

편평상피성 폐암에 있어서 S-Phase Fraction과 생존기간과의 관계

원광대학교 의과대학 내과학교실, 미생물학교실*, 병리학교실**

정 병 학·강 정 성·장 근
정은택·정현택*·문형배**

= Abstract =

Relationship between S-Phase Fraction and Survival Time in Patients with Primary Squamous Lung Cancer

Byung Hak Jung, M.D., Jeong Seong Kang, M.D., Keun Chang, M.D., Eun Taik Jeong, M.D.
Hun Taeg Chung, M.D.* and Hyung Bae Moon, M.D.**

Department of Internal Medicine, Microbiology* and Pathology**,
Wonkwang University College of Medicine, Iri, Korea

Background: DNA content analysis of human solid tumor is now widely performed by flow cytometric study. One of the most interesting and potentially important observation in this field is that proliferative activity (S-Phase fraction of cell cycle) may profoundly affect prognosis.

Method: S-Phase fraction (SPF) have been measured by flow cytometric method using tumor cells isolated from paraffin embedded tissue. To evaluate the prognostic significance, SPF of squamous lung cancer cell was assessed in 21 patients who died without any specific treatment.

Results:

- 1) Mean survival time of squamous lung cancer patients was 225(±162) days. Survival time were shortened, when TNM stage and PS scale were advanced.
- 2) Mean value of SPF of squamous lung cancer patients was 23.4(±11.3)%. SPF had nothing to do with advance of TNM stage and PS scale.
- 3) Mean survival time of high SPF group (more than 20% of cell proliferation cycle) and low SPF group were 153(±99) days and 342(±180) days (p<0.01). In each identical TNM stage and PS scale, there were also statistic significant differences in mean survival time between high and low SPF group.

Conclusion: On multivariate analysis including TNM stage and performance status, SPF was the significant and independent prognostic factor in the primary squamous lung cancer patients group.

Key Words: Lung cancer, S-phase fraction, Survival time

서 론

종양세포는 그 자체의 비정상적인 세포성장이라는 특징이 있다. 이러한 특성중의 하나로 세포내 DNA의 변화를 들 수 있다. 종양세포내 DNA의 변화로서, 정상세

포의 DNA가 배수성(diploidy)인데 비하여 종양세포는 DNA가 비배수성(aneuploidy)일 수 있다. 그리고 종양 세포 특유의 왕성한 세포분열이 있으므로, 세포분열 주기 중 세포분열 증식의 실질적 과정인 S-Phase Fraction (SPF)의 증가가 있다(Fig. 1). 이러한 분자생물학적 특성은 종양세포의 분열증식의 습성과 밀접한 관계가

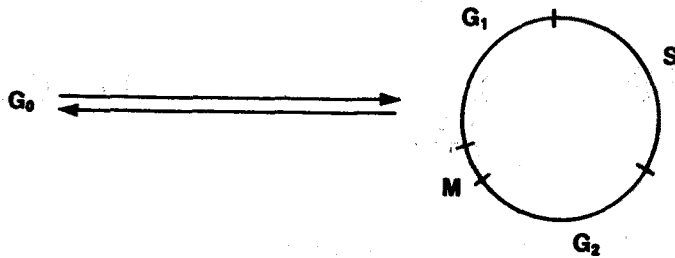


Fig. 1. Cell Cycle of Proliferation.

있으며, 이러한 분석결과에 의해서 종양의 예후추정이나 치료계획 수립에 관계지으려는 노력이 시도되어 왔다¹⁾. 이미 일반적으로 DNA의 비배수성이 배수성보다 예후가 불량하다는 것은 인정되고 있다^{2,3)}. 그리고 세포 분열 주기 중 SPF 역시 예후추정에 의의 있으리라는 시도도 있어 왔다⁴⁻⁶⁾.

인체의 원발성 폐암은 최근 여러가지 치료법의 개발에도 불구하고 아직까지는 예후가 좋지 않은 종양에 포함된다. 폐암의 치료계획과 예후추정에 지금까지 주로 사용되는 방법은 조직병리학적 소견, 해부학적 병기인 TNM법, 생리학적 병기인 Performance Status scale (PS scale)이다. 이러한 예후추정법도 중요하나, 이에 못지 않게 종양세포의 생물학적 특성, 특히 분열능의 지표인 SPF와의 관계도 무시할 수 없다고 인정된다. 그리고 이러한 예후추정관계 인자와 임상예후와의 관계에 대한 보고가 자주 있었다. 그러나 이러한 보고는 모두 폐암의 TNM 각 병기에 해당되는 치료법 즉 수술적 제거, 방사선 조사 및 항암화학요법이 실시된 환자를 대상으로 하였다. 즉 폐암의 자연적 진행에 인위적인 처치가 가해진 후의 치료결과로서의 예후추정이었다.

이에 저자는 원발성 편평상피성 폐암으로 조직병리학적 진단을 받은 후에 경제적 또는 기타 사유로 치료를 전혀 받지 않은 가운데 사망한 환자들에서 진단 당시의 종양세포의 SPF와 예후로서 생존기간과의 관계를 검색하였다.

이 SPF의 측정에는 Thymidine autoradiography가 일반적으로 사용되나, 신선조직에만 이용이 가능하다는 단점이 있어서 대상군의 후향적 추적이 불가능하다. 그러나 DNA에 정량적으로 결합할 수 있는 형광물질을 결합시켜 LASER로서 DNA양을 정량화하여 DNA histogram을 얻는 유식세포 분석법(Flow cytometry)은 paraffin 보관조직이 가검물로서 가능하다는 장점이 있

Table 1. Characteristics of Subjects Studied

Squamous cancer (n=21)	
Sex (M:F)	19:2
Age (mean of years±SD)	4±11
TNM stage	
II	2
III	10
IV	9
PS scale	
0	5
1	10
2	4
3	2

TNM stage: New International Method

PS scale: Zubrod's Performance Status scale

어 임상적으로 후향적 추적이 가능하다는 잇점이 있다.

대상 및 방법

대상군은 1985년 9월 부터 1990년 3월 까지 원광대 부속병원에서 원발성 편평상피성 폐암의 조직병리학적 확진을 받고나서 1992년 8월 말 까지 사망이 확인된 21예 로서(남 19예, 여 2예), 경제적 기타 사정으로 수술적 제거, 방사선 조사 그리고 항암화학요법 등을 전혀 실시하지 않은 경우에 한하였다. 이들 대상군에 대한 성별, 연령, TNM 병기, 그리고 PS scale을 알아본 내용은 Table 1과 같다.

DNA 분석방법은 paraffin에 고정된 조직을 30~50 micro m. 정도의 두께로 절편하여 시작하였다. DNA 분석을 위한 paraffin 절편조직으로의 단일세포 부유액은 Hedley 등⁷⁾의 방법으로 이용하여 만들었다. 먼저

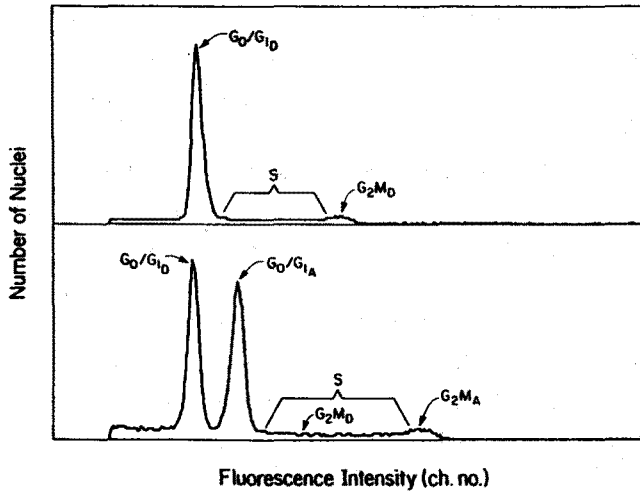


Fig. 2. (Top) Diploid tumor with single G_0/G_1 peak.
(Bottom) Aneuploid tumor with two G_0/G_1 peaks.

Histoclear를 이용하여 paraffin을 제거하고 100%, 95%, 75%, 50%, ethanol에 연속적으로 처리하여 재수화시켰다. 재수화의 마지막 단계로 증류수에 4시간 정도 방치한 후 0.5% pepsin 용액을 첨가하고 37°C에서 1시간 방치하여 단일세포 부유액을 얻어내었다. 채취된 단일세포 부유액은 phosphate buffer saline (pH. 7.2)으로 세척한 후 세포수가 10^6 /ml 정도로 되게 조정한 후 propidium iodide (Sigma Co.) 용액으로 DNA를 염색한 후 다시 RNase를 이용하여 RNA를 제거하였다. propidium iodide 용액에 의한 염색이 끝난 후 단일세포 부유액은 40 micro m.의 nylon 망으로 거른 후 전체 세포수가 10^4 정도이면 시료로서 분석이 가능하였고, 조직의 크기는 $1 \times 1 \times 1$ mm 정도라도 충분하였다.

사용된 유식세포 분석기는 FACStar (Fluorescent Activated Cell Sorter, Becton Dickinson Immunocytometry System, USA)로서 488 nm의 파장을 발산하는 Argon LASER를 갖추고 있다. DNA양을 측정하기 위해 사용되는 DNA 염색물질인 propidium iodide는 488 nm의 파장에서 610 nm의 파장으로 작용되는 형광 물질로서, 형광의 발하는 강도에 따라 DNA의 양을 측정할 수 있다. 시료의 신뢰도를 위해서 CV (Coefficient of Variation)가 8 이하인 경우만을 채택하였으며, FACStar에 내장되어진 BDIS (Becton Dickinson Immunocytometry System)에 의한 Consort 30 program을 이용하여 결과를 얻어내었다(예 :

Fig. 2).

그리고, 환자의 진단 당시부터 사망일까지의 생존기간은 병력지에 기록된 주소로서 등, 면 사무소 또는 거주지 방문 확인이나 우편, 전화에 의한 확인으로 파악하였으며, 이에 따른 통계처리는 비모수 통계인 Mann-Whitney U 검정으로 하였다.

결 과

대상군을 살펴보면 Table 1에 나타난 바와 같이 진단 후 아무런 치료를 받지 않고 사망한 편평상피성 폐암 환자 21예를 대상으로 하였는데, 성별 분포는 남 19예, 여 2예이며, 연령의 분포는 45세 부터 93세 까지로서 평균 연령은 63 ± 11 (mean \pm S.D.)세였다. 해부학적 병기로서 New International method에 의한 TNM 병기로서 I기는 없었고, II기가 2예, III기가 10예, IV기가 9예였다. 생리학적 병기로서는 Zubrod에 의한 Performance Status scale 별로 0은 5예, 1은 10예, 2는 4예, 3은 2예 였고, 4는 없었다.

대상군은 평균 생존기간과 다시 TNM stage, PS scale 별로 구분하여 얻은 평균 생존기간은 Table 2와 같다. 전 군은 평균 생존기간은 $225 (\pm 162)$ 일이며, 해부학적 병기(TNM stage)에 의해 구분해 보면, II기, III기, IV기가 각각 $330 (\pm 161)$, $267 (\pm 182)$, $154 (\pm 120)$ 일 로서, 해부학적으로 종양의 분포가 클수록 즉 병

기가 진행할 수록 생존기간이 짧음을 알 수 있다. PS scale에 의해 구분하여도 역시 같은 양상으로 PS scale이 진행될수록 평균 생존기간은 단축되어 있었다.

세포분열 주기중 S-phase fraction이 차지하는 비율을 전체적으로, 그리고 각 병기별로 구분하여 보면 Table 3과 같다. 전 군에서의 평균은 23.4(±11.3)%이고, TNM 병기별로는 II, III, IV기가 각각 34.1(±0.6), 19.7(±13.5), 25.2(±8.0)%였으며, 해부학적 병기의 진행과 SPF와는 어떤 관계를 나타내지는 않았다. PS scale 별로는 scale 0, 1, 2, 3의 SPF가 각각 25.8(±12.0), 19.4(±7.4), 29.6(±17.7), 25.5(±14.0)%였으며, 역시 PS scale의 진행과 SPF와는 어떤 관계를 나타내지는 않았다.

전 SPF의 중앙값(20.2%) 및 최빈값(19~21%)인

Table 2. Mean survival Time of Patients Subdivided TNM Stage and PS Scale

Squamous cancer (n=21)	
Total	225±162
TNM stage	
II	330±161
III	267±182
IV	154±120
PS scale	
0	299±142
1	233±152
2	206±210
3	35±7

mean of days±SD

Table 3. Mean Value of SPF Recording to TNM Stage and PS Scale

Squamous cancer (n=21)	
Total	23.4±11.3%
TNM stage	
II	34.1±0.6%
III	19.7±13.5%
IV	25.2±8.0%
PS scale	
0	25.8±12.0%
1	19.4±7.4%
2	29.6±17.7%
3	25.5±14.0%

20%을 기준으로 high SPF라고 정하여 전 대상군과 각 구분군에서의 high SPF의 비율은 Table 4와 같다.

전 군에서 high SPF의 비율은 62%였으며, TNM 병기상 II, III, IV기가 각각 100%, 40%, 78%였으며, TNM 병기와 high SPF의 비율의 관계는 찾아볼 수 없었다. PS scale상 0, 1, 2, 3가 각각 60%, 60%, 75%, 50%였으며, PS scale이 high SPF의 비율 역시 어떤 관계를 찾아볼 수는 없었다.

전 군에서 각각의 생존기간과 SPF치와는 -0.55의 상관관계를 나타냈었다(p<0.05). 그리고 임상적 추이를 구분키 위해서 각 군을 high 그리고 low SPF로 이분하여 얻은 평균 생존기간은 Table 5와 같다. low SPF

Table 4. Proportion of High SPF According to TNM Stage and PS Scale

Squamous cancer (n=21)	
Total	13/21 (62%)
TNM stage	
II	2/2 (100%)
III	4/10 (40%)
IV	7/9 (78%)
PS scale	
0	3/5 (60%)
1	6/10 (60%)
2	3/4 (75%)
3	1/2 (50%)

high SPF: more than 20% of cell cycle

Table 5. Mean Survival Time of Patients Subdivided by SPF, TNM Stage and PS Scale

	low SPF (=8)	high SPF (n=13)
Total	342±180	153±99*
TNM stage		
II		330±161
III	352±192	139±36**
IV	312±200	109±44*
PS scale		
0	349±148	266±159
1	372±155	140±36*
2	520	102±210
3	30	40

mean of days±SD *p<0.01 **p<0.05

와 high SPF군의 평균 생존기간은 전군에서 $342(\pm 180)$, $153(\pm 99)$ 일로서, 통계적으로 유의하게 ($p < 0.01$), high SPF 군이 low SPF 군보다 생존기간이 짧음을 볼 수 있었다. 그리고 TNM 병기별로 비교해 보면 III기에서 각각 $352(\pm 192)$, $139(\pm 36)$ 일로서 역시 유의한 ($p < 0.05$) 차이가 있었으며, IV기에서는 각각 $312(\pm 200)$, $109(\pm 44)$ 일로서 유의한 ($p < 0.01$) 차이를 발견할 수 있었다. PS scale 별로는 scale 0, 1, 2, 3에서 전반적으로 high SPF 군이 low SPF 군보다 생존기간이 짧음을 볼 수 있으며, scale 0, 2, 3은 대상군이 적어 유의성이 없으나, scale 1 군에서는 각각 $372(\pm 155)$, $140(\pm 36)$ 일로서 통계적으로 유의성이 ($p < 0.01$) 있음을 확인할 수 있었다. Table 5에 나타난 바와 같이 전반적으로 통계적으로 유의하게 high SPF 군이 low SPF 군보다 생존기간이 짧음을 관찰할 수 있었다.

고 찰

유식세포 분석법을 이용한 세포내 DNA 검사는 다음의 사실에 근거를 두고 있다. 첫째, 세포분열 주기의 각 단계마다 각각 다른 양의 DNA를 함유한다는 것, 둘째, DNA에 정량적으로 결합할 수 있는 형광물질이 이용가능하다는 것, 셋째, tritiated thymidine을 이용한 autoradiography에 의해서 포유동물의 정상 및 비정상 세포들의 세포분열 주기가 실제 파악되고 있다는 점이다. 포유동물의 세포분열 주기에 대해 요약하여 보면, DNA 합성시기(S phase)에 있는 세포는 모든 염색체가 복사되어야 하므로 DNA의 양이 증가하기 시작한다. S phase 후에는 세포분열이 잠시 쉬는 gap phase 즉 G_2 phase로 들어가며, 이 시기에는 세포가 염색체를 두 벌로 갖게 되므로 정상 DNA양의 2배(4C)를 갖게 된다. G_2 phase는 유사 분열(M phase)이 시작되면서 동시에 끝나고, 유사분열은 두 개의 딸세포를 만들며, 새로 만들어진 세포는 다시 gap phase (G_1 phase)로 들어가는 데, 이 세포들은 정상적인 양의 DNA (2C)를 소유한다. 이외에 세포분열 주기에 들어가지 아니하는 비활동적 시기(G_0 phase)에 있는 세포들의 DNA 양도 정상(2C)이다. 각 세포분열 주기에 따른 DNA 양의 정량적인 변화와 그에 따른 각 phase의 구분은 Fig. 1, 2와 같다.

Acriflavine Feulgen 법⁸⁾에 의한 DNA 염색법 개발

이후로 DNA 정량을 위한 많은 세포염색화학적 방법이 개발되었지만, 가장 많이 쓰이는 DNA 염색 제제는 ethidium bromide와 propidium iodide이다. 그러나 두 염색제 모두 DNA 외에 RNA도 일부 염색해 버리므로 RNase를 이용하여 세포내 RNA를 제거해 주어야 한다. 그리하여 DNA 정량분석에 근거하여 특정 세포 분열 주기에 위치하는 세포들은 정상 DNA (2C)의 G_0 , G_1 세포들과 2배 DNA (4C)의 G_2 , M 세포들 그리고 2C 4C 사이의 DNA 양을 함유하는 S phase 세포들이다. 종양조직에도 일부 정상 조직이 있으므로, 먼저 현미경 상으로 가능한한 암세포 조직을 골라야 하며, 정상 세포는 SPF가 거의 1% 미만이므로 전체 SPF에는 유의있는 영향을 주지 않는다. 그리고 각 phase의 DNA의 양에 해당되는 세포수의 측정에 있어서는 기술적인 요인에 의해서 조금씩의 차이가 있을 수 있으므로 Fig. 2에 보이는 DNA histogram 상에서 G_0 , G_1 stem line의 폭의 넓이를 G_0 , G_1 stem line의 DNA 양(channel number)으로 나눈 값인 Coefficient of variation (CV)으로서 신뢰도를 정하고 있는데, 대개 CV가 10 이상이면 DNA histogram의 분석이 곤란할 가능성이 있으므로⁹⁾, 여기에서는 CV가 8 이하인 경우만을 분석대상으로 삼았다. 그러므로 정상 세포가 어느 정도이상 대상 종양조직에 포함되어 있으면 이러한 CV치가 영향을 받아 신뢰도가 떨어진다.

DNA histogram의 종양 환자에 대한 임상적 이용에는 지금까지 2가지가 주로 시도되어 왔다. 첫째, DNA ploidy 여부인데, Fig. 2의 상단처럼 G_0 , G_1 stem line 외에 측정 가능한 다른 DNA stem line이 없으면 diploidy이며, 하단처럼 측정가능한 다른 DNA stem line이 있으면 aneuploidy라고 정의한다¹⁰⁾. 일반적으로 종양세포의 aneuploidy가 확인된 때는, diploidy만 있을 때보다 임상적 예후가 좋지 않다고 발표되어 왔으며¹¹⁻¹³⁾, 국내에서의 보고도 비슷하다³⁾. 둘째, DNA histogram 상 G_0 , G_1 stem line과 G_2 , M phase 사이의 S phase에 해당되는 부분의 비율을 가지고 세포의 분열 및 증식성 정도를 반영하여 임상적 예후와의 관계를 지으려고 하였다^{4-6,14)}. 그러나 이 부위는 가검물을 처리할 때의 조직파편(subcellular debris)에 의해서, DNA histogram 상에 나타나는 컴퓨터의 noisy background와의 구별이 힘든 경우¹⁵⁾가 많으므로, 이에 대한 정확한 해상분석 능력이 필요하다.

1983년 Hedley 등은 paraffin에 포매된 조직 절편의 paraffin을 xylene이나 histoclear 등으로 제거하고 알코올 용액으로 재수화하여 단일세포 부유액을 만든 다음 propidium iodide로 염색하여 DNA를 측정하는 방법을 고안하였다⁷⁾. 더우기 신선 조직에 비해 paraffin 포매조직을 가검물로 채택하였을 때의 예상되었던 다음과 같은 문제점들이 해결되었다. 첫째, 고정에 의한 형광색소 결합능의 변화인데 이 점은 종양조직내에 상당량의 비종양 정상 세포가 역시 존재하므로 비교적 신뢰성 있게 감별이 가능하다²⁾. 둘째, paraffin 포매조직은 단일세포액으로 만들 때에 효소처리해야 하는데, 이럴 때에 조직파편이 S phase로 오인될 수 있으나 해상분석의 발달로서 DNA histogram에 포함되지 않음이 thymidine autoradiography로서 확인되었다¹⁵⁾. 셋째는 해상분석이 신선조직보다 낮아서 G₀, G₁ stem line이 흐리게 나올 수 있는 염려인데, 실제 반복된 실험의 결과에 의하면 별 차이가 없었다^{16,17)}. 이런 근거로 하여 paraffin 보관조직이 유식세포 분석법에 의해 이용이 가능하므로, 종양환자의 후향적 추적검사가 이루어지고, 특히 유식세포 분석에 의한 DNA histogram상의 SPF와 임상적 예후를 관계지으려는 시도가 현실적으로 가능하게 되었다.

원발성 폐암은 WHO의 기준에 의해서 편평상피암, 선암, 소세포암, 대세포암으로 구분하며, 이중 소세포암은 성장배가시간이 30일로서 편평상피암의 90일, 선암 및 대세포암의 160일 보다 짧아서, 매우 빨리 타장기로 전이되는 특징이 있다¹⁸⁾. 그리고 소세포암을 제외한 나머지 폐암은 임상 양상 및 치료의 방법, 치료에 대한 반응 및 예후 등이 서로 비슷하여 비소세포암이라고 하여 하나의 그룹으로 하여 크게 이분하고 있다. 이에 저자는 SPF와 임상예후와의 관계를 더욱 뚜렷이 하기 위해 비소세포암중 편평상피암만을 대상군으로 채택하였다.

편평상피암의 각 병기별 분포는 Table 1과 같으며, 수술, 방사선 조사 및 항암화학요법을 실시치 않은 가운데, 자연 경과에 의해 사망한 대상군의 진단 후 평균 생존기간은 225(±162)일 이었으며, TNM 병기가 진행할수록 생존기간은 짧아졌으며, PS scale도 진행할수록 역시 짧아지는 양상이었다.

편평상피암에 대한 평균 SPF치는 크게 2가지의 방법으로 나뉘어 보고되는데, thymidine autoradiography

에 의한 폐암의 신선 조직에 있어서는 평균 SPF는 20.54(±5.57)%의 보고¹⁹⁾와 유식세포 분석법에 의한 paraffin 보관조직에서의 평균 SPF는 19.8(±8.2)%⁹⁾, 18%²⁰⁾ 그리고 34.5(±12.9)%의 보고 등²¹⁾이 있다. 유식세포 분석법에 의한 저자의 결과는 23.4(±11.3)%였으며, TNM 병기와 PS scale이 진행할수록 SPF가 증가할 것으로 예상됐으나 저자의 결과는 TNM 병기 및 PS scale의 진행과 SPF와는 어떤 관계를 형성하지는 않았다(Table 3).

이어 SPF와 폐암의 진행정도와의 관계를 단순화하기 위해서, 각 SPF의 중앙 값 및 최빈값인 20%를 기준으로 high SPF와 low SPF로 구분하여 각 군에서의 high SPF의 비율을 확인하였다(Table 4). 전 군에서의 high SPF의 비율은 62%였으며, TNM 병기와 PS scale과 high SPF의 비율과는 어떤 관계가 성립되지는 않았다. 이상의 두 결과로 보아 SPF와 폐암의 진행정도와는 관계없음이 확인되었다.

일반적으로 SPF가 높을수록 종양의 분열증식은 왕성해져 예후가 불량할 것으로 예상된다. 이에 대해서는 여러 보고가 최근 나오고 있다. Clark 등²²⁾은 유방암에 있어서 SPF가 낮을수록 액와 임파절의 침습정도가 감소하고 수술 후 예후가 양호하다고 하였으며, Hedley 등²³⁾도 유방암에서 역시 같은 보고를 내었다. 비슷한 보고가 위암²⁴⁾과 악성 흑색종²⁵⁾에서도 있었다. 폐암에서의 SPF와 생존기간과를 비교해 보려는 시도도 있었는데, TenVelde 등²⁶⁾은 비소세포폐암 환자에서 SPF 17%를 기준으로 하여 SPF가 낮으면 예후가 좋다고 하였으며, TNM 각 병기와 각 치료방법별로 구분하여 SPF와의 관계를 분석하였는데 역시 각 병기와 각 치료방법으로 구분하여도 SPF가 낮을수록 생존기간이 증가하였다. Volm 등²⁷⁾도 수술을 실시한 비소세포암군에서 S+G₂M phase fraction 22%를 기준으로 하여 SPF가 낮으면 역시 예후가 좋다고 하였다. 본 저자의 경우에도 전 군에서의 평균 생존기간은 high SPF 군이 342(±180)일 인데 비해, low SPF 군이 153(±99)일로서 통계적으로 유의하게(p<0.01) 차이있음이 발견되었다(Table 5). 각 군을 다시 TNM 병기와 PS scale 별로 구분하여 비교해 보아도 역시 통계적으로 유의하게 low SPF 군이 high SPF 군 보다 생존기간이 연장되었음을 볼 수 있었다.

외국의 보고는 각 병기별로 그에 해당되는 치료방법을

실시한 후에 조사한 것이며, 또 생존자와 사망자가 섞여 있는 Kaplan-Meier 방법인데 비하여 저자의 방법은 편평상피성 폐암으로 진단받은 후 전혀 치료를 가하지 않은 가운데 사망한 환자만을 대상으로 하였기 때문에, 저자의 방법이 폐암의 임상 경과와 종양세포내 SPF와의 관계를 파악하는데 더욱 효과적이라 생각된다.

이상으로서, TNM 병기, PS scale 별로 비교분석한 결과, 종양세포내 high SPF를 보이는 편평상피성 폐암 환자들은 low SPF 군 보다 생존기간이 짧음을 알 수 있었고, SPF는 TNM 병기, PS scale과는 무관한 독립된 예후인자로서 임상적 이용이 가능하다고 판단된다.

요 약

연구배경: 종양세포는 세포의 분열성장이 매우 왕성하므로 정상 세포에 비하여 세포분열 주기 중 S-Phase fraction (SPF)의 증가를 예상할 수 있다. 같은 종양중에서도 SPF가 높으면 종양의 성장이 훨씬 빠를 것으로 생각되며, 이러한 종양세포의 생물학적 특성을 이용하여 원발성 편평상피성 폐암 환자에서 SPF와 생존기간과의 관계를 연구하였다.

방법: 1985년 9월 부터 1990년 3월 까지 원광의대 부속병원에서 원발성 편평상피성 폐암으로 진단받고나서, 수술, 방사선, 화학요법 등을 실시받지 않고 사망한 21례를 대상으로 하였다. SPF 분석방법은 paraffin에 보관된 병리조직을 처리하여 유식세포 분석법에 의한 DNA histogram으로서 분석하였다.

결과 :

1) 전 대상군의 평균 생존기간은 225(±162)일 이었고, TNM 병기, PS scale이 진행할 수록 단축되는 양상이다.

2) 전 대상군의 평균 SPF는 23.4(±11.3)%이었으며, TNM 병기, PS scale 별로 구분하여 비교한 결과, TNM 병기, PS scale의 진행정도와 SPF는 관계가 없었다.

3) SPF 20%를 기준으로 한, high SPF 군과 low SPF 군의 평균 생존기간은 각각 153(±99)일, 342(±180)일 로서 유의한 차이가 있었다(p<0.01). high SPF군과 low SPF군을 TNM 병기, PS scale 별로 구분하여 비교하여도 역시 유의하게 high SPF 군이 low SPF 군 보다 평균 생존기간이 짧았다.

결론: 편평상피성 폐암 환자에서 종양세포의 SPF가 증가되어 있으면, 예후가 유의하게 좋지 않으며, SPF는 TNM 병기, PS scale과는 무관한 독립된 예후추정인자로서의 임상적 이용이 가능하다고 생각된다.

REFERENCES

- 1) Barthel B, Martin NB: Flow cytometry in clinical cancer research. *Cancer RES* 43:3982, 1983
- 2) 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* 6:327, 1985
- 3) 김안명, 김동용, 이진화, 장근, 정은택: 원발성 폐암 환자에 있어서 종양 세포의 DNA 배수성과 생존기간과의 관계. *대한 내과학회잡지* 41:489, 1991
- 4) McDivitt RW, Stone KR, Craig RB, Meyer JS: A comparison of human breast cancer cell kinetics measured by flow cytometry and thymidine labeling. *Lab Invest* 52:287, 1985
- 5) Casta A, Massini G, Del Bino G, Silvestrini R: DNA content and kinetic characteristics of Non-Hodgkin's lymphoma determined by flow cytometry and autoradiography. *Cytometry* 2:185, 1982
- 6) Braylan RC, Diamond LW, Powell ML, Harty Golder B: Percentage of cells in the S-phase of the cell cycle in human lymphoma determined by flow cytometry: Correlation with labeling index and patient survival. *Cytometry* 1:171, 1980
- 7) Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW: DNA flow cytometry of paraffin embedded tissue. *Cytometry* 5:660, 1984
- 8) Coons AH, Creech HJ, Janes RN: Immunological properties of an antibody containing fluorescent group. *Proc Soc Exp Biol Med* 47:200, 1941
- 9) Bunn PA, Carney DN, Gazdar AF, Whang-Peng J, Matthews MJ: Diagnostic and biological implications of flow cytometric DNA content analysis in lung cancer. *Cancer Res* 43:5026, 1983
- 10) Barlogie B, Raber MN, Schumann J: Flow cytometry in clinical cancer research. *Cancer Res* 43:3982, 1983
- 11) Merkel DE, Dressler LG, McGuire WL: Flow cytometry, cellular DNA content and prognosis in human malignancy. *J Clin Oncol* 5:1690, 1987
- 12) Friedlander ML, Hedley DW, Taylor IW: Clinical

- and biological significance of aneuploidy in human tumors. *J Clin Pathol* **37**:961, 1984
- 13) Buechner T, Hiddemann W, Woermann B: Differential pattern of DNA aneuploidy in human malignancies. *Pathol Res Pract* **179**:310, 1985
 - 14) Barlogie B, Johnston Da, Smallwood L: Prognostic implications of ploidy and proliferative activity in human solid tumors. *Cancer Genet Cytogenet* **6**:17, 1982
 - 15) Haag D, feichter G, goertler K, Kaufmann M: Influence of systematic errors on the evaluation of the S-phase portions from DNA distributions of solid tumors as shown for 328 breast carcinomas. *Cytometry* **8**:377, 1987
 - 16) Camplejohn RS, Macartney JC: Comparison of DNA flow cytometry from fresh and paraffin-embedded samples of Non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol* **38**:1096, 1985
 - 17) Berlinger NT, Maline BN, Kay NE: A comparison of flow cytometric DNA analysis of fresh and fixed squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* **113**:1301, 1987
 - 18) Geddes DM: The natural history of lung cancer. *Br J Dis Chest* **73**:1, 1979
 - 19) 박성수, 이성준, 이동후, 이정희, 이중달 : 인체 폐암에서의 autoradiography 에 의한 3H-Thymidine Labeling index에 관한 연구. *결핵 및 호흡기 학회지* **36**:134, 1989
 - 20) Raber M, Barlogie B, Farquhar D: Determination of ploidy abnormality and cell cycle distribution in human lung cancer using DNA flow cytometry. *Proc Am Assoc Cancer Res* **21**:40, 1980
 - 21) Oleszewski W, Darzynkiewicz Z, Clays ML: Flow cytometry of lung carcinoma. *Anal Quant Cytol* **4**:90, 1982
 - 22) Clark GM, Dressler LG, Owens MA: Prediction of relapse or survival in patients with node-negative breast cancer by DNA flow cytometry. *N Engl J Med* **320**:627, 1989
 - 23) Hedley DW, Rugg CA, Gelber RD: Association of DNA index and S-phase fraction with prognosis of nodes positive early breast cancer. *Cancer Res* **47**:4729, 1987
 - 24) Yonemura Y, Ooyama S, Sugiyama K: retrospective analysis of the prognostic significance of DNA ploidy patterns and S-phase fraction in gastric carcinoma. *Cancer Res* **50**:509, 1990
 - 25) Costa A, Silvestrini R, Mezzanotte G: Cell kinetics: An independent prognostic variable in stage II melanoma of the skin. *Br J Cancer* **62**:826, 1990
 - 26) TenVelde GPM, Schutte B, Bermeulen A, Volovics A, reynders MMJ, Blijham GH: Flow cytometric analysis of DNA ploidy level in paraffin-embedded tissue of Non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* **24**:455, 1988
 - 27) Volm M, Drings P, Mattern J, Sonka J, Vogt-Moykopf I, Wayss K: Prognostic significance of DNA patterns and resistance-predictive tests in Non-small cell lung carcinoma. *Cancer* **56**:1396, 1985