

결직장 선암종의 예후인자로서 DNA배수성과 합성기분획의 가치에 관한 관찰

인제대학교 의과대학 부산백병원 병리학교실 · 노원을지병원 해부병리과*

양 영 일 · 주 종 은*

Prognostic Implications of DNA Ploidy and S-phase Fraction Comparing with Other Prognostic Factors in Advanced Colorectal Adenocarcinomas

Young Il Yang, M.D. and Jong Eun Joo, M.D.*

Department of Pathology, Pusan Paik Hospital, Inje University College of Medicine

*Department of Pathology, Nowon Eulji Hospital

Dukes' stage of colorectal carcinoma has proven to be the most reliable and conventional prognostic indicator, followed by histological grade, lymph node metastases, tumor size, vascular and neural invasion. Flow cytometric analysis of DNA ploidy and S-phase fraction(SPF) was examined to elucidate the correlations between sex, age, preoperative serum carcinoembryonic antigen(CEA) value, Dukes' stage, tumor site, size, gross features, histologic grade, and survival rate in 117 paraffin-embedded tissues of 68 cases of colorectal adenocarcinoma in Dukes' stage B, C and 39 cases of colorectal adenoma and 10 cases of normal colonic mucosa. DNA aneuploidy was detected in 30 cases(44%) in adenocarcinomas and 6 cases (15%) in adenomas. Although the DNA ploidy and SPF did not show any correlation with sex, age, preoperative serum CEA level, Dukes' stage, tumor size, site and gross features, the incidence of DNA aneuploidy in the moderately differentiated adenocarcinomas was significantly higher than that of the well differentiated adenocarcinomas($P=0.0127$). A apparent correlation was found between survival rate and DNA ploidy, Dukes' stage, histologic grade and preoperative serum CEA value. Dukes' stage was the most reliable prognostic indicator($P=0.0106$), followed by histologic grade ($P=0.0230$), DNA aneuploidy ($P=0.0251$) and preoperative serum CEA level. ($P=0.0369$) In the patients with Dukes' stage C, DNA aneuploidy was more important than histologic grade as a prognostic indicator. ($P=0.0202$) Although high SPF, greater than 21% in adenocarcinoma, was associated with the lower 5-year survival rate(12.0%), it was not statistically significant. These results suggest that DNA aneuploidy is regarded as biologic aggressiveness and considered as independent and/or dependent prognostic indicator along with Dukes' stage. However, prognostic utility of the SPF was not significant. (**Korean J Pathol 1995; 29: 170~180**)

Key Words: Colorectum, Adenocarcinoma, DNA Ploidy, S-phase Fraction, Prognosis

서 론

결직장 암종은 구미에서 가장 많은 발생 빈도를 차

지하며 수술수기 및 추가적인 치료방법의 발전에도 불구하고 암 사망원인의 2위를 나타내고 있다¹⁾. 이러한 결직장 암종의 예후에 영향을 주는 인자들 중 50년 전 부터 사용되고 있는 임상적 병기(Dukes' stage) 및 조직학적 분화도가 정확하며 중요한 예후인자로 사용되고 있다^{2,3)}. 그러나 Dukes 병기는 수술시 림프절 박리범위의 차이, 병리학적 표본취급의 차이와 같은 인자들에 의해 영향을 받으며⁴⁾ 조직학적 분화도에 있

접 수: 1994년 5월 25일, 게재승인: 1994년 10월 26일
주 소: 부산시 부산진구 개금동 633-165, 우편번호 614-735
인제대학교 의과대학 부산백병원 해부병리과, 양영일

어서도 각 등급을 구분하는 객관성이 부족하기 때문에⁵⁾ 기존의 예후인자들 만으로 결직장 암종의 다양한 생물학적 악성도 및 임상경과를 추정하는데 있어서는 적지 않은 어려움이 따른다. 따라서 객관적인 예후 추정인자를 찾고자 많은 연구가 시도되었고 최근에는 유세포분석기를 이용한 DNA 분석 및 합성기분획(S-phase fraction, SPF) 측정⁶⁻²⁴⁾, 세포증식 항원인 Ki-67^{25,26)}, Proliferative cell nuclear antigen (PCNA)²⁷⁾ 등의 항원을 이용한 면역조직화학 검사, 은호기성 염색²⁸⁾, 유전자 및 표현형 발현의 연구방법들²⁹⁻³³⁾이 이용되고 있다. 그러나 각 연구방법은 상반된 결과가 보고되고 있으며 현재까지는 예후를 정확하게 추정할 수 있는 인자로서는 부족하다 하겠다. 유세포분석기를 이용한 DNA 배수성 및 SPF의 측정은 1983년 Hedley 등³⁴⁾이 분석방법을 개발한 이후 신선 조직 및 파라핀 포매조직을 이용하여 여러 장기에서 예후인자로서 적용되고 있다³⁵⁻⁴¹⁾. 결직장 암종에서 이수배수체의 빈도는 40~80%까지 다양한 빈도로 보고⁶⁻²⁴⁾되고 있으며 국내에서는 박등²²⁾이 66%로 보고하였을 뿐이다. 예후 추정인자로서 이수배수체와 SPF가 갖는 중요성과 기존의 Dukes 병기 및 병리학적 인자의 연관성에 관하여 많은 상반된 결과가 보고되고 있다. 결직장 암종에서 이수배수체는 독립적 예후인자로서 의의는 있으나 Dukes 병기 보다는 미약한 인자로 작용한다는 보고가^{6,9,10)} 있고 또한 기존의 어떠한 독립적 예후 추정인자보다 가장 민감한 인자라는 보고도 있다⁸⁾. 그러나 예후인자로서 이수배수체는 유효한 가치가 없다는 상반된 결과도 보고되고 있다^{7,13,24)}. 유세포분석기를 이용한 DNA 배수성 및 SPF가 갖는 예후 인자로서의 상반된 보고는 각 기관마다 검사방법 및 결과해석의 차이, 한 종양 내에서 나타나는 이형성^{18,45-49)} 의양성과⁵⁰⁾ 같은 문제점들이 기인한다고 생각된다. 국내보고에서 결직장 암종을 대상으로 이수배수체 및 SPF를 예후 추정인자로서 생존율과 비교한 연구는 참조할 수 없었기에 현재 저자들이 사용하고 있는 방법을 기준으로 결직장 암종의 90% 이상을 차지하는 선암종 중 Dukes 병기가 B 이상이며, 근치적 절제술을 시행한 68예의 파라핀 포매조직을 이용하여 DNA 배수성 및 합성기분획을 측정하고 기존 임상 및 병리학적 예후인자와 생존율과의 연관성을 규명하고자 하였다.

연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

1983년 1월부터 1987년 5월까지 외과적으로 절제된 원발성 결직장 선암종 중 Dukes 병기가 A인 경우, 결직장 이외의 부위에 원발성 종양이 있는 경우, 비근치적 절제수술을 받은 경우, 수술 이전에 암종에 대한 치료를 받은 경우, 암종으로 인하여 대장이 천공

된 경우를 제외한 68예의 파라핀 포매조직을 연구대상으로 하였다. 선암종 68예 중 20예에 있어서는 암종 병소 주위에 독립된 선종을 동반하여 암종과 선종을 분리하여 검사하였다. 또한 암종의 동반이 없는 선종 19예와 암종과 충분히 떨어진 정상 결직장 접막에서 10예의 표본을 채취하여 총 39예의 선종과 10예의 정상접막을 대조군으로 하였다.

2. 연구 방법

1) 임상 병력지 검토: 연구 대상 환자들의 성별, 연령, 수술 전 CEA 값 및 수술 후 임상 및 조직학적 재발유무, 생존여부를 의무기록지를 통하여 조사하였다. 환자는 연령에 따라 40세 미만, 40세에서 59세, 60세 이상의 3군으로 세분화하였다. 수술 전 CEA 값은 5.0 ng/ml만, 5.0~10.9 ng, 11.0 ng 이상의 3군으로 세분화하였다.

2) 병리 조직학적 검색: 외과적으로 절제된 결직장 조직을 10% 중성 포르말린 용액에 고정한 후 파라핀에 포매하고 4~5 μ m의 두께로 박절한 후 hematoxylin-eosin 염색을 시행하였다.

(1) 암종의 위치, 크기 및 육안적 분류: 암종의 위치는 맹장, 상행결장, 횡행결장, 하행결장, S상결장, 직장으로 구분하였다. 암종의 크기는 주 병변의 최대장경을 기준으로 5.0 cm 미만인 암종군과 5.0 cm 이상의 암종군으로 구분하였다. 육안적 분류는 Borrmann 분류법에 따라 I형(융기형), II형(깨양돌출형), III형(깨양 침윤형), IV형(미만형)으로 분류하였다.

(2) 암종의 임상적 병기: 변형된 Dukes 병기법 (Atsler-Coller)을 이용하였고 Dukes 병기, B1, B2는 B군으로 Dukes 병기 C1, C2는 C군으로 나누었다.

(3) 암종의 조직학적 분화도: 암종의 조직학적 성장 유형은 한국인 대장암 취급지침서⁵¹⁾를 기본으로 하여 두명의 병리의사가 조직표본을 검토하여 재분류하였다. 즉 선관형성이 뚜렷하고 고원주 상피성이거나 선관안에 유두상의 돌출을 보이는 경우 고분화 선암종군으로, 선관형성이 뚜렷하지 않고 관공이 작거나 거의 보이지 않고 다수의 암세포가 입방 상피성인 경우를 저분화 선암종군으로 양자의 중간형태일때 중분화 선암종군으로 분류하였다.

3) 유세포 측정:

(1) 세포부유액 제조: 유세포 분석을 위한 재료채취는 조직표본 슬라이드를 검토하여 암종이 충분히 포함되고, 출혈과 괴사가 동반되지 않고, 고정상태가 양호한 파라핀 조직괴를 사용하였다. 선택된 파라핀 조직괴에서 50 μ m 두께의 4~5장의 절편들을 취하여 Hedley 등³⁴⁾의 방법을 다소 변형시켜 세포부유액을 만들었다.

절편들을 유리 슬라이드에 부착시킨 후 xylene으로 30분간 2회 처리하여 파라핀을 제거하였고, 단계적 저

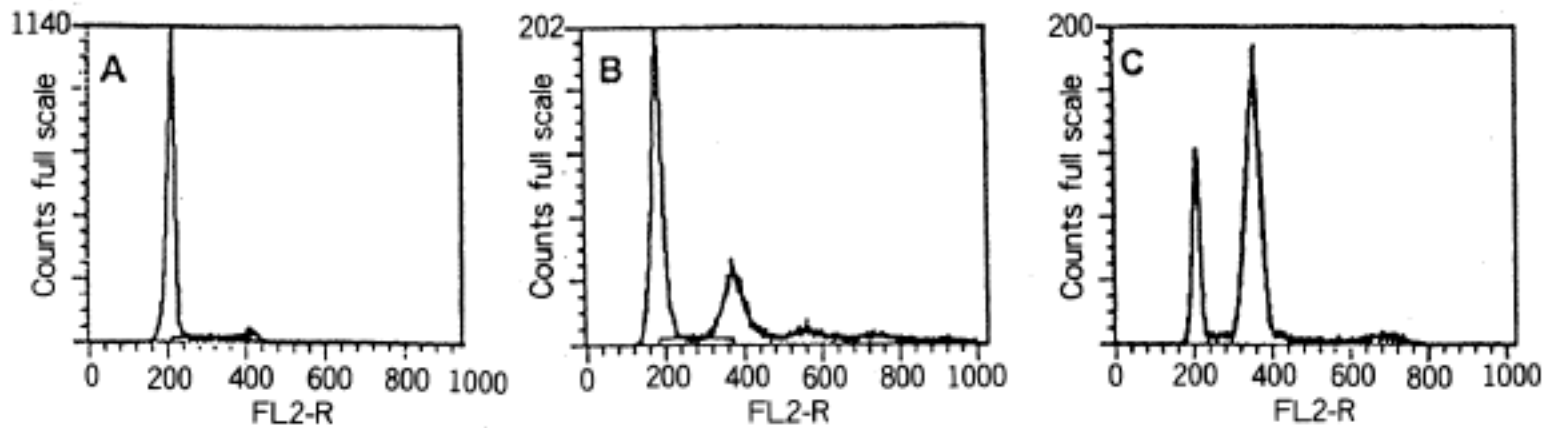


Fig. 1. Representative DNA ploidy patterns form 68 samples of colorectal adenocarcinomas. (A) Diploidy, (B) Tetraploidy, (C) Aneuploidy.

농도 에탄올과 증류수를 거쳐 함수시킨 후 PBS (Phosphate Buffered Saline)로 2회 세척하였다. 절편을 pH 2.5, 0.5% pepsin(Sigma)용액에 37°C에서 30분간 부치시켰으며, 5분 간격으로 주사기 및 진탕기를 이용하여 개개 세포의 유리를 유도하였다. 부치 후 원심분리하여 냉각 PBS로 2회 세척하였다. 세포부유액을 45 μm 구경의 나일론 망을 통해 여과시킨 후 1500 rpm에서 10분간 2회 원심 분리시켰다. 침전물 중 일부를 채취하여 부유액의 세포수가 2×10⁶/ml이 되도록 citrate 완충액으로 조정하였다. RNA를 제거하기 위하여 ribonuclease(Becton-Dickinson) 처리과정 후 propidium iodide(Becton-Dickinson)로 염색하였다. 염색된 세포부유액을 15 milliwatt Argon-ion laser가 부착된 FACScan(Becton-Dickinson)을 사용하여 검사하였다.

(2) 배수성 측정; 각 증례마다 40,000개 이상의 세포를 측정하였고 내부기준은 이배수체 G0/G1 peak를 이용하였다. DNA histogram의 판독에 있어 하나의 대칭성인 G0/G1 peak를 가진 경우를 이배수체로 정의하였다. 이수배수체는 Friedland의 정의⁵²⁾에 따라 이배수체 G0/G1 peak와 명확히 구별되며 전체 세포수의 10% 이상으로 구성된 하나 이상의 비정형 G0/G1 peak가 존재하는 경우로 하였다. 20% 이상의 세포가 이배수체 G2/M에 있고 그에 해당하는 별도의 G2/M peak를 가지고 있는 경우를 사배수체로 정의하였다(Fig. 1). 사배수체는 이수배수체와 달리 이배수체의 임상예후를 가지고 있는 것으로 알려져 있기⁵³⁾에 통계적 분류시 이배수체군으로 포함시켜 분석하였다.

(3) 합성기분획 측정; SPF는 Baish의 rectilinear 방법을 이용한 내부 전산화 프로그램인 RFIT법(CellFit Software, Cell Cycle Analysis, Version 2.0, Becton Dickinson)을 이용하여 계산하였다. SPF은 16.0% 미만, 16.0에서 20.9% 사이, 21.0% 이상의 3군으로 나누었다.

(4) DNA 지수: DNA 지수(DI)는 이배수체 G0/

G1 peak와 이수배수체 G0/G1 Peak의 평균 channel 수의 비로 1.5이상인 군과 1.5미만인 군으로 분류하였다. 이수배수체에서 SPF를 분석할 수 없었던 경우는 암종의 비정형 G0/G1 peak의 DNA 지수만 이용하였다.

(5) 변이계수; 변이 계수(Coefficient of variance, CV)는 이배수체 G0/G1 peak를 기준으로 계산하였고 8이상인 경우는 재검사를 시도하였고 계속 8이상인 경우에는 연구 대상에서 제외시켰다.

(4) 통계학적 분석; 통계처리는 SPSS와 SAS 프로그램을 기본으로 사용하였다. 각각의 임상 및 병리학적 인자들을 기준으로 암종세포의 DNA 배수성과 SPF의 상관관계를 Wilcoxon's rank sum test 및 cross tabulation방법을 이용하여 분석하였다. Kaplan-Meier 방법에 의하여 누적 생존율을 구하였다. 생존율과 각 변수사이의 연관성은 SAS 프로그램의 Log-rank test를 이용하여 비교하였다. Cox's regression 분석을 통하여 가장 중요한 독립적 인자를 결정하였다. 통계적 유의성은 P값이 0.05이하인 경우로 정의하였다.

결 과

연구대상으로서 68예의 결직장 선암종군과 39예의 선종군, 10예의 정상 점막군에서 DNA 배수성과 SPF를 비교하였다. 이수배수체는 암종군에서 30예(44%)로 선종의 6예(15%)보다 유의성 있게 높았으며 (P=0.020), SPF 평균치도 암종군 21.7%, 선종군 12.9%, 정상점막이 9.9%로서 암종군에서 유의성 있게 SPF가 높았다(p=0.0044) 암종에서 선종을 동반하지 않는 군 48예와 동반한 군 20예에서 이수배수체는 각각 24예(50%), 6예(30%)로 선종을 동반하지 않은 군에서 이수배수체가 자주 관찰되었으며 SPF도 19.3%로 동반하지 않은 군의 17.4%보다 높았으나 유의성은 없었다. CV 평균치는 암종군 6.3, 선종군 6.1, 정상점막 5.1이었다(Table 1). 총 30예의 이수배수체군의

Table 1. Ploidy and S-phase fraction of colorectal carcinoma, adenoma and normal mucosa

| Variables | Total No. of cases | Aneuploidy (%) | Diploidy (%) | S-phase fraction(%) | CV |
|---------------|--------------------|----------------|--------------|---------------------|-----------|
| Carcinoma | 68 | 30(44) | 38(56) | 21.7±12.0 | 6.25±1.55 |
| Adenoma | 39 | 6(15) | 33(85) | 12.9± 7.9 | 6.08±1.52 |
| Normal mucosa | 10 | 0 | 10(100) | 9.9± 4.2 | 5.08±1.32 |

Table 2. Ploidy and S-phase fraction in relation to clinical variables of adenocarcinoma

| Variables | Total No. of cases | DNA Ploidy(%) | | S-phase fraction(%) | | | UD* |
|--------------------|--------------------|---------------|--------|---------------------|-----------|--------|-----|
| | | A* | D** | <16.0 | 1.60~20.9 | >21.0 | |
| Sex | | | | | | | |
| Male | 42 | 21(50) | 21(50) | 12(29) | 7(17) | 17(40) | 6 |
| Female | 26 | 9(38) | 17(62) | 13(50) | 3(12) | 8(31) | 2 |
| Age(Year) | | | | | | | |
| <40 | 12 | 7(58) | 5(42) | 1(8) | 1(8) | 7(58) | 3 |
| 40~59 | 25 | 12(48) | 13(52) | 10(40) | 4(16) | 9(36) | 2 |
| >=60 | 31 | 11(35) | 20(65) | 14(45) | 5(16) | 9(25) | 3 |
| Preop. *CES(ng/ml) | | | | | | | |
| <5.0 | 36 | 14(36) | 22(64) | 13(37) | 7(19) | 12(33) | 4 |
| 5.1~10.9 | 8 | 5(63) | 3(38) | 3(38) | 1(13) | 3(38) | 1 |
| >=11.0 | 18 | 10(56) | 8(44) | 4(22) | 1(6) | 10(56) | 3 |
| NC** | 6 | 1(17) | 5(83) | 5(83) | 1(17) | 0 | 0 |

A*: DNA aneuploidy, D**: DNA diploidy

UD*: Undetermined S-phase fraction, Preop.*: Preoperative serum

NC**: Not checked

DNA 지수의 평균치는 1.42(1.2-2.2)이었다. 이수배수체인 암종군 8예와 선종군 1예에서는 비정상 G0/G1 peak가 이배수성 G0/G1 peak 혹은 G2/M peak와 중복되어 기존의 전산 프로그램으로는 세포주기를 분석할 수 없었다.

1. 환자의 연령 및 성별분포

암종군에서 이수배수체를 보인 군과 이배수체를 보인 군의 평균연령은 각각 54.6세와 62.1세로 두 군간의 평균연령은 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았으며 각 연령 군에 대한 이수배수체 빈도도 유의한 차이는 없었다. 암종에서 40세 미만인 환자군의 58%에서 SPF는 21.0%이상이었고 이수배수체는 58%로 41세 이상인 군보다 빈도가 높았지만 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 남자 42예와 여자 26예의 암종군 중 이수배수체는 각각 21예(50%)와 9예(38%)로 남녀간의 유의한 차이는 없었다(Table 2).

2. 수술 전 혈청 CEA 값

연구대상 중 혈청 CEA값을 알 수 있었던 예는 62

명이었다. 혈청 CEA 값과 DNA 배수성 및 SPF 사이에는 유의성을 찾을 수 없었다. 그러나 CEA값이 11 ng 이상인 군이 미만인 군보다 SPF가 높았고 이수배수체의 빈도도 증가하였으나 유의한 차이는 없었다(Table 2). Dukes 병기 B군의 경우 CEA 평균치가 7.5 ng이었고 C병기인 경우는 12.5 ng으로 병기가 증가할수록 CEA값이 증가하였지만 통계적 유의성은 없었다.

3. 암종의 발생부위, 크기 및 육안적 분류

암종군에서 횡행결장이 5예 중 3예(60%), 직장은 40예 중 19예(47%)에서 이수배수체가 검출되어 다른 부위보다 빈도가 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 위치에 따른 SPF의 유의한 통계적 차이는 없었다. 암종의 크기가 5.0 cm 이상인 경우에서 이수배수체가 19예(51%), SPF가 21.0% 이상인 경우가 17예(46%)로 5.0 cm 미만인 경우보다 높은 빈도로 나타났으나 유의한 통계적 차이는 없었다(Table 3).

암종의 육안적 유형에서 66예가 Borrmann 분류 II군 및 III군이었다. Borrmann 분류 II군에 있어서

Table 3. Ploidy and S-phase fraction in relation to pathologic variables of adenocarcinoma

| Variables | Total No. of cases | DNA Ploidy(%) | | S-phase fractin(%) | | | UD* |
|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------|--------------------|---------|--------|-----|
| | | A ⁺ | D ⁺ | <16.0 | 16~20.9 | >=21.0 | |
| Site | | | | | | | |
| Cecum | 7 | 2(29) | 5(71) | 3(43) | 1(14) | 2(29) | 1 |
| Asc ^a | 6 | 2(30) | 4(67) | 4(67) | 0 | 1(17) | 1 |
| Trans ^b | 5 | 3(60) | 2(40) | 1(20) | 1(20) | 2(40) | 1 |
| Desc ^c | 1 | 0 | 1(100) | 1(100) | 0 | 0 | 0 |
| Sig ^d | 9 | 4(44) | 5(66) | 2(22) | 2(22) | 3(33) | 2 |
| Rectum | 40 | 19(47) | 21(53) | 14(35) | 6(15) | 17(43) | 3 |
| Tumor Size(cm) | | | | | | | |
| <5.0 | 29 | 10(34) | 19(76) | 13(45) | 6(21) | 7(24) | 3 |
| >=5.1 | 37 | 19(51) | 18(49) | 11(30) | 4(11) | 17(46) | 5 |
| NR ^e | 2 | 1(50) | 1(50) | 1(50) | 0 | 1(5) | 0 |
| Gross Features(Borrmann's) | | | | | | | |
| I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| II | 39 | 19(49) | 20(51) | 13(33) | 3(8) | 18(46) | 5 |
| III | 27 | 10(37) | 17(63) | 12(44) | 6(22) | 6(22) | 3 |
| IV | 2 | 1(50) | 1(50) | 0 | 1(50) | 1(50) | 0 |
| Angioinvasion | | | | | | | |
| Present | 12 | 6(50) | 6(50) | 2(17) | 3(25) | 5(42) | 2 |
| Absent | 56 | 24(43) | 32(57) | 23(41) | 7(13) | 20(36) | 6 |
| Neural Invasion | | | | | | | |
| Present | 21 | 9(43) | 12(57) | 3(14) | 6(29) | 9(43) | 3 |
| Absent | 47 | 21(45) | 26(55) | 22(47) | 4(9) | 16(34) | 5 |
| Dukes' Stage | | | | | | | |
| B | 26 | 7(27) | 19(73) | 12(46) | 6(22) | 6(23) | 2 |
| C | 36 | 20(56) | 16(44) | 11(31) | 4(11) | 17(47) | 4 |
| D | 6 | 3(50) | 3(50) | 2(33) | 0 | 2(33) | 2 |

Asc^a: Ascending colon, Trans^b: Transverse colon, Desc^c: Descending colon, Sig^d: Sigmoid colon, NR^e: Not recorded

Table 4. Ploidy and S-phase fraction in relation to histologic grade of carcinoma

| Histologic grade | Total No. of cases | DNA Ploidy(%) | | S-phase fractin(%) | | | UD* |
|------------------|--------------------|----------------|----------------|--------------------|---------|--------|-----|
| | | A ⁺ | D ⁺ | <16.0 | 16~20.9 | >=21.0 | |
| Well | 47 | 15(32) | 32(68) | 20(43) | 9(19) | 15(32) | 3 |
| Moderate | 14 | 12(86) | 2(14) | 3(21) | 1(11) | 6(43) | 4 |
| Poor | 7 | 3(43) | 4(57) | 2(29) | 0 | 4(58) | 1 |

이수배수체가 19예(49%), 21.0% 이상의 SPF이 18예(46%)로 III군보다 빈도가 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 암종의 혈관침범이 있었던 12예중 이수배수체가 6예(50%), 21.0%이상의 SPF가 5예로 혈관침범이 없는 군과 비교하여 볼 때 유의한 차이는 없었다. 암종의 신경침범에 있어서도 배수성 양상 및 SPF 값의 차이는 없었다(Table 3).

4. Dukes 병기법

림프절 전이가 없는 Dukes B군에서는 7예(27%)가 이수배수체였으나 림프절 전이가 있는 C군에 있어서는 20예(56%)가 이수배수체였고 원격 전이가 된 D군에 있어서는 이배수체와 이수배수체 암종의 빈도는 같았다. Dukes 병기가 B군에서 C군으로 높아질수록

Table 5. Clinicopathological prognostic factors in relation to survival rate

| | Total No. of cases | Five-Year Survival Rate(%) |
|-------------------|--------------------|----------------------------|
| Dukes' Stage | | |
| B | 26 | 38.5 |
| C | 36 | 13.9 |
| Histologic Grade | | |
| Well | 47 | 31.1 |
| Moderate | 14 | 0 |
| Poor | 7 | 22.7 |
| DNA Ploidy | | |
| Aneuploidy | 30 | 10.0 |
| Diploidy | 38 | 33.0 |
| Preop. CEA(ng/ml) | | |
| <5.0 | 36 | 34.1 |
| 5.1~10.9 | 8 | 11.1 |
| ≥11.0 | 18 | 5.5 |
| SPF(%) | | |
| <16.0 | 25 | 29.4 |
| 16.0~20.9 | 10 | 20.9 |
| ≥21.0 | 25 | 12.0 |

SPF가 증가하였으나 Dukes 병기와 DNA 배수성 및 SPF와의 통계적 유의한 차이점을 발견하지 못하였다(Table 3).

5. 조직학적 분화도

선암종의 조직학적 분화도에서 고분화 암종군은 이배수체가 32예(68%)였으나 중분화 암종은 이수배수체 12예(86%)였고 두 등급 사이에서는 분화가 나쁠수록 이수배수체의 빈도가 유의성 있게 증가하였다($P=0.0127$) 그러나 저분화에 있어 이배수체(57%)나 이수배수체(43%)가 비슷한 빈도로 검출되었다. 조직학적 분화도에 대한 SPF의 차이는 통계적 유의성은 없었다(Table 4).

6. 생존 기간과의 관계

연구대상인 총 68명의 환자들을 수술 받은 날로부터 1992년 8월까지 추적 조사하여 생존기간, 재발 및 사망을 임상 기록부를 이용하여 확인하였다. 추적 기간은 최저 3개월에서 최장 9년 6개월이었으며 평균 기간은 3년 8개월이었다.

1) 임상학적 예후인자와 생존율과의 연관성: 나이 및 성별과 생존율 사이에는 유의한 연관성이 없었다. 나이에 있어서 40세 미만인 군의 5년 생존율은 18.2%로 60세 이상인 군의 25.0%보다 낮았다. 수술 전 혈청 CEA값이 5.0 ng 미만인 군의 5년 생존율이 34.

Table 6. Important variables of independent prognostic factors

| Prognostic Variables | P Value |
|---|---------|
| Dukes' Stage | 0.0106 |
| Histologic Grade of Adenocarcinoma | 0.0230 |
| DNA Aneuploidy in Dukes' stage B, C & D | 0.0251 |
| Preop. CEA Value | 0.0369 |
| S-phase Fraction | 0.2931 |

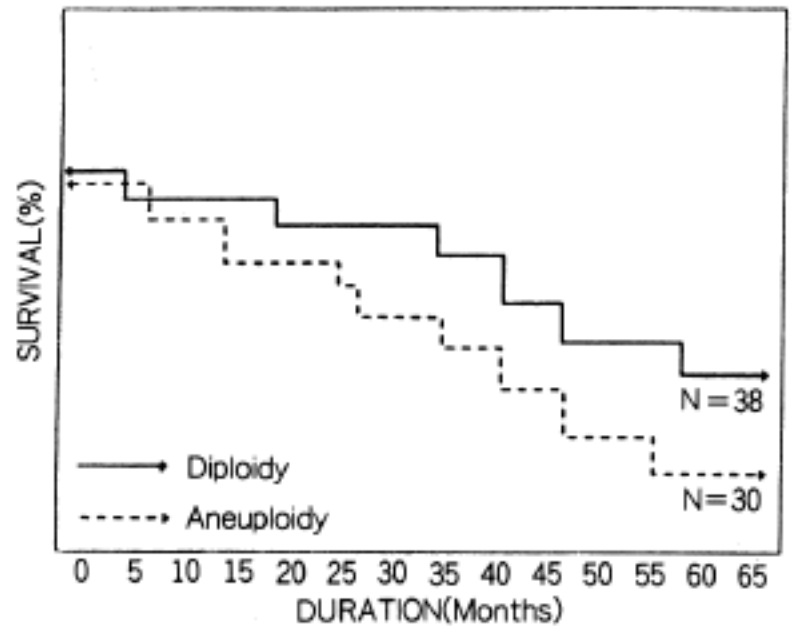


Fig. 2. Survival for DNA diploidy and DNA aneuploidy of adenocarcinomas ($P=0.0251$).

1%, 5.1~10.9 ng인 군은 11.1%, 11.0 ng 이상인 군이 5.5%로 수술 전 CEA 값이 높을수록 환자의 생존율이 감소하였다($P=0.0369$)

2) 병리학적 예후인자와 생존율과의 연관성: 암종의 위치, 크기 및 육안적 유형과 생존율 사이에는 유의한 연관성이 없었다. Dukes 병기와 생존율 사이에는 밀접한 통계적 유의성이 있었다. Dukes 병기 B군의 5년 생존율은 38.5%, C군이 13.9%로 유의한 생존율의 감소를 보였다(Table 5)($P=0.0106$). 조직학적 분화도와 5년 생존율과의 관계에 있어 저분화군 22.7%, 고분화군 31.1%으로 저분화군 및 고분화군 사이에는 유의성 있게 5년 생존율이 감소하였다(Table 6)($P=0.023$) 그러나 중분화군 15예 모두에서 5년 이내 사망하였기 때문에 중분화군과 다른 조직학적 분화도군 사이에 있어서는 생존율과의 통계적 검정은 시도하지 못하였다. 선종을 동반한 암종군이 선종을 동반하지 않은 군보다 5년 생존율이 좋았지만 유의성은 발견할 수 없었다.

3) DNA 배수성, SFP 및 DI와 생존율과의 연관성: 5년 생존율과 DNA 배수성과의 관계에 있어 이

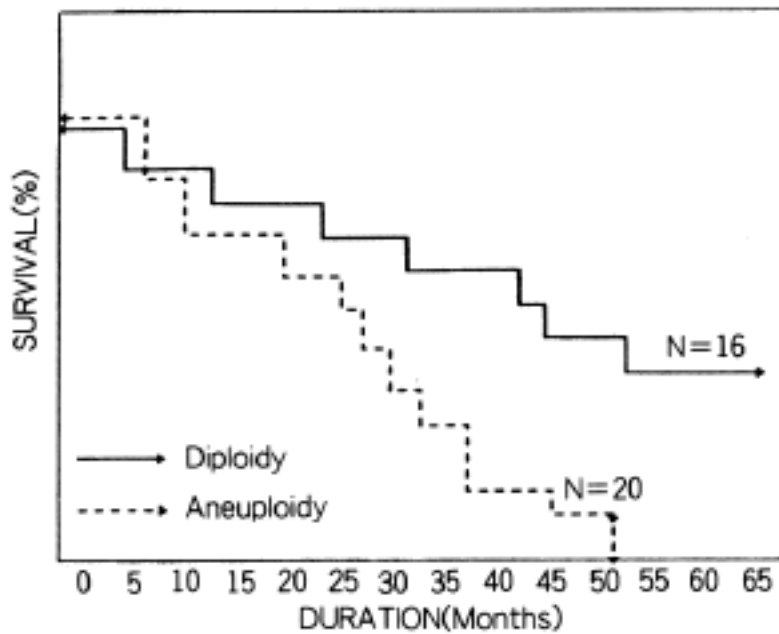


Fig. 3. Survival for DNA diploidy and DNA aneuploidy of adenocarcinomas in Dukes' stage C (P=0.0202).

배수체 암종군은 33.0%로, 이수배수체의 10.0%보다 유의성 있게 생존율이 높았다(Table 5, Fig. 2)(P=0.0251). Dukes 병기에 따른 DNA 배수성과 생존율을 비교하여 보면 B군에 있어서 이배수체 암종군의 5년 생존율은 32.8%로, 이수배수체 암종군의 26.8%보다 생존율이 높았으나 통계적으로 유의성은 없었다. 그러나 C군에서 이배수체 암종군과 이수배수체 암종군의 5년 생존율은 각각 30%와 0%로 Dukes 병기 C군의 이수배수체 암종군은 이배수체 암종군 보다 현저히 예후가 불량하였다(Fig. 3)(P=0.0202). 전이가 진행된 Dukes 병기 D군 6예는 수술 후 12개월 이내에 모든 환자가 사망하였기 때문에 DNA 배수성과의 통계적 연관성을 분석할 수 없었다. SPF가 16.0% 미만인 경우는 5년생존율이 29.4%, 16.0%에서 20.9% 사이인 군은 20.9%, 21.0% 이상인 군은 12.0%로 SPF가 21.0% 이상인 군의 경우가 5년 생존율의 급격한 감소를 나타내었지만 통계적 유의한 차이는 없었다. 이수배수체군에서 DI 1.5를 기준으로 구분하여 생존율을 비교하였으나 유의한 차이가 없었다.

4) 5년 생존율의 독립적 예후인자로서 민감성: Cox's regression analysis에서 Dukes 병기(P=0.0106), 고분화도와 저분화도 사이의 조직학적 분화도(P=0.0230), DNA 배수성(P=0.0251), 수술 전 혈청 CEA 값(P=0.0369)의 순서로 생존율을 예측하는 인자로서 의의가 있었다(Table 6).

고 찰

암종환자의 예후인자로서 임상적 병기, 조직학적 분화도, 숙주 면역상태등의 인자들은 반정량적인 방법이

지만 현재까지 환자의 치료 및 예후에 있어 가장 중요한 인자로 널리 받아들여지고 있다. 결직장 암종 447예의 mutiple regression 분석에서도 조직학적 분화도 및 임상적 병기의 중요성이 재차 증명되었다²⁾. 그러나 조직학적 분화도 및 병기의 결정에는 표본취급의 차이, 판독의 주관성 등으로 다수를 차지하는 조직학적 중증도 분화군과 Dukes 병기 B군과 C군의 예후를 예측하는데 기존의 예후인자들이 많은 제한점들을 노출하였다^{4,5)}. 즉 예후와 가장 밀접한 관계가 있는 Dukes병기 C군의 1/3은 장기간 생존한 것에 비하여 B군의 1/3은 암종에 의한 조기 사망이 관찰되는 것처럼 예후와 병기가 어긋 나는 것은 병리학적 예후인자 자체가 주관성을 내포하며 반정량적 방법이기 때문이라고 생각되고 있다⁷⁾. Sandberg등³⁰⁾의 연구에 의해 결직장 암종을 포함한 많은 암종에 있어서 염색체 재배열은 특징적인 소견으로서 증명되었으며 세포 염색체 검사방법에 의해 결직장 암종에서 염색체 수의 증가 및 구조적 이상이 발견되었고 이러한 염색체 변화가 나타나는 암종은 보다 공격적인 임상경과와 관계있다고 보고하고 있다²⁹⁻³³⁾. 반정량적이고 주관적인 병리학적 인자와 더불어 분석능이 뛰어나고 재현성이 높고 정량적이며 객관적인 유세포분석기를 이용한 암종세포의 DNA 함량과 세포주기의 분석은 1983년 Hedley 등³⁴⁾의 보고 이후 파라핀 포매조직을 이용하여 결직장 암종 이외의 여러 장기의 종양에서 치료 및 예후를 예측하는데 부가적인 지표로서 최근 널리 사용되어 왔다. 특히 난소암³⁵⁾, 조기 유방암³⁶⁾, 결직장암^{6,8-10)}, 폐암³⁷⁾, 방광암³⁸⁾에서 이수배수체는 불량한 생존율과의 분명한 연관성이 밝혀졌으며 독립적인 예후인자로 알려져 있으나 자궁내막암³⁹⁾, 신장암⁴⁰⁾, 전립선암⁴¹⁾, 다발성 골수종⁴²⁾, 흑색종⁴³⁾, Wilms종양⁴⁴⁾등에서는 이수배수체가 불량한 예후인자로 인정되나 독립적 예후인자로서 갖는 중요성은 불확실 하다고 하였다. 결직장 암종에 있어서는 1982년 Wolley등¹¹⁾에 의하여 배수성과 생존율 사이의 연관성이 처음으로 검토되었으며 33예 중 13예의 이수배수체 환자 모두 2년 이내에 재발하였고 3년 이내에 사망한 것과 비교하였을때 이배수체 20예 환자에서 단 6명만이 사망하였다. 이는 암종의 이수배수체는 불량한 예후인자로 의의를 나타낸다고 하였다. 그리고 최근 연구결과에 따르면 이배수체 결직장 암종은 생존율 및 재발율에 있어서도 이수배수체 암종보다 훨씬 좋은 예후를 나타내었다⁸⁻¹⁰⁾. Kokal등⁸⁾은 후향성 연구에서 결직장 암종에서 이배수체 암종군은 이수배수체군과 비교하였을때 9배나 좋은 5년 생존율을 보였고 암종의 배수성이 사망 및 재발을 예측하는데 가장 민감한 독립적 예후인자라고 주장하였다. 다른 보고에 의하면 DNA 배수성이 예후인자로서 유의한 의의를 갖지만 기존 임상병기가 더욱 중요하다고 하였다^{7,9,14)}. 그러나 예후인자로서 이수배수체는 생존율 및 재발율에 있어서 아무런 독자적인

연관성이 없다는 연구결과도 보고되어 있다¹²⁻¹⁴. 1987년 Muleris등³³은 18예의 결직장 암종에서 암종 세포의 염색체 수 및 구조를 분석하였는데 모든 예에서 객관적인 이상 핵형 즉 이수배수체 양상을 나타냈다고 하였다. 즉 결직장 암종에서 보다 민감한 방법을 사용하여 분석하면 모든 예에서 이수배수체가 나타날 수 있으므로 DNA 배수성은 예후인자로서 가치가 없다고 하였다. 본 연구에서 이배수체 암종군의 5년 생존율이 33.0%로 이수배수체 암종군의 10.0%보다 유의성 있게 양호한 생존율을 보였지만 Dukes 병기법, 조직학적 분화도 보다는 덜 예민한 예후인자로 판명되었다. Armitage등⁶은 Dukes 병기별로 비교하였을 때 이배수체 암종이 보다 나은 생존율을 나타내었고 특히 조기 암종인 Dukes A군과 B1군에서 보다 밀접한 관련이 있다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 Kokal⁸, Nigel¹⁵, Finan¹⁶의 보고와 같이 Dukes 병기 C군에서는 유의있는 생존율의 차이를 보였다. 절제된 결직장 암종에서 가장 빈도가 높은 Dukes 병기 C군에서 DNA 배수성 양상이 환자의 예후를 예측하는 인자로서 또한 임상 치료방침 결정인자로 적용될 수 있다는 것을 본 연구에서 관찰할 수 있었다. Jones⁷와 Niegel¹⁵은 나이가 많을수록 암종의 이수배수체의 빈도가 높고 예후가 불량하다고 하였으나 본 연구에서 40세 미만인 경우는 5년 생존율이 18.2%로 60세 이상의 25.0%보다 낮았다. 이는 대부분이 40세 이하인 환자는 Dukes 병기 D군이었고 미만성의 침윤성 성장 형태를 가졌기 때문이라고 생각된다.

DNA 배수성 및 SPF가 조직학적 분화도 및 임상적 병기와는 아무런 연관성이 없다고 많은 연구에서 증명되었으나^{6,8,17} Kokal⁸과 Banner¹⁸, 김등²¹은 조직학적 고분화와 중분화에서 암종의 분화가 나뉠수록 이수배수체의 빈도가 유의성 있게 증가하였으나 저분화군과의 연관성에 있어서는 유의성을 검색할 수 없었다. 암종의 DNA 배수성이 예후인자로서 갖는 중요성에 비하여 SPF가 예후인자로서 갖는 의미는 현재까지 불명확하다. Bauer등¹²은 120예의 결직장 암종 연구에서 생존율과 가장 밀접한 인자는 림프절 및 원격전이, 즉 임상적 병기였지만 전이가 없는 경우에는 21.0% 이상인 SPF가 두번째로 중요한 예후추정 인자였고 multivariate regression analysis에서 이수배수체보다 더욱 예민한 예후인자라고 주장하였다. Quirke등⁹은 세포의 증식력을 나타내는 SPF가 DNA 배수성과 함께 가장 중요한 예후인자로 주장하였고 SPF가 증가할수록 종양은 침윤성 성장양식을 취하여, 이수배수체 암종이 불량한 예후를 갖는 이유는 높은 SPF에 기인한다고 주장하였다. 그러나 Kouri등²⁴은 DNA 배수성 및 Dukes 병기는 예후와 밀접한 관련성이 있으나 예후인자로서 SPF는 의미가 없으며 또한 동일한 암종내에서 여러부위의 표본을 채취하여 분석한 결과 SPF의 최저치 및 최고치 사이에는 평균

29%의 차이를 나타내었다고 하였다. 본 연구에서도 정상 점막보다 선종의 SPF가 보다 유의성 있게 증가하였고 또한 선종과 비교할 때 암종에서 보다 증가한 SPF가 관찰되었으며 SPF가 21.0% 이상인 군의 5년 생존율이 12.0%로서, SPF가 16.0~20.9% 사이 군의 29.4%, 16.0% 미만인 군의 10.9% 보다 낮은 생존율을 보였으나 통계적 유의성은 없었다. Meyer²⁰는 자가 방사기록법을 이용하여 결직장 암종의 SPF를 측정하였는데 평균치가 18.3%였고 Tribukait²¹은 13.0%로 본 연구의 21.6% 보다는 낮았다. 각 보고에 따른 DNA 배수성 및 SPF의 다양한 차이는 재료선택의 차이, 종양의 이형성, 분석방법의 차이 그리고 환자군의 차이에 기인한다고 하였다. DNA Histogram에서 한 종양내 여러 부위의 표본에서 DNA 배수성 양상이 다른 소집단이 보이는 것은 고유한 생물학적 성상 및 악성도가 서로 다른 아클론들이 존재하며 이는 종양의 이형성을 의미한다 하였다^{19,45-48}. 이러한 종양의 이형성은 DNA 함량 및 세포주기 분석에 있어 고려해야 할 중요한 실질적인 문제점을 갖고 있다. 1979년 Peterson등⁴⁹은 결직장 암종의 한 암종내 여러 부위에서 세침흡인 생검으로 표본을 채취하여 분석하였는데 1/3에서 DI가 다른 2개 이상의 이질적인 소집단을 보였다고 하였다. Wersto등⁴⁷은 60예의 결직장 암종 중 25%에서 종양의 이형성을 보였으며 정확한 DNA 배수성 및 SPF를 분석하기 위해서는 최소한 한 암종내에서 3개 이상의 다른 부위의 표본을 채취하여야 한다고 하였다. Staino등⁴⁹은 림프절과 표층부에 있는 암종의 DNA 배수성 양상과 서로 유사하였으며 간에 전이된 부위는 심층부에 있는 암종의 DNA 배수성 양상과 서로 유사하였는데 이는 심층부에 있는 암종의 DNA 배수성이 보다 원격전이를 잘하는 것과 관련하여 불량한 예후인자가 될 수 있다고 주장하였다. 그러나 이배수체와 DNA 함량의 차이가 적은 이수배수체 종양에서 이수배수체의 SPF는 정상 이배수체 세포의 G2/M값이 어느 정도 중복되기 때문에 유세포분석기를 이용한 정확한 SPF의 측정에는 현재까지 해결되지 않은 기술적 및 산술적 문제점이 있다고 하겠다. 예후인자로서 SPF의 중요성에 대한 평가는 암종의 여러 부위에서 암종세포만이 SPF의 분석을 실시하면서 세포증식능을 나타내는 항원인 Ki-67, PCNA 및 화상분석을 통한 보완적인 세포증식력 측정과 보다 장기간 추적 검사가 요구된다고 생각된다. Zarbo⁵⁰에 의하면 DNA 함량 분석에서 한 종양 내에 동시에 존재하는 이배수체와 이수배수체세포의 DNA 함량이 최소한 10%이상 차이가 나야 이배수체의 G0/G1 peak를 감별할 수 있고, 정상세포의 DNA 함량의 편차 정도가 예후와 관련 있다고 보고하였다. Bauer등¹²과 Armitage⁶는 정상에서 벗어나는 DNA 함량이 클수록, 즉 DNA 지수가 높을수록 예후가 좋지 않다고 하였지만 본 연구에서는 이수배수체 암종의 DNA 지수는 조

직학적 분화도, 임상적 병기 및 생존율과는 유의한 관련성이 없었다. 본 연구의 결과로서 유세포분석기를 이용한 DNA 배수성 및 SPF 분석은 각 기관마다 기술적인 방법 및 결과해석의 통일, 결과의 재현성, 정확한 정도관리 등 선행되어야 할 문제점을 갖고 있다고 하겠지만 결직장 암종에 있어 이수배수체는 객관적인 생물학적 악성도를 암시하며 보다 더 적극적인 치료와 추적 검사가 필요하다고 사료되며 독자적으로 혹은 Dukes 병기, 조직학적 분화도 및 CEA 값 등에 보조적인 예후인자로서 사용될 수 있다고 생각된다.

결 론

1983년 이후 인제 대학교 부속 부산 백병원에서 결직장의 암종으로 진단 받고 그 생존여부가 확인된 68명의 환자를 대상으로 DNA 배수성과 SPF를 임상 및 병리학적 인자, 생존율과 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 이수배수체는 암종군에서 68예 중 30예(44%), 선종군에서 39예 중 6예(15%)로 유의성 있게 암종군에서 빈도가 높았다(P=0.020).

2) SPF 평균값은 암종군 21.7%(±12.0), 선종군 12.9%(±7.9), 정상점막군 9.9%(±4.2)으로 암종군에서 유의성 있는 SPF의 증가를 나타내었다(P=0.0044)

3) 선종을 동반하지 않은 암종군에서 이수배수체는 48예 중 24예(50%)였고 SPF는 19.3%로 선종을 동반한 암종군의 20예 중 6예(30%)와 17.4%보다는 높았으나 유의성은 없었다.

4) 성별, 나이, 혈청 CEA 값, 암종의 위치, 크기 및 육안적 유형, Dukes 병기 등은 암종의 DNA 배수성과 SPF와는 연관성이 없었다.

5) 고분화와 중분화 암종군 사이에서 이수배수체 암종의 빈도가 유의성 있게 증가하였지만(P=0.0127), 저분화와 고분화, 중분화와 저분화 사이에서는 유의한 차이가 없었으며, SPF는 저분화일수록 증가하였지만 유의성은 없었다.

6) 성별, 나이, 암종의 위치, 크기 및 육안적 유형과 생존율 사이에서는 유의한 연관성은 없었다.

7) Dukes 병기 B군과 C군의 5년 생존율은 38.5%와 13.9%로 B군이 좋은 생존율을 나타내었으며(P=0.0106), 조직학적 분화도가 저분화일수록 5년 생존율은 유의성 있게 감소하였다(P=0.0230)

8) 혈청 CEA 값이 5.0 ng 미만인 군의 5년 생존율은 34.1%, 5.0 ng에서 10.9 ng 사이 군은 11.1%, 11.0 ng 이상인 군은 5.5%로 수술전 CEA 값이 높을수록 예후가 불량하였다.

9) 이수배수체 암종군의 5년 생존율은 10.0%, 이배수체 암종군은 33.0%로 유의성 있게 이배수체 암종군이 좋은 예후를 나타내었고(P=0.023) Dukes 병기

C군에서 5년 생존율은 이배수체 30.0%, 이수배수체 0%로 이수배수체 암종군에서 보다 불량한 예후를 나타냈다(P=0.0202).

10) SPF에 따른 5년 생존율은 21.0% 이상인 경우 12.0%로 급격한 생존율의 감소를 보였으나 유의성은 없었다.

참 고 문 헌

- 1) Boring CL, Squires TS, Tong T. *Cancer statics, 1992. CA-A Cancer Journal for Clinicians* 1992; 42: 19-381.
- 2) Jass JR, Atkin WS, Cuzick J, Bussey HJ, Morson BC, Northover JM, Todd IP. *The grading of rectal cancer: Histological perspectives and multivariate analysis of 447 cases. Histopathology* 1986; 10: 437-59.
- 3) Jass JR. *Pathological staging: New methods and practical applications. Cancer Surveys* 1987; 8: 7-26.
- 4) Blenkinsopp WK, Stewart-Brown S, Blesovsky L, Kearney G, Fielding OP. *Histopathologic reploting in large bowel cancer. J Clin Pathol* 1981; 34: 509-13.
- 5) Thomas GDH, Dixon MF, Smeeton NC, Willimas NS. *Observer variation in the histological grading of rectal carcinoma. J Clin Pathol* 1983; 36: 385-91.
- 6) Armitage NC, Robins RA, Evans DF, Turner DR, Baldwin RW, Hardcastle JD. *The influence of tumor cell DNA abnormalities on survival in colorectal cancer. Br J Surg* 1985; 72: 828-30.
- 7) Jones DJ, Moore M, Schofield PF. *Refining the prognostic significance of DNA ploidy status in colorectal cancer: A prospective flow cytometric study. Int J Cancer* 1988; 41: 206-10.
- 8) Kokal WA, Sheibani K, Terz T. *Tumor DNA content in the prognosis of colorectal carcinoma. JAMA* 1986; 205: 3123-7.
- 9) Quirke P, Dickson MF, Clayden AD, Fozard JB, Talbot IC, Bird CC. *Prognostic significance of DNA aneuploidy and cell proliferation in rectal adenocarcinoma. J Pathol* 1987; 151: 285-91.
- 10) Scott NA, Rainwater KLM, Wieand HS, Weiland LH, Pemberton JH, Beart RW Jr, Lieber MM. *The relative prognostic value of flow cytometric DNA analysis and conventional clinicopathologic criteria in patients with operable rectal carcinoma. Dis Colon Rectum* 1987; 30: 513-20.
- 11) Wolley RC, Schreiber K, Koss LG, Karas M, Sherman A. *DNA distribution in human colon carcinoma and its relationship to clinical behavior. JNCI* 1982; 69: 15-22.

- 12) Bauer KD, Lincoln ST, Vera-Romann JM, Winter JN. *Prognostic implications of proliferative activity and DNA aneuploidy in colonic adenocarcinoma. Lab Invest* 1987; 57: 329-35.
- 13) Fisher ER, Siderits RH, Sass R, Fisher B. *Value of assessment of ploidy in rectal cancers. Arch Pathol Lab Med* 1989; 113: 525-8.
- 14) Jass JR, Mukawa K, Goh HS, Love SB, Capellaro D. *Clinical importance of DNA content in rectal cancer measured by flow cytometry. J Clin Pathol* 1989; 42: 254-9.
- 15) Scott MA, Wieand HS, Moertel CG, Cha SS, Beart RW, Lieber MM. *Dukes' stage, Tumor site, preoperative plasma CEA level, and patient prognosis related to tumor DNA ploidy pattern. Arch Surg* 1987; 122: 1375-9.
- 16) Finan PJ, Quirke P, Dixon MF, Dyson JE, Giles GR, Bird CC. *Is DNA aneuploidy in a good prognostic indicator in patient with advanced colorectal cancer. Br J Cancer* 1986; 54: 327-30.
- 17) Melamed MR, Enker WE, Banner P, Janor AJ, Kessler G, Daryznkiewicz Z. *Flow cytometry of colorectal carcinoma with three year follow up. Dis Colon Rectum* 1986; 29: 184-6.
- 18) Banner BF, Tomas-de la Vega JE, Rosemann DL. *Should flow cytometric DNA analysis precede definitive surgery for colon carcinoma. Ann Surg* 1985; 202: 740-4.
- 19) Tribukait B, Hammberg C, Rubio C. *Ploid and proliferative patterns in colorectal adenocarcinomas related to Duke's classification and to histological differentiation. Acta Pathol Microbiol Scand* 1983; 91: 89-95.
- 20) Barlogie B, Drewinke B, Schumann J, Gohde W, Dosik G, Johnson DA, Freireich EJ. *Cellular DNA content as a marker of neoplasia. Am J Med* 1980; 69: 195-203.
- 21) Giaretti W, Danova M, Geido E, Mazzini G, Sciallero S, Aste H, Scivetti P, Riccardi A, Marsano B, Merlo F, d'Amore ESG. *Flow cytometric DNA Index in the prognosis of colorectal cancer. Cancer* 1991; 67: 1921-7.
- 22) 박양순, 조영미, 정재걸, 박진향, 최기영, 공경엽, 김진천, 유은실, 이인철. *대장병변 181예의 DNA 유세포 분석. 대한병리학회지* 1992; 26: A70.
- 23) Goh HS, Jass JR, Atkin WS, Cuzick J, Northover JM. *Value of flow cytometric determination of ploidy as a guide to prognosis in operable rectal cancer: A multivariate analysis. Int J Colorect Dis* 1987; 2: 17-21.
- 24) Kouri M, Pyrhonen S, Mecklin JP, Varvinen H, Laasonen A, Fransilla K, Nordling S. *The prognostic value of DNA-ploidy in colorectal carcinoma: A prospective study. Br J Cancer* 1980; 62: 976-81.
- 25) Hoang C, Polivka M, Valleur P, hantefeuille P, Nemeth J, Galian A. *Immunohistochemical detection of proliferating cells in colorectal carcinomas and adenomas with monoclonal antibody Ki-67. Virchows Arch* 1989; 414: 423-8.
- 26) Shepherd NA, Richman PI, England J. *Ki-67 derived proliferative activity in colorectal adenocarcinoma with prognostic correlations. J Pathol* 1988; 155: 213-9.
- 27) Mayer A, Takimoto M, Fritz E, Schellander G, Kofler K, Ludwig H. *Prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen expression in colorectal cancer. Cancer* 1993; 71: 1954-9.
- 28) Yamaguchi A, Tsukioka Y, Kurosaka Y, Nishimura G, Kanno M, Yonemura Y, Miyazaki I. *Prognostic value of nuclear organizer region in endoscopically biopsied tissue of colorectal cancer. Oncology* 1993; 50: 121-6.
- 29) Meyer JS, Prioleau PG. *S-phase fraction of colorectal carcinoma related to pathologic and clinical features. Cancer* 1981; 48: 1221.
- 30) Sandberg AA, Turc-Carel C. *The cytogenetics of solid tumor. Relation to diagnosis, classification and pathology. Cancer* 1987; 59: 387-95.
- 31) Atkin NB. *Chromosomes in human malignant tumors. In German J, et al. Chromosomes and cancer. New York, Sydney, Toronto, Wiley* 1974; 375: 422.
- 32) Levin B, Reichmann A. *Chromosomes and large bowel tumours. Cancer Genet Cytogenet* 1986; 19: 159-62.
- 33) Muleris M, Salmon RJ, Dutrillaux AM, Vielh P, Zafrani B, Girodet J. *Characteristic chromosomal imbalances in 18 near diploid colorectal tumors. Cancer Genet Cytogenet* 1997; 29: 289-94.
- 34) Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW. *Application of DNA flow cytometry to paraffin-embedded archival material for the study of aneuploidy and its clinical significance. Cytometry* 1985; 6: 327-33.
- 35) Klemi PJ, Joensuu H, Kiilholma P, Maenpaa J. *Clinical significance of abnormal nuclear DNA content in serous ovarian tumors. Cancer* 1988; 62: 2005-10.
- 36) Fallenius AG, Franzen SA, Auer GU. *Predictive value of nuclear DNA content in breast cancer in relation to clinical and morphologic factors. A retrospective study of 227 consecutive cases. Cancer* 1988; 62: 521-30.
- 37) Volm M, Bak M, Hahn EW, Mattern J, Weber E. *DNA and S-phase distribution and incidence of metastasis in human primary lung carcinoma. Cytometry* 1988; 9: 183-8.
- 38) Blomjous CE, Schipper NW, Baak JP, Vos W, De

- voogt HJ, Meijer CJ. *Retrospective study of prognostic importance of DNA flow cytometry of urinary bladder carcinoma. J Clin Pathol* 1988; 41: 21-5.
- 39) Britton LC, Wilson TO, Gaffey TA, Cha SS, Wieand HS, Podratz KC. *DNA ploidy in endometrial carcinoma: Major objective prognostic factor. Mayo Clin Proc* 1990; 65: 643-50.
- 40) Grignon DJ, Ayala AG el NA, Wishnow KI. *Renal cell carcinoma. A clinicopathologic and DNA flow cytometric analysis of 103 cases. Cancer* 1989; 64: 2133-40.
- 41) Lieber MM, Cheng WS. *The role of nuclear DNA ploidy in the prognosis and management of patients with prostatic cancer. Compr Ther* 1991; 17: 26-32.
- 42) Barlogie B, Alexanian R, Dixon D, Smith L, Smallwood L, Delasalle K. *Prognostic implications of tumor cell DNA and RNA content in multiple myeloma. Blood* 1985; 66: 338-41.
- 43) Kheir SM, Bines SD, Vonrolnn JH, Soong SJ, Urist MM, Coon JS. *Prognostic significance of DNA aneuploidy in stage I cutaneous melanoma. Ann Surg* 1988; 207: 455-61.
- 44) Kumar S, Marsden HB, Cowan RA, Barnes JM. *Prognostic relevance of DNA content in childhood renal tumors. Br J Cancer* 1989; 59: 291-5.
- 45) Quirke P, Dyson JED, Dixon MF, Giles GR, Bird CC. *Heterogeneity of colorectal adenocarcinomas evaluated by flow cytometry and histopathology. Br J Cancer* 1985; 51: 99-106.
- 46) Hiddemann W, von Bassewitz DB, Kleinemeier HJ, Brochterbeck ES, Hauss J, Lingenmann B, Buchner J, Grundmann E. *DNA stemline heterogeneity in colorectal cancer. Vancer* 1986; 58: 258-63.
- 47) Wersto RP, Liblit RL, Deitch D, Koss LG. *Variability in DNA measurements in multiple tumor samples of human colonic carcinoma. Cancer* 1991; 67: 106-15.
- 48) Peterson SE, Bichel P, Lorentzen M. *Flow cytometric demonstration of tumor-cell subpopulations with different DNA content in human colorectal carcinoma. Eur J Cancer* 1979; 15: 383-6.
- 49) Staino-Coico L, Huffmann J, Wolf R, Pinsky CM, Herr HW, Whitmore WF, Oittgen HF, Darzynkiewicz Z, Melamed MR. *Monitoring intravesical bacillus Calmette-Guerin treatment of bladder carcinoma with flow cytometry. J Urol* 1985; 133: 786-8.
- 50) Joensuu H, Alanen KA, Klenii PJ, Aine R. *Evidence for false aneuploid peaks in flow cytometric analysis of paraffin-embedded tissue. Cytometry* 1990; 11: 431-7.
- 51) 대한대장항문병학회, 대한외과학회. 한국인 대장암 취급 지침서, 의학문화사, 1988; 34-5.
- 52) Friedlander ML, Hedley DW, Taylor IW, Russel P, Coates AS, Jattersall MH. *Influence of cellular DNA content on survival in advanced ovarian cancer. Cancer Res* 1984; 44: 397-400.
- 53) Ewers SB, Langstrom E, Baldetrop B, Killander D. *Flow cytometric DNA analysis in primary breast carcinomas and clinicopathologic correlations. Cytometry* 1984; 5: 408-19.
- 54) Zarbo RJ, Babu UR, Crissmann JD. *Sensitivity of flow cytometric DNA analysis of deparaffinized nuclei from urothelial carcinomas with near diploid karyotypes. Mod Pathol* 1989; 2: 109-14.