

결직장암종의 PCNA 반응도에 관한 연구

전남대학교 의과대학 병리학교실

최호수 · 양복숙 · 이지신 · 이민철

The Study of Proliferating Cell Nuclear Antigen in Colorectal Carcinoma

Ho Soo Choi, M.D., Bok Soog Yang, M.D.
Ji Shin Lee, M.D. and Min Cheol Lee, M.D.

Department of Pathology, Chonnam University Medical School

The determination of proliferative activity in the colorectal mucosa has been used for different purposes as the estimation of cancer risk and the assessment of disease activity in ulcerative colitis. But the prognostic significance of proliferative activity in colorectal carcinomas remains controversial.

To investigate the prognostic significance of proliferative activity in colorectal carcinomas, the author estimated the proliferative activity immunohistochemically using the monoclonal antibody PCNA and compared with clinicopathological data in 62 colorectal carcinomas.

The results were as follows:

1) The reactivity of PCNA was more pronounced at the infiltrative margins of the tumors and tumor cells within the vascular or lymphatic channels.

2) The mean PCNA index of colorectal carcinomas was $40.5 \pm 20.4\%$. PCNA indices had positive correlations with lymph node invasion ($p < 0.05$), liver metastasis ($p < 0.05$), Dukes' stage ($p < 0.01$) and TNM classification ($p < 0.01$), and didn't correlated with location of tumor, size of tumor, histological type and lymphatic or vascular invasion.

3) The patients with high PCNA index (more than 45%) represented higher recurrence or metastasis rate (37.5%) than those with low PCNA index (less than 45%) (19.3%) in Dukes B or C colorectal carcinomas during the follow-up periods, but not significant statistically.

These results suggested that the reactivity of PCNA may be a useful prognostic factors in colorectal carcinomas. (*Korean J Pathol* 1995; 29: 311-320)

Key Words: Colorectal carcinoma, PCNA, Prognostic factors

서 론

인체 종양 세포의 성장 속도를 나타내는 세포 증식능은 그 종양의 악성도 및 환자의 예후를 추정할 수 있는 중요한 지표로 알려져 있다. 이러한 세포증식능을 측정하는 방법은 세포분열수 측정^{1,3} H-thymidine을 이용한 자가방사선법(autoradiography)³, bromodeoxyuridine을 이용한 방법^{4,5}, 유식세포측정기(flow cytometry)를 이용한 합성기 세포분획 측정⁶⁻¹¹, Ki67¹²⁻¹⁵, C5F10¹⁶, proliferating cell nuclear antigen(PCNA)¹⁷ 등에 대한 면역조직화학적 방법들이 알려져 있다. 이중 PCNA는 cyclin이라고도 불리는 분자량 36kD의 비히스톤계의 핵단백질로써 주로 세포 증식 주기의 G₁ 후기부터 S기에 걸쳐 세포핵 내에 축적하여 DNA polymerase의 보조인자로 작용하는 것으로 알려져 있다¹⁸. Robbins등¹⁹은 파라핀 절편에서 PCNA를 면역조직화학적으로 관찰하였고, Garcia등²⁰과 이등²¹은 PCNA를 이용한 면역조직화학적 방법에 의한 PCNA반응도와 동일 증례를 이용한 유식세포측정기에 의해 얻어진 합성기 세포분획 사이에 상관관계가 있음을 보고하였다. PCNA의 면역조직화학적 검색은 종양의 부위에 따른 증식능의 차이와 조직구조의 변형없이 세포증식능을 측정할 수 있다는 장점때문에 최근 여러 종양의 세포증식능 측정에 활용되고 있다.

결직장의 세포증식능에 관한 연구는 암위험도의 측정^{11,22,23}이나 케양성 대장염의 질병활성도 측정²⁴ 등과 같은 목적에서 시도되고 있지만 대부분 ³H-thymidine 자가방사선법²²이나 유식세포측정기에 의한 합성기 세포분획 측정¹¹ 및 신선 동결조직을 이용한 Ki-67에 대한 면역조직화학적 검색²⁵에 의한 것들이며 파라핀 절편을 이용하는 PCNA에 대한 면역조직화학적 방법을 통한 보고는 드물다. 결직장암 환자의 예후를 판정하는 예후인자로써 환자의 연령²⁶, 종양의 크기²⁷, 장천공의 유무²⁸, 장 폐쇄의 유무²⁹, 국소 침범정도 및 림프절 전이를 포함하는 Dukes병기^{27,28}, TNM 분류³, 조직학적 유형 및 등급^{26,31,32}, 혈관 및 신경조직 침윤 유무³³, DNA ploidy pattern^{11,34}, c-myc 암유전자 발현³⁵ 등이 알려져 있는데 PCNA에 대한 면역조직화학적 염색으로 측정된 세포증식능과 예후와의 관계는 불분명한 실정이다.

이에 저자는 결직장암세포의 세포증식능을 PCNA에 대한 면역조직화학적 방법으로 검색하고 이 PCNA 반응도와 다른 예후인자와의 상관관계를 확인함으로써 PCNA 반응도가 예후인자로 사용될 수

있는지를 규명해 보고자 본 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

전남대학교 병원에서 외과적으로 절제된 결직장암 종중 파라핀 포매체의 상태가 양호한 62례를 대상으로 하여 환자의 연령, 종양의 위치, 종양의 크기, 조직학적 분류, 림프절 전이, 간으로의 전이, 림프관 혹은 혈관 침범, Dukes 병기, TNM 분류, 초적 조사 기간, 추적기간중 전이 및 재발여부를 조사한후 PCNA에 대한 면역조직화학적 검색을 시행하였다.

1. Dukes 병기와 TNM분류

Astler와 Coller에 의해 수정된 Dukes병기³⁶와 암시기 결정과 최종결과 보고를 위한 미국합동위원회(AJC)가 제정한 방법³⁷으로 TNM분류를 각각 시행하였다.

2. 조직학적 검색

Hematoxylin-eosin 염색절편을 이용하여 대장암 취급지침서³⁸와 WHO 분류에 의해 고분화, 중등도 분화, 저분화 선암종과 점액암종으로 분류하였다.

3. 면역조직화학적 검색

세포증식능에 대한 면역조직화학적 검색은 10% 중성완충 포르말린에 고정된 후 제작한 파라핀 포매체를 3 μ m 두께로 박절하여 Probe-on 슬라이드에 부착시켜 건조시킨 다음 검색에 사용하였고 염색의 전 과정은 capillary gap action의 원리를 응용하여 개발된 Microprobe Immuno/ DNA stainer(Fisher Co.)를 이용하여 시행하였다. Slide holder에 파라핀 절편이 부착된 20장의 슬라이드를 채운후 탈 파라핀과 함수과정을 거쳐 일차항체인 PCNA(PC10, Dako)를 반응시켰다. 일차항체의 검출을 위한 이차항체는 biotin이 부착된 anti-mouse Ig G(Sigma)를 이용하여 30분간 부치시킨 후 완충액으로 씻어냈고 avidin-alkaline phosphatase를 30분간 작용시켰다. 검출계의 부치가 끝난 후 완충액으로 씻고 Fast Red TR salt를 이용하여 발색시켜 양성반응을 관찰하였다. 염색과정에 있어서 부치온도는 40 $^{\circ}$ C로 하였다.

결과의 판정은 두명의 병리의사가 광학현미경으로 관찰하여 종양세포 중 반응의 강도에 관계없이 종양세포 1,000개당 양성세포수를 측정하여 PCNA 반응도(index)를 산정하였다. PCNA 반응도는 Bauer등¹¹이 사용한 방법을 변형하여 45%이상을 갖는 고지표군(high index group)과 45%미만인 저지표군(low index

group)으로 구분하였다.

4. 통계학적 유의성 검정

각 군사이의 PCNA 반응도는 Students t-test를 사용하여 검정하였으며, 고지표군과 저지표군사이의 전이나 재발여부는 Kaplan-Meier disease free survival을 구하였고 Log rank test로 검정하였다.

성 적

본연구에 이용한 62예로서 남녀는 각각 26명, 36명으로 남녀비는 1:1.38이었다. 연령별로는 50대와 60대 환자수가 가장 많았는데 각각 20명(32.3%)과 22명(35.5%)이었다. 종양의 발병부위는 62예중 직장 42예(67.6%)로 많았으며 상행결장에 8예(12.9%), 우측이 10예(16.1%)이었다. 종양의 크기는 5cm 미만군이 28예(45.2%)이었고 5cm이상 34예(54.8%)이었다.

본 연구에 이용한 결직장암종의 조직학적 유형은 선암종이 59예(95.2%)이었고, 점액암종은 3예(4.8%)였고, 선암종은 고분화 선암종이 36예(58.1%), 중등도 분화 선암종이 16예(25.8%), 그리고 저분화 선암종이 7예(11.3%)였다.

결직장암종의 원발소에서 다른 장기로 전이한 경우는 32예였는데 림프절 전이가 24예(38.7%), 간전이 8예(12.5%)였다. 암세포가 혈관이나 림프관에 침윤된 경우는 13예(20.9%)에서 관찰되었다.

결직장암 환자의 수술당시 Dukes 병기는 B₂가 23예(37.1%), TNM 분류상 II가 24예(38.7%)로 가장 높게 나타났다.

환자의 추적조사는 55명의 환자에서 1개월이상 추적검사가 행하여졌으며 평균 추적검사기간은 15.3개월이었다. 추적기간중 재발 혹은 전이한 경우는 16예(25.8%)이었다.

면역조직화학적 염색상 PCNA의 양성반응은 핵에 국한되어 있었고 염색상은 미만성 혹은 과립상으로 나타났다(Fig. 1, 2). PCNA 양성반응은 암소 주위의 정상점막세포에서도 부분적으로 약한 양성반응이 관찰되었는데(Fig. 3) 반응도는 $25.8 \pm 10.2\%$ 로 62예의 종양세포의 반응도 $40.5 \pm 20.4\%$ 에 비해 낮은 편이었다($p < 0.01$). 주위의 조직으로 침윤하고 있는 부위와 림프관 및 혈관내에 침윤되어 있는 종양세포에서 PCNA 반응강도가 높았으며(Fig. 4), 진기하고 큰핵을 갖는 대형세포의 핵에서도 강한 양성반응을 보였다(Fig. 2).

면역조직화학적 검색을 통하여 PCNA의 양성세포

수를 산정한 PCNA 반응도는 상행결장 $43.7 \pm 25.7\%$, 횡행결장 $41.9 \pm 8.3\%$, 하행결장 $38.6 \pm 5.9\%$ S상 결장 $48.2 \pm 24.4\%$, 직장 $40.5 \pm 20.4\%$ 이었다. 종양의 발생부위에 따른 PCNA 반응도는 좌측 부위에 발생한 경우는 $39.9 \pm 19.9\%$ 이고 우측 부위가 $43.3 \pm 23.6\%$ 로 우측부위가 높게 나타났으나 통계학적 의의는 없었다(Table 1).

종양의 크기에 따른 PCNA 반응도는 5cm 미만 45.2±23.4%, 5cm이상은 54.8±26.1%로 종양의 크기가 클수록 PCNA 반응도가 높았으나 통계학적 의의는 없었다.

조직학적 유형에 따른 PCNA 반응도는 선암종이 $39.9 \pm 20.7\%$, 점액암종(Fig. 5)은 $51.6 \pm 7.5\%$ 로 점액암종에서 높은 빈도로 관찰되었다. 선암종은 분화도에 따라 고분화 선암종(Fig. 6)이 $36.4 \pm 16.6\%$, 중등도 분화 선암종(Fig. 7)이 $44.9 \pm 24.6\%$, 저분화 선암종(Fig. 8)이 $46.6 \pm 25.6\%$ 로 분화도가 낮은 선암종에서 높게 나타났다. 선암종을 저분화 선암종과 저분화 선암종이 아닌 군으로 나누어 관찰시 저분화 선암종이 아닌군이 52예로 $39.0 \pm 19.9\%$ 의 반응도를 보인 반면 저분화 선암종은 7예로 $46.6 \pm 25.6\%$ 의 반응도를 보여 저분화 선암종에서 높게 나타났으나 통계학적 의의는 없었다(Table 2).

림프절 전이 및 간전이에 따른 PCNA 반응도는 림프절 전이가 있는 경우는 $49.0 \pm 21.9\%$ 로 없는 경우의 $35.1 \pm 17.9\%$ 에 비해 높았으며($p < 0.05$) 간전이가 있는 경우는 $57.8 \pm 19.2\%$ 로 전이가 없는 경우의 $37.9 \pm 19.7\%$ 에 비해 높았다($p < 0.05$). 암세포의 림프관 및 혈관내 침윤이 있는 경우는 $47.7 \pm 16.6\%$ 로 침윤이 없는 $38.6 \pm 21.3\%$ 에 비하여 높았으나 통계학적 의의는 없었다.

수정된 Dukes 병기에 따른 PCNA 반응도는 병기가 증가할수록 PCNA 반응도가 증가하였으며 Dukes D가 $57.4 \pm 18.5\%$ 로 가장 높게 나타났다(Table 3). Dukes 병기를 A/B군과 C/D군으로 나누어 관찰시 각각 $33.2 \pm 15.7\%$, $47.8 \pm 22.5\%$ 로 Dukes 병기가 높을수록 PCNA 반응도가 높았다($p < 0.01$).

TNM분류에 따른 PCNA 반응도는 TNM분류가 높을수록 증가하였으며 IV기가 $56.2 \pm 19.1\%$ 로 가장 높게 나타났다(Table 4). TNM 분류를 I/II와 III/IV로 구분시 III/IV가 $47.8 \pm 22.5\%$ 로 I/II의 $33.2 \pm 15.7\%$ 비해 높게 나타났다($p < 0.01$).

추적조사 기간중 전이나 재발여부에 따른 PCNA 반응도는 재발한 경우인 16예의 반응도가 $45.4 \pm 21.5\%$ 로 전이나 재발하지 않는 군 39예의 $38.9 \pm 21.3\%$ 에 비해 높았으나 통계학적 의의는 없었다.

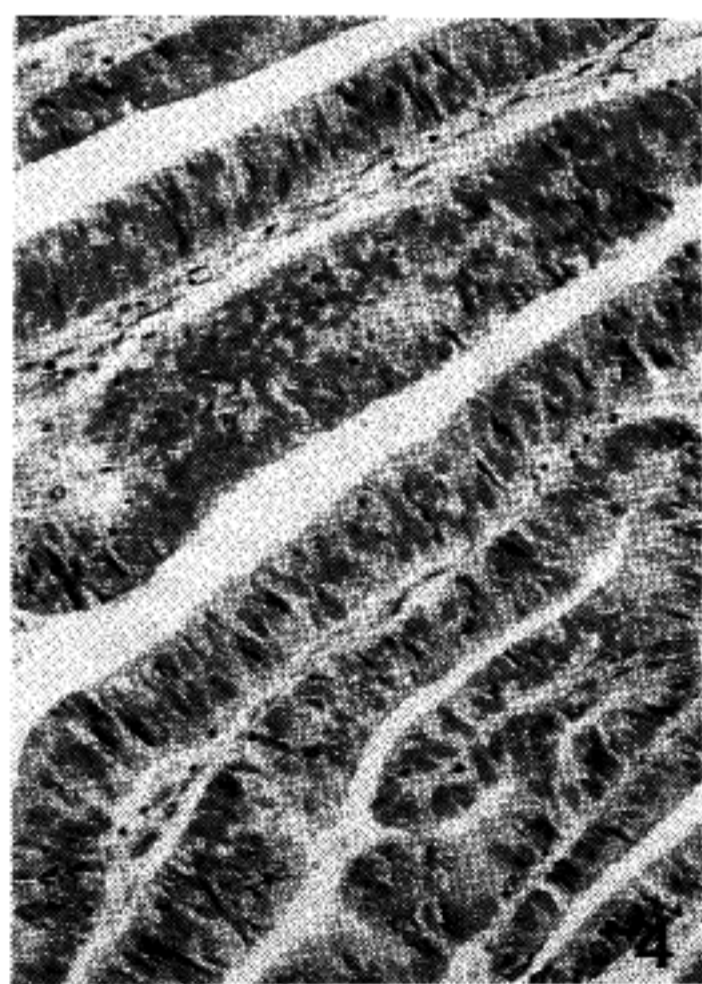
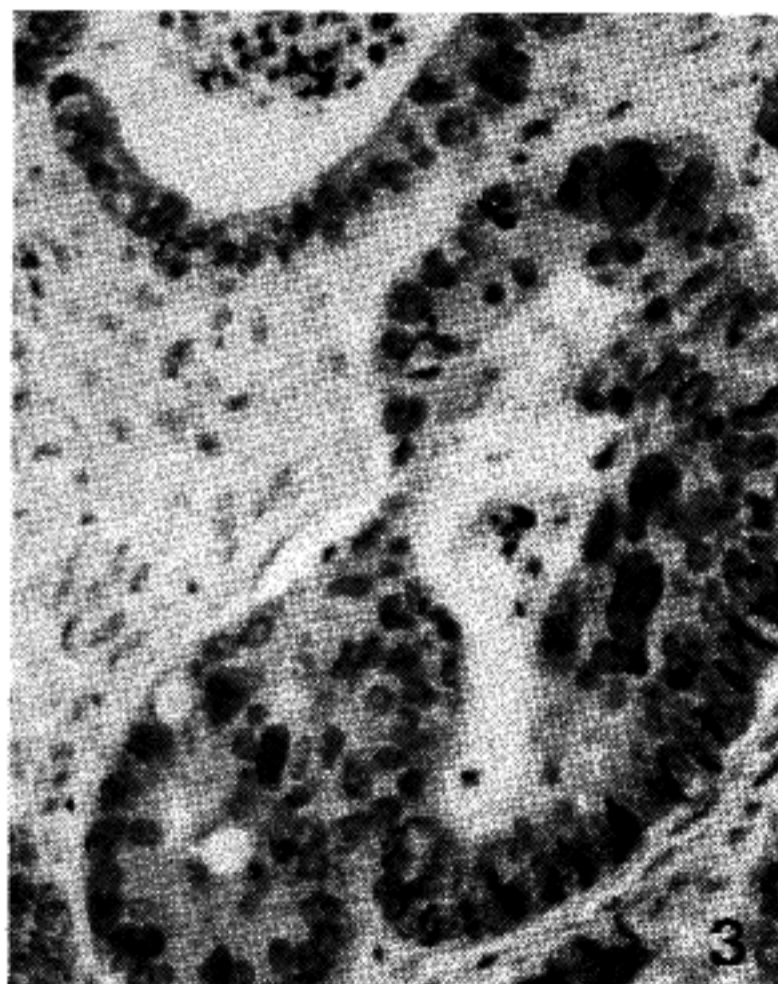
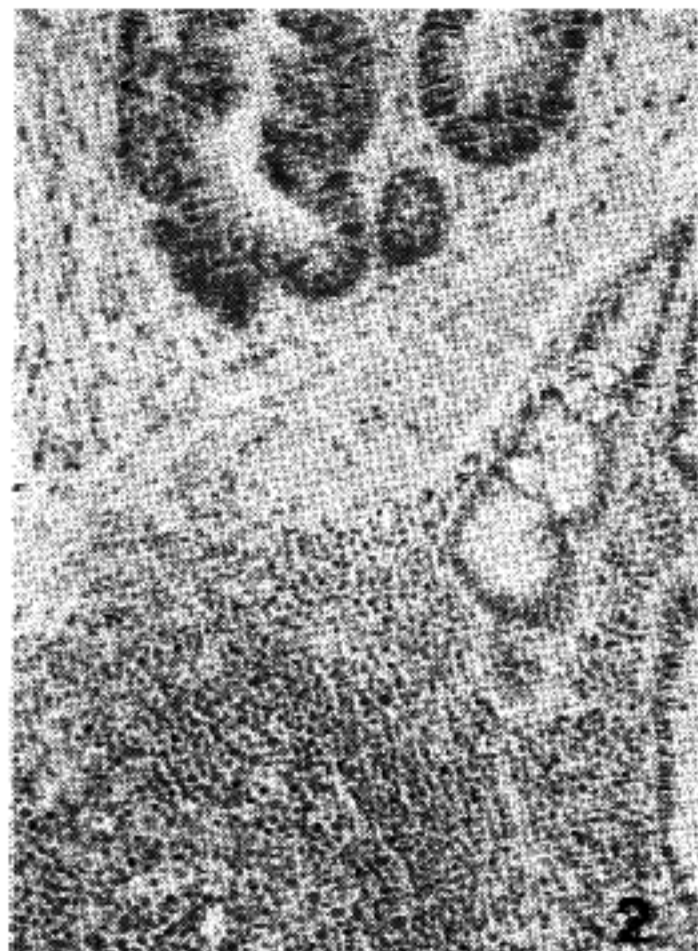


Fig. 1. Immunohistochemical stain for PCNA reveals positive reaction which is almost entirely confined to the nuclei of tumor cells.

Fig. 2. Immunohistochemical stain for PCNA shows diffuse pattern. Bizzare tumor cells reveals more strong positive reaction.

Fig. 3. Positive reaction of PCNA is also noted in normal glands and lymphoid tissues adjacent to tumors. But the number of positive cells in neoplastic glands are higher than in normal glands.

Fig. 4. Immunohistochemical stain for PCNA reveals positive reaction in most of the tumor cells of lymphatics.

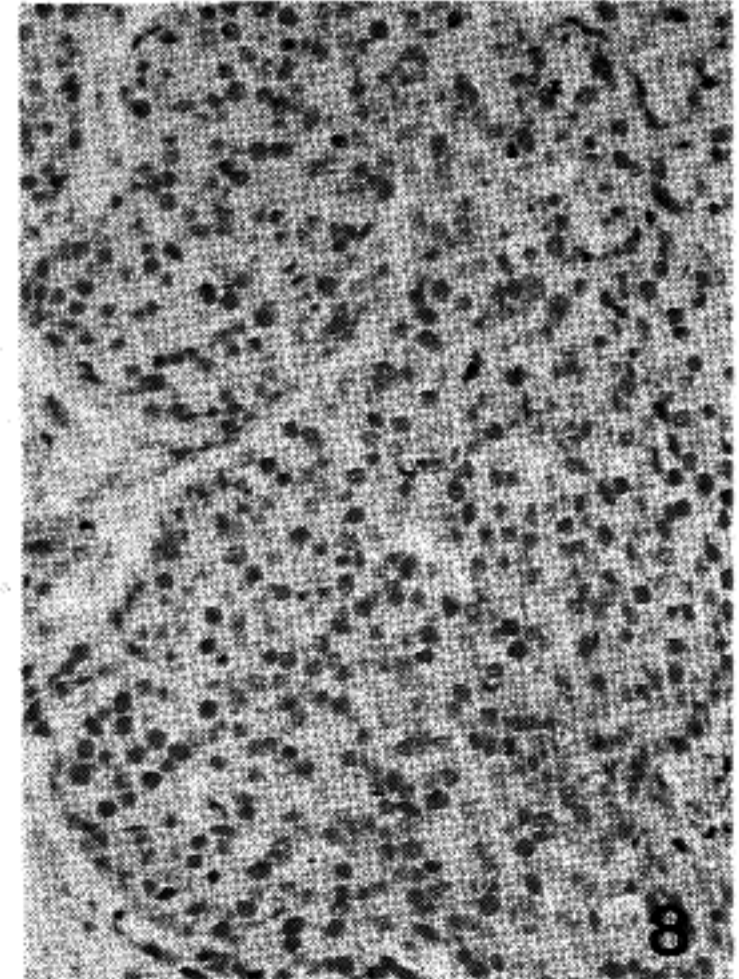
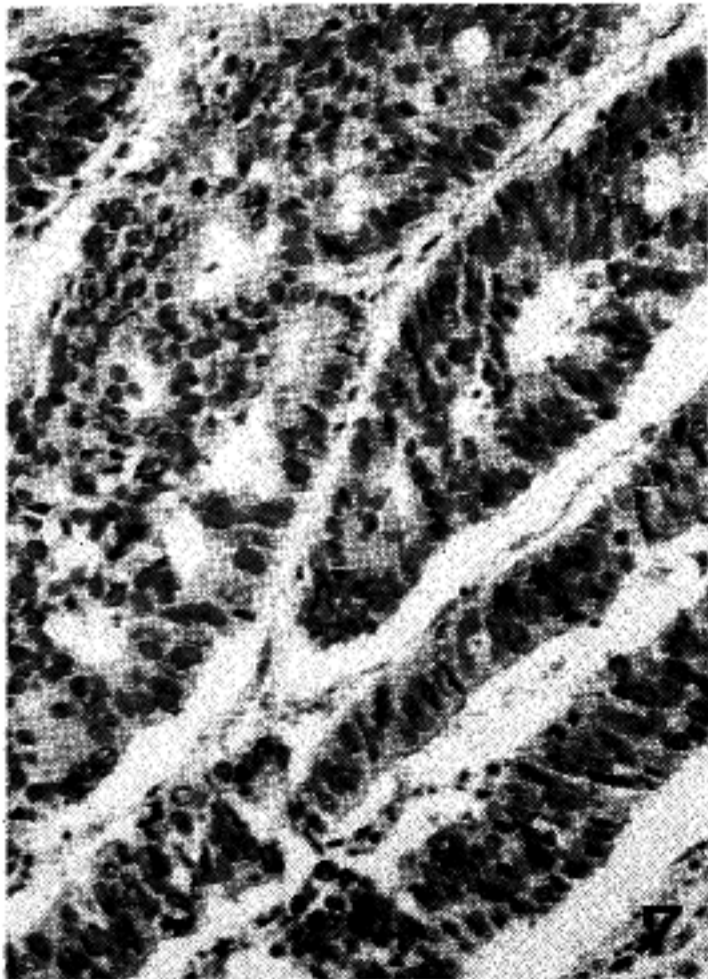
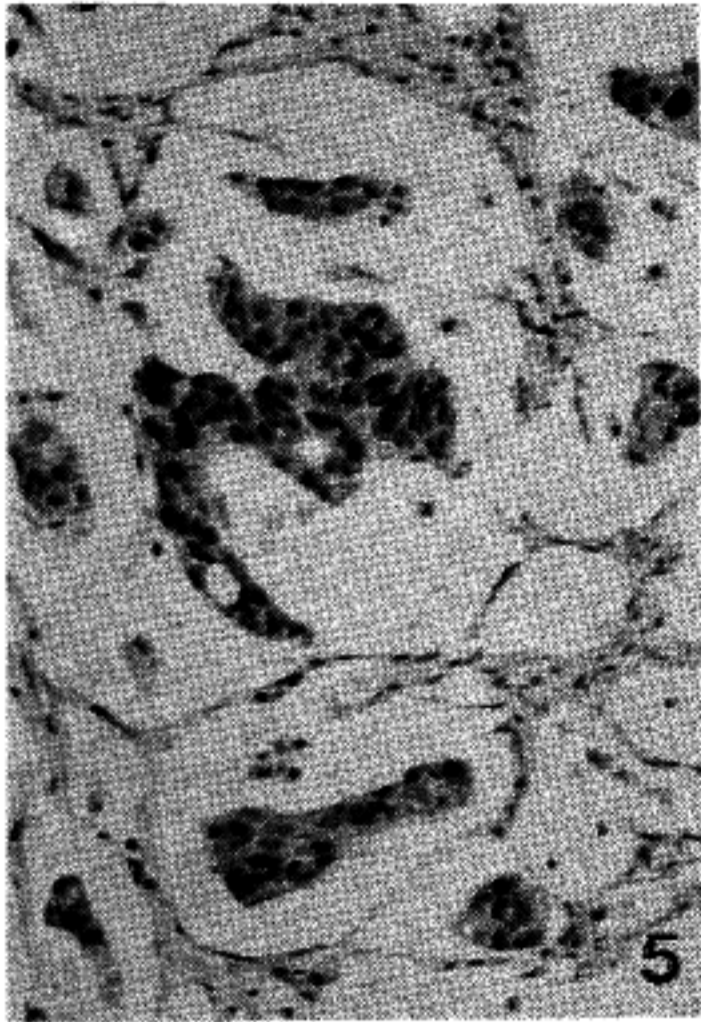


Fig. 5. Immunohistochemical staining of PCNA in mucinous carcinoma.
Fig. 6. Immunohistochemical staining of PCNA in well differentiated adenocarcinoma.
Fig. 7. Immunohistochemical staining of PCNA in moderately differentiated adenocarcinoma.
Fig. 8. Immunohistochemical staining of PCNA in poorly differentiated adenocarcinoma.

Table 1. PCNA index in colorectal carcinoma according to sites

Sites	No. of cases	PCNA index(%)
Ascending colon	8	43.7 ± 25.7
Transverse colon	2	41.9 ± 8.3
Descending colon	4	38.6 ± 5.9
Sigmoid colon	6	48.2 ± 24.4
Rectum	42	38.9 ± 19.6
Right side colon	10	43.3 ± 23.6
Left side colon	52	39.9 ± 19.9

Table 2. PCNA index in colorectal carcinomas according to histologic type and differentiation

Type	No. of cases	PCNA index(%)
Adenocarcinoma	59	39.9 ± 20.7
well differentiated	36	36.4 ± 16.6
Moderately differentiated	16	44.9 ± 24.6
Poorly differentiated	7	46.6 ± 35.6
Mucinous carcinoma	3	51.6 ± 7.5
Well/Moderately differentiated	52	39.0 ± 19.9
Poorly differentiated	7	46.6 ± 25.6

Dukes 병기 B와 C군 중 추적조사가 가능했던 47예 중 PCNA 반응도가 45% 이상인 고지표군은 16예, 45% 미만인 저지표군은 31예이었다. 이러한 예에서 추적기간중 전이나 재발한 경우는 PCNA 반응도가 고지표군(45% 이상)인 경우는 37.5%(6/16)로 저지표군의 19.3%(6/31)에 비하여 높게 관찰되었으나 통계학적 의의는 없었다.

고 찰

악성종양의 특징은 빠른 성장속도, 국소침윤성 및 전이능력 등³⁹이 있는데 이중 성장속도 즉 세포증식능은 종양의 생물학적 악성도를 판정하는 독립적인 지표로써 이용되고 있다. 이러한 세포증식능을 측정하는 방법에는 유사분열수 측정, ³H-thymidine을 이용한 자가방사선법, bromodeoxyuridine을 이용한 방법, 유식세포측정기에 의한 합성기 세포 분획 측정

Table 3. PCNA index in colorectal carcinoma according to the modified Dukes's stage

Stage	No. of cases	PCNA index(%)
B ₁	8	29.7 ± 12.2
B ₂	23	34.4 ± 16.3
C ₁	2	40.5 ± 17.2
C ₂	18	41.9 ± 22.7
D	11	57.4 ± 18.5
A/B	31	33.2 ± 15.7
C/D	31	47.8 ± 22.5

p<0.01

Table 4. PCNA index in colorectal carcinoma according to the TNM classification

TNM classification Stage	No. of cases	PCNA index(%)
I	7	31.0 ± 12.5
II	24	33.8 ± 16.1
III	21	43.8 ± 22.4
IV	10	56.2 ± 19.1
I/II	31	33.2 ± 15.7
III/IV	31	47.8 ± 22.5

p<0.01

및 Ki-67, C₅F₁₀, PCNA에 대한 면역조직화학적 방법 등이 알려져 왔다^{1~16}. 이중 유사분열수 측정은 비교적 쉽게 측정할 수 있는 방법이지만 관찰자에 따라 판독이 다를 수 있고 부위에 따라 유사분열수가 다를 수 있기 때문에 정확한 세포증식능의 측정에는 부적합하며⁴⁰ ³H-thymidine 자가방사선법을 이용한 방법은 측정시 많은 시간이 소요되며 생체내(In vivo)나 생체외에서 부착시켜야 하는 복잡성과 방사능에 노출될 위험성을 갖고 있다²². 유식세포 측정기에 의한 합성기 세포분획측정은 여러 종양에서 신빙성이 높은 예후인자로 보고되고 있지만 조직 처리과정에서 조직의 구조가 파괴되고 종양세포 뿐만 아니라 비종양세포가 함께 측정되는 단점이 있다⁴¹.

면역조직화학적 방법으로 세포 증식능을 측정하는 방법은 조직구조가 유지된 상태에서 양성 반응을 관찰할 수 있지만⁴² 대부분의 면역조직화학적 방법을 통한 세포증식능의 측정은 Ki-67과 C₅F₁₀을 이용한

방법으로서 이를 이용할 시는 신선 동결조직만을 이용해야 하는 불편함이 있다¹²⁻¹⁶.

최근에 개발된 PCNA는 Robbins등¹⁹이 파라핀 조직에서의 면역조직화학적 검색이 가능함을 제시하였고 Garcia등²⁰과 이등²¹에 의하여 합성기세포분획과 면역조직화학적 방법에 의한 PCNA 반응도 사이에 상관관계가 있음이 보고된 이후 이를 통한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 파라핀 절편에서의 세포증식능 측정은 다른 증식세포 표지자에 비하여 임상소견과 연관지어 후향적 조사를 가능하게 하였고, 미세한 병변에 대한 검토 및 부위에 따른 증식능의 차이를 조사할 수 있는 장점이 있다⁴².

본 연구에서도 파라핀 조직에의 PCNA의 면역조직화학적 검색을 통해 세포증식능을 측정함으로써 임상소견 및 조직형태와 대응되는 세포증식능을 관찰할 수 있었고 또한 그들의 추적조사를 통하여 종양의 생물학적 특성을 비교 검토할 수 있었다.

본 연구에서 PCNA에 대한 염색상이 미만성 또는 과립상으로 핵에 국한되어 관찰된 점은 세포주기의 G₁후기부터 S기에 걸쳐 세포핵내에 축적하여 DNA polymerase δ 의 보조인자로 작용하는 핵단백질이라는 보고¹⁸를 뒷받침해 주는 소견이었으며, 일부 종양에서 암소에 따라 양성율이 달랐던 점은 종양의 이질성 때문으로 생각되었다. 또한 염증성 점막, 선종 및 암종세포의 반응도가 정상점막에 비해 높았다는 Diebold등⁴³의 보고와 마찬가지로 정상점막의 반응도가 종양세포의 반응도에 비해 낮았던 점은 종양세포의 변연부나 혈관내 종양세포에서 강한 양성반응을 보이고 기이하고 큰핵을 갖는 일부세포에서 강한 양성 반응을 보였던 점 역시 이들세포가 다른 종양세포들에 비해 증식이 활발함을 나타내 주는 소견으로 이런 세포를 많이 함유하는 경우일수록 예후가 좋지 않을 것으로 추정되었다.

본 연구에서 PCNA 양성율이 $40.5 \pm 20.4\%$ 로써 유식세포측정기에 의한 합성기세포분획 13~19%^{11,44,45}, ³H-thymidine을 이용한 자가방사선법의 33%⁴⁶, PCNA를 이용한 면역조직화학적 방법에 의한 Robbins등¹⁹의 5~10%¹⁹에 비해서는 높았다. 본연구의 PCNA 양성율이 유식세포측정기와 ³H-thymidine을 이용한 자가방사선법에 의한 결과보다 높게 나타난 점은 양방법에 의해 측정되어진 합성기세포분획에는 종양세포 뿐만 아니라 증식하지 않는 간질세포와 염증세포가 동시에 측정되었을 가능성을 생각할 수 있었다. 한편 PCNA를 이용한 면역조직화학적 방법에 의한 Robbins등¹⁹의 보고에 비하여 높았는데 이는 면역조직화학적 염색법의 개선에 의한 것으로 사료되었으

며 고정의 방법을 달리한 Diebold등⁴³의 51%와 유사한 점으로 면역조직화학적 방법의 정도관리가 필요하다고 사료되었다.

한편 결직장암 환자의 예후추정인자로는 환자의 연령, 종양의 크기, 장폐쇄유무, 천공유무, 국소침윤과 림프절 전이를 포함하는 Dukes 병기, TNM분류, 조직학적 유형 및 등급, 혈관 및 신경조직 침윤, DNA ploidy pattern, c-myc 암유전자 발현 등^{26,35}이 있는데 본 연구에서 PCNA 반응도와 이들과의 상관관계를 검색해 본 결과 림프절 전이 및 간전이 있는 군, Dukes' 병기 C/D군, TNM 분류 III/IV군에서 통계학적으로 의의가 있는 높은 양성율을 보여 세포증식능이 높을수록 빠른 성장을 하며 또 높은 전이능력을 가져 예후가 불량할 것으로 추측되었다. 또한 본 연구에서 통계학적인 의의는 없지만 크기 5cm이상인 군, 점액암종과 저분화선암종군, 림프관 및 혈관내 침범군에서 높은 양성율을 보인 점 역시 이들 군에서 종양 세포의 증식이 활발하고 예후 또한 불량한 것으로 생각되었다. 한편 본 연구에서 PCNA 반응도 45%를 기준으로 고지표군과 저지표군으로 나누어 관찰한 결과 전이가 없이 국소침윤하는 Dukes' B와 림프절 침범이 있으나 원격장기로의 전이가 없는 C중 고지표군인 경우 37.5%에서 저지표군인 경우 19.3%에서 재발 및 전이를 보여 고지표군에서 통계학적으로 의의있는 높은 재발 및 전이를 보였다는 Bauer등¹¹의 보고와 유사한 결과를 나타냈다. 이러한 결과는 결직장암종에서의 PCNA 반응도가 결직장암종 환자의 예후판정에 좋은 지표가 될 수 있음을 시사해 주는 소견이라 생각되었으며 향후 PCNA 반응 고지표군과 저지표군에 대한 보다 객관적인 구분점이 제시되고 보다 많은 예에 대한 조사와 함께 장기간의 추적조사가 이루어 진다면 결직장암종 환자의 예후판정에 많은 도움을 줄 수 있으리라 생각된다.

종양의 외과적 절제후 시행되는 보강화학요법은 결직장암 환자의 치료에 효율적인데^{47,48} 높은 증식능을 보이는 종양의 경우 세포주기 중 합성기 세포에 특이하게 작용하는 fluorinated pyrimidines계의 항암제에 잘 반응 할 것으로 예상되어 결직장암의 외과적 절제 후 PCNA 반응도를 측정한다면 환자의 예후 추정 뿐만 아니라 치료방법 결정에도 많은 도움이 될 것으로 예상된다.

결 론

62예의 결직장암종을 대상으로 면역조직화학적 방

법으로 세포증식항원 PCNA에 대한 반응도를 측정하여 기존의 결직장암종의 예후인자들과의 상관관계를 구명하고자 본 연구를 시행하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) PCNA의 양성반응은 주위 조직으로 침윤하는 부위와 림프관 및 혈관내에 침윤되어 있는 종양세포들에서 강한 양성반응을 보였다.

2) 평균 PCNA의 반응도는 $40.5 \pm 20.4\%$ 이었고 PCNA 반응도는 림프절 전이군($p < 0.05$), 간전이군이 있는 군($p < 0.05$), Dukes 병기($p < 0.01$) 및 TNM 분류($p < 0.01$)가 높은군에서 높게 관찰되었다. 반면 PCNA 반응도는 종양의 위치, 종양의 크기, 조직학적 유형 및 림프관과 혈관내의 침윤과는 상관관계가 없었다.

3) Dukes 병기 B와 C인 군에서 PCNA 반응도가 고지표군(PCNA 반응도가 45%이상)인 경우는 저지표군(PCNA 반응도가 45%미만)에 비해 추적기간중 전이나 재발빈도가 높았다.

이상의 성적은 결직장암종에서 PCNA 반응도가 예후인자로 사용될 가능성을 시사하였다.

참 고 문 헌

1. Scully RE, Kempson RL, Norris HL. Mitosis counting. *Hum Pathol* 1976; 7: 481-4.
2. Dohnuijesen K. Mitosis counts: reproducibility and significance in grading of malignancy. *Hum Pathol* 1986; 17: 1122-5.
3. Meyer JS, Friedman E, McCrate MM, Bauer WC. Prediction of early course in breast carcinoma by thymidine labelling. *Cancer* 1983; 51: 1866-79.
4. Gratzner HG. Monoclonal antibody to 5-bromo-and 5-iodo-deoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. *Science* 1982; 218: 474-5.
5. Wilson GD, McNally NJ, Dische S. Measurement of cell kinetics in human tumors in vivo using bromodeoxyuridine incorporation and flow cytometry. *Br J Cancer* 1988; 58: 423-31.
6. Yonemura Y, Sugiyama K, Miyazaki I, Fujimura T, Kamata T, Kosaka T, Yamaguchi A, Miwa K. Correlation of DNA ploidy and proliferative activity in human gastric cancer. *Cancer* 1988; 62: 1492-502.
7. Kallioniemi O, Punnonen R, Koivula T, Mattila J, Lechlinen M. Prognostic significance of DNA index, multiploidy, and S-phase fraction in ovarian cancer. *Cancer* 1988; 61: 334-9.
8. Volm M, Hahn EW, Weber E. Five-year follow-up study of independent clinical and flow cytometric prognostic factors for the survival of patients with non-small cell lung carcinoma. *Cancer Res* 1988; 48: 2923-8.
9. Ohshima S, Yonemura Y, Miyazaki I. Prognostic value of S-phase fraction and DNA ploidy studied with in vivo administration of BrdUrd on human gastric cancers. *Cancer* 1990; 65: 116-21.
10. Yonemura Y, Ohshima S, Miyazaki I. Retrospective analysis of the prognostic significance of DNA ploidy patterns and S-phase fraction in gastric carcinoma. *Cancer Res* 1990; 50: 509-14.
11. Bauer KD, Lincoln ST, Vera-roman JM, Wallemark CB, Chmiel JS, Madurski ML, Murad T, Scarpelli DG. Prognostic implications of proliferative activity and DNA aneuploidy in colonic adenocarcinomas. *Lab Invest* 1987; 57: 329-35.
12. Barnard NJ, Hacll PA, Lemoine NR, Kadar N. Proliferative index in breast carcinoma determined in situ by Ki-67 immunostaining and its relationship to clinical and pathological variables. *J Pathol* 1987; 152: 287-95.
13. Gatter KC, Dunnill MS, Gerdes J, Stein H, Mason DY. New approach to assessing lung tumors in man. *J Clin Pathol* 1986; 39: 590-3.
14. Hall PA, Richards MA, Gregory WM, d'Ardenne AJ, Lister TA, Stansfeld AG. The prognostic value of Ki-67 immunostaining in non-Hodgkin's lymphoma. *J Pathol* 1988; 154: 223-35.
15. Burger PC, Shibata T, Kleihues P. The use of the monoclonal antibody Ki-67 in the identification of proliferating cells: application to surgical neuropathology. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 611-7.
16. Lloyd RV, Wilson BS, Varani J, Gaur PK, Moline S, Makeri JG. Immunocytochemical characterization of monoclonal antibody that recognizes mitosing cells. *Am J Pathol* 1985; 121: 275-83.
17. Van Dierendonck JH, Wijsman JH, Keijzer R, Van de velde CJH, Cornelisse CJ. Cell-cycle-related staining patterns of anti-proliferating cell nuclear antigen monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 1991; 138: 1165-72.
18. Hall PA, Levison DA, Woods AL, Yu CC, Kellock DB, Watkins JA, Barnes DM, Gillett CE, Camplejohn B, Waseem NH, Sane DP. Rapid communication: 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.
19. Robbins BA, de la Vega D, Ogata K, Tan EM, Nakamura RM. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human

- maligancies. Arch Pathol Lab Med 1987; 111: 841-5.
20. Garcia RL, Coltrera MD, Gown AM. Rapid communication: analysis of proliferative grade using anti PCNA-cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues: comparison with flow cytometric analysis. Am J Pathol 1987; 134: 733-9.
 21. 이지신, 박종태, 정상우, 최홍란, 조규혁. 실험적으로 유발한 악성섬유성 조직구종에서의 DNA ploidy와 세포증식능에 관한 연구. 대한병리학회지 1993; 27: 205-16.
 22. Maasken AP, Deschner EE. Triated thymidine incorporation into epithelial cells of normal appearing colorectal mucosa of cancer patients. J Natl Cancer Inst. 1977; 58: 1221-4.
 23. Romagnoli p, Filliponi F, bandettini L, Brugnola D. Increase of mitotic activity in the colonic mucosa of patients with colorectal cancer. Dis Colon Rectum 1984; 27: 305-8.
 24. Franklin WA, McDonald GB, Stein HO, Gatter KC, Jewell DP, Clarke LC, Mason DY. Immunohistologic demonstration of abnormal colonic crypt cell kinetics in ulcerative colitis. Hum Pathol 1985; 16: 1129-32.
 25. Shepherd NA, Richman PI, England J. Ki-67 derived proliferative activity in colorectal adenocarcinoma with prognostic correlations. J Pathol 1988; 155: 1213-9.
 26. Griffin MP, Bergstralh EJ, Coffey RJ, Beart RW Jr, Melton LJ. Predictors of survival after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. Cancer 1987; 60: 2318-24.
 27. Steinberg SM, Barwick KW, Stablein DM. Importance of tumor pathology and morphology in patients with surgically resected colon cancer. Cancer 1986; 58: 1340-5.
 28. Steinberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, Stablein DM. Prognostic indicators of colon tumors. The Gastrointestinal tumor study group experience. Cancer 1986; 57: 1866-70.
 29. Rich T, Gunderson LL, Lew R, Galdibini JJ, Cohen AM, Donaldson G. Patterns of recurrence of rectal cancer after potentially curative surgery. Cancer 1983; 52: 1317-29.
 30. Hermanek P, Altendorf A. Classification of colorectal carcinomas with regional lymphatic metastases. Pathol Res Pract 1981; 173: 11-11.
 31. Dukes CE. The surgical pathology of rectal cancer. J Clin Pathol 1949; 2: 95-98.
 32. Newland RC, Chapuis PH, Pheils MT, Macpherson JG. The relationship of survival to staging and grading of colorectal carcinoma. A prospective study of 503 cases. Cancer 1981; 47: 1424-9.
 33. Jrasba MJ, Flancbaum I, Cody RP, Shneibaum S, Ari GB. vascular and neural invasion in colorectal carcinoma. Incidence and prognostic significance. Cancer 1988; 61: 1018-23.
 34. Enbland P, Glimelius B, Bengtsson A, Ponten J, Pahlmen L. DNA content in carcinoma of the rectum and rectosigmoid. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [A] 1985; 93: 277-84.
 35. Sikora K, Chan S, Evan G, Gabra H, Markham N, Stewart J, Watson J. C-myc oncogene expression in colorectal cancer. Cancer 1987; 59: 1289-95.
 36. Astler VB, Collier FA: The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. Ann Surg 1954; 139: 846-9.
 37. Stearns MWV Jr. Staging colonic and rectal cancer. Int Adv Surg Oncol 1981; 4: 189-208.
 38. 대한대장항문병학회, 대한외과학회: 한국인 대장암 취급 지침서. 의학문화사 1988; 2-40.
 39. Weis L. A pathologic overview of metastasis. Semin Oncol 1977; 1: 5-17.
 40. Grinnell RS. The grading and prognosis of carcinoma of the colon and rectum. Ann Surg 1939; 109: 500-3.
 41. Hall PA, Levison DA. Review: assesment of cell proliferation in histological material. J Clin Pathol 1990; 43: 184-92.
 42. Hall PA, Woods AL. Immunohistochemical markers of cell proliferation : Archiverments, problems and prospects. Cell Tiss Kinet 1990; 23: 505-22.
 43. Diebold J, Lai, Lohrs U. Analysis of proliferative activity in colorectal mucosa by immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen(PCNA): Methodological aspects and application to routine diagnostic material. Virchows Archiv B Cell Pathol 1992; 62: 283-9.
 44. Frankfurt OS, Greco WR, Slocum HK, Arbuck SG, Gamarra M, Pavelic ZP, Rustum YM. Proliferative characteristics of primary and metastatic human solid tumors by DNA flow cytometry. Cytometry 1984; 5: 629-35.
 45. Sugarbaker PH, MacDonald JS, Gunderson LL. Colorectal cancer. In Cancer: Principles and practice of oncology, edited by DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, Philadelphia, JB Lippincott Co. 1982; 688-92.
 46. Bleiberg H, Buyse M, Galand P. Cell kinetic indicators of premalignant stages of colorectal cancer. Cancer 1985; 56: 124-9.

47. National Institutes of Health Consensus Conference. Adjuvant therapy for patients with colon and rectal cancer: summary of NIH Consensus Conference. *JA MA* 1990; 264: 1444-50.
48. Laurie JA, Moertel CG, Fleming TR, Weiland HS,

Leigh JE, Rubin J. Surgical adjuvant therapy of large bowel carcinoma: an evaluation of levamisole and the combination of levamisole and fluorouracil: the North Central Cancer Treatment Group and the Mayo Clinic. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1447-56.
