

□ 원 저 □

소세포 폐암에서 S-Phase Fraction의 임상적 의의

서울 위생병원 내과*, 원광대학교 의과대학 내과학교실

김휘정* · 정병학 · 정은택

= Abstract =

Clinical Significance of S-Phase Fraction in Small Cell Lung Cancer

Hui Jung Kim, M.D.^{*}, Byung Hak Jung, M.D. and Eun Taik Jeong, M.D.

Department of Internal Medicine, SDA Hospital, Seoul, Korea^{}*

Department of Internal Medicine, 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 the 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 small lung cancer cell was assessed in 42 patients who died after receiving anticancer chemotherapy.

Results: 1) Mean survival time of patients with small cell lung cancer was 190(± 156) days. Survival time were shortened, when TNM stage and PS scale were advanced.

2) Mean value of SPF of patients with small cell lung cancer was 27.4(± 8.5)%. SPF had nothing to do with advance of TNM stage and PS scale.

3) In each identical TNM stage, there were not statistic significance between SPF and survival times.

4) There was a tendency like that higher SPF, better chemotherapeutic response.

Conclusion: We could not find statistic significance between SPF and survival times, but SPF was a good predictive factor for chemotherapeutic response.

Key Words: Small cell lung cancer, S-phase fraction, Chemotherapeutic response

서 론

종양세포는 그 자체의 비정상적인 세포성장이라는 특징이 있다. 이러한 특성 중의 하나로 세포내 DNA의 변화를 들 수 있다. 종양세포내 DNA의 변화로서, 정상

세포의 DNA가 배수성(diploidy)인데 비하여 종양세포는 DNA가 비배수성(aneuploidy)일 수 있다. 그리고 종양세포 특유의 왕성한 세포분열이 있으므로, 세포분열 주기중 세포분열 증식의 실질적 과정인 S-Phase fraction (SPF)의 증가가 있다(Fig. 1). 이러한 분자생물학적 특성은 종양세포의 분열증식의 습성과 밀접한 관

계가 있으며, 이러한 분석결과에 의해서 종양의 예후추정이나 치료계획 수립에 연관시키려는 노력이 시도되어 왔다¹⁾. 이미 일반적으로 DNA의 비배수성이 배수성보다 예후가 불량하다는 것은 인정되고 있다^{2,3)}. 그리고 세포분열 주기중 SPF 역시 예후추정에 의의 있다는 보고도 있었다⁴⁻⁶⁾.

인체의 원발성 폐암은 최근 여러가지 치료법의 개발에도 불구하고 아직까지는 예후가 좋지 않은 종양에 포함된다. 폐암의 치료계획과 예후추정에 지금까지 주로 사용되는 방법으로는 조직병리학적 소견, 해부학적 병기인 TNM 법, 생리학적 병기인 Performance Status scale(PS scale)이 있다. 이러한 예후추정법도 중요하나, 이에 못지 않게 종양세포의 생물학적 특성, 특히 분열능의 지표인 SPF와의 관계도 무시할 수 없다고 인정된다. 이러한 생물학적 예후추정 인자와 임상예후와의 관계에 대한 보고가 자주 있었다.

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 DNA 양을 정량화하여 DNA histogram을 얻는 유식세포 분석법(Flow cytometry)은 paraffin 보관조직이 가검물로서 가능하다는 장점이 있어 임상적으로 후향적 추적이 가능하다는 잇점이 있다.

이에 저자들은 원발성 폐암 중 소세포 폐암으로 조직병리학적 진단을 받고나서, 항암화학요법을 실시받은 42명의 환자를 대상으로 하여, 대상 환자의 paraffin 보관조직을 가검물로 하여 Flow cytometer로서 SPF를 측정하였고, 대상 환자를 후향적으로 추적하여 여러 임상소견을 정리하였다. 그리하여 측정된 암세포의 SPF와 환자의 생존기간, 화학요법에 대한 반응을 서로 비교하여 SPF의 임상적 의의를 찾으려 하였다.

대상 및 방법

1990년 1월부터 1991년 12월까지 원광대학병원에서 조직병리학적으로 진단받고나서, 2회 이상의 화학요법을 실시받은 후, 최소 2년 이상의 후향적 추적에 의해 사망이 확인된 42예를 대상으로 하였다. paraffin에 보

Table 1 . Characteristics of Subjects Studied

| SCLC(n=42) | |
|-----------------------------|----------------|
| Sex(M:F) | 34:8 |
| Age(mean of years \pm SD) | 64.3 \pm 9.9 |
| TNM stage | |
| limited | 17 |
| extensive | 25 |
| PS scale | |
| 0, 1 | 33 |
| 2, 3 | 9 |
| Chemotherapy | |
| 2~3 times | 19 |
| 4~6 times | 23 |

SCLC: Small Cell Lung Cancer

관된 병리조직을 Flow cytometer로서 DNA를 분석하여 SPF를 측정하였고, 파악된 대상군의 TNM 병기, PS scale, 화학요법의 실시 횟수 등의 분포는 Table 1과 같다. 여기에 사용한 TNM 병기는 New International method이며, PS scale은 Zubrod 법에 의하였다. 치료방법은 제한기, 전이기 모두 화학요법만 실시하였고, 사용한 화학요법의 구성은 CAV(Cyclophosphamide, Adriamycin, Vincristine) 요법을 2회 실시하고 반응이 양호하면 CAV를 지속하였고, 반응이 불량하면 EP(Etoposide, Cis-platin) 요법으로 대체하였으며 화학요법의 총 실시 횟수는 6회까지로 제한하였다.

화학요법의 반응정도는 치료 전후의 종양의 용적 변화에 따라 5가지로 구분하였다. 즉 종양의 완전소실이면 완전관해(Complete Remission, CR), 치료 전보다 종양의 용적이 50% 이하일 때 부분관해(Partial Remission, PR), 50~125%일 때 안정(Stable disease), 125% 이상일 때 진행(Progress)으로 구분하였다.

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

세포 부유액을 얻어내었다. 채취된 단일세포 부유액은 phosphate buffer saline(pH 7.2)으로 세척한 후 세포수가 10^6 /ml 정도로 되게 조정된 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 정도로도 충분하였다. 사용된 유식세포 분석기는 FACStar(Fluorescent Activated Cell Sorter, Becton Dickinson Immunocytometry System, USA)로서 488 nm의 파장을 발산하는 Argon LASER를 갖추고 있다.

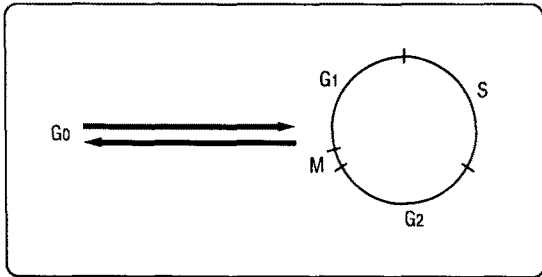


Fig. 1. Cell Cycle of Proliferation.

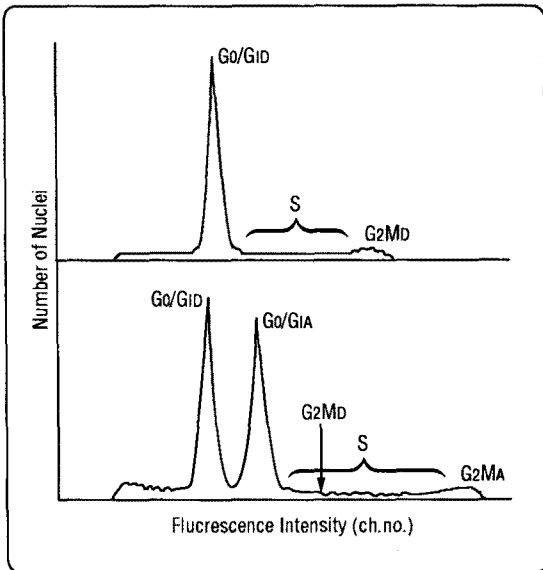


Fig. 2. (Top) Diploid tumor with single G₀/G₁ peak. (Bottom) Aneuploid tumor with two G₀/G₁ peaks.

DNA 양을 측정하기 위해 사용되는 DNA 염색물질인 propidium iodide는 488 nm의 파장의 Argon LASER에서 610 nm의 파장으로 방출되는 형광물질로서, 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 주수로서 동, 면 사무소 또는 거주지 방문 확인이나 우편, 전화에 의한 확인으로 파악하였으며, 이에 따른 통계처리는 비모수 통계인 Mann-Whitney U 검정으로 하였다.

결 과

대상군의 임상적 소견의 분석은 Table 1과 같다.

대상군의 평균 생존기간은 $190 (\pm 156)$ 일이었고 이를 다시 TNM 병기로 구분하면 제한기가 $296 (\pm 179)$ 일로서 전이기의 $121 (\pm 85)$ 일보다 통계학적으로 유의하게 차이가 있었다($p < 0.001$). Zubrod's PS scale 0, 1군의 평균 생존기간은 $224 (\pm 161)$ 일로서 PS scale 2, 3군의 $76 (\pm 27)$ 일보다 역시 유의하게 차이가 있었으며 ($p < 0.01$), 화학요법 2, 3회 실시군의 평균 생존기간은

Table 2. Mean Survival Time of Patients

| | Survival times (mean of days \pm SD) |
|--------------|---|
| Total(n=42) | 190 \pm 156 |
| TNM stage | |
| limited | 296 \pm 179 |
| extensive | 121 \pm 85* |
| PS scale | |
| 0, 1 | 224 \pm 161 |
| 2, 3 | 76 \pm 27** |
| Chemotherapy | |
| 2~3 times | 105 \pm 138 |
| 4~6 times | 264 \pm 133* |

* P < 0.001

** P < 0.01

105(± 138)일로서 4~6회 실시군의 264(± 133)일보다 유의하게 짧음을 볼 수 있었다(p<0.001)(Table 2).

Table 3. Mean Value of SPF

| | Cases | SPF(%) |
|--------------|-------|------------|
| Total | 42 | 27.4 ± 8.5 |
| TNM stage | | |
| limited | 17 | 28.4 ± 8.2 |
| extensive | 25 | 26.7 ± 8.8 |
| PS scale | | |
| 0, 1 | 33 | 28.0 ± 9.2 |
| 2, 3 | 9 | 23.9 ± 5.9 |
| Chemotherapy | | |
| 2~3 times | 19 | 24.4 ± 8.7 |
| 4~6 times | 23 | 29.9 ± 7.6 |

Table 4. Mean Survival Time according to SPF

| SPF | Cases | Survival Time (mean of days ± SD) |
|---------|-------|--------------------------------------|
| 10 ~ 19 | 12 | 152 ± 151 |
| 20 ~ 29 | 13 | 233 ± 206 |
| 30 ~ 39 | 14 | 194 ± 114 |
| 40 ~ | 3 | 169 ± 104 |

대상군의 측정된 평균 SPF는 27.4(± 8.5)%였다 (Table 3). 제한기(28.4±8.2%)와 전이기(26.7±8.8%)의 차이를 비교하였으나 유의성은 없었고, PS scale, 화학요법의 실시횟수로 구분하여 비교하여도 역시 유의성은 없었다. 대상군의 SPF를 10% 단위로 구분하여 평균

Table 5. Mean Survival Time according to SPF in Limited Cases

| SPF | Cases | Survival Time (mean of days ± SD) |
|---------|-------|--------------------------------------|
| 10 ~ 19 | 5 | 228 ± 214 |
| 20 ~ 29 | 4 | 437 ± 232 |
| 30 ~ 39 | 7 | 266 ± 97 |
| 40 ~ | 1 | 288 |

Table 6. Mean Survival Time according to SPF in Extensive Cases

| SPF | Cases | Survival Time (mean of days ± SD) |
|---------|-------|--------------------------------------|
| 10 ~ 19 | 7 | 98 ± 55 |
| 20 ~ 29 | 9 | 142 ± 116 |
| 30 ~ 39 | 7 | 121 ± 81 |
| 40 ~ | 2 | 109 ± 16 |

Table 7. Relationship between SPF and Therapeutic Response

| SPF | Remission Rate | CR | PR | Stable | Progress |
|---------|----------------|----|----|--------|----------|
| 10 ~ 19 | 33%(4/12) | 1 | 3 | 3 | 5 |
| 20 ~ 29 | 77%(10/13) | 2 | 6 | 4 | 1 |
| 30 ~ 39 | 93%(13/14) | 6 | 7 | 1 | |
| 40 ~ | 100%(3/ 3) | 3 | | | |
| Total | 67%(28/42) | 12 | 16 | 8 | 6 |

Table 8. Relationship between SPF and Therapeutic Response

| | Case | Survival Time(days) | SPF(%) |
|----------|------|---------------------|--------------|
| CR | 12 | 318 ± 162 | 35.3 ± 7.4** |
| PR | 16 | 186 ± 151 | 27.9 ± 6.4 * |
| Stable | 8 | 110 ± 60 | 22.2 ± 4.5 * |
| Progress | 6 | 68 ± 17 | 17.4 ± 2.7 * |

* P < 0.05 ** P < 0.01

생존기간을 비교한 결과는 Table 4와 같다. SPF 20% 이상부터는 SPF의 증가에 따라 생존기간이 단축되었으나 서로의 유의성은 없었고, 오히려 SPF 20% 이하인 경우는 SPF 20% 이상인 경우보다 생존기간이 짧았다. 이러한 SPF와 생존기간과의 관계를 제한기와 전이기로 나누어 비교하여도(Table 5, 6) 역시 같은 경향이였다.

SPF와 화학요법의 반응을 비교하였을때, Table 7에서와 같이, SPF가 높을 수록 종양의 관해율은 좋았다. 종양의 치료반응 정도별로 구분한 생존기간과 평균 SPF를 비교했을때, 치료반응이 좋을 수록 비교적 평균 SPF가 유의하게 높게 나타났다(Table 8). 화학요법 반응이 CR인 군과 PR인 군에서 각기 SPF와 평균 생존기간을 비교해 보았으나, SPF와 생존기간과의 유의성 이는 관계는 없었다.

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 이용 가능하다는 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 G₂ phase로 들어가며, 이 시기에는 세포가 염색체를 두 벌로 갖게 되므로 정상 DNA 양의 2배(4C)를 갖게 된다. G₂ phase는 유사분열(M phase)이 시작되면서 동시에 끝나고, 유사분열은 두개의 딸세포를 만들며, 새로 만들어진 세포는 다시 gap phase(G₁ phase)로 들어가는데, 이 세포들은 정상적인 양의 DNA(2C)를 소유한다. 이외에 세포분열 주기에 들어가지 아니하는 비활동적 시기(G₀ 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 염색제제는 ethidium bromide와 propidium iodide이다. 그러나 두 염색제제 모두 DNA 외에 RNA도 일부 염색해 버리므로 RNase를 이용하여 세포 내 RNA를 제거해 주어야 한다. 그리하여 DNA 정량분석에 근거하여 특정 세포분열 주기에 위치하는 세포들은 정상 DNA(2C)의 G₀, G₁ 세포들과 2배 DNA(4C)의 G₂, M 세포들 그리고 2C와 4C 사이의 DNA 양을 함유하는 S phase 세포들이다. 종양 조직에도 일부 정상 조직이 있으므로, 먼저 현미경을 사용하여 가능한 한 암세포 조직을 골라야 한다. 그러나, 정상 세포는 SPF가 거의 1% 미만이므로 전체 SPF에는 의의있는 영향을 주지 않는다. 그리고 각 phase의 DNA의 양에 해당되는 세포수의 측정에 있어서는 기술적인 요인에 의해 조금씩의 차이가 있을 수 있으므로 Fig. 2에 보이는 바와 같이, DNA histogram 상에서 G₀, G₁ stem line의 폭의 넓이를 G₀, G₁ 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. 정상 세포가 허용치 이상으로 종양조직에 포함되어 있으면 이러한 CV 치가 영향을 받아 신뢰도가 떨어진다.

DNA 분석의 종양 환자에 대한 임상적 이용에는 2가지가 주로 시도되어 왔다. 첫째, DNA ploidy 여부로서, Fig. 2의 상단처럼 G₀, G₁ stem line 외에 측정 가능한 다른 DNA stem line이 없으면 diploidy이며, 하단처럼 측정 가능한 다른 DNA stem line이 있으면 aneuploidy라고 정의한다¹⁰⁾. 일반적으로 aneuploidy의 종양은 diploidy의 종양보다 임상적 예후가 좋지 않다고 발표되어 왔으며¹¹⁻¹³⁾, 국내에서의 보고도 비슷하다³⁾. 둘째, DNA histogram상 G₀, G₁ stem line과 G₂, M phase 사이의 S phase에 해당되는 부분의 비율을 가지고 세포의 분열 및 증식성 정도를 반영하여 임상적 예후와 연관시키려 하였다^{4-6,14)}. 그러나 이 S-phase는 가검물을 처리할 때의 조직파편(subcellular debris)에 의해서, DNA histogram 상에 나타나는 전산처리의 noisy background와의 구별이 힘든 경우가 많으므로, 이에 대한 정확한

해상분석 능력이 필요하다.

1983년 Hedley 등은 paraffin에 보관된 조직절편의 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 종양조직 내에 상당량의 비종양 정상 세포가 역시 존재하므로, 비교한 결과 비교적 신뢰성 있게 형광색소결합이 가능하다²⁾. 둘째, paraffin 포매조직은 단일 세포액으로 만들 때에 효소처리해야 하는데, 이럴 때에 조직파편이 S phase로 오인될 수 있으나 해상분석의 발달로서 DNA histogram에 포함되지 않음이 thymidine autoradiography로서 확인되었다¹⁵⁾. 셋째는 해상분석이 신선 조직보다 낮아서 G₀, G₁ stem line이 제대로 나오지 않을 수 있는데, 실제 반복된 실험의 결과에 의하면 유의한 차이가 없었다^{16,17)}. 이런 근거로 하여 paraffin 보관조직이 유식세포 분석법에 의해 이용이 가능하므로, 종양환자의 후향적 추적검사가 이루어질 수 있었고, 특히 유식세포 분석에 의한 DNA histogram 상의 SPF와 임상적 예후를 연관시키려는 시도가 현실적으로 가능하게 되었다.

원발성 폐암은 WHO의 기준에 의해서 편평상피암, 선암, 소세포암, 대세포암으로 구분하며, 이중 소세포암은 성장패가 시간이 30일로서 편평상피암의 90일, 선암 및 대세포암의 160일보다 짧아서, 빨리 타장기로 전이되는 특징이 있다¹⁸⁾. 그리고 소세포암을 제외한 나머지 폐암은 임상 양상 및 치료의 방법, 치료에 대한 반응 및 예후 등이 서로 비슷하므로 비소세포암이라는 그룹으로 구분하고 있다.

대상군의 임상적 분포에서 보듯이(Table 1), 이중 화학요법을 2, 3회 실시한 19예중 제한기는 3예, 전이기는 16례였으며, 4~6회 실시한 23예중, 제한기는 14예, 전이기 9예였다. 즉 화학요법의 지속여부는 주로 환자의 TNM 병기에 결정되었다.

대상군의 평균 생존기간은 Table 2와 같은데, TNM 병기와 PS scale이 진행될 수록 생존기간이 유의하게 단축되었으며, 치료의 결과가 외국의 여러 보고¹⁹⁾에 비

해 저조한 이유는 화학요법을 6회까지 완료한 경우가 9예에 불과한 것으로 생각된다.

비소세포 폐암의 평균 SPF는 외국의 경우 19.8%⁹⁾, 11%²⁰⁾의 보고와 국내의 정 등²¹⁾에 의한 23.4%²¹⁾라는 보고가 있다. 또 정 등²¹⁾에 의하면 병기의 진행과 SPF는 무관하다고 하였다. 소세포 폐암의 평균 SPF에 대한 결과를 알아보면 Bunn 등⁹⁾은 22.3%, Oleszewski 등²²⁾은 33%로 보고하였다. 저자의 결과는 27.4%로 나왔는데, 보고에 따라 차이가 있는 점을 Carey 등²³⁾은 각 병리조직에서의 가검물 채취부위, 채취량, 검사방법에 따른 것으로 설명하고 있다. TNM 병기, PS scale이 진행되어도 SPF는 변화가 없는데, 이것은 소세포 폐암이 진행되어도 암세포 내의 SPF는 변화되지 않는 것으로 판단된다.

일반적으로 SPF가 높을 수록 종양의 분열증식은 왕성해져 예후가 불량할 것으로 예상된다. 이에 대한 여러 보고가 최근 나오고 있는데, Clark 등²⁴⁾은 유방암에 있어서 SPF가 낮을 수록 액와 임파절의 침습정도가 감소하고 수술 후에도 예후가 양호하다고 하였으며, Hedley 등²⁵⁾도 유방암에서 역시 같은 결과를 내었다. 비슷한 보고가 위암²⁶⁾과 악성 흑색종²⁷⁾에서도 있었다. 폐암에서의 SPF와 생존기간과를 비교해 보려는 시도도 있었는데, Ten Velde 등²⁸⁾은 비소세포 폐암 환자에서 SPF 17%를 기준으로 하여 SPF가 낮으면 예후가 좋다고 하였으며, TNM 각 병기와 각 치료방법 별로 구분하여 SPF와의 관계를 분석하였는데, 역시 각 병기와 각 치료방법으로 구분하여도 SPF가 낮을 수록 생존기간이 증가하였다. Volm 등²⁹⁾도 수술을 실시한 비소세포암군에서 S+G₂M phase fraction 22%를 기준으로 하여 SPF가 낮으면 역시 예후가 좋다고 하였다. 국내에서는 정 등²¹⁾도 편평상피성 폐암에서 SPF가 높을 수록 예후가 불량하다고 보고하였다.

소세포 폐암에 있어서, DNA aneuploidy 이면 예후가 불량하다는 Johnson 등³⁰⁾과 Carey 등³¹⁾의 보고가 있으며, DNA ploidy와 예후는 관계없다는 Bunn 등⁹⁾의 보고가 있어 그 관계가 정립되어 있지 않다. 그리고 소세포 폐암에 있어서 Johnson 등³⁰⁾은 SPF가 높을 수록 예후는 불량하다고 SPF와 예후와의 관계를 유일하게 보고하였다. 저자의 연구 결과는 Table 4에서 보는 바와

같이 SPF가 20% 이상일 때는 통계학적 유의성은 없으나 SPF의 증가에 따라 생존기간은 감소되었다. 그러나 SPF가 20% 이하이면 생존기간이 오히려 더 단축되어 SPF와 생존기간과의 관계는 분명치 않다. 이런 결과에 대한 TNM 병기의 영향을 배제키 위해 제한기와 전이기로 구분하여 비교해 보아도 그 결과는 같은 경향이었다(Table 5, 6).

암세포의 분열능과 화학요법의 반응과의 관계는 간단치 않다. 분열능 즉 SPF가 높으면 암의 악성도가 높아 화학요법에 대한 반응이 불량할 것이라는 설명과 SPF가 높으면 분열대사가 왕성하므로 화학요법에 감수성이 높을 것이라는 해석도 있다^{32,33}. 특히 암세포의 분열능이 높은 급성 백혈병에서의 비교 연구가 있었으나, 그 결과 및 의의에 대해서는 확립되어 있지 않다³⁴. 저자는 SPF와 화학요법의 반응을 서로 비교하였는데(Table 7), SPF가 높을수록 관해율(CR+PR)은 높은 것으로 나타났다. 다시 화학요법의 반응 별로 평균 생존기간과 평균 SPF를 측정하였다(Table 8). 화학요법의 반응을 기준으로 할때, 반응이 양호할수록 SPF는 비교적 유의하게 높았고, 평균 생존기간은 증가됨을 확인할 수 있었다. 소세포 폐암은 인체의 고형암 중에서 비교적 분열능이 높은 종양이므로 이상과 같은 결과가 가능하리라 생각되며, 분열능이 낮은 비소세포 폐암의 경우에는 결과가 다르리라 생각된다. 즉 분열능이 낮은 종양에서는 SPF가 암세포의 악성 정도에 큰 의의가 있으며, 분열능이 높은 종양에서는 SPF가 암세포의 악성 정도 외에 화학요법의 반응과의 관계 예측에도 의의가 있다고 생각된다.

요 약

연구배경: 종양세포는 세포의 분열성장이 증가되므로, 세포분열주기 중 S-phase fraction(SPF)의 변화를 생각할 수 있다. 소세포폐암 환자에서 종양세포의 생물학적 특성인 SPF의 변화와 생존기간, 그리고 항암화학요법에 대한 반응의 정도를 비교하였다.

방법: 1990년 1월부터 1991년 12월까지 원광의대 부속병원에서 원발성 소세포폐암으로 진단받고나서, 2회 이상의 화학요법을 실시받은 후, 최소 2년 이상의 후향적 추적에 의해 사망이 확인된 42예를 대상으로 하였다.

SPF 분석방법은 paraffin에 보관된 병리조직을 처리하여, 유식세포분석법에 의한 DNA histogram으로 분석하였다.

결과:

- 1) 대상군의 평균 생존기간은 190(± 156)일이었고, TNM 병기, PS scale이 진행할 수록 생존기간은 유의하게 단축되었다.
- 2) 대상군의 평균 SPF는 27.4(± 8.5)%였으며, TNM 병기, PS scale의 진행에 따른 차이는 없었다.
- 3) 암세포의 SPF와 생존기간과의 관계는 발견되지 않았다.
- 4) 암세포의 SPF가 높을 수록 화학요법에 대한 반응의 정도는 양호하였다.

결론: 소세포폐암 환자에서 암세포의 SPF와 생존기간과는 관계가 없었고, 암세포의 SPF가 높을 수록, 화학요법에 대한 반응의 정도는 양호하였다. SPF는 항암화학요법 반응의 예측인자로서의 의의가 있다고 판단된다.

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, 김동웅, 이건화, 장근, 정은택: 원발성 폐암 환자에 있어서 종양세포의 DNA 배수성과 생존기간과의 관계. *대한내과학회잡지* 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 cell cycle 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* 11:1301, 1987
- 18) Geddes DM: The natural history of lung cancer. *Br J Dis Chest* 73:1, 1979
- 19) Ihde DC: Chemotherapy of lung cancer. *N Engl J Med* 327:1434, 1992
- 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) 정병학, 강정성, 장근, 정은택: 편평상피성 폐암에 있어서 S-Phase fraction과 생존기간과의 관계. *결핵 및 호흡기 질환* 40:669, 1993
- 22) Oleszewski W, Darzynkiewicz Z, Clays ML: Flow cytometry of lung carcinoma. *Anal Quant Cytol* 4:90, 1982
- 23) Carey FA, Lamb P, Bird CC: Intratumoral heterogeneity of DNA content in lung cancer. *Cancer* 65:2266, 1990
- 24) 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
- 25) 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
- 26) 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
- 27) 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
- 28) Ten Velde GPM, Schutte B, Bermeulen A, vo-

- lovics 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
- 29) 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
- 30) Johnson TS, Voldivieso M, Barlogie B, Jafferies D: Flow cytometric ploidy and proliferative activity in human small cell lung carcinoma. *Proc Am Assoc Cancer Res* **24**:124, 1992
- 31) Carey FA, Prasad US, Walker WS, Cameron EWJ: Prognostic significance of tumor DNA content in surgically resected small-cell carcinoma of lung. *Gene thora Sur* **103**:1214, 1992
- 32) Tannock IF, Hill RP: *The basic science of oncology*. 2nd p174~175. New York, McGraw-Hill, 1992
- 33) Tannock IF: Cell kinetics and chemotherapy. *Cancer Treat Rep* **62**:1117, 1978
- 34) Sewell RL, Lister TA, Johnson SAN, Crowther D: Prognostic value of thymidine-labelling index in adult acute leukemia. *Br J Cancer* **44**:55, 1981