

위장관 간질 종양에서 세포의 증식능과 종양의 예후와의 상관성에 관한 연구

국립의료원 및 고려대학교 부속 안암병원* 해부병리과

장희진 · 김덕환 · 팽성숙 · 손진희
서정일 · 김인선* · 최종삼*

A Study of the Correlation between Cellular Proliferating Activities and Prognosis in Gastrointestinal Stromal Tumors

Hee Jin Chang, M.D., Duck Hwan Kim, M.D., Sung Sook Pang, M.D., Jin Hee Sohn, M.D.
Jung Il Suh, M.D., In Sun Kim, M.D.* and Jong Sang Choi, M.D.*

Department of Pathology, National Medical Center and Korea University Hospital

Gastrointestinal stromal tumors are notorious for their unpredictable clinical behavior. To assess the cellular proliferating activities, four different methods were used: mitotic count, nucleolar organizer region(AgNOR) staining, immunostaining of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and DNA ploidy were used on 39 cases of gastrointestinal stromal tumors. Additionally, we analysed cellularity, cellular atypism and necrosis. Among 39 cases of gastrointestinal stromal tumors, 11 cases were diagnosed as benign lesions according to clinicopathologic findings. Malignant lesions were arbitrarily classified into low grade(n=11) and high grade(n=17) on the basis of absence or presence of recurrence, metastasis or tumor-related death during the follow-up period. Numbers of mitosis, AgNORs, PCNA index and DNA ploidy were correlated with grades of tumor and prognosis. Among them, AgNORs counting appeared to be the most useful in predicting prognosis. Numbers of mitosis, PCNA index and DNA ploidy showed varying degrees of overlap among the 3 groups. Among the histological parameters, cellular atypia showed some relationship with the prognosis that others did not reveal. (**Korean J Pathol 1995; 29: 152~169**)

Key Words: Gastrointestinal stromal tumor, Mitosis, AgNORs, PCNA, DNA ploidy

서 론

위장관 간질 종양은 그 기원과 양성 및 악성을 판별하는 기준 척도에 있어서 끊임없는 논란의 대상이 되어 왔다. 그동안 여러 연구자들이 이를 규명하기 위하여 많은 노력을 기울였지만 그들의 연구 결과 역시 일

치하지 않아 혼란만 거듭되고 있다.

과거에는 이 종양의 광학 현미경적 소견만을 근거로, 대부분 이들을 평활근 종양으로 간주하였으나 최근 전자 현미경적, 면역조직화학적 검사를 이용한 여러 연구에서 이 종양이 일부에서만 평활근으로의 분화를 보이고 간혹 미성숙한 간엽성 분화 또는 신경성 분화를 보이기 때문에 위장관 간엽 종양 전체를 '위장관 간질 종양'이라는 하나의 넓은 범주에 포함시켜 세포 유형별로 방추형과 상피양 세포형 두 가지로 구분하고 있는 추세를 보이고 있다¹⁻⁶⁾.

그동안 유사 분열 수, 핵의 이형성, 세포 밀집도, 종

접 수: 1994년 5월 25일, 게재승인: 1994년 9월 16일
주 소: 서울 중구 을지로 6가 18-79, 우편번호 100-196
국립의료원 해부병리과, 장희진

양의 크기 그리고 괴사등 여러 가지 기준들이 본 종양의 예후 관련 인자로 대두되어 왔으나^{5,7~12}, 아직 이에 관하여 논란이 많다. 가장 중요한 예후 관련 인자로 간주되고 있는 유사 분열 수도 그 수의 많고 적음이 항상 예후와 일치하는 것은 아니어서 유사 분열이 거의 관찰되지 않는 종양에서 전이나 사망을 보인 경우가 간혹 있어 왔고^{13,14} 그 반대의 경우도 보고되어 있다^{11,14}.

따라서 저자들은 기존의 조직학적 인자외에 보다 객관적이고 정확한 예후 인자가 있는지 알아보기 위하여 위장관 간질종양 39예를 조직학적 양상과 임상적인 행동 양상을 토대로 양성군과 저악성군 그리고 고악성군, 세 군으로 나누어 최근 널리 활용되고 있는, 세포 증식능을 측정하여 종양의 증식력을 알아보는 방법중 AgNORs 수 측정법과 Proliferating cell nuclear antigen(PCNA)에 대한 면역 조직화학 염색 그리고 DNA 배수성 분석을 실시하여 그 결과와 종양의 악성도 및 예후와의 연관성을 알아보고 기존의 조직학적 기준들과 예후 관련 인자로서의 가치를 비교해 보았다.

재료 및 방법

1. 연구 재료

연구 대상은 1975년 12월부터 1992년 12월까지 국립의료원에서 외과적 절제술을 받은 위장관의 평활근종, 평활근 육종 혹은 양성 및 악성 간질 종양 33예와 고려대학교 부속 안암병원에서 내시경적 용종 절제술을 받은 위장관 평활근종 6예를 합한 총 39예로 하였다.

2. 연구 방법

1) 임상 소견 및 병리 조직학적 검색: 환자의 임상 및 병리 기록을 토대로 발병 부위, 종괴의 크기, 성장 형태, 수술 방법, 주위 림프절 혹은 원격 전이 여부를 확인하고 추적 조사 상태를 점검후, 추적 가능한 예에서는 전화 및 서신을 통하여 재추적 조사를 실시하였다. 절제된 조직은 모두 10% 중성 포르말린 고정과 파라핀 포매 과정을 거친 후 hematoxyline-eosin 염색을 하였는데 광학 현미경 하에서 조직학적 세포 유형과 세포 밀집도, 핵의 이형성, 유사 분열수 그리고 괴사 유무를 관찰하였다. 세포 밀집도와 핵의 이형성은 가장 세포 밀집도가 높고 핵의 이형성이 심한 부위를 골라 Evans¹³와 Ranchod¹⁴의 분류에 따라 등급을 나누었는데 세포밀집도는 밀집 정도에 따라 저도, 중등도, 고도로 구분하였고 핵의 이형성은 없음, 저도, 중등도, 고도의 4등급으로 분류하였다.

유사 분열수 계산은 세포 밀집도가 가장 높고 유사 분열이 활발한 부분에서 400배 시야로 연속 10군대를

관찰하여 수를 합하였는데 적어도 10 시야씩 5회 이상 세어 가장 높은 수를 최종 유사 분열수로 채택하였다.

종양의 양성 및 악성에 대한 판별은 장등⁹과 Ranchod¹⁴의 조직학적 기준을 토대로 하였는데,

(1) 만약 유사 분열 수가 10개의 400배 시야당(이하 10HPF로 칭함) 5개 이상이거나,

(2) 유사 분열 수가 1-4/10HPF이면서 종양의 크기가 5cm 이상 크고 핵의 이형성 혹은 세포 밀집도가 중등도 이상일 때는 악성으로 간주하였다.

악성 종양은 다시 조직학적 소견과는 무관하게 예후에 따라 두 군으로 나누었다. 즉 진단 당시 주위 장기로의 확산, 림프절 전이나 원격 전이가 있었던 예와 추적 조사중 재발, 전이, 사망을 한 예들 모두 고악성군으로 분류하였고 재발이나 전이, 사망을 보이지 않은 나머지 예들 저악성군으로 설정하였다. 또한 조직학적 소견상 양성으로 진단되었어도 전이 혹은 재발을 보인 경우는 고악성군으로 분류하였다. 상기 분류에 따라 양성 종양이 11예, 저악성 종양인 11예 그리고 고악성 종양이 17예였다.

2) AgNOR 염색 및 수 측정: 유사 분열이 가장 많이 관찰된 block을 선택하여 5 μ m 두께의 절편으로 만들어 xylene으로 탈 파라핀한 후 알콜과 증류수로 합수시킨 다음에 1% formic acid 용액에 gelatin을 2%농도로 녹인 용액과 50% silver nitrate 용액을 1:2의 비율로 혼합하여 만든 silver colloid 용액을 슬라이드에 붓고 빛을 차단 시킨 채 실온에서 40분간 방치 시킨 다음, 증류수로 수세 후 탈수시켜 봉입하였다. AgNORs수는 1000배 유침렌즈 하에서 최소한 100개의 종양 세포를 골라 개개 세포의 핵내에서 관찰되는 모든 식별 가능한 AgNORs를 세어 기록 후 평균을 구하였다.

3) PCNA 면역조직화학염색 및 세포증식지수 측정: AgNORs수를 측정했던 파라핀 포매 조직을 5 μ m 두께의 절편으로 만들어 탈 파라핀한 후 알콜로 합수 시킨 다음 3% 과산화수소로 20분간 처리하여 내인성 과산화 효소의 작용을 억제시킨 뒤 pH 7.6의 Tris 완충액으로 수세후 정상 염소 혈청을 가하고 20분간 반응시켰다.

여기에 1:50으로 희석한 PCNA에 대한 단 클론성 항체(PC 10, Novocastra Laboratories Ltd.)를 가하고 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 Tris 완충액으로 수세하였다. 다시 Biotin이 결합된 항 토끼, 생쥐 혈청을 가하고 30분간 반응시킨 다음 DAB(3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride)로 양성 세포가 갈색으로 염색될 때까지 발색시킨 후 Ethyl green으로 대조 염색하고 봉입하였다. 염색 결과의 판독은 반응의 강도에 관계없이 핵이 갈색으로 염색된 모든 세포를 양성으로 판정하였으며 양성으로 염색된 세포가 많은 부위를 골라 최소한 1000개 이상의 세포

를 세어 그 중 양성인 세포 수를 계산하여 백분율을 산정하였다.

4) DNA배수성 검색: DNA배수성 검색은 유세포 분석과 화상 분석법 두 가지를 시행하였다.

(1) 유세포 분석; 상기 검사에서 사용한 동일한 파라핀 포매 조직을 50 μ m 두께로 2~3장 잘라 13 \times 100 mm 시험관에 넣고 3 ml의 xylene에 40분씩 2회 방치하여 파라핀을 제거하고 100%, 95%, 70%, 50% 알콜 3~4 ml를 단계적으로 각각 첨가한 후 20분씩 방치하여 함수시켰다. 다음에 PBS(Phosphate buffered saline)에 1시간씩 2회 작용시킨 후 pH1.5의 0.4% pepsin 2 ml를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C 수조에서 30분간 부치후 1500rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액을 버리고 PBS 2 ml를 넣고 10분씩 3회 세척하였다. Citrate 완충액을 100 μ l 가한 뒤 잘 휘저어 조직을 분쇄하였다. Falcon 시험관에 53 μ m 나일론 망을 이용하여 조직을 걸러 세포 부유액을 만든 후 혈구계산기로 세포수를 2 \times 10⁶/ml로 맞춘 다음, 부유액 50 μ l를 옮기고 여기에 Trypsin 완충액 450 μ l를 가하여 37 $^{\circ}$ C 수조에서 10분간 작용시켰다. 계속해서 RNase 375 μ l를 가하고 다시 37 $^{\circ}$ C 수조에서 10분간 작용시킨 다음 Propidium iodine 375 μ l를 가하여 10분간 냉장 보관하였다. FACscan(Becton-Dickson)을 CEN(Chicken erythrocyte nuclei)과 CTN(Calf thymocyte nuclei)으로 CV(Coefficiency of variation)를 점검한 후 Lysis II 프로그램을 이용하여 2만개 세포에서 DNA 함량을 분석하였다.

(2) 화상 분석; 세포가 날인 된 유리 슬라이드를 실온에서 30분내지 2시간 건조시킨 다음 10% 중성 완충 포르말린에 30분간 고정된 후 실온에서 다시 건조시켰다. 5M HCL 용액에서 1시간동안 가수분해 시키고 자력교반기(Magnetic stirrer)위에 올려놓은 상태에서 Schiff 시약으로 1시간동안 염색한 후 수세하고 탈수하여 포매한 다음 CAS 200 Image Analyzer의 DNA ploidy 프로그램을 이용하여 분석하였다. 이때 200개 이상의 세포를 분석하였고 슬라이드에 포함된 정상 림프구와 정상 조직세포의 DNA 양을 내부 기준으로 삼고 프로그램에 들어 있는 표준세포의 DNA 양을 7.18pg으로 하여 검사하는 세포의 DNA 지수를 구하였다.

(3) 히스토그램 분석; 히스토그램에서 하나의 뚜렷한 G0/G1 peak를 보일 경우를 이배수성(Diploidy)으로 하였고, 하나 이상의 G0/G1 peak를 보이며 이에 대응하는 G2/M이 있을때를 비배수성(Aneuploidy)으로 정의하였다. 이 중에서 핵산 지수가 0.90 이하일때는 저이배수성(Hypodiploidy), 1.05보다 크고 1.95보다 작을 때는 과이배수성(Hyperdiploidy)이라고 하였으며 G2/M peak가 전체 세포의 20% 이상이고 핵산 지수가 1.95에서 2.05 사이에 있으면서 8N 부위에 G2/M peak가 관찰될 때는 사배수성

(Tetraploidy), 핵산 지수가 2.05 이상일때는 과사배수성(Hypertetraploidy)으로 정의하였다. 또한 두개 이상의 비배수성 peak가 있을 때는 다배수성(Multiploidy)으로 하였다.

5) 통계학적 분석; 각 군의 유사분열 수를 포함한 조직학적 예후인자, AgNORs수, PCNA 지수, DNA 배수성을 비교하고 재발 및 전이 그리고 사망여부와 상관관계가 있는지 알아보기 위하여 SAS 프로그램을 이용해 T-test와 분산분석(ANOVA) 및 Duncan 방법에 의한 다중비교, 그리고 Chi-square 검정을 실시하였다. 또한 Pearson 상관계수를 구하여 각 인자간의 상관도를 알아보았다.

결 과

1. 임상적 소견 (Table 1)

1) 환자의 성별 및 연령별 분포: 총 39예중 남자는 20명, 여자는 19명으로 남녀 성비는 1.05:1이었다. 환자들의 연령은 최저가 22세, 최고가 71세로서 평균 연령은 52.8세였다. 환자들의 연령 분포는 20대가 2명, 30대가 5명, 40대가 7명, 50대가 12명, 60대가 11명, 70대가 2명으로 주로 50대와 60대에 집중되어 있었다. 종양의 발생 부위별 평균 연령은 식도가 43세, 위장이 53세, 십이지장이 65세, 공회장이 51세, 대장이 50세, 직장이 53세로 식도에서 발생한 종양이 타 부위에 비하여 평균 연령이 비교적 낮았고 십이지장은 더 높았다. 양성 및 저악성군 그리고 고악성군에서의 평균연령은 각각 54세, 54세, 51세로 큰 차이를 보이지 않았다.

2) 종양의 발생 부위별 분포: 종양의 발생 부위는 위장이 18예로 가장 많았고 식도가 2예, 십이지장이 3예, 공회장이 11예, 대장이 2예, 직장이 3예였다. 부위에 따른 양성 및 악성종양의 분포를 보면 위장은 18예중 13예(72%), 그리고 공회장은 11예중 10예(90%)가 악성 종양이었다. 십이지장과 직장에서는 각각 모두 3예중 2예가 악성이었으며 대장은 1예가 악성으로 진단되었다.

3) 임상적 증상 및 치료방법: 양성 종양의 경우 소화불량이나 심와부 불편감등으로 내원하여 내시경 검사나 상부 위장관 조영술에서 우연하게 발견된 예가 많았고 악성 종양은 대개 종괴가 촉진되어 내원하였기 때문에 진단당시 이미 종괴의 크기가 커져 있는 상태였다. 치료는 모두 외과적 절제술을 받았는데 내시경적 용종 절제술이 5예, 종양의 완전 혹은 광역 절제술이 32예, 생검적 절제술이 4예였다. 방사선 치료나 화학요법등의 보조적 치료를 받은 예는 없었다.

4) 종양의 크기: 종양의 크기는 가장 작은 것이 장경 0.7 cm이었고 가장 큰 것은 장경이 21 cm으로 양성 종양은 평균 장경이 3.5 cm, 악성 종양은 13 cm

Table 1. Clinicopathologic findings of gastrointestinal stromal tumors

	Esophagus (n=2)	Stomach (n=18)	Duodenum (n=3)	Jejunioileum (n=11)	Colon (n=2)	Rectum (n=3)	Total (n=39)
Age(m)	33~53(43)	22~71(53)	61~69(65)	33~70(51)	44~58(50)	39~62(53)	22~71(53)
Sex:							
M	2	8	1	6	1	2	20
F	0	10	2	5	1	1	19
Size(m)	1.1~1.2(1.65)	0.7~20(10.2)	1~14(7.5)	3~21(10.9)	11~14(12.5)	4.5~15.5(10)	0.7~21(10.4)
Growth	0/2/1	8/6/4	2/1/0	10/1/0	2/0/0	2/1/0	23/11/6
Grade:							
B(S/E)	2(2/0)	5(5/0)	1(1/0)	1(1/0)	1(1/0)	1(1/0)	11(11/0)
L(S/E)		5(2/3)	1(1/0)	2(2/0)	1(1/0)	2(2/0)	11(8/13)
H(S/E)		8(7/1)	1(1/0)	8(6/2)			17(14/3)
Recur.	0	5	1	6	0	0	13
Meta.	0	7	1	4	0	0	12
Death	0	4	0	1	0	0	5

Size: Diameter, m: Mean, Growth: Extraluminal/Intraluminal/Intramural

B: Benign, L: Low grade, H: High grade, S: Spindle cell type, E: Epithelioid type

Recur.: Recurrence, Meta.: Metastasis.

었는데 저악성군과 고악성군간에 크기의 차이는 없었다(저악성군: 13.1 cm, 고악성군: 12.9 cm). 부위별 종양의 크기는 식도에서 발생한 것이 평균 장경 1.65 cm으로 제일 작았고 십이지장은 7.5 cm, 위장, 공회장, 직장이 각각 10.2 cm, 10.9 cm, 10 cm였으며 대장이 12.5 cm였다.

5) 추적 조사 및 전이, 재발, 사망율: 전체 39예중 추적 조사가 가능했던 예는 모두 34예였는데 그 중 5예가 진단후 2개월부터 53개월만에 사망하였다. 생존자의 추적 기간은 2개월부터 71개월까지였다. 추적 기간중 재발을 보인 예는 13예(진단후 재발까지의 기간: 3개월~30개월, 평균 19개월)로 1예에서는 진단후 14개월과 27개월만에 2회의 재발을 보였다. 전이가 있었던 예는 11예로 6예에서는 처음 진단 당시 이미 전이가 있었고 나머지 5예에서는 진단후 3개월부터 38개월(평균 20개월)만에 타 장기에 전이가 되었다. 전이가 된 장기는 간 7예로 제일 많았고 주변 림프절이 3예, 난소 1예, 방광이 1예였는데 그 중 1예에서는 간과 림프절에 모두 전이가 있었다.

2. 병리학적 소견

1) 육안 소견: 종양을 성장 형태별로 관강외형, 관강내형 그리고 벽내형으로 나누었을 때 관강외형이 23예로 제일 많았고 관강내형은 11예, 벽내형은 6예였다. 각 군별로는 양성군이 4/6/1예(관강외형/관강내형/벽내형), 저악성군이 6/3/2예였으며 고악성군은 13/0/4예로서 고악성군으로 갈수록 관강외형이 많았다. 각 장기별로는 식도 0/2/1예, 위 7/7/4예, 십이지장 2/1/0예, 공회장 10/1/0예, 대장 2/0/0예, 직장이

Table 2. Pathologic findings of gastrointestinal stromal tumors

	Benign (n=11)	Low grade malignancy (n=11)	High grade malignancy (n=17)	Total (n=39)
Tumor size:				
<5 cm	10	0	1	11
≥5 cm	1	11	13	25
Cell Type:				
Spindle	11	8	14	33
Epithelioid	0	3	3	6
Cellularity				
mild	7	1	2	10
moderate	4	6	11	21
severe	0	4	4	8
Cellular atypism				
absent	4	0	0	4
mild	7	7	2	16
moderate	0	4	12	16
severe	0	0	3	3
Mitosis(/10HPF)				
0	11	0	0	11
1~4	0	5	3	8
5~9	0	6	8	14
≥10	0	0	6	6
Necrosis				
present	1	7	8	16
absent	10	4	9	23

(* 3: unrecorded)

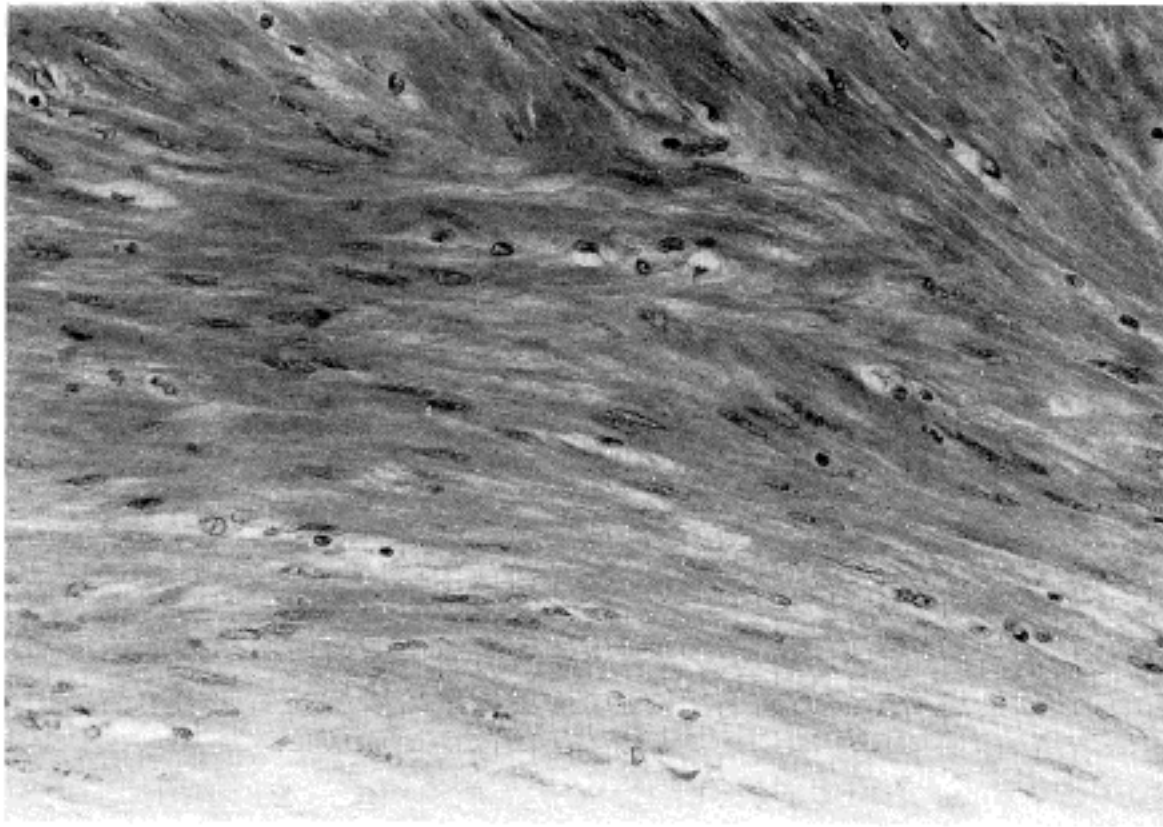


Fig. 1. Benign stromal tumor showing low cellularity without cellular atypism or mitotic figure.

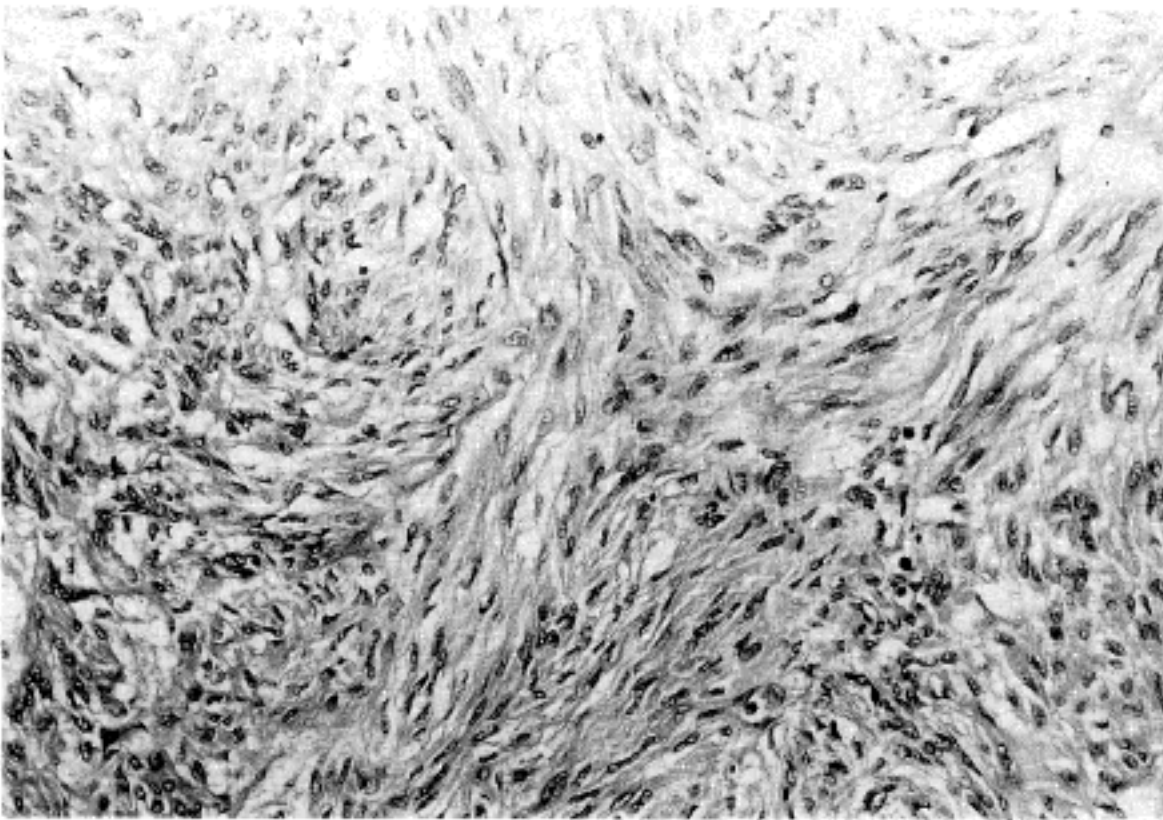


Fig. 2. Malignant stromal tumor of low grade: Fasciculating bundles of spindle cells with moderate degree of cellularity and cellular atypism.

2/0/1 에였다.

2) 조직학적 소견: 양성 종양군은 모두 방추형 세포형으로 이루어져 있었는데 저도 또는 중등도의 세포 밀집도를 보이며 핵의 이형성은 없거나 매우 미약하였다(Fig. 1). 유사분열도 관찰되지 않았으며 괴사도 대부분 없었으나 1 예에서는 관찰되었다(Table 2). 11 예 중 10 예가 자궁의 전형적인 평활근종 혹은 고세포성 평활근종의 조직학적 소견을 보였고 1 예에서는 균일한 크기의 각진 혹은 구부러진 핵을 가진 가늘고 긴 방추형 세포가 느슨하게 배열하고 있어 신경초 세포성 혹

은 섬유아세포성 분화를 의심케 하였지만 일부에서는 연결된 모양의 핵들을 가진 방추형 세포들이 섬유 다발을 이루는 곳도 있었다.

악성 종양군 중 저악성군에서는 방추형 세포형이 8 예, 상피양 세포형이 3 예였는데 핵의 이형성은 미약하거나 중등도로써, 심한 비정형성은 관찰되지 않았다. 세포밀집도는 중등도 또는 고도로 양성 종양에 비하여 높은 편이었고(Fig. 2) 유사분열도 10HPF 당 최저 1 개부터 최고 9 개까지(평균 4.55 ± 2.66) 관찰되었다(Fig. 3). 괴사가 7 예에서 있었고 2 예에서는 점액성

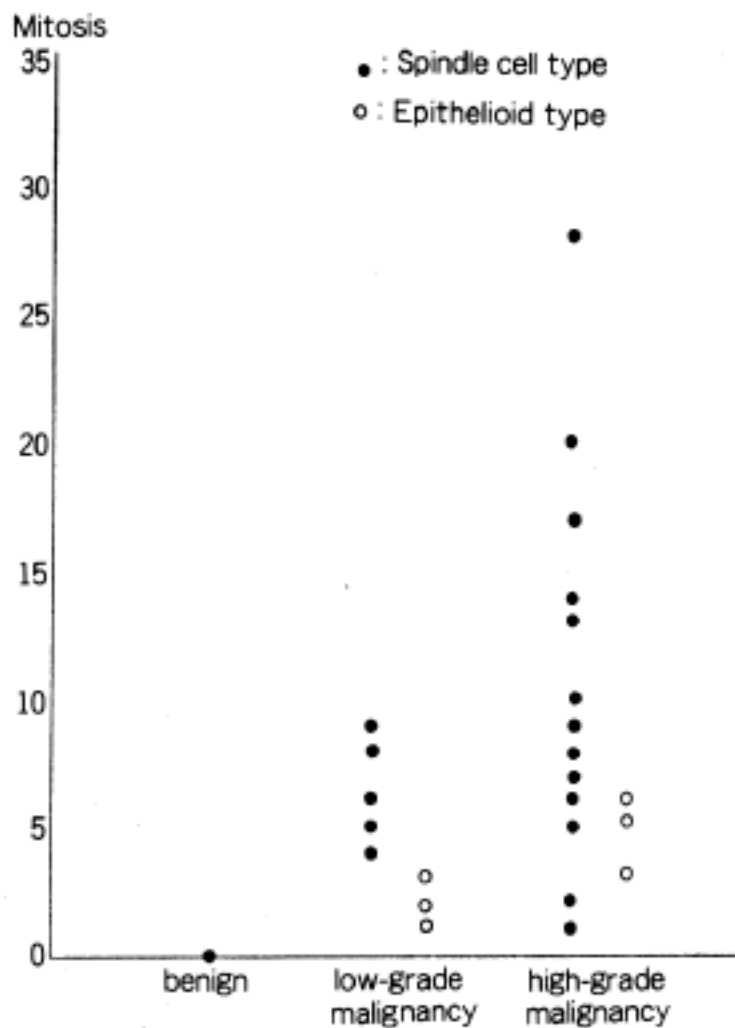


Fig. 3. Scattergram showing mean numbers of mitosis in three grades of gastrointestinal stromal tumors.

혹은 남성 변성이 있었다. 종양의 크기도 비교적 커서 장경이 최하 7 cm 그리고 최고 21 cm이었다.

고악성군의 종양에서는 방추형 세포형이 15예, 상피양 세포형이 3예로 저악성군에 비해 핵의 이형성과 세포 밀집도가 약간 증가된 양상을 보였다(Fig. 4). 유사분열 수는 10HPF당 1개부터 28개까지 관찰되었다(평균 9.35 ± 7.10)(Fig. 3). 3예에서는 유사분열수가 3개 이하로써 세포 밀집도가 중등도이고 핵의 이형성도 미약하거나 중등도였음에도 불구하고 2예에서는 진단 당시 이미 복강내에 다발성으로 퍼져 있었고 1예에서는 재발을 보였다. 이들은 모두 소장에서(공장 1예, 회장 2예) 발생하였고 크기는 각각 장경이 7 cm, 12 cm, 12.5 cm이었다. 악성군은 대부분 타 장기의 평활근 육종같은 조직학적 소견을 보여 주었으나 다만 고악성군 1예에서는 마치 신경 섬유종과 유사한 조직학적 양상을 보이면서 국소적으로 희미하게 평활근양 분화를 보이고 있었는데 비정형성 유사분열이 자주 관찰되었다. 괴사는 모두 8예에서 있었다.

세 군의 유사분열 수 평균은 통계학적으로 유의한 차이가 있었다($P=0.0001$). 그러나 저악성군과 고악성군에서 부분적으로 중복을 보였기 때문에 유사분열 수만으로는 두 군을 감별할 수 없다고 보았다. 세포 유형에 따른 유사분열 수의 차이를 보면 상피양 세포형이 평균 $3.3 \pm 1.86/10\text{HPF}$ (저악성군: $2 \pm 1/10\text{HPF}$, 고악성군: $4.67 \pm 1.53/10\text{HPF}$), 방추형 세포형이 $5.73 \pm 6.77/10\text{HPF}$ (저악성군: $5.5 \pm 2.45/10\text{HPF}$, 고악성군: $10.36 \pm 7.45/10\text{HPF}$)로 상피양 세포형의 유사

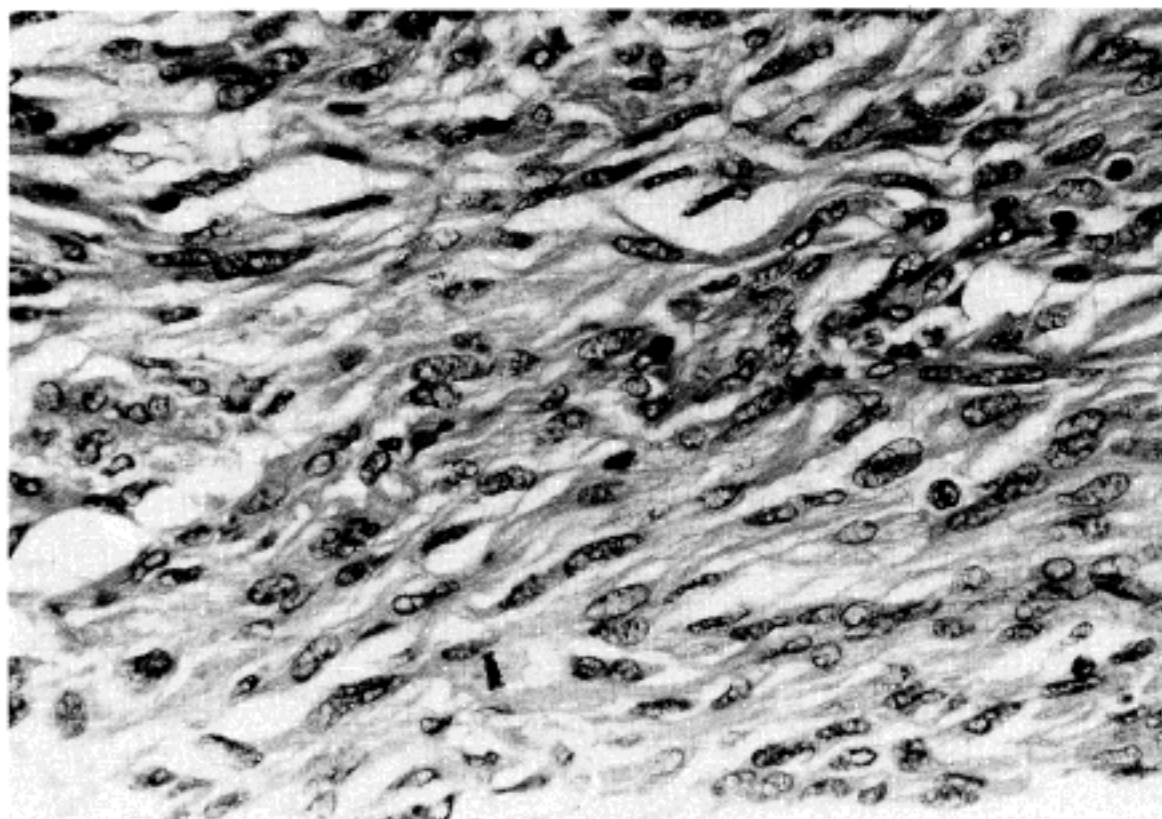


Fig. 4. Malignant stromal tumor of high grade showing marked cellular atypism and occasional mitotic figure.

분열 수가 더 적었다(Table 3). 세포 밀집도, 핵의 이형성, 괴사등의 다른 조직학적 인자들도 통계학적으로 세 군간에 유의한 차이($P < 0.05$)가 있었지만 각 군간에 부분적인 중복을 보였다. 그러나 핵의 심한 이형성은 고악성군에서만 관찰된 소견이었다.

3. AgNORs

Silver 염색 결과, AgNORs는 종양 세포의 핵 내에서 검은 점으로 염색되어 나타났는데 양성 종양에서

는 비교적 크기가 일정하였으나(Fig. 5) 악성 종양에서는 수가 증가되고 크기도 다양해지면서 불규칙하게 응집되거나 미세하게 작은 점으로 흩어져 있기도 하였다(Fig. 6, 7). 각 군별로 관찰된 AgNORs 수는 다음과 같다(Fig. 8). 양성군, 저악성군 및 고악성군에서 관찰된 AgNORs 수는 각각 1.08~1.78, 2.26~3.36, 3.81~5.78의 범주에 속하여 중복이 없었으며 세 군의 AgNORs 수 평균치는 양성군 1.50 ± 0.24 , 저악성군 2.82 ± 0.34 , 고악성군 4.59 ± 0.47 로 이들은 통계적으

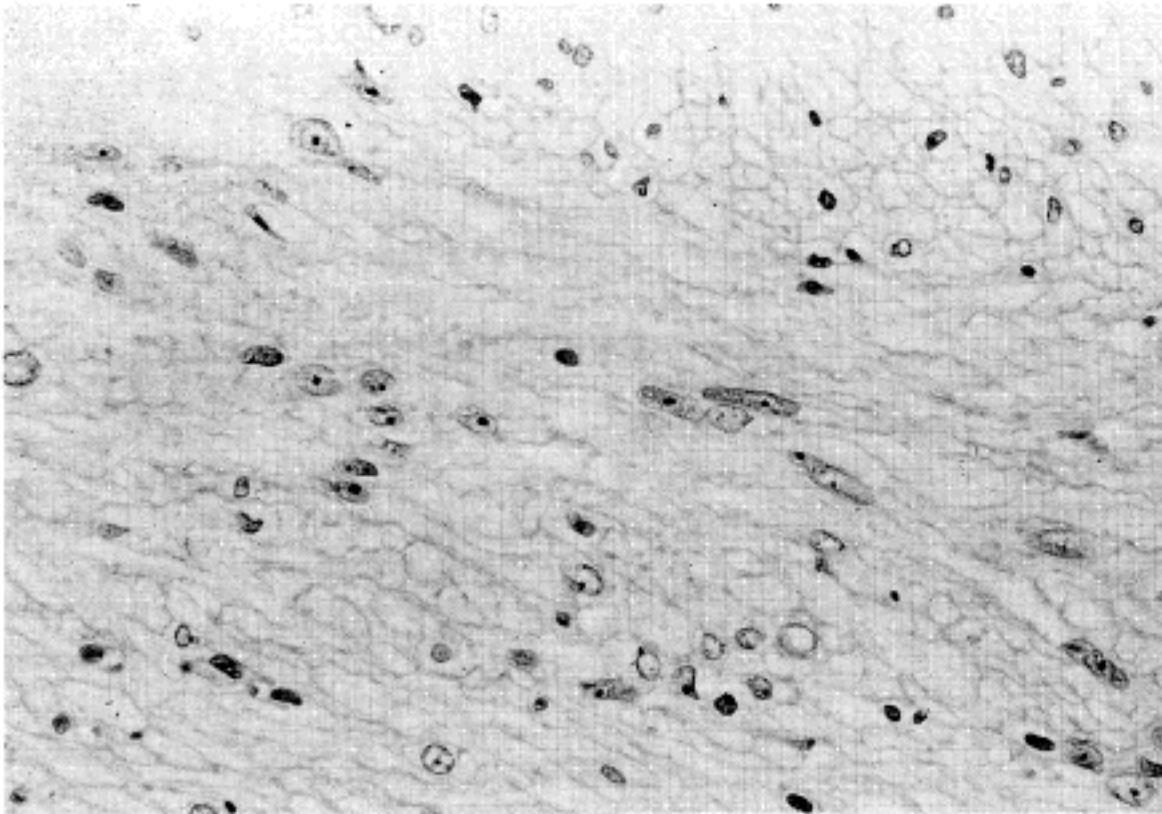


Fig. 5. Cells of benign stromal tumor contain only one, uniformly round AgNOR in each nuclei(Silver stain).

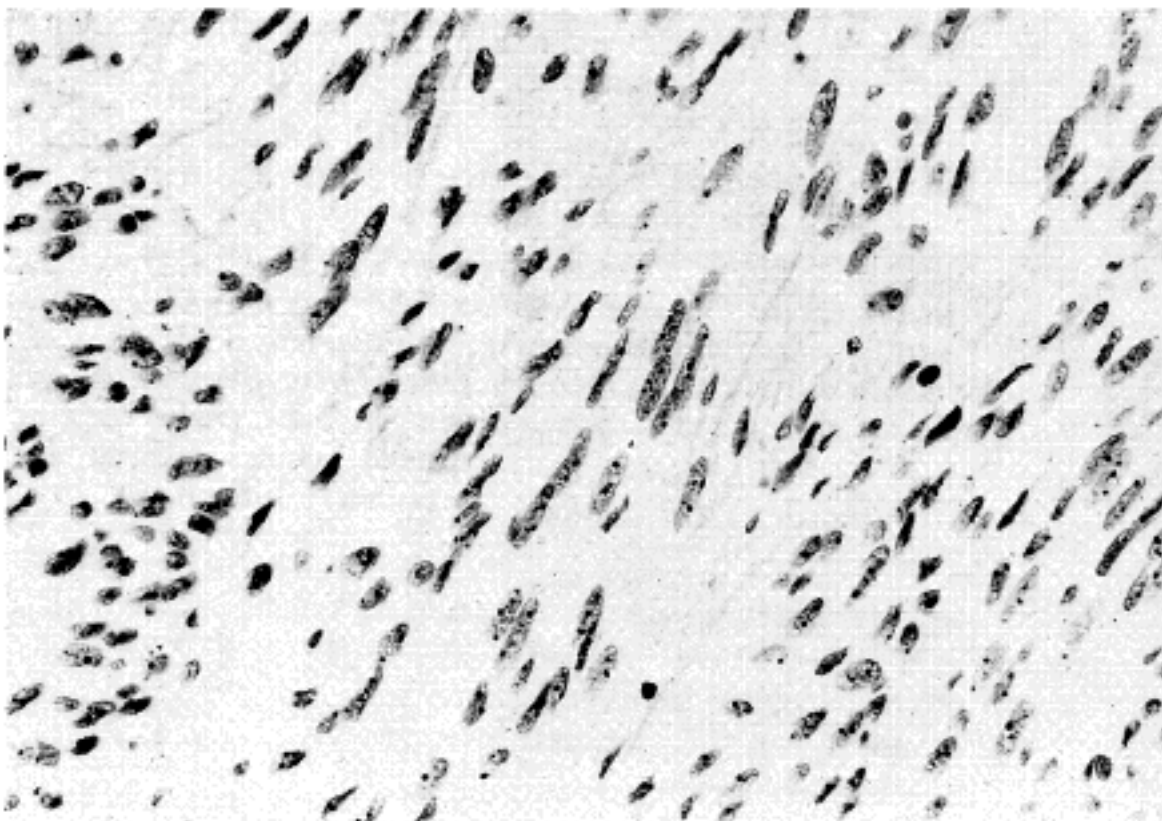


Fig. 6. AgNORs in malignant stromal tumor of low grade: Most tumor cells contain two to four AgNORs in their nuclei (Silver stain).

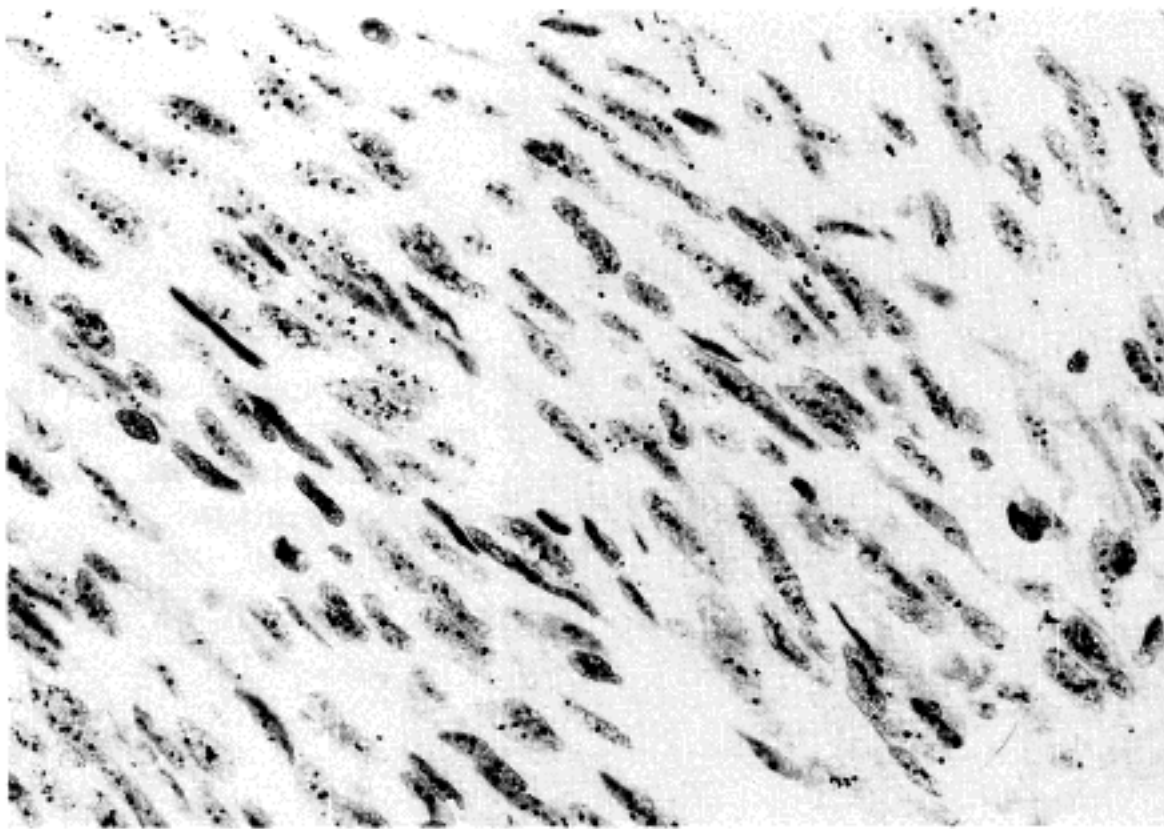


Fig. 7. AgNORs in malignant stromal tumor of high grade: Numbers of AgNORs are increased and their size is variable in comparison with those of low grade tumors(Silver stain).

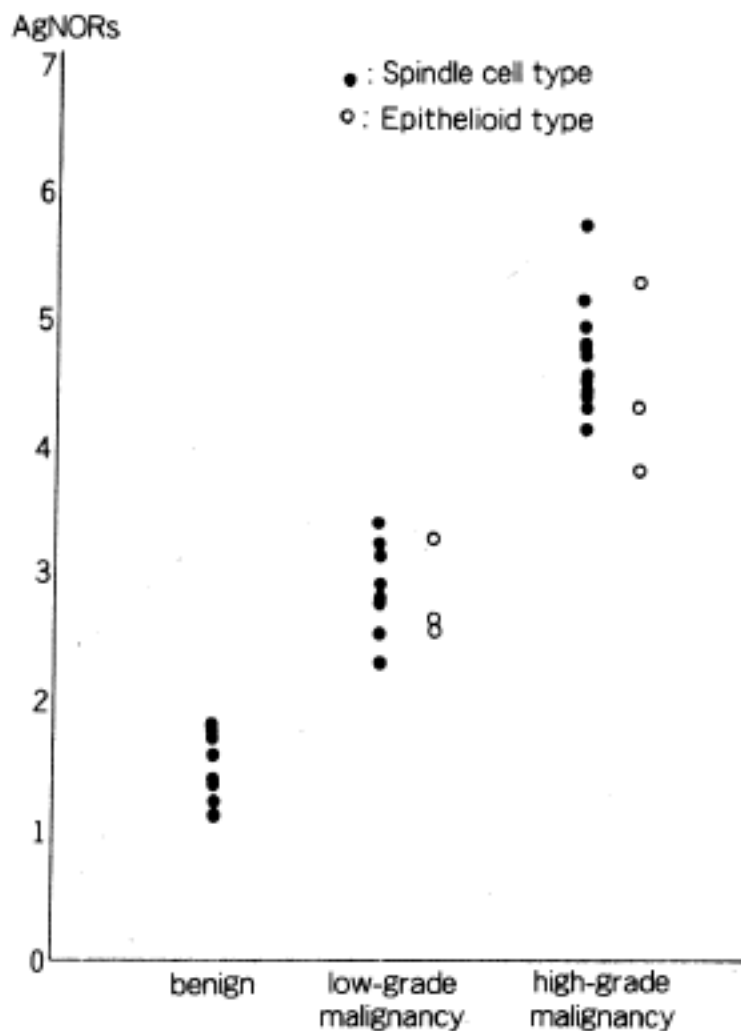


Fig. 8. Scattergram showing mean numbers of AgNORs in three grades of gastrointestinal stromal tumors.

로 유의한 차이가 있었다($P=0.0001$). 세포 유형에 따른 AgNORs 수의 차이는 거의 없었다(Table 3).

4. PCNA 지수

PCNA 면역 조직화학염색에 양성인 세포들은 핵이 갈색으로 염색되었는데 이들의 염색상은 크게 세가지로 나누어졌다. 즉 핵 전체에 균일하게 염색되거나 미세한 과립상 혹은 거칠고 성근 과립상의 염색상을 보였는데 양성군에서는 균일하게 혹은 미세한 과립상의 염색상을 보였고(Fig. 9) 저악성군과 고악성군에서는 세 가지 염색 양상이 모두 관찰되었다(Fig. 10, 11). 특히 고악성군에서는 PCNA가 성근 과립상으로 염색되는 세포들이 저악성군에 비하여 자주 눈에 띄었다(Fig. 12).

각 군의 PCNA 지수는(Fig. 13, Table 3), 양성군에서 1.2%~14.1%(평균 5.92 ± 3.65), 저악성군에서 8.2%~31.4%(평균 17.90 ± 9.07), 고악성군에서 28.4%~83.6%(평균 48.31 ± 12.82)의 범주 내에서 분포하고 있었다. 이들 세 군의 평균 PCNA 지수는 통계적으로 유의한 차이가 있었지만($P=0.0001$), 각 군의 개별적인 PCNA 지수들은 부분적으로 약간의 중복을 보였다. 또한 방추형 세포형과 상피양 세포형에서도 PCNA 지수의 차이가 있어 상피양 세포형이 방추형 세포형에 비하여 그 값이 더 낮았다.

5. DNA 배수성

전체 39예 중 35예만이 유세포 측정법에 의해

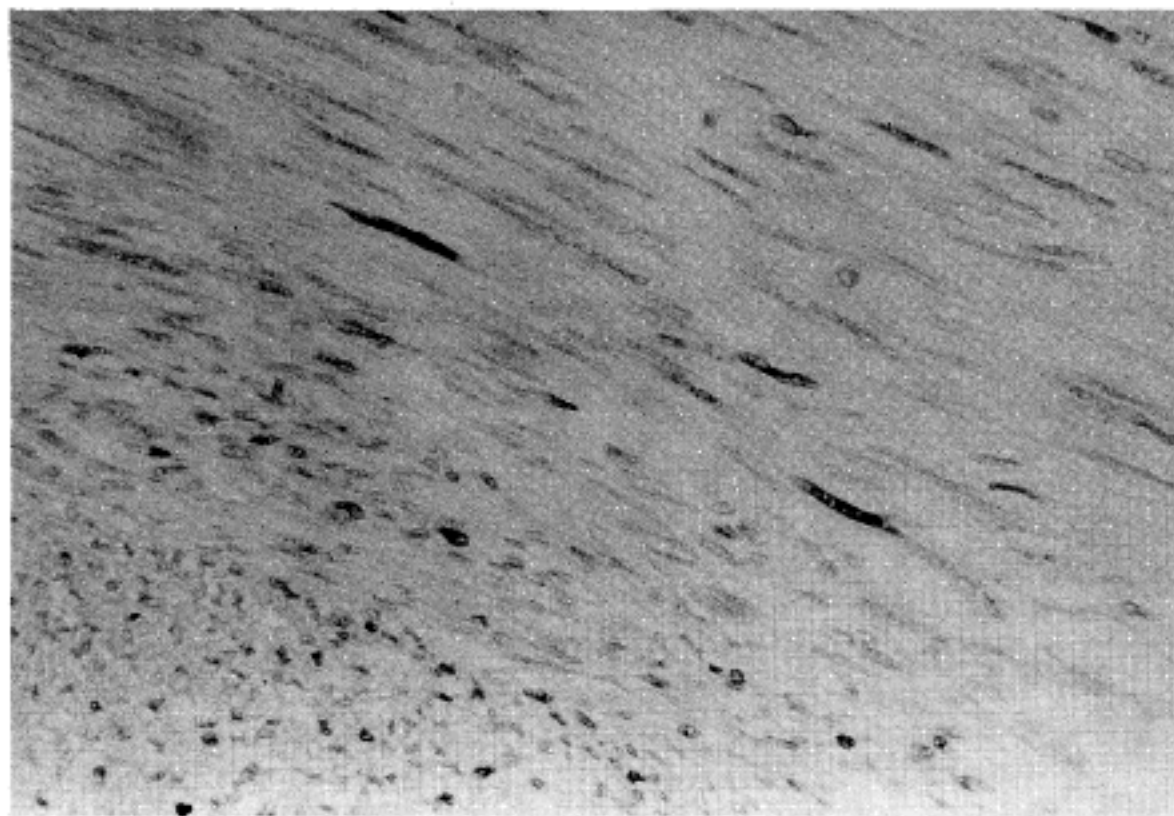


Fig. 9. PCNA immunostaining in benign stromal tumor: Two nuclei are positively stained. They show dense, fine granular staining pattern.

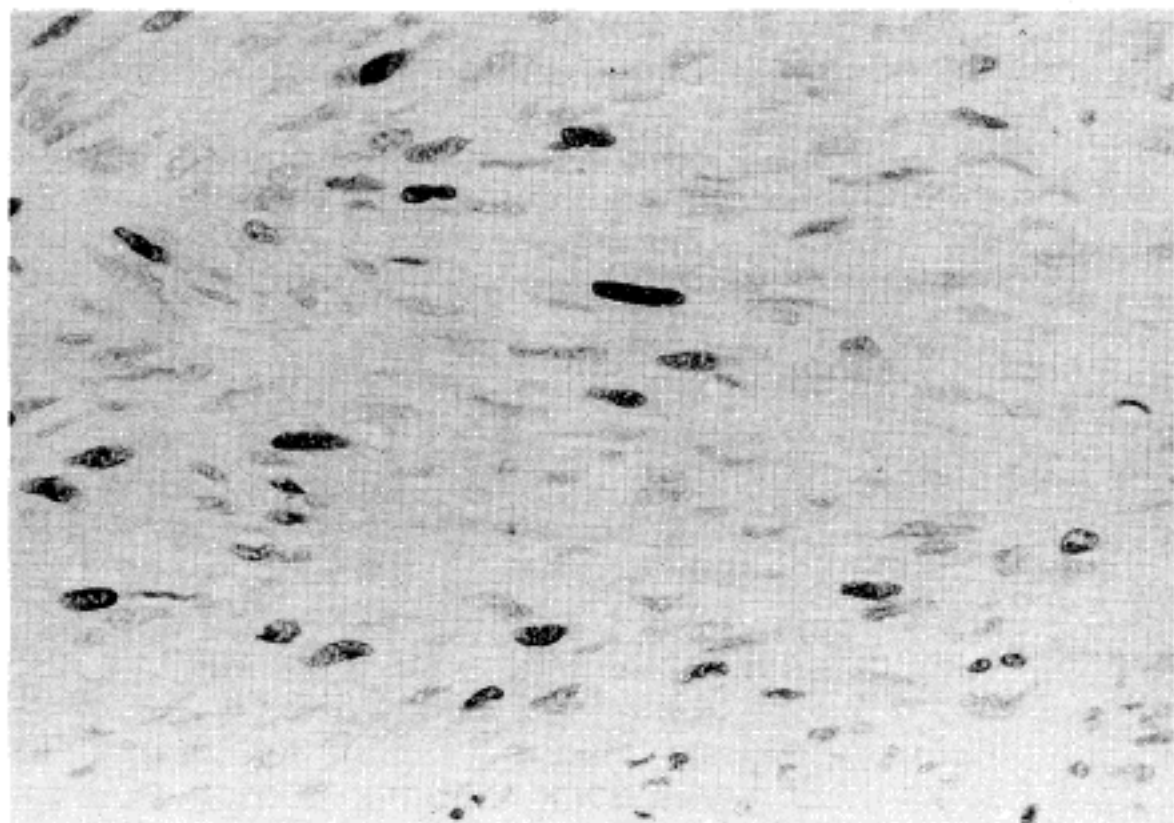


Fig. 10. PCNA immunostaining in malignant stromal tumor of low grade: Positively stained nuclei are easily found. They reveal homogenous or granular staining pattern.

DNA 배수성 분석이 가능하였다. 화상 분석은 전 예에서 실시하였는데 유세포 측정법과 화상 분석법의 배수성 결과가 일치 되지 않은 예는 1예로서 이 종양은 유세포 측정법에서 비배수성을 보였고 화상 분석법에서는 이배수성을 보였는데 최종 해석은 비배수성을 갖는 것으로 하였다. 나머지의 두 방법 모두 시행한 34예에서는 배수성의 결과가 일치되었고, 유세포 측정에 의한 분석이 불가능했던 4예에서는 화상 분석에 의해 얻은 배수성을 취하였다. 배수성 검색 결과 양성 종양군은 대부분(10예) 이배수성을 보였으나(Fig. 14) 1예

에서는 비배수성이 관찰되었다. 이 종양은 장경이 4.3 cm으로 회장에서 발생하였는데 임상적으로나 조직학적으로 악성의 증거가 전혀 없어 양성으로 간주하였지만 수술 후 현재까지 6개월 밖에 경과되지 않았기 때문에 앞으로 계속 추적 관찰을 해 볼 필요가 있다고 보았다. 저악성군에서는 비배수성이 5예, 이배수성이 6예였다. 고악성군에서는 대부분(16예) 비배수성이었고(Fig. 15) 단 1예만이 이배수성으로, 악성도가 높아질수록 비배수성이 많아지는 경향을 보였다(Table 3). 세 군간의 배수성 차이는 통계학적으로 유의하였다(P

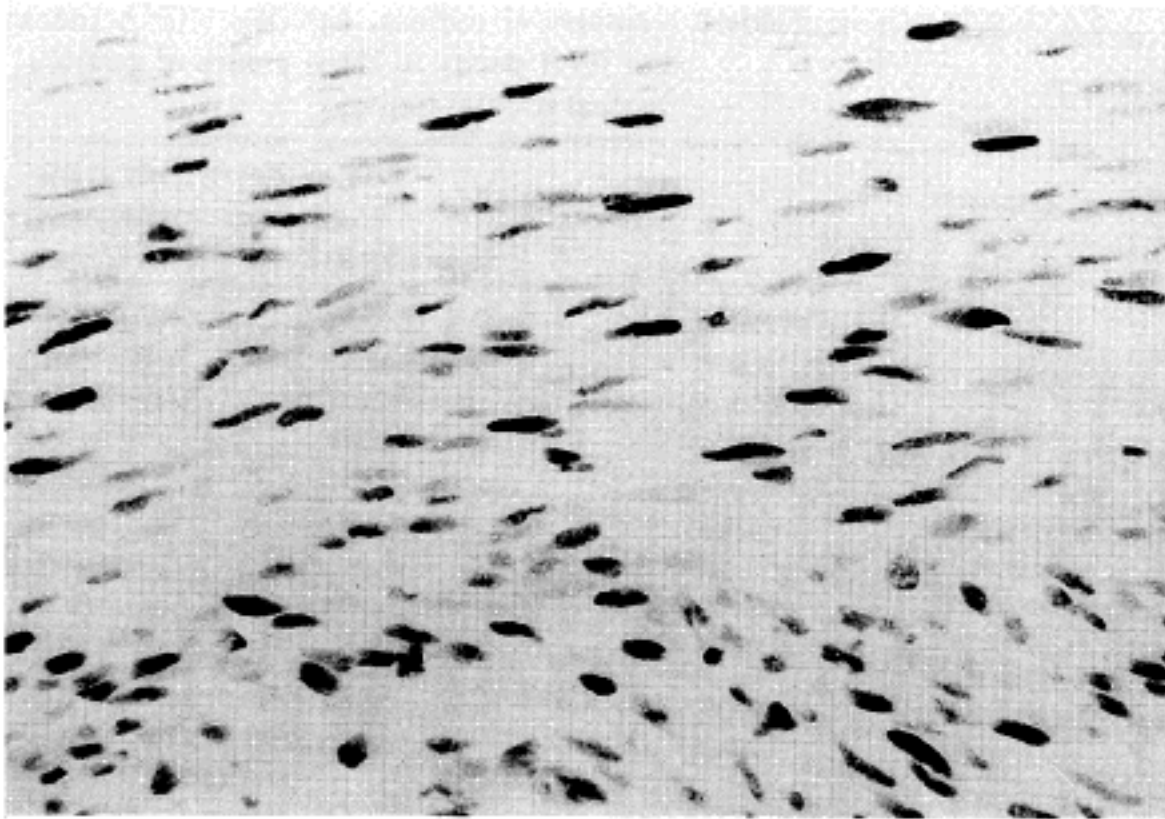


Fig. 11. PCNA immunostaining in malignant stromal tumor of high grade with 40% of PCNA index.

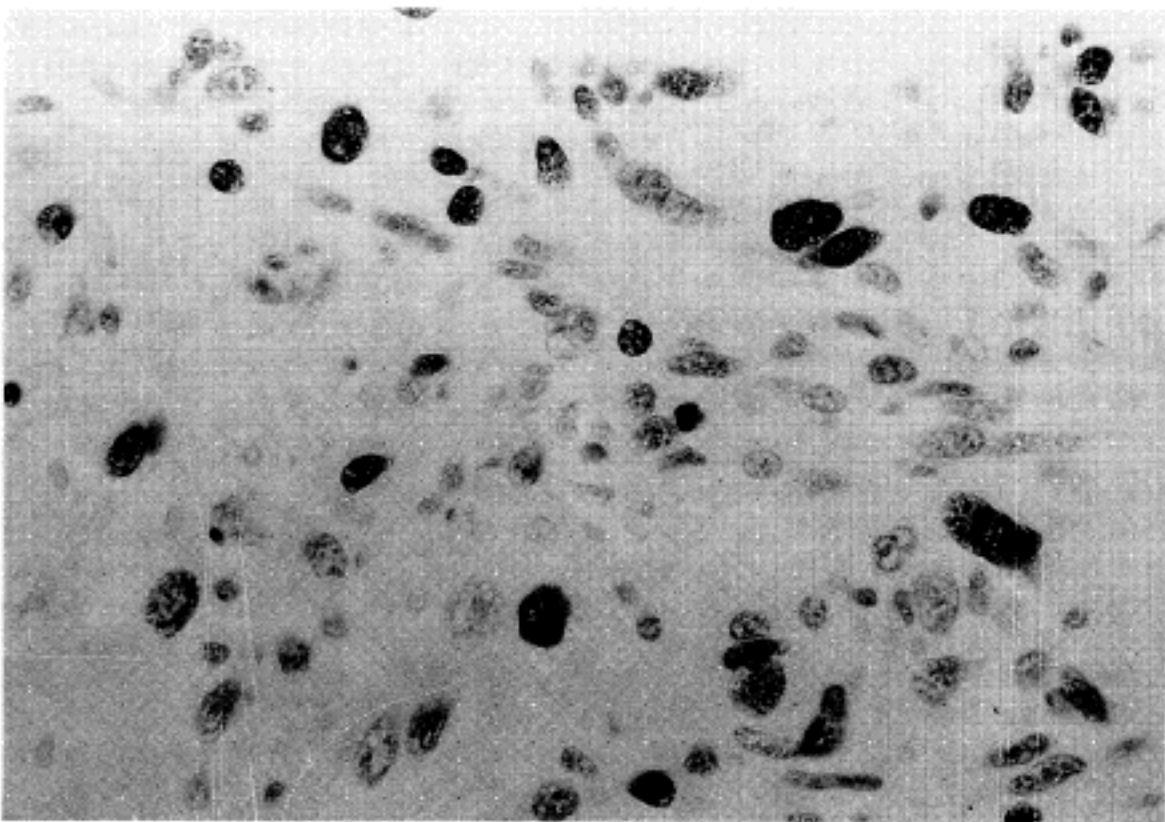


Fig. 12. PCNA immunostaining in malignant stromal tumor of high grade: The staining pattern is coarsely granular.

=0.000).

종양을 핵산 지수 범위에 따라 다시 세분해보면 총 22예의 비배수성 종양중 과배수성 종양이 15예(양성군: 0예, 저악성군: 5예, 고악성군: 10예), 사배수성 종양은 6예(양성군: 1예, 저악성군: 0예, 고악성군: 5예), 과사배수성 종양은 1예(고악성군)였다.

6. 각 인자간의 상호 관계 및 환자의 예후와의 관련성

통계학적 분석에서 AgNORs 수와 PCNA 지수는

상관계수(r)가 0.86으로 강한 상관 관계를 보였고 (Fig. 16), 유사분열 수와 AgNORs 수($r=0.61$) (Fig. 17), 유사분열 수와 PCNA 지수($r=0.70$)는 중등도의 상관성을 보였다(Fig. 18). 또한 본 연구 결과에서 핵의 이형성, 유사분열수, AgNORs 수, PCNA 지수 그리고 DNA 배수성은 재발, 전이, 사망을 보인 군(양성군+저악성군)과 보이지 않은 군(고악성군)간에 통계적으로 유의한 차이를 보여($P=0.001$) 예후 판별에 도움을 줄 수 있는 것으로 나타났다. 그러나 핵의 이형성, 유사분열 수, PCNA 지수 그리고 DNA 배수

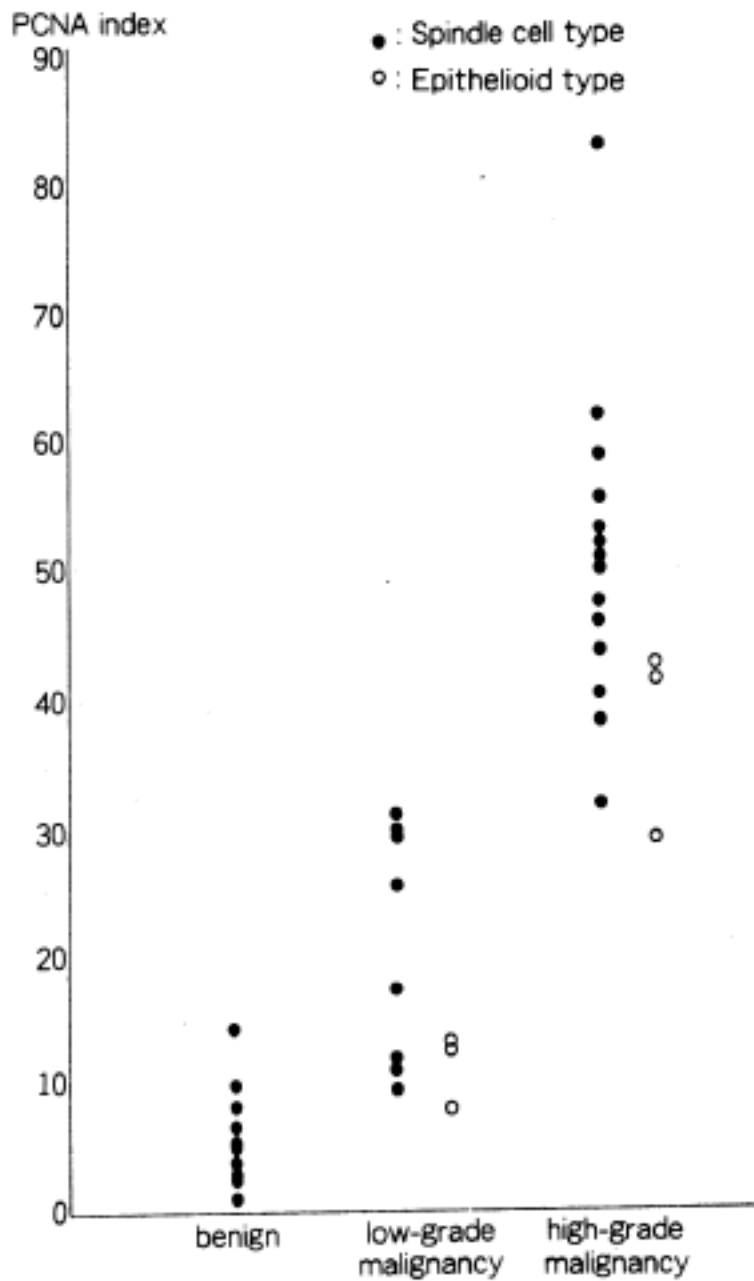


Fig. 13. Scattergram showing mean percentage of PCNA index in three grades of gastrointestinal stromal tumors.

성은 두 군간에 부분적으로 중복을 보였기 때문에, 단독으로 사용하였을 때 그것만으로는 예후 예측의 절대적인 기준은 될 수 없다고 판단되었다. 한편 다른 조직학적 인자들, 즉 세포 밀집도와 괴사는 두 군간에 유의한 차이가 없었을 뿐 아니라 ($P > 0.01$), 중복도 심하였기 때문에 예후 판별에 별 도움이 못 될 것으로 생각되었다.

하지만 AgNORs 수는 2와 3.8을 경계로 세 군의 경계가 명확히 지워졌는데 특히 AgNORs 수 3.8을 경계로, 3.8이상인 군과 미만인 군으로 나누어 두 군에서 재발, 전이, 사망율을 비교해 보았을 때 AgNORs 수 3.8 이상인 군에서는 재발이 71%, 전이가 71%, 사망이 36%에서 있었던 반면 3.8 미만인 군에서는 재발, 전이, 사망이 없어 좋은 대비를 이루었다 ($P < 0.01$). PCNA 지수도 대략 38%를 경계로 예후의 차이를 보였는데, 38% 이상인 군에서는 재발이 73

Table 3. Numbers of mitosis, AgNORs, PCNA index and DNA ploidy in three grades of gastrointestinal stromal tumors.

	Benign (S=11)	Low grade malignancy (S=8, E=3)	High grade malignancy (S=14, E=3)
Mitosis:			
mean	0	4.55 ± 2.66	9.35 ± 7.10
(range)	(0)	(1~9)	(1~28)
		S: 5.5 ± 2.45 (1~9)	S: 10.36 ± 7.45 (1~28)
		E: 2 ± 1 (1~3)	E: 4.67 ± 1.53 (3~6)
AgNORs:			
mean	1.50 ± 0.24	2.82 ± 0.34	4.59 ± 0.47
(range)	(1.08~1.78)	(2.26~3.36)	(3.81~5.78)
		S: 2.83 ± 0.36 (2.26~3.36)	S: 4.62 ± 0.42 (4.11~5.78)
		E: 2.78 ± 0.35 (2.56~3.19)	E: 4.44 ± 0.73 (3.81~5.24)
PCNA index:			
mean	5.92 ± 3.65	17.9 ± 9.07	48.3 ± 12.82
(range)	(1.2~14.1)	(8.2~31.4)	(28.4~83.6)
		S: 20.5 ± 9.36 (9.4~31.4)	S: 50.7 ± 12.59 (30.9~83.6)
		E: 11.0 ± 2.40 (8.2~12.5)	E: 37.2 ± 7.64 (28.4~42.2)
DNA ploidy:			
Diploidy	10	6	1
(n)	(S=10)	(S=5, E=1)	(E=1)
Aneuploidy	1	5	16
(n)	(S=1)	(S=3, E=2)	(S=15, E=1)

%, 전이가 73%, 사망은 38%에서 있었지만 38% 미만인 군에서는 재발이 4%, 전이가 4%, 사망이 0%로, 38% 이상인 군에 비하여 재발, 전이, 사망율이 훨씬 낮았다 ($P < 0.01$). 또한 DNA 배수성도 비배수성군과 이배수성군으로 나누어 같은 비교를 해보면 비배수성군에서는 재발이 55%, 전이가 50%, 사망이 25%에서 있었고 이배수성군에서는 재발 0%, 전이 6%, 사망이 0%로 비배수성군에 비하여 낮았다 ($P < 0.01$) (Table 4). 각 방법을 단독으로 사용했을 때와 병용했을 때 예후 예측에 있어서 위양성율과 위음성율을 비교해보면 AgNORs 수 측정법이 단독으로도 유용한 검사법이지만 AgNORs 수 측정과 PCNA 지수를 같이 구하는 것이 결과가 더 우수한 것으로 나타났다. 그러나 세 가지 혹은 네 가지 방법을 모두 사용했을 때는 위

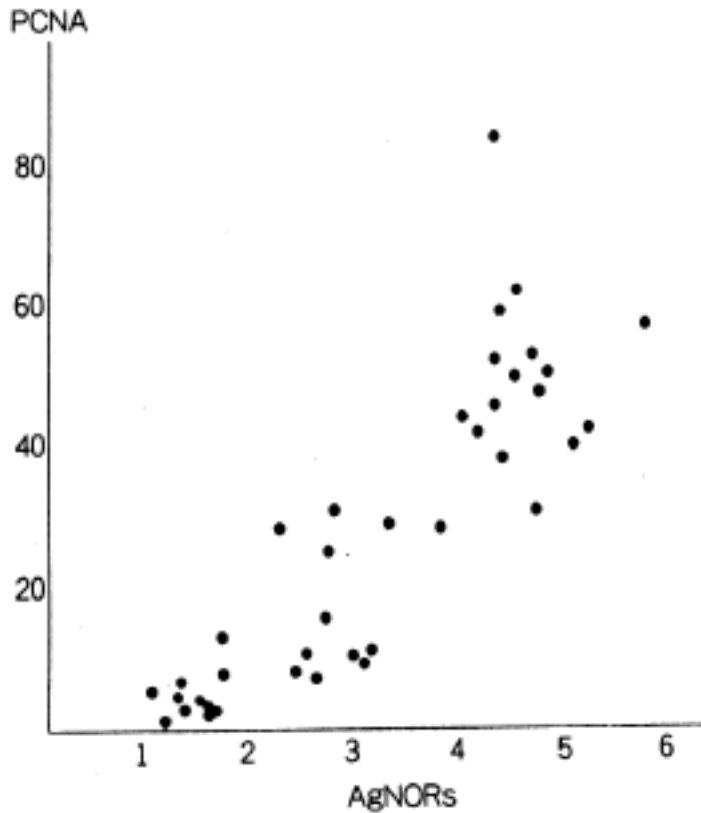


Fig. 16. Correlation between AgNORs count and PCNA labelling index in gastrointestinal stromal tumors.

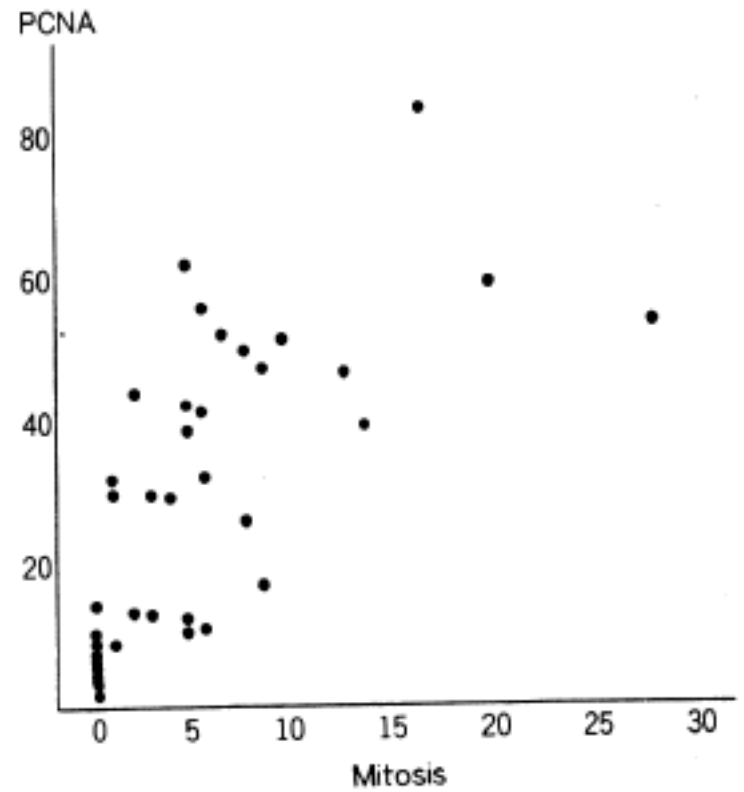


Fig. 18. Correlation between mitosis count and PCNA labelling index in gastrointestinal stromal tumors.

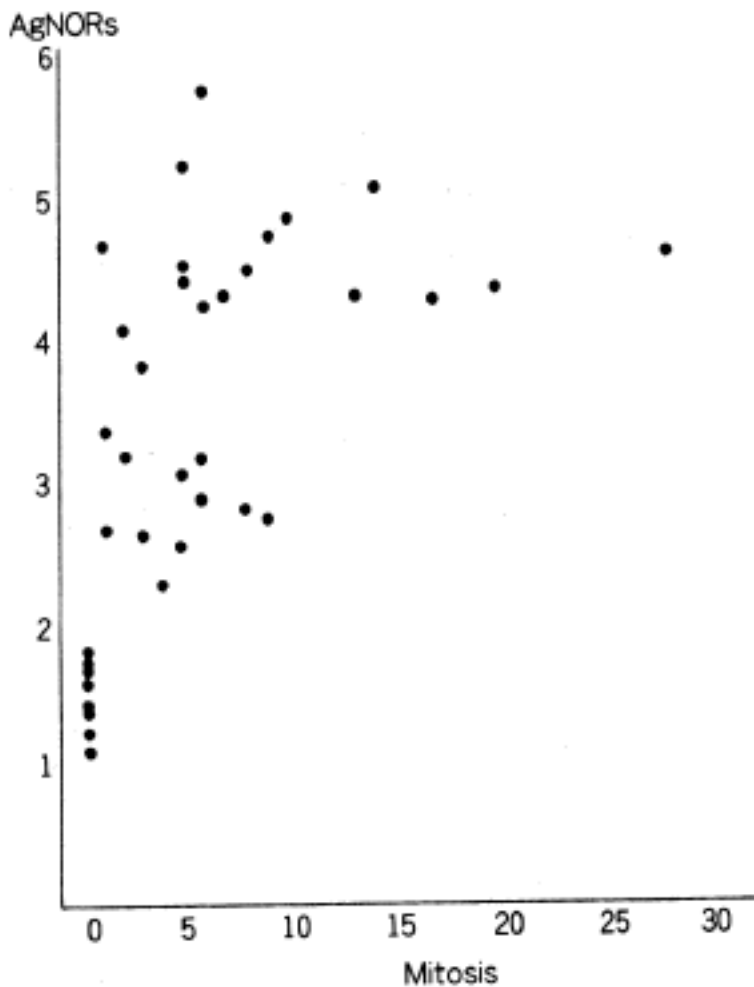


Fig. 17. Correlation between AgNORs count and mitosis in gastrointestinal stromal tumors.

련이 있다고 알려져 있다. 특히 이 중에서 유사분열 수는 가장 중요한 인자로 간주되고 있는데^{4,5,8-17)} 유사분열 수가 높을수록 예후가 나쁜 것으로 인정되고 있지만 위장관 간질 종양에서 악성으로 판정하는 유사분열 수의 기준에 대해서는 논란이 많다. Newman등⁴⁾은 상피양 세포형의 간질 종양에서는 30HPF당 3개 이상, 방추형 세포형의 경우 세포의 이형성이 없을 때는 30HPF당 6개 이상 이상, 이형성과 과염색증이 있을 때는 30HPF당 4개 이상으로 기준을 삼고 있으며, Ranchod¹⁴⁾는 10HPF당 5개 이상이면 명백한 악성이고 0~4개일 경우에는 일부에서(70예중 18예) 악성의 경과를 보일 수 있기 때문에 이 때는 종양의 크기, 핵의 이형성, 세포 밀집도를 고려해서 악성도를 판별해야 한다고 하였는데 Rosai¹⁶⁾는 이를 "Smooth Muscle Tumor of Undeterminate Malignant Potential(STUMP)"로 명명할 것을 제안하였다. 그러나 Evans¹³⁾의 조사에 의하면 유사분열 수가 1~5개였던 13예중 11예가 평균 생존 기간 98개월만에 결국 사망하였기 때문에 그는 1개 이상을 악성의 기준으로 하고 10개 이상일 경우는 고악성군, 1~9개이면 저악성군으로 분류하였다. 또한 Cooper등¹¹⁾이 보고한 바에 따르면 위장관 간질 종양 102예를 대상으로 한 연구에서 1예는 유사분열이 관찰되지 않았음에도 불구하고 발병후 6년만에 이 질환으로 인해 사망하였고 다른 1예에서는 10HPF당 유사분열 수가 7개 관찰되었지

Table 4. Incidence of recurrence, metastasis and tumor-related death: combination with AgNORs numbers, PCNA index and DNA ploidy

	AgNORs		PCNA index		DNA ploidy	
	<3.8(n=22)	≥3.8(n=17)	<38%(n=24)	≥38%(n=15)	D(n=17)	A(n=22)
Recur	0(0%)	12(71%)	1(4%)	11(73%)	0(0%)	12(55%)
Non-recur	22(100%)	5(29%)	23(96%)	4(27%)	17(100%)	10(45%)
Metastasis	0(0%)	12(71%)	1(4%)	11(73%)	1(6%)	11(50%)
Non-metastasis	22(100%)	5(29%)	23(96%)	4(27%)	16(94%)	11(50%)
Dead	0(0%)	5(36%)	0(0%)	5(38%)	0(0%)	5(25%)
Live	20(100%)	9(64%)	21(100%)	8(62%)	14(100%)	15(75%)

5: missing during follow up

Table 5. Sensitivity, specificity and overall accuracy for prediction of recurrence, metastasis and death

	Recurrence			Metastasis			Death		
	False + (%)	False - (%)	Accuracy (%)	False + (%)	False - (%)	Accuracy (%)	False + (%)	False - (%)	Accuracy (%)
Single parameter									
M	37.0	16.7	69.2	33.3	8.3	74.4	44.8	0	61.8
D	37.0	0	74.4	40.7	0	69.2	51.7	0	55.9
A	18.5	0	87.2	18.5	0	87.2	31.6	0	73.5
P	14.8	8.3	87.2	14.8	8.3	87.2	27.6	0	76.5
Double parameter									
M+D	34.8	0	75.8	33.3	8.3	75.8	47.8	0	60.7
A+D	20.0	0	87.5	23.8	0	84.4	39.1	0	67.9
M+P	19.0	9.1	84.4	15.0	8.3	87.5	31.8	0	74.1
P+D	19.0	0	87.5	20.0	9.0	84.4	36.4	0	70.4
M+A	20.0	0	86.7	15.8	0	90.0	33.3	0	73.1
A+P	15.4	0	89.2	15.4	0	89.2	28.6	0	75.8
Triple parameter									
M+P+D	21.1	0	86.2	17.6	8.3	86.2	36.8	0	70.8
M+A+D	22.2	0	85.7	17.6	0	89.3	36.8	0	70.8
A+P+D	20.0	0	87.1	20.0	0	87.1	36.4	0	70.4
M+A+P	20.0	0	86.7	15.8	0	90.0	33.3	0	73.1
Quadruple parameter									
M+A+P+D	28.6	0	84.0	28.6	0	84.0	47.1	0	63.6

M: Mitosis(+: M ≥ 5, -: M ≤ 4)

A: AgNORs(+: AgNORs ≥ 3.8, -: AgNORs < 3.8)

P: PCNA index(+: P.I ≥ 38%, -: P.I < 38%)

D: DNA ploidy(+: Aneuploidy, -: Diploidy)

만 7년동안 재발이나 전이의 증거없이 잘 생존하고 있었다.

본 연구 결과에서는 유사분열 수가 악성도 및 예후와 관련이 있는 것으로 나타났으나 저악성군과 고악성군에서 상당한 중복을 보였고 고악성군 1예에서는

10HPF당 유사분열 수가 1개로 양성의 조직학적 소견을 보였어도 수술(공장의 부분 절제술)후 3년뒤에 소장에 다발성으로 재발이 되었기 때문에 유사분열 수가 반드시 예후와 일치하는 것은 아니라고 보았다. 따라서 유사분열 수를 토대로 한 기준 단독만으로는 악

성도나 예후 판단의 절대적 근거가 될 수 없고, 다른 기준 척도를 같이 적용하는 것이 필요하다.

특히 주목해야 할 점은 유사분열 수가 관찰되지 않았음에도 불구하고 사망한 Cooper¹¹⁾의 1예와 본 결과의 상기 1예가 각각 회장과 공장에서 발생했다는 것으로써 소장의 간질 종양에서는 유사 분열 수가 아무리 낮아도 결코 악성의 가능성을 배제해서는 안 된다는 것을 시사해주고 있다. Goldman 등¹⁷⁾도 이와 비슷한 지적을 한 바 있는데, 그는 십이지장의 간질 종양은 위장에서와는 달리 20 HPF당 유사 분열 수가 1개만 관찰되어도 악성의 가능성이 있는 것으로 보아야 한다고 하였다. 또한 Ueyama 등⁵⁾은 소장의 악성 간질 종양이 위장에 비하여 예후가 훨씬 나빠 위장의 경우는 10년 생존율이 74%이나 소장에서는 17%라고 보고하였다. 기타 다른 조직학적 인자들 중 세포밀집도와 괴사는 본 연구에서 저악성군과 고악성군간에 큰 차이를 보이지 않았기 때문에 예후 판별에 그리 도움이 되지 못한다고 보았다. 그러나 한 가지 예외로, 심한 이형성은 고악성군에서만 관찰되었기 때문에 세포의 이형성이 심할 때는 예후가 나쁠 가능성이 높다고 할 수 있겠다. 종양의 크기는 대체로 악성군이 양성군에 비하여 컸으나 저악성군과 고악성군간에 크기의 차이는 거의 없어, 예후를 예측하는 데 도움을 주지 못함 것으로 생각되었다.

최근에는 여러가지 다양한 세포 증식능 측정법을 이용하여 종양의 악성도를 알아 보려는 시도가 많은 종양에서 활발하게 이루어 지고 있다. 현재까지 알려진 세포 증식능 측정법으로서 가장 간단하고 기초적인 유사분열 수 측정부터 Thymidine labelling index, Bromodeoxyuridine 흡수정도¹⁸⁾, Ki-67 항체를 이용한 면역효소염색¹⁹⁻²¹⁾, DNA flow cytometry²²⁻²⁵⁾, Nucleolar organizer region과 연관된 단백질 은호기성을 이용한 AgNORs 수 측정법²⁶⁻²⁹⁾ 등이 있다. 그 외에도 PCNA³⁰⁻³³⁾, C₅F₁₀, P53 transformation-related protein, myc-oncogene protein 등이 증식성 세포에서 표현되는 핵 단백질로 알려져 이들 역시 종양의 악성도를 규명하는 데 이용되고 있다^{33,34)}. Nucleolar organizer region은 ribosomal RNA를 전사하는 DNA 고리로 5쌍의 선단부 부착 염색체(13, 14, 15, 21, 22)의 단원에 위치하는데^{28,35)} 정상 세포에서 이들은 핵소체내에서 강하게 하나로 응집되어 있다 가 세포의 증식이 활발해지면 분산되어 악성 세포에서는 양성 세포에 비해 더 많은 AgNORs 수를 보이게 된다³⁶⁾. PCNA는 DNA 중합효소의 보조 단백질로 DNA 합성에 필수적이며 세포 주기와 연관이 있어 후기 G1 phase부터 나타나 S phase에 최고에 도달하였다가 G2, M phase에는 다시 감소하게 된다^{33,34,37,38)}.

AgNORs 수와 PCNA 지수가 악성 림프종, 위암, 자궁경부암, 방광암을 비롯한 다수의 종양에서 종양 세포의 증식력 및 예후와 연관이 있다는 보고가 많이

발표되었지만³⁹⁻⁴³⁾ 일부에서는 이와 상반된 결과들을 보고 하였다⁴⁴⁻⁴⁶⁾. 이처럼 같은 종류의 종양이라도 그 결과가 일치되지 않는 것은 우선 두 방법 모두 세는 과정에 있어서 각 개인의 주관적 요소가 가미되기 때문에 관찰자간에 오차가 있으며⁴⁷⁾, 한 종양에서도 부위에 따라 결과의 차이가 많이 날 수 있고⁴⁸⁾ 조직의 고정, 반응 시간, 세는 방법등에 따라 그 결과가 달라질 수 있기 때문에^{49,50)} 저자들에 따라 다른 결과가 나올 수 있다.

위장관 간질 종양에서도 이런 상반된 결과가 보고되어 있는데 Yu 등⁵¹⁾은 위장관 간질 종양에서 AgNORs 염색과 PCNA 면역조직화학 염색을 시행한 결과 이 두 가지 방법은 모두 유사분열 수를 토대로 나눈 조직학적 등급과 상관성이 높았으며 AgNORs 수, PCNA 지수, 유사분열 수는 모두 생존율과 연관이 있다고 보고하였다. 한편 조 등¹⁰⁾은 위장관 간질 종양에서 AgNORs 수와 병리학적 예후 인자들의 예후 관련 여부를 조사해 본 결과 유사분열 수가 예후 인자로서 가장 가치가 높았고 종양의 크기와 괴사도 환자의 생존율과 관련이 있었으나 AgNORs 수는 생존율과 관련이 없다고 보고하였다. 본 연구에서는 AgNORs 수와 PCNA 지수가 모두 종양의 악성도가 높을수록 그 수도 증가되는 추세를 보였는데 특히 AgNORs 수는 각 군간에 중복이 없었으며 3.8을 경계로 예후에 큰 대비를 보였기 때문에 예후 판정의 객관적인 기준을 제시해 줄 수 있다고 보았다. PCNA 지수는 세 군간에 약간의 중복이 있어 이것만으로 예후를 판정하기에는 무리가 있겠지만 38%를 경계로 예후에 큰 차이를 보이기 때문에 어느 정도의 도움은 줄 수 있다고 생각된다. 또한 본 연구에서는 상피양 세포형이 방추형 세포형에 비하여 PCNA 지수가 낮은 경향을 보였는데 Yu 등⁵¹⁾의 결과에서도 방추형 세포형은 평균 PCNA 지수가 38.78%였지만 상피양 세포형은 3.84%로 훨씬 낮게 나왔다.

Bravo⁵²⁾는 면역형광 분석상 PCNA에는 두 가지 population이 존재한다고 밝힌 바 있는데 즉 핵질에 균일하게 퍼져 분포하는 군과 DNA replication site에 강하게 결합되어 과립상 분포를 보이는 군으로써 전자는 후자에 비하여 detergent에 의해 쉽게 추출되기 때문에 Methacarn같은 유기 용매에 고정된 세포에서는 과립상의 염색성만 보일 수 있다고 하였다. S phase에는 이 두 가지 군이 모두 존재하고 정지 세포(Quiet cell)와 G1 phase에는 핵질에 분포하는 군만 관찰되는데, 즉 S phase에는 PCNA가 핵 내에서 주로 replicative complex를 형성하여 DNA 합성에 중요한 역할을 하다가 S phase 말기에는 핵질에 분산되기 때문이다. 만약 그의 설명대로라면 본 연구에서 거칠고 성균 과립상의 염색상을 보였던 세포들은 S phase 중반에, 왕성하게 replicative complex를 형성하고 있는 세포들이고 미세한 과립상이나 균일한

염색상을 보인 세포들은 G1 phase 혹은 S phase 후반의 세포들이라는 가정이 성립된다. 이 같은 가정하에 저자의 결과에서 고악성군의 세포들이 양성군이나 저악성군의 세포들에 비해 성근 과립상의 염색성을 더 자주 보이는 것은 S phase의 활발하게 DNA를 합성하는 세포가 더 많다는 간접적인 증거가 될 수 있다고 보았다.

본 연구에서는 DNA 배수성 검색도 같이 시행하였는데 이 방법은 비경제적이고 세포를 파괴시켜야 하며 표본에 비종양성 세포가 혼합될 가능성이 있다는 단점이 있으나 위에서 언급한 다른 방법들에 비해 많은 수의 세포들을 자동화된 방법으로 훨씬 쉽고 빠르고 정확하게 분석할 수 있다는 장점이 있다⁵³⁾. DNA 배수성이 예후와 밀접한 관련이 있다는 것은 이미 잘 알려진 사실로서 Merkel과 McGuire등⁵⁴⁾은 고형 종양중 유방암, 폐암, 대장암, 직장암, 난소암, 신 세포암, 방광암, 전립선암, 자궁 내막암에서 비배수성일 경우 이 배수성에 비해 예후가 나쁘다고 하였다. Kiyabu등⁵⁵⁾도 고악성도의 위장관 평활근 육종에서 비배수성이 많이 관찰되기 때문에 비배수성을 보일 때는 예후가 나쁘다고 하였다. 또한 Cooper등¹¹⁾은 위장관 간질 종양에서 10 HPF당 유사분열 수가 10개 이상일 때는 거의 예외없이 악성의 행동 양상을 취하고 2개 이하일 때는 대개 양성의 경로를 밟는데 그 중간군에서는 종양의 행동 양상을 예측하기가 아주 어려워 이 때는 DNA의 배수성이 예후를 예측하는데 아주 유용하다고 하였다. 본 결과에서도 대체로 종양의 악성도가 높아질수록 비배수성을 보이는 경우가 많아지고 비배수성군이 이배수성군에 비하여 재발, 전이, 사망율이 높았기 때문에 배수성이 종양의 악성도 및 예후 판별에 도움을 줄 수 있는 것으로 나타났지만 세 군간에 중복을 보이기 때문에 절대적인 판단 기준은 될 수 없다고 보았다.

본 연구의 결과를 종합해보면 위장관 간질 종양에서 세포의 증식력은 종양의 악성도와 연관이 있으며 유사분열 수 측정, AgNORs 수 측정, PCNA 지수, DNA 배수성 분석은 모두 진단 및 예후 판정에 도움을 줄 수 있다. 그러나 AgNORs 수를 제외한 나머지 다른 인자들은 단독으로 적용했을 때 결과에 위양성이나 위음성이 나올 가능성이 비교적 높으며, AgNORs 수는 본 연구에서 가장 유용한 예후 인자로 나타났지만 이 방법은 관찰자들에 따라 결과가 일치되지 않을 수도 있다는 단점을 내포하고 있다. 따라서 이런 모든 점들을 고려해 볼 때 어떤 한 가지 방법만을 사용하기 보다는 두 가지 이상의 방법을 병용하는 것이 각 방법의 단점을 상호 보완해 줄 수 있기 때문에 위장관 간질 종양의 악성도 판별 및 예후 추정에서 있어서 보다 정확을 기해줄 수 있으리라고 사료된다.

결 론

저자는 39예의 위장관 간질 종양을 대상으로 유사분열 수를 비롯한 조직학적 예후 인자들과 AgNORs 염색, PCNA 면역조직화학 염색 그리고 DNA 배수성 검색을 시행한 후 종양의 악성도 및 예후와의 관련성을 비교하여, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 세포 밀집도와 괴사 그리고 크기등은 재발, 전이 그리고 사망을 보인 군과 보이지 않은 군간에 중복이 심하였다.

2) 핵의 이형성, 유사분열 수, AgNORs 수, PCNA 지수 그리고 DNA 배수성은 종양의 조직학적 악성도와 연관이 있었으며 예후와도 관련이 있었다.

3) 핵의 이형성과 유사분열 수는 재발, 전이 그리고 사망을 보인 군과 보이지 않은 군간에 중복이 심하였다.

4) PCNA 지수도 38%이상인 군과 미만인 군에서 전이, 재발 그리고 사망율의 큰 차이를 보였으나 재발, 전이, 사망을 보이지 않은 군과 보인 군간에 약간의 중복이 있었다.

5) DNA 배수성 검색에서도 비배수성군이 이배수성군에 비하여 재발, 전이, 사망율이 훨씬 높았으나 전이, 재발, 사망을 보인군과 보이지 않은 군간에 약간의 중복을 보였다.

6) AgNORs 수는 3.8을 경계로 전이, 재발, 사망을 보인 군과 보이지 않은 군으로 나눌 수 있어 단독 인자로서는 예후 추정에 가장 유용한 것으로 간주되었다.

이상의 결과로 AgNORs 수, PCNA 지수, DNA 배수성은 모두 위장관 간질 종양의 악성도 판별 및 예후 추정에 유용한 진단적 보조 수단이 될 수 있기 때문에, 일반적으로 통용되고 있는 조직학적 기준외에 이 세포 증식능 측정법들을 병용하면 예후 측정 가능성을 더욱 높일 수 있다고 사료되었으며 특히 AgNORs 염색과 PCNA 염색을 함께 시행하는 것이 가장 우수한 결과를 얻을 수 있는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- 1) Hjermsstad BM, Sobin LH, Helwig EB. *Stromal tumors of the gastrointestinal tract: Myogenic or neurogenic?* Am J Surg Pathol 1987; 11: 383-6.
- 2) Saul SH, Rast ML, Brooks JJ. *The immunohistochemistry of gastrointestinal stromal tumors. Evidence supporting an origin from smooth muscle.* Am J Surg Pathol 1987; 11: 464-73.
- 3) Pike AM, Lloyd RV, Appelman HD. *Cell markers in gastrointestinal stromal tumors.* Hum Pathol 1988; 19: 830-4.
- 4) Newman PL, Wadden C, Fletcher CDM. *Gas-*

- trointestinal stromal tumors: Correlation of immunophenotype with clinicopathological features. *J Pathol* 1991; 164: 107-17.
- 5) Ueyama T, Guo KJ, Hashimoto H, Daimaru Y, Enjoji M. A clinicopathologic and immunohistochemical study of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer* 1992; 69: 947-55.
- 6) Franquemont DW, Frierson HFJ. Muscle differentiation and clinicopathologic features of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 947-54.
- 7) 이봉화, 이상철, 우제홍, 이찬영, 서정일, 박효숙. 위장관 육종의 임상 및 병리학적 특성에 관한 연구. *외과학회지* 1989; 36: 720-7.
- 8) Morgan BK, Compton C, Talbert M, Gallacher WJ, Wood WC. Benign smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract. A 24-year experience. *Ann surg* 1990; 211: 63-6.
- 9) 장미수, 김용일, 김우호. 위장관 평활근 종양 -46예에 대한 임상 및 병리학적 검색. *대한병리학회지* 1991; 25: 418-26.
- 10) 조미연, 김호근, 박찬일, 이유복. 소화기 간염 종양의 병리학적 악성도. *대한병리학회지* 1991; 25: 520-38.
- 11) Cooper PN, Quirke P, Hardy GJ, Dixon MF. A flow cytometric, clinical and histological study of stromal neoplasms of the gastrointestinal tract. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 163-70.
- 12) Haque S, Dean PJ. Stromal neoplasms of the rectum and anal canal. *Hum Pathol* 1992; 23: 762-7.
- 13) Evans HL. Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract. A study of 56 cases followed for a minimum of 10 years. *Cancer* 1985; 56: 2242-50.
- 14) Ranchod M, Kempson RL. Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract and retroperitoneum. A pathologic analysis of 100 cases. *Cancer* 1977; 39: 255-62.
- 15) Cecilia MFP, Robert RP, Karl HP. *Atlas of Tumor Pathology, Fascicle 27, Tumors of the intestine, 2nd series, Washington D.C., Armed Forces Institute of Pathology, 1990; 427-51.*
- 16) Rosai J. *Ackerman's Surgical Pathology, 7th ed., Missouri, CV Mosby, 1989; 509-11.*
- 17) Goldman H, Appelman HD, Kaufman N. *Gastrointestinal Pathology, Baltimore, William and Wilkins, 1990; 220-46.*
- 18) Quinn CM, Wright NA. The clinical assessment of proliferation and growth in human tumors: Evaluation of methods and applications as prognostic variables. *J Pathol* 1990; 160: 93-102.
- 19) Dervan PA, Gilmartin LG, Loftus BM, Carnry DN. Breast carcinoma kinetics. Argyrophilic nucleolar organizer region counts correlate with Ki-67 scores. *Am J Clin Pathol* 1989; 92: 401-7.
- 20) Hall PA, Crocker J, Watts A, Stansfeld AG. A comparison of nucleolar organizer region staining and Ki-67 immunostaining in non-Hodgkin's lymphoma. *Histopathol* 1988; 12: 373-81.
- 21) Fontanini G, Pingitore R, Bigini D, Vignati S, Pepe S, Ruggiero A, Macchiarini P. Growth fraction in non-small cell lung cancer estimated by proliferating cell nuclear antigen and comparison with Ki-67 labelling and DNA flow cytometry data. *Am J Pathol* 1992; 141: 1285-90.
- 22) Hitchcock CL, Norris HJ. Flow cytometric analysis of endometrial stromal sarcoma. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 267-71.
- 23) Arber DA, Cook PD, Moser LK, Speights VO. Variation in reference cells for DNA analysis of paraffin-embedded tissue. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 387-92.
- 24) Elsheikh TM, Silverman JF, McCool JW, Riley RS. Comparative DNA analysis of solid tumors by flow cytometric and image analyses of touch imprints and flow cell suspensions. *Am J Clin Pathol* 1992; 98: 296-304.
- 25) Eichhorn JH, Bell DA, Young RH, Swymer CM, Flotte TJ, Preffer FI, Scully RE. DNA content and proliferative activity in ovarian small cell carcinomas of the hypercalcemic type. Implications for diagnosis, prognosis and histogenesis. *Am J Clin Pathol* 1992; 98: 579-86.
- 26) Ochs R, Lischwe M, O'leary P, Busch H. Localization of nucleolar phosphoproteins B23 and C23 during mitosis. *Exp Cell Res* 1983; 146: 139-49.
- 27) Olson MOJ, Thompson BA. Distribution of proteins among chromatin components of nucleoli. *Biochem* 1983; 22: 3187-93.
- 28) Giri DD, Nottingham JF, Lawry J, Dundas SAC, Underwood JCE. Silver binding nucleolar organizer regions (AgNORs) in benign and malignant breast lesions: Correlations with ploidy and growth phase by DNA flow cytometry. *J Pathol* 1989; 157: 307-13.
- 29) Yang AH, Wang TY, Liu HC. Comparative study of the prognostic value of nuclear grade and silver-binding nucleolar organizer region in renal cell carcinoma. *J Pathol* 1992; 166: 157-61.
- 30) Battersby S, Anderson TJ. Correlation of proliferative activity in breast tissue using PCNA/cyclin. *Hum Pathol* 1990; 21: 781.
- 31) Schofield JB, Mansi J, Camplejohn RS, Lane DP, Fisher C. Proliferating cell nuclear antigen and S phase fraction in endometrial stromal sarcoma. *J Clin Pathol* 1992; 45: 664-7.
- 32) Kawakita N; Seki S, Sakaguchi H, Yanai A,

- Kuroki T, Mizoguchi Y, Kobayashi K, Monna T. *Analysis of proliferating hepatocytes using a monoclonal antibody against proliferating cell nuclear antigen/cyclin in embedded tissues from various liver diseases fixed in formaldehyde. Am J Pathol* 1992; 140: 513-20.
- 33) Robbins BA, Vega D, Ogata K, Tan EM, Nakamura RM. *Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies. Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 841-5.
- 34) 강제성, 김인선. 자궁 경부 편평 상피암에서 Proliferating cell nuclear antigen 양성도에 관한 연구. 대한암학회지 1991; 23: 755-68.
- 35) 장희진, 강경하, 박정희, 손진희, 서정일. 위의 정상 및 종양 상피세포에서의 Nucleolar organizer regions에 관한 연구. 대한병리학회지 1992; 26: 451-8.
- 36) Deschenes J, Weidner N. *Nucleolar organizer regions(NOR) in hyperplastic and neoplastic prostate disease. Am J Surg Pathol* 1990; 14: 1148-55.
- 37) Garcia RL, Coltrera MD, Gown AM. *Analysis of proliferative grade using anti-PCNA/cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. Comparison with flow cytometric analysis. Am J Pathol* 1989; 134: 733-9.
- 38) Hall PA, Levison DA, Woods AL, Yu CCW, Kellock DB, Watkins JA, Barnes DM, Gillett CE, Camplejohn R, Dover R, Waseem NH, Lane DP. *Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunolocalization in paraffin sections: An index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. J Pathol* 1990; 162: 285-94.
- 39) Crocker J, Macartney JC, Smith PJ. *Correlation between DNA flow cytometric and nucleolar organizer region data in non-Hodgkin's lymphomas. J Pathol* 1988; 154: 151-6.
- 40) Rosa J, Mehta A, Fillipe MI. *Nucleolar organizer regions, proliferative activity and DNA index in gastric carcinoma. Histopathol* 1990; 16: 614-6.
- 41) Jain S, Fillipe MI, Hall PA, Waseem N, Lane DP, Levison DA. *Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. J Clin Pathol* 1991; 44: 655-9.
- 42) Skopelitou A, Korkolopoulou P, Papanicolaou A, Christodoulou P, Thomas E, Pavlakis K. *Comparative assesment of proliferating cell nuclear antigen immunostaining and of nucleolar organizer region staining in transitional cell carcinomas of the urinary bladder. Eur Urol* 1992; 22: 235-40.
- 43) Allen JP, Gallimore AP. *Nucleolar organizer regions in benign and malignant glandular lesions of the cervix. J Pathol* 1992; 166: 153-6.
- 44) Smith FG, Murray PG, Crocker J. *Correlation between PCNA and AgNOR scores in non-Hodgkin's lymphomas using sequential staining technique. J Clin Pathol* 1993; 46: 28-31.
- 45) Visakorpi T. *Proliferative activity determined by DNA flow cytometry and proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunohistochemistry as a prognostic factor in prostatic carcinoma. J Pathol* 1992; 168: 7-13.
- 46) Leonardi E, Girlando S, Serio G, Mauri FA, Perrone G, Scampini S, Palma PD. *PCNA and Ki67 expression in breast carcinoma. Correlations with clinical and biological variables. J Clin Pathol* 1992; 45: 416-9.
- 47) Falck VG, Novelli MR, Wright NA, Alexander N. *Gastric dysplasia: Inter-observer variation, sulphomucin staining and nucleolar organizer region counting. Histopathol* 1990; 16: 141-9.
- 48) Siitonen SM, Isola JJ, Rantala IS, Helin HJ. *Intratumor variation in cell proliferation in breast carcinoma as determined by anti-proliferating cell nuclear antigen monoclonal antibody and automated image analysis. Am J Clin Pathol* 1993; 99: 226-31.
- 49) Start RD, Cross SS, Clelland C, Silcocks PB, Rogers K, Smith JHF. *Delay in fixation does not affect the immunoreactivity of proliferating cell nuclear antigen(PCNA). J Pathol* 1992; 168: 197-9.
- 50) Crocker J, Boldy DAR, Egan MJ. *How should we count AgNORs? Proposals for a standardized approach. J Pathol* 1989; 158: 185-8.
- 51) Yu CCW, Fletcher CDM, Newman PL, Goodlad JR, Burton JC, Levison DA. *A comparison of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunostaining, nucleolar organizer region(AgNOR) staining, and histological grading in gastrointestinal stromal tumors. J Pathol* 1992; 166: 147-52.
- 52) Bravo R, Macdonald H. *Existence of two populations of Cyclin/proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle: Association with DNA replication sites. J Cell Biol* 1987; 105: 1549-54.
- 53) Hall PA, Levison DA. *Review: Assessment of cell proliferation in histological material. J Clin Pathol* 1990; 43: 184-92.
- 54) Merkel DE, McGuire WL. *Ploidy, proliferative activity and prognosis. DNA flow cytometry of solid tumors. Cancer* 1990; 65: 1194-205.
- 55) Kiyabu MT, Bishop PC, Parker JW, Turner RR, Fitzgibbons PL. *Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract. Flow cytometric quantitation of DNA and nuclear antigen content and correlation with histologic grade. Am J Surg Pathol* 1988; 12: 954-60.