

□ 원 저 □

## 폐암 진단에 있어서 기관지솔질표본의 DNA 배수성 검사의 의의

전남대학교 의과대학 내과학교실, 해부병리학교실\*

김영철 · 이신석 · 정의주 · 강유호 · 최인선 · 박경옥 · 정상우\*

=Abstract=

### Analysis of DNA Ploidy with Bronchoscopic Brushing Specimen as A Diagnostic Aid for Lung Cancer

Young Chul Kim, M.D., Shin Seok Lee, M.D., Ik Joo Chung, M.D., Yu Ho Kang, M.D.,  
In Seon Choi, M.D., and Kyung Ok Park, M.D. and Sang Woo Juhng, M.D.\*

Department of Internal Medicine, and Department of Pathology\*  
College of Medicine, Chonnam University, Kwangju, Korea

**Objectives and Methods :** The presence of aneuploidy or high proliferative activity in cytologic specimens is considered as complementary for the diagnosis of malignancy. To evaluate the diagnostic usefulness of DNA ploidy and cell cycle analysis in lung cancer, we compared the diagnostic yielding rates of DNA ploidy test by brushing specimens using flow cytometry with bronchoscopic forceps biopsy and brushing cytology.

**Results :** Of the seventy-six cases, 55 cases proved to have malignant diseases(squamous cell cancer: 27, adenocarcinoma: 7, large cell cancer: 1, undifferentiated: 4 and small cell cancer: 16). The incidence of aneuploidy in lung cancer patients was 32.7%(18/55), as opposed to no cases in benign disease. And the proportion of high proliferative activity( $S+G2M > 22\%$ ) in lung cancer patients was 42.9%(15/35), but none in benign diseases. In fifty-six of 75 cases(74.7%), cytology of brushing specimens and DNA analysis(either aneuploidy or high proliferative activity vs. diploidy and low proliferative activity) were in concordance. The sensitivity with only brushing cytology was 41.8%(23/55), but with the addition of DNA analysis, it was increased to 56.4%(31/55), without decreasing the specificity(100%). And there was a case whose clue for malignancy was absent except aneuploidy, and he was confirmed to have squamous cell cancer following open thoracotomy. There were no differences in the frequency of aneuploidy or high proliferative activity between histologic subtypes of bronchogenic malignancy.

**Conclusions :** The diagnostic detection rate of lung cancer was improved with the addition of DNA ploidy and cell cycle analysis, and the presence of aneuploidy or high proliferative activity was a relatively specific indicator of malignant disease. It would be useful to test DNA ploidy and

\*이 논문은 1993년도 전남대학교병원 임상연구비의 일부 보조로 이루어 졌음.

cell cycle analysis with brushing specimen for the diagnosis of bronchogenic malignancy particularly in patients whose biopsy specimen could not be obtainable.

**Key Words** : DNA ploidy, Proliferative activity, Diagnosis, Lung Cancer

## 서 론

폐암은 특히 비소세포 폐암의 경우 현재까지 근치적 절제술이 최선의 치료 방법으로 알려져 있으나, 대부분 발전당시에 이미 수술적 절제가 불가능한 진행된 병기에서 진단되는 경우가 많은 실정이다. 반면에, 수술적 치료가 가능한 낮은 병기의 폐암은 기관지 내시경이나 폐침흡인생검등을 시도하여도 조직학적, 세포학적인 진단을 얻기가 어려운 경우들이 많다.

악성종양의 진단방법으로 조직에서의 핵산배수성(DNA ploidy)검사가 이용되는데, 악성종양의 세포는 핵산의 양에 있어서 이수배수체(이하 aneuploidy)를 나타내거나, 세포주기 분석상 S phase와 G2/M phase에 있는 세포의 수자가 많은, 즉 고증식력을 보이는 특성이 있다. 따라서 악성종양조직에서는 DNA의 이수 배수성이나 고증식력 소견을 보일 수 있지만, 양성 질환에서는 아주 낮은 빈도로 나타나기 때문에, DNA ploidy 검사는 악성 종양의 진단방법으로서 많은 검토가 이루어지고 있다. 그러나 아직까지 기관지 솔질표본을 이용한 DNA ploidy 검사의 진단적 의의에 대한 보고는 없기 때문에, 저자들은 기관지 솔질 표본을 유체세포계산법(Flow cytometry)을 이용하여 aneuploidy나 증식력의 정도를 측정함으로서 폐암의 진단율을 높일수 있는가를 검토하고자 하였다.

## 대상 및 방법

1991년 1월부터 12월까지 전남대학교 병원 내과에 내원하여 폐암을 의심하여 기관지 내시경 검사를 시행하면서 동시에 기관지 솔질을 해서 얻은 표본으로 DNA ploidy 검사를 시행하였던 76예를 대상으로 하였다. 이들의 평균연령은  $59.3 \pm 9.9$ 세, 남자 61예, 여자 15예였고, 흡연력이 있었던 경우가 62예, 없었던 경우는 14예 이었으며 흡연력이 있었던 62예에서 흡연정도는  $32.1 \pm$

22.5 pack · years이었다.

대상환자 76예 중 55예는 악성 폐종양으로, 21예는 양성질환으로 진단되었다. 폐암으로 진단되었던 55예는 기관지 내시경을 이용한 조직검사(경기관지폐생검 포함)에서 47예(85.5%), 기관지 솔질 세포진검사에서 23예(42.6%), 경피적 폐흡인으로 4예(7.3%), 림프절 생검으로 5예(9.1%)에서 진단되었으며, 폐암군은 양성질환군에 비해 남자(남/여: 49/6 vs 9/5)의 비율이 높았고, 흡연자의 빈도(흡연자/비흡연자: 49/6 vs. 9/5)나 흡연의 정도( $43.1 \pm 17.9$  vs.  $23.9 \pm 10.2$  pack.years)가 유의하게 높았다(Table 1).

DNA Ploidy 검사는 Citrate 완충용액(Trisodium citrate dehydrate 0.882gm, Nonidet-P40 1ml, Spermine 4HCL 0.522gm, Tris(hydroxymethyl) aminomethane 0.060gm/1000ml, pH 7.6)에 기관지 솔질로 얻은 표본을 흔들어 넣고, 이것을 60 $\mu$ m구경의 나일론 그물을 통해 여과시켜서 여과액내의 유리세포수가 10만~50만/ml가 되도록 만든 다음 trypsin을 넣어 세포질을 용해시키고, trypsin억제제와 RNAase혼합액을 작용시켰다<sup>1~3)</sup>. Propidium iodide-용액으로 DNA를 염색시킨 후 FACScan(Fluorescent Activated Cell Scanner, Becton Dickinson Immunocytometry System, USA)을 이용하여 488nm의 argon laser로 자극하여 발산된 형광의 강도를 channel 수로 표시하였으며, 조직 파편 분획과 배경소음을 제거하기 위해 BDIS의 Consort 30 program을 이용하였다. DNA histogram상 닦적혈구(crbc) 최고 점의 2.9배 되는 channel의 수를 DNA index(DI)=1이라 하고, DI가  $1 \pm 2SD$ 인 0.95~1.05에 있는것을 diploid G0/G1 peak로, DI가  $2 \pm 2SD$ 인것을 diploid G2/M peak로, 그리고 G0/G1 peak와 G2/M peak사이에 있는 것을 S phase로 정의하여 이러한 간세포열(stem line)만을 보이는 경우들을 DNA diploid로 정의하였고, 기타의 다른 peak를 보이는 경우들을 DNA aneuploid라 하였다<sup>4)</sup>. 세포주기 분석결과 G0/G1단계가 78% 미만이고 S와 G2M단계가 22% 이상인 경우를 고

Table 1. Clinical Characteristics of Patients

	Lung cancer	Benign	Total
No of Patients	55	21	76
Age(years)	61.3±8.2*	54.0±12.1	59.3±9.9
Sex(Male/Female)	49/6**	12/9	61/15
Smoking (Smoker/Non)	49/6*	13/8	62/14
(pack.years) <sup>☆</sup>	43.1±17.9**	25.0±11.3	39.3±18.2

\* p<0.05, \*\* p<0.01 ☆ in smokers

증식력군(High proliferative activity, 이하 HPA)이라 하고, 그렇지 않은 경우를 저증식력군(low proliferative activity, 이하 LPA)이라 하였다<sup>5)</sup>.

Aneuploid종양에서 각 단계 비율의 계산은 각 간세포 열내에서 분획 단계의 백분율과 해당 간세포열의 분획을 곱한 값들의 합으로 산출하였으며, G0/G1 최고점의 변이계수(CV)는 diploid때는 5% 미만, aneuploid때는 3.6~6.4이었다.

성적의 통계적 분석은 chi-square, Student's t-test와 비율검정을 이용하였고, 유의성은 p<0.05로 하였다.

## 결 과

전체 대상 환자 76례중 DNA 배수성 검사에서 diploid는 58예(76.3%), aneuploid는 18예(23.7%)를 보였다. 폐암으로 확진되었던 55예중에서 diploid는 37예(67.3%), aneuploid는 18예로 폐암환자에서 aneuploid의 빈도는 32.7%이었다. 그러나 양성으로 확인된 21예에서는 모두 diploid였고, aneuploid는 1예도 없었다 (Table 2).

대상 환자중 48예에서 세포주기 분석이 가능하였는데, 이들중 35예의 폐암환자에서 고증식력(HPA)을 보인 경우는 15예(42.9%)였으나 양성 질환 13예에서는 고증식력을 보인 경우가 없었다(p<0.05) (Table 3).

위의 두가지 척도를 함께 이용하여 aneuploid나 고증식력을 보인 경우를 양성(positive)으로, diploid와 저증식력을 보이는 경우는 음성(negative)으로 하였을 때, DNA 분석에서 양성은 55예의 폐암환자중 20예로 민감도는 36.4%, 음성 예측도(negative predictive value:

Table 2. Comparison of DNA Ploidy Pattern between Patients with Lung Cancer and Benign Disease

	Lung cancer	Benign diseases	Total
Diploid	37 (67.3%)	21 (100%)	58 (76.3%)
Aneuploid	18 (32.7%)		18 (23.7%)

$\chi^2=9.01$ , p<0.05

Table 3. Comparison of Cell Cycle Analysis Between Patients with Lung Cancer and Benign Disease

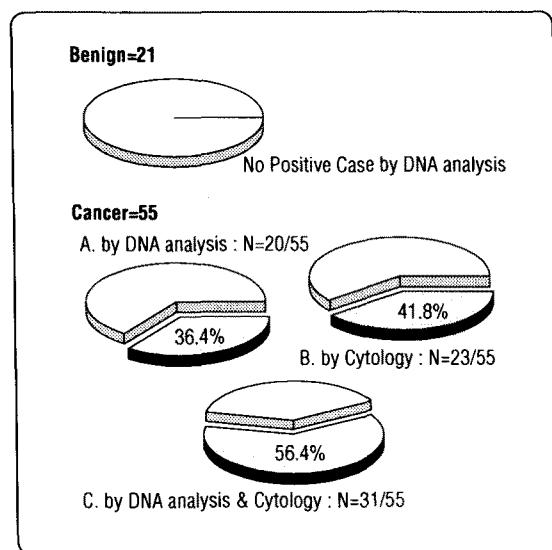
	Lung cancer (N=35)	Benign diseases (N=13)	Total (N=48)
Phase(% mean±SD)			
G0/G1	75.2±17.9***	91.8±3.1	79.7±17.1
S	18.3±14.7***	6.5±2.9	15.1±13.7
G2M	6.5±5.6***	1.6±0.6	5.2±5.3
Proliferative Activity(Number of Patients)			
low	20(57.1%)*	13(100%)	33(68.8%)
high	15(42.9%)	0	15(31.2%)

\* p<0.05 \*\*\* p<0.001

Benign=21/Diploid & 저증식력=56)는 37.5%, 특이도 및 양성 예측도(positive predictive value)는 100%였다 (Fig. 1.A.).

폐암으로 진단되었던 55예중 23예(41.8%)는 기관지 내시경을 통한 세포진검사에서 양성이었고, 20예(36.4%)에서는 DNA 검사상 aneuploidy나 고증식력을 보여서, DNA검사와 세포진검사간에 진단율의 차이는 없었고(비율검정:p=0.20), 세포진검사와의 일치율(concordance rate)은 전체 75예중 56예(검사양성:12예, 검사음성:44예)로 74.7% 였다(Table 4).

폐암환자는 기관지 내시경을 통한 조직검사로써 대부분 진단되었던 경우들이었으나, 이들에서 기관지 솔질 표본을 이용한 세포진검사 민감도는 55예중 23예로 41.8%(Fig. 1.B.)이었는데, 세포진검사 음성이지만 aneuploidy로 나온 경우를 더하면 52.7%(29/55)로 세포진 검사만의 진단율보다 높아짐을 볼 수 있었다. 세포주기



**Fig. 1.** Cancer Detection Rate improved by addition of DNA analysis.

분석이 되었던 경우들 중에서 세포진검사 민감도는 34 예중 14예로 41.2%이었으나, aneuploidy를 보인 경우를 더하였을 때 58.8%(20/34), aneuploidy 대신 고증식력을 보인 경우를 더하면 61.8%(21/34), 세가지 중 하나라도 양성인 경우는 64.7%(22/34)로 세포진검사 단독의 경우보다 민감도가 높아짐을 볼수 있었다. 또한 종합하여, DNA 검사에서 양성(aneuploidy or high proliferative activity)을 보인 경우와 세포진검사 양성을 함께 이용하였을 때, 민감도는 56.4%(31/55)로 세포진 검사 만의 민감도 41.8%(23/55)에 비교하여 유의한 차이(비율검정,  $p<0.05$ )로 높아짐을 볼 수 있었고, 음성 예측도(Benign=21/Diploid & 저증식력 & 세포진검사 음성=45)는 46.7%, 특이도는 100%였다(Fig 1.C).

기관지 내시경하에서 조직을 얻지 못하였거나, 조직 소견에서 특이 소견이 없었고 후에 폐암으로 확인되었던 경우들은 8예가 있었는데(Table 5), 이들중 2예(#1 & #2 증례)는 기관지 솔질 세포진검사에서 양성을 보였고, 한 예(#1)는 aneuploid와 고증식력을 보였다. 또 다른 1예(#3)는 기관지 내시경을 통한 조직 검사, 솔질표본 세포진검사, 경피적 폐흡인술에서 모두 음성이었으나 DNA 검사상 aneuploid와 저증식력을 보였으며, 이 환자는 절제수술후 편평상피세포 폐암으로 확진 되었

**Table 4.** Results of Tumor Cell Cytology According to DNA Ploidy and Proliferative Activity in Cell Cycle Analysis

Cytology DNA analysis	Positive	Negative
Aneuploid or HPA	12	8
Diploid and LPA	11	44

Total Concordance Rate : 56/75=74.7%

LPA : Low proliferative activity

HPA : High proliferative activity

**Table 5.** List of Patients who had no Yields from Bronchoscopic Biopsy or Trans-bronchial Lung Biopsy

No.	Age	Sex	Tissue	Cytology	ploidy	PA#
1	49	F	ad	positive	aneuploid	HPA
2	55	M	sq	positive	diploid	○
3	55	M	sq	negative	aneuploid	LPA
4	64	M	sq	negative	diploid	LPA
5	64	M	ad	negative	diploid	LPA
6	64	M	ad	negative	diploid	LPA
7	51	M	sm	negative	diploid	LPA
8	56	M	ad	negative	diploid	○

☆ sq: squamous cell ca.,

ad: adenocarcinoma, sm: small cell ca.

# Proliferative Activity

LPA : Low proliferative activity,

HPA: High proliferative activity

○ not examined

다. 그리고 나머지 5예(#4~8)는 경피적 폐흡인이나 텁프절 생검으로 진단되었던 경우들이었으나, 이들 모두 솔질 세포진검사는 음성이었고, diploid와 저증식력을 보였다.

폐암 환자의 조직형에 따라 DNA Ploidy와 증식력을 분류하였을 때(Table 6), aneuploid의 빈도는 편평상피암 25.9%, 선암 28.6%, 소세포암 31.3%로 조직형 분류상 유의한 차이는 없었으나, 미분화세포암의 경우에는 4 예 모두 aneuploid를 보였다. 또한 비소세포암과 소세포

**Table 6. Comparison of Ratios of Aneuploid or High Proliferative Activity(HPA) between Non Small Cell Lung Cancer and Small Cell Lung Cancer**

Aneuploid	HPA
Non-small cell carcinoma	13/39 (33.3%) 9/24 (37.5%)
Epidermoid	7/27 (25.9%) 4/16 (25.0%)
Adenocarcinoma(including alveolar cell carcinoma)	2/7 (28.6%) 1/4 (25.0%)
Large cell	0/1 0
Undifferentiated	4/4 (100%) 4/4 (100%)
Small cell carcinoma	5/16 (31.3%) 6/11 (54.5%)

$\chi^2=0.33$ ,  $p>0.1$

**Table 7. Relationship between DNA Ploidy and Cytology in 54 Patients with Lung Cancer**

Malignant cell	DNA Ploidy	
	Aneuploid	Diploid
Positive	12 (66.7/52.2) <sup>☆</sup>	11 (30.6/47.8)
Negative	6 (33.3/19.4)	25 (69.4/80.6)

$\chi^2=5.01$ ,  $p<0.05$

☆ :column percentage(%)/row percentage(%)

암으로 구분하였을 때에도 aneuploid는 비소세포암 33.3%, 소세포암 31.3%로 유의한 차이는 없었고, 종식력의 정도에 있어서 비소세포암은 37.5%, 소세포암은 54.5%에서 고종식력을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었고, 역시 미분화암에서 4예 모두 고종식력을 보였다.

폐암 환자중 기관지 솔질 표본을 이용한 세포진검사가 되었던 54예에서 세포진검사의 민감도를 DNA ploidy의 양상에 따라 비교하였을 때 aneuploidy 18예 중 12 예에서 세포진검사에서 양성을 보여 66.7%의 민감도를 보였으나, diploid는 36예 중 11예(30.6%)로 aneuploid에서 세포진검사의 민감도가 유의하게 높았다( $p<0.05$ ) (Table 7).

또한 기관지 내시경을 이용한 솔질 세포진검사와 세

**Table 8. Relationship between Proliferative Activity in cell cycle analysis and Cytology in 34 Lung Cancer Patients**

Malignant cell	Proliferative Activity	
	High (n=15)	Low (n=19)
Positive	8 (53.3) <sup>☆</sup>	6 (31.6)
Negative	7 (46.7)	13 (68.4)

$\chi^2=0.86$ ,  $p=0.35$  ☆: percentage %

**Table 9. Relationship between Ploidy and Proliferative Activity in 35 Lung Cancer Patients**

Proliferative Activity	Ploidy	
	Aneuploid (n=16)	Diploid (n=19)
High	13 (81.3) <sup>☆</sup>	2 (10.5)
Low	3 (18.8)	17 (89.5)

$\chi^2=15.0$ ,  $p<0.005$  ☆: percentage (%)

포주기 분석을 함께한 경우들을 비교하였을 때, 고종식력군 15예 중 8예(53.3%)에서 기관지 솔질 세포진검사 양성을 보였고, 저종식력군은 19예 중 6예(31.6%)를 보여 고종식력을 보인 경우들의 솔질표본 세포진검사 민감도가 높은 경향이 있었으나, 통계적으로 유의한 차이는 아니었다( $p=0.35$ )(Table 8).

DNA ploidy와 세포주기 분석이 동시에 되었던 35예의 폐암 환자에서 ploidy에 따른 종식력의 차이를 비교하였을 때 종식력을 나타내는 S와 G2M분획의 합이 diploid군 19예에서  $12.9 \pm 6.9\%$ , aneuploid군 16예에서는  $39.0 \pm 16.8\%$ 를 보여 aneuploid군에서 유의하게( $p<0.001$ ) 종식력이 높았고, 고종식력을 보이는 경우는 aneuploidy 81.3%(13/16), diploid 10.5%(2/19)로 aneuploid군에서 유의하게 많았다( $p<0.005$ )(Table 9).

## 고 찰

폐종양의 조직진단을 위하여 기관지 내시경을 이용한 감자 생검, 솔질 혹은 세척 세포진 검사, 그리고 세침흡

인법 등을 시행하고 있으나 이러한 어떤 검사로도 조직학적 또는 세포학적인 악성종양의 증거를 발견할 수 없는 경우들을 상당 수 보게 된다.

그러나 종양세포는 핵산의 양에 있어서 aneuploid를 보인다거나 G2/M과 S phase의 분획이 많은 특성이 있어서 이러한 소견을 이용하여 진단률을 높일 수 있을 것으로 기대할 수 있는데, 과거의 화상분석법으로는 검사가 쉽지 않았던 점과 검체에 대한 제약 등의 이유로 쉽게 이용되어 오지 못하다가, 최근에 유세포분석기(Flow cytometry)의 개발로 진단방법이나 예후 추정 등의 목적으로 DNA ploidy를 이용한 연구들이 가속화 되었다. 또한 유세포분석법은 신선조직 뿐만 아니라 파라핀(paraffin) 포매조직, 세포진검사용 검체등 많은 검체들을 이용할 수 있어 후향적인 분석 또한 가능하여 더욱 가치 있는 검사방법으로 이용되고 있다.

일반적으로 aneuploid의 존재는 몇몇 양성질환에서도 보고가 되고 있기 때문에<sup>6,7)</sup>, 고형암의 진단에 있어서 aneuploid의 존재가 악성종양에 대한 유일한 증거가 될 수는 없다고 할 수 있다<sup>8)</sup>. 그러나 조직을 얻기 어려운 경우에는 여러 가지 세포학적 진단 방법을 이용하게 되는데, 객담검체, 세침흡인에 의한 검체, 그리고 자궁에서의 세포진 검체 등에서 aneuploid의 유무를 보는 방법은 검사에 따른 위험도가 적고 비교적 쉽게 할 수 있는 방법이며, 세포학적 진단이 어려운 경우에서도 aneuploid나 고증식력을 보인다면 악성종양을 시사할 것이므로, 보조적인 진단방법으로서의 역할을 기대하여 많은 연구들이 있어왔다<sup>9~15)</sup>.

Klein 등<sup>9)</sup>은 방광암을 수술한 후에 소변의 세포진검사나 방광경검사에서 정상 소견을 보인다고 하여도 aneuploid를 보이는 경우들은 후에 재발하였다고 보고하면서, 방광암의 수술후에 소변의 세포학적 검사와 더불어 유세포분석기를 이용한 DNA 배수성검사의 유용성을 주장하였다. 이외에도 자궁경부암에 있어서는 방사선허우의 이형성증(dysplasia)을 보이는 경우들에서 재발과 예후를 판단하는 지표로써 DNA ploidy 검사의 역할이 강조되고 있으며<sup>10)</sup>, 흉막삼출액에서는 악성삼출액의 진단률을 높일 수 있고<sup>11)</sup>, 그외에도 뇌척수액, 갑상선 세침흡인검사, 고환 세침흡인 검사등에서도 진단목적으로 DNA ploidy검사의 사용이 시도되어 왔다<sup>8)</sup>.

폐암 진단을 위한 DNA 분석의 적용으로 Aufferman 등<sup>12)</sup>은 객담세포진검사와 더불어 DNA ploidy를 동시에 검사하였을 때, dysplastic squamous cells 소견과 함께 aneuploid를 보이는 경우들은 후에 악성 폐종양으로 진단 되었으나, dysplastic squamous cells를 보이더라도 diploid를 보이는 경우는 악성종양이 없었다고 하였다.

저자들의 시도는 기관지 내시경하에서 조직생검이 어려워서 세포학적 진단에만 의존하는 경우에 세포학적 진단에 부가하여 기관지 솔질표본을 이용한 DNA ploidy검사가 폐암의 진단율을 높일 수 있는가를 검토하고자 한 것이다. 이와 비슷한 시도로서, Blondal 등<sup>13)</sup>은 254예의 기관지 세척액에서 세포진검사와 single cell cytophotometry를 동시에 시행하여, DNA 분석이 민감도에 있어서 세포진검사의 40%와 큰 차이가 없는 37%를 보였고 99%의 특이도를 보였으며, 세포진검사에 DNA 분석을 추가함으로써 민감도를 46%로 높일 수 있었다고 하였다. Deinlein 등<sup>14)</sup>은 기관지 세척액에서 DNA ploidy를 측정하여 aneuploidy나 고증식력을 보이는 경우들을 양성(陽性)이라고 할 때, 세포진검사와 비슷하게 83%의 폐암환자들에서 민감도를 보였고, 위 양성을 보인 빈도도 세포진검사와 비슷하여, 세포진검사와 더불어 보조적인 진단방법으로 유용함을 보고하였다. 또한 Yoss 등<sup>15)</sup>도 역시 기관지 세척액에서 DNA ploidy를 측정하여 aneuploid의 출현은 높은 특이도를 보였다고 하였으며, 낮은 민감도를 극복하기 위한 시도로써 diploid peak에 숨어있는 aneuploid population을 감지하여 추가하려는 목적으로 LDH 5.0 mm라는 척도를 만들어서 이용하기도 하였다.

기관지 세척액이 아닌 기관지 솔질 표본을 이용하였던 저자들의 성적에서는, 폐암으로 확진되었던 환자들에서 세포진검사만의 민감도는 41.8%였으나 aneuploid나 고증식력을 보인 경우는 36.4%로 세포진검사만의 진단율에 미치지는 못하였다. 그러나 세포진검사만의 민감도(41.8%)에 aneuploidy로 나온 경우를 더하면 52.7%, 여기에 고증식력이 있었던 경우들을 더하였을 때는 위양성율의 증가없이, 진단율이 56.4%로 증가하여 세포진검사에 부가하여 진단율을 높일 수 있었던 결과로 해석된다.

그러나 저자들의 성적은 대부분 기관지 내시경하에서

조직생검이 가능하였던 경우들이어서 기관지 내시경 조직생검과 세포진검사에서 모두 음성이었던 경우들 중 1예는 aneuploid만이 유일한 폐암의 증거이었던 경우이고, 나머지 5예는 diploid와 저증식력을 보였던 경우들이었다. 따라서 6예중 1예에서 DNA검사를 추가한 가치가 있었던 결과이나, 이러한 자료만으로 기관지 내시경 솔질 표본을 이용한 DNA 검사의 진단적 가치를 결론짓기에는 불충분한 소견이어서, 기관지 내시경하에서 조직 검사를 시행할 수 없는 경우들을 대상으로 DNA 검사의 의의를 추후로 더 관찰할 필요가 있을 것으로 생각된다.

Aneuploid를 보인 경우들과 고증식력을 보인 경우들에서 세포진검사의 민감도가 높게 나타나는 것을 볼 수 있는데, 이를 역으로 생각하여 세포진검사에서 양성인 경우들과 음성인 경우들에서 DNA 배수성과 증식력을 비교하여 보면, 역시 세포진검사 양성인 경우들에서 aneuploid가 많았던 결과로 해석할 수 있다. 폐암에서 aneuploid의 빈도는 45~96% 정도로 보고자들<sup>[16~20]</sup>에 따라 다양한 빈도를 나타내고 있는데, 그 이유는 조직을 이용하는 경우와 세포검체를 이용하는 경우의 민감도가 다를 것이므로, 우선 검체의 종류에 따라 다르게 나타날 수 있다. 그러나 같은 종류의 검체를 사용한 경우들 사이에서 비교하여도 서로 다른 빈도를 보고하고 있는데, Carey 등<sup>[21]</sup>은 이러한 빈도의 차이를 DNA ploidy를 측정하기 위한 검체의 부분선택의 차이 때문이라고 하였다. 즉 종양세포가 포함된 조직민을 선택적으로 이용하는 경우에 aneuploid가 높은 빈도로 나타나지만, 종양세포가 적은 조직을 검사하는 경우 aneuploid의 빈도는 낮아진다는 것이다. 이러한 점을 고려할 때 저자들의 낮은 aneuploid의 빈도는 종양조직에서 솔질이 되지 않았던 경우가 많았던 때문으로 해석할 수 있고, 세포진검사 양성군에서 aneuploid의 빈도가 더 높게 나타나는 것도 같은 이유로 해석할 수 있다.

폐암의 조직형에 따른 aneuploid나 고증식력군의 빈도는 저자들의 성적에서는 차이가 없었는데, Bunn 등<sup>[16]</sup>과 Barlogie 등<sup>[22]</sup>은 비소세포폐암에서 소세포폐암보다 aneuploidy 발현이 더 높았다고 하였으나, Ariyoshi 등<sup>[23]</sup>은 비소세포 폐암보다는 소세포 폐암에서 높은 aneuploidy의 빈도를 보고 하였고, 또한 비소세포폐암 중에

서도 평평상피암과 선암간의 차이에 대한 보고도 다양 한데<sup>[24,25]</sup>, 김등<sup>[26]</sup>은 저자들의 성적처럼 조직형에 따른 차이는 없는 것으로 보고하고 있다.

이상의 성적을 요약하면, 기관지 솔질 표본에서 aneuploid나 고증식력 소견이 폐암을 시사하는 것으로 해석하였을 때, 기관지 솔질표본의 세포진검사에 추가한 DNA 배수성 측정과 세포주기 분석으로 위양성율의 증가 없이 폐암 진단의 예민도를 높일 수 있었고, 조직학적이나 세포학적인 악성 종양의 증거가 없었으나 aneuploidy 소견이 악성 종양의 존재를 시사하였던 경우도 경험하였다. 그러나 조직생검을 할 수 없는 경우들 만을 대상으로 한 기관지 솔질표본 DNA 검사의 의의를 더 관찰하여야 할 것이고, DNA 분석의 낮은 민감도를 개선시키기 위한 연구 또한 추구되어야 할 과제로 생각된다.

## 요 약

**배경 및 방법 :** 폐암의 진단 방법에 있어서 객담, 흥수, 기관지 세척액 등에서의 DNA의 aneuploid나 고증식력등의 소견은 폐암의 진단에 보조적으로 의의가 있는 것으로 보고되고 있다. 저자들은 기관지 내시경 검사 중에 조직 생검, 솔질표본의 세포학적 검사와 더불어 유세포계산법을 이용한 솔질 표본의 DNA 배수성 검사를 함께 시행하여, 폐암의 진단율을 높일 수 있는지의 여부를 검토하고자 하였다.

### 결과 :

1) 대상환자 76예중 폐암으로 확진되었던 55예에서는 diploid 37예, aneuploidy 18예(32.7%)이었으나, 양성 질환으로 확인된 21예에서는 모두 diploid이었고, 세포주기 분석이 가능하였던 48예중 폐암은 35예 이었고 이들중 42.9%(15/35)에서 고증식력을 보였으나, 양성 질환 13예에서는 고증식력을 보인 경우가 없었다( $p < 0.05$ ).

2) DNA분석 소견(aneuploidy나 고증식력을 양성으로 하였을 때)과 세포진검사와의 일치율은 전체 75예중 56예로 74.7% 였다.

3) 폐암 환자에서 세포진검사 민감도는 41.8%(23/55) 이었는데, 세포진검사 음성이지만 DNA 검사에서 양성(aneuploidy 혹은 high proliferative activity)을 보인 경

우를 부가하였을 때, 민감도는 56.4%(31/55)로 증가하였고( $p<0.05$ ), 음성 예측도는 38.2%, 특이도는 100%였다.

4) 1예에서는 기관지내시경을 이용한 조직, 세포진검사, 경피적 폐침흡인 등으로는 진단을 내릴수 없었으나 솔질표본을 이용한 DNA ploidy검사에서 aneuploid로 나타났고, 후에 수술로써 편평상피폐암으로 확진되었다.

5) 폐암 환자중 세포 형태에 따른 DNA Ploidy와 증식력에는 유의한 차이가 없었다.

결론 : 기관지 솔질 표본에서 aneuploid나 고증식력 소견이 폐암을 시사하는 것으로 해석하였을 때, 세포진검사에 부가하여 DNA 배수성 측정과 세포주기 분석을 함께 함으로써 폐암 진단의 예민도를 높일수 있었고, 비교적 특이도가 높은 것으로 사료되었으며, 특히 조직을 얻기 어려운 경우들에서 DNA 분석의 진단적 의의에 대한 계속적인 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

## REFERENCES

- 1) Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW, Rugg CA, Musgrove EA: Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry. *J Histochem Cytochem* **31**:1333, 1983
- 2) Coon JS, Landay AL, Weinstein RS: Flow cytometric analysis of paraffin embedded tumors. Implications for diagnostic pathology. *Human Pathol* **17**:435, 1986
- 3) Vindelov LL, Christensen IJ, Nissen NI: A detergent-trypsin method for preparation of nuclei for flow cytometric DNA analysis. *Cytometry* **3**: 323, 1983
- 4) Vindelov LL, Christensen IJ, Nissen NI: Standardization of high-resolution flow cytometric DNA analysis by the simultaneous use of chicken and trout red blood cells as internal reference standards. *Cytometry* **3**:328, 1983
- 5) 최인선 이신석 양재범 박경옥 정상우: 폐암환자에서 치료에 대한 반응 예측지표로서의 DNA ploidy. *결핵 및 호흡기질환* **39**:150, 1992
- 6) Cusick EL, Ewen SWB, Krukowski ZH, Matheson NA: DNA aneuploidy in follicular thyroid neoplasia. *Br J Surg* **78**:94, 1991
- 7) Alanen KA, Falkmer UG, Klemi PJ, Joensuu H, Falkmer S: Flow and image cytometric study of pancreatic neuroendocrine tumours : frequent DNA aneuploidy and an association with the clinical outcome. *Virchows Archiv A Pathol Anat* **421**:121, 1992
- 8) Herman CJ, Walloch J: DNA analysis of solid tumors: practical value. In: Coon JS and Weinstein RS, eds. *Diagnostic flow cytometry* p 135, Williams & Wilkins, 1991
- 9) Klein FA, Herr HW, Sogani PC, Whitmore WF Jr, Melamed MR: Detection and follow-up of carcinoma of urinary bladder by flowcytometry : *Cancer* **50**:389, 1982
- 10) Okagaki T, Meyer AA, Sciarra JJ: Prognosis of irradiated carcinoma of cervix uteri and nuclear DNA in cytologic postirradiation dysplasia. *Cancer* **33**:647, 1974
- 11) Sinton EB, Carver RK, Morgan DL, Philpott PJ, Truell JE, Riemann D, Ashton ME: Prospective study of concurrent ploidy analysis and routine cytopathology in body cavity fluids. *Arch Pathol Lab Med* **114**:188, 1990
- 12) Aufferman W, Bocking A: Early detection of precancerous lesions in dysplasias of the lung by rapid DNA image cytometry. *Anal Quant Cytol Histol* **7**:218, 1985
- 13) Blondal T, Bengtsson A: Diagnostic application of nuclear DNA measurements on bronchial secretions. *Anal Quant Cytol* **4**:269, 1982
- 14) Deinlein E, Sander U, Greiner 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
- 15) Yoss EB, Berd D, Cohn JR, Peters SP: Flow cy-

- tometric evaluation of bronchoscopic washings and lavage fluid for DNA aneuploidy as an adjunct in the diagnosis of lung cancer and tumors metastatic to the lung. *Chest* **96**:54, 1989
- 16) Bunn PA Jr., Carney DN, Gazdar AF, Whang-Peng J, Matthews MJ: Diagnostic and biological implications of flow cytometric DNA content analysis in lung cancer. *Cancer research* **43**:5026, 1983
- 17) 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
- 18) Tirindelli-Danesi D, Teodori L, Mauro F, Modini C, Botti C, Cicconetti F, Stipa S: Prognostic significance of flow cytometry in lung cancer. *Cancer* **60**:844, 1987
- 19) Zimmerman PV, Hawson GAT, Bint MH, Parsons PG: Ploidy as a prognostic determinant in surgically treated lung cancer. *Lancet* **ii**:530, 1987
- 20) Van Bodegom PC, Baak JPA, Stroet-Van Galen C, 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
- 21) Carey FA, Lamb D, Bird CC: Importance of sampling method in DNA analysis of lung cancer. *J Clin Pathol* **43**:820, 1990
- 22) Barlogie B, Drewinko B, Schumann J, Gohde W, Dosik G, Latreille J, Johnston DA, Freireich EJ: Cellular DNA content as a marker of neoplasia in man. *Am J Med* **69**:195, 1980
- 23) Ariyoshi I: Characteristics and problems of flow cytometric nuclear DNA content analysis in lung cancer using bronchoscopically-obtained specimens. *Nippon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* **30**: 1704, 1992
- 24) 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
- 25) Sahin AA, Ro JY, El-Naggar AK, Lee JS, Ayala AG, Taegue K, Hong WK: Flow cytometric analysis of the DNA content of non-small cell lung cancer. *Cancer* **65**:530, 1990
- 26) 김안명, 김동웅, 이건희, 장근, 정은택, 정현택: 원발성 폐암환자에 있어서 종양세포의 DNA 배수성과 생존기간과의 관계. *대한내과학회잡지* **41**:487, 1991