

BRCA1 변이 마우스 모델에서 유선 발달의 조직학적 소견과 유방암 발생 위험 평가

김혜림 · 문우경

서울대학교병원 영상의학과

목적: BRCA1 변이 마우스에서 유선 발달의 조직학적 소견과 유방암 발생 위험의 관련성을 평가하고자 한다.

대상 및 방법: 1개월령 (사춘기), 3개월령 (가임기), 8개월령 (폐경기) 각 5마리씩의 BRCA1 변이 마우스와 5마리씩의 변이가 없는 FVB/NJ 마우스를 사용하였고 각 단계에서 4번째 유선 조직 전체를 채취하였다. 또한 8개월령 BRCA1 변이 마우스 (15마리)에서 유방암 발생을 확인하여 암발생군 (11마리)과 비발생군 (4마리)으로 분류하고 정상 유선 조직을 채취하였다. 유선 조직에 대한 분석은 상피세포만을 카운트 염색한 후 영상 분석 프로그램을 이용하여, 소엽의 수, 상피 밀도와 유선 길이를 측정하였고 두 군간의 차이를 paired T-test 통계방법으로 평가했다.

결과: 1개월령 BRCA1 변이 마우스는 대조군에 비해 소엽의 수 (3.6 ± 0.7 vs. 0.8 ± 0.4 , $P=0.0068$), 상피 밀도 ($43.9 \pm 0.5\%$ vs. $27.8 \pm 3.5\%$, $P=0.0017$)와 유선 길이 (9.5 ± 0.6 mm vs. 7.0 ± 0.4 mm, $P=0.0102$) 모두 통계학적으로 유의한 증가를 보였다. 하지만, 3개월령과 8개월령 군에서는 차이가 없었다. BRCA1 변이 마우스의 유방암 발생군은 비발생군에 비해 소엽의 수 (59.2 ± 2.0 vs. 41.2 ± 2.1 , $P = 0.0002$)와 상피 밀도 ($68.6 \pm 2.4\%$ vs. $43.7 \pm 1.7\%$, $P<0.0001$)가 유의하게 높았고 유선 길이는 차이가 없었다 (21.8 ± 0.6 mm vs. 22.6 ± 0.6 mm, $P=0.3662$).

결론: BRCA1 변이 마우스는 사춘기 유선 발달이 일찍 진행되었으며 유선 조직의 소엽과 상피세포의 퇴화가 지체되는 것이 유방암 발생과 관련이 있었다. 이상의 결과는 BRCA1 등 유방암 감수성 유전자의 변이가 조기 유선 발달의 원인이 될 수 있음을 시사하며 유방암 발생 고위험과 관련된 유선의 조직 구성과 영상 소견을 이해하는데 도움이 될 것이다.

Index words: BRCA1; Transgenic mice; Mammary gland; Mouse models

서 론

생식선 BRCA1/2 유전자 변이는 전체 유방암 환자의

약 5~10% 정도를 차지하는 유전성 유방암의 가장 흔한 원인이다 (1). 특히 DNA 손상시 복구와 세포주기 조절에 관여하는 BRCA1 유전자의 변이는 유방암과 난소암 위험도를 높이며 70세까지 유방암 발생 누적 확률이 60~70%로, 암 위험도가 일반 여성에 비해 10배 높다 (1, 2). BRCA1 변이 연관 유방암은 조발성이며 양측성 유방암이 많고 고등급 침윤성 암으로 기저형 암이나 ER/PR/

통신저자: 문우경
(03080) 서울시 종로구 대학로 101, 서울대학교병원 영상의학과
Tel. (02) 2072-2584, Fax. (02) 743-6385
E-mail: moonwk@snu.ac.kr

HER2 음성인 삼중음성 유방암의 특징을 보인다. BRCA1 변이 연관 유방암은 종양 성장속도가 빠르고, 양성 종양처럼 분명한 경계를 보이며 치밀형 유방의 젊은 여성에 많아 유방암 진단에 대한 유방촬영 민감도가 낮고 위음성률이 높고 간격 암이 흔하다 (3). 그러므로 유전성 유방암의 의심되는 여성에 대해서는 위험 평가 및 유전자 검사를 통해 BRCA1 변이를 진단하고 유방촬영뿐 아니라 초음파나 MRI를 추가로 사용한 집중 검진을 하는 것이 필요하다 (3, 4).

1990년 BRCA1 유전자 변이와 유방암 발생 감수성의 연관성이 알려지면서 (5), 종양 형성에서 BRCA1의 기능을 연구하기 위해 null, hypomorphic, isoform, point 및 conditional 변이를 포함한 20 가지가 넘는 독특한 BRCA1 변이 마우스 모델이 만들어졌다 (6, 7). 이 중 네덜란드 Jos Jonkers 연구팀에서 개발한 BRCA1 변이 마우스는 조건부 마우스 모델로 상피조직에 특이적으로 유전자 형질전환을 일으키는 K14cre 시스템을 이용하여 BRCA1 유전자와 p53의 손실을 조직 특이적으로 유도하였으며 임신 출산 후 노령화 시기까지 70~80%에서 사람에서와 유사한 산발성 유방암 특히 삼중음성 암이 발생한다 (7). 변이 마우스를 사용한 분석은 BRCA1의 조직 특이적 종양 억제 기능에 대한 이해를 촉진 할뿐만 아니라 임상에 적용할 수 있는 정보를 산출할 수 있기에 유방암 치료와 예방과 관련된 많은 연구들이 진행되었다 (8-11). 또한 유선 발달 분석은 유방암의 발생 과정을 이해하는 데 중요하기에 BRCA1 변이 또는 변이가 없는 마우스에서 많은 유선 발달 관련 연구가 진행되었다 (12-14). 유선 발달 과정 중 보이는 세포의 분화, 증식, 이동, 침윤 현상 및 미세환경의 변화는 유방암의 발생 및 진행과정과 매우 유사하다 (12). 하지만 BRCA1 변이 마우스 모델에서 유선 발달의 조직학적 소견과 유방암 발생 위험의 관련성에 대한 연구는 드물다. 유방촬영에서 유방 밀도가 높은 치밀형 유방은 일반 여성에서 유방암에 대한 위험 요소로, 치밀형 유방은 지방형 유방에 비해 유방암의 위험도가 2~6배 높으며 (15), 조직검사상 지방 조직보다 상피세포 또는 종말관소엽단위와 기질이 많이 관찰된다 (16). 하지만 높은 유방 밀도가 BRCA1 돌연변이 보인자에 미치는 영향은 불분명하다.

본 연구의 목적은 BRCA1 변이 마우스에서 유선 발달의 조직학적 소견과 유방암 발생 위험의 관련성을 평가하는 것이다.

대상 및 방법

1. 실험 마우스

네덜란드 Jos Jonkers 연구팀으로부터 수입한 BRCA1 변이 마우스를 실험군으로, 미국 잭슨랩에서 구입한 FVB/NJ 마우스를 대조군으로 사용하였다. BRCA1 변이 마우스는 상피 조직에 유전자 형질전환을 일으키는 K14cre 시스템을 이용하여 BRCA1과 p53 유전자의 손실을 조직 특이적으로 유도하여 생산되었다. 대조군으로 FVB/NJ 마우스를 사용한 이유는 이 마우스를 기반으로 BRCA1과 p53 유전자의 손실을 유도하여 BRCA1 변이 마우스를 제작하였기 때문이다 (7).

사람의 사춘기, 가임기, 폐경기에 해당하는 1개월령, 3개월령, 8개월령 마우스를 군당 5마리씩 실험에 사용했다. 모든 개체는 출산 경험이 없는 암컷이었다. 또한 BRCA1 변이 마우스의 암 발생을 분석하기 위해 추가로 15마리에서 8개월령까지 육안과 유방 촉진을 통하여 종양 형성을 추적하였다.

2. 유선 조직 분석 방법

유선 조직 관찰은 마우스의 서혜 (inguinal)에 위치한 좌측 4번째 유선 조직을 사용했으며 유방암 발생 마우스에서는 종양 반대편 유선 조직을 사용하였다. 전신 마취 후에 유선 지방 패드 (mammary fat pad)와 유선 조직 전체를 적출하여 전체 마운트 (whole mounts) 슬라이드를 준비했다 (17). 유선 상피세포만을 특이적으로 볼 수 있도록 카민 알룸 염색용액 (Carmin Alum staining solution)을 이용해서 카민 염색을 시행했다 (Fig. 1).

광학 현미경 (Leica)에서 전체 유선 조직의 소엽의 수 (number of alveolar buds), 상피 밀도 (epithelial density)와 유선 길이 (mammary duct elongation)를 계산하였다 (17, 18). 소엽의 수는 저배율의 유방조직 고해상도 영상을 Image J 프로그램 (National Institutes of Health)의 가장자리 찾기 (find edges) 도구를 이용하여 말단 싹 (terminal end buds) 부분을 감지한 후 실험자가 육안으로 직접 세어 계산하였다. 상피 밀도는 전체 유선 중 상피 조직의 비율을 의미하며 유방 전체 조직 영상에서 SABIA (solution for automatic bio-image analysis) 프로그램 (EBIOGEN, Inc.)의 조직 분석 (tissue analysis) 기능을 이용하여 유선의 색과 유선 주변의 지방조직의 색을 선택 분할하는 방식으로 전체 유선과 상피 조직의 비

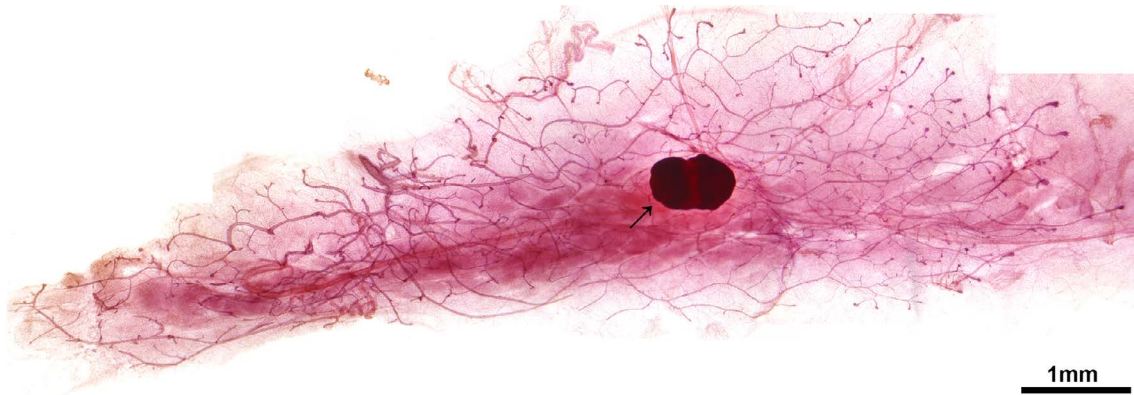


Fig. 1. Image of a normal mammary gland whole mounts stained with Carmine Alum. An arrow points to a lymph node.

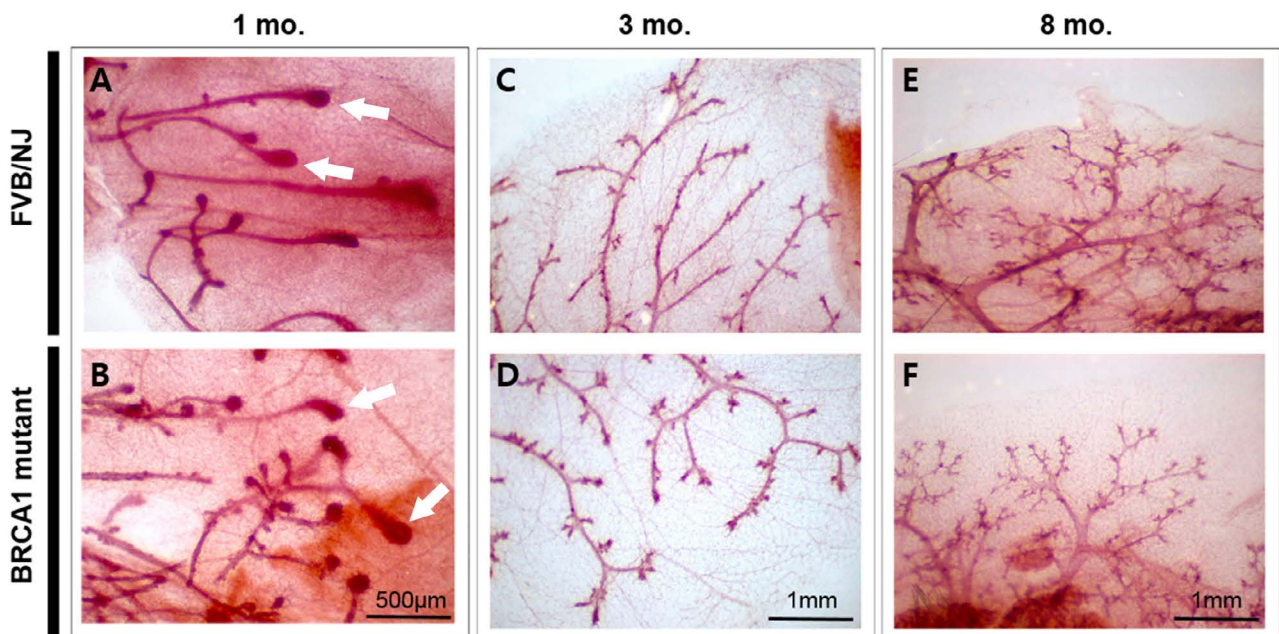


Fig. 2. Histologic images of mammary gland development between FVB/NJ (A, C, E) and BRCA1 mutant (B, D, F) mice. Arrows in A and B point to terminal end buds.

울을 구해 백분율 (%)로 표시하였다. 유선 길이는 유방 내 림프절로부터 유선 가장 자리까지의 길이를 측정하되 하나의 유방에서 뻗어나가는 유선의 길이가 모두 다르므로 림프절을 기준선으로 하여 수직이 되는 곳인 b와 수직각의 반이 되는 지점인 a와 c를 측정하여 a, b, c의 평균값 (mm)을 비교하였다.

3. 통계 방법

BRCA1 변이 마우스군과 FVB/NJ 마우스군 그리고 BRCA1 변이 마우스의 유방암 발생군과 비발생군의 소엽

의 수, 상피 밀도 및 유선 길이를 평균과 표준편차로 표시했고 각 군간의 차이는 GraphPad Prism 5.0 software (GraphPad Software, Inc.)의 paired T-test 통계방법으로 평가했다.

결 과

사춘기인 1개월령의 유선 발달 단계에서 BRCA1 변이 마우스는 대조군인 FVB/NJ 마우스와 비교해서 소엽의 수 (3.6 ± 0.7 vs. 0.8 ± 0.4 , $P=0.0068$)가 많았고, 상피 밀도 ($43.9 \pm 0.5\%$ vs. $27.8 \pm 3.5\%$, $P=0.0017$)는 높았고

유선 길이 (9.5 ± 0.6 mm vs. 7.0 ± 0.4 mm, $P=0.0102$) 가 길었으며 그 차이는 모두 통계학적으로 유의했다 (Fig. 2). 가임기인 3개월령의 유선 분석 결과에서는 두 군간에 소엽의 수 (44.2 ± 0.9 vs. 45.0 ± 1.9 , $P=0.7078$), 상피 밀도 ($56.4 \pm 1.2\%$ vs. $56.3 \pm 3.4\%$, $P=0.9833$), 유선 길이 (16.1 ± 0.4 mm vs. 16.1 ± 0.6 mm, $P=0.9578$) 모두 차이는 없었다. 폐경기인 8개월령의 유선 분석 결과에

서도 BRCA1 변이 마우스와 대조군 FVB/NJ 마우스간에 소엽의 수 (54.4 ± 6.5 vs. 51.7 ± 2.8 , $P=0.8148$), 상피 밀도 ($62.7 \pm 6.7\%$ vs. $63.4 \pm 1.2\%$, $P=0.8776$)와 유선 길이 (21.1 ± 0.4 mm vs. 21.9 ± 0.2 mm, $P=0.9733$)에 유의한 차이는 없었다 (Table 1).

8개월령까지 추적 관찰한 BRCA1 변이 마우스는 15마리 중 11마리 (73%)에서 유방암이 발견되었고 조직병리학

Table 1. Comparison of Mammary Development Parameters between FVB/NJ and BRCA1 Mutant Mice

Animal	Number of Alveolar Buds	Epithelial Density (%)	Mammary Duct Elongation (mm)
FVB/NJ, 1 month old (n=5)	0.8 ± 0.4	27.8 ± 3.5	7.0 ± 0.4
BRCA1 mutant, 1 month old (n=5)	3.6 ± 0.7	43.9 ± 0.5	9.5 ± 0.6
P-value	0.0068	0.0017	0.0102
FVB/NJ, 3 month old (n=5)	45.0 ± 1.9	56.3 ± 3.4	16.1 ± 0.6
BRCA1 mutant, 3 month old (n=5)	44.2 ± 0.9	56.4 ± 1.2	16.1 ± 0.4
P-value	0.7078	0.9833	0.9578
FVB/NJ, 8 month old (n=5)	51.7 ± 2.8	63.4 ± 1.2	21.9 ± 0.2
BRCA1 mutant, 8 month old (n=5)	54.4 ± 6.5	62.7 ± 6.7	21.1 ± 0.4
P-value	0.8148	0.8776	0.9733

Values are means $\pm$ SD

Table 2. Comparison of Mammary Development Parameters between Tumor-free and Tumor-bearing BRCA1 Mutant Mice

Animal	Number of Alveolar Buds	Epithelial Density (%)	Mammary Duct Elongation (mm)
BRCA1 mutant, tumor-free, 8 month old (n=4)	41.2 ± 2.1	43.7 ± 1.7	22.6 ± 0.6
BRCA1 mutant, tumor-bearing, 8 month old (n=11)	59.2 ± 2.0	68.6 ± 2.4	21.8 ± 0.6
P-value	0.0002	< 0.0001	0.3662

Values are means $\pm$ SD

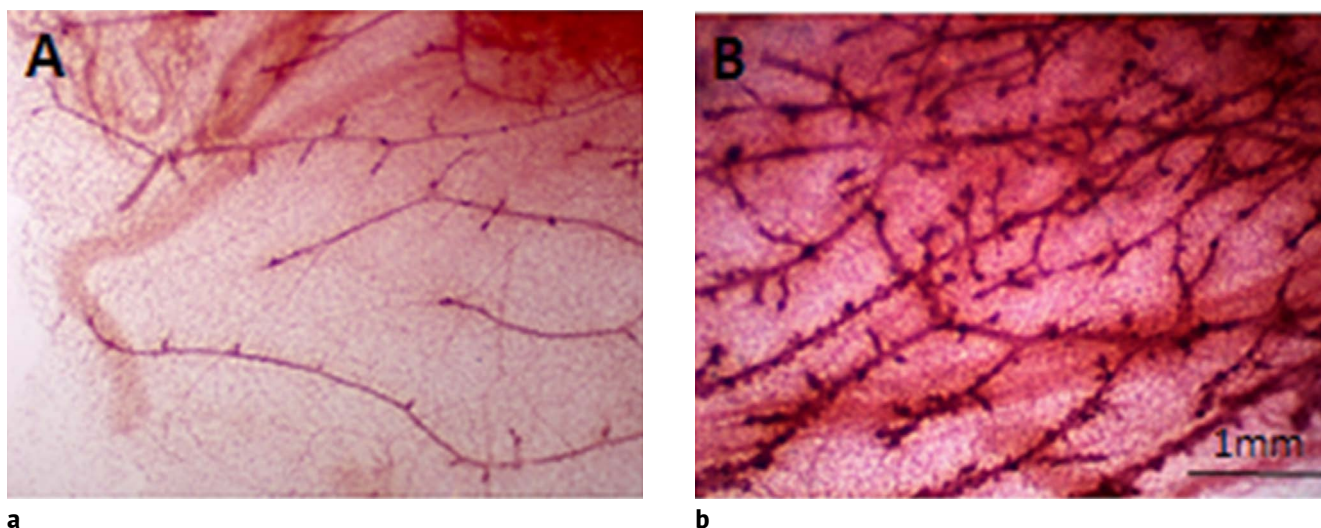


Fig. 3. Histologic images of mammary gland in 8-month-old, tumor-free (a) and tumor-bearing (b) BRCA mutant mice.

적 고등급이며 ER/PR/HER2 음성인 삼중음성 유방암의 특징을 보였다. BRCA1 변이 마우스 중 유방암 발생군 11마리와 비발생군 4마리의 유선 조직의 특징을 분석하였을 때 유방암 발생군은 비발생군에 비해 소엽의 수 (59.2 ± 2.0 vs. 41.2 ± 2.1 , $P=0.0002$)와 상피 밀도 ($68.6 \pm 2.4\%$ vs. $43.7 \pm 1.7\%$, $P<0.0001$)가 유의하게 높았다 (Table 2) (Fig. 3). 유선 길이의 차이는 없었다 (21.8 ± 0.6 mm vs. 22.6 ± 0.6 mm, $P=0.3662$).

고 찰

본 연구에서는 유방암 발생 감수성을 가지고 있는 BRCA1 유전자 변이 마우스에서 유선 발달과 유방암 발생 관련성을 대조군 마우스와 비교 평가하기 위해 유선 발달의 단계별로 유선을 적출한 후 영상 분석 프로그램으로 조직학적 유선 발달 지표들을 정량화 하였다. 그 결과 BRCA1 변이 마우스는 변이가 없는 마우스에 비해 성 성숙기인 1개월령에 소엽의 수, 상피 밀도 및 유선 길이 증가 등 조기 유선 발달이 관찰되었다. 또한 BRCA1 변이 마우스에서는 폐경, 노화기인 8개월령에서 소엽의 수와 상피 밀도가 높을수록 유방암 발생이 높았다.

사춘기의 조기 유선 발달과 폐경기의 유선 퇴화 과정의 지체가 유방암 위험과 관련이 있다는 본 연구의 결과는 기존의 인구 기반의 역학적 연구, 유방촬영에서 유방 밀도 연구나 유방 조직구성에 관한 생물학적 연구 결과들과 일치한다 (19, 20). 여성 유방암의 위험 요인으로 알려진 것들은 이른 초경, 늦은 폐경, 임신력, 폐경 후 여성의 비만, 호르몬제 복용, 유방암 가족력과 BRCA1/2 유전자 돌연변이, 유년기의 흉부방사선 치료력 등이며 이러한 인자들은 서로 영향을 주고 받으며 한 여성의 유방암 발생을 결정한다 (19). 유방암 위험을 높이는 이른 초경과 조기 유선 발달은 현대 여성의 특징으로 그 원인은 잘 알려져 있지 않았지만 환경적 요인 특히 태어나 신생아기에 호르몬 교란 물질이나 화학 물질에 노출 되는 것을 그 기전으로 의심하고 있다 (21). 하지만, 본 연구의 결과는 BRCA1 등 유방암 감수성 유전자의 변이가 조기 유선 발달의 원인이 될 수 있음을 시사하므로 향후 유전자-환경 상호작용 등에 대한 추가적인 연구가 필요하다 (22).

높은 유방 밀도가 BRCA1 돌연변이 보인자에 미치는 영향은 불분명하지만 유방내 섬유유선 조직의 퇴화와 지방화는 유방촬영에서의 유방 밀도에 영향을 미치며, 유선 특히 소엽 퇴화의 지연은 유방암 위험도와 연관성이 있는 것으로 알려져 있다 (23). 본 연구에서도 BRCA1 변이 마

우스 중 유방암 발생군에서 유선의 퇴화 지연 소견인 높은 소엽의 수와 상피 밀도가 유방암 발생과 관련이 있었다. Mitchell 등은 유방촬영에서 측정 한 높은 유방 밀도가 BRCA1 변이 보인자에 미치는 영향을 연령, 출산력, 체질량 지수, 폐경기 상태 및 호르몬 대체 요법 사용에 대해 조정한 후 분석한 결과, 보인자와 비보인자의 평균 퍼센트 밀도에는 차이가 없었지만 BRCA1 변이 보인자 중 유방 밀도 증가는 유방암 위험 증가와 관련이 있었다 (OR, 2.29; 95% 신뢰구간, 1.23~4.26; $P=0.009$) (24). 또한 Huo 등은 BRCA1 변이 여성의 유방촬영에서 유방 밀도는 일반 여성과 다르지 않지만 컴퓨터로 추출한 실질 유형에는 차이가 있다고 보고 했다 (25).

유방촬영의 유방 밀도는 지방과 잔류 섬유유선 조직의 양을 잘 반영하지만 섬유 조직과 유선 조직을 분리할 수 없는 문제점이 있다 (26, 27). 하지만 유방 초음파에서 섬유 조직은 고에코로, 유선 조직은 등에코로 보여 섬유 조직과 유선 조직을 구별할 수 있다 (28). 유방 배경에코는 폐경 상태와 유방 호르몬 변화에 영향을 받는다 (29). 이에 저자 등은 초음파에서 섬유유선 층의 에코 수준과 정도에 따라 배경에코를 4단계로 나눌 것으로 제안하였고 대규모 검진군의 장기 추적 연구 결과, 배경에코 유형과 미래의 유방암 발생 위험간에 상관관계가 있음을 찾았다 (30, 31). 이상의 결과는 치밀형 유방의 일반 여성이나 BRCA1 변이 보인자 등 고위험군 여성에서 초음파 배경에코가 추가 검진이 필요한 대상을 선별하는데 도움을 줄 수 있음을 시사한다 (32, 33). 최근, Arasu 등은 MRI 배경실질증강이 유방 밀도와 독립적인 유방암 위험인자임을 보고하였다 (34). MRI 배경실질증강과 초음파 배경에코 정도는 상관관계가 있어서 심한 배경실질증강을 보이는 유선은 초음파에서 등에코 유선 조직이 많아 이질적인 배경에코를 보이는 경향이 있다 (35-37).

결론적으로 BRCA1 변이 마우스는 사춘기 유선 발달이 일찍 진행되었으며 유선 조직의 소엽과 상피세포의 퇴화가 지체되는 것이 유방암 발생과 관련이 있었다. 이상의 결과는 BRCA1 등 유방암 감수성 유전자의 변이가 조기 유선 발달의 원인이 될 수 있음을 시사하며 유방암 발생 고위험과 관련된 유선의 조직 구성과 영상 소견을 이해하는데 도움이 될 것이다.

참 고 문 헌

1. Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR, et al. Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer

- for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JAMA* 2017;317(23):2402-2416
2. Mavaddat N, Peock S, Frost D, et al. Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. *J Natl Cancer Inst* 2013;105(11):812-822
3. 문우경. 제20장 BRCA 연관 유전성 유방암. 유방초음파 진단학 서울: 일조각, 2019;376-389
4. US Preventive Services Task Force, Owens DK, Davidson KW, et al. Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for BRCA-Related Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA* 2019;322(7):652-665
5. Hall JM, Lee MK, Newman B, et al. "Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21". *Science* 1990;250(4988):1684-1689
6. Drost RM, Jonkers J. Preclinical mouse models for BRCA1-associated breast cancer. *Br J Cancer* 2009;101(10):1651-1657
7. Liu X, Holstege H, van der Gulden H, et al. Somatic loss of BRCA1 and p53 in mice induces mammary tumors with features of human BRCA1-mutated breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(29):12111-12116
8. Evers B, Jonkers J. Mouse models of BRCA1 and BRCA2 deficiency: past lessons, current understanding and future prospects. *Oncogene* 2006;25(43):5885-5897
9. Michalak EM, Jonkers J. Studying therapy response and resistance in mouse models for BRCA1-deficient breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2011;16(1):41-50
10. Dine J, Deng CX. Mouse models of BRCA1 and their application to breast cancer research. *Cancer Metastasis Rev* 2013;32(1-2):25-37
11. van de Ven M, Liu X, van der Burg E, et al. BRCA1-associated mammary tumorigenesis is dependent on estrogen rather than progesterone signaling. *J Pathol* 2018;246(1):41-53
12. Wiseman BS, Werb Z. Stromal effects on mammary gland development and breast cancer. *Science* 2002;296(5570):1046-1049
13. Macias H, Hinck L. Mammary gland development. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 2012;1(4):533-557
14. McNally S, Stein T. Overview of Mammary Gland Development: A Comparison of Mouse and Human. *Methods Mol Biol* 2017;1501:1-17
15. Boyd NF, Guo H, Martin LJ, et al. Mammographic density and the risk and detection of breast cancer. *N Engl J Med* 2007;356(3):227-236
16. Ghosh K, Brandt KR, Reynolds C, et al. Tissue composition of mammographically dense and non-dense breast tissue. *Breast Cancer Res Treat* 2012;131(1):267-275
17. Tolg C, Cowman M, Turley EA. Mouse Mammary Gland Whole Mount Preparation and Analysis. *Bio-protocol* 2018;8(13):e2915
18. Blacher S, Gérard C, Gallez A, Foidart JM, Noël A, Péqueux C. Quantitative Assessment of Mouse Mammary Gland Morphology Using Automated Digital Image Processing and TEB Detection. *Endocrinology* 2016;157(4):1709-1716
19. Pike MC, Krailo MD, Henderson BE, Casagrande JT, Hoel DG. 'Hormonal' risk factors, 'breast tissue age' and the age-incidence of breast cancer. *Nature* 1983;303(5920):767-770
20. Vachon CM, van Gils CH, Sellers TA, et al. Mammographic density, breast cancer risk and risk prediction. *Breast Cancer Res* 2007;9:217
21. Terry MB, Michels KB, Brody JG, et al. Environmental exposures during windows of susceptibility for breast cancer: a framework for prevention research. *Breast Cancer Res* 2019;21(1):96
22. Hamilton AS, Mack TM. Puberty and genetic susceptibility to breast cancer in a case-control study in twins. *N Engl J Med* 2003;348(23):2313-2322
23. Ghosh K, Hartmann LC, Reynolds C, et al. Association between mammographic density and age-related lobular involution of the breast. *J Clin Oncol* 2010;28:2207-2212
24. Mitchell G, Antoniou AC, Warren R, et al. Mammographic density and breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Cancer Res* 2006;66:1866-1872
25. Huo Z, Giger ML, Olopade OI, et al. Computerized analysis of digitized mammograms of BRCA1 and BRCA2 gene mutation carriers. *Radiology* 2002;225(2):519-526
26. Colin C, Schott AM, Valette PJ. Mammographic density is not a worthwhile examination to distinguish high cancer risk women in screening. *Eur Radiol* 2014;24(10):2412-2416

27. Kuhl CK. Predict, Then Act: Moving Toward Tailored Prevention. *J Clin Oncol* 2019;37(12):943-945
28. Izumori A, Horii R, Akiyama F, Iwase T. Proposal of a novel method for observing the breast by high-resolution ultrasound imaging: understanding the normal breast structure and its application in an observational method for detecting deviations. *Breast Cancer* 2013;20(1):83-91
29. Kim WH, Lee SH, Chang JM, Cho N, Moon WK. Background echotexture classification in breast ultrasound: inter-observer agreement study. *Acta Radiol* 2017;58(12):1427-1433
30. 김원화, 문우경. 유방초음파에서 배경에코. 대한유방검진학회지 2014;11(1):7-11
31. Lee SH, Yi A, Ha SM, et al. Association between Background Echotexture at Screening Ultrasound and Future Primary Breast Cancer Risk. *Society of Breast Imaging* 2020 (abstract accepted)
32. Kerlikowske K, Sprague BL, Tosteson ANA, et al. Strategies to Identify Women at High Risk of Advanced Breast Cancer During Routine Screening for Discussion of Supplemental Imaging. *JAMA Intern Med* 2019 Jul 1.
33. Kerlikowske K, Zhu W, Tosteson AN, et al. Identifying women with dense breasts at high risk for interval cancer: a cohort study. *Ann Intern Med* 2015;162(10):673-681
34. Arasu VA, Miglioretti DL, Sprague BL, et al. Population-Based Assessment of the Association Between Magnetic Resonance Imaging Background Parenchymal Enhancement and Future Primary Breast Cancer Risk. *J Clin Oncol* 2019;37(12):954-963
35. Ko KH, Jung HK, Kim I. Analysis of background parenchymal echogenicity on breast ultrasound: Correlation with mammographic breast density and background parenchymal enhancement on magnetic resonance imaging. *Medicine (Baltimore)* 2017;96(33):e7850
36. Ko ES, Lee BH, Choi HY, Kim RB, Noh WC. Background enhancement in breast MR: correlation with breast density in mammography and background echotexture in ultrasound. *Eur J Radiol* 2011;80(3):719-723
37. Kawamura A, Satake H, Ishigaki S, et al. Prediction of background parenchymal enhancement on breast MRI using mammography, ultrasonography, and diffusion-weighted imaging. *Nagoya J Med Sci* 2015;77(3):425-437

Histological Findings of Mammary Gland Development and Risk of Breast Cancer in BRCA1 Mutant Mouse Models

Hyelim Kim, B.S., Woo Kyung Moon, M.D., Ph.D

Department of Radiology, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea

Purpose: The purpose of this study is to evaluate the relationship between histological findings of mammary gland development and risk of breast cancer in BRCA1 mutant mice.

Materials and Methods: Five BRCA1 mutant mice and five non-mutant FVB/NJ mice were used for each of the 1-month-old (pubertal), 3-month-old (fertile) and 8-month-old (menopausal) group and the entire fourth mammary tissue was taken at each step. In addition, breast cancer development was assessed in 8 months old BRCA1 mutant mice (15 mice), and classified into tumor-bearing groups (11 mice) and tumor-free groups (4 mice) and normal mammary tissues were collected. In the analysis of mammary gland tissues, only epithelial cells were carmine-stained, and the number of alveolar buds, epithelial density, and mammary duct elongation were measured using image analysis programs. The difference between the two groups was assessed by the paired T-test statistical method.

Results: One-month-old BRCA1 mutant mice compared with controls showed a higher number of alveolar buds (3.6 ± 0.7 vs. 0.8 ± 0.4 , $P=0.0068$), epithelial density ($43.9 \pm 0.5\%$ vs. $27.8 \pm 3.5\%$, $P=0.0017$) and mammary duct elongation (9.5 ± 0.6 mm vs. 7.0 ± 0.4 mm, $P=0.0102$). However, there was no difference in the 3 months and 8 months old group. In BRCA1 mutant mice, the tumor-bearing group was significantly higher in the number of alveolar buds (59.2 ± 2.0 vs. 41.2 ± 2.1 , $P=0.0002$) and epithelial density ($68.6 \pm 2.4\%$ vs. $43.7 \pm 1.7\%$, $P<0.0001$) compared to the tumor-free group. The mammary duct elongation was not different (21.8 ± 0.6 mm vs. 22.6 ± 0.6 mm, $P=0.3662$).

Conclusion: BRCA1 mutant mice had early pubertal mammary gland development and delayed involution of the lobule and epithelial cells of the mammary tissue was associated with breast cancer. The above results suggest that mutations in breast cancer predisposition genes such as BRCA1 may be a cause of premature mammary gland development and will help to understand the imaging findings and tissue composition of mammary gland associated with high risk of breast cancer.

Index words: BRCA1; Transgenic mice; Mammary gland; Mouse models

Corresponding author: Woo Kyung Moon, M.D., Ph.D.