

위암에서의 증식세포 핵항원(PCNA) 발현이 예후에 미치는 영향

아주대학교 의과대학 중앙내과학교실, 연세대학교 의과대학 내과학교실,
연세암센터², 연세 암연구소³, 이화여자대학교 의과대학 내과학교실⁴,
아주대학교 의과대학 해부병리학교실⁵, 연세대학교 의과대학 해부병리학교실⁶

임호영 · 김주항^{1,2} · 정현철^{1,2} · 엄효동³ · 최진혁⁴
이 기 범⁵ · 신 동 환⁵ · 노 재 경¹² · 김 병 수²

= Abstract =

Prognostic Significance of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) in Gastric Carcinoma

Ho Yeong Lim, M.D., Joo Hang Kim, M.D.^{1,2}, Hyun Cheol Chung, M.D.^{1,2}, Hyo Dong Um³
Jin Hyuk Choi, M.D.⁴, Kyi Beom Lee, M.D.⁵, Dong Hwan Shin, M.D.⁵
Jee Kyung Roh, M.D.^{1,2} and Byung Soo Kim, M.D.²

Department of Medical Oncology, Ajou University, School of Medicine

Department of Internal Medicine, Yonsei University, College of Medicine¹

Yonsei Cancer Center², Yonsei Institute of Cancer Research³

Department of Internal Medicine, Ewha Women's University, College of Medicine⁴

Department of Anatomic Pathology, Ajou University, School of Medicine⁵

Department of Anatomic Pathology, Yonsei University, College of Medicine⁶

Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) is known to be closely correlated with DNA synthesis and cell proliferation. Proliferative activities of tumors have recently been considered as one of important prognostic factors in a variety of human cancers.

A total of 195 gastric carcinomas was evaluated with immunohistochemical study, using antibody(PC 10) with special reference to the correlation between PCNA expression and prognosis. PCNA expression was assessed semi-quantitatively based on the proportion of tumor cells with immunostained nuclei.

There was no significant correlation between PCNA expression and clinicopathological variables such as age, sex, tumor site, size, histologic grade, tumor stage, or the presence of lymph node metastases. To analyse survival, we evaluated disease-free survival and overall survival according to the extent of PCNA expression. No significant correlations between PCNA expression and both disease-free survival and overall survival were found.

In conclusion, PCNA expression assessed by semi-quantitative PCNA grading system was not a significant prognostic factor in gastric carcinoma.

Key Words: Gastric carcinoma, Prognosis, Proliferating cell nuclear antigen(PCNA)

* 본 논문은 1993년도 아주대학교 정착 연구비의 지원으로 이루어진 것임.

서 론

위암은 우리나라 성인 남녀에서 가장 발생 빈도가 높은 악성 종양으로, 전체 암 발생중 남자 28.3%, 여자 17.9%로 보고된다¹⁾. 위암의 완치를 위해서는 수술적 절제가 가장 중요하나, 수술만으로는 그 치료 성적이 만족할 만 하지 못한 것이 현실이다. 위암의 치료 성적을 향상시키기 위해 많은 노력을 기울인 결과, 최근 들어 위암의 완치율이 점진적으로 증가되었으며, 이는 위암의 조기 진단과 광범위한 림프절 광청술을 동반한 근치 수술의 발달에 기인한 것으로 생각된다. 그러나 조기 위암을 제외한 병기 II, III 및 IV기 위암 환자의 생존율 향상은 아직도 기대에 미치지 못하고 있으며, 근치적 절제술 후에도 국소 재발 및 원격 재발이 80%에 이른다²⁾. 국소적으로 진행되고 림프절 전이가 있어 재발의 위험이 높은 경우에는 수술후 보조적 항암약물요법이 시도되었으나³⁻⁵⁾, 치료 성적은 5년 생존율이 40% 미만으로 보고되고, 최근까지 시행된 보조적 항암 약물요법에 대한 여러 연구를 통합 분석한 바, 생존율 향상이 관찰되지 않고 있다⁶⁾. 다만 최근, Kim 등은 근치적 절제술이 가능한 위암 환자에게 보조 항암 약물요법과 면역요법을 병용한 결과, 약물치료만 시행한 군보다 약물치료와 면역 치료를 병용한 군에서 생존율의 향상 및 재발율의 감소를 보고한 바 있으나, 아직도 25~50%의 환자는 이러한 향상된 치료 방법에도 불구하고 위암이 재발하고 있다⁷⁾.

위암의 근치적 절제술 후 재발을 줄이기 위해 신약의 개발이나, 항암제의 새로운 병용 요법이 시도될 수 있을 것이다. 그러나, 아직까지 기존의 치료 약제나 병용 요법을 증가하는 새로운 항암 약물요법이 개발되지 못하고 있으며, 모든 위암 환자를 대상으로 집중적인 항암 치료를 시행한다는 것도 여러가지 부정적인 측면이 따르게 된다. 따라서, 이러한 예후가 불량한 위암 환자 군을 선정하는 연구 또한 계속되고 있다.

위암 수술후 예후 예측인자로 병리학적 TNM 병기, 세포 조직형 및 세포 분화도 등이 이용되어 왔으나, 최근, 같은 병기 및 조직 유형에도 불구하고 재발을 하는, 예후가 불량한 위험군을 분자 생물학적 연구를 통해 미리 예측하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

악성 종양에서 암 유전자의 증폭 및 과표현, 종양

억제유전자의 비활성화, DNA ploidy와 예후와의 상관성이 보고되며⁸⁾, 이러한 예후 인자로 수술후 예후가 불량한 군을 미리 예측하여 집중적인 보조 항암요법을 시행함으로써 생존율의 증가를 기대할 수 있겠다. 최근, 이러한 노력의 일환으로, 악성 종양에서 암세포의 증식 정도와 종양의 악성도 및 예후와의 관련에 대한 연구가 시도되고 있다. 증식세포 핵 항원(proliferating cell nuclear antigen; 이하 PCNA)은 cyclin으로도 알려져 있는데, 분자량 36 KD의 핵단백으로 세포 증식 및 DNA 합성에 밀접한 관련이 있다고 알려져 있다. PCNA는 세포분열시 세포 주기와 관련되어 후기 G₁기에 핵 내에 나타나서 S기에 합성이 최고에 달하였다가 G₂, M기에 다시 감소하므로 DNA 복제와 밀접한 관련이 있으며, 세포의 증식 정도를 측정할 수 있다^{9,10)}.

아직까지 위암에서 PCNA에 대한 연구는 활발하지 못한 실정이지만, 이의 임상적 유용성에 대한 연구의 필요성이 거론되고 있다. Robbins 등은 여러 악성종양에서 PCNA 표현의 정도를 면역조직 화학염색을 이용해 조사하였는데, PCNA는 악성종양의 형, 조직학적 분화도, mitotic index 등과 밀접한 관련이 있고, PCNA 염색 결과가 유세포 분석기 결과와 일치한다고 보고하였으며 또한, 이들은 3예의 위암 조직을 염색해 본 결과, 3예 모두에서 양성 소견을 관찰하였다¹¹⁾. Jain 등은 93예의 위암에서 PCNA 염색시, 동일한 조직내에서도 부위에 따라 PACN 염색 정도가 서로 상이함을 관찰하고 종양의 이형성에 따른 표본 오차를 없애기 위해 PCNA grading system을 제시하였다. 그 결과, PCNA index 나 PCNA grade 모두 위암의 조직학적 형태, 병기 및 림프절 전이 여부와 무관하고, PCNA index와 유세포 분석기의 S+G₂M 기와도 서로 관련성이 없는 반면, 높은 PCNA grade의 위암에서 생존율이 감소하였으며, 따라서 PCNA grade가 위암에서 독립적인 예후 인자로 활용될 수 있다고 보고하였다¹²⁾. Takamura 등은 위암에서 DNA ploidy, c-erbB2 단백질 및 PCNA 등을 조사한 바, PCNA index가 림프절 전이와 유의있는 상관성을 가지고 있으며, PCNA index가 높은 군에서 예후가 불량하다고 보고하였다¹³⁾. Filipe 등은 위암의 인접 조직과 전암 병소에서 PCNA를 조사한 결과, 대조군에 비해 PCNA index가 증가함을 관찰하

여 위암 발생율이 높은 것으로 추정되는 환자에서 PCNA가 유용한 추적 검사법이 될 수 있음을 제시하였다¹⁴⁾. Yonemura 등은 PCNA labeling rate가 위암의 육안적 형태, 조직학적 형태, 림프절 및 혈관 침범과 무관하고, 종양의 크기, 림프절 전이 및 이배수성과 밀접한 연관이 있으며, 40% 이상인 경우 생존율이 불량함을 보고하였다¹⁵⁾. Maeda 등은 189명의 위암에서 수술전 위내시경으로 얻은 조직을 이용하여, PCNA labeling index를 조사한 결과, PCNA labeling index가 병기가 증가함에 따라 증가하고, 림프절 전이, 혈관 침범, 간 전이 및 복막 전이가 있는 환자에서 의외있게 증가함을 보고하였다¹⁶⁾.

그러나, 우리나라의 경우, 위암에서의 PCNA에 관한 연구가 아직 활발하지 못하여 이에 대한 실제 임상 적용에 어려움이 있다. 이에 따라, 저자들은 암세포의 증식 정도가 위암 환자의 수술후 예후를 예측할 수 있는 인자로서의 유용성 여부를 조사하여 위암 환자의 치료 방침을 결정하는데 응용 가능성을 확인하고자 본 연구를 계획하였다.

재료 및 방법

1) 재 료

연세대학교 의과대학 부속 세브란스 병원에서 1985년부터 1990년까지 일본 위암 연구회의 기준¹⁷⁾에 의해 근치적 광역 절제술을 시행받은 병리학적 병기 II, III기인 위암 환자중 연세 암센터에서 보조 항암 약물요법을 시행받은 환자 195예를 대상으로 하였다. 원발 병소 파라핀 포매조직을 이용하여 PCNA에 대한 면역조직 화학염색을 시행하였으며, 위암 세포의 병리 분화도 및 조직형 분류는 WHO기준¹⁸⁾에 의하여 분류하였다.

2) 증식세포 핵 항원(PCNA)의 면역 조직화학 염색법

(1) 검사법:

① 위암 환자의 paraffin에 포매된 조직을 5um 두께로 절단한 후, xylene으로 3~5분간 탈 paraffin 시킨 다음, 100%, 95% 및 75% 알코올로 환수시켰다.

② 암세포 표면의 비특이성 항체 수용체를 제거시키

기 위해 blocking 항체액 100 ul를 조직위에 점적한 후 37°C 가온 항습기에 넣고 20분간 배양하였다.

③ 배양후 항체용액을 제거한 다음, PCNA 단클론 항체(Dako, PC 10)의 1:10 희석액 100 ul를 점적한 후 37°C 가온 항습기에 넣고 30분간 배양하였다.

④ 이를 Tris buffer(pH7.6)로 세척하고서 2차 항체 peroxidase-conjugated biotinylated antibody(Vector, Burlingame, CA, U.S.A)를 100 ul씩 점적한 후 37°C 가온 항습기에 넣고 60분간 배양하였다.

⑤ 2차 항체 배양이 끝나면 Tris buffer에 세척하고 ABC 용액(Vector, Burlingame, CA, U.S.A)을 2 방울씩 조직에 점적한 후 실온에서 30분간 배양하고 다시 Tris buffer로 세척하였다.

⑥ 세척된 slide를 3'-3'-diaminobenzidine(DAB)(Sigma, U.S.A) 용액에 담근후 2~10분간 발색 시킨 다음 수시로 현미경 하에서 발색 여부를 관찰하였다. 이후 slide를 Tris buffer로 세척하고 공기중에서 건조시킨 다음, hematoxyline 염색으로 대조 염색하였다.

(2) 결과판독: 병리 의사를 포함한 2인의 관독자가 임상적 정보를 받지 않은 상태에서 관독하였으며, 광학 현미경 하 증배율 시야에서 종양의 괴사가 없는 부위를 선택, 검색하였고, 종양 세포의 핵이 전체적으로 갈색 염색된 것을 양성으로 판정하였다. PCNA 표현 정도는 전체 종양 세포중 양성 반응을 보인 핵을 가진 세포의 백분율을 구해 다음과 같이 4등급으로 분류하였다. 양성 세포의 백분율이 25% 이하인 경우 grade I, 26~50% grade II, 51~75% grade III, 76~100%인 경우는 grade IV로 정하였다.

3) 위암 환자의 생존율과 PCNA의 상관성 분석

대상 환자의 추적 관찰은 병력지와 암환자 등록지에 의하였으며, 추적 관찰이 불가능한 환자에 대하여서는 추적 관찰 엽서 및 전화를 통하여 시도하였다. 대상 위암 환자의 임상적 특성과 PCNA 표현 정도와의 상관성은 χ^2 -test로 유의성을 검증하였다. 대상 환자의 전체 생존율 및 무병 생존율은 Kaplan-Meyer 법에 의하여 구하였으며, 유의성은 log-rank 법을 이용하였다.

결 과

1) 대상 환자의 특성

대상 환자 195예의 남녀비는 1.9:1이고, 중앙 연령은 54세(22~70세)였다. 대상 환자는 모두 위선암으로 일본 위암 연구회의 기준¹⁷⁾에 의해 근치적 광역 절제술을 시행받았다. 위 아전절제술이 149예(76.5%)에서 시행되었고, 위 전절제술이 46예(23.6%)에서 시행되었다. 종양의 위치는 유문부가 117예(60%), 위체부 43예(22.1%), 분문부 24예(12.3%), 위전부 5예(2.6%) 순이었다. 위암종의 육안적 유형은 Borrmann I 형이 4예(2.1%), II형 21예(10.8%), III형 124예(64.1%), IV형 23예(11.8%)였다. 종양의 조직학적 유형은 분화암이 57예(29.2%), 미분화암 105예(53.8%), 인환암 29예(14.9%)였다. 종양의 크기는 3 cm 이상이 166예(85.2%), 3 cm 미만인 22예(11.3%)였다. T 및 N 병기는 각각 T₂ 28예(14.4%), T₃ 163예(83.6%)였으며, N₀ 34예(17.4%), N₁ 94예(48.2%), N₂ 65예(32.8%)로 종양의 병리학적 병기는 II가 52예(26.7%), III_A 82예(42.1%), III_B 57예(29.2%)였다(Table 1).

2) 대상 환자 파라핀 포매조직에서의 PCNA표현

대상 환자 전 예에서 PCNA 염색 양성 소견을 관찰할 수 있었으며, 표현 정도로는 grade I 87예(44.6%), grade II 62예(31.8%), grade III 33예(16.9%), grade IV 13예(6.7%)로 저(低) PCNA 표현군 (grade I과 II)이 149예(76.4%), 고(高) PCNA 표현군 (grade III와 IV)이 46예(23.6%)였다(Fig. 1).

3) PCNA 표현 정도와 임상적 특성과의 상관성

대상 환자 195예를 PCNA 표현 정도에 따라 저 PCNA 표현군과 고 PCNA 표현군으로 나누어서 각 임상적 특성과의 상관성을 관찰하였다. 대상 환자의 성별, 연령, 종양의 위치, Borrmann형, 조직학적 유형, 종양의 크기, TN 병기 및 림프절 전이에 따른 양군간의 유의한 차이는 관찰할 수 없었다(Table 2).

4) PCNA 표현 정도와 생존율의 상관성

대상 환자 195예에서 저 PCNA 표현군과 고 PCNA 표현군, 양 군간의 무병 생존율과 전체 생존

Table 1. Characteristics of patients

No. of patients	195
Male/Female ratio	
M:F	
Age(year)	128:67
median	54
range	22~70
Curative resection	
subtotal	149
total	46
Tumor site	
antrum & pylorus	117
body & fundus	43
cardia	24
entire stomach	5
unknown	6
Borrmann type	
I	4
II	21
III	125
IV	23
unknown	22
Tumor differentiation	
differentiated	57
undifferentiated	105
signet ring cell	29
unknown	4
Tumor size	
<3 cm	22
3~6 cm	114
>6 cm	52
unknown	7
Tumor invasion(T)	
T2	28
T3	163
unknown	4
Lymph node invasion(N)	
N0	34
N1	94
N2	64
unknown	3
Tumor stage	
II	52
IIIA	82
IIIB	57
unknown	4
Lymph node metastasis	
negative	34
positive	158
unknown	3

Fig. 1. PCNA expression in gastric carcinoma(PCNA grade I, ×100).

Fig. 2. PCNA expression in gastric carcinoma(PCNA grade IV, ×100).

Table 2. Correlation between PCNA expression and clinical variables

Clinical variables	Low PCNA group	High PCNA group	Significance
Male/Female			
M	98	30	
F	51	16	*NS
Age(year)			
<40	46	11	
≥40	103	35	NS
Curative resection			
subtotal	114	35	
total	35	11	NS
Tumor site			
antrum & pylorus	87	30	
body & fundus	35	8	
cardia	19	5	
entire stomach	3	2	NS
Borrmann type			
I	3	1	
II	15	6	
III	96	29	
IV	17	6	NS
Tumor differentiation			
differentiated	46	11	
undifferentiated	75	30	
signet ring cell	25	5	NS
Tumor size			
<3 cm	17	5	
3~6 cm	90	24	
>6 cm	37	15	NS
Tumor invasion(T)			
T2	21	7	
T3	125	38	NS
Lymph node invasion(N)			
N0	29	5	
N1	69	25	
N3	49	15	NS
Tumpr stage			
II	42	10	
IIIA	60	22	
IIIB	44	13	NS
Lymph node metastassis			
negative	29	5	
positive	118	40	NS

*NS: not significant

율을 비교하였다. 저 PCNA 표현군의 5년 무병 생존율은 48%, 중앙 무병 생존기간이 57개월이고, 고 PCNA 표현군의 5년 무병 생존율은 45%, 중앙 무병 생존기간이 38개월로 양 군간에 유의한 차이는 관찰할 수 없었다(Fig. 3). 또한, 5년 전체 생존율에서도

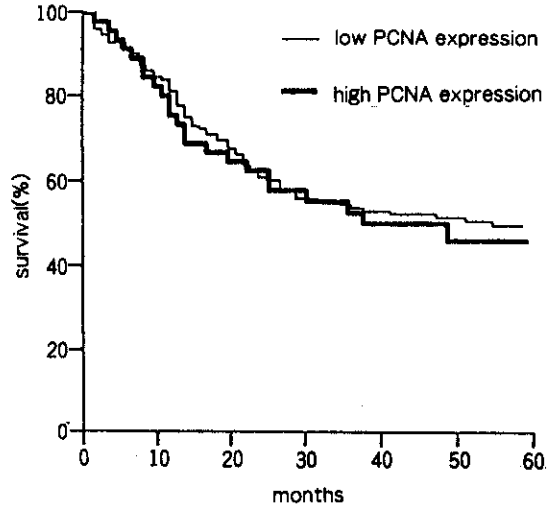


Fig. 3. Disease free survival according to PCNS expression.

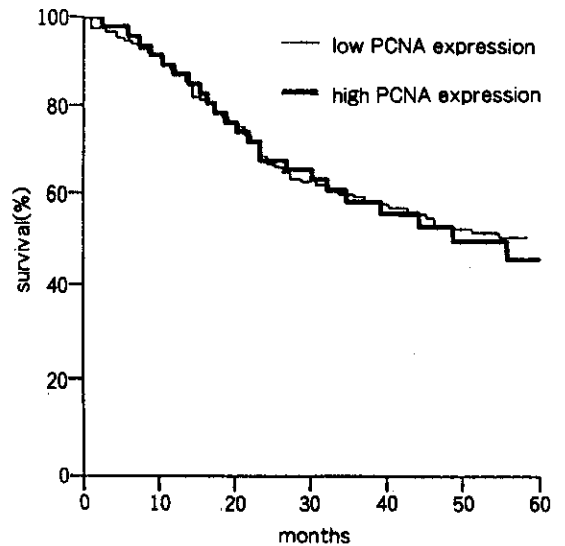


Fig. 4. Overall survival according to PCNA expression.

저 PCNA 표현군의 전체 생존율은 49%, 중앙 생존 기간이 60개월이고, 고 PCNA 표현군의 5년 전체 생존율은 45%, 중앙 생존기간이 52개월로 양 군간에 유의한 차이는 없었다(Fig. 4).

고 찰

위암은 우리나라에서 발생률과 사망률이 가장 높은 암이나, 아직까지 그 치료 성적이 만족스럽지 못한 실정이다. 조기 위암의 경우, 근치 수술만으로도 90% 이상 완치가 가능하나, 우리나라는 아직까지 위암의 조기 발견율이 10% 내외에 불과하다. 근치 수술이 가능한 진행성 위암의 경우, 현재 수술후 보조 항암 약물요법이 시도되고 있으나, 아직도 25~50%의 환자는 이러한 향상된 치료 방법에도 불구하고 재발을 하므로⁷⁾, 이러한 고 위험군의 위암 환자를 찾기 위한 노력이 필요하다. 위암에서 근치 수술후 환자의 예후를 예측할 수 있는 인자중 가장 강력한 예후 인자로 병리학 적 TNM 병기가 알려져 있으나, 동일한 병기, 세포형 및 분화도를 가진 위암내에서도 그 치료 성적이 서로 상이하기 때문에, 추가적으로 예후가 불량한 고 위험군을 찾아 내는 방법이 필요하여 최근 분자 생물학적 방법을 이용한 예후 인자로 DNA ploidy, S-phase fraction 및 암유전자 과표현 등이 연구되고 있다.

악성 종양의 증식 정도는 종양의 전이 능력, 재발 및 전체 생존율과 밀접한 관련이 있으며, 암의 증식 정도를 평가하는 방법으로는 광학 현미경 하에서 유사 분열의 수를 직접 세는 단순한 방법에서부터, tritiated thymidine을 이용한 자가 방사 기록법^{19, 20)}, 유세포 분석기를 이용한 DNA 측정²¹⁾, bromodeoxyuridine(BrdU)흡수 정도를 측정하는 방법^{22~24)} 및 Ag-NORs를 측정하는 방법^{25~27)} 등이 있다. 또한, 증식세포에서 표현되는 몇가지 핵단백이 있는데, PCNA/cyclin²⁸⁾, Ki-67^{29~31)}, C₅F₂₃³²⁾, p53 transformation-related protein³³⁾ 및 myc-oncogene protein product³⁴⁾ 등이 현재 이용되고 있다. Thymidine labelling을 보는 자가 방사 기록법은 반드시 신선한 조직을 이용해야만 가능하며, 검사 과정상 방사선 물질을 다루어야만 하는 단점이 있다. DNA 유세포 분석기는 신선한 조직이 아닌 파라핀 포매 조직도 사용 가능하나, 조직을 분쇄해야만 하기 때문에 조

직의 원 형태를 유지할 수 없다는 단점이 있다. 증식 세포에서 표현되는 핵 단백질 BrdU나 Ki-67 항체를 이용하는 경우에도 역시 신선한 조직에서만 가능하다.

핵 단백질 PCNA는 파라핀 포매 조직에서도 세포의 증식 정도를 평가할 수 있기 때문에 최근 여러 악성 종양에서 활발히 이용되고 있다. PCNA는 DNA polymerase- δ 의 보조 단백질³⁵⁾으로 척추 동물의 세포에 널리 분포되어, DNA 합성과 세포 증식의 조절에 중추적인 역할을 할 것으로 추정하고 있다³⁶⁾. PCNA는 Miyachi 등이 전신성 홍반성 낭창 환자의 혈청에서 반응하는 분자량 36KD의 핵단백에서 처음 발견하였으며²⁸⁾, Bravo 등도 36KD의 산성 단백을 분리하여 cyclin으로 기술하였는데³⁵⁾, 후에 Mathews 등에 의해서 PCNA와 cyclin이 동일한 단백질이 밝혀졌다³⁶⁾. PCNA는 휴지기의 세포, 즉 간 세포, 신 세포, 뇌 세포, 신 사구체 세포에서는 관찰되지 않는 반면^{9, 28)}, 정상 세포중 림프절과 비장의 여포, 흉선의 피질부, 고환의 정조 세포, 장의 상피세포, 피부의 기저 세포 등의 증식 세포에서 관찰되고 있다²⁸⁾. 정상 말초 임파구에서는 PCNA가 발견되지 않지만, mitogen에 의해 유도된 아세포 전환시에는 표현된다고 한다²⁸⁾. 세포 증식에서 PCNA 합성 관련성으로 좀 더 유사 분열 수가 높거나, 역행성이 심한 경우 PCNA 양성율이 높아진다. 세포 증식과 DNA 합성 정도는 많은 악성 종양에서 중요한 예후 인자로 알려져 있으며, 악성 종양 조직에서 PCNA의 면역 조직염색은 후기 G₁ 및 S기에 있는 세포의 비율과 밀접한 관련성이 있어, 유세포 분석기에서 얻은 결과와 유사한 예후 인자로 사용될 수 있다¹¹⁾.

위암에서 PCNA에 대한 연구는 아직까지 활발하지 못하지만, 최근 이의 예후 인자로서 임상적 유용성에 대한 연구의 필요성이 거론되고 있다. PCNA 염색은 비교적 간편하게 종양의 증식 정도를 측정할 수 있으며, PCNA 염색 결과가 유세포 분석기에서 측정된 결과와 일치하나¹¹⁾, 다른 보고에 의하면, PCNA 표현 정도가 유세포 분석기의 S+S₂M 기와는 서로 관련성이 없다는 결과도 있는데¹²⁾, 본 연구에서는 PCNA 표현 정도와 유세포 분석기와의 상관성은 조사하지 않았다.

PCNA 표현 정도를 측정하는 방법에는 PCNA index(% of positive cells/1,000 tumor cells)가

주로 사용되나^{12~16)}, 동일한 조직 내에서도 부위에 따라 PCNA 염색 정도가 서로 상이하기 때문에, 종양의 이형성에 따른 표본 오차를 없애기 위해 전체 종양 세포중 PCNA 양성인 암세포의 백분율을 이용하여 PCNA grade로 평가하는 방법이 최근 사용되고 있다¹²⁾. PCNA grading system은 PCNA 표현의 정도를 반정량적으로 평가할 수 있는 장점이 있어 본 연구에서도 PCNA grade를 도입하여 전체 종양세포중 PCNA 양성인 암 세포의 백분율을 구해 4등급으로 나누어 분석하였다.

Robbins 등¹¹⁾이 3예의 위암에서 PCNA 염색을 시행한 결과, 3예 모두 PCNA 양성을 관찰한 이래로 위암에서의 PCNA 발현에 대한 연구가 최근 활발히 진행되어 PCNA의 표현 정도가 악성 종양의 유형, 조직학적 분화도, mitotic index, 병기 및 림프절 전이 등과 밀접한 관련이 있어 종양의 악성도를 예측할 수 있다는 연구 보고가 있는가 하면^{11,13,16)}, PCNA 표현의 정도가 조직학적 형태, 병기 및 림프절 전이 등과 상관성이 없다는 보고도 있는데^{12,15)}, 본 연구에서도 PCNA 표현 정도와 종양의 악성도를 예측할 수 있는 각 임상적 특성들과는 뚜렷한 상관성을 찾을 수 없었다.

위암에서의 PCNA 표현 정도가 환자의 생존율을 예측할 수 있는 중요한 인자로 평가 받고 있으나^{12,13,15,16)}, 본 연구에서는 PCNA grade에 따라 저 PCNA 표현군과 고 PCNA 표현군으로 나누어 생존율을 조사한 결과, PCNA 표현 정도에 따른 유의한 차이는 관찰할 수 없었다.

결론적으로 위암에서 PCNA 면역조직 화학염색의 반정량법에 의한 양성 정도(PCNA grading system)는 종양의 악성도와 무관하였으며, 생존을 예측할 수 있는 예후 인자로서의 임상적 유용성은 없었다.

결 론

본 연구에서는 위암의 근치적 절제후 예후가 불량한 고 위험군을 찾기 위해 위암종 파라핀 포매 조직을 이용하여 증식 세포 핵항원(PCNA)의 면역조직 화학염색을 시행하여 암세포의 증식 정도가 예후를 예측할 수 있는 인자로서 유용한지 여부를 조사한 바, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 대상 환자 195예 모두에서 PCNA 염색에 양성을 보였으며, 표현 정도로는 grade I 87예(44.6%), grade II 62예(31.8%), grade III 33예(16.9%), grade IV 13예(6.7%)로 저 PCNA 표현군 (grade I 과 II)이 149예(76.4%), 고 PCNA 표현군 (grade III와 IV)이 46예(23.6%)였다.

2) 대상환자 195예를 PCNA 표현 정도에 따라 저 PCNA 표현군과 고 PCNA 표현군으로 나누어서 PCNA 표현 정도와 대상 환자의 성별, 연령, 종양의 위치, Borrmann형, 조직학적 유형, 종양의 크기, TN 병기 및 림프절 전이 여부에 따른 상관 관계를 조사하였으나, 유의한 차이는 없었다.

3) 저 PCNA 표현군의 5년 무병 생존율은 48%, 중앙 무병 생존기간이 57개월이고, 고 PCNA 표현군의 5년 무병 생존율은 45%, 중앙 무병 생존기간이 38개월로 양 군간에 유의한 차이는 관찰할 수 없었다. 또한, 전체 생존율에서도 저 PCNA 표현군의 5년 전체 생존율은 49%, 중앙 생존기간이 60개월이고, 고 PCNA 표현군의 5년 전체 생존율은 45%, 중앙 생존기간이 52개월로 양 군간에 유의한 차이는 없었다.

이상의 결과로 위암에서 PCNA 면역조직 화학염색의 반정량법에 의한 양성 정도(PCNA grading system)는 종양의 악성도와 무관하였으며, 생존을 예측할 수 있는 예후 인자로서의 유용성은 없었다.

참 고 문 헌

- 1) 보사부 한국인 암등록 조사사업. 1991. 7~1992. 6, 1993
- 2) DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA: *Cancer, principles and practice of oncology. 4th ed. Philadelphia, Lippincott, 1993, p818*
- 3) The gastrointestinal tumor study group: *Controlled trial of adjuvant chemotherapy following curative resection for gastric cancer. Cancer 49: 116, 1982*
- 4) Youn JK, Kim BS, Min JS, Lee KS, Choi HJ, Lee YB, Lee DW, Park IS, Roh JK, Chung JB, Koh EH, Park YJ, Kim HI, Lee KB: *Adjuvant treatment of operable stomach cancer with poly AU in addition to chemotherapeutic agents: A preliminary report. Int J Immunopharmac 12: 289, 1990*

- 5) Coomges RC, Schein PS, Chilvers CED, Wils J, Beretta G, Bliss JM, Rutten A, Amadori D, Cortes-Funes H, Villar-Grimalt A, McArdle C, Rauschecker HF, Boven E, Vassilopoulos P, Welvaart K, Pinto Ferreira E, Wiig J, Gisselbrecht C, Rougier P, Woods EMA: *A randomized trial comparing adjuvant fluorouracil, doxorubicin and mitomycin with no treatment in operable gastric cancer. J Clin Oncol 8: 1362, 1990*
- 6) Herman J, Bonenkamp JJ, Boon MC, Bunt AMG, Ohyama S, Sasako M, Van de Velde CJH: *Adjuvant therapy after curative resection for gastric cancer: Meta-analysis of randomized trials. J Clin Oncol 11: 1441, 1993*
- 7) Kim BS, Chung HC, Roh JK, Park YJ, Koh EH, Kim JH, Min JS, Lee KS, Lee KB, Youn JK: *A controlled trial of 5-FU, doxorubicin(FA) chemotherapy vs. FA-poly AU chemioimmunotherapy for locally advanced gastric cancer after curative resection; an interim report. Proc ASCO 10: 134, 1991*
- 8) Ohyama S, Yonemura Y, Miyazaki I: *Proliferative activity and malignancy in human gastric cancers. Cancer 69: 314, 1992*
- 9) Takasaki Y, Dong JS, Tan EM: *A nuclear antigen associated with cell proliferation and blast transformation: Its distribution in synchronized cells. J Exp Med 154: 1899, 1981*
- 10) Celis JE, Celis A: *Cell cycle dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: Subdivision of S phase. Proc Natl Acad Sci USA 82: 3262, 1985*
- 11) Robbins BA, Vega D, Ogata K, Tan EH, Nakamura RM: *Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies. Arch Pathol Lab Med 111: 841, 1987*
- 12) Jain S, Filipe MI, Hall PA, Waseem N, Lane DP, Levison DA: *prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. J Clin Pathol 44: 655, 1991*
- 13) Takamura H, Yonemura Y, Hirano Y, Ninomiya I, Dahara H, Tsugawa K, Matsumoto H, Sugiyama K, Fujimura T, Nishimura G: *Correlation of DNA ploidy, c-erbB-2 protein tissue status, level of PCNA expression and clinical outcome in gastric carcinomas. Gan To Kagaku Ryoho 20: 788, 1993*
- 14) Filipe MI, Mendes R, Lane DP, Morris RW: *Assessment of proliferating cell nuclear antigen expression in precursor stages of gastric carcinoma using the PC 10 antibody to PCNA, Histopathology 22: 394, 1993*
- 15) Yonemura Y, Kimura H, Fushida S, Tugawa K, Nakai Y, Kaji M, Fonseca L, Yamaguchi A, Miyazaki I: *Analysis of proliferative activity using anti-proliferating cell nuclear antigen antibody in gastric cancer tissue specimens obtained by endoscopic biopsy. Cancer 71: 2448, 1993*
- 16) Maeda K, Chung YS, Onoda N, Kato Y, Nitta A, Arimoto Y, Yamada N, Kondo Y, Sowa M: *Proliferating cell nuclear antigen labeling index of pre-operative biopsy specimens in gastric carcinoma with special reference to prognosis. Cancer 73: 528, 1994*
- 17) Kajitani T: *The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. Part I. Clinical classification. Jpn J Surg 11: 127, 1981*
- 18) Oota K, Sobin LH: *Histological typing of gastric and esophageal tumors. General World Health Organization. 1977*
- 19) Meyer JS, Friedman E, McCrate MM, Bauer WC: *Prediction of early course of breast carcinoma by thymidine labeling. Cancer 51: 1879, 1983*
- 20) Meyer JS, Coplin MD: *Thymidine labeling index, flow cytometric S-phase measurement and DNA index in human tumor. Am J Clin Pathol 89: 586, 1988*
- 21) Barlogie B, Raber MN, Schumann J, Johnson TS, Drewinko B, Swartzendruber DE, Gohde W, Andreeff M, Freireich EJ: *Flow cytometry in clinical cancer research. Cancer Res 43: 3982, 1983*
- 22) Scrivner DL, Meyer JS, Rujanavech N, Fathman A, Scully T: *Cell kinetics by bromodeoxyuridine labeling and deoxyribonucleic acid ploidy in prostatic carcinoma needle biopsies. J Urol 146: 1034, 1991*
- 23) Nagashima T, DeArmond SJ, Murovic J, Hoshio T: *Immunohistochemical demonstration of S-phase cells by anti-bromodeoxyuridine monoclonal antibody in human brain tissue. Acta Neuropathol Berl 67: 155, 1985*
- 24) Nemoto R, Uchida K, Hattori K, Shimazui T, Nishijima Y, Saito S, Koiso K, Harada M: *S-phase fraction of human bladder tumor measured in situ with bromodeoxyuridine labeling. J Urol 139: 286, 1988*

- 25) Goodpasture C, Bloom SE: *Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. Chromosome* **53**: 37, 1975
- 26) Howell WM, Denton TE, Diamond JR: *Differential staining of the satellite regions of acrocentric chromosomes. Experientia* **31**: 260, 1975
- 27) Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himer G, Pigeon F, Adnet JJ: *Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer regions at the optical level. Histochem J* **18**: 5, 1986
- 28) Miyachi K, Dritzler MJ, Tan EM: *Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. J Immunol* **121**: 2228, 1978
- 29) Sasaki K, Matsumura K, Tsuju T, Shinozak F, Takahashi M: *Relationship between labeling indices of Ki-67 and BrdUrd in human malignant tumors. Cancer* **62**: 989, 1988
- 30) Gallee MPW, De Jong EV, Kate FJWT, Schroeder FH, Kwast THVD: *Monoclonal antibody Ki-67 defined growth fraction in benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer. J Urol* **142**: 1342, 1989
- 31) Nishizaki T, Orita T, Furutani Y, Ikeyama Y, Aoki H, Sasaki K: *Flow cytometric DNA analysis and immunohistochemical measurement of Ki-67 and BrdU labeling indices in human brain tumors. J Neurosurg* **70**: 379, 1989
- 32) Lloyd RV, Wilson BS, Virani J, Gaur PK, Moline S, Makari JG: *Immunohistochemical characterization of a monoclonal antibody that recognizes mitosing cells. Am J Pathol* **121**: 275, 1985
- 33) Dippold WG, Gilbert J, DeLeo AB: *p53 transformation-related protein: Detection by monoclonal antibody in mouse and human cells. Proc Natl Acad USA* **8**: 1695, 1981
- 34) Persson H, Henninghausen L, Taub R: *Antibodies to human c-myc oncogene product: Evidence of an evolutionarily conserved protein induced during cell proliferation. Science* **225**: 687, 1984
- 35) Bravo R, Frank R, Blundell PA, Bravo HM: *Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase delta. Nature* **326**: 515, 1987
- 36) Mathews MB, Bernstein RM, Franza BR, Garrels JI: *Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin. Nature* **309**: 374, 1984