

결직장암 환자에서 DNA ploidy와 증식능이 예후에 미치는 영향

동아대학교 의과대학 외과학교실 및 임상병리학 교실*

최홍조 · 이상형 · 김영훈 · 조세현
정갑중 · 김상순 · 김정만*

= Abstract =

Prognostic Significance of DNA Ploidy and Proliferative Activity in Patients with Colorectal Carcinoma

Hong Jo Choi, M.D., Sang Hyung Lee, M.D., Young Hoon Kim, M.D., Se Heon Cho, M.D.
Ghap Joong Jung, M.D., Sang Soon Kim, M.D. and Jung Man Kim, M.D.*

*Departments of Surgery and *Clinical Pathology, Dong-A University College of Medicine*

DNA content and cell proliferation measured by DNA flow cytometry are considered to correlate with several clinicopathologic characteristics in colorectal carcinoma, and shown to be strong adverse prognostic indicators in relation to recurrence and survival. In this study of colorectal carcinomas authors have investigated the prognostic importance of DNA ploidy and cell proliferation in relation to clinicopathologic features. Paraffin-embedded surgical specimens from 61 patients who underwent resection for primary untreated colorectal carcinoma were examined for DNA ploidy, S-phase fraction, G₂/M phase fraction and proliferation index(PI) by DNA flow cytometry. Thirty-four among 61 cases(55.7%) gave an aneuploid histogram and tumors with aneuploid population in general showed a significantly higher proliferative activity in terms of SPF and PI than those where diploid population was discerned($P < 0.001$ & 0.001 , respectively). The frequency of DNA aneuploidy became higher as the Dukes' stage increased($P = 0.023$), but there were no significant differences in the degree of SPF and PI in terms of histologic differentiation, Dukes' stage and anatomic location of the tumor. The rate of disease recurrence after curative resection(53 cases) was higher in patients with high PI($PI \geq 50$) as compared with those with low PI($PI < 50$)(50.0%: 9.1%, $P = 0.001$).

In patients with aneuploidy, prognosis(2-year survival) was significantly poorer than in those with diploidy(22.1% vs. 89.0%, $P < 0.01$). In addition, the proliferative activity showed significant correlation with survival, where high PI($PI \geq 50$) was proved to be an adverse prognostic indicator(35.3% vs. 74.3%, $P < 0.05$).

As the result of this study, flow cytometric analysis of DNA content may supplant tumor grading as the best guide to biologic aggressiveness of colorectal carcinoma and provide more accurate assessments of prognosis when combined with clinical staging.

Key Words: Colorectal carcinoma, Flow cytometry, Prognosis

서 론

결직장암은 우리나라에서 남녀 모두 4번째의 빈도를 차지하는 악성 종양으로서 최근에 발생율이 증가하는 추세에 있으며 사망의 주요한 원인 중 하나이다¹⁾. 미국에서는 1994년 149,000명의 새로운 결직장암이 진단되며 약 56,000명이 이 질환으로 사망할 것으로 예상된다고 한다¹⁵⁾. 전체적인 5년 생존율은 연령, 성별, 그리고 종양의 위치에 따라 19~62.3%로 보고되고 있다³⁰⁾.

현재 결직장암 환자에서 예후를 예측하고 보조요법의 선택에 도움이 되기 위한 여러 임상 및 병리학적 요소가 이용되고 있다. 이중 대표적인 것으로서 본질적으로는 50년 이상 변화되지 않고 적용되고 있는 Dukes씨 병기분류법²⁰⁾과 조직학적 분화도¹⁶⁾가 보편적으로 이용되고 있으며, Dukes씨 병기 분류법은 예후 분석에 대한 정확도를 향상시키기 위하여 그동안 종양의 침투정도와 임파절 전이의 위치 및 수에 대하여 개선과 수정이 가하여져 왔다^{10, 21, 28)}. 이 이외에도 다른 분류방법이 이용되고 있으나^{12, 19)}, 현재로서는 Dukes씨 분류법이 가장 널리 이용되고 있다.

비록 Dukes씨 분류법으로써 예후를 비교적 정확하게 예측할 수는 있으나 개개 종양 세포의 생물학적 특성은 반영되지 않는 문제점이 있어서, Dukes' C 환자의 약 1/3에서는 장기 생존이 관찰되는 반면 Dukes' B 환자의 약 1/3에서는 이 종양으로 사망한다고 한다²⁰⁾. 이러한 원인 인자로서 병리학적 평가에서 주관적 성향이 관독시에 개입될 수 있는 점들이 거론될 수 있으며 따라서 궁극적으로는 결직장암의 임상 및 병리학적 분류에서 보다 객관적인 척도가 요구된다고 하겠다.

유세포 측정법(flow cytometry)을 이용하여 검사한 종양세포의 배수성(ploidy)과 증식능(proliferative activity) 상태는 결직장암 환자에서 중요한 예후 척도로 작용하여 DNA aneuploidy의 존재는 불량한 예후를 암시하는 강력한 지표가 된다고 하며^{7, 10, 29, 40)}, 술전 조직 생검으로써 관찰된 배수성 상태는 종양의 분화도 평가보다 종양의 상태를 예측하는데 도움이 된다고 한다³⁹⁾.

만일 이러한 결과들이 타당성이 있다면 유세포 측정

법을 통한 DNA 함량분석으로써 결직장암의 생물학적 특성이 정확히 파악될 수 있으며 술전, 술후에 보다 정확한 예후 평가가 가능할 것이다. 그러나 이전의 여러 보고들^{28, 31, 33, 34, 38)}에서는 결직장암에서 관찰되는 DNA 함량의 심한 이질성 또는 세포증식 정도는 고려되어 있지 않으며, 생존율과 DNA 함량과의 관계도 관찰되어 있지 않다.

이에 저자들은 61예의 결직장암 환자를 대상으로 유세포 측정법을 이용하여 DNA 배수성 검사와 세포증식능을 파악하기 위한 S-phase fraction(이하 SPF)과 G₂/M phase fraction 검사를 시행하여 이들이 환자의 예후를 예측할 수 있는지를 후향적으로 분석하였다.

연구 대상 및 방법

1) 연구대상

1990년에서 1993년 사이 술전 조직 생검으로 확진되어 동아대학교 병원 일반외과에서 수술을 받은 61예의 결직장암 환자를 대상으로 하였으며, 여기에는 타 부위에 악성 종양이 동반된 환자, 술전 화학요법 또는 방사선 요법을 받은 환자, 그리고 술후 결직장암 이외의 원인으로 사망한 환자는 제외시켰다.

2) 유세포 측정

유세포 측정을 위한 조직은 paraffin 포매 조직을 사용하였다. 연구대상으로 선택한 paraffin 포매 조직을 50 μm 두께로 잘라 이를 시험관에 넣고, 5 ml의 Xylene(Histo-clear, National Diagnostics, Somerville, NJ, USA)을 넣어 40분간에 걸쳐 paraffin 제거를 2회 반복한 후, 상온에서 100%, 95%, 70%, 50% ethanol(Pharmco, Pharmco product, Inc., Dayton, NJ, USA) 및 증류수로써 순서대로 10분씩 처리시켜 재수화(rehydration) 시켰다.

다음에 2 ml의 0.5% pepsin(Sigma, USA)으로 37°C에서 30분간 처리하여 세포질과 결합조직을 파괴시켜 핵산을 추출한 후 41 μm nylon mesh로 여과시켜 1500rpm으로 10분간 원심 분리한 후 상층액을 버렸다. 여기에 trypsin을 포함하고 있는 cycle TEST DNA Reagent Kit Solution A(Becton & Dickinson, San Jose, CA, USA)로 상온에서 10분

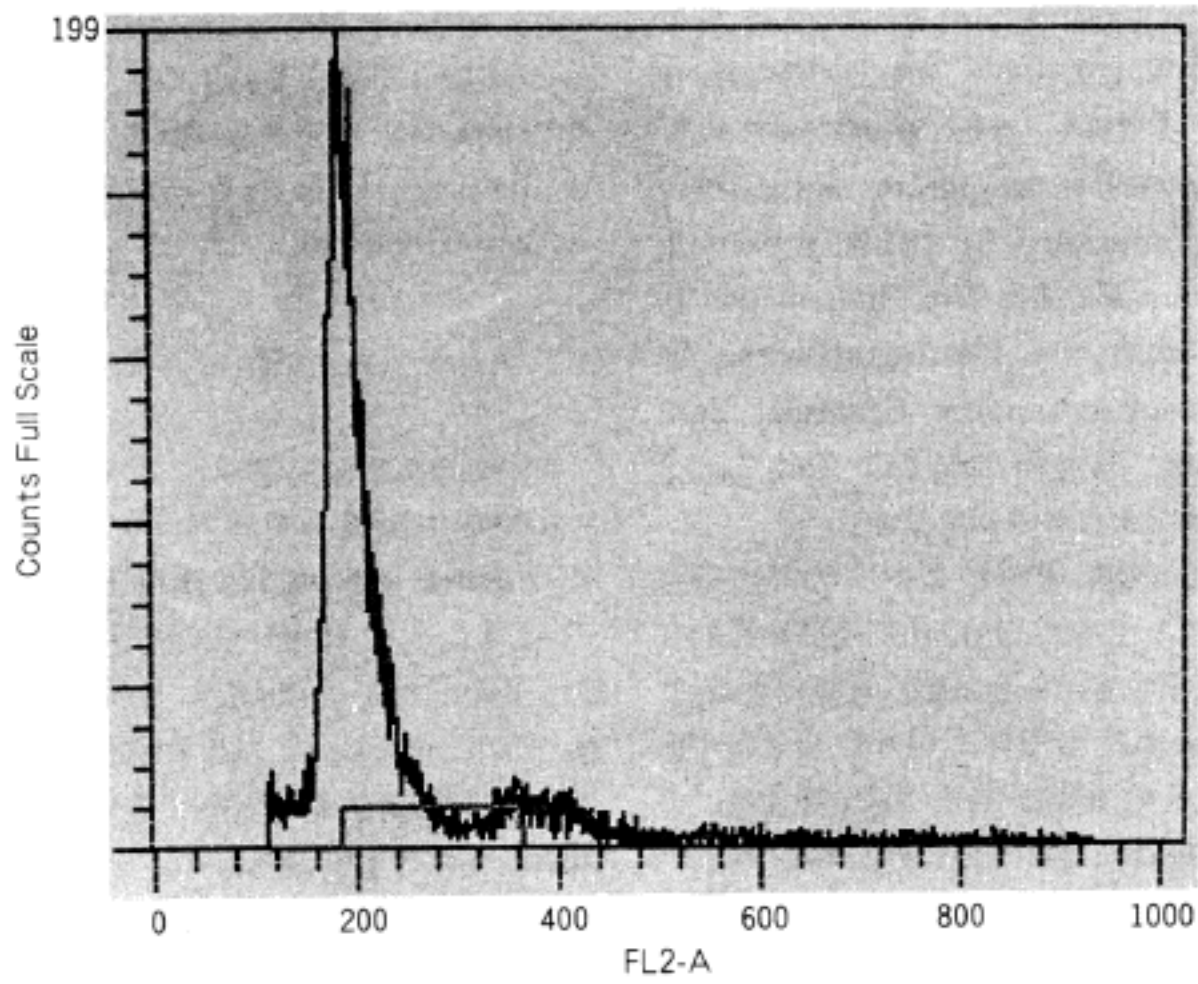


Fig. 1. DNA histogram showing DNA diploid.
Y axis: number of nuclei,
X axis: DNA content (fluorescence intensity)

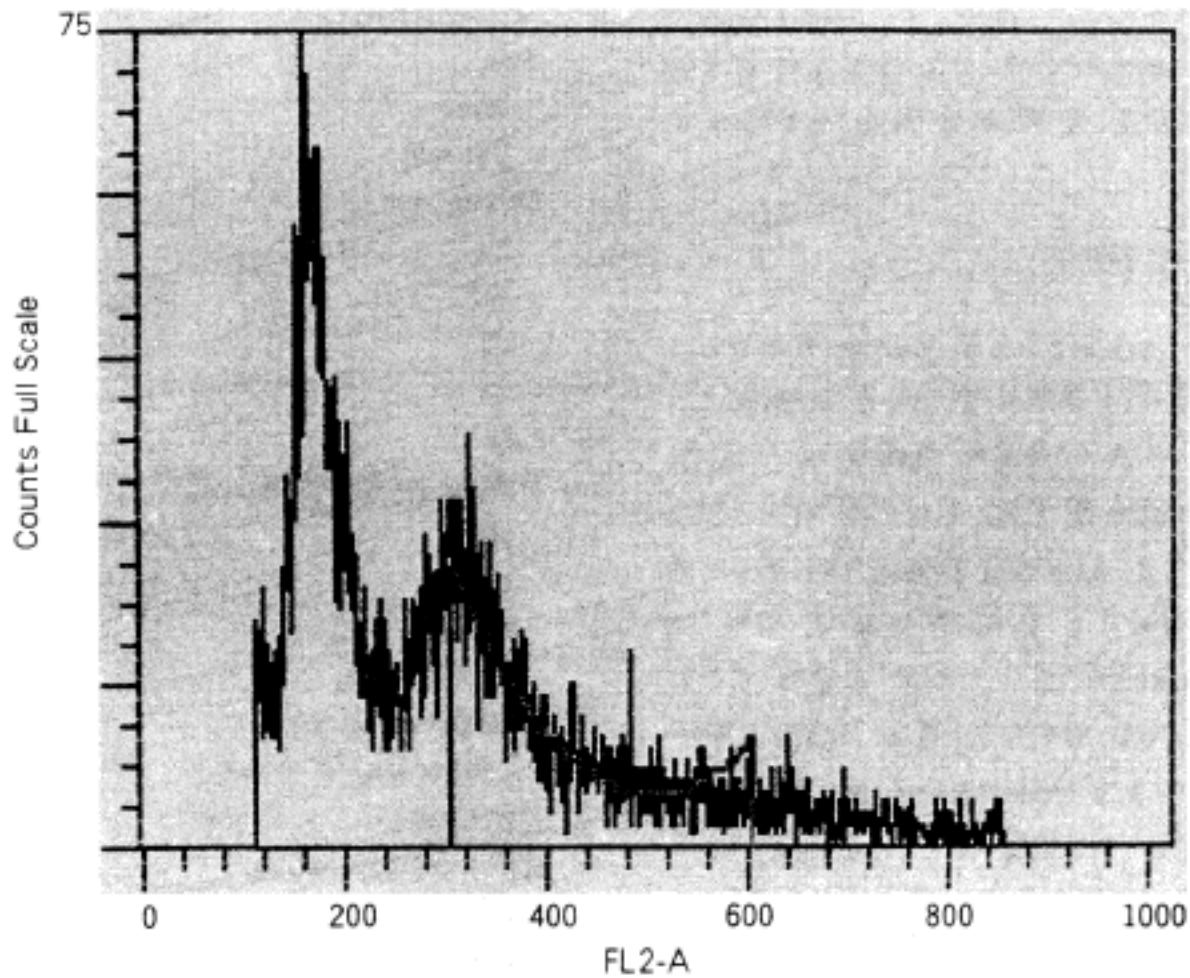


Fig. 2. DNA histogram showing DNA aneuploid.

간 반응시킨 후 trypsin inhibitor와 RNase를 함유한 Solution B로 역시 상온에서 10분간 반응시켜 염색액이 RNA와 결합하는 것을 방지하였다. 이후 nylon mesh로 여과하여 propidium iodide 형광 염색액을 함유한 Solution C를 가한후 분석때까지 빛을 차단한 상태에서 4°C에서 보관하였다. 이렇게 준비한 sample을 3시간 안에 FACScan(Becton & Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA, USA)을 사용하여 Cell FIT Cell-Cycle Analysis version 2.01.2로 분석하였다.

DNA histogram상의 배수체 결정은 형태상 단일의 G₀/G₁ peak를 보일때를 diploid로 분류하였으며 (Fig. 1), 두개 이상의 G₀/G₁ peak가 관찰되며 그에 해당하는 G₂/M peak가 증명되고 이러한 비정상적인 G₀/G₁ peak의 비율이 집합된 전체 세포수의 10% 이상인 예를 aneuploid로 정의하였다(Fig. 2).

G₀/G₁ peak가 diploid G₀/G₁ peak보다 histogram상 좌측에 위치할 때를 hypoploid, 3개이상의 G₀/G₁ peak가 나타날때를 multiploid로 하여 이들은 모두 aneuploid의 범주에 포함시켰다. Proliferative index(이하 PI)는 세포주기에서 SPF와 G₂/M phase fraction을 합한 비율로 계산되어 졌는데, 이는 DNA histogram의 변화 계수(coefficients of variation)가 sample간에 서로 상이할때 이들을 합한 값이 세포 분포를 예측하는데 보다 정확하기 때문이다.

3) 통계 처리 및 분석

통계학적 분석은 SAS/STAT 6.08을 이용하였으며 95%의 유의수준에서 통계학적 검증을 하였다.

유세포 측정상 DNA 배수체의 형태에 따른 SPF, G₂/M phase fraction 및 PI값의 차이를 비교하였으며, 통계학적 유의성은 student t-test로써 검정하였고, 여러 임상 및 병리학적 인자, 즉 연령 및 성별, 조직학적 분화도, Dukes씨 병기 그리고 종양의 해부학적 위치에 따른 DNA 배수성의 분포, 그리고 SPF 및 PI값은 빈도분석으로 chi-square test를 이용하여 통계학적 유의성을 검정하였다.

재발율은 PI값을 이용하여 50 이상인 고 PI군과 50미만인 저 PI군으로 분류하여 빈도분석을 하였으며, chi-square test로서 그 유의성을 검정하였다.

2년 생존율은 생명표(life table)를 이용하여 근처적 절제술이 시행되어졌던 예를 대상으로 SPF로 PI의 고저에 따른 생존율의 차이를 actuarial method로 산출하였으며, 통계학적 유의성은 logrank test를 이용하여 검정하였다.

결 과

환자의 연령분포는 24에서 77세로 평균 55.4세이었으며 남자가 32예 그리고 여자가 29예이었다. Dukes씨 분류법에 의한 병기는 B₁이 3예, B₂ 21예, C₁ 4예, 그리고 C₂가 25예이었으며 원격전이가 관찰되었던 D는 8예이었다. 종양세포의 분화도는 고분화형이 42예 그리고 중등도 및 미분화형이 포함된 저분화형이 19예이었다. 종양의 해부학적 발생부위는 간 만곡부를 포함한 우측결장이 10예, 비장 만곡부를 포함한 횡행결장이 3예, 좌측결장이 11예 그리고 직장·S상 결장 접합부를 포함한 직장이 37예이었다. 종양의 육안적 형태는 용기형이 18예, 궤양성 침윤형이 39예 그리고

Table 1. Patient profile

Age(mean)(yr)	24~77(55.4)
Sex	
Male	32
Female	29
Dukes' stage	
B1	3
B2	21
C1	4
C2	25
D	8
Histologic differentiation	
High	42
Low	19
Anatomic location	
Right colon	10
Transverse colon	3
Left colon	11
Rectum	37
Gross configuration	
Fungating	18
Ulceroinfiltrative	39
Ulcerative	4

배양형이 4예이었다(Table 1).

유세포 측정상 diploidy가 27예(44.3%) 그리고 aneuploidy는 34예(55.7%)에서 관찰되었으며 전체 환자에서의 SPF, G₂/M phase fraction 그리고 PI 값의 평균치는 각각 40.3±17.7, 5.7±4.5 그리고 45.3±18.2이었다. 배수성의 형태에 따른 SPF는 diploid에서 29.1±13.8, aneuploid에서 49.2±15.3(*P*<0.001), 그리고 PI값은 diploid에서 34.0±14.1, aneuploid에서 54.3±16.1(*P*<0.001)로서 배수성 형태에 따른 SPF와 PI값은 통계학적으로 유의성이 관찰되었으나, G₂/M phase fraction은 diploid에서

Table 2. The mean(±SD) values of SPF, G₂/M phase fraction and PI in DNA ploidy pattern.

Ploidy	No.(%)	SPF*	G ₂ /M ⁺	PI [†]
Diploidy	27(44.3)	29.1±13.8	5.2±4.1	34.0±14.1
Aneuploidy	34(55.7)	49.2±15.3	6.1±4.8	54.3±16.1
Total	61(100.0)	40.3±17.7	5.7±4.5	45.3±18.2

SPF = S-Phase fraction

PI = Proliferative index

**P*<0.001

†*P*=0.451

‡*P*<0.001

Table 3. Correlation between DNA ploidy pattern and clinicopathologic parameters

Parameters	DNA Ploidy		<i>P</i> value
	Diploid	Aneuploid	
Age(yr)			0.585
<50	7	11	
≥50	20	23	
Sex			0.839
Male	15	17	
Female	12	17	
Histologic grade			0.433
High	20	22	
Low	7	12	
Dukes' stage			0.023
B1	2	1	
B2	12	9	
C1	3	1	
C2	9	16	
D	1	7	
Anatomic location			0.783
Right colon	3	7	
Transverse colon	2	1	
Left colon	4	7	
Rectum	18	19	

Table 4. Correlation between S-phase fraction and clinicopathologic parameters

Parameters	No. cases	Mean±SD		<i>P</i> value	
		SPF	PI	SPF	PI
Histologic grade				0.035	0.478
High	42	38.3±17.6	47.8±17.1		
Low	19	41.9±17.4	44.2±18.8		
Dukes' stage				0.358	0.112
B1	3	44.1±27.3	48.3±29.4		
B2	21	35.5±17.1	39.9±17.4		
C1	4	35.6±18.3	43.1±16.2		
C2	25	39.5±15.3	45.1±17.6		
D	8	53.5±16.7	60.2±14.7		
Anatomic location				0.387	0.364
Right colon	10	47.0±13.6	50.5±13.2		
Transverse colon	3	36.9±16.7	44.2±11.9		
Left colon	11	44.4±15.9	50.9±19.0		
Rectum	37	36.9±18.4	42.3±19.4		

5.2±4.1 그리고 aneuploid에서 6.1±4.8(P=0.451)로서 통계학적 유의성은 없었다(Table 2).

임상 및 병리학적 인자에 따른 배수성 분포의 차이는 Dukes씨 병기에서만 유의성있게 aneuploid의 빈도가 높았으며(P=0.023), 그 외의 인자와 배수성 분포의 차이는 통계학적 유의성이 없었다(Table 3). 병리학적 인자별 SPF와 PI값의 차이는 조직학적 분화도, Dukes씨 병기, 그리고 종양의 해부학적 위치에 따른 값의 차이 모두에서 유의성은 관찰되지 않았다(Table 4).

근치 절제가 가능하였던 53예에서 추적기간 중 재

발이 관찰되었던 13예를 50이상의 PI군과 50미만의 PI군으로 대별하여 그 분포를 분석한 결과 고 PI군에서 20예중 10예(50.0)가 재발 -골반강 4예, 간 및 폐 각각 3예-되어 저 PI군 33예중 3예(9.1%) -폐 2예, 골반강 1예-에서보다 재발율이 훨씬 높았다(Table 5, P=0.001).

생존율은 우선 근치적 절제술이 시행되어졌던 환자를 대상으로 DNA 배수성의 차이별로 분석한 결과 aneuploid군(n=27)에서는 2년 생존율이 22.1%이었

Table 5. Correlation between PI and recurrence after curative resection(n=53)

PI grade	Recurrence(%)	Location of recurrence
High PI group* (n=20)	10(50.0)	Pelvis(4) Liver(3) Lung(3)
Low PI group* (n=35)	3(9.1)	Lung(2) Pelvis(1)

*PI≥50
 †PI<50
 †P=0.001

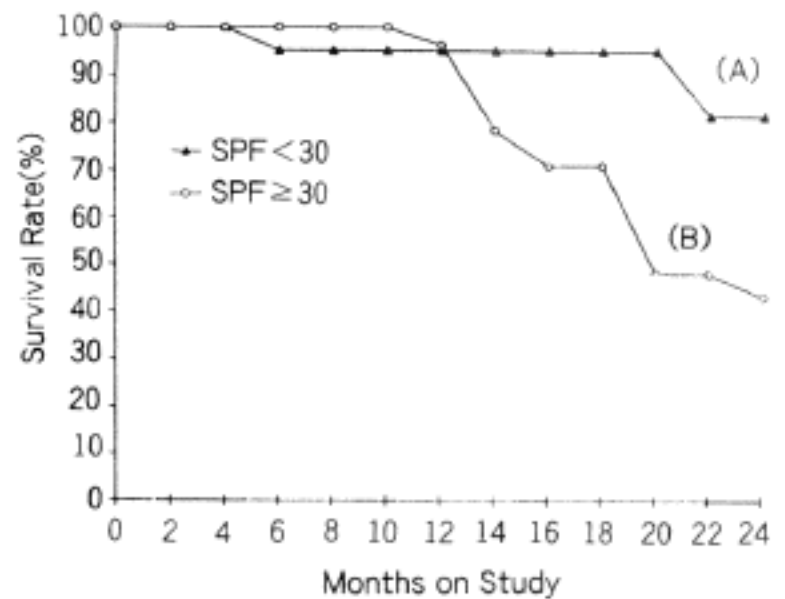


Fig. 4. Survival rate after curative resection.
 (A) Low SPF group(<30),
 (B) High SPF group(≥30)

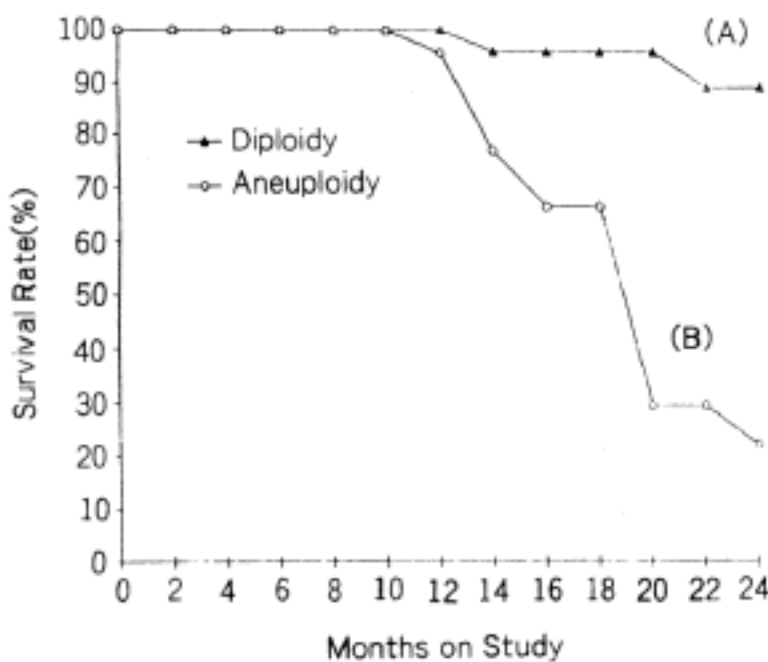


Fig. 3. Survival rate after curative resection.
 (A) DNA diploid adenocarcinomas,
 (B) DNA aneuploid adenocarcinomas

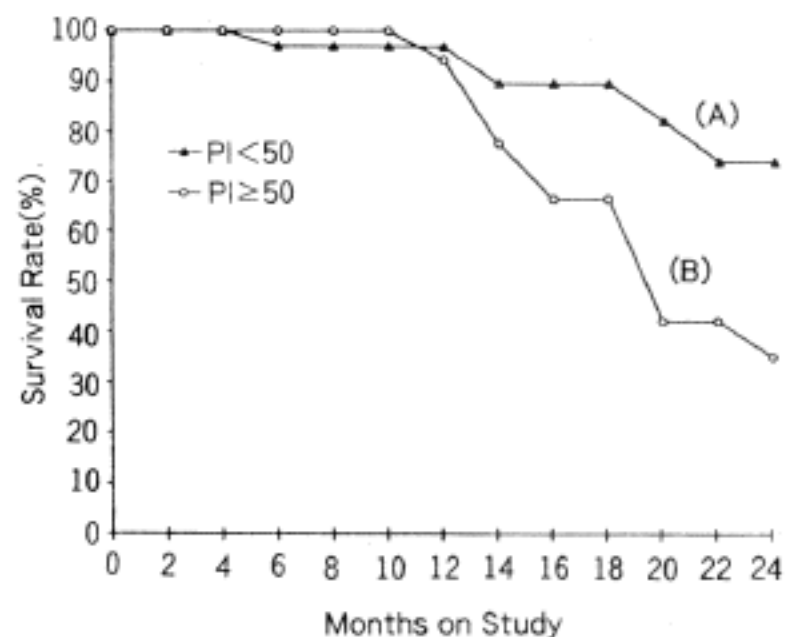


Fig. 5. Survival rate after curative resection.
 (A) Low PI group(<50),
 (B) High PI group(≥50)

던 반면 diploid군(n=26)에서는 89.0%로서 diploid군에서 예후가 월등히 양호함을 나타내었다(Fig. 3, $P<0.01$).

근치적 절제술이 가능하였던 예를 대상으로 SPF가 30% 이상이었던 군(n=32)과 30% 미만이었던 군(n=21)으로 대별하여 분석한 2년 생존율은 후자에서 81.6%, 전자에서는 43.3%로 SPF가 높을수록 예후는 좋지 않았으나 통계학적으로 유의성은 관찰되지 않았다(Fig. 4, $P<0.1$). 그리고 근치 절제예를 PI값을 이용하여 50 이상이었던 군과 50 미만이었던 군으로 나누어 분석한 2년 생존율에서도 후자에서는 74.3%, 전자에서는 35.3%로서 PI값이 높을수록 역시 예후가 좋지 않음을 보여주었다(Fig. 5, $P<0.05$).

고 찰

유세포 측정법은 세포의 분자학적 구성성분에 대한 정량적인 정보를 제공해 주는 세포 분석법의 하나로 1980년 중반이후로는 유방암^{13,17)}, 방광암¹⁴⁾, 폐암¹¹⁾, 갑상선암²⁵⁾ 그리고 난소암²³⁾ 등과 같은 다양한 악성 종양에서 이를 이용한 종양 DNA의 정량분석을 시도하여 예후인자로서의 의의 등 종양의 생물학적 특성과 관련된 폭 넓은 연구가 시행되어졌다. 유세포 측정법을 이용한 대장암의 연구로서 Wolley 등⁴⁰⁾이 DNA diploid를 나타낸 환자의 5년 생존율은 65%인데 반해 DNA aneuploid 환자에서는 단지 7.5%에 불과하다는 보고를 한 이래, 이러한 낙관적인 보고를 토대로 결직장암 환자의 예후를 결정함에 있어서 기존의 주관적인 임상 및 병리학적 분류보다는 DNA의 배수성 상태를 측정하는 것이 보다 객관적이고 우수한 방법이 될 것이라 생각되었다.

저자들은 유세포 측정을 위한 조직은 paraffin 포매 조직을 이용하였다. Paraffin 포매 조직은 신선 조직에 비하여 formalin에 고정됨으로써 핵의 DNA 형광 염색정도가 상당히 감소되어 있어 그 정도에 대한 예측이 불가능하다는 단점이 있으며 또한 신선한 조직에 비해 변이 계수가 크고, 탈납한 조직에서 조직 파편이 많으며 더욱이 aneuploid peak가 변이 계수가 큰 diploid peak에 중첩되어 버릴 가능성이 커지기 때문에 세포주기를 분석할 때 난점이 많다. 그럼에도 불구하고 paraffin 포매 조직을 이용하면 실질적

인 가치가 크다. 즉 유세포 측정을 시행하기 앞서 통상 광학 현미경 검사에 의한 조직 병리학적 진단과 함께 특수 염색이나 검사를 통한 정보를 얻기에 충분한 시간을 가질 수 있을뿐만 아니라 현미경 검사를 미리 시행함으로써 유세포 분석에 적합한 block을 선택할 수 있으며, 또한 이미 알고 있는 임상 및 병리학적 정보를 토대로 후향적 연구가 가능하다.

저자의 연구에서 전체적인 diploidy와 aneuploidy는 각각 27예(44.3%) 및 34예(55.7%)이었으며 각각의 배수성 형태에 따라 SPF, G₂/M phase fraction 그리고 PI값을 분석한 결과 SPF와 PI값에서 배수성 차이에 따른 통계학적 유의성을 관찰할 수 있었다(각각 $P<0.001$). 결직장암에서의 aneuploidy의 빈도는 대부분이 50~75%로 보고되고 있으며^{3,9,22,27,32,35)} Wolley⁴⁰⁾, 임과 채⁵⁾, 김등¹⁾ 그리고 김등²⁾은 39~48%로 비교적 낮게 보고하였다. 유세포 측정상 aneuploidy의 빈도가 낮은 요인들로서는 절제조직면을 이용함으로써 절제 불가능하였던 종양에 비해 선별적으로 diploidy를 가진 종양이 많을 수 있으며, paraffin 포매 조직을 이용하여 탈 paraffin화(deparaffinization) 분해과정에 핵 잔해가 많이 발생함으로써 histogram상 back-ground noise가 많아 aneuploidy에서의 작은 signal을 간과하게 되어 aneuploidy가 실제보다 적게 나타날 수 있는 점들이 거론될 수 있다.

PI값은 대략 13~26로 보고되고 있으나^{24,32,37,38)}, 저자의 결과는 이보다 훨씬 높게(45.3 ± 18.2) 관찰되었다.

유세포 측정법을 이용한 DNA ploidy와 기존의 여러 임상 및 병리학적 예후인자들과의 상관관계를 분석한 결과 저자는 Dukes씨 병기와 DNA 배수성과의 관계에서 그 유의성을 관찰할 수 있었다($P=0.023$). Jones 등³⁶⁾은 70세 이상 노년층으로 갈수록 aneuploid성 종양이 증가한다고 보고한 반면 Rognum³⁵⁾ 등과 Scott 등³⁶⁾은 연령 및 성별은 DNA ploidy와는 무관하다고 하였다. Dukes씨 병기와 DNA ploidy와는 대부분이 연관관계가 있음을 보고하였다^{18,31-34,37,38,40)}. 즉 Dukes'A와 B에서는 비교적 DNA diploidy가 많은 반면 Dukes'C와 D에서는 점점 DNA aneuploidy가 증가하는 경향을 보인다고 하였다. 이는 아직도 결직장암 환자에서 비교적 정확한 예후인자로서

가장 보편적으로 사용되고 있는 Dukes씨 분류법과 관계가 있으므로 암의 예후에도 관계가 있을 것을 시사한다고 할 수 있다. 이를 분석하면 근치적 절제술이 시행된 환자에서는 diploidy가 가장 좋은 예후인자로 간주될 수 있을 것이다.

해부학적 부위에 따른 배수성 빈도의 차이를 보면 Scott등²⁰⁾과 Alley등⁶⁾은 좌측 결장과 직장에서 aneuploidy가 유의있게 높았다고 하여 이는 좌측과 우측에서 발생하는 결장암으로 생물학적으로 서로 상이한 종양이기 때문일 것이라고 하였으나, Kokal등²⁹⁾은 부위별 배수성의 빈도 차이는 없었다고 하였다. 저자들의 예에서도 부위별 배수성 빈도의 차이는 관찰할 수 없었다.

조직학적 분화도에 따른 배수성 빈도의 차이는 저자의 연구에서는 통계학적 의의를 찾을 수는 없었다. 그러나 Kokal등²⁹⁾과 Rognum등³⁰⁾은 분화도가 떨어질수록 diploidy가 감소하는 경향을 보인다고 하였다. 그러나 타 보고들^{7, 18, 40)}에서 처럼 분화도와 배수성 빈도와는 통계학적 유의성은 없는 것으로 보인다.

유세포 측정상 SPF는 조직학적 분화도가 떨어질수록 증가하였지만 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다. 역시 Dukes씨 분류 및 해부학적 위치에 따른 SPF 차이의 유의성도 관찰되지 않았다. 이는 임과 채²⁾, Banner등⁹⁾ 그리고 Emdin등²²⁾의 보고와 일치하는 바, 조직학적 분화도와 SPF와는 상관관계가 없는 것으로 보인다. 그러나 생존율 분석에서는 저자는 PI값에서 생존율과 상관관계를 가짐을 관찰하였다. 즉 근치 절제가 가능하였던 예들을 대상으로 PI값의 차이에 따른 2년 생존율의 차이를 분석하였던 바, PI값이 50이상이었다는 군에서는 그 대조군에 비하여 35.3% : 73.3% ($P < 0.05$)로서 종양세포의 증식능이 활발할수록 예후는 좋지 않음을 보여주고 있다. 특히 PI값으로써 재발율의 분석한 결과 50.0% : 9.1% ($P < 0.001$)로 PI값이 높을수록 재발 빈도가 훨씬 높음을 알 수 있다.

그러나, SPF차이에 따른 2년 생존율의 차이는 30% 이상이었다는 군에서 그 대조군(50% 미만)에 비하여 43.3% : 81.6% ($P < 0.1$)로서 상관관계를 관찰하지 못하였다.

예후인자로서의 DNA 배수성 상태는 일반적으로 상관관계를 가지는 것으로 보인다. Kokal등²⁹⁾은 근치 절제 예에서 DNA 배수성 상태는 가장 중요한 단일

예후인자라 하였으며 Armitage등⁷⁾과 Quirke등³²⁾은 다변량 분석에서 DNA 배수성이 단일의 독립적인 의의를 가지지만 Dukes씨 병기분류보다는 의의도는 떨어진다고 하였다. 그리고 Bauer등¹¹⁾은 DNA 배수성과 DNA 함량은 SPF와 PI와 같은 세포증식능을 나타내는 인자들보다는 유의성이 떨어진다고 하였다. 즉 그들은 임과절 전이가 없는 결직장암 환자에서 SPF가 20% 이상이었다는 인자가 가장 중요한 생존 예측인자라고 하였다. 이를 보면 종양세포의 증식능은 종양의 생물학적 특성이 보다 공격적임을 암시한다고 하겠다. 근치적 절제술이 시행되었던 예들 대상으로 분석한 저자의 예에서는 diploidy군과 aneuploidy군에서의 2년 생존율은 각각 89.0% 및 22.1% ($P < 0.01$)로서 DNA 배수성이 예후인자로서 의미가 있음을 보여주고 있다.

저자의 분석대로 유세포 측정으로써 DNA 배수성, SPF 그리고 PI값이 예후를 예측하는데 의의가 있다면 술후에 이들 검사를 시행하여 종양의 생물학적 특성을 파악함으로써 치료 계획에 도움이 될 것이다. 즉 이들 결과를 토대로 근치적 절제술을 시행한 후 예후가 불량한 대상을 설정함으로써 술후 보조요법에 대한 적극적인 대책, 예를 들면 세포주기(cell cycle)에 특이한 화학요법제의 선택이 가능할 수 있을 것이다. 그리고 향후 유세포 측정을 통하여 종양세포의 증식에 대한 특징을 규명함으로써 형태학적 분류에 대한 보완적인 평가가 가능할 것으로 사료된다.

결 론

저자들은 1990년에서 1993년사이 동아대학교 병원 일반외과에서 수술을 받은 61예의 결직장암 환자의 술후 병리조직을 대상으로 유세포측정을 이용하여 종양세포의 DNA 배수성 그리고 S-phase fraction (SPF), G₂/M phase fraction 및 proliferative index(PI)값과 같은 종양세포의 세포증식 척도들의 크기와 예후와의 상관관계를 분석하여 다음의 결론을 얻었다.

유세포 측정상 diploidy는 27예(44.3%) 그리고 aneuploidy는 34예(55.7%)이었으며 배수성의 형태에 따른 세포증식능 즉 SPF와 PI값의 차이는 aneuploidy에서 유의성 있게 높았다(SPF: $P < 0.001$, PI:

$P < 0.001$). Aneuploidy의 빈도는 Dukes씨 분류상 병기가 진행될수록 증가되었으며($P = 0.023$), SPF 및 PI값과 조직학적 분화도, Dukes씨 병기 그리고 종양의 해부학적 위치에 따른 유의성은 관찰되지 않았다.

세포증식능과 재발율과의 관계는 근치절제가 가능하였던 예에서 고 PI군(≥ 50)에서 재발빈도가 월등히 높았으며($50.0\% : 9.1\%$, $P = 0.001$), 전체 생존율은 aneuploidy에서와 세포증식능이 증가될수록 예후가 좋지 않아, actuarial method에 의한 2년 생존율은 aneuploidy 군에서는 $22.1\% : 89.0\%$ ($P < 0.01$)로 떨어졌으며, $PI \geq 50$ 군에서는 $35.3\% : 74.3\%$ ($P < 0.05$)로 관찰되었으나, $SPF \geq 30\%$ 군과 그 대조군에서는 $SPF \geq 30\%$ 군에서 생존율이 떨어졌으나 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다($P < 0.1$)

이로써 유세포 측정을 이용하여 측정된 종양세포의 DNA 배수성 및 proliferative index는 결직장암의 생존율과 상관관계가 관찰되었던 바, 수술의 예후를 예측하는 인자로서 임상적 가치가 있을 것으로 사료되며, 이를 통하여 앞으로 수술 환자의 보조요법의 시행 유무, 선택 그리고 시행 강도등을 결정함으로써 궁극적으로는 환자의 예후를 향상시키는데 도움이 될 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) 김성, 김동진, 이영철, 최원진, 박혜림: 대장·직장암 및 원위부 절제연의 DNA Ploidy와 Mitotic Index에 관한 연구. 대한외과학회지 46: 232, 1994
- 2) 김재만, 김한선, 김세민: 대장선암에서 유세포측정과 은초기성 염색법을 이용한 비교연구. 대한대장항문병학회지 9: 339, 1993
- 3) 김진권, 김석구, 박진춘, 민병철, 이인철, 유은실, 배한익, 김명환, 민영일: 소화기 암종의 핵 DNA 함량 분석에 관한 초기 결과 및 해석. 대한외과학회지 40: 565, 1991
- 4) 보건연감: 성별·부위별 암종 발생 상황. 보건신문사 157, 1987
- 5) 임재용, 채권묵: 대장 및 직장 암에서 DNA Ploidy의 예후 인자로서의 의의. 대한외과학회지 41: 467, 1991
- 6) Alley PG, McNee RK: Age and sex differences in right colon cancer. Dis Colon Rectum 29: 227, 1986
- 7) Armitage NC, Robins RA, Evans DF, Turner DR, Baldwin RW, Hordcastle JD: The influence of tumour cell DNA abnormalities on survival in colorectal cancer. Br J Surg 72: 828, 1985
- 8) Astler VB, Collier FA: The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. Ann Surg 139: 846, 1954
- 9) Banner BF, Tomas-de la Vega JE, Roseman DL, Coon JS: Should flow cytometric DNA analysis precede definitive surgery for colon carcinoma? Ann Surg 202: 740, 1985
- 10) Barlogie B, Raber NM, Schumann J, Johnson TS, Drewinko B, Swartzendruber DE, Gohde W, Andreeff M, Freireich EJ: Flow cytometry in clinical cancer research. Cancer Res 43: 3982, 1983
- 11) Bauer KD, Lincoln ST, Vera-Romon JM, Wallemask CB, Chmiel JS, Madurski MH, Murad T, Scarpelli DG: Prognostic implications of proliferative activity and DNA aneuploidy in colonic adenocarcinomas. Lab Invest 57: 329, 1987
- 12) Beahrs OH, Henson DE, Hutter RVP, Kennedy BJ: Manual for staging of Cancer. 4th ed, p75, JB Lippincott, Philadelphia, 1992
- 13) Beerman H, Kluin DM, Hermans J, van de Velde CJH, Cornelisse CJ: Prognostic significance of DNA-ploidy in a series of 690 primary breast cancer patient. Int J Cancer 45: 34, 1990
- 14) Blomjous CEM, Schipper NW, Baak JPA, van Galen EM, de Voogt HJ, Meyer CJLM: Retrospective study of prognostic importance of DNA flow cytometry of urinary bladder carcinoma. J Clin Pathol 41: 21, 1988
- 15) Boring CC, Sgwinnes TS, Tong T, Montgomery S: Cancer statistics, 1994. CA 44: 7, 1994
- 16) Broders AC: The grading of carcinoma. Minn Med 8: 726, 1925
- 17) Clark GM, Dressler LG, Owens MA, Pounds G, Oldaker T, McGuire WH: Prediction of relapse or survival in patients with node-negative breast cancer by DNA flow cytometry. N Engl J Med 320: 627, 1989
- 18) Daniel S, Evert SB, Oskar EF: DNA content in human cancer, Application in pathology and clinical medicine. Arch Pathol Lab Med 113: 619, 1989
- 19) Davis NC, Newland RC: The reporting of colorectal cancer, the Australian clinicopathological Staging System. Aust NZ J Surg 52: 395, 1982
- 20) Dukes CE: The classification of cancer of the rectum. J Pathol Bacteriol 35: 323, 1932
- 21) Dukes CE, Bussey HJR: The spread of rectal can-

- cer and its effect on prognosis. *Br J Cancer* 12: 309, 1958
- 22) Emdin SO, Stenling R, Ross G: *Prognostic value of DNA content in colorectal carcinoma. Cancer* 60: 1282, 1987
- 23) Erba E, Ubezio P, Pepe S, Vaghi M, Marsoni S, Torri S, Mangioni C, Landoni F, d'Incalci M: *Flow cytometric analysis of DNA content in human ovarian cancers. Br J Cancer* 60: 45, 1989
- 24) Hammarberg C, Tribuleait B, Ohman U: *Early effects of preoperative irradiation upon the cell cycle composition in rectal adenocarcinomas, A flow cytometric DNA investigation. Acta Radiologica Oncology* 26: 45, 1986
- 25) Hamming JF, Schelfhout LJDM, Cornelises CJ, van de Velde CJH, Golslinge BM, Hermans J, Fleuren GJ: *Prognostic value of nuclear DNA content in papillary and follicular thyroid cancer. World J Surg* 12: 503, 1988
- 26) Jones DJ, Moore M, Shofied PF: *Prognostic significance of DNA ploidy in colorectal cancer: a prospective flow cytometric study. Br J Nat Cancer Inst* 69: 15, 1982
- 27) King JC, Warren EE: *Influence of tumor cell DNA ploidy on the natural history of rectal cancer. Am J Surg* 153: 184, 1987
- 28) Kirklin JW, Dockerty MB, Waugh JM: *The role of the peritoneal reflection in the progress of carcinoma of the rectum and sigmoid colon. Surg Gynecol Obstet* 88: 326, 1949
- 29) Kokal W, Sheibani K, Terz J, Harada JR: *Tumor DNA content in the prognosis of colorectal carcinoma. JAMA* 255: 3123, 1986
- 30) OPCS(Office of Population Censuses and Surveys): *Cancer statistics: Mortality statistics; General. Review of the Registrar-General on Deaths in England and Wales, 1990 Series DHI No. 24. London: HMSO 1992*
- 31) Petersen SE, Lorentzen M, Bichel P: *A mosaic subpopulation structure of human colorectal carcinomas demonstrated by flow cytometry. In Laerum, et al eds. Flow Cytometry IV. p. 412, Universitets Forlaget, Bergen 1980*
- 32) Quirke P, Dixon MF, Clayden AD, Durdey P, Dyson JED, Williams NS, Bird CC: *Prognostic significance of DNA aneuploidy and cell proliferation in rectal adenocarcinomas. J Pathol* 151: 285, 1987
- 33) Quirke P, Dyson JED, Dixon MF, Bird CC, Joslin CAF: *Heterogeneity of colorectal adenocarcinomas evaluated by flow cytometry and histopathology. Br J Cancer* 51: 99, 1985
- 34) Rognum TO, Thorud E, Elgio K, Brandtzaeg P, Øzjasaeter H, Nygaard K: *Large bowel carcinomas with different epithelium and plasma. Br J Cancer* 45: 921, 1982
- 35) Rognum T, Thorud E, Lund E: *Survival of large bowel carcinoma patient with different with different DNA ploidy, Br J Cancer* 56: 633, 1987
- 36) Scott NA, Wieand HS, Moertel CG, Cha SS, Beart RW, Lieber MM: *Colorectal cancer, Dukes' stage, tumor site, preoperative plasma CEA level and patient prognosis related to tumor DNA ploidy pattern. Arch Surg* 122: 1375, 1987
- 37) Streffer C, van Beuningen D, Gross E, Schabronath J, Eigler FW, Rebmann A: *Predictive assays for the therapy of rectal carcinoma. Radiother Oncol* 5: 303, 1986
- 38) Tribukait B, Hanmarberg C, Rubio C: *Ploidy and proliferation patterns in colorectal adenocarcinomas related to Dukes' classification and to histopathological differentiation, a flow cytometric DNA study. Acta Pathol Microbiol Scand(A)* 91: 89, 1983
- 39) Williams NS, Durdey P, Quirke P, et al: *Pre-operative staging of rectal neoplasm and its impact on clinical management. Br J Surg* 72: 868, 1985
- 40) Wolley RC, Schreiber K, Kose LG, Karas M, Sherman A: *DNA distribution in human colon carcinomas and its relationship to clinical behaviour. J Nat Cancer Inst* 69: 15, 1982
- 41) Zimmerman PV, Hawson GAT, Bint MH, Parsons PG: *Ploidy as a prognostic determinant in surgically treated lung cancer. Lancet* 1: 530, 1987