

## 위암에서 핵산 함량 양상과 휴지기 세포 분획의 예후인자로서의 의의

연세대학교 의과대학 외과학교실

황수경 · 이준호 · 노성훈 · 이강영 · 최승호 · 민진식

- Abstract -

### Prognostic Significance of DNA Content and S-Phase Fraction in Gastric Carcinomas

Sukyung Hwang, M.D., Junho Lee, M.D., Sunghoon Noh, M.D.  
Kangyoung Lee, M.D., Seungcho Choi, M.D.  
and Jinsik Min, M.D.

Department of Surgery, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

**Purpose:** DNA flow cytometry is a simple and easy method to assess the DNA content and the cell-cycle distribution of a tumor cell. The prognostic significance of the DNA content and the S-phase fraction in a gastric carcinoma has been controversial. The purpose of this study was to evaluate the prognostic significance of the nuclear DNA content and the S-phase fraction in patients with a gastric carcinoma. **Methods:** Between May 1995 and March 1996, 94 patients who were underwent a gastric resection for a gastric carcinoma were evaluated with DNA flow cytometry. Of them, 88 patients underwent a gastric resection with curative intent. The relationship of variable clinicopathological factors and of recurrence pattern to survival and nuclear DNA content were assessed. **Results:** The mean age was 55 years. 55 patients (58.5%) exhibited diploidy and 39 patients (41.5%) aneuploidy. There was no relationship between the clinicopathological factors and either the ploidy pattern or the S-phase fraction. Though the recurrence and its pattern were not different between the two ploidy group ( $p=0.860, 0.137$ ), diploidy tended to recur locoregionally and aneuploidy hematogenously. **Conclusion:** The ploidy pattern was a significant prognostic factor in gastric carcinomas, but should be interpreted carefully.

---

**Key Words:** Gastric carcinoma, Prognosis, DNA flow cytometry

**중심 단어:** 위암, 예후, 유세포 분석기

---

책임저자 : 노성훈, 서울시 서대문구 신촌동 134번지, ☎ 120-752, 연세대학교 의과대학 외과학교실

Tel: 02-361-5540, Fax: 02-313-8289, E-mail: Sunghoonn@yumc.yonsei.ac.kr

접수일 : 2000년 10월 17일, 게재승인일 : 2000년 11월 14일

## 서 론

위암은 최근 조기진단이나 수술 술기의 발전 등으로 인해 생존율이 증가하는 추세이지만 아직 세계적으로 암 사망률 2위를 차지할 정도로 흔한 암 중의 하나이다. 위암의 예후를 효과적으로 예측하기 위한 많은 노력들이 있어 왔으나 위암의 생물학적인 공격성을 나타내는 지표로 확립된 인자는 아직 없다.

유세포 분석기는 전체 암 세포 내의 핵산 함량을 측정할 수 있는 비교적 정확하고 간편한 방법으로 알려져 있으며, 세포 분획을 동시에 분석할 수 있는 장점이 있다.<sup>(1)</sup> 단일 세포 부유액을 만들어야 하는 제약이 있으나, 최근 그 기술의 발달로 많은 고품암에서 유세포 분석기를 이용한 연구가 이루어졌다.

위암에서 이러한 유세포 분석기를 이용한 암세포의 핵산 함량이나 휴지기 세포 분획이 예후인자로서 갖는 의의에 관하여는 많은 연구가 있었으나 그 결과에 대하여는 아직 논란이 많은 실정이다.<sup>(2,3,5)</sup> 핵산 함량 이상이 예후인자로서 의의가 있으며,<sup>(3,4)</sup> 특히, 이수배수체(aneuploid)의 경우 그 예후가 불량하다는 보고가 많다.<sup>(2,5)</sup> 예후인자로서 의의가 있다는 보고의 경우, 이수배수체에서 암 침윤도가 진행되어 있으며 림프절 전이가 두배체(diploid)보다 상대적으로 많고, 혈행성 전이가 빈발함이 보고되었다.<sup>(4,6)</sup>

휴지기 세포 분획은 성장을 많이 하는 세포에서 높고 암종의 성장능과 관계가 있는 것으로 알려져 있으나 휴지기 세포 분획의 분석 결과에 대해서도 아직 논란의 여지가 많다.<sup>(2,3,5)</sup>

본 연구의 목적은 위암에서 암종의 핵산 함량 이상과 임상 병리학적 예후인자들, 재발 여부, 재발 양상, 그리고 생존율과의 관계를 분석함으로써 핵산 함량 이상이 예후인자로서 의의가 있는지 알아보고자 하였다.

## 방 법

1994년 5월부터 1996년 3월까지 전향적으로, 위 절제가 이루어진 위암 환자들 가운데 94명을 대상으로 유세포 분석기를 이용하여 핵산 함량과 세포 분획을 분석하였다. 모든 환자는 2군 영역 이상의 림

프절 절제를 하였고 암종의 위치와 육안형에 따라 위 절제 범위를 결정하였다. 이중 근치적 절제는 88명의 환자에서 이루어졌으며 이들 환자를 대상으로 생존율을 구하여 비교 분석하였다.

검체는 위암 절제를 시행한 즉시 종양의 변연 부위를 채취하여 신선 조직을 1 mm 두께로 얇게 자른 후 기계적인 방법으로 단일 세포 부유액을 만들었다. 표준 참고 물질로 사람의 말초 혈액 내 단핵구의 핵산을 사용하기 위해 건강한 성인으로부터 400 ml를 헌혈 받아 HISTOPAQUE-1077 (Sigma diagnostics, St. Louis, MO, USA)을 사용하여 분리하였다. 분리된 단핵구는 구연산 완충액에  $1 \times 10^{16}$ /ml로 세포 수를 맞추어 분주하였다. 참고물질(control)은 검사하기 전까지 영하 70°C에서 냉동 보관하였다.

핵산 함량 검사를 위한 유세포 분석기는 FACScan (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA., USA)을 사용하였고 핵산 분석 프로그램은 Cell-FIT™ (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA., USA)를 사용하였다. 종양 조직은 절제 후 바로 인산염 완충 식염수(phosphate buffered saline, pH 7.6)가 담긴 petrit dish에서 칼로 조직을 얇게 썰어 세포를 분리하였고 검체를 바로 처리할 수 없을 때에는 RPMI 1640 medium (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에 넣어 냉장 보관하였다가 처리하였다. 처리된 조직 검체는 100 m nylon mesh (Spectrum, Houston, Texas, USA)로 여과하여 얻은 세포 부유액에 인산염 완충 식염수를 넣고 1,800 rpm으로 원심 분리하여 상층액을 버린 후 세포 침전물을 다시 인산염 완충 식염수로 부유시켜 세척하였다. 이렇게 얻은 세포 침전물을 인산염 완충 식염수 1 ml을 다시 넣어 부유시킨 후 혈구계(hemocytometry)를 이용하여 세포 수를 계산하였다. 핵산 염색 방법은 Vindelov등<sup>(7)</sup>이 고안한 염색 용액 A (stock sol. 100 ml, trypsin 3 mg-Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), B (stock sol. 100 ml, trypsin inhibitor 50 mg, ribonuclease A 10 mg-Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)와 C (stock sol. 100 ml, propidium iodide 41.6 mg, spermine tetrahydrochloride 116 mg-Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였다. 핵산 염색은 세포 수를  $1 \times 10^{16}$ /ml로 맞춘 세포 부유액에 염색 용액 A 1.8 ml을 첨가하여 섞고 실온에서 10분간 방치 후, 용액 B 1.5 ml을 첨

가하여 잘 섞은 후 실온에서 10분간 반응시켰다. 다시 냉장 보관된 용액 C 1.5 ml를 첨가하고 propidium iodide의 빛 차단을 위해 시험관을 알루미늄 호일로 감싸 분석하기 전까지 냉장 보관하였다가 사람 단핵구를 가지고 영점조절을 한 후 유세포 분석기를 저유 속도로 맞추고 세포수가 20,000개가 될 때까지 작동시켜 핵산 히스토그램을 얻었다.

핵산 히스토그램에서 종양세포 조직의 G0/G1 peak의 변이계수가 8 이하인 것만 채택하였고 핵산지수는 종양 조직 세포주기의 G0/G1 peak channel 수를 정상 조직세포의 G0/G1 peak channel 수로 나누어 구하였고, 핵산 지수가 0.96에서 1.04까지를 두배체로, 나머지를 이수배수체로 간주하였다. 휴지기 세포분획은 분석된 종양조직세포의 세포주기를 구해 전체 종양세포에서 휴지기 종양세포가 차지하는 백분율을 구하였다. 휴지기 분획은 11.4 (중위수)를 기준으로 고분획 집단과 저분획 집단으로 구분하여 분석하였다.

각 임상 병리학적 예후인자들과 배수성, 휴지기 분획군과의 관계는 student t나 x square 방법으로 분석하였고 생존율은 Kaplan-Meyer로 구하여 log rank 방법으로 비교 분석하였으며 생존율에 미치는 영향은 Cox regression hazard model을 이용하여 분석하였다. 모든 자료의 통계적 처리는 SPSS for Windows를 이용하였고 p값이 0.05 이하인 경우 통계학적으로 의미가 있는 것으로 간주하였다.

## 결 과

환자들의 평균연령은 55.6 (±S.D. 11.3)세였고 남자가 55명(58.5%), 여자가 39명(41.5%)이었다. 총 94명의 환자 중 두배체가 55명(58.5%), 이수배수체는 39명(41.5%)이었다. 두배체의 경우, 육안적으로 Borrmann I, II형이(30.9% : 17.9%,  $p=0.341$ ), 조직학적으로는 미분화 암이 이수배수체에 비해 상대적으로 많았으나(70.9% : 56.4%,  $p=0.113$ ) 통계학적인 유의성은 없었다. 위암의 예후인자로 알려져 있는 암종의 크기, 장막 침윤 유무, 림프절 전이 유무 등의 여러 임상 병리학적 인자들은 핵산 함량 양상과 아무런 연관성을 보이지 않았다. 또한 재발 여부와도 상관관계를 보이지 않았다(Table 1). 그러나 재발 양상에 있어서, 두배체의 경우에는 국소 또는 복막 재발이

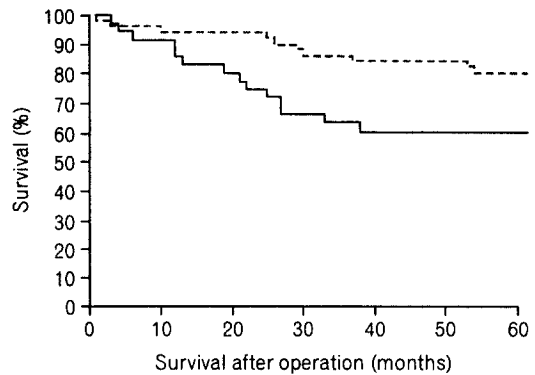


Fig. 1. There was a significant survival difference between diploid and aneuploid ( $p=0.0443$ ). — (bold line) was a 5 year survival curve of aneuploid group and ---- was a 5 year survival curve of diploid group. The 5 year survival rate of the diploid was 78.1% and aneuploid was 57.5%.

8명(14.5%), 혈행성 재발이 4명(7.7%)에서 있었으며 이수배수체의 경우, 국소 또는 복막 재발이 3명(7.3%), 혈행성 재발이 5명(12.8%)으로 배수성에 따라 재발 양상이 다른 경향을 보였으나 통계학적인 의미는 없었다( $p=0.137$ ).

근치적 절제가 이루어진 88명의 환자들을 대상으로 생존율을 분석하였을 때 배수성에 따른 생존율은 두배체의 경우 5년 생존율이 78.1%, 이수배수체의 경우 57.5%로 두 군간에 유의한 차이를 보였고( $p=0.0443$ )(Fig. 1), 다변량 분석 결과, 배수성은 림프절 전이와 침윤도 다음으로 생존율에 영향을 미치는 인자였으며 통계학적으로 의미가 있었다( $p=0.0418$ )(Table 2).

휴지기 세포 분획은 두배수체가 평균 11.2% (S.D. 8.2%), 이수배수체가 평균 29.5% (S.D. 24.8%)로 배수성에 따라 유의한 차이가 있었으나( $p<0.0001$ ), 여러 임상 병리학적 예후인자들과 상관 관계를 보이지 않았고 생존율에도 영향을 미치지 않았다(Table 1).

## 고 찰

본 연구에서 유세포 분석기를 이용한 핵산 함량 분석의 결과, 배수성의 차이는 기존의 예후인자와 연관성이 적으나 예후에 영향을 주는 독립적인 인자로 확인되었다.

유세포 분석기(flow cytometry)는 세포들이 액상으

Table 1. Relationship between clinicopathological factors and ploidy, S phase fraction

Variables	Diploid (n=55)	Aneuploid (n=39)	p value	Low fraction (n=47)	High fraction (n=47)	p value
Sex			0.728			0.530
Female	22 (40.0)	17 (43.6)		21 (44.7)	18 (38.3)	
Male	33 (60.0)	22 (56.4)		26 (55.3)	29 (61.7)	
Age (years)			0.484			0.302
< 60	28 (50.9)	17 (43.6)		25 (53.2)	20 (42.6)	
≥ 60	27 (49.1)	22 (56.4)		22 (46.8)	27 (57.4)	
Size (cm)			0.885			0.458
< 4	40 (72.7)	29 (74.4)		36 (76.6)	33 (70.2)	
≥ 4	15 (27.3)	10 (25.6)		11 (23.4)	14 (29.8)	
Location			0.766			0.375
Lower, mid 1/3	48 (87.3)	33 (84.6)		40 (85.1)	41 (87.2)	
Upper 1/3, whole	7 (12.7)	6 (15.4)		7 (14.9)	4 (8.5)	
Borrmann type			0.341			0.704
I, II	17 (30.9)	7 (17.9)		13 (27.6)	11 (23.4)	
III, IV	38 (69.1)	32 (82.1)		34 (72.3)	36 (76.6)	
Differentiation			0.113			0.718
Differentiated	16 (29.1)	17 (43.6)		16 (34.0)	17 (36.2)	
Undifferentiated	39 (70.9)	22 (56.4)		31 (66.0)	30 (63.8)	
Serosa invasion			0.978			0.671
None	34 (61.8)	24 (61.5)		30 (63.8)	28 (59.6)	
Being	21 (38.2)	15 (38.5)		17 (36.2)	19 (40.4)	
LN metastasis			0.440			0.834
None	34 (61.8)	21 (53.8)		28 (59.6)	27 (57.4)	
Being	21 (38.2)	18 (46.2)		19 (40.4)	20 (42.6)	
Type of resection			0.361			0.583
Subtotal	44 (80.0)	34 (87.2)		38 (80.9)	40 (85.1)	
Total	11 (20.0)	5 (12.8)		9 (19.1)	7 (14.9)	
Stage			0.361			0.052
1, 2	40 (72.7)	24 (61.5)		34 (72.3)	30 (63.8)	
3, 4	15 (27.3)	15 (38.5)		13 (27.7)	17 (36.2)	
Recurrence			0.860			0.815
Recurred	15 (27.3)	10 (25.6)		12 (25.5)	13 (27.7)	
Not recurred	40 (72.7)	29 (74.4)		35 (74.5)	34 (72.3)	
Pattern of recurrence			0.137			0.981
Local or peritoneal	8 (14.5)	3 (7.7)		7 (14.9)	4 (8.5)	
Hematogenous	4 (7.3)	5 (12.8)		5 (10.6)	4 (8.5)	
Unknown	3 (5.2)	2 (5.1)		0 (0)	5 (10.7)	

로 빛을 통과할 때 반사되는 형광 정도를 측정하여 암종의 핵산 함량이나 증식능을 측정할 수 있는 비교적 쉽고 간편한 방법으로 알려져 있다.(7) 따라서 많은 고형성 암종의 경우, 이 방법을 이용한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 그러나 위암의 경우 생존율

과 핵산 함량 양상이나 휴지기 세포 분획의 관계에 대하여는 아직 논란이 많은 실정이다.(2,3)

위암에서 이수배수체가 차지하는 비율은 다양하게 보고되어, 적게는 34%부터 많게는 89%까지 보고되고 있으며,(4,6,9,10) 본 연구의 경우 41.5%였다. 이렇

Table 2. Multivariate analysis of prognostic factors

Variables	$\beta^*$	S.E. <sup>†</sup>	95% C.I. <sup>†</sup>	p value
Age (<60 years vs $\geq 60$ )	1.1753	0.8833	0.2081 ~ 6.6382	0.8549
Borrman type (I, II vs III, IV)	4.8214	0.9325	0.7753 ~ 29.9830	0.0916
Differentiation (Diff vs Undiff)	2.5255	0.8257	0.5006 ~ 12.7408	0.2619
Ploid (Diploid vs Aneuploid)	3.6155	0.6313	1.0490 ~ 12.4604	0.0418
Depth of invasion (T1 vs T2)	5.2101	0.8414	1.0015 ~ 27.1039	0.0181
Lymph node involvement (N0 vs N1)	1.8747	0.7337	0.4450 ~ 7.8975	0.0004

\*  $\beta$  = relative risk; <sup>†</sup>S.E. = standard error; <sup>†</sup>C.I. = confidence interval.

계 배수성의 차이가 다양하게 보고되는 이유는 서로 다른 고정 방법, 결과에 대한 해석 방법의 차이, 그리고 암종 내에서 조직을 채취한 부위에 따른 핵산 함량의 차이 등이 그 원인으로 제기되고 있다.(11-13) 결국 다양한 배수성의 차이로 인해 객관적인 비교가 어려운 실정이다.

Borrman I, II형에서 혈행성 간전이 상대적으로 빈번한 것으로 보고되고 있으나 본 연구에서는 Borrman I, II형이 두배체에서 30.9%로 이수배수체의 17.9%에 비해 상대적으로 많은 반면 혈행성 전이가 7.3%로 이수배수체의 12.8%에 비해 적었다. 이는 통계학적으로 의의가 없었으나 기존에 알려져 있던 결과와 다소 다른 경향을 보여 좀 더 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Sasaki등은 동일한 암종 내 핵산 함량차이가 40%에 이르는 것으로 보고하였으며 Umehara등은 진행암인 경우, 표층에서 채취한 검체는 그 결과를 신뢰할 수 있으나 심층의 경우 46%의 이질성을 보고하여 그 결과 해석에 신중을 기해야 한다고 주장하였다.(11,14) 이와 같은 이질성은 중앙세포 첫 세대의 clone에서 병의 진행과정 중에 중앙세포의 불안정성으로 인해 두 번째 세대의 clone이 생기고 이 새로운 clone이 하나의 세포계를 이루기 때문이라는 가설이 제기되었으나 이러한 기전에 관해서는 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.(7)

신선 조직과 세포 부유액을 동결한 후 검체로 이용한 경우, 그 결과는 비슷한 것으로 알려져 있으나 파라핀 포매 조직과 같은 다른 종류의 검체는 핵산 함량 분석의 결과에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.(15) 또한 고형성 암종을 단일 세포 부유액으로 만드는 과정 중에 생길 수 있는 오차 등도 결과에

영향을 미칠 수 있다. 본 연구에서는 평균 변이 계수를 8%로 설정하였는데 변이계수의 설정 또한 각 검사실마다 다르기 때문에 상이한 결과의 한 원인이 된다. 이와 같은 여러 가지 이유로 인해 최근에 많은 저자들은 핵산 함량 양상이 단지 조기 위암에서 이수배수체가 나쁜 예후인자로서 의미가 있다고 보고하기도 한다.

Nanus등의 보고에 의하면 두배체의 경우 여성이 차지하는 비율이 많았으나 성의 차이가 예후에 미치는 영향은 미미한 것으로 알려져 있다.(16) 본 연구의 경우 배수성에 따른 성 비의 차이는 관찰할 수 없었으며 이는 다른 여러 보고와 일치한다.

Hattori등은 이수배수체가 미분화 암에서 더 흔한 것으로 보고하였으며 이는 미분화 암이 다양한 clone에서 시작된 암으로 이러한 세포들의 다양성이 구조적인 변화를 초래하는 것으로 설명하였다.(9) 본 연구에서는 배수성에 관계 없이 미분화암이 상대적으로 많았으나 두배체의 경우 미분화암이 차지하는 비율이 더 많았다. 이는 Korenaga등의 보고와 일치하며 (3) 두배체의 경우, 인환세포 암종 등이 많은 것이 한 원인으로 생각된다. 즉, 인환세포 암종과 같이 분화도는 낮지만 세포의 증식능이 감소한 암종의 경우가 두배체에서 많았다. 이는 이수배수체가 단지 증가된 세포 증식능을 반영하는 것이지 생물학적 공격성이 증가했다는 의미는 아니라고 해석할 수 있다.

Yonemura등은 이수배수체에서 상대적으로 림프절 전이가 많은 것으로 보고하였으며 Noguchi등은 혈행성 전이가 많은 보고하였다. 하지만 저자들은 이러한 관계를 찾을 수 없었다.(4,6)

휴지기 세포 분획은 배수성보다 더 큰 편차를 보일 수 있어 휴지기 세포 분획의 의의를 감소시키는

한 원인으로 생각된다. 이는 핵산 히스토그램에서 휴지기 영역을 정의하는 데 있어 각 세포주기가 서로 중복되기 때문에 정확한 영역을 구분하기 어렵기 때문이다.(17) 이와 같은 편차를 줄이고자 Ki-67, Mib-1 등과 같은 항체를 이용한 면역 조직 화학 염색법을 시행하여 휴지기 세포 분획을 좀 더 객관적으로 측정하려는 시도들이 이루어지고 있으며, 휴지기 세포 분획과 Ki-67 등에 염색되는 비율간에 상관관계가 있으며 림프절 전이 등의 예후인자들과도 상관 관계를 보이는 것으로 보고되고 있으나 이러한 시도들의 최종적인 결론은 더 지켜봐야 할 것으로 생각된다.(18,19)

이수배수체가 시간이 흐름에 따라 암종의 진행에 따른 결과로 나타난 현상인지, 좋지 않은 예후를 나타내는 원인인지에 대해서는 논란이 많다. 최근 췌장암 대장암 환자에서 이수배수체가 빈번하게 관찰된다는 보고가 있으며(20) 이러한 결과는 전자의 가능성을 좀 더 시사하나 이에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 결 론

유세포 분석기를 이용한 위암의 핵산 함량 양상은 환자의 예후와 상관관계를 가지나 휴지기 세포 분획은 유의한 상관 관계를 보이지 않았다. 이러한 배수성의 차이는 기존의 임상 병리학적 예후와 상관 관계를 갖지 않는 독립적인 예후인자로서 의미가 있으나 그 해석에 신중을 기해야 한다.

## REFERENCES

- 1) Lovett EJ, Schnitzer B, Lerum OD. Application of flow cytometry to diagnostic pathology. *Lab Invest* 1984;50:115-140.
- 2) Ballantyne KC, James PD, Robins RA, Baldwin RW, Hardcastle JD. Flow cytometric analysis of the DNA content of gastric cancer. *Br J Cancer* 1987;56:52-54.
- 3) Korenaga D, Haraguchi M, Okamura T, Baba H, Saito A, Sugimachi K. DNA ploidy and tumor invasion in human gastric cancer. *Arch Surg* 1989;124:314-318.
- 4) Kimura H, Yonemura Y. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in advanced gastric cancer and its relationship with prognosis. *Cancer* 1991;67:2588-2593.
- 5) Macrtney JC, Camplejohn RS, Powell G. DNA flow cytometry of histological material from human gastric cancer. *J Pathol* 1986;148:273-277.
- 6) Noguchi Y, Tsuburaya A, Makino T, Fukuzawa K, Nomura K, Yoshikawa T, et al. Predictive value of c-erbB-2 and DNA ploidy patterns in gastric carcinoma recurrence. *Int Surg* 1993;78:107-111.
- 7) Vindelov LL, Christensen IJ, Nissen NI. A detergent trypsin method for the preparation of nuclei for flow cytometric DNA analysis. *Cytometry* 1983;3:323-327.
- 8) Yonemura Y, Luis F, Tsugawa K, Ninomiya I, Matsumoto H, Sugiyama K, et al. Prediction of lymph node metastasis and prognosis from the assay of the expression of proliferating cell nuclear antigen and DNA ploidy in gastric cancer. *Oncology* 1994;51:251-257.
- 9) Hattori T, Hosokawa Y, Fukuda M, Sugihara H, Hamada S, Takamatsu T, et al. Analysis of DNA patterns of gastric carcinomas of Japanese. *Cancer* 1984;54:1591-1597.
- 10) Yonemura Y, Ooyama S, Sugiyama K, Kamata T, Aretxabala X, Kimura H, et al. Retrospective analysis of the prognostic significance of DNA ploidy patterns and S-phase fraction in gastric carcinoma. *Cancer Research* 1990;50:509-514.
- 11) Sasaki K, Hashimoto T, Kawachino K, Takahashi M. Intratumoral regional differences in DNA ploidy of gastrointestinal carcinomas. *Cancer* 1988;62:2569-2575.
- 12) Wheless LL, Coon JS, Cox C. Precision of DNA flow cytometry in inter-institutional analyses. *Cytometry* 1990;12:405-512.
- 13) Joensun H, Kallionieumi OP. Different opinions on classification of DNA histograms produced from paraffin-embedded tissue. *Cytometry* 1989;10:711-717.
- 14) Umehara Y, Kimura T, Yoshida M, Oba N, Harada Y. Heterogeneity in early and advanced gastric carcinomas by flow cytometric DNA analysis. *J Surg Oncology* 1993;52:97-100.
- 15) Alanen KA, Klemi PJ, Joensuu H, Kujari H, Pekkala E. Comparison of fresh, ethanol preserved, and paraffin embedded samples in DNA flow cytometry. *Cytometry* 1989;10:81-85.
- 16) Nanus DM, Kelsen DP, Niewiecki D. Flow cytometry as a predictive indicator in patients with operable gastric cancer. *J Clin Oncol* 1989;7:1105-1112.
- 17) Rew DA. Significance of aneuploidy. *Br J Surg* 1994; 81:1416-1422.
- 18) Yonemura Y, Ooyama S, Sugiyama K, Ninomiya I,

- Kamata K, Yamaguchi A, et al. Growth fractions in gastric carcinoma determined with monoclonal antibody Ki-67. *Cancer* 1990;65:1130-1134.
- 19) Schipper DL, Wagenmans MJM, Peters WHM, Wagener DJT. Significance of cell proliferation measurements in gastric cancer. *Eur J Cancer* 1998;34:781-790.
- 20) Lindberg JO, Stenling RB, Rutegard JN. DNA aneuploidy as a marker of premalignancy in surveillance of patients with ulcerative colitis. *Br J Surg* 1998; 86:947-950.
-