

# 폐암환자에서 치료에 대한 반응 예측지표로서의 DNA Ploidy

전남대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실\*

최인선 · 이신석 · 양재범 · 박경옥 · 정상우\*

= Abstract =

## DNA Ploidy as a Predictive Index of Therapeutic Response in Lung Cancer

In Seon Choi, M.D, Shin Seok Lee, MD, Jae Beom Yang, MD

Kyung Ok Park, MD and Sang Woo Jung, MD\*

Department of Internal Medicine and Department of Pathology\*

Chonnam University Medical School, Kwangju, Korea.

**Background:** Although many authors have reported that the median survival time of surgically resected non-small cell lung cancer (NSCLC) was shorter in aneuploid than in diploid determined by flow cytometry, there are few reports about DNA ploidy using bronchial brushing material in all types of lung cancer.

**Method:** The DNA ploidy test results of 109 consecutive patients with lung cancer were analyzed to find the relationship of DNA ploidy and anatomic or physiologic stage. And the differences of the response to various therapeutic modalities according to DNA ploidy were evaluated at least 8 weeks after the beginning of the therapy.

**Results:** Numbers of patients with DNA aneuploid pattern or high proliferative activity (S+G2M > 22%) were not different among the various cell types of lung cancer. The relationship of DNA ploidy and anatomic or physiologic stage was not significant. However, NSCLC patients with high proliferative activity showed more advanced anatomic stage than those without that (p < 0.05). The short-term response rate to therapy depended on the anatomic (p < 0.005) or physiologic stages (p < 0.05) in patients with NSCLC, and not on DNA ploidy or proliferative activity.

**Conclusion:** DNA ploidy test using bronchial brushing material revealed that high proliferative activity means advanced anatomic stage, but it was not useful to predict the therapeutic response.

**Key Words:** DNA ploidy, Proliferative activity, Therapeutic response, Lung cancer

### 서 론

고형암의 종양세포는 정상세포에 비해 생화학적으로 핵산의 양이 많은 특성을 가지고 있는 세포인데, 근래에 유체세포계산법(flow cytometry)에 의해서 종양세포 내의 DNA 함량을 비교적 쉽게 측정할 수 있게됨에 따

라 각종 종양세포에서 DNA ploidy 측정의 임상적 의의에 관한 연구들이 국내외에서 활발히 진행되고 있다<sup>1-7)</sup>.

폐암의 예후는 그 세포의 형태와 병기에 따라 결정되는 것으로 잘 알려져 있으나<sup>8)</sup> 비소세포폐암에서 aneuploid 종양이 diploid 종양 보다 생존기간이 짧은 것으로 밝혀져서 DNA ploidy도 중요한 예후인자인 것으로 보인다<sup>9,10)</sup>. 그러나 지금까지의 성적은 대부분 비소세포 폐암의 수술후 예후에 대한 것이었고, 김등<sup>11)</sup>은 소세포 폐암을 포함하여 근치적 치료를 하지 않은 경우들에서의

\*본 논문은 1990년도 전남대학교 학술연구비보조로 이루어 졌음.

성적을 내었으나 사망한 경우들만을 대상으로 하였으며, 또한 폐조직 절편 대신 비교적 더 쉽게 얻을 수 있는 기관지술질에 의한 세포학적 표본을 이용한 성적은 거의 없는 실정이다.

따라서 저자들은 모든 세포 형태를 다 포함한 전체 폐암환자들에서 기관지술질에 의한 세포학적 표본을 이용하여 DNA ploidy를 측정함으로써 여러가지 치료에 대한 반응을 대체적으로 예측할 수 있는지 여부를 검토하여 보았으며 이에 그 결과를 보고한다.

### 대상 및 방법

1991년 1월부터 12월까지 전남대학병원 내과에 내원하여 폐암 의심하에 기관지내시경검사를 시행하면서 동시에 기관지 술질을 해서 얻은 표본으로 DNA ploidy 검사를 시행하였던 192예 중에서 조직학적으로 폐암으

로 확진되었던 109예를 대상으로 하였으며, 이중 치료에 대한 반응을 평가하기 위해서 처음 치료를 시작할 적어도 8주 이상 지난 후 흉부 X선 사진을 얻을 수 있었던 환자는 58예이었다.

대상자의 성별은 남자 99예, 여자 10예; 연령은 평균  $60.6 \pm 8.3$ 세(36~80세); 조직학적 유형은 소세포폐암 31예, 비소세포폐암 78예(편평상피암 58예, 선암 14예, 대세포암 1예, 미분화암 5예); 해부적, 생리적 병기는 Table 1과 같았고; 조직학적 진단방법은 기관지내시경을 통한 조직 검사상 확진된 경우가 103예, 술질세포검사에서만 양성인 경우 1예, 경흉부폐침천자 1예, 임파절 조직검사 2예, 개흉부조직검사 2예이었다. 해부적 병기 결정은 소세포폐암은 Veterans Administration Lung Group (VALG)의 방법<sup>11)</sup>, 비소세포폐암은 국제병기분류체계<sup>12)</sup>, 생리적 병기 결정은 Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)의 방법<sup>13)</sup>을 따랐다. 이들에

Table 1. Clinical Characteristics of Subjects

	Small cell (N=31)		Subtotal (N=78)	Non-small cell Squamous (N=58)		NSNSC (N=20)	Total (N=109)
Sex (M:F)	28:3		71:7	54:4		17:3	99:10
Age (yrs)	61.7±7.6		60.2±8.6	59.5±8.5		62.4±8.7	60.6±8.3
Anatomic stage	Limited	I	3	3	0	Limited	14
		II	0	0	0		
	Extensive	IIIa	31	28	3	Extensive	95
		IIIb	28	19	9		
IV	16	8	8				
PS score	0	2	6	4	2		8
	1	5	30	22	8		35
	2	15	15	12	3		30
	3	4	17	12	5		21
	4	3	5	4	1		8
Therapy							
Operation only	0	4	4	0		4	
Operation & irradiation	0	1	1	0		1	
Operation & chemotherapy	0	1	0	1		1	
Curative radiotherapy	0	17	16	1		17	
Chemotherapy	21	10	6	4		31	
Palliative radiotherapy	4	11	10	1		15	
Conservative treatment	3	13	8	5		16	
Drop-out	3	21	13	8		24	

PS : performance status (Eastern Cooperative Oncology Group)

NSNSC : non-small non-squamous cell in this and following tables

서 치료는 소세포폐암은 항암화학요법 21예, 보존요법 7예이었는데 비해, 비소세포폐암은 폐수술(방사선 치료나 항암화학요법을 병행한 경우도 포함) 6예, 근치적방사선치료 17예, 항암화학요법 10예, 보존요법 24예로서 세포형태간에 차이가 있었다( $p < 0.001$ , Table 1). 소세포폐암에서의 항암화학요법은 CAV (cyclophosphamide 1000 mg/m<sup>2</sup> IV, doxorubicin 45 mg/m<sup>2</sup> IV, vincristine 2 mg IV q 3 weeks)<sup>8)</sup> 혹은 VP-16P (Etoposide 100 mg/m<sup>2</sup> IV, cisplatin 25 mg/m<sup>2</sup> IV days 1-3 q 3 weeks)<sup>14)</sup>, CAV/VP-16P(앞의 두가지를 교대로)<sup>15)</sup>로 하였고, 비소세포폐암에서는 CAP (cyclophosphamide 400 mg/m<sup>2</sup> IV, doxorubicin 40 mg/m<sup>2</sup> IV cisplatin 40 mg/m<sup>2</sup> IV q 4 weeks)<sup>8)</sup>로 하였다.

치료에 대한 반응의 평가는 치료전 흉부 X선상 보였던 종괴가 8~12주 후 완전 소실되었을 때 "완전관해 (complete remission)", 장경이 26%이상 감소되었을 때 "부분관해 (partial remission)", 그 이하일때 "불변 (stable)", 커졌을때 "악화 (progression)"라고 판정하였다.

DNA ploidy 검사는 Citrate 완충용액 (Trisodium citrate dehydrate 0.882 gm, Nonidet-P40 1 ml, Spermine 4HCl 0.522 gm, Tris (hydroxymethyl) aminomethane 0.060 gm/1000 ml, pH 7.6)에 기관지술질로 얻은 표본을 혼들어 넣고, 이것을 60  $\mu$ m 구경의 나일론 그물을 통해 여과시켜서 여과액내의 유리세포수가 10<sup>6</sup>/ml이 되도록 만든 다음 trypsin을 넣어 세포질을 용해시키고, trypsin 억제제와 RNase 혼합액을 작용시켰다. Propidium iodide 용액으로 DNA를 염색시킨 후 FACScan (Fluorescent Activated Cell Scanner, Becton Dickinson Immunocytometry System, USA)을

이용하여 488 nm의 argon laser로 자극하여 발산된 형광의 강도를 channel 수로 표시하였다. 조직 파편분획과 배경소음을 제거하기 위해 BDIS의 Consort 30 program을 이용하였다. DNA histogram 상 닭적혈구 (crbc) 최고점의 2.8배되는 channel 수를 DNA index (DI)=1이라 하고, G0/G1 최고점의 DI가 0.95-1.05인 것만 있을때 diploid, DI=2 혹은 4의 polyploid를 포함한 기타는 모두 aneuploid라 하였으며; 세포주기분석상 G0/G1 단계가 78% 미만이고 S와 G2M 단계가 22% 이상인 경우를 고증식력군 (high proliferative activity, HPA), 그렇지 않는 경우 저증식력군 (low proliferative activity, LPA)이라 하였다. Aneuploid 증양에서 S+G2M 단계 비율의 계산은 diploid와 aneuploid 양쪽 S+G2M 단계의 합을 전체 세포수로 나누어서 하였다. G0/G1 최고점의 변이계수 (CV)는 diploid 때는 5% 미만, aneuploid 때는 3.6~6.4이었다.

통계적처리는 Chi-square에 의하였으며 p값 0.05 미만일때 유의한 것으로 해석하였다.

## 결 과

폐암으로 확진되었던 109예에서 DNA ploidy 검사상 aneuploid는 50예 (45.9%), diploid 59예 (54.1%)이었으며, 소세포폐암 중에서는 14/31 (45.2%), 비소세포폐암 중에서는 36/78 (46.1%)가 aneuploid로서 (편평상피암 44.8%, 선암 35.7%) 세포형태 사이에 aneuploid의 발현빈도에 차이가 없었고, 고증식력군도 소세포폐암 11/25 (44.0%), 비소세포폐암 14/59 (23.7%)로서 소세포폐암에서 약간 많은 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았다 (Table 2).

Table 2. Distribution of DNA Ploidy in Patients with Lung Cancer

	Small cell		Non-small cell		Total
	No. (%)	Subtotal No. (%)	Squamous No. (%)	NSNSC No. (%)	No. (%)
DNA ploidy					
Di-	17 (54.8)	42 (53.9)	32 (55.2)	10 (50)	59 (54.1)
Aneu-	14 (45.2)	36 (46.1)	26 (44.8)	10 (50)	50 (45.9)
Proliferative activity					
High	11 (44.0)	14 (23.7)	11 (25.6)	3 (18.8)	25 (29.8)
Low	14 (66.0)	45 (76.3)	32 (74.4)	13 (81.2)	59 (70.2)

Table 3. Relationship of DNA Ploidy and Anatomical, Physiological Stage or Therapeutic Decision

		Small cell				Non-small cell				
				Subtotal		Squamous		NSNSC		
		D/A	HPA/ LPA	D/A	HPA/ LPA	D/A	HPA/ LPA	D/A	HPA/ LPA	
Anatomic stage	Limited	6/ 5	2/ 7	I	2/ 1	0/ 1	2/ 1	0/ 1	0/0	0/0
				II	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/0	0/0
	Extensive	11/ 9	9/ 7	IIIa	18/13	4/19	17/11	3/17	1/2	1/2
				IIIb	14/14	9/10	9/10	8/ 6	5/4	1/4
				IV	8/ 8	1/15	4/ 4	0/ 8	4/4	1/7
(p)	NS	NS	NS	(0.02)	NS	(0.01)	NS	NS		
PS score	0	1/ 1	2/ 0		2/ 4	0/ 4	1/ 3	0/ 3	1/1	0/1
	1	4/ 1	1/ 3		17/13	6/16	12/10	5/12	5/3	1/4
	2	7/ 8	5/ 9		8/ 7	3/ 9	7/ 5	3/ 6	1/2	0/3
	3	3/ 1	1/ 1		12/ 5	3/12	10/ 2	2/ 8	2/3	1/4
	4	1/ 2	1/ 0		2/ 3	1/ 2	1/ 3	1/ 1	1/0	0/1
(p)	NS	NS		NS	NS	NS	NS	NS	NS	
Therapy										
Operation only		0/ 0	0/ 0		1/ 3	1/ 2	1/ 3	1/ 2	0/0	0/0
Operation & irradiation		0/ 0	0/ 0		1/ 0	0/ 0	1/ 0	0/ 0	0/0	0/0
Operation & chemotherapy		0/ 0	0/ 0		1/ 0	0/ 1	0/ 0	0/ 0	1/0	0/1
Curative radiotherapy		0/ 0	0/ 0		8/ 9	3/11	8/ 8	3/10	0/1	0/1
Chemotherapy		10/11	7/11		6/ 4	1/ 3	3/ 3	1/ 2	3/1	0/1
Palliative radiotherapy		3/ 1	2/ 0		4/ 7	1/ 9	4/ 6	1/ 8	0/1	0/1
Conservative treatment		2/ 1	1/ 1		7/ 6	4/ 7	5/ 3	3/ 3	2/3	1/4
(p)		NS	NS		NS	NS	NS	NS	NS	NS

\* D : diploid, A : aneuploid, HPA : high proliferative activity, LPA : low proliferative activity, NS : no significant.

DNA ploidy와 해부적병기와의 상관관계는 소세포폐암은 diploid때 국한성병기가 6/17(35.3%), aneuploid 때 5/14(35.7%)로 차이가 없었고, 비소세포폐암에서도 diploid때 I/II/IIIa/IIIb/IV는 2/0/18/14/8에 비해 aneuploid 때는 1/0/13/14/8로서 차이가 없었으나 비소세포폐암에서 고증식력군 때는 저증식력군에 비해 해부적병기가 진행된 경우가 유의하게 많았다( $p < 0.05$ ). DNA ploidy와 생리적병기와의 관계는 통계적으로 유의하지 않았으며, 비소세포폐암에서 결정된 치료의 종류는 DNA ploidy에 따라 유의한 차이가 없었다(Table 3).

치료를 시행하고 8주 이상 지난 후 경과 관찰이 가능했던 58예에서 DNA ploidy에 따른 반응의 차이는 소세포폐암에서는 diploid때 부분관해 혹은 완전관해되는 반응을 58.3%로서 aneuploid때 45.5% 보다 약간 높은

경향이 있었으나 통계적으로 유의하지 않았고( $X^2=5.30, p=0.15$ ), 비소세포폐암에서는 무관하였으며, 고증식력군과 저증식력군 사이에도 유의한 차이가 없었다(Table 4). 그러나 해부적 병기에 따른 치료에 대한 반응의 차이는 소세포폐암에서는 통계적으로 유의하지는 않았지만 병기가 진행되었을 때 악화되는 경향이 있었고( $X^2=6.27, p=0.10$ ), 비소세포폐암에서는 제 3병기 이하에서는 완전관해된 경우가 6예, 부분관해 이상의 의의 있는 반응을 보인 경우가 11예로서 반응을 39.3%(11/28)를 나타내었으나 제 4병기에서는 모두 악화되어 해부적병기에 따라 유의한 차이를 나타내었다( $p < 0.005$ , Table 5). 생리적 병기와 치료에 대한 반응은 소세포폐암에서는 무관하였으나 비소세포폐암은 병기가 진행되었을 때 유의하게 악화되는 경향이 있었다( $p < 0.05$ , Table 6). 비소세포암중에서도 특히 편평상피암에서 해

Table 4. Relationship of DNA Ploidy and Response to Therapy

	Small cell				Non-small cell			
	D/A	HPA/LPA	Subtotal		Squamous		NSNSC	
	D/A	HPA/LPA	D/A	HPA/LPA	D/A	HPA/LPA	D/A	HPA/LPA
Complete Remission	4/0	1/2	3/3	1/3	2/3	1/2	1/0	0/1
Partial Remission	3/5	2/4	2/3	1/2	1/3	1/2	1/0	0/0
Stable	2/1	2/1	4/2	0/4	3/2	0/4	1/0	0/0
Progression	3/5	3/3	8/10	5/8	7/6	4/5	1/4	1/3
(p)	(0.15)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Table 5. Relationship of Anatomic Stage and Response to Therapy

	Small cell		Non-small cell	
	Limited/Extensive	Subtotal I/IIIIa/IIIIb/IV	Squamous I/IIIIa/IIIIb/IV	NSNSC IIIIa/IIIIb/IV
Complete Remission	2/2	2/4/0/0	2/3/0/0	1/0/0
Partial Remission	3/5	0/3/2/0	0/3/1/0	0/1/0
Stable	2/1	0/3/3/0	0/3/2/0	0/1/0
Progression	0/8	0/3/8/7	0/2/6/5	1/2/2
(p)	(0.10)	(0.005)	(0.01)	NS

Table 6. Relationship of Physiologic Stage and Response to Therapy

	Small cell		Non-small cell	
	1/2/3/4	Subtotal 1/2/3/4	Squamous 1/2/3/4	NSNSC 1/2/3/4
Complete Remission	1/2/1/0	6/0/0/0	5/0/0/0	1/0/0/0
Partial Remission	2/4/1/1	1/2/1/0	0/2/1/0	1/0/0/0
Stable	1/2/0/0	4/1/1/0	3/1/1/0	1/0/0/0
Progression	0/5/1/2	6/1/7/4	4/1/5/3	2/0/2/1
(p)	NS	(0.04)	(0.05)	NS

부적 생리적 병기와 관계가 있었고, 그외의 세포형은 증례수가 적어서 통계적 의의를 구할 수 없었다(Table 5, 6).

## 고 안

폐암은 미국 통계에서<sup>16)</sup> 남자의 암에 의한 사망 중 1위를 차지하고 여자에서도 유방암을 곧 추월한 것으로 보이며, 우리나라는 발생빈도가 아직 남자 3위 여자 6위

이지만 점차 증가되는 추세에 있는 무서운 병이다<sup>17,18)</sup>. 지난 20여년 동안 의학의 발전에도 불구하고 폐암에 의한 5년 생존율은 국한성병변이더라도 남자 30%, 여자 50% 정도가 거의 변화 없는 것으로 알려져 있는데<sup>19)</sup>, 새로운 치료방법이 개발되기 위해서는 이 병의 생물학적 특성등 여러가지를 이해할 필요가 있으며, 최근에 암세포의 DNA 함량을 측정하는 방법이 예후 평가에 도움이 되는 것으로 보고 되었다<sup>3-6,9,10)</sup>.

종양세포는 염색체에 이상이 생겨서 비정상적인 성장

을 하는 세포로서 그 핵이 과염색상을 나타내는 등 형태학적인 변화를 일으키는 이외에도 DNA 함량에 변화를 초래할 수 있는 것으로 밝혀졌다<sup>20)</sup>. 근래에 DNA 특이성 형광염색물질과 유체세포계산법이 발달함에 따라 비교적 쉽게 DNA 함량을 측정할 수 있게 되었고<sup>21)</sup>, 유체세포계산법은 유사분열시의 핵의 형태를 보는 방법과는 달리 세포의 증식력과는 무관하게 측정할 수 있는 장점이 있으며<sup>22)</sup>, 재생성이 높은 것으로 알려졌서<sup>23)</sup> 폐암의 예후를 평가하는 좋은 방법으로 임상에서 많이 이용될 수 있을 것으로 보인다.

DNA histogram상 얻을 수 있는 정보로는 DNA aneuploid 간세포열(stemline)의 유무, aneuploid 간세포열의 상대적 DNA양(DNA index), 전체세포 중의 증식분획(proliferative activity), 정상 DNA diploid G0/G1 보다 많은 DNA 양을 가진 세포(aneuploid)의 비율이 있는데<sup>7)</sup>, 저자들의 성적은 aneuploid를 나타낸 증례수가 적어서 DNA index와 aneuploid의 비율에 대한 통계는 제외하고 나머지 두가지만을 검토하였다. 일반적으로 DNA aneuploid 간세포열의 유무가 가장 재생성이 높아서 많이 쓰이며<sup>7)</sup>; 세포주기분석상 S 단계와 기타 증식분획의 측정은 종양세포가 아닌 세포의 혼합을 막을 수 없고, aneuploid 세포가 전체의 10% 이상, aneuploid G0/G1 최고점이 diploid 최고점으로부터 쉽게 분리될 수 있어야 하며, diploid 세포가 빨리 증식되지 않아야 측정이 잘 되고, 또 조직파편이 인공산물로 S 단계를 올릴 수 있는 등의 문제점이 있어서 증식력의 측정은 재생성이 낮은 방법으로 보인다<sup>24)</sup>. 종양세포만 선택적으로 검사하기 위해서 anticytokeratin 항체를 이용하는 방법이 있으나<sup>25)</sup> 널리 이용되지 못하고 있으며, 유체세포계산법 대신에 화상분석법(image processing)으로 검사할 수 있으나 처리 속도가 늦는 단점이 있다<sup>2)</sup>.

Aneuploid와 고증식력군의 발현빈도는 세포형태에 따라 유의한 차이가 없었다. Bunn등<sup>26)</sup>과 Barlogie등<sup>27)</sup>은 이전의 연구들에서 비소세포폐암에서 소세포폐암 보다 aneuploid 발현이 더 높았다고 하였으나 김등<sup>6)</sup>의 성적도 저자들과 마찬가지로 소세포암 61.5%, 비소세포암 57.1%로 차이가 없었다. 비소세포암 중에서는 Volm등<sup>9)</sup>은 편평상피암 76.2%(80/105), 선암 92.7%(51/55), Isobe등<sup>10)</sup>은 편평상피암 63.2%(36/57), 선암 88.2%(60/68)으로 편평상피암 보다 선암에서 aneuploid가 더 많은 것으로 보고하였다.

Sahin등<sup>28)</sup>은 비소세포폐암에서 aneuploid는 신선조직으로부터 검사한 성적은 74~100%로서 paraffin 포매조직으로부터 검사한 성적 55~65%에 비해 높다고 하였는데, 저자들의 신선한 포본으로부터 검사한 성적은 46.1%로 낮게 나타났다. 저자들은 조직을 이용하는 대신 술질하여 얻은 세포로 검사를 했기 때문에 암종괴로부터 직접 세포를 얻지 못하고 주위 정상조직으로부터 세포를 얻은 경우도 있어서 낮게 나왔을 수 있겠다. 실제로 술질 세포포본을 이용한 저자들 교실의 성적<sup>29)</sup>은 세포학적 암세포 검출율이 42.6%(23/54)로 낮게 나타났으며, 기관지세척액을 이용했던 Deinlein등<sup>30)</sup>의 성적은 암세포 검출율이 83.3%(25/30)이었다. 그러나 암세포는 정상세포에 비해 유착성이 낮기 때문에 쉽게 떨어져 나올 수 있으며, 따라서 침흡인에 의한 세포검사서 aneuploid가 생검조직에 의한 것보다 더 높게 나올 수도 있다<sup>31)</sup>. 좀더 정확한 것은 역시 생검조직 절편을 이용하여 할 것이나 임상적으로 비교적 쉽게 얻을 수 있는 술질 포본에 의한 성적도 좋은 정보를 줄 수 있을 것이다.

DNA ploidy는 위암<sup>4)</sup>과 설암<sup>5)</sup>에서 aneuploid 때 diploid 보다 해부적병기가 진행된 경우가 많았으나 폐암에 있어서는 저자들의 성적에서 처럼 김등<sup>6)</sup>, Sahin 등<sup>28)</sup>의 성적에서 해부적병기와 무관하였다. 그러나 van Bodegom등<sup>32)</sup>의 성적은 편평상피암에서 통계적 의의는 없었으나 aneuploid가 T1N0M0 병기 때는 38%, T2N0M0 62%로 높아졌으며, Zimmerman등<sup>33)</sup>의 성적에서는 수술을 시행한 비소세포폐암에서 diploid 때는 임파절 상태 N0/N1/N2가 45/10/0인데 비해 aneuploid 때는 29/9/7로서 aneuploid 때 유의하게 진행되어 있었고, 또한 저자들의 성적에서 증식력에 따라 분류했을 때 비소세포폐암에서 해부적병기와 유의한 관계에 있었다. 생리적병기와와의 관계는 김등<sup>6)</sup>의 성적과 마찬가지로 의의가 없었다. 치료방법은 소세포폐암은 항암화학요법이 주치료방법이고, 비소세포폐암은 수술이 안되면 근치적방사선치료, 그것도 안되면 항암화학요법이 권장되고 있어서<sup>8,19)</sup> 해부적 생리적 병기를 고려하여 결정하였는데 DNA ploidy에 따른 차이는 없었다.

치료에 대한 반응을 평가하는 것은 평균 생존기간이나 5년 생존율을 보아야 좀더 의의가 있을 것이나 저자들은 단기간의 반응만을 검토하였다. 소세포폐암의 치료에 대한 반응율은 제한성병기일 때는 86%, 진행성일 때 77%, 완전관해율은 각각 60%, 25%, 중앙생존기간은

51주, 33주로 보고되어 있으며<sup>8)</sup>, 저자들 성적도 증례수가 적어서 통계적 의의는 없었으나 제한성 병기일때 더 반응이 좋은 경향이 있는 것으로 보였다. 비소세포폐암에서 근치적 방사선 치료를 6000 cGy 이상 했을때 제 1 혹은 제 2병기<sup>34)</sup>는 5년 생존율이 20% 이상, 제 3병기<sup>8)</sup>는 6% ; 항암화학요법<sup>35)</sup>은 수술 전 신보강적 치료 (neoadjuvant therapy)일 경우는 반응을 50~70%, 전이성일때는 20~40%, 전이성에서 중앙생존기간<sup>8)</sup>은 20~31주, 보존 요법만 했을 때는 중앙 생존기간 14~17주로 보고되어서 치료방법과 해부적병기에 따라 예후에 차이가 있는 것으로 보인다. 저자들 성적은 증례수가 적어서 각 치료 방법에 있어서 해부적 병기와 치료에 대한 반응과의 관계를 보지는 못하고 전체를 대상으로 통계를 내어서 병기가 진행되지 않은 상태에서는 반응이 더 좋은 수술 혹은 방사선 치료를 시행하고 진행된 상태에서는 항암화학요법 혹은 보존요법을 시행하였던 영향이 많이 작용했을 것으로 보이지만 어떤 치료 방법으로 했는지 해부적병기에 따라 그 예후가 유의한 차이가 있었다.

생리적 병기도 대부분 해부적병기와 관련이 있어서 운동능력이 좋을수록 치료에 대한 반응, 생존기간이 더 좋은 것으로 보고되어 있으며<sup>36)</sup>, 저자들의 성적은 소세포폐암에서는 의의가 없었으나 비소세포폐암에서는 의의가 있었고, 해부적 병기와 마찬가지로 치료방법의 차이에 의한 영향이 있었던 것으로 보인다.

DNA ploidy에 따른 반응의 차이는 소세포폐암에서 diploid때 반응율이 aneuploid보다 약간 높았으나 통계적 의의가 없었다. Johnson등<sup>37)</sup>과 Abe등<sup>38)</sup>은 S 단계 분획이 높은 경우가 예후가 나쁜 것으로 보고하였으나 Bunn등<sup>24)</sup>과 Oud등<sup>39)</sup>의 성적은 생존기간에 차이가 없어서 소세포폐암에 대해서는 아직 논란이 있는 상태이다. 그러나 여러 연구에서 수술적 치료를 한 비소세포폐암은 aneuploid 혹은 고증식력을 나타내는 경우 생존기간이 짧은 것으로 보고되어 있다.<sup>9,33,40)</sup> 그 중에서도 편평상피암에서는 유의하지만 편평상피암 이외의 비소세포암<sup>28)</sup> 혹은 선암<sup>10)</sup>에서는 의의가 없는 것으로 보고되어서 세포형태에 따라 차이가 있는 것으로 보인다.

DNA ploidy가 폐암의 해부적병기에 어느 정도 관계가 있는 것으로 보이고, 해부적병기에 따라 예후가 다른 것은 이미 잘 알려져 있기 때문에 DNA ploidy가 예후에 미치는 영향은 해부적병기에 의해 크게 좌우될 것으로 보인다. 해부적병기와 세포 형태에 의한 영향을 피하

기 위하여 제 1병기로 수술한 편평상피암만을 대상으로 한 van Bodegom등<sup>32)</sup>의 성적에서는 6년 생존율이 diploid때 53%, aneuploid때 48%로 유의한 차이가 없었고, aneuploid 증양 때의 aneuploid 세포의 수가 10% 이상인 경우가 6년 생존율 35%로서 10% 미만 78%에 비해 유의하게 낮았다. 그러나 여러 학자들<sup>10,28,33,40)</sup>은 DNA ploidy가 해부적병기와는 독립적인 변수로서 예후에 영향을 끼치는 것으로 보고하였다.

저자들과 같이 기관지내시경에 의한 표본을 사용하고 방사선 치료와 보존적 요법을 시행한 경우들을 포함한 Ten Velde등<sup>41)</sup>의 성적에서는 DNA ploidy와 생존기간에 관계가 없었고, S 단계 분획이 17% 이상 높은 경우만 낮은 경우에 비해 예후가 나빴다. 저자들의 비소세포폐암을 대상으로 한 성적은 DNA ploidy나 S 단계분획 모두 의의가 없었는데, 여러가지 치료를 한 비소세포폐암 환자들 전체를 대상으로 하였고, 조직 대신 기관지 술질에 의한 세포학적 표본을 사용하였으며, 생존기간 대신 단기치료에 대한 반응만을 보았던 차이점들이 있어서 다른 결과가 나타났을 수 있겠다. 차후에 더 많은 환자를 대상으로 해서 각각의 치료방법에 따라 살펴보고, 조직 절편과 기관지 술질에 의한 세포학적 표본을 비교해 보며, 오랜 기간 관찰하여 생존기간의 차이에 대한 연구를 해볼 필요가 있는 것으로 생각되었다.

## 요 약

**연구배경 :** 수술을 시행했던 비소세포폐암에서 유체세포계산법 (flow cytometry)으로 DNA ploidy를 측정했을때 aneuploid 증양이 diploid 증양 보다 생존기간이 짧은 것으로 보고되어 있는데, 소세포폐암을 포함한 폐암에서 기관지 술질에 의한 세포학적 표본을 이용하여 측정한 DNA ploidy가 치료에 대한 반응을 잘 예측할 수 있을 것인지 알아보고자 연구를 하였다.

**방법 :** 기관지내시경검사시에 기관지 술질을 해서 얻은 표본으로 DNA ploidy 검사를 시행하였고 조직학적으로 폐암으로 확진되었던 109예를 대상으로 해부적 생리적 병기와 DNA ploidy와의 관계를 검토하였고, 치료를 시작한지 8주 이상 지나서 반응을 검토할 수 있었던 58예를 대상으로 DNA ploidy에 따른 반응의 차이를 검토하였다.

**결과 :**

1) 세포 형태에 따라 aneuploid 혹은 고중식력(S+G2M>22%)의 발현 빈도는 차이가 없었다.

2) DNA ploidy와 해부적 생리적 병기는 유의한 관계에 없었으나 비소세포폐암에서 고중식력군때는 저중식력군에 비해 해부적 병기가 진행된 경우가 많았다(p<0.05).

3) 치료에 대한 반응은 해부적 병기에 따라 차이가 있었으며(소세포폐암 p=0.10, 비소세포폐암 p<0.005), 생리적 병기에 따라서는 비소세포폐암에서만 차이가 있었다(p<0.05).

4) DNA ploidy와 증식력에 따라서는 치료에 대한 반응에 유의한 차이는 없었다.

**결론 :** 기관지 술절 표본을 이용하여 시행한 DNA ploidy 검사는 고중식력 유무가 해부적 병기와 관계가 있었으나 치료에 대한 단기 반응을 예측하는 데는 해부적 생리적 병기만큼 유용하지는 않았다.

**REFERENCES**

- 1) 김영진, 정현택, 조철균, 조영국 : 위암에서 DNA ploidy 형태의 분석. *외과학회지* 37:703, 1989
- 2) 김수성, 이재혁, 정상우, 유주용 : 기관지암 세포의 DNA 배수성에 관한 화상분석학적 연구. *대한병리학회지* 25:238, 1991
- 3) 위구복, 김영진, 조영국 : 결장 및 직장암에서 DNA ploidy와 임상적 병리학적 양상과의 관계. *대한대장항문병학회지* 6:13, 1990
- 4) 최성규, 유종선, 윤종만, 정상우 : 화상분석법에 의한 위암의 DNA ploidy의 분석 및 위암의 예후에 미치는 영향에 관한 연구. *대한내과학회잡지* 41:6, 1991
- 5) 이삼열, 박상희, 박윤규, 이광민, 정현택 : 설암에서 DNA ploidy의 예후인자로서의 중요성. *대한의학협회지* 34:989, 1991
- 6) 김안명, 김동용, 이건화, 장근, 정은택, 정현택 : 원발성폐암환자에 있어서 종양세포의 DNA 배수성과 생존기간과의 관계. *대한내과학회잡지* 41:487, 1991
- 7) Herman CJ, Walloch J: Chapter 10, DNA analysis of solid tumors: practical value. In: Coon JS, Weinstein RS (Eds.) *Diagnostic flow cytometry*. p 135, Baltimore, Williams & Wilkins, 1991
- 8) Minna JD, Pass H, Glatstein E, Ihde DC: Chapter 22, Cancer of the lung. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA (Eds.) *Cancer principles & practice of*

- oncology*. 3rd Ed, p591, Philadelphia, JB Lippincott Co, 1989
- 9) 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
- 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-small cell lung cancer. *Cancer* 65:1391, 1990
- 11) Mountain CF: Clinical biology of small cell carcinoma: Relationship to surgical system. *Semi Oncol* 5:272, 1978
- 12) Mountain CF: A new international staging system for lung cancer. *Chest* 89:225s, 1986
- 13) Stanley KE: Prognostic factors for survival in patients with inoperable lung cancer. *JNCI* 65:25, 1980
- 14) Evans WK, Shepherd FA, Feld R, Osoba R, Dang P, Deboer G: VP-16 and cisplatin as first line chemotherapy for small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 3: 1471, 1985
- 15) Littlewood TJ, Smith AP, Anderson G, Chappell AG, James KW: Cisplatin and etoposide alternating with vincristine, doxorubicin and cyclophosphamide in patients with small cell lung cancer. *Eur J Respir Dis* 67:294, 1985
- 16) Silverberg E: Cancer statistics, 1988. *CA* 38:5, 1988
- 17) 보건사회부 : 한국인 암등록 조사자료 분석 보고서 (1980. 7. 1~1983. 6. 30). *대한암학회지* 16:73, 1984
- 18) 보건사회부 : 한국인 암등록 조사자료 분석 보고서 (1982. 7. 1~1987. 6. 30). *대한암학회지* 21:151, 1989
- 19) Minna JD: Chapter 215, Neoplasms of the lung. In: Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Martin JB, Fauci AS, Root RK (Eds.) *Harrison's principles of internal medicine*. 12th Ed, p 1102, NewYork, McGraw-Hill Inc, 1991
- 20) Atkin NB, Kay R: Prognostic significance of modal DNA value and other factors in malignant tumors based on 1465 cases. *Br J Cancer* 40:210, 1979
- 21) Krishan A: Rapid flow cytofluorometric analysis of mammalian cell cycle by propidium iodide staining. *J Cell Biol* 66:188, 1975
- 22) Crissman HA, Mullaney PF, Steinkamp JA: Methods and application of flow systems for analysis and sorting of mammalian cells. *Methods Cell*



- Biol 9:179, 1975
- 23) Vindelov LL, Christensen IJ, Jensen G, Nissen NI: Limits of detection of nuclear DNA abnormalities by flow cytometric DNA analysis. Results obtained by a set of methods for sample storage, staining and internal standardization. *Cytometry* 3:332, 1983
  - 24) Coon JS, Weinstein RS: Chapter 9, Evaluation of solid tumors by flow cytometry: Methods and interpretation. In: Coon JS, Weinstein RS (Eds.) *Diagnostic flow cytometry*. p 115, Baltimore, Williams & Wilkins, 1991
  - 25) Feitz WFJ, Beck HLM, Smeets AWGB, Debruyne FMJ, Vooijs GP, Herman CJ, Raunekers FCS: Tissue-specific markers in flow cytometry of urologic cancers: Cytokeratins in bladder carcinoma. *Int J Cancer* 36:349, 1985
  - 26) Bunn PA Jr, Carney DN, Gazdar AF, Whang-Peng J, Matthews MJ: Diagnostic and biologic implications of flow cytometric DNA content analysis in lung cancer. *Cancer Research* 43:5026, 1983
  - 27) Barlogie B, Raber MN, Schumann J, Johnson TS, Drewinko B, Swartzendruber DE, Goehde W, Andreeff M, Freireich EJ: Flow cytometry in clinical cancer research. *Cancer Research* 43:3982, 1983
  - 28) 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. Ploidy as a significant prognostic indicator in squamous cell carcinoma of the lung. *Cancer* 65:530, 1990
  - 29) 이신석, 최인선, 양재범, 박재희, 정익주, 강유호, 박경옥 : 폐암 진단에 있어서 기관지 술질 표본의 DNA 검사의 의의. *대한내과학회잡지(부록 I)* : 105, 1991
  - 30) Deinlein E, Sanders U, Greinder C, Hornstein OP: Diagnostic significance of flow cytometric DNA analysis applied for the detection of cancer cells in bronchial washing fluid. *Anal Quant Cytol Histol* 10:360, 1988
  - 31) Greenebaum E, Koss LG, Sherman AB, Elequin F: Comparison of needle aspiration and solid biopsy technics in the flow cytometric study of DNA distributions of surgically resected tumors. *Am J Clin Pathol* 82:559, 1984
  - 32) Van Bodegom PC, Baak JPA, Galen CS, Schipper NW, Wisse-Brekelmans ECM, Vanderschueren RGJRA, Wagenaar SSC: The percentage of aneuploid cells is significantly correlated with survival in accurately staged patients with stage I resected squamous cell lung cancer and long-term follow up. *Cancer* 63:143, 1989
  - 33) Zimmerman PV, Hawson GAT, Bint MH, Parsons PG: Ploidy as a prognostic determinant in surgically treated lung cancer. *Lancet* 530, 1987
  - 34) Smart J: Can cancer of the lung be cured by radiation alone? *JAMA* 195:1034, 1966
  - 35) Gralla RJ: Issues and agents in the chemotherapy of non-small cell cancer. *Mediguide Oncol* 5:1, 1985
  - 36) Ihde DC, Makuch RW, Carney DN, Bunn PA, Cohen MH, Matthews MJ, Minna JD: Prognostic implication of sites of metastases in patients with small cell carcinoma of the lung given intensive combination chemotherapy. *Am Rev Respir Dis* 123:500, 1981
  - 37) Johnson TS, Valdivieso M, Barlogie B, Jefferies D, Williamson K, Keating M: Flow cytometric ploidy and proliferative activity in human small cell lung carcinomas: potential diagnostic and prognostic features. *Proc Am Assoc Cancer Res* 24:124, 1983
  - 38) Abe S, Makimura S, Itabashi K, Nagai T, Tsuneta Y, Kawakami Y: Prognostic significance of nuclear DNA content in small cell carcinoma of the lung. *Cancer* 56:2025, 1985
  - 39) Oud PS, Pahlplatz MMM, Beck JLM, Wiersma-van Tilburg A, Wagenaar SJ, Vooijs GP: Image and flow DNA cytometry of small cell carcinoma of the lung. *Cancer* 64:1304, 1989
  - 40) Volm M, Hahn EW, Mattern J, Müller T, Vogt-Moykopf I, Weber E: Five-year follow-up study of independent clinical and flow cytometric prognostic factors for the survival of patients with non-small cell lung carcinoma. *Cancer Research* 48:2923, 1988
  - 41) Ten Velde 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