

# 비소세포성 폐암의 예후인자로서 Flow Cytometric Nuclear DNA Content와 S-phase Fraction의 의의

연세대학교 의과대학 내과학교실, 흉부외과학교실\*

강석민 · 김주항 · 김성규 · 이원영 · 정경영\*

아주대학교 의과대학 내과학교실

이 이 형

## 서 론

최근에 종양의 조기발견 및 근치적 절제술등의 적절한 치료로 위암의 장기생존율은 크게 향상되고 있으나<sup>1)</sup>, 폐암환자의 5년 생존율은 1974년과 1987년 각각 12%, 13%에 불과한 실정으로 20여년 전의 치료성적에 비하여 거의 진전이 없는 실정이다<sup>2)</sup>.

현재까지 비소세포성 폐암의 최선의 치료방법은 조기발견과 근치적 절제술이며, 최근에는 원발병소와 주위림프절 및 인접 침윤 장기를 광범위하게 절제하는 수술방법의 발달로 국소진행된 폐암환자에서도 근치적 절제술을 시행하는 추세이지만, 이들의 상당수가 수술 후 재발되어 수술 후 방사선치료등의 보조요법을 시행하여도 5년 생존율은 약 30%에 불과하다. 폐암환자에 있어서 병리학적 병기가 동일하여도 환자에 따라 수술 후의 생존율에는 큰 차이가 있는데, 이것은 현재 폐암 환자에서 이용되고 있는 병리학적 병기, 세포형 및 조직학적 분화도만으로는 다양한 폐암환자의 예후를 정확히 예측하기에는 부족하므로 보다 더 정확하게 예후를 예측할 수 있는 추가적인 새로운 예후인자를 규명해야 할 필요성이 절실히 요구된다. 즉 동일한 병기일 지라도 수술 후 재발하는 환자와 재발하지 않고 장기 생존하는 환자사이에는 어떤 중요한 예후인자가 존재할 것이므로, 이들 인자를 파악하여 이러한 환자들의 수술 후 예후를 미리 예측하는 것이 중요하다.

최근 분자생물학의 눈부신 발전으로 종양세포의 분자 생물학적 특성을 연구하여 암의 발생과정에 대한 이해에 상당한 진전이 이루어 졌으며, 암의 조기진단과 치료 및 예후결정에도 많은 공헌을 하고 있다. 종양세포는 비정상적인 세포성장이 특징적이며, 그 특성 중의 하나로 종양세포내의 DNA 변화를 들 수 있는데, 즉 정상세포의 DNA가 배수성(diploidy)인데 비하여 종양세포는 DNA가 비배수성(aneuploidy)일 수 있다. 또한 종양세포는 특유의 왕성한 세포분열이 있으므로, 세포분열주기 중 세포분열 증식의 실질적 과정인 S-phase 분획(S-phase fraction, 이하 SPF으로 약함)의 증가가 있다. 따라서 이러한 종양세포의 분자생물학적 특성의 분석결과에 의해 종양의 예후추정이나 치료계획 설정에 관계지으려는 노력이 시도되고 있다. 일부 보고에서는 비소세포성 폐암세포의 DNA 함량 또는 SPF이 환자의 예후와 통계학적으로 유의한 상관관계가 있고<sup>3-6)</sup>, 백혈병 및 다발성 골수종에서는 DNA 함량과 SPF을 동시에 측정하면 더 정확한 예후를 예측할 수 있다고 보고되고 있다. 반면에 어떤 연구에서는 DNA 함량과 SPF이 소세포성 폐암의 예후인자로서는 유용하지 못하다고 보고하고 있어<sup>7)</sup>, 예후인자로서의 유용성 여부는 아직은 논란의 여지가 많다.

이에 저자들은 유식세포 분석기(flow cytometry)를 이용하여 종양세포의 DNA 함량 및 SPF을 분석하여 비소세포성 폐암환자의 수술 후 예후를 예측할 수 있는 예후인자로서의 유용성 여부를 알아보고 또한 기존의 예후인자와 예측도를 비교하고자 본 연구를 계획하였다.

접 수 : 1996년 3월 6일

통 과 : 1996년 5월 28일

\* 본연구는 연세대학교 학술연구비(1993년)의 지원으로 이루어졌음.

## 대상 및 방법

### 1. 대상 환자 및 선정 기준

본 연구는 1987년 1월부터 1992년 10월까지 연세 의대 세브란스 병원 및 연세 암센터에서 근치적 절제술을 시행받은 환자 중 보조 항암요법 및 방사선 치료를 시행받고 1995년 6월말까지 추적관찰이 가능하였던 병기 I, II, IIIa의 비소세포성 폐암환자의 원발 병소의 파라핀 포매 종양조직을 대상으로 하였다. 폐암의 병리학적 병기는 New international staging system for lung cancer에 의해 분류하였다<sup>8)</sup>. 수술 후 2개월 이내에 사망하거나 폐암외에 다른 질환으로 사망한 경우는 대상에서 제외하였다. 폐암의 조직 세포형 분류는 World Health Organization(WHO) 기준에 의해 정하였다<sup>9)</sup>.

### 2. 방법

#### 1) DNA 함량 측정을 위한 처리과정

파라핀에 포매된 종양조직을 50um 두께로 절편을 만든 후 절편을 xylene으로 탈 파라핀하고 알코올로 함수시킨다. 가수화과정을 거친 조직은 pH 1.5, 0.5% pepsin 1ml로 37°C에서 약 30분간 흔들여 pepsin 소화를 시킨다. 수화과정을 거친 조직은 0.9% 식염수에 세번 가랑 씻어낸 후 600gm으로 5분간 원심분리 한다. 마지막으로 침전된 조직 덩어리를 10% fetal bovine serum이 포함된 MEM 용액에 부유시킨다. 다음단계로는 세포용해와 DNA 염색을 0.1% sodium citrate, 0.3% NP-40, 0.05mg/ml propidium iodide, 0.02mg/ml RNAase가 포함된 변형 Krishan hypotonic sodium citrate staining buffer에 처리한다. 약 10초간 흔든 후 얼음에 30분 이상 놓아둔다. 이후 원심처리하고 핵을 다시 염색 buffer에 재부유한 다음, 27-gauge needle로 통과시켜 덩어리를 부수어 낸다. 마지막으로 37µm nylon mesh에 통과시킨 후, 유식세포 분석 준비를 한다.

#### 2) 유식세포 분석법

Propidium iodide 염색처리된 핵을 FACScan (Fluorescent Activated Cell Sorter, Becton Dickinson Immunocytometry System, Sunnyvale, CA, USA)으로 분석하였고, 이때 DNA 함량은 종양 내에

포함된 백혈구를 기준으로 삼았다. 컴퓨터 분석 프로그램을 통해 히스토그램(histogram)을 도식하고 이를 해석하였으며, 상관계수(coefficient of variation)가 8 이하인 경우만 채택하였다.

### 3. 통계 처리

통계처리는 SPSS를 이용하여 unpaired T-test 및  $\chi^2$ -test를 사용하였고, 통계적 유의성은 p-value 0.05 미만으로 하였다. 환자의 수술 후부터 사망일까지의 생존기간은 병력에 기록된 주소를 이용하여 동, 면사무소, 거주지에 우편 및 전화를 통해 파악하였으며 생존분석에 관한 표준적 절차인 카플란-마이어(Kaplan-Meier)방법을 사용하여 생존곡선을 구하였고, 통계적 분석은 Log-Rank test를 이용하였다. 또한 각스 회귀 모형(Cox regression model)을 사용하여 생존기간과 본 연구에서 사용한 여러가지 예후인자들과의 관계를 비교 분석하였다.

## 결 과

### 1. 대상 환자의 특성

대상환자는 남자 62예, 여자가 19예였으며, 연령 분포는 25세에서 79세까지로서, 평균연령은 57세였다. 조직 세포형은 각각 선암 26예(32.1%), 편평상피암 46예(56.8%), 선편평상피암 6예(7.4%), 미분화암 1예(1.2%), 대세포암 2예(2.5%)이었고, 병리학적 병기는 각각 병기 I 15예(18.5%), 병기 II 20예(24.7%), 병기 IIIa 46예(56.8%)이었다(Table 1).

### 2. 대상환자군의 DNA 함량

대상환자 81예중 59예에서 DNA 함량을 측정하였는데, 비배수성이 45예, 배수성이 14예로 비배수성이 76.3%를 차지하였다. 비배수성의 비율은 선암(78.9%)과 편평상피암(78.8%)사이에서 서로 차이가 없었다. 병기별로는 비배수성이 병기 I 11예(91.6%), 병기 II 10예(71.4%), 병기 IIIa 24예(72.7%)였다(Table 2). 즉 병기진행에 따른 비배수성의 비율에는 차이가 없었다( $p>0.05$ ).

### 3. 대상환자군의 S-phase 분획(SPF)

대상환자의 81예중 36예에서 세포 분열주기 중

**Table 1. Characteristics of Patients**

	No.
Enrolled patient	81
Sex(M:F)	62:19
Mean Age at Diagnosis(yr)	57±10(Mean±S.D)
Cell Type	
Adenocarcinoma	26
Squamous cell ca.	46
Adenosquamous cell ca.	6
Undifferentiated ca.	1
Large cell ca.	2
Stage	
I	15
II	20
IIIa	46
Therapeutic Modality	
Surgery	27
Surgery and Chemotherapy	54

**Table 2. Comparison of DNA Content according to Cell Type and Stage**

	No.	DNA content	
		Aneuploidy (%)	Diploidy (%)
Cell Type			
Adenocarcinoma	19	15( 78.9)	4( 21.1)
Squamous cell ca.	33	26( 78.8)	7( 21.2)
Adenosquamous cell ca.	5	3( 60.0)	2( 40.0)
Undifferentiated ca.	1	1(100.0)	0( 0.0)
Large cell ca.	1	0( 0.0)	1(100.0)
Stage			
I	12	11( 91.6)	1( 8.4)
II	14	10( 71.4)	4( 28.6)
IIIa	33	24( 72.7)	9( 27.3)

SPF이 차지하는 비율을 측정하였는데, 평균 SPF은 19.24(±12.61)%였고, 각 병기별로는 병기 I, II, IIIa가 각각 19.30%, 24.99%, 17.40%였다. 즉 병기의 진행에 따른 SPF의 증가는 관찰되지 않았다. 비배수성과 배수성에서의 평균 SPF은 각각 21.43%, 8.35%로서 비배수성을 보이는 경우가 SPF이 높았다(p<0.05). 또한 SPF 10%를 기준으로 하여 저(low)SPF군과 고(high)SPF군으로 정하였을때, 고 SPF군의 비율은 대상군의 75%였다. 조직 세포형에 따라 고 SPF군은

**Table 3. Comparison of S-phase Fraction according to Cell Type and Stage**

	Low SPF (%)	High SPF (%)
Cell Type		
Adenocarcinoma	5(38.5)	8( 61.5)
Squamous cell ca.	3(15.8)	16( 84.2)
Adenosquamous cell ca.	1(33.3)	2( 66.7)
Undifferentiated ca.	0(0.0)	0( 0.0)
Large cell ca.	0(0.0)	1(100.0)
Stage		
I	3(42.9)	4( 57.1)
II	2(28.6)	5( 71.4)
IIIa	4(18.2)	18( 81.8)

**Table 4. Comparison of Median Survival Time according to Stage, DNA Content and S-phase Fraction**

	Median Survival Time(Months)	
	Low SPF	High SPF
Sgase		
I	U.D	13.0
II	24.0	U.D
IIIa	27.0	8.0
DNA content		
Aneuploidy	58.0	11.5
Diploidy	24.0	3.0

U.D: Undetermined

각각 선암(61.5%), 편평상피암(84.2%), 선편평상피암(66.7%), 미분화암(0.0%), 대세포암(100%)였으며, 병기별로는 병기 I, II, IIIa에서 각각 57.1%, 71.4%, 81.8%로 병기가 진행할수록 고 SPF이 차지하는 비율이 높아짐을 관찰 할수 있었으나, 각 병기간에 의의 있는 통계학적 차이는 없었다(Table 3, p>0.05).

#### 4. 대상환자군의 중앙생존기간 비교

중앙생존기간은 전체 대상환자에서 26개월이었으며, 조직 세포형별로는 각각 선암(17개월), 편평상피암(27개월), 선편평상피암(21개월), 미분화암(0개월), 대세포암(3개월)으로 조직 세포형에 따른 중앙생존기간에는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. 병기별로는 병기 I(35개월), 병기 II(27개월), 병기 IIIa(15개월)로 병기 IIIa가 병기 I 및 병기 II보다는 중앙생존기간이

통계학적으로 유의하게 짧았다( $p < 0.05$ ). 그리고 DNA 함량에 따른 중앙생존기간은 비배수성군이 19개월, 배수성군에서는 34개월로서 유의한 차이를 나타내지 못

했다(Fig. 1,  $p > 0.05$ ). 그러나 저 SPF군과 고 SPF군에 따른 중앙생존기간을 비교했을때 각각 32개월, 12개월로서 통계학적으로 유의한 차이를 나타냈다(Fig. 2,  $p < 0.05$ ). 병기 I 및 병기 II에서 저 SPF군과 고 SPF군간에는 통계학적으로 유의한 차이가 없었으나 ( $p > 0.05$ ,  $p > 0.05$ ), 병기 IIIa에서는 두 군간에 유의한 차이를 나타냈다( $p < 0.05$ ). 또한 비배수성군과 배수성군에서 각각 고 SPF군이 저 SPF군보다 통계학적으로 유의하게 중앙생존기간이 짧았다(Table 4,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ).

**Table 5. Comparison of Disease free Median Survival Time according to Stage, DNA Content and S-phase Fraction**

	Disease free median survival time(month)	
	Low SPF	High SPF
Sstage		
I	U.D	8.0
II	2.0	U.D
IIIa	17.0	3.5
DNA content		
Aneuploidy	58.0	5.0
Diploidy	13.0	3.0

### 5. 대상환자군의 무병중앙생존기간 비교

무병중앙생존기간은 각각 비배수성군에서 12개월, 배수성군에서는 34개월로서 의의있는 차이를 나타내지 못했고(Fig. 3,  $p > 0.05$ ), 저 SPF군과 고 SPF군에서는 무병중앙생존기간이 각각 5개월, 19개월로 유의

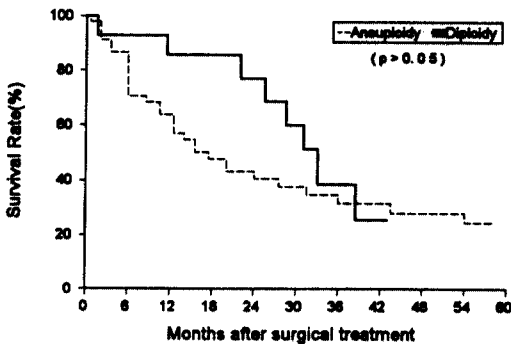


Fig. 1. Overall survival curve according to DNA contents.

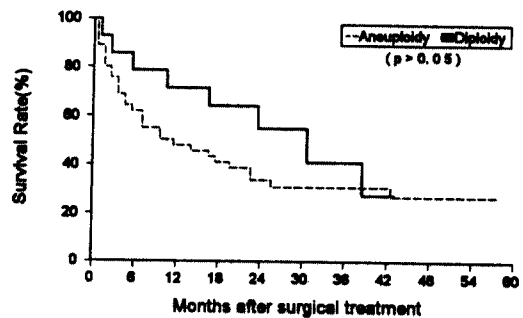


Fig. 3. Disease free survival curve according to DNA contents.

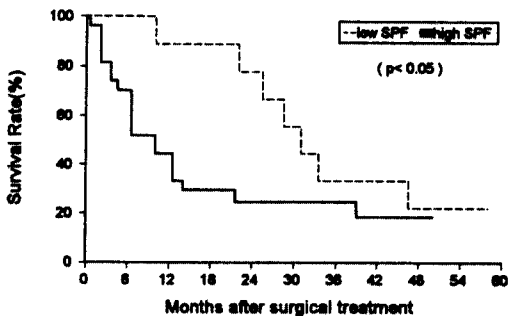


Fig. 2. Overall survival curve according to SPF.

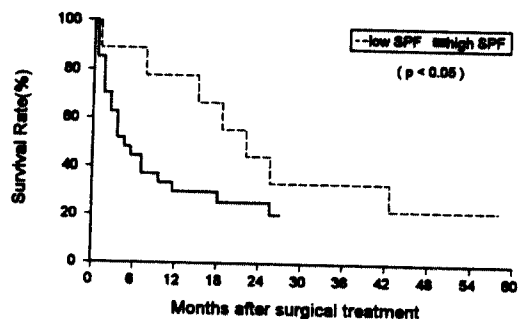


Fig. 4. Disease free survival curve according to SPF.

한 통계학적 차이를 나타냈다(Fig. 4,  $p < 0.05$ ). 또 병기 IIIa에서만 저 SPF군과 고 SPF군간에 유의한 차이를 나타냈고( $p < 0.01$ ), 병기 I 및 병기 II에서는 유의한 차이를 나타내지 못했다( $p > 0.05$ ). 비배수성에서는 저 SPF군과 고 SPF군간에 유의한 차이가 없었고, 배수성에서는 유의한 차이가 있었다(Table 5,  $p < 0.05$ ).

## 6. 다변이 생존분석

연령, 성별, DNA 함량, SPF, 병리학적 병기, 조직 세포형, 수술후 항암치료 및 방사선 치료유무등의 변수들을 포함한 카스 회귀 모형(Cox regression model)을 사용한 다변이 생존분석 결과, 병기 및 SPF 10%를 기준으로 한 고 SPF이 중앙생존기간 및 무병중앙생존기간에 있어 유의한 예후인자였다( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ;  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ). 또한 선암에 있어서는 병기 및 SPF이 각각 중앙생존기간 및 무병중앙생존기간에서 유의한 예후인자였고( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ;  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ), 편평상피암에서는 병기가 유의한 예후인자였다( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ).

## 고 찰

폐암환자에서 근치적 절제술 후의 예후인자로 현재 병리학적 병기인 TNM 병기가 유용하게 쓰이고 있다. 그러나 동일한 병기, 조직 세포형 및 분화도를 가진 폐암환자에서도 그 치료성적이 다양하므로 새로운 예후인자의 규명에 관심을 갖게 되었고, 최근에는 분자생물학의 발전에 힘입어 암세포의 DNA 함량변화와 증식정도가 악성종양의 전이능력, 재발 및 생존율과 밀접한 관련이 있을 것으로 생각되어 이에 대한 연구가 활발히 진행 중이다.

여러 종류의 악성종양에 있어 암세포의 DNA 함량 및 증식정도가 예후와 밀접한 관련이 있다고 보고되고 있다<sup>5, 10</sup>. 세포의 증식능력을 파악하는 방법은 mitotic count 측정, tritiated thymidine autoradiography, 유식세포 분석법을 이용한 DNA 측정 등이 이용되고 있는데, 최근에 유식세포 분석법의 발달로 악성종양의 조직절편을 이용하여 비교적 손쉽게 DNA 함량 및 SPF를 측정함으로써 다른 예후인자와 함께 악성종양의 예후를 예측하는데 도움이 된다고 보고되고 있다<sup>3</sup>.

<sup>5, 10</sup>. 유식세포 분석법에 의한 DNA 함량측정은 DNA에 정량적으로 결합할 수 있는 형광물질을 결합시켜 laser로 DNA 함량을 정량화해서 DNA histogram을 얻을 수 있으며<sup>11</sup>, 기존의 여러 방법이 신선 동결조직을 이용해야 했던 것에 비해 파라핀에 포매된 조직을 이용할 수 있어 임상적으로 후향적 추적이 가능하다. 여러 악성종양에서 암세포의 DNA 함량의 이상 즉 비배수성의 비율이 높을수록 종양의 진행이 빠르고, 병기가 진행되어 있고, 종양의 크기가 크다고 보고되고 있다<sup>5, 12, 13</sup>. 대장암 및 유방암에서는 비배수성이 암재발과 사망을 예측하는 중요한 예후인자로 보고되고 있으며<sup>14</sup>, 폐암에서는 비소세포성 폐암의 45-85%에서 비배수성이 보고되는데<sup>3, 5, 10</sup>, 이러한 차이는 보고자에 따라 분석한 조직의 차이(surgical or non-surgical), 병기(early or advanced) 및 조직 세포형의 차이 또는 동일한 환자의 조직일지라도 채취한 부위의 차이등에 기인한 것으로 생각된다. 폐암의 조직 세포형에 따라서는 선암이 편평상피암에 비해 비배수성의 비율이 높다고 보고되는데<sup>3, 10</sup>, 본 연구에서는 선암 19예중 15예(78.9%), 편평상피암 33예중 26예(78.8%)로 조직세포형에 따른 차이는 없었고 병기의 진행에 따른 비배수성의 비율에도 유의한 차이가 없었다.

폐암에서 DNA 함량과 예후와의 상관성에 대해서는 많은 보고가 있는데, 비소세포성 폐암환자 112예중 77%에서 비배수성을 나타내었고, 선암이 편평상피암에 비해 비배수성의 비율이 높았으며 비배수성군에서 5년 생존율이 배수성군에 비해 유의하게 짧았다고 보고하고 있다<sup>13</sup>. 특히 선암에서 DNA 함량이 독립적인 예후인자라고 주장하였다. 그러나 편평상피암에서는 DNA 함량이 독립적인 예후인자로 작용하였지만, 선암에서는 그렇지 않았다고 보고한 경우도 있다<sup>15</sup>.

본 연구에서는 선암 및 편평상피암 모두에서 비배수성군과 배수성군간에 중앙생존기간의 유의한 차이가 없었다. 이러한 이유로는 몇가지를 생각할 수 있는데, 첫째 본 연구는 상관계수값이 8 이상인 환자를 결과 분석에서 제외하기는 하였으나 DNA 지표(DNA index)가 1이고 상관계수가 5이상인 주위배수성(periploidy)이 존재할 가능성을 배제할 수는 없을 것이다. 다른 연구에서는 DNA histogram 분석에서 상관계수값이 5이상인 군을 주위배수성군으로 분류하여

이들을 비배수성군에 포함시켜 생존분석을 하였는데, 그 이유는 주위배수성인 경우 비배수성 최고점(aneuploidy peak)이 배수성 최고점(diploidy peak)에 가까이 있어서 판독시에 이를 배수성군에 포함시키는 오류를 범할 수 있다고 하였다<sup>10)</sup>. 둘째 신전조직을 사용하지 않고 파라핀에 포매 보관된 조직을 사용하였으므로 조직처리 과정에서의 문제점이 있을 수 있겠다. 셋째 유식세포 분석시 종양조직에 정상조직이 많이 포함되어 있을 경우, 결과가 정확하지 않을 가능성이 있는데 본 연구의 경우 종양조직을 미리 확인하였으므로 이러한 가능성은 적을 것이다. 폐암환자에 있어 편평상피암에 대한 평균 SPF는 23.4%라고 보고하고 있는데<sup>6)</sup>, 본 연구에서는 비소세포성 폐암의 평균 SPF는 19.24%였고 비배수성군이 21.43%, 배수성군이 8.35%으로 비배수성군이 배수성군에 비해 높았으며 통계학적으로 유의한 차이를 나타냈다( $p < 0.05$ ). 일반적으로 SPF이 높을수록 종양세포의 분열증식은 왕성해져 예후가 불량할 것으로 예측되는데, 유방암에서는 SPF이 낮을수록 액와 림프절의 침습정도가 적고 수술 후 예후가 좋다고 하며<sup>16)</sup>, 비소세포성 폐암에서 SPF 17%를 기준으로 SPF이 낮으면 예후가 좋다는 보고도 있다<sup>17)</sup>, 또한 수술 후 치료를 시행하지 않은 편평상피암에서 SPF이 20%이상인 군이 20%이하인 군보다 생존기간이 유의하게 짧았으며 TNM 병기와 수행상태가 동일한 환자에서도 SPF이 높은 군이 낮은 군에 비해 생존기간이 짧았음을 보고하고 SPF이 병기, 수행상태와 무관한 독립적 예후인자라고 주장하였다<sup>6)</sup>.

본 연구 결과 비배수성군이 배수성군에 비해 SPF이 높았고 환자의 생존기간의 차이가 유의한 구분치를 통계적으로 검증하여 SPF 10%를 기준으로 정하게 되었다. 그 결과 SPF 10%를 기준으로 하여 그 이상인 환자의 중앙생존기간과 무병중앙생존기간이 그 이하인 군에 비하여 각각 통계학적으로 유의하게 짧았음을 확인할 수 있었다( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ). 또한 무병중앙생존기간이 비배수성군에서 12개월, 배수성군에서 34개월로서 비배수성군에서 배수성군에 비해 수술 후 2년내에는 재발율이 높음을 알 수 있었다. 콕스 회귀 모형(Cox regression model)을 사용하여 본 연구에서 사용한 여러 예후인자 중 병기 및 SPF 10%를 기준으로 구분한 고(high)SPF이 중앙생존기간 및 무병중앙생존기간에 있어 유의한 독립 예후인자였다( $p <$

0.01,  $p < 0.05$  ;  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ). 또한 선암에 있어서도 병기 및 고 SPF가 각각 중앙생존기간 및 무병중앙생존기간에서 유의한 예후인자였고( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ;  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ), 편평상피암에서는 병기가 유의한 예후인자였다( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ).

결론적으로 본 연구 결과 비소세포성 폐암환자에 있어 근치적 절제술후에 환자의 TNM 병기와 10%를 기준으로 한 SPF의 결과가 환자의 예후 예측지표로서 유의하였다. 따라서 병기의 진행여부외에 고 SPF을 보이는 경우의 환자에 대해서는 보다 적극적인 치료모델의 정립이 필요할 것으로 생각된다.

## 요 약

**목적 :** 폐암환자에 있어서 병리학적 병기가 동일하여도 환자에 따라 수술 후의 생존율에는 큰 차이가 있다. 따라서 폐암환자에서 현재 이용되고 있는 예후인자만으로는 다양한 폐암환자의 예후를 정확히 예측하기에 부족하다. 이에 저자들은 비소세포성 폐암으로 진단받고 수술적 치료를 받은 환자에 있어서 유식세포 분석기(flow cytometry)를 이용하여 종양세포의 DNA 함량 및 S-phase 분획(s-phase fraction, SPF)을 분석하여 이들이 폐암환자의 수술 후 예후를 예측할 수 있는 “예후인자”로서 유용한 지를 알아보고, 또한 유의성의 정도를 평가하여 기존의 예후인자와 예측도를 비교하고자 하였다.

**방법 :** 근치적 절제술을 시행받은 후 보조 항암요법 및 방사선 치료를 받은 병기 I, II, IIIa 의 비소세포성 폐암환자의 원발 병소의 파라핀 포매 종양조직을 대상으로 하였다. Propidium iodide 염색처리된 핵을 flow cytometry로 분석하였고, 컴퓨터 분석 프로그램을 통해 히스토그램(histogram)을 도식하고 이를 해석하였으며, 상관계수(coefficient of variation)가 8 이하인 경우만 채택하였다.

### 결 과 :

1) 대상환자중 59예에서 DNA 함량을 측정하였는데, 비배수성이 45예, 배수성이 14예로 비배수성이 76.3%를 차지하였다. 조직 세포형 및 병기진행에 따른 비배수성의 비율에는 유의한 차이가 없었다.

2) 대상환자중 36예에서 SPF을 측정하였는데, 평균 SPF는 19.2( $\pm 12.62$ )%였고, 병기의 진행에 따른

SPF의 증가는 없었다.

3) SPF 10%를 기준으로 구분한 저(low)SPF군과 고(high)SPF군에서 고 SPF군이 차지하는 비율은 75%였고, 병기가 진행할수록 고 SPF군의 비율이 높아짐을 알 수 있었다.

4) 저 SPF군과 고 SPF군의 중앙생존기간은 각각 32개월, 12개월로서 유의한 통계학적 차이가 있었다 ( $p < 0.05$ ). 비배수성군과 배수성군간에는 각각 19개월, 34개월로서 유의한 차이가 없었다.

5) 저 SPF군과 고 SPF군의 무병중앙생존기간은 각각 5개월, 19개월로서 유의한 통계학적 차이가 있으나 ( $p < 0.05$ ), 비배수성군과 배수성군간에는 각각 12개월, 34개월로서 유의한 차이가 없었다 ( $p > 0.05$ ).

6) 각스 회귀 모형을 이용한 다변이 생존분석에서 병기 및 고 SPF이 비소세포성 폐암환자에서 수술 후 유용한 예후인자였다.

**결론 :** 이상의 결과로 비소세포성 폐암환자에 있어 근치적 절제술후에 환자의 TNM 병기와 10%를 기준으로 한 SPF의 결과가 환자의 예후 예측지표로서 유의하였다. 따라서 병기의 진행여부외에 고 SPF을 보이는 경우의 환자에 대해서는 이들 환자의 예후개선을 위한 치료모델의 정립이 필요할 것으로 생각된다.

= Abstract =

**Prognostic Significance of Flow Cytometric Nuclear DNA Content and S-phase Fraction in Non-small Cell Lung Cancer**

Suck Min Kang, M.D., Joo Hang Kim, M.D.  
Sung Kyu Kim, M.D., Won Young Lee, M.D.  
and Kyong Young Jung, M.D.\*

*Department of Internal Medicine and Chest Surgery\*, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea*

Yi Hyeong Lee, M.D.

*Department of Internal Medicine, College of Medicine, Ajou University, Suwon, Korea*

**Objectives :** In surgically treated non-small cell lung cancer, patients have a wide difference in prognosis even though they may be in the same stage. Therefore it is difficult to establish the prognosis for individual lung cancer patients. In this study, by

using flow cytometric analysis of nuclear DNA content and S-phase fraction (SPF) of surgically treated non-small cell lung cancer patients, we proposed to establish other prognostic factors and their validity in comparison with the existing ones.

**Methods :** Paraffin-embedded tissue specimens from 81 surgically treated patients, diagnosed with non-small cell lung cancer ranging from stage I to stage IIIa, were analyzed by flow cytometrically determined nuclear DNA content and S-phase fraction. Cellular DNA content stained with propidium iodide was analyzed by flow cytometry; histograms with a coefficient of variation exceeding 8% were not used.

**Results :**

1) DNA content analysis was carried out for 59 of 81 patients. Of the 59 patients who were investigated by flow cytometry, 45(76.3%) of the tumors were DNA aneuploidy and 14(23.7%) were DNA diploidy. The proportion of DNA aneuploidy tumors showed no significant difference between cell types or stage.

2) S-phase fraction was evaluated for 36 of 81 patients. Mean value of SPF was 19.2% ( $\pm 12.62$ )%. The value of SPF had nothing to do with stage.

3) The proportion of the high SPF group (more than 10% of cell proliferation cycle) was 75%. With advance staging, the proportion of the high SPF group increased.

4) Significant difference in the median survival time was observed between the low SPF group and the high SPF group (32 months in low SPF, 12 months in high SPF) ( $p < 0.05$ ). No significant difference in the median survival time was observed between the aneuploidy group and the diploidy group (19 months in aneuploidy, 34 months in diploidy).

5) Significant difference in the disease free median survival time was observed between the low SPF group and the high SPF group (5 months in low SPF, 19 months in high SPF) ( $p < 0.05$ ). No significant difference in the disease free median survival time was observed between the aneuploidy group and the diploidy group (12 months in aneuploidy, 34 months in diploidy).

6) Upon multivariate analysis, stage and high SPF (more than 10% of cell proliferation cycle) were significant prognostic factors in surgically treated non-small cell lung cancer patients.

**Conclusion :** The TNM stage and high SPF were significant as prognostic factors in surgically treated non-small cell lung cancer patients. There-

fore new treatment plan should be needed in the patients who have high SPF.

**Key Words :** Non-small cell lung cancer, diploidy, aneuploidy, S-phase fraction.

## REFERENCES

- 1) 김진복 : 한국인 5대 암질환의 진료현황과 생존률. 대한의학협회지 38:157, 1995
- 2) Boring CC, Squire TS, Tong T : *Cancer statistics* Cancer 41:19, 1991
- 3) Volm M, Drings P, Mattern J : *Prognostic significance of DNA patterns and resistive-redictive tests in non-small cell lung carcinoma*. Cancer 56:1396, 1985
- 4) 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
- 5) Zimmerman PV, Hawson GAT, Bint MH, Parsons PG : *Ploidy as a prognostic determinant in surgically treated lung cancer*. Lancet 5:530, 1987
- 6) 정병학, 강정성, 장 근, 정은택, 정헌택, 문형배 : *편평상피성 폐암에 있어서 S-Phase Fraction과 생존기간과의 관계. 결핵 및 호흡기질환* 40:669, 1993
- 7) Bunn PA, Carney DN, Gazdar AF, Whang-Peng J, Matthews MJ : *Diagnostic and biologic implications of flow cytometric DNA content analysis in lung cancer*. Cancer Res 43:5026, 1983
- 8) Mountain CF : *Prognostic implications of the International Staging System for Lung Cancer : A new international staging system for lung cancer*. Semin Oncol 15:236, 1988
- 9) World Health Organization : *The World Health Organization histologic typing of lung tumors*. Am J Clin Pathol 77:123, 1982
- 10) Isobe H, Miyamoto H, Shimizu T, Haneda H, Hashimoto M, Inoue K, Mizuno S, Kawakami Y : *Prognostic and therapeutic significance of the flow cytometric nuclear DNA content in non-mall cell lung cancer*. Cancer 65:1392, 1990
- 11) Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW : *Application of DNA flow cytometry to paraffin-mbedded archival material for the study of aneuploidy and its clinical significance*. Cytometry 6:327, 1985
- 12) 김안명, 김동웅, 이진화, 장 근, 정은택 : *원발성 폐암환자에 있어서 종양 세포의 DNA 배수성과 생존기간과의 관계*. 대한내과학회지 41:489, 1991
- 13) Miyamoto H, Harada M, Isobe H, Akida HD, Haneda H, Yamaguchi E, Kuzumaki N, Kawamaki Y : *Prognostic value of nuclear DNA content and expression of the ras oncogene product in lung cancer*. Cancer Res 51:6346, 1991
- 14) Kokal WA, Duda RB, Azumi N, Sheibanik K, Kemeny MM, Terrs JJ : *Tumor DNA content in primary and metastatic colorectal carcinoma*. Arch Surg 121:1434, 1986
- 15) Sahin AA, Ro JY, El-Naggar AK, Lee JS, Ayala AG, Teague K, Hong WK : *Flow cytometric analysis of the DNA content of non-small cell lung cancer*. Cancer 65:530, 1990
- 16) Clark GM, Dressler LG, Owens MA, McGuire WL : *Prediction of relapse or survival in patients with node-negative breast cancer by DNA flow cytometry*. N Engl J Med 320:627, 1989
- 17) Tenvelde GPM, Schutte B, Vermeulen 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