

대장 직장암에서 DNA Flow Cytometry 결과와 임상병리학적 특성 및 예후의 관계에 대한 연구

한양대학교 의과대학 외과학교실

최 동 호 · 손 태 성 · 박 영 석
백 흥 규 · 남 영 수 · 전 규 영

= Abstract =

Flow Cytometric DNA Analysis in Colorectal Cancer and Its Relationship to Clinicopathological Features and Prognosis

Dong Ho Choi, M.D., Tae Sung Sohn, M.D., Young Suk Park, M.D.
Hong Kyu Baik, M.D., Young Soo Nam, M.D. and Kyu Young Jun, M.D.

Department of Surgery, Hanyang University, College of Medicine

DNA flow cytometric analysis was performed on 42 colorectal cancers. DNA ploidy was diploid in 19 and aneuploid in 23 cases. There was no significant correlation between DNA ploidy and clinicopathological features such as primary site, histologic type, depth of invasion, lymph node metastasis, peritoneal seedings, lymphatic invasion and vascular invasion. In aneuploid group, which was divided into two groups, by the value of DNA index, there was no differences between two groups in prognosis and clinicopathological features. Cumulative survival rates appeared to be more favorable in patients with aneuploid tumors than patients with diploid tumors, but the difference was not statistically significant.

Key Words: Flow cytometric DNA analysis, Colorectal cancer

서 론

1980년대초부터 종양세포의 핵 DNA량의 이상과 생물학적 악성도와의 관련이 주목받아 왔었고, 1982년 Wolley²³⁾의 보고 혹은 1986년 Kakal¹¹⁾의 보고 이래 DNA non-diploid cancer는 diploid cancer보다 예후가 불량하다고 말해져 왔다^{1,2,17)}. 그러나 그 이후의 보고에서는 DNA ploidy와 대장암의 진행도 혹은 예후에는 관련이 없다고 하는 보고도 적지않다^{3,6,15,19)}(Table 1). 이에 저자들은 대장암으로 진단되어

수술을 받은 환자에서 DNA flow cytometry의 DNA ploidy와 임상병리학적인 인자, 재발 및 예후와의 관련성을 알아보기로 하였다.

연구의 대상과 방법

1992년 부터 1995년 6월까지 한양대학병원에서 대장암으로 진단받고 수술을 받은 뒤 정확한 추적관찰이 가능한 42명의 환자를 대상으로 하였으며 이들을 diploid군 19명과 aneuploid군 23명으로 나누어서 비교하였다. 환자의 임상적 특성을 확인하고 환자의

Table 1. Recent trend in studies on cancer and DNA flow cytometry

Editor	Year	Primary site	Relation to ploidy
Wolley et al	1982	colon	positive
Armitage et al	1985	colon	positive
Banner et al	1985	colon	positive
Finan et al	1986	colon	negative
Kokal et al	1986	colon	positive
Melamed et al	1986	colon	negative
Quirke et al	1987	rectum	positive
Auzuki et al	1988	colon	negative
Bawani et al	1991	colon	positive
Böttger et al	1993	colon	negative
松鶴	1985	colon	positive
安藤	1987	colon	positive
山村	1991	colon	positive
船井	1991	colon	positive
Friedlander et al	1984	ovary	positive
Coon et al	1987	melanoma	positive
Lindahl et al	1987	endometrial cancer	positive
Stephenson et al	1987	prostate	positive
Koss et al	1989	lung, neck cancer, thyroid, stomach cancer	negative
Tribukait et al	1991	genitourinary cancer	positive

특성에 따른 생존양상의 차이를 비교하고자 Kaplan-Meier법을 이용한 생존분석을 시행하였으며, 생존곡선의 유의성검정은 Log-rank test를 이용하였다. 두 군의 남녀비는 diploid 군에서는 2.1:1, aneuploid 군에서는 1.3:1로 비슷한 분포를 보였으며 두 군의 평균연령은 diploid 군에서는 56.4세, aneuploid 군에서는 61세로 aneuploid 군에서 높은 연령분포를 나타내었으나 통계적인 의미는 없었다(P=0.256).

1) DNA ploidy 및 DNA index의 측정

표본의 채취는 파라핀표본을 이용하였고, 마이크로 톰을 이용해서 50 μm의 두께로 얇게 자른 표본 3~4 장을 자일렌에서 탈파라핀처리를 10분씩 두번하고, 100%, 95%, 85%, 70%, 50%의 에탄올계열에서 각 10분간씩 함수를 한 후 증류수에서 10분간씩 3번을 수화처리한다. 그리고 Pepsin solution(0.5%, P-688, Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, U.S.A.)을 2 mL씩 넣고 37°C water bath에서 90분간 incubation 한 후 PBS tube에 mesh를 통해서

filtration 시킨 후에 원심분리하였다. 원심분리 후 PSS로 세포를 한 번더 세척한 후 PI/RNase sol(PI = propidium iodide, P 4170, RNase R4875, Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, U.S.A.)에 염색을 한 후 2~3시간 후에 유세포 계측기(EPICS-C, Culter, Co, FL, U.S.A.)를 이용하여 DNA ploidy 및 DNA index를 구하였다⁸⁾.

결 과

1) 임상병리학적 특성

양군 모두 rectum에 가장 많이 분포하고 있었으며 (52.6%, 47.8%), 다음으로 sigmoid colon에 많은 분포를 하고 있었다(26.2%, 26.1%). 조직학적 분화에 있어서 양 군 모두 고분화형이 가장 많은 분포를 보였다(47.4%, 69.6%). 대장벽침윤정도는 양 군 모두 serosal involvement가 가장 많았으며(52.6%, 65.2%), 림프절전이는 N1이 가장 많았다(63.2%, 65.2%). 복막전이, 간전이, 림프선침습, 혈관침습에는 두 군간

Table 2. DNA ploidy and clinicopathological features

		Diploid(n=19)	Aneuploid(n=23)	
Tumor location	C	1(5.3%)	0(0.0%)	p=0.3067
	A	1(5.3%)	3(14.0%)	
	T	2(10.5%)	0(0.0%)	
	D	0(0.0%)	3(14.0%)	
	S	5(26.3%)	6(26.3%)	
	R	10(52.6%)	11(47.7%)	
Histologic type	Well	9(47.4%)	16(69.6%)	p=0.5762
	Moderate	2(21.1%)	3(13.0%)	
	Poor	4(21.1%)	3(13.0%)	
	Mucinous	2(10.4%)	1(4.4%)	
Depth of invasion	M	0(0.0%)	9(0.0%)	p=0.4803
	SM	2(10.5%)	0(0.0%)	
	PM	3(15.9%)	5(21.7%)	
	SS	2(10.5%)	1(4.3%)	
	SE	10(52.6%)	15(65.3%)	
	SI	2(10.5%)	2(8.7%)	
Lymph node status	N0	7(36.8%)	7(30.4%)	p=0.6184
	N1	12(63.2%)	15(65.2%)	
	N2	0(0.0%)	1(4.4%)	
Peritoneal seeding	p(-)	19(100%)	23(100%)	p=not available
	p(+)	0(0.0%)	0(0.0%)	
Liver metastasis	h(-)	18(94.7%)	20(87.0%)	p=0.3926
	h(+)	1(5.3%)	3(13.0%)	
Lymphatic invasion	L(-)	10(52.6%)	12(52.2%)	p=0.9764
	L(+)	9(47.4%)	11(47.8%)	
Vein invasion	V(-)	16(84.2%)	19(82.6%)	p=0.8897
	V(+)	3(15.8%)	4(17.4%)	
Stage (TNM)	I	3(15.8%)	2(8.7%)	p=0.7454
	II	5(26.3%)	4(17.4%)	
	III	10(52.6%)	14(60.9%)	
	IV	1(5.3%)	3(13.0%)	
Stage(Duke)	A	0(0.0%)	0(0.0%)	p=0.5781
	B	8(42.1%)	7(30.4%)	
	C	11(57.9%)	14(60.9%)	
	D	0(0.0%)	2(8.7%)	

에 차이가 없었고, 양 군에서 Dukes 병기로는 C2가 가장 많았고(52.6%, 65.2%), TNM 병기로는 stage III가 가장 많은 병기로 나왔으나(52.6%, 60.9%), 모두 통계적인 의의는 발견할 수가 없었다(P=0.366, P=0.745)(Table 2).

2) 예 후

수술성적의 비교는 diploid군에서 평균생존율이 27개월로 aneuploid 군에서의 평균생존율 31개월과 큰 차이를 보이지 않았다(P=0.8580). 양 군간의 병기별

Table 3. DNA Index and clinicopathological features(Aneuploid group)

		1.00<DI≤1.40(n=11)	DI>1.40(n=11)	
Tumor location	C	0(0.0%)	0(0.0%)	p=0.7358
	A	2(18.2%)	1(9.1%)	
	T	0(0.0%)	0(0.0%)	
	D	2(18.2%)	1(9.1%)	
	S	2(18.2%)	4(36.4%)	
	R	5(45.4%)	5(45.4%)	
Histologic type	Well	9(81.8%)	6(54.5%)	p=0.1767
	Moderate	0(0.0%)	3(13.1%)	
	Poor	2(18.2%)	1(9.2%)	
	Mucinous	0(0.0%)	1(9.2%)	
Depth of invasion	M	0(0.0%)	0(0.0%)	p=0.1870
	SM	0(0.0%)	0(0.0%)	
	PM	4(36.4%)	1(9.1%)	
	SS	0(0.0%)	1(9.1%)	
	SE	7(63.6%)	7(63.6%)	
	SI	0(0.0%)	2(18.2%)	
Lymph node status	N0	6(54.5%)	1(9.1%)	p=0.2812
	N1	4(36.4%)	10(90.9%)	
	N2	1(9.1%)	0(0.0%)	
Peritoneal seeding	p(-)	11(100%)	11(100%)	p=not available
	p(+)	0(0.0%)	0(0.0%)	
Liver metastasis	h(-)	10(90.9%)	9(81.8%)	p=0.7142
	h(+)	1(9.1%)	2(18.2%)	
Lymphatic invasion	L(-)	7(63.6%)	4(36.4%)	p=0.2008
	L(+)	4(36.4%)	7(63.6%)	
Vein invasion	V(-)	10(90.9%)	8(72.7%)	p=0.5865
	V(+)	1(9.1%)	3(27.3%)	
Stage(TNM)	I	2(18.2%)	0(0.0%)	p=0.1531
	II	3(27.2%)	1(9.1%)	
	III	5(45.5%)	8(72.7%)	
	IV	1(9.1%)	2(18.2%)	
Stage(Duke)	A	0(0.0%)	0(0.0%)	p=0.1307
	B	5(54.5%)	2(18.2%)	
	C	5(45.5%)	8(72.7%)	
	D	1(9.0%)	1(9.1%)	

평균생존율은 다른 병기에서는 특이할만한 결과를 얻을 수가 없었고 stage III에서 27개월, 31개월의 결과가 나왔으나 차이를 발견할 수가 없었다. 재발하는 경우가 양 군에서 각각 4명, 7명으로 나타났으나 역시 통계학적인 차이는 없었다(P=0.4912)(Fig. 1, 2).

3) 임상병리학적 특성 및 예후(Aneuploid 군)

Aneuploid 군을 DI(DNA index)에 따라서 DI가 1.4이상인 군과 DI가 1.4 미만인 군으로 나누어서 임상병리학적인 인자에 대해서 비교를 하였으나 차이

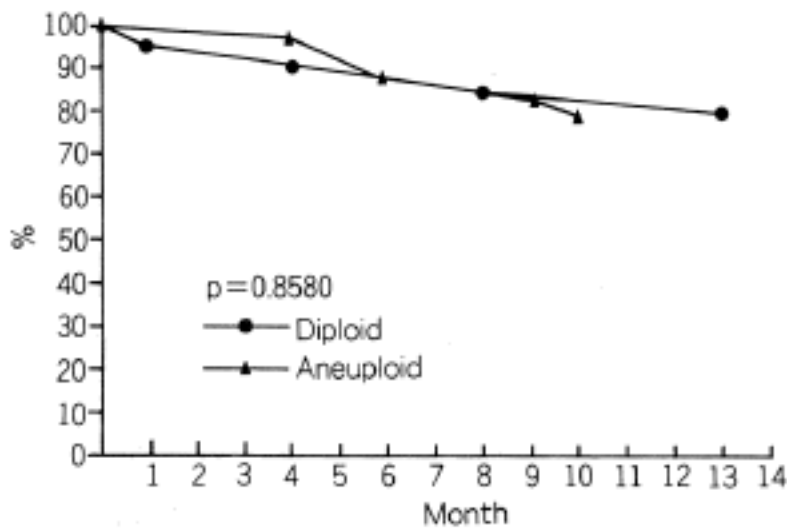


Fig. 1. Survival rate between diploid and aneuploid group.

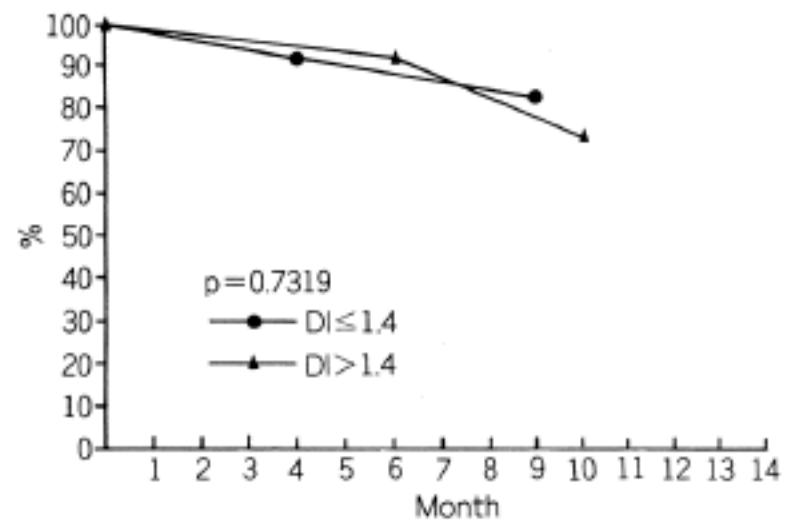


Fig. 3. Survival rate by DI index in aneuploid group.

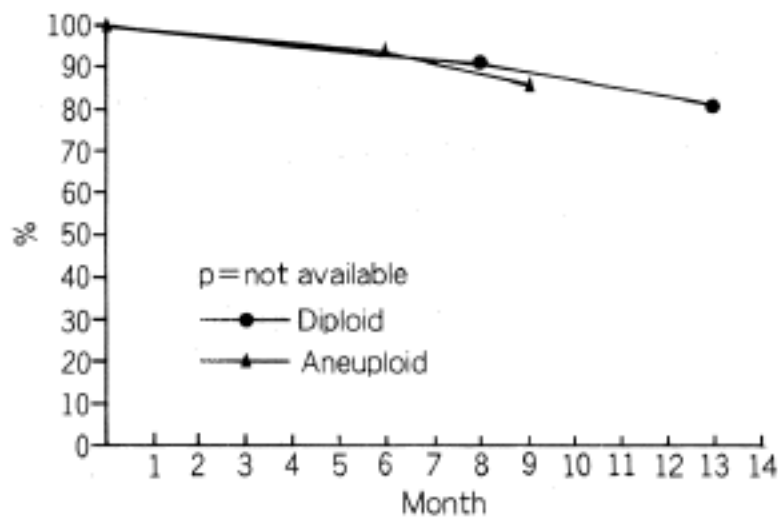


Fig. 2. Survival rate in stage III cancer between diploid and aneuploid group.

를 발견할 수가 없었고(Table 3), 예후에 대한 비교에서도 차이를 발견할 수가 없었다(Fig. 3).

고 안

최근 종양의 생물학적 악성도를 보인 지표의 한가지로서 세포핵 DNA양(DNA ploidy)이 주목되고 있고, DNA ploidy와 예후에 관한 보고가 많다. 특히 방광암²⁰⁾, 전립선암¹⁸⁾, 난소암⁷⁾, 자궁내막암¹³⁾, 악성흑색종⁵⁾등의 예후는 DNA ploidy와 강하게 상관하고 DNA ploidy를 보인 것은 DNA aneuploidy를 보인 것에 비해서 예후가 양호하다고 보고되고 있다. 그러나, 신경아종에서는 역으로 diploid보다 aneuploid가 더 예후가 양호하다고 보고되고 있다¹⁴⁾. 또

폐암, 두경부암등에서는 DNA ploidy와 암의 진행도 및 예후와의 관련은 약하고, 갑상선암, 위암은 관련이 없다고 보고하고 있다¹²⁾.

대장암에 있어서의 aneuploidy의 발현정도에 있어서는 Wolley등²²⁾은 33예중 12예(36.4%), Kokal등¹¹⁾은 77예중 50예(64.9%), Banner등²¹⁾은 56예중 42예(75.0%), Armitage등¹⁾은 134예중 72예(53.7%)로 각각 다른 빈도를 보고하고있지만 저자의 성적에서는 42예중 23예(54.7%)로 Armitage¹⁾의 보고와 가까운 빈도를 보였다.

대장암에 있어서의 DNA ploidy와 예후와의 관련에 있어서의 보고는 1982년에 Wolley등²²⁾이 DNA diploid를 보인 20예에서는 14예가 수술 3년부터 5년간의 경과에서 재발없이 생존하고 있는데 반해, DNA aneuploid를 보인 13예에서는 12예가 종양사했다고 보고한 것이 최초이다. 이후 Kokal등¹¹⁾은 diploid를 보인 26예에서는 수술재발을 보이지 않은 데 반해, aneuploid를 보인 것은 50예중 19예, 38%의 증례에서 재발을 보인다고 한다.

Banner등²¹⁾, Armitage등¹⁾, 혹은 Quirke등¹⁷⁾도 똑같은 보고를 했고, DNA aneuploid를 보인 대장암은 diploid를 보인 것보다 예후가 불량하다는 견해가 많았다. 그 후 Melamed등¹³⁾, Suzuki등¹⁹⁾, 혹은 Böttger등³⁾은 대장암의 DNA ploidy와 환자의 예후와의 사이에 관련을 확인하지 못했다고 보고하고 있고, 또 Bawani등⁴⁾은 DNA aneuploid를 보인 것이 diploid를 보인 것보다 예후가 양호한 것으로 보고하

고 있다. 이처럼 대장암에서의 DNA ploidy와 예후와의 관련에 있어서는 일정한 견해를 얻지 못한채 DNA ploidy가 대장암의 예후규정인자로서의 의의가 있는가는 아직 이론의 여지가 많다.

대장암에 있어서의 DNA ploidy와 예후와의 관련을 검토하는 경우, 우선 임상병기를 시작으로하는 임상병리학적 인자와의 관계를 염두로 하고 검토를 진전시킬 필요가 있다. Wolley등²²⁾은 DNA ploidy와 암의 조직학적인 악성도, 병기와의 사이에는 관련이 없고, 림프절전이, 맥관침습은 diploid 쪽에 비해서 non-diploid 쪽에서 많이 보인다고 보고하고 있다. Banner등²³⁾은 diploid를 보인 것은 14예중 1예밖에 림프절전이를 확인하지 못한 것에 대해 non-diploid의 쪽에서는 42예중 25예에서 림프절 전이를 확인했다고 하고 DNA ploidy와 림프절 전이와의 관련을 중시하고 있다. 또 松嶋²⁴⁾은 DNA ploidy는 림프관 침습 및 림프절전이와 강한 상관을 보였다고 보고하고, 船井등²⁵⁾은 림프관침습, 정맥침습, 림프절전이 및 간전이와 유의하게 상관이 있다고 보고하고 있다. 増田²⁶⁾은 DNA ploidy는 병변부위, 병리조직형, 병기, 벽심달도, 림프절전이, 복막과종, 간전이, 맥관침습등이 명확한 상관관계를 보이지 못했지만 벽심달도에서는 si와 림프절전이에서는 n4를 보인 증례, 혹은 복막과종과 간전이가 같이 확인되는 증례등 고도진행예에서는 모두 aneuploid를 보였다고 하고 있고, 또 山村²⁷⁾은 DNA ploidy의 것에 비해서 aneuploid의 것에서 유의하게 간전이양성율이 높았다고 보고하고 있다. 저자의 성적에서는 DNA ploidy와 병변부위 조직형, 벽심달도, 림프절전이, 복막과종, 림프관침습, 정맥침습, 간전이양성률과의 사이에는 유의한 상관을 확인하지 못하였고 이제까지의 보고와는 조금다르게 저자의 성적을 종합해보면 대장암에 있어서의 DNA aneuploid를 보인 것은 diploid를 보인것과 비교해서 큰 차이가 없는 것으로 나왔다.

대장암에서 DI와 임상병리학적인자와의 관련에 있어서의 보고는 적다. Tribukait등^{21, 23, 27)}은 Dukes' stage의 진행과 함께 DI의 높은 값을 보인 예가 많아진 경향이 있다고 보고하고 있고, 또 山村²⁷⁾은 대장암에 있어서의 DI와 간전이의 관련에 대해서 검토한 후에 DI는 간전이를 확인한 것에서 유의하게 높고, 특히 DI가 1.40을 넘는 것에서 간전이발현율이 높았다

고 하고, 간전이발현율은 DNA ploidy 보다도 DI와 강하게 상관한다고 보고있다. 저자도 山村²⁷⁾의 보고에 따라서 aneuploid 증례를 DI가 1.40 이하의 것과 1.40을 넘는 것으로 분류하고, 병변부위, 조직형, 벽심달도, 림프절전이, 복막과종, 간전이, 림프관침습, 정맥침습, stage등의 임상병리학적인자와의 관련에 대해서 검토했지만 어느 것이나 유의한 상관을 확인하지 못했다.

Jones등⁹⁾은 DNA ploidy가 대장암환자의 예후와 관련한 것은 Dukes'B 증례뿐이고, Dukes'C 증례는 DNA ploidy와 관계없이 예후가 불량했다고 하고 있다. 또, 鈴木등²⁸⁾은 stage A와 stage D에서는 종양의 DNA ploidy 보다도 임상병기의 쪽이 예후에 크게 관련하고 있기 때문에 이들의 증례를 제외한 stage B와 stage C에 관해서 검토를 해야한다고 하고 stage B, C에 한해서 보면 통계학적으로 유의차는 확인하지 못했던 DNA aneuploid 증례의 누적생존율쪽이 diploid 증례보다 양호하다고 보고하고 있다.

이들의 보고로부터 DNA ploidy와 예후와의 관계에 관해서 서술하는데는 대상을 임상병기에 의해서 층별화해서 검토할 필요가 있다고 생각되어서 각 stage 별로 DNA ploidy에 따른 생존율을 비교하였으나 본 연구에서는 통계학적인 차이를 발견할 수가 없었다.

Look등¹⁴⁾은 절제불능의 신경아종의 35예의 검토결과 aneuploid 증례는 diploid 증례에 비해서 화학요법에 잘 반응하고 장기간에 걸친 증상호전을 보였다고 보고하고 있다. Nakazawa¹⁶⁾는 신경아종 45예의 검토로부터 aneuploid 증례의 누적생존율은 diploid 증례의 것과 비해서 술후조기는 양호했지만, 술 후 2년 이상 경과하면 불량하게 되었다고 보고하고 이 이유로 aneuploid 증례는 최초는 화학요법에 잘 반응하고 있지만 도중에 약제감수성내성이 나타나기도 하고, 또 화학요법이 중지되기도 하기때문에 술후 2년 이상의 재발 사망예가 많아진다는 점을 제시하고 있다. 하지만 대장암에 있어서 aneuploid 증례의 쪽이 diploid 증례에서 보다 더 화학요법에 대한 감수성이 강하다고 하는 것은 아직 가설의 단계에 있고 앞으로 검토가 더 필요하고, 장래에 이 것이 실제로 증명되면 DNA flow cytometry가 대장암의 치료방침결정에 유력한 수단의 한가지로 된다고 생각된다.

이상의 결과에서와 같이 DNA ploidy가 임상병리학적 특징과 예후에 특별한 관계가 없는 것으로 나왔으나, 환자에 대한 추적기간이 길지않고 종양세포의 특성관찰, 항암요법의 치료효과 판정, 양성종양의 추적관찰, 원발종양과 전이종양의 구별 등의 부수적인 목적을 위해서 추후에도 지속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다¹⁰⁾.

결 론

1980년대초부터 종양세포의 핵 DNA 량의 이상과 생물학적 악성도와와의 관련이 주목받아 왔었고, 1982년 Wolley의 보고 혹은 1986년 Kakal의 보고이래 DNA non-diploid cancer는 diploid cancer 보다 예후가 불량하다고 말해져 왔다. 그러나 그 이후의 보고에서는 DNA ploidy와 대장암의 진행도 혹은 예후에는 관련이 없다고 하는 보고도 적지않다. 이에 저자들은 1992년부터 1995년 6월까지 한양대학병원에 서 대장암으로 진단받고 수술을 받은 뒤 정확한 추적관찰이 가능한 42명의 환자를 대상으로 하였으며 이 들을 diploid 군 19명과 aneuploid 군 23명으로 나누어서 양 군간의 임상 병리학적인 특성 및 예후에 대 해서 비교하여 얻은 결과는 다음과 같았다.

1) 양군 모두 rectum에 가장 많이 분포하고 있었 으며(52.6%, 47.8%), 다음으로 sigmoid colon에 많 은 분포를 하고 있었다(26.2%, 26.1%). 조직학적 분 화에 있어서 양 군 모두 고분화형이 가장 많은 분포를 보였다(47.4%, 69.6%). 대장벽 침윤정도는 양 군 모 두 serosal involvement 가 가장 많았으며(52.6%, 65.2%), 림프절전이는 NI이 가장 많았다(63.2%, 65.2%). 복막전이, 간전이, 림프선침습, 혈관침습에는 두 군간에 차이가 없었고, 양 군에서 Duke씨 병기로는 C2가 가장 많았고(52.6%, 65.2%), TNM 병기로는 stage III가 가장 많은 병기로 나왔으나(52.6%, 60.9%), 모두 통계적인 의의는 발견할 수가 없었다.

2) 수술성적의 비교는 diploid군에서 평균생존율이 27개월로 aneuploid 군에서의 평균생존율 31개월과 차이를 보이지 않았다(P=0.8580). 양 군간의 병기별 평균생존율은 다른 병기에서는 특이할만한 결과를 얻을 수가 없었고 stage III에서 27개월, 31개월의 결 과가 나왔으나 차이를 발견할 수가 없었다. 재발하는

경우가 양 군에서 각각 4명, 7명으로 나타났으나 역시 통계학적인 차이는 없었다(P=0.4912).

3) Aneuploid 군을 DI(DNA index)에 따라서 DI가 1.4이상인 군과 DI가 1.4 미만인 군으로 나누어 서 임상병리학적인 인자에 대해서 비교를 하였으나 차 이를 발견할 수가 없었고, 예후에 대한 비교에서도 평 균 생존일수가 27개월, 32개월로 차이를 발견할 수가 없었다(P=0.7319).

이상의 결과에서와 같이 DNA ploidy 가 임상병리 학적 특징과 예후에 특별한 관계가 없는 것으로 나왔 으나, 환자에 대한 추적기간이 길지않고 종양세포의 특성관찰, 항암요법의 치료효과 판정, 양성종양의 추적 관찰, 원발종양과 전이종양의 구별 등의 부수적인 목 적을 위해서 추후에도 지속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

REFERENCES

- 1) Armitage NC, Robins RA, Evans DF, et al: *The influence of tumour cell DNA abnormalities on survival in colorectal cancer. Br J Surg* 72: 828, 1985
- 2) Banner BF, Tomas-De La Vega JE, Roseman DL, et al: *Should flow cytometric DNA analysis precede definitive surgery for colon carcinoma? Ann Surg* 202: 740, 1985
- 3) Battger TC, Potratz D, Stockle M, et al: *Prognostic value of DNA analysis in colorectal carcinoma. Cancer* 72: 3579, 1993
- 4) Bawani M, Tibrewala S, Copur S, et al: *DNA flow cytometry of colorectal carcinoma: Correlation of DNA stemlines with other prognostic indices. Am J Gastroenterol* 86: 191, 1991
- 5) Coon JS, Bines S, Kheir S, et al: *DNA flow cytometry in stage I cutaneous melanoma. Cytometry* 1: 55, 1987
- 6) Finan PJ, Quirke P, Dixon MF, et al: *Is DNA aneuploidy a good prognostic indicator in patients with advanced colorectal cancer? Br J Cancer* 54: 327, 1986
- 7) Friedlander ML, Hedley DW, Taylor IW, et al: *Influence of DNA content on survival in advanced ovarian cancer. Cancer Res* 44: 397, 1984
- 8) Hedley DW, Friedlander ML, et al: *Method for*

- analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry. *J Histochem Cytochem* 31(11): 1333, 1983
- 9) Jones DJ, Moore M, Schofield PF: Prognostic significance of DNA ploidy in colorectal cancer: A prospective flow cytometric study. *Br J Surg* 75: 28, 1988
- 10) John SC, Alan LL, Ronald SW: Flow cytometric analysis of paraffin-embedded tumors. *Human Pathology* 17: 435: 1986
- 11) Kokal W, Sheibani K, Terz J, et al: Tumor DNA content in the prognosis of colorectal carcinoma. *JAMA* 255: 3123, 1986
- 12) Koss LG, Czerniak B, Herz F, et al: Flow cytometric measurements of DNA and other cell components in human tumors: A critical appraisal. *Hum pathol* 20: 528, 1989
- 13) Lindahl B, Alm P, Killander D, et al: Flow cytometric DNA analysis of normal and cancerous human endometrium and cytological-histopathological correlations. *Anticancer Res* 7: 781, 1987
- 14) Look AT, Hayes FA, Nitschke R, et al: Cellular DNA content as a predictor of response to chemotherapy in infants with unresectable neuroblastoma. *N Engl J Med* 311: 231, 1984
- 15) Melamed MR, Enker WE, Banner P, et al: Flow cytometry of colorectal carcinoma with three-year follow-up. *Dis Colon Rectum* 29: 184, 1986
- 16) Nakajawa M: The prognostic significance of DNA ploidy for neuroblastoma. *Jpn J Surg* 23: 215, 1993
- 17) Quirke P, Dixon MF, Clayden AD, et al: Prognostic significance of DNA aneuploidy and cell proliferation in rectal adenocarcinoma. *J Pathol* 151: 285, 1987
- 18) Stephenson RA, James BC, Gay H, et al: Flow cytometry of prostatic cancer: Relationship of DNA content to survival. *Cancer Res* 47: 2504, 1987
- 19) Suzuki H, Matsumoto K, Masuda T, et al: DNA ploidy of colorectal carcinoma: Correlations with conventional prognostic variables. *J Clin Gastroenterol* 10: 176, 1988
- 20) Tribukait B: Flowcytometry in assessing the clinical aggressiveness of genito-urinary neoplasms. *World J Urol* 5: 108, 1987
- 21) Tribukait B, Hammarberg C, Rubio C: Ploidy and proliferation patterns in colorectal adenocarcinomas related to Dukes' classification and to histopathological differentiation. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand Sect A* 91: 89, 1983
- 22) Wolley RC, Schreider K, Koss LG, et al: DNA distribution in human colon carcinomas and its relationship to clinical behavior. *JNCI* 69: 15, 1982
- 23) 山村剛司: Examination of high risk factors of colorectal metastasis by DNA flow cytometry. *J Jpn Soc Coloproctology* 44: 442, 1991
- 24) 松嶋一晃: Clinicopathologic study of nuclear DNA content and prognosis of colon cancer. *J Jpn Soc Coloproctology* 38: 798, 1985
- 25) 船井貞主, 黒岡一仁, 松田泰次, et al: Examination of colorectal malignant potential related to DNA content by Flow cytometry relationship between DNA ploidy pattern and liver metastasis. *J Jpn Surg Society* 92: 127, 1991
- 26) 増田亨: Study of relationship between clinicopathologic data and ploidy of colorectal cancer and S+G2·M phase ratio by Flow cytometry. *J Jpn Soc Coloproctology* 40: 734, 1987
- 27) 安藤善郎: Examination of prognosis by DNA flow cytometry. *J Jpn Surg Society* 91: 1700, 1990
- 28) 鈴木宏志, 山村剛司, 松本好市, et al: Relationship between DNA ploidy of colorectal cancer cell and postoperative cumulative survival ratio. *J Jpn Soc Coloproctology* 43: 1419, 1990