

점막하층을 침범한 조기위암 환자에서 림프절의 미세전이와 예후와의 상관관계에 대한 연구

동아대학교 의과대학 외과학교실, ¹해부병리학교실

김윤기 · 최홍조 · 김영훈 · 정갑중 · 김상순 · 홍숙희¹

Incidence and Prognostic Implications of Lymph Node Micrometastases in Patients with Submucosal Gastric Cancer

Yoon-Ki Kim, M.D., Hong-Jo Choi, M.D., Young-Hoon Kim, M.D., Ghap-Joong Jung, M.D., Sang-Soon Kim, M.D. and Sook-Hee Hong, M.D.¹

Purpose: Whereas lymph node metastasis in gastric cancer is an important prognostic factor, the prognostic relevance of occult tumor cells in lymph nodes has not yet been elucidated. The aims of this study were to assess the incidence of micrometastases of lymph nodes in patients with submucosally invaded gastric cancer and to investigate whether micrometastases of lymph nodes have prognostic significance.

Methods: In order to evaluate the incidence of lymph node micrometastases in patients with submucosal gastric cancer, 1423 lymph nodes taken from 55 patients were assessed by immunohistochemical technique using a monoclonal anti-human cytokeratin-8. Clinicopathologic parameters and prognoses were compared between patients with and without micrometastases.

Results: The incidence of nodal involvement by tumor cells in 55 patients with submucosal gastric cancer increased from 20.0% (11 patients) by hematoxylin-eosin (H-E) staining to 30.8% (17 patients) by immunohistochemical staining. Nodal positivity in this study increased from 0.8% (12/1423 nodes) by H-E staining to 3.2% (45/1423 nodes) by immunohistochemical staining ($p=0.003$). The presence of cytokeratin positivity was not related to various clinicopathologic factors. As estimated by the Kaplan-Meier lifetable methods, there was no significant difference in the five-year survival rate between the micrometastases negative and positive groups (94.8%

and 94.1%, respectively).

Conclusion: The presence of nodal micrometastases detected by immunohistochemical technique is an interesting phenomenon, however clinically it seems to be of only weak prognostic value in submucosal gastric cancer. (*J Korean Surg Soc* 2001;62:158-163)

Key Words: Micrometastasis, Cytokeratin, Gastric cancer, Submucosal layer

중심 단어: 미세전이, Cytokeratin, 위암, 점막하층

Departments of Surgery and ¹Pathology, Dong-A University College of Medicine, Busan, Korea

서 론

위암은 우리 나라에서 가장 흔히 발생하는 악성종양으로 많은 연구를 통하여 위암의 치료성적을 극대화하기 위해 노력을 하고 있으나 현재까지 만족스럽지는 못하다. 그러나 근래에 들어와 암의 조기진단에 대한 중요성이 일 반화됨에 따라 조기위암의 진단과 외과적 치료에 대한 개념이 발전되면서 위암의 사망률이 많이 감소하게 되었다.(1) 조기위암이란 림프절의 전이 여부와는 관계없이 종양세포가 점막 혹은 점막하층까지 국한된 예로 정의되며,(2) 근치수술 후 5년 생존율은 90% 이상으로 보고되고 있다.(3-5) 이를 달리 해석하면 조기위암은 수술적 치료를 통하여 완치의 가능성이 매우 높으나, 약 10%의 환자는 근치수술 후에도 재발을 한다는 의미로 이해될 수 있다. 조기위암에서 생존율에 영향을 미치는 중요한 인자는 림프절의 전이 유무로서,(6) 특히 점막하층까지 종양세포가 파급되면 림프절의 전이 빈도는 증가하게 된다.(7,8)

현재 위암수술 후 림프절의 전이 여부를 포함한 병리학적 진단은 통상적으로 hematoxylin-eosin (이하 H-E) 염색이 이용되고 있는데, 이 염색만으로는 림프절의 미세전이(micrometastasis)를 확인하는데는 한계가 있다. 최근 대장암,(9,10) 유방암(11,12)에서 고전적인 H-E 염색을 통해서 는 확인하기 힘든 림프절의 미세전이 여부를 확인하기 위

책임저자 : 최홍조, 부산광역시 서구 동대신동 3가 1번지
☎ 602-715, 동아대학교병원 외과
Tel: 051-240-5146, Fax: 051-247-9316
E-mail: colonch@hatmail.com

접수일 : 2001년 5월 2일, 게재승인일 : 2001년 7월 20일
본 논문의 요지는 2001년 대한외과학회 춘계학술대회에서 구연되었음.

해 cytokeratin에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 염색법이 이용되어, 이를 통한 림프절의 미세전이와 예후와의 관계에 대해 보고되고 있다. Cytokeratin은 상피성 세포의 필수적인 구성성분으로서 상피성 기원 세포의 확인을 위한 표식자로 매우 유용하다고 한다.(13)

미세전이의 임상적 의의는 이 인자가 종양의 재발과 상관관계를 가지는 위험인자로 분류되어야 하는가 하는 점으로서 이를 토대로 외과적 치료에 대한 최근의 개념들, 즉 내시경 혹은 복강경을 통한 위절제술의 타당성과 수술 보조요법의 적응 범위의 확장 여부 등이 결정될 수 있을 것이다. 저자는 수술 점막하층까지 침범된 조기위암으로 진단된 환자의 위암종 조직을 대상으로 H-E 염색표본에서 림프절 전이 빈도를 알아보고 또 면역조직화학적 염색을 통하여 림프절의 미세전이의 빈도를 관찰하여 미세전이와 예후와의 상관관계를 규명함으로써 미세전이의 유무에 따른 보조요법의 필요성과 기존의 H-E 염색에 의한 병기 결정의 보완 여부를 알아보고자 연구를 시행하였다.

방 법

1) 대상환자

1992년에서 1995년까지 조기위암으로 진단되어 동아대 학병원 일반외과에서 D2 림프관청술을 포함한 근치적 위절제술을 받은 환자 중 수술 병리조직 검사상 점막하층까지 침범된 조기위암 환자를 대상으로 후향적 조사를 시행하였다. 이중 신체의 타 부위에 악성종양이 동반되었던 환자 혹은 수술 위암과는 무관한 원인으로 사망하였던 경우, 그리고 추적조사에서 소실된 환자는 대상에서 제외되었다. 최종적으로 연구에 포함된 환자는 모두 55예이었다.

2) 임상 및 병리학적 검색

대상환자 55예를 대상으로 병리조직 판독지와 조직표본 슬라이드를 재검토하였으며, 조직학적 분화도는 세계보건기구의 기준에 의해 분류하였다.(14) 육안적 형태는 일본 소화기 내시경학회의 기준을 근거로 분류하였으며,(15) 두가지 이상의 형태가 혼합된 경우에는 주된 형태를 기준으로 분류하였다. 그리고 모든 병리조직 표본에 대해 혈관 및 림프관의 침습 여부를 다시 검사하였다.

3) 면역조직화학적 염색 및 판독

총 55예의 환자에서 절제한 위조직을 10% 중성 포르말린 용액에 고정하여 파라핀에 포매하여 만든 H-E 염색 표본을 재검색하고 림프절의 파라핀 포매 블록을 모두 cytokeratin 단백질에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 우선 파라핀 포매조직을 4µm 두께로 잘라 크실렌에서 파라핀을 제거하고 일련의 알코올을 이용한 함수과정을 거친 후, 종양 조직내 항원 단백을 회복하기 위하여 전처리

과정으로 표본을 펩신 용액에 담근 다음 phosphate-buffered saline (PBS) 완충액으로 세척하였다. 다음으로 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위하여 3% H₂O₂에 10분간 반응시켰으며, 비특이적 항체 결합을 최소화하기 위해 non-immune serum에 실온에서 20분간 반응시킨 후 PBS 완충액으로 20분간 세척하였다. 일차 항체인 monoclonal anti-human cytokeratin-8 (Dako Co., Carpinteria, CA, USA)에 실온에서 한시간 반응시킨 후 PBS 완충액으로 10분간 세척하였다. 표본을 다시 2차 항체인 biotinylated polyvalent antibody인 Histostain-plus (Zymed Lab Inc., South San Francisco, CA, USA)와 10분간 반응시킨 다음 PBS 완충액으로 세척한 후 HRP-streptavidine으로 10분간 반응시켰다. 그후 표본을 PBS 완충액으로 세척하고 aminoethyl carbazole (AEC) 발색시약으로 10분간 염색한 후 물로 세척하고 hematoxylin으로 3분간 대조 염색을 한 후 물로 씻고 crystal mount로 봉입한 후 현미경으로 검경하였다. 판독

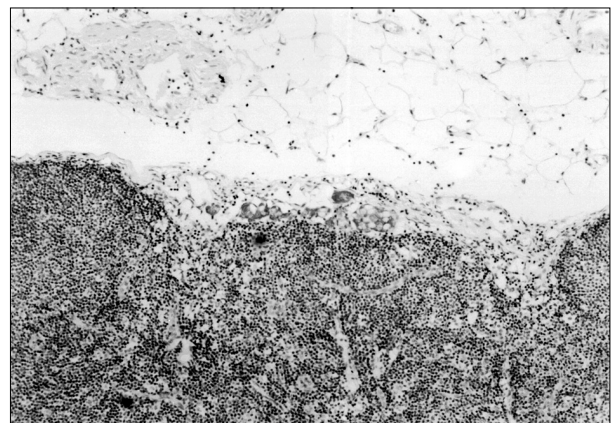


Fig. 1. Immunohistochemical stain for cytokeratin. A few positively stained tumor cells are present (×100).

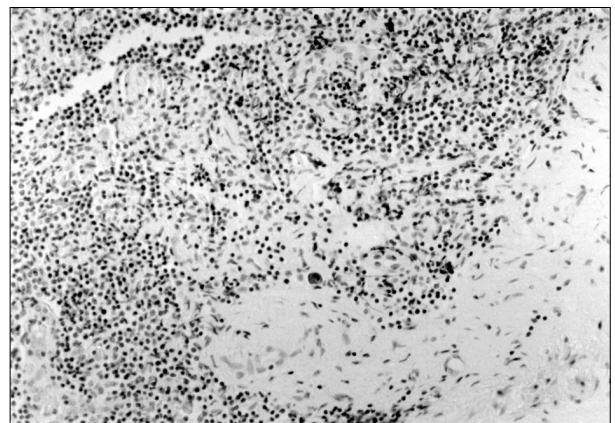


Fig. 2. Immunohistochemical stain for cytokeratin. A single positively stained tumor cell is present (×200).

과정으로서 광학현미경으로 림프절내에 세포질이 적갈색으로 염색되는 세포가 나타나면 고배율에서 중앙세포인지를 확인하여 전이 양성 림프절의 개수를 결정하였다 (Fig. 1, 2).

4) 분석 및 통계학적 처리

미세전이를 포함한 림프절 전이의 유무와 임상 및 병리학적인 인자 사이의 관계는 두 척도간의 환자 수의 분포별 분석에서는 Fisher's exact test (two-sided)와 chi-squared test를, 그리고 셋 이상 척도간에서의 환자의 분포별 분석에서는 chi-squared test를 이용하여 유의성을 검정하였으며, 두 척도간의 평균값의 비교는 unpaired t-test를 이용하여 검정하였다. 생존곡선은 Kaplan-Meier법을 이용하여 계산하여 log-rank test로써 분석하였다. 통계 처리는 InStat® 3.00 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)을 이용하여 시행되어졌으며 p값이 0.05 미만인 경우를 통계학적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1) 임상 및 병리학적 성상

대상환자 중 남자는 34예(61.8%), 그리고 여자는 21예(38.2%)로서 남녀비는 1.62 : 1이었다. 환자 연령은 37세부터 79세까지였으며 평균연령은 59세였다. 종양의 발생부위별 분포는 위의 근위부 종양이 20예(36.4%), 원위부 종양은 35예(63.6%)이었다. 종양의 육안적 형태는 제1형(용기형)이 7예(12.7%), 제2형(편평형)이 40예(72.7%) 그리고 제3형(함몰형)이 8예(14.6%)이었다. 종양의 분화도는 고분화형이 14예(25.4%), 중등도 분화형 18예(32.7%) 그리고 저분화형이 20예(36.4%)이었으며 인환세포암은 3예(5.5%)에서 확인되었다.

2) 림프절의 전이 및 미세전이의 빈도와 양상

대상환자 각각의 절제 조직에서 H-E 염색과 anti-cytokeratin을 이용한 면역조직화학적 염색을 통해 검사한 총 림프절 수는 모두 1,423개로서 한 환자당 평균 26개(범위: 12~47)였다(Fig. 3). H-E 염색표본에서 림프절 전이는 11예(20%)에서 12개(0.8%)의 림프절에서 확인되었는데 이들은 모두 anti-cytokeratin 염색에 양성을 나타내었으며, 이들 환자에서 면역조직화학적 염색만으로 미세전이 양성을 나타낸 림프절은 추가적으로 확인되지 않았다. 그러나 anti-cytokeratin을 이용한 면역조직화학적 염색을 통한 미세전이는 다른 6예(10.8%)의 환자로부터 33개(2.3%)의 림프절에서 추가로 양성으로 나타났다(Fig. 4). 검사된 총 림프절에 대한 전이 양성 림프절의 빈도는 H-E 염색에서 0.8% 그리고 anti-cytokeratin을 이용한 면역조직화학적 염색에서는 3.2%로 면역조직화학적 검사에서 양성 발견을

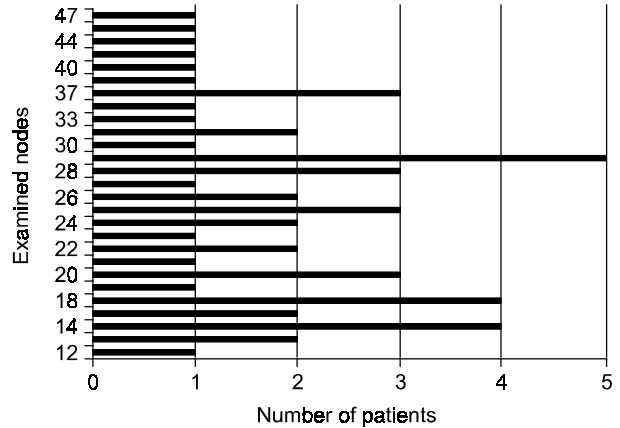
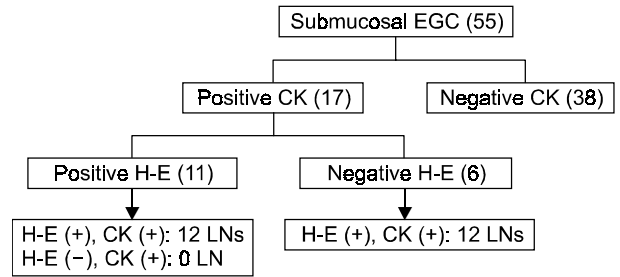


Fig. 3. Number of total lymph node investigated in each patient



H-E = hematoxylin-eosin; IHC = immunohistochemical staining

Fig. 4. Number of positive patients and lymph nodes detected by hematoxylin-eosin and immunohistochemical staining

이 높았는데 이는 통계학적으로도 유의한 차이를 보였다 (p=0.003). 17명의 림프절 전이 양성 환자에서 환자 당 전이된 림프절 수는 32개 중 1개(3.1%)에서 14개 중 6개(42.9%)의 범위였다.

3) 미세전이와 임상 및 병리학적 인자와의 관계

림프절 전이의 유무에 따라 환자를 두 군으로 나누어 여러 임상 및 병리학적인 인자들의 크기 및 분포의 차이가 이들 두 군간에서 통계학적 유의성이 있는지를 분석하였다(Table 1). 두 군의 평균연령은 모두 59세로서 차이는 없었으며, 성별 분포도 두 군간에 유의한 차이는 없었다. 병리학적인 인자들로서 종양의 해부학적 위치, 종양의 크기, 조직학적 분화도, 육안적 형태, 림프관 및 혈관 침습 유무 등 어느 것도 림프절 전이 양성군과 음성군 간에 통계학적으로 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

4) 미세전이와 생존율과의 관계

점막하층을 침범한 조기위암 환자 55예의 평균 추적 관찰 기간은 83.7±55.4개월이었으며, 수술 후 재발(림프절 및

Table 1. Correlation between clinicopathologic variables and micrometastasis

| Variable | Micrometastasis | | P |
|------------------------|-----------------|-------------|----|
| | Negative | Positive | |
| No. of case | 38 (69%) | 17 (31%) | |
| Age (yr) | 58.0±9.7 | 59.2±7.6 | NS |
| Sex | | | |
| Male | 23 (41.8%) | 11 (20.0%) | NS |
| Female | 15 (27.3%) | 6 (10.9%) | |
| Tumor site | | | |
| Proximal | 11 (20.0%) | 9 (16.4%) | NS |
| Distal | 27 (49.1%) | 8 (14.5%) | |
| Tumor size (range, mm) | 29 (5~96) | 41 (15~100) | NS |
| Histologic grade | | | |
| Well | 12 (21.8%) | 2 (3.6%) | NS |
| Moderately | 12 (21.8%) | 6 (10.9%) | |
| Poor | 12 (21.8%) | 8 (14.5%) | |
| Signet ring cell | 2 (3.6%) | 1 (1.8%) | |
| Gross type | | | |
| Type I | 5 (9.1%) | 2 (3.6%) | NS |
| Type II | 29 (52.7%) | 11 (20.0%) | |
| Type III | 4 (7.3%) | 4 (7.3%) | |
| BVI | | | |
| Positive | 5 (9.1%) | 2 (3.6%) | NS |
| Negative | 33 (60.0%) | 15 (27.3%) | |
| LVI | | | |
| Positive | 5 (9.1%) | 6 (10.9%) | NS |
| Negative | 33 (60.0%) | 11 (20.0%) | |

NS = not significant; BVI = blood vessel invasion; LVI = lymphatic vessel invasion.

복강내 전이)로 사망한 경우는 3예로 확인되어, 전체 5년 생존율은 94.5%이었다. 미세전이 유무에 따른 5년 생존율은 양성군에서 94.1% (16/17), 그리고 음성군에서는 94.8% (36/38)로서 두 군간에 통계학적으로 유의한 차이가 없었다(Fig. 5).

고 찰

종양에서 “미세전이”라는 용어는 원래 유방암에서 2 mm 미만의 전이성 병변을 의미하는 개념으로 정의되어 왔는데,(16) 여기서는 통상의 H-E 염색을 이용한 병리학적 검사방법으로는 잘 발견될 수 없는 미세한 전이 병변을 의미한다. 림프절의 미세전이를 확인하기 위하여 여러 방법이 이용되고 있다. Natsugoe 등(17)은 점막하층을 침범한 조기위암에서 각 림프절당 세개의 절편을 만들어서 병리조직학적으로 재검을 시행하였더니 전이율이 기존의

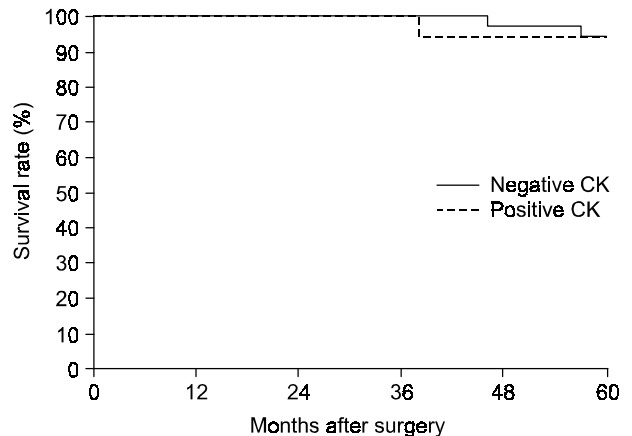


Fig. 5. Kaplan-Meier survival curves of patients after surgery

검사시보다 훨씬 높은 29.8%의 환자에서 림프절 전이가 확인되었다고 하였다. 본 연구에서는 림프절당 하나의 절편에서 면역조직화학적 염색으로 조사하였는데 이때의 미세전이 빈도는 30.8%로서 만일 한 림프절에서 조직의 절편을 여러 개로 했을 경우 위양성률이 줄어들어 미세전이의 빈도는 보다 높을 것으로 여겨진다. 미세전이를 찾기 위한 방법으로서 분자생물학적 기법인 역전사 중합효소 연쇄반응법(reverse transcriptase-polymerase chain reaction; 이하 RT-PCR)이 보다 감수성이 우수한 것으로 보고되고 있으나,(18,19) 위양성률이 흔한 것으로 알려져 있고 반드시 동결 절편을 이용하거나 조직을 바로 guanidine isothiocyanate에 배양해야 하기 때문에 cytokeratin을 이용한 면역조직화학적 염색에 비해서는 제한적으로 이용되고 있다. 특이한 중앙 항원에 대한 단클론 항체를 이용하여 골수 혹은 복막액에서의 미세전이를 추적하는 방법도 진행성 위암에서의 재발을 조기에 진단하는 목적으로는 유용하게 사용될 수 있으나 조기위암에서는 통계학적으로 큰 의미가 없는 것으로 보인다.(20,21) Cytokeratin에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 검사는 림프절의 미세전이를 파악하는데 신속하고 용이하게 시행될 수 있고 경제적인 뿐만 아니라, 감수성과 특이성이 우수한 방법이기 때문에 분자생물학적 분석법에 비해 용이하게 임상에서 이용될 수 있다.(22,23)

본 연구에서 기존의 H-E 염색하에서는 20.0%의 환자에서 림프절의 전이가 있는 것으로 확인되었으나 cytokeratin을 이용한 면역조직화학적 염색에서는 30.8%로 증가하였다. 따라서 H-E 염색에서 림프절 전이가 없다고 진단된 환자의 44예 중 6예(13.6%)에서 면역조직화학적 검사상 림프절 미세전이의 흔적이 있는 것으로 확인되었다. 그리고 검사된 총 1,423개의 림프절 중 H-E 염색에서는 12개 (0.8%)에서만 전이가 확인되었으나 cytokeratin을 이용한 면역조직화학적 염색에서는 33개(2.3%)의 림프절에서 미

세전이 추가로 확인되어 총 45개(3.2%)의 양성률을 나타내어 두 군간에 유의한 차이를 보였다. 그러므로 기존의 H-E 염색 방법에 면역조직화학적 염색을 보완적으로 사용한다면 위암에서 림프절 전이 유무를 보다 더 정확하게 파악할 수 있을 것이다.

조기위암에서 면역조직화학적 염색을 이용한 미세전이의 빈도와 예후간의 상관관계에 대해서는 아직 결론을 내리지 못하고 있다. Cai 등(24)에 의하면 림프절의 미세전이가 다변량 분석상 독립적인 예후인자로서 의의는 없었으나 미세전이 양성인 경우 5년 생존율이 유의하게 감소하였다고 하였으며, Siewert 등(25)의 분석에 의하면 이 미세전이는 예후인자로서 독립적인 가치를 가진다고 하였다. 그리고 Maehara 등(26)과 Ishida 등(27)도 림프절의 미세전이는 조기위암 또는 제2기 위암에서 예후인자로서 가치를 가진다고 보고하였다. 그러나 55예를 대상으로 한 본 연구에서의 5년 생존율을 보면 17예의 미세전이를 포함한 림프절 전이 양성군에서는 94.1%, 그리고 음성군에서는 94.8%로서 큰 차이가 없어 림프절 전이와 예후와는 서로 상관관계가 없는 것으로 분석되었다. H-E 염색상 확인되는 림프절의 전이에 비해 면역조직화학적 염색에서 나타나는 미세전이는 대부분 종양세포가 불연속적으로 혹은 소단위로 관찰된다. 이러한 소견으로 미루어 미세전이는 림프계를 통한 종양세포 전이의 초기 단계로서 림프관으로 유입된 종양세포들의 존재를 반영하는 것으로 생각되지만, 최소한 이 연구에서 보는 바와 같이 면역조직화학적 방법으로만 확인되는 림프절내의 미세전이가 임상적으로 예후와 상관관계를 보이지 않는 이론적 배경은 이들 미세전이 세포들이 신체의 면역계에 의해 비가역적으로 손상을 받아 생존하여 착상될 수 없거나 잠복상태로 유지되어 증식할 수 없기 때문으로 보인다.(28)

종양의 임상 및 병리학적 예후인자와 미세전이 양성률 사이의 상관관계를 보면 본 연구에서는 어느 인자도 전이와의 상관관계는 없는 것으로 분석되어 재발된 조기위암에서의 미세전이 양성률을 분석한 Maehara 등(26)의 보고와 일치된 결과를 나타내었다. 그러나 Cai 등(24)은 종양의 크기가 2 cm 이상, 함몰형의 육안적 형태 그리고 점막하층내에서의 침윤의 깊이(SM 3) 등이 양성률과 상관관계를 보였다고 하였으며, Ishida 등(27)은 Lauren 분류상 미만형 종양이 장형에 비해 높은 양성률을 나타내었다고 하였다.

최근에 들어와 조기위암에서 내시경이나 복강경을 이용한 최소 침습 수술(minimal invasive surgery)이 시도되고 있다.(29,30) 이러한 수술은 림프절의 광청이 제한되거나 불가능하기 때문에 수기의 타당성은 궁극적으로 종양학적으로 생존율에 대한 영향의 유무를 결정하는데서 찾아야 할 것이다. 최소한 저자의 연구 결과를 배경으로 하면 림프절 전이 유무가 환자의 5년 생존율에는 영향을 미치지

않는 것으로 나타나 종양학적 관점에서 이러한 최소 침습 수술의 타당성은 있는 것으로 보인다. 그러나 Cai 등,(24) Siewert 등,(25) Maehara 등(26) 그리고 Ishida 등(27)과 같이 대부분은 상반된 결과를 보고하고 있는 바, 점막하층을 침범한 조기위암 환자에서 최소 침습 수술의 종양학적 타당성은 보다 더 광범위한 전향적 연구가 필요할 것으로 사료된다. 아울러 조기위암에서의 림프절의 미세전이 연구에는 림프절 군에 따른 미세전이의 유무와 정도에 대한 보다 체계적인 연구가 있어야 할 것으로 보인다. 왜냐하면 이를 통해 조기위암에서의 림프절 광청의 범위가 적절하게 결정되어 가능한 과도한 광청에 따른 수술 유병률을 최소화할 수 있을 것으로 판단되기 때문이다.

결 론

점막하층에 침범한 조기위암에서 cytokeratin에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 통한 림프절의 미세전이와 예후와의 상관관계는 유의성이 없는 것으로 판단된다. 조기위암에서 미세전이의 생물학적 특성에 대한 이해가 보다 명확히 밝혀지면 이를 바탕으로 치료를 포함한 임상적 응용의 폭이 넓어질 수 있을 것으로 생각되며 이를 위해서는 보다 많은 환자에서 장기적인 연구가 필요하리라 사료된다.

REFERENCES

- 1) Hisamichi S. Screening for gastric cancer. *World J Surg* 1989; 13:31-7.
- 2) Japanese Research Society for Gastric Cancer. The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. *Jpn J Surg* 1981;11:127-39.
- 3) Kim DH, Song TJ, Kim SJ, Kim CS, Koo BH. Analysis of factors related to lymph node metastasis in early gastric cancers. *J Korean Surg Soc* 2000;58:375-82.
- 4) Oh SY, Mok YJ, Choi WJ, Kim SJ, Kim SM. A comparative retrospective study of mucosal and submucosal cancer in early gastric cancer. *J Korean Surg Soc* 1999;56:827-33.
- 5) Kang JG, Chi HS, Kim BR, Min JS, Lee KS, Whang KC. A study of 214 cases of early gastric cancer. *J Korean Surg Soc* 1988;35:414-22.
- 6) Maehara Y, Okuyama T, Oshiro T. Early carcinoma of the stomach. *Surg Gynecol Obstet* 1993;177:593-7.
- 7) Maehara Y, Orita H, Okuyama T. Predictors of lymph node metastasis in early gastric cancer. *Br J Surg* 1992;79:245-7.
- 8) Eriguchi M, Miyamoto Y, Fujii Y. Regional lymph node metastasis of early gastric cancer. *Eur J Surg* 1991;157:197-200.
- 9) Cutait R, Alves VAF, Lopes LC. Restaging of colorectal cancer based on the identification of lymph node micrometastases through immunoperoxidase staining of CEA and cytokeratins.

- Dis Colon Rectum 1991;34:917-20.
- 10) Greenson JK, Isenhardt CE, Rice R, Mojzisek C, Houchens D, Martin EW Jr. Identification of occult micrometastases in pericolic lymph nodes of Duke's B colorectal cancer patients using monoclonal antibodies against cytokeratin and CC49. Correlation with long-term survival. *Cancer* 1994;73:563-9.
 - 11) Trojani M, de Mascarel I, Bonichon F, Coindre JM, Delsol G. Micrometastases to axillary lymph nodes from carcinoma of breast: detection by immunohistochemistry and prognostic significance. *Br J Cancer* 1987;55:303-6.
 - 12) Sedmak DD, Meineke TA, Knechtges DS. Detection of metastatic breast carcinoma with monoclonal antibodies to cytokeratins. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113:786-9.
 - 13) Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982;31:11-24.
 - 14) Jass JR, Sobin LH. Histologic typing of intestinal tumors. WHO international histological classification of tumors. 2nd ed. Berlin: Springer; 1989.
 - 15) Sakita T, Oguro Y, Takasu S, Fukutomi H, Miwa T. The development of endoscopic diagnosis of early carcinoma of the stomach. *Jpn J Clin Oncol* 1971;1:118-22.
 - 16) Huvos AG, Hutter RV, Berg JW. Significance of axillary macrometastases and micrometastases in mammary cancer. *Ann Surg* 1971;173:44-6.
 - 17) Natsugoe S, Aikou T, Shimada M. Occult lymph node metastasis in gastric cancer with submucosal invasion. *Surg Today* 1994;24:870-5.
 - 18) Noguchi S, Hiratsuka M, Furukawa H. Detection of gastric cancer micrometastases in lymph nodes by amplification of keratin 19 mRNA with reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Jpn J Cancer Res* 1996;87:650-4.
 - 19) Lee MH, Suh WS, Cheon HJ, Jo KS, Shin EJ, Park KK, et al. Determination of sensitivity of RT-PCR for cytokeratin 19 and detection of micrometastasis from bone marrow of breast cancer patients. *J Korean Surg Soc* 2000;58:39-41.
 - 20) Schlimok G, Funke I, Pantel K. Micrometastatic tumour cells in bone marrow of patients with gastric cancer: methodological aspects of detection and prognostic significance. *Eur J Cancer* 1991;27:1461-5.
 - 21) Burke EC, Karpeh MS Jr, Conlon KC, Brennan MF. Peritoneal lavage cytology in gastric cancer: an independent predictor of outcome. *Ann Surg Oncol* 1998;5:411-5.
 - 22) Jeffers MD, O'Dowd GM, Mulcahy H. The prognostic significance of immunohistochemically detected lymph node micrometastases in colorectal carcinoma. *J Pathol* 1994;172:183-7.
 - 23) McGuckin MA, Cummings MC, Walsh MD, Hohn BG, Bennett IC, Wright RG. Occult axillary node metastases in breast cancer: their detection and prognostic significance. *Br J Cancer* 1996;73:88-95.
 - 24) Cai J, Ikeguchi M, Maeta M, Kaibara N. Micrometastasis in lymph nodes and microinvasion of the muscularis propria in primary lesions of submucosal gastric cancer. *Surgery* 1999; 126:32-9.
 - 25) Siewert JR, Kestlmeier R, Busch R. Benefits of D2 lymph node dissection for patients with gastric cancer and pN0 and pN1 lymph node metastases. *Br J Surg* 1996;83:1144-7.
 - 26) Maehara Y, Oshiro T, Endo K. Clinical significance of occult micrometastasis lymph nodes from patients with early gastric cancer who died of recurrence. *Surgery* 1996;119:397-402.
 - 27) Ishida K, Katsuyama T, Sugiyama A, Kawasaki S. Immunohistochemical evaluation of lymph node micrometastases from gastric carcinomas. *Cancer* 1997;79:1069-76.
 - 28) Schlimok G, Funke I, Bock B, Schweiberer B, Witte J, Riehmuller G. Epithelial tumor cells in bone marrow of patients with colorectal cancer: immunocytochemical detection, phenotypic characterization, and prognostic significance. *J Clin Oncol* 1990;8:831-7.
 - 29) Morita M, Baba H, Fukuda T. Submucosal gastric cancer with lymph node metastasis. *J Surg Oncol* 1998;68:5-10.
 - 30) Suzuki H, Miho O, Watanabe Y, Kohyama M, Nagao F. Endoscopic laser therapy in the curative and palliative treatment of upper gastrointestinal cancer. *World J Surg* 1989;13:158-64.