

조기 위암환자에서 감시 림프절(Sentinel Node)의 탐색 및 미세 전이의 검출

가톨릭대학교 의과대학 외과학교실

정명선 · 김 욱 · 김원우 · 김정수 · 진형민 · 박조현 · 전해명 · 박승만 · 임근우 · 김승남

Detection of Micrometastases in the Sentinel Lymph Node from Patients with Early Gastric Cancer

Myung Sun Jung, M.D., Wook Kim, M.D., Won Woo Kim, M.D., Jeong Soo Kim, M.D., Hyung Min Jin, M.D., Cho Hyun Park, M.D., Hae Myung Jeon, M.D., Seung Man Park, M.D., Keun Woo Lim, M.D. and Seung Nam Kim, M.D.

Purpose: If the SLN (sentinel lymph node) is an accurate predictor of the lymph node status it should eliminate unnecessary lymph node dissection, resulting in a lower morbidity and mortality in patients with an early gastric cancer. The aim of this study was to investigate the feasibility of SLN biopsy for its location, accuracy and ability to sensitize the tumor cell detection, using reverse transcriptase-polymerase chain reactions (RT-PCR) for the cytokeratin 19 and CD44 variants.

Methods: SLN biopsies were performed in patients with early gastric cancer (n=33). After a gastrectomy to the apposite site, isosulfan blue dye (0.5~1.0 ml) was injected submucosal medially, laterally, superiorly and inferiorly, adjacent to the tumor site. Lymphatic channels were immediately apparent. Sentinel nodes were separately submitted, and evaluated with RT-PCR, using the cytokeratin 19 and CD44 variants. Following the removal of the sentinel node, the adjacent regional nodes were also removed. Both SLN and non-SLN were examined with H&E stain and RT-PCR.

Results: Sentinel nodes could be identified in 26 of 33 patients (79%). The average number of sentinel nodes detected was 1.4 and were chiefly perigastric nodes. Of these 26 patients, 6 had micrometastasis in their sentinel nodes

by RT-PCR detection using the cytokeratin 19 and CD44 variants. The specificity of the SLN status in the diagnosis of the lymph node status was 95% (20/21). One patient (4%) had skip metastasis.

Conclusion: A SLN biopsy, using indocyanine green, can be performed with a high success rate. A focused examination of the sentinel nodes detected by indocyanine green with RT-PCR will resolve the underestimation of micrometastasis in regional lymph nodes, and improve the accuracy of the pathological staging. If the sentinel node concept is clinically feasible for early gastric cancer, we would perform not only accurate staging, but also effective surgical treatment, with minimally invasive techniques. (*J Korean Surg Soc* 2002;63:473-479)

Key Words: Early gastric cancer, Sentinel lymph node, Micrometastases

중심 단어: 조기 위암, 감시 림프절, 미세 전이

Department of Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

서 론

악성 흑색종이나 유방암 등에서 활발히 시도되고 있는 감시 림프절의 개념은 일차 종양으로부터 림프액이 처음으로 배액되어 암세포의 전이가 가장 먼저 이루어지는 림프절로 림프절의 전이 상태를 대표하는 림프절이며, 현재 위암 특히 조기위암에서 그 응용도를 넓혀가고 있는 실정이다.(1,2) 이는 이런 개념을 이용하여 정확히 림프절의 상태를 파악하게 된다면 실제 수술 술기에 적용함으로써 불필요한 광범위 수술을 줄이고, 이에 따른 합병증이나 삶의 질 향상을 증가시킬 수 있다는 데 이론적 근거를 두고 있다.(1-3) 현재 이런 감시 림프절을 찾아내는 방법으로 isosulfan blue, methylene blue, indocyanine green 같은 생체 염료를 이용하거나 technetium과 같은 동위원소를 이용하는 방법, 두 가지를 조합하여 그 예민도를 높이는 방법이 이용되고 있

책임저자 : 전해명, 서울특별시 영등포구 여의도동 62
☎ 150-713, 가톨릭대학교 의과대학 외과학교실
Tel: 02-3779-1175, Fax: 02-786-0802
E-mail: hmjeon@catholic.ac.kr

접수일 : 2002년 6월 27일, 게재승인일 : 2002년 10월 8일
본 연구는 가톨릭중앙의료원의 암센터 연구비 및 성모병원 임상 의학연구비의 학술 연구보조로 이루어진 것임.
본 연구는 제13차 위암학회에서 포스터 구연하였음.

다.(4-7) 검출된 감시림프절의 좀더 세밀하고 정확한 전이 여부 검출을 위하여 감시 림프절의 집중적인 연속절편 검사나 면역조직화학검사 등의 방법이나 여러 CEA, cytokeratin, CD44 아종과 같은 암 표지인자를 이용한 역전사-중합효소 연쇄반응(RT-PCR)을 시행하여 미세전이 여부를 진단하는 여러 결과가 보고되고 있다.(8-11)

조기 위암 환자에서 감시 림프절에 대한 전이 여부의 예측은 환자의 병기 결정에 중요한 인자이다. 조기 위암도 기존의 진행성 위암의 경우와 같이 림프절 전이 시 불량한 예후를 보인다고 보고된 바 감시 림프절에서 면역조직학적 검사와 PCR 기법을 이용한 암 표지인자와 암세포 특이 세포막 구성 단백질의 감지는 기존 병리조직학적 검사보다 미세 전이 진단의 정확도를 높이는 데 기여할 것으로 생각된다. 또한 이를 이용하여 조기 위암 환자에서 보편적으로 시행되고 있는 2군 림프절 절제의 필요성에 대한 해결을 제시할 것으로 생각된다.

본 저자들은 위암 환자들에서 감시 림프절의 동정 유무와 예민도 및 위치, 여러 고형암에서 미세 전이 진단에 이용되어 온 CD44와 cytokeratin 19를 이용한 RT-PCR을 통하여 감시 림프절의 미세 전이 여부를 진단하고, 이의 임상적 활용 방안에 대해 알아보고자 하였다.

방 법

1) 연구 대상

2001년 3월부터 2002년 2월까지 12개월간 가톨릭의과대학 부속 여의도 성모병원 외과에서 조기위암으로 위절제술 및 림프절 절제술을 받은 환자 33명 중 감시 림프절이 채취 가능하였던 26명의 환자에서 획득한 감시 림프절(범위 1~3개)과 동상 위절제술 시 획득 가능한 주변 림프절들을 대상으로 하였다. 대상 환자를 나이, 성별, 병소의 위치, 조직 침습 정도에 따라 분류하였다.

2) 방법

(1) 조기 위암 환자의 림프절 수집: 수술 전 내시경 및 복부 CT 촬영상 조기위암으로 진단 받은 환자 33예에서 전신마취를 시행한 후 개복하여 병소 위치를 확인하고 병변 주변 상, 하, 좌, 우 4부분에 indocyanine green (Diagnogreen[®], Tokyo, Japan)을 각각 0.5 ml씩 총 2 ml를 침막하에 주사한 후 주사한 직후부터 시간에 따라 나타나는 녹색으로 착색된 감시 림프절을 채취하여(Fig. 1), 전 환자에서 무균적으로 절제하여 박으로 나누어 각각 포르말린과 영하 70°C의 액화 질소에 넣어 보관하였다. 전 예에서 기존의 D₂ 림프절 절제를 시행하였고 평균 림프절 수는 환자 일인당 평균 28 ± 12개(범위 9~51개)였다. 절제된 모든 림프절의 일반 병리학적 소견을 알기 위하여 H&E 염색을 하였다.

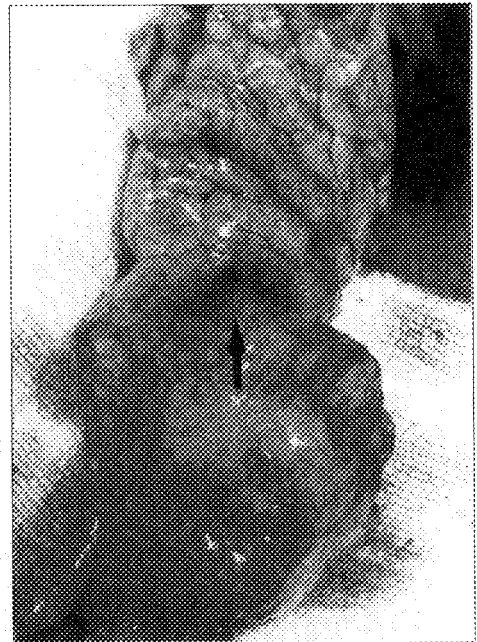


Fig. 1. Sentinel node detection. Indocyanine green was injected around the primary gastric cancer. The green stained node means sentinel node in the lesser curvature (black arrow).

(2) RNA 분리: 준비된 림프절 25 mg을 RNA Zol B (TEL-TEST, INC., Texas, U.S.A.) 200 μ g과 64% ethanol 200 μ g을 잘 섞고, 여과기에 넣은 후 14,000 rpm에서 30초간 원심 분리하였다. 동일 과정을 두 차례 반복하여 세척하였다. 상층액 50 μ g을 70°C에서 10분간 배양 후 14,000 rpm에서 1분간 원심 분리하고 한 차례 더 반복하였다. -20°C에 30분간 방치한 다음 14,000 rpm에서 15분간 원심 분리하고 상층액을 채취한 후 70% ethanol로 두 차례 세척 과정을 거쳐 순수 RNA를 분리한 다음 순도를 측정하였다.

(3) 역전사-중합효소 연쇄반응: 반응액 25 μ l (2.5 μ l Tris-HCl (pH 8.3), 1.5 μ l MgCl₂, 0.154 μ l sense primer, 0.154 μ l antisense primer)에 분리한 RNA를 10~200 ng/2 μ l 넣은 후, thermal cycler (Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9600, Norwalk, Connecticut, U.S.A.)을 이용하여 95°C에서 5분간 denaturation한 다음 50°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 30초간 extension하였고 94°C에서 30초간 denaturation, 50°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 30초간 extension하여 35 cycle을 반복하고 72°C에서 5분간 extension 과정을 추가로 시행하였다 Cytokeratin 19 mRNA와 CD44의 oligonucleotide primer는 Table 2와 같고 β -actin PCR primer는 RNA의 손상 여부를 확인하기 위하여 사용하였다. CD44의 PCR 과정은 상기 과정과 동일하나 cytokeratin 19는 annealing 과정을 55°C에서 시행하였다. 증폭 산물은 Mini Gel Migration Mupid-2 (Cosmo Bio Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 젤 전기영동 후 ethidium bromide 염색으로 확인하였다(Table 1).

결 과

1) 임상 소견 및 감시 림프절 탐색

전체 환자의 연령 분포는 30~79세(평균 56.5±12.6세)였

으며 남자 19명, 여자 14명이었다. 감시 림프절이 동정된 전체 26예 중 1예는 위 후벽 체부에 위치한 점막하암으로 광범위 림프절 절제 후 채취된 22개의 림프절 중 좌분문부(2번)와 총간동맥간(8번) 림프절에서 각 1개씩에서 전이가 관찰되어 2군 림프절로의 도약 전이가 있었다. 이를 제외한 25명의 환자에서는 병리조직학적 검사 상 림프절 전이가 없었다. 감시 림프절은 33명의 환자 중 26명(79%)에서 획득하였고, 감시 림프절은 주 종양 병변 주위의 1군 림프절에서 검색되었으며, 이를 근거로 림프절 전이가 일정한 방향성을 나타냄을 알 수 있었다. 감시 림프절의 동정 개수는 1개가 16예(61%), 2개가 9예(35%), 3개가 1예(4%)로서 환자 1인당 평균 1.4개를 획득하였다. 26예 중 점막암이 13예, 점막하암이 13예였다. 원발암의 병리적인 분화도나 조기암의 크기 및 형태적 차이에 따른 감시 림프절의 획득 개수나 위치와의 관련성을 찾을 수 없었으며, 1예에서 위의 전벽과 후벽에서 각각 점막하암이 관찰되었는데 전벽

Table 1. Oligonucleotide of primers for RT-PCR amplification of cytokeratin 19&CD44

mRNA	Sequencing primers	
Cytokeratin19	Sense	AGGTGGATTCCGCTCCGGGCA
	Antisense	ATCTTCCTGTCCCTCGAGCA
CD44	Sense	TCCAGACGAAGACAGTCCCTGGAT
	Antisense	CACTGGGGTGAATGTGTCTTGGTC
β-actin	Sense	GCCCAGAGCAAGAGAGGCAT
	Antisense	GGCCATCTCTTGCTCGAAGT

Table 2. Clinicopathological features of the patients with the early gastric cancer

Case No.	Age/sex	Histology*	Type	Depth [†]	Lymph nodes [‡]	Cancer location [§]
1	30/F	PD	IIC	sm	2/22	body/PW
2	49/M	WD	IIC	sm	0/36	antrum/LC
3	79/F	WD	IIC	sm	0/19	body/LC
4	32/F	PD	IIB	sm	0/41	body/PW
5	66/M	WD	IIA	m	0/28	body/PW
6	57/M	MD	IIC	sm	0/22	antrum/AW&PW
7	62/F	MD	IIC	sm	0/45	antrum/AW
8	60/M	PD	III	sm	0/38	body/AW
9	68/F	MD	III	sm	0/50	antrum/LC
10	49/M	MD	IIC	sm	0/49	body/PW
11	63/M	MD	IIC	m	0/19	angle/LC
12	56/M	WD	IIB	m	0/33	PW/body
13	59/M	WD	IIC	m	0/18	antrum/GC antrum/AW
14	73/F	WD	IIC + III	m	0/14	antrum/AW
15	62/M	PD	IIC + IIB	sm	0/26	antrum/AW
16	63/M	WD	IIC	m	0/23	antrum/LC
17	50/M	WD	IIC	m	0/51	antrum/LC
18	68/F	PD	IIC	sm	0/24	body/AW
19	32/M	PD	IIC	m	0/9	pylorus/AW
20	64/F	PD	IIC	sm	0/29	antrum/AW
21	40/M	MD	IIC	m	0/17	body/LC
22	62/F	MD	IIC	sm	0/19	antrum/LC
23	58/M	WD	IIC	m	0/22	antrum/LC
24	66/M	MD	IIA	m	0/10	fundus/AW
25	58/M	WD	IIC	m	0/33	antrum/LC
26	43/M	PD	IIC	m	0/36	body/AW

*PD = poorly differentiated; MD: moderate differentiated; † m = mucosa, sm = submucosa; ‡ number of metastatic lymph nodes/numbers of dissected lymph nodes; § AW = ant. wall; PW = post. wall; LC = lesser curvature; GC = greater curvature.

Table 3. Results of RT-PCR in the sentinel nodes from the patients

Case no.	Sentinel node number	Sentinel node location*	RT-PCR	
			CD44	Cytokeratin 19
1	1	#2	--	--
2	2	#3	--	--
3	1	#3	+	+
4	1	#3	--	--
5	1	#3	--	--
6	2	#3, 6	--	--
7	2	#3	--	--
8	1	#4	--	--
9	2	#3, 1	+	--
10	1	#3	--	+
11	1	#3	--	--
12	3	#3, 6	+	+
13	1	#3	--	+
14	2	#4	--	--
15	1	#3	--	--
16	1	#3	--	+
17	1	#3	--	--
18	2	#3	--	--
19	2	#3	--	--
20	1	#3	--	--
21	2	#1, 3	--	--
22	1	#3	--	--
23	2	#4	--	--
24	1	#4	--	--
25	1	#3	--	--
26	1	#4	--	--

*Lymph node (LN) group; #1 = Rt. cardinal LN, #2 = Lt. cardinal LN, #3 = LN along the lesser curvature, #4 = LN along the greater curvature, #6 = Infrapyloric LN.

의 감시 림프절은 유문하 림프절(6번), 후벽의 경우 소만부 림프절(3번)로 2가지 경로의 감시 림프절을 볼 수 있었다 (Table 2, 3, Fig. 1, 4).

2) 역전사 - 종합효소 연쇄반응을 이용한 미세 전이

총 26예의 조기 위암 환자에서 획득한 총 37개의 감시 림프절로부터 cytokeratin 19의 RT-PCR을 시행한 결과 5예 (19%)에서, CD44의 경우 3예(12%)에서 이에 해당하는 mRNA 발현을 확인하였고 2예 (8%)에서 CD44와 cytokeratin 19가 함께 검출되었다. 일반 병리조직학적 검사상 림프절 전이가 있었던 1예에서 젤 전기 영동상 275 염기쌍인 CD44R4의 발현이 관찰되었고 2예에서 377 염기쌍의 CD44R3의 밴드가 양성을 보였다. 총 17예의 환자 중 16명에서 CD44H에 해당하는 83 염기쌍의 밴드가 나타났다(Table 3, Fig.

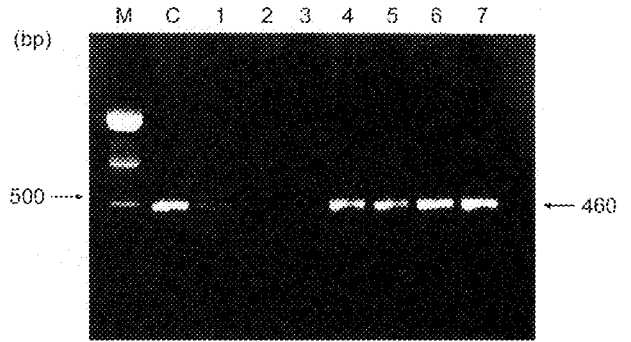


Fig. 2. Cytokeratin 19 RT-PCR products on agarose gel electrophoresis. The PCR products of 460 bp correspond to cytokeratin 19. M = marker; C = positive control (MCF-7 cell line); lane 1~2 = 2 sentinel nodes from patient No. 3; lane 3 = R2 region LN for the detection of skip metastasis on patient No. 3; lane 4~7 = sentinel nodes from patient No. 10, 12, 13, 16.

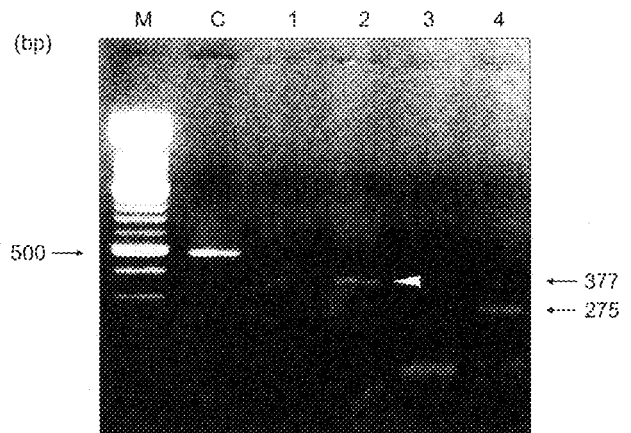


Fig. 3. CD44 RT-PCR products on agarose gel electrophoresis. M = marker; C = positive control (MCF-7 cell line). Lane 1~2: sentinel nodes from patient No. 3, 9 (377 bp: CD44R3), lane 4: sentinel node from patient No. 12 (275 bp: CD44R4).

2, 3). 림프절 전이 상태를 나타내는 감시 림프절의 특이도 (RT-PCR상 전이가 없는 감시 림프절/전이가 없는 주변 림프절 예)는 95% (20/21)였다.

고 찰

Giuliano 등(1)이 유방암에서 원발 종양으로부터 우선적으로 전이될 가능성이 높은 감시 림프절의 개념을 도입한 이래 감시 림프절에서의 미세 전이 진단에 대한 연구가 꾸준히 진행되어 왔다. 감시 림프절 1~2개의 철저하고 집중적인 검사가 절제된 림프절 전체를 조사하는 것보다 훨씬 정확하고 효율적이라는 보고가 있다.(2) Turner 등(3)은 유

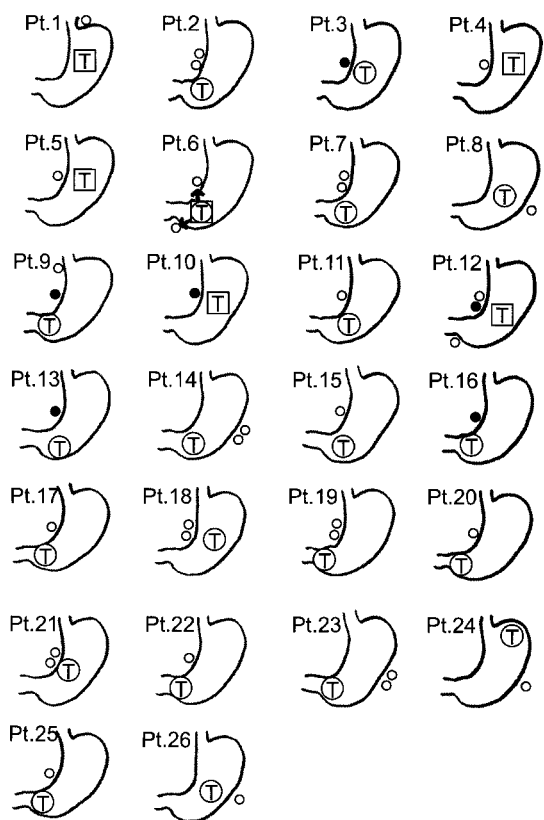


Fig. 4. Location of sentinel nodes (SN). Successful identification of SNs with or without micrometastasis. No. 6: Double cancer on ant. & post. wall were identified who had dual drainage of lymphatics (cancer location: ⊕; ant. wall, ⊔; post. wall). ○: SN without metastasis ●: SN with metastasis.

방암 환자에서 감시 림프절과 면역 화학염색법을 시행하여 전이암이 발견되지 않을 경우 비감시 림프절에 전이가 있을 확률이 0.1% 미만이라고 하였다. 이를 근거로 Lingam 등(9)은 악성 흑색종 환자 612명을 대상으로 한 실험에서 감시 림프절 상태가 무병 및 질병 특히 생존율에 대한 중요한 예후 인자가 됨을 확인하였다. 또한 243명의 전이가 없다고 밝혀진 감시 림프절 환자를 35개월간 추적 관찰하여 이 중 27명(11%)이 전이되었고 이 중 10명이 림프절 전이가 그 원인으로, 감시 림프절의 절단 횟수를 늘리고 면역화학염색을 이용하여 재검사한 결과 8명에서 림프절 미세 전이가 발견되었으며 이로써 감시 림프절의 상태가 암 주변의 림프절 상태를 평가하는 지표로 사용될 수 있음을 발표하였다.(10) 반면 대장암 환자 50명을 대상으로 암 주변부에 blue dye를 주입하여 이 중 35명(75%)에서 감시 림프절을 획득한 Joosten 등(11)에 의하면 20명에서 주위 림프절 전이가 있었으나 실제 감시 림프절 전이는 8명에 불과해서 가음 성률이 높았다고 하였다. 이 연구는 림프관 폐색으로 비감시 림프절은 전이가 보이나 염색된 감시 림프절은 암 전이가 없는 것으로 나타나 진행성 암의 경우 감시 림프절 적용

에 제한이 있음을 알 수 있다. Masahiro 등(12)은 감시 림프절의 개념을 위암 수술에 적용하였는데 ICG를 위 점막하와 장막하에 총 5 ml씩 주입하여 감시 림프절을 획득하고 이를 연속 절편을 한 것과 기존의 조직 화학적 검사를 시행하여 비교하였다. 획득한 감시 림프절의 개수는 2.6 ± 1.7 개였고, 주위 림프절 상태를 진단하기 위해 감시 림프절 상태의 예민도는 점막하층(T1)인 군에서는 100%였으며 고유근층(T2)인 군에서는 88%였다. 결론적으로 점막하층까지 침윤한 환자에서 감시 림프절이 림프절 상태를 예측하는 데 더욱 유용하다는 것을 알 수 있다. 이들은 99%의 감시 림프절의 획득률을 보였는데 이는 침윤의 범위가 고유근층(T2)까지인 환자를 대상으로 하였기 때문이라 생각된다.

저자들의 경우 감시림프절의 획득은 79%였는데 이는 초기 단계의 성적이 혼합된 결과이며 좀 더 경험이 쌓이면 높은 획득률을 얻을 수 있을 것으로 생각된다. 감시 림프절을 획득하기 위해 이용되는 두 가지 표지자로는 염색액을 이용하는 것과 방사성 동위 원소를 이용하여 추적하는 것이 있다.(13) 대표적인 염색액으로 isosulfan blue, carbon dye, ICG가 있고 이 중 ICG는 혈중 알부민과 결합하여 림프관으로 이동하여 감시 림프절 내 탐식 세포에 포획되어 림프절에 축적된다.(12) 저자들은 조기 위암 33명을 대상으로 위암 주변부 점막하에 ICG를 총 2 ml 주입하여 26명에서 감시 림프절을 확인하고 채취하였는데 1개에서 3개의 범위로 환자 일인당 1.4개를 얻었다.

Masahiro 등(12)의 연구에서 감시 림프절의 위치를 위 주변부와 말단부로 나누어 분류하였는데 위 주변부는 1번에서 6번까지의 림프절로 총 35개의 감시 림프절 중 34개(97%)를, 이외 말단부 즉 7번에서 16번까지의 림프절 중 10번에서 1개(3%)를 보고하였다. 본 저자들은 위 주변부 림프절 즉 3번은 17개(70%), 4번은 3개(13%), 6번은 2개(8%), 1번과 2번에서는 각각 1개(4%)씩의 감시 림프절을 확인할 수 있어서 조기 위암의 림프절 전이가 주로 암 병소 주변부의 림프관을 통한 전이가 있는 일정한 방향성을 가짐을 확인 할 수 있었다. 특히 한 환자의 경우 중복암으로 전벽과 후벽에 각각 암 병소가 있었는데 감시 림프절의 위치가 전벽의 경우 6번, 후벽의 경우 3번으로 2가지 경로의 감시 림프절을 볼 수 있었다. 이는 위의 림프 배액 경로가 위의 혈관 특히 정맥의 해부학적 위치와 관련되어 있어 복강 동맥을 향하여 배액되는 법칙에 따르는 것으로 보인다.(14) 본 저자들은 감시 림프절의 획득 개수와 병리조직학적 검사상 조직 분화도나 병소의 크기와 관련성을 찾기는 힘들었고 2예에서 보인 주변 림프관의 침윤 양상도 감시 림프절 위치에 영향을 미치지 않는 것으로 생각되었다. 실제 감시 림프절을 획득한 26예 중 RT-PCR을 이용한 미세전이가 검출된 5예를 제외한 21예를 대상으로, 위암 주위 림프절 상태를 나타내는 감시 림프절의 예민도는 95%였으며(20/21, 도약전이 1예) 이는 위암에서 감시 림프절의 개념이 림프절

상태를 대변할 것으로 보이나 이를 실제 림프절 절제 범위 결정에 적용하기 위해서는 위의 복잡한 림프관 흐름의 이해가 필요하며, 도약 전이의 위험도를 알고 수술 중 감시 림프절 동결편 검사의 정확도에 대한 평가 등이 필요하다. 또한 예에서 발견된 도약 전이의 문제도 앞으로 해결해야 할 과제이다.(15,16)

조직학적 검사에서 발견되지 않은 미세 전이를 진단하는데 분자 생물학적 분석이 용이하게 됨에 따라 종양 세포내 특정 염기 서열을 증폭하여 전이를 확인하는 RT-PCR 방법을 이용한 연구가 많이 진행되고 있다. 이에 이용되는 증폭 대상 유전자로 CD 44 아형 분석과 cytokeratin 19가 대표적이다. CD 44는 다양한 종류의 정상 및 암 조직에서 발현되는, 세포 표면에 있는 당 단백질로 세포의 이동, 면역 세포 활성화 및 증식, 세포-세포 외 간질 조직간의 유착 반응, 암의 성장 및 전이와 연관된 기능을 가진다. 다양한 아형이 있으며 변종의 아형은 주로 CD44E 즉 중배엽 및 혈액 기원 세포에서 발현되는 CD44H에 exon v8-v10이 추가된 아형의 경우 위장관 암에서 과발현되는 대표적인 변종 아종인 479 염기 쌍 크기의 영동상을 관찰하여 CD44 변종 아형의 검출이 기존의 조직학적 검사법에 비해 위암 환자의 림프절에서 미세 전이 진단의 예민도를 높이는 검사 방법이라고 하였다.(17,18) Cytokeratin 19는 상피 세포 골격의 구성 성분인 intermediate microfilament로 모든 상피 세포와 여기서 발생된 종양에서만 특징적으로 발견된다.(19) 이윤복 등(20)은 위암 환자에서 cytokeratin 19 mRNA를 이용한 림프절 미세 전이를 발표하였는데 조직학적 검사에서 전이가 발견된 8개의 림프절 모두에서 cytokeratin 19 mRNA가 발현되었고 조직학적 검사에서 전이가 없는 것으로 나타난 72개의 림프절 가운데 67개는 그 발현을 관찰할 수 없었으나 5개의 림프절에서는 미세 전이를 발견할 수 있었다. 또한 조기 위암으로 진단된 3예 중 2예는 병리조직학적 검사상 림프절 전이가 없는 것으로 나왔으나 PCR 방법에서 cytokeratin 19 mRNA를 찾을 수 있어 미세 전이 진단에 유용함을 보고한 바 있다.

저자들은 조기 위암으로 진단 받고 위절제 및 광범위 림프절 절제를 받은 환자 33예를 대상으로 수술 중 총 26예에서 감시 림프절을 채취하였고, 병리조직학적 검사 결과 림프절 전이가 없는 것으로 밝혀진 25예 중 cytokeratin 19가 5예에서, CD44가 3예에서 검출되었으며 이 중 2예에서는 함께 검출되어 고식적인 병리조직학적 검사에서 발견하지 못한 미세 전이를 확인하였다. 현재까지 CD44와 cytokeratin 19 검출 민감도의 차이를 비교한 보고는 없으나 본 저자들의 결과로 cytokeratin 19가 CD44에 비해 민감함을 알 수 있었으나, 서로 각기 다른 결과에 대한 미세전이 여부에 대한 해석에는 아직도 의심의 여지가 있다. 물론 RT-PCR의 문제점은 RT-PCR 증폭 조건의 차이, 기시자의 차이, pseudogene의 존재나 이미 증폭된 DNA에 의한 오염이 문제가

되고 있어 검사 시 주의 깊은 처리와 검사자의 관리가 필요하다.

본 연구로 기존의 병리조직학적 검사에서 전이 음성으로 판정된 위암 환자에서 감시 림프절 생검과 RT-PCR법의 병용은 1개 혹은 2개의 림프절에 대한 집중적인 분석을 가능하게 함으로써 시간과 비용의 절약과 더불어 더욱 정확한 미세 전이 진단을 가능하게 할 것이다. 이로 인한 병기의 상승으로 추가 치료의 방침 수립이나 환자의 술 후 추적 관찰에 있어 환자의 예후에 커다란 영향을 미칠 것으로 생각된다.(16) 나아가 감시 림프절에서 미세전이가 양성인 경우 림프절 절제를 광범위하게 시행하고 음성인 경우 축소 수술을 고려하며 제한적 림프절 절제를 시행함으로써 환자의 이병률을 줄이면서도 재발률을 높이지 않는 치료를 시도 할 수 있으리라 생각된다.(21) 기존의 병리조직학적 검사의 한계성을 극복하기 위한 분자 생물학적 방법과 림프절 상태를 대변하는 감시 림프절의 개념을 조기 위암 환자에 병합 도입함은 효율적인 미세전이의 진단이 이루어져 위암의 치료 접근을 용이하게 하리라 생각된다.

결 론

저자들은 가톨릭의과대학 부속 여의도 성모병원에서 33예의 조기위암 환자를 대상으로 ICG 색소 주입법으로 감시 림프절을 동정하였고 이의 미세 전이 여부를 cytokeratin 19와 CD44 표식자를 사용하여 RT-PCR 방법을 이용하여 확인한 후 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 감시 림프절의 획득률은 79%였고 주로 위 주위 림프절 즉 1군 림프절에서 검출되어 일정한 방향성을 갖게 됨을 알 수 있었다. 감시 림프절의 동정 개수는 1개에서 3개로 환자 일인당 평균 1.4개였으며 중복암 1예에서는 이들보다 다른 부위의 감시 림프절로 주행함을 알 수 있었다.

2) 림프절 전이 상태의 진단에서 감시 림프절의 특이도는 95% (20/21)이었으며, 1예(4%)에서는 2군 림프절에 전이를 보여 조기 위암의 도약 전이 가능성을 시사하고 있다.

3) 감시 림프절을 획득한 총 26예 중 5예에서 cytokeratin 19에 양성을 보였고, 3예에서 CD44R3과 CD44R4가 검출되었으며, 2예에서는 함께 검출되었다.

이상을 요약하면 조기 위암의 림프절 전이는 주로 1군 림프절로 미세전이는 39개의 림프절 중에서 6개(15%)에서 CD44나 cytokeratin 19가 검출되어 기존의 병리조직학적 검사에 비해 민감도가 높음을 알 수 있다. 또한 대다수 감시 림프절이 1군 림프절을 경유하는 일정한 방향성을 보이고 있으며 RT-PCR을 이용한 미세 전이 여부를 확인하여 음성인 경우, 조기암의 경우 감시 림프절을 이용한 축소 수술의 적용이 가능하다고 생각된다.

REFERENCES

- 1) Giuliano AE, Dale PS, Turner RR, Morton DL, Evans SW, Krasne DL. Improved axillary staging of breast cancer with sentinel lymphadenectomy. *Ann Surg* 1995;222:394-9.
- 2) Giuliano AE, Jones RC, Brennan M, Statman R. Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1997;15:2345-50.
- 3) Turner RR, Ollila DW, Krasne DL, Giuliano AE. Histopathologic validation of the sentinel lymph node hypothesis for breast carcinoma. *Ann Surg* 1997;226:271-8.
- 4) Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994;220:391-401.
- 5) Albertini JJ, Lyman GH, Cox C, Yeatman T, Bbalducci L, Ku N, et al. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. *JAMA* 1996;276:1818-22.
- 6) Krag DN, Weaver DL, Alex JC, Fairband JT. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol* 1996;2:335-40.
- 7) Krag D, Weaver D, Ashikaga T, Moffat F, Klimberg VS, Shriver C, et al. The sentinel node in breast cancer: a multicenter validation study. *N Engl J Med* 1998;339:941-6.
- 8) Redding WH, Commbes RC, Monaghan P, Clink HM, Imerie SF, Dearnaley DP, et al. Detection of micrometastases in patients with primary breast cancer. *Lancet* 1983;2:1271-4.
- 9) Luqmani YA, Smith J, Coombes RC. Polymerase chain reaction-aided analysis of gene expression in frozen tissue section. *Anal Biochem* 1992;200:291-5.
- 10) Noguchi S, Aihara T, Nakamori S, Motomura K, Inaji H, Imaoka S, et al. The detection of breast carcinoma micrometastases in axillary lymph nodes by means of reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Cancer* 1994;74:1595-600.
- 11) Mori M, Mimori K, Ueo H, Karimine N, Barnard GF, Sugimachi K, et al. Molecular detection of circulating solid carcinoma cells in the peripheral blood: the concept of early systemic disease. *Int J Cancer* 1996;68:739-43.
- 12) Masahiro H, Isao M, Osamu I, Hiroshi F, Kazuyoshi M, Hiroaki O, et al. Application of sentinel node biopsy to gastric cancer surgery. *Surgery* 2001;129:335-40.
- 13) Magnus T. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy: is the method applicable to patients with colorectal and gastric cancer? *Eur J Surg* 2000;166:755-8.
- 14) Siewert JR, Sendler A. Potential and futility of sentinel node detection for gastric cancer. *Recent Results in Cancer Res* 2000;157:259-69.
- 15) Sano T, Katai H, Sasako M, Maruyama K. Gastric lymphography and detection of sentinel nodes. *Recent Results Cancer Res* 2000;157:253-8.
- 16) Yuko K, Masaki K. Gastrointestinal cancer and sentinel node navigation surgery. *J Surg Oncol* 2002;79:188-93.
- 17) Kim WW, Park CH, Kim IC. Detection of micrometastasis in lymph nodes of gastric cancer patients by CD44-specific reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Korean Surg Soc* 2000;58:521-30.
- 18) Kenneth KT, Toru N, Hideyuki S. Novel variants of CD44 arising from alternative splicing: Changes in the CD44 alternative splicing pattern of MCF 7 breast carcinoma cells treated with hyaluronidase. *Mol Carcinog* 1993;7:212-20.
- 19) Maehara Y, Baba H, Ohno S, Sugimachi K. Cytokeratin staining reveals micrometastasis in lymph nodes of early gastric cancer. *Surgery* 1995;117:380-5.
- 20) Lee YB, Won YS, Suh YJ, Chin HM, Moon SI, Chang ED, et al. Detection of gastric cancer micrometastases in lymph nodes by keratin 19 mRNA with RT-PCR. *J Korean Surg Soc* 1999;57:39-46.
- 21) Furukawa H, Hiratsuka M, Imaoka S, Ishikawa O, Kabuto T, Sasaka Y, et al. Phase II study of limited surgery for early gastric cancer: segmental gastric resection. *Ann Surg Oncol* 1999;6:166-70.