 발현은 감소한다. 그러나 *bcl-2*가 세포증식을 억제하는 효과가 있고, ER 양성 종양에서 발현이 증가하는 점 등으로 인해 “antiapoptotic” 유전자임에도 불구하고 *bcl-2*를 발현하

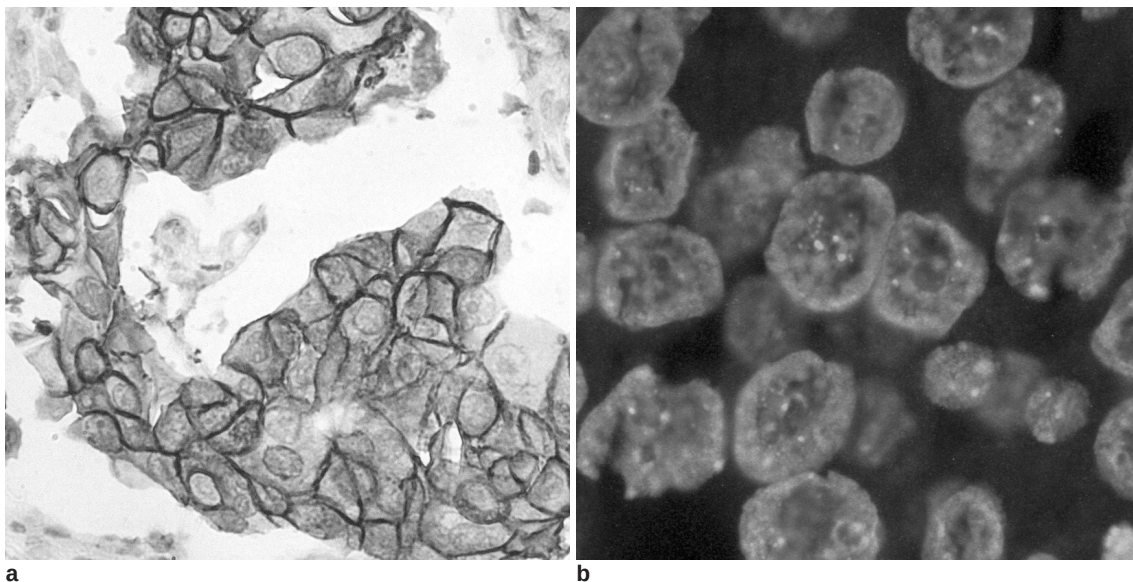


Fig. 4. a. Immunohistochemistry for *c-erbB-2* protein. Overexpression of *c-erbB-2* is detected on the cell membrane (×200). **b.** FISH analysis with a fluorescent probe for the *c-erbB-2* gene. A normal cell has two copies of the gene, but these tumor cells have over 10 signals, indicating amplification of the *c-erbB-2* gene (×1000).

는 유방암 환자가 더 좋은 예후를 나타낸다. *Bax*는 “proapoptotic” 유전자로 *bcl-2*와 함께 세포자멸사 유도에 결정적인 역할을 하며 *bax*를 발현하는 유방암 환자가 더 좋은 예후를 보인다 (17). *Bcl2/Bax* 발현을 조절하는 기전에 관해서는 아직 정확하게 알려져 있지 않다.

(6) hTERT

Telomere를 복제하는데 관여하는 telomerase 효소를 암호화한다. 정상세포는 세포분열 때마다 telomere가 일정한 길이만큼 짧아지고 이것이 노화에 접어드는 신호가 된다. 따라서 정상세포에서는 telomerase 효소 활성이 억제되어 있지만 생식세포와 암세포에서는 효소활성이 증가되어 있다. 유방암조직에서 *hTERT* 과발현은 나쁜 예후를 나타내는 병리조직학적 예후 인자들과 밀접한 관련성을 보여, *hTERT*가 유방암 발생에 관여함을 시사한다 (7).

2) 종양억제 유전자

종양억제 유전자의 기능 소실은 그림 2에서와 같이 “two hits”이 작용한 결과 일어난다. LOH, 점돌연변이, 동종접합 결손 등에 의해 유전자 기능이 소실된다.

(1) p53 (17p13.1)

대표적인 종양억제 유전자로 세포주기, 복구, 유전체 안전성, 세포자멸사에 관여하는 transcription factor를 암호화한다. DNA를 손상시키는 자극에 대해 세포주기 정지가 일어나도록 한다. *p53* 유전자의 germ-line mutation은 전체 유방암의 약 1%에서 관찰되고 이 경우 유방암 뿐만 아니라 육종, 뇌종양, 백혈병 등의 발생 위험

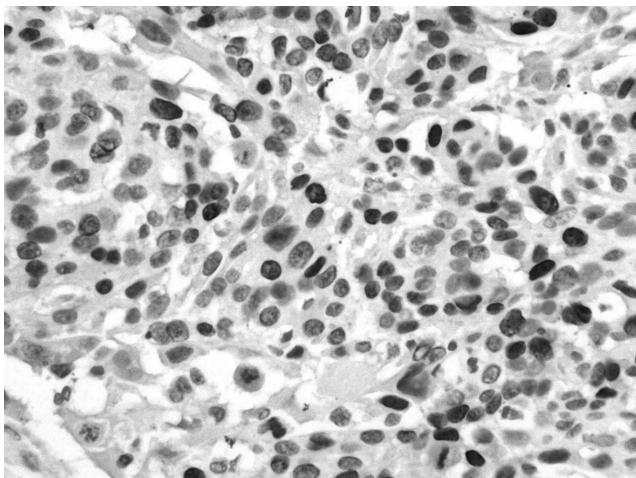


Fig. 5. Immunohistochemistry for p53. Strong p53 staining is detected in most of tumor cell nuclei ($\times 200$).

이 증가한다 (Li-Fraumeni syndrome). 산발성 유방암의 약 15-35%에서 *p53* 유전자 돌연변이가 발견되는데, 수질암종, *BRCA1* 돌연변이 유방암, 악성도가 높은 진행성 유방암에서 주로 관찰된다 (7). Wild-type 유전자의 기능소실은 유전자 단백산물을 안정화시키므로 면역조직화학염색으로 검출이 가능하다 (Fig. 5).

(2) Rb (13q14.1)

세포주기조절 유전자로 성장인자 등의 자극에 대해 Rb protein 인산화가 일어나면 결합하고 있던 E2F transcription factor를 유리시켜 세포 주기를 진행시킨다. 그러나 활성 상태(hypo- or under-phosphorylated state)에서는 세포를 G1 단계에 머무르게 하는 molecular brake로 작용한다. Rb 유전자의 결손이나 돌연변이에 의해 Rb 단백질이 소실되거나 E2F를 조절하는 능력이 소실되면 세포는 S기로 진행하여 세포분열이 일어난다. 유방암의 약 20%에서 Rb 발현이 소실되고 약 25-35%에서 유전자 부위 (13q14.1)의 결손이 관찰된다 (7).

(3) Cyclin dependent kinase inhibitors (CDKIs)

세포주기조절인자로 cyclin/cdk 복합체를 억제하여 G_1 , G_0 상태 세포들의 세포주기 진행을 차단한다. 종양억제 유전자로서 대표적인 역할을 하는 것으로는 *p16^{INK4A}*과 *p27^{KIP1}*이 있다. *p27^{KIP1}*은 정상 유방조직에서 발현되며, 유방암의 일부에서 발현 소실이 관찰되는데 이 경우 나쁜 예후를 보인다. 유방암에서 *p16^{INK4A}*의 예후인자로서의 역할에 대해서는 논란의 여지가 있다 (7).

(4) CDH1 (16q22.1)

Adhesion molecule인 E-cadherin을 암호화하며 가족성 위암에서 germ-line mutation이 발견된다. *CDH1* 유전자가 존재하는 16q22는 유방암에서 흔히 소실되는 유전자 부위 가운데 하나이다. 유소엽 암종의 약 20-40%에서 *CDH1* 돌연변이가 관찰되지만 관암종에서는 관찰되지 않는다. 그러나 관암종에서는 유전자 promoter hypermethylation에 의해 E-cadherin의 발현감소가 나타나며 조직학적 등급과 관련 있다. 유방암에서 E-cadherin의 발현감소는 나쁜 예후인자로 작용한다는 보고들이 있다 (7).

(5) Claudin - 7

Claudins은 상피세포의 tight junction을 이루는 단백질로 총 20종 이상이 발견되었다. 이 중 claudin - 7은 관상피내암종과 침윤성 관암종에서 핵등급이 높을수록 발

현이 유의하게 감소하여 조직에서 유방암 세포의 파종에 중요한 역할을 할 것으로 여겨지고 있다. 발현소실의 기전은 유방암세포주에서는 promoter hypermethylation으로 밝혀져 있으나 환자 암조직을 이용한 연구에서는 돌연변이나 promoter hypermethylation 둘 다 관찰되지 않았다 (18).

(6) Estrogen receptor (ER)

ER 유전자 부위(6q25.2-q27)는 유방암에서 흔히 소실되는 DNA 부위로 유전자 기능소실은 암발생 뿐만 아니라 호르몬 치료에 대한 저항성과도 관련 있다. mRNA 발현 감소는 promoter hypermethylation에 의하며, 유전자 돌연변이와 그 결과 생성된 변형된 transcript가 유방암 발생에 미치는 영향에 관해서는 정확히 밝혀져 있지 않다. 면역조직화화학염색을 이용하여 종양세포 핵 내에 존재하는 호르몬 수용체 검출이 가능하다. 유방암 환자의 50-85%에서 에스트로겐 수용체가 존재하며 수용체가 없는 환자에 비해 조금 더 나은 예후를 보이며 호르몬 치료에 반응을 잘 한다 (2).

III. 분자표지자(molecular marker)의 임상적 이용

가족 내에 유방암 환자가 여러 명 있는 환자, 유방암과 난소암을 동시에 가진 환자, 젊은 나이에 발병한 유방암 환자, 양측 유방에 암이 발병한 환자, 남성 유방암 환자와 같은 유방암의 고위험군 환자를 대상으로 *BRCA1*, *BRCA2* 유전자 돌연변이 검사를 시행함으로써 유방암의 유전적 소인을 밝혀낸다. 환자에게서 돌연변이가 발견되었다면 아직 유방암에 걸리지 않은 가족들을 대상으로 유전자 검사를 시행하여 돌연변이 보인자를 발견하고 이들을 대상으로 유방암 발병 위험을 감소시키기 위한 예방 및 조기 발견을 위한 집중적인 관리를 시도해야 한다. 또한 돌연변이를 갖지 않은 가족들에게는 암발생의 공포로부터 벗어나 정신적인 안정을 찾도록 도와줄 필요가 있다.

유방암의 병기와 조직학적 소견만으로 환자의 예후를 정확히 추정하는데 한계가 있다. 현재까지 예후 인자(prognostic factor)로 밝혀진 유전적 변이들을 살펴보면 c-erbB-2, cyclin D1, cyclin E, MYC 과발현과 p27, E-cadherin 발현 소실은 나쁜 예후와 관련 있고, bcl-2, bax, 에스트로겐 수용체 발현은 좋은 예후를 나타낸다.

특정 치료에 대한 감수성이나 저항성을 추정할 수 있는 예측 인자(predictive factor)로는 호르몬 치료에 대

한 감수성을 추정할 수 있는 에스트로겐 수용체 발현, 단클론 항체(Herceptin®)를 이용한 표적치료 대상 선별을 위한 c-erbB-2 유전자 증폭, 고용량 항암화학요법에 감수성이 있다고 밝혀진 p53 단백 발현 등이 있다 (19).

참 고 문 헌

1. Krishnamurthy S, Sneige N. Molecular and biologic markers of premalignant lesions of human breast. *Adv Anat pathol* 2002; 9:185-197
2. Lester SC. The breast. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, 7th ed. Robbins and Cotran Pathologic basis of disease. Philadelphia, Elsevier Saunders, 2005;1120-1154
3. Rosenthal TC, Puck SM. Screening for genetic risk of breast cancer. *Am Fam Physician* 1999;59:99-104
4. Narod SA, Foulkes WD. *BRCA1* and *BRCA2*: 1994 and beyond. *Nature Rev* 2004;4:665-676
5. Fraser JA, Reeves JR, Stanton PD, et al. A role for *BRCA1* in sporadic breast cancer. *Br J Cancer* 200;88:1263-1270
6. Catteau A, Morris JR. *BRCA1* methylation: a significant role in tumor development? *Semin cancer Biol* 2002;12:59-71
7. Lerebours F, Lidereau R. Molecular alterations in sporadic breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002;44:121-141
8. Fujii H, Szumel R, Marsh C, Zhou W, Gabrielson E. Genetic progression, histologic grade and allelic loss in ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer Res* 1996;56:5260-5265
9. Fujii H, Anbazhagan R, Brnman D, Garrett ES, Perlman E, Gabrielson E. Mucinous cancers have fewer genomic alterations than more common classes of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2002;76:255-260
10. Waldman FM, Hwang S, Etzell J, et al. Genomic alterations in tubular breast carcinomas. *Human Pathol* 2001;32:222-226
11. Anbazhagan R, Fujii H, Gabrielson E. Microsatellite instability is uncommon in breast cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:839-844
12. Wajed SA, Laird PW, DeMeester TR. DNA methylation: an alternative pathway to cancer. *Ann Surgery* 2001;234:10-20
13. Esteller M, Corn PG, Baylin SB, et al. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res* 2001;61:3225-3229
14. Bae YK, Brown A, Garrett E, et al. Hypermethylation in histologically distinct classes of breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:5998-6005
15. Steeg PS, Zhou Q. Cyclins and breast cancer. *Breast cancer Res Treat* 1998;52:17-28
16. Han S, Park K, Bae BN, et al. Prognostic implication of cyclin E expression and its relationship with cyclin D1 and p27kip1 expression on tissue microarrays of node negative breast cancer. *J Surg Oncol* 2003;83:241-247
17. Krajewski S, Krajewska M, Turner BC, et al. Prognostic significance of apoptosis regulators in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 1999;6:29-40
18. Kominsky SL, Argani P, Korz D, et al. Loss of the tight junction protein claudin-7 correlates with histological grade in both ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncogene* 2003;22:2021-2033
19. Kröger N, Milde-Langosch K, Riethdorf S, et al. Prognostic effects of immunohistochemical factors in high-risk primary breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2006;12:159-168