

위암에서 CK20과 CEA의 RT-PCR을 이용한 수술조작 전후 유출 정맥과 복막에서의 미세전이의 검출

전남대학교 의과대학 외과학교실, 위장관 외과

주재균 · 이지희 · 고양석 · 김정철 · 류성엽 · 김동의 · 김영진

Use of RT-PCR for CK20 and CEA mRNA to Detect of Micrometastasis in the Draining Venous Blood and the Peritoneum in Gastric Cancer Patients

Jai Kyun Joo, M.D., Ji Hee Lee, Ph.D., Yang Seok Koh M.D., Jung Chul Kim, M.D., Seong Yeob Ryu, M.D., Dong Yi Kim, M.D. and Young Jin Kim, M.D.

Division of Gastroenterology Departments of Surgery, College of Medicine Chonnam National University Hospital, Gwangju, Korea

Purpose: The benefits of the "no-touch" isolation technique that is usually performed to prevent the circulation of tumor cells are not evident. The aim of this study was to determine whether the no-touch isolation technique for treating gastrointestinal cancers could prevent the circulation of tumor cells detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR).

Materials and Methods: By using RT-PCR to amplify mRNAs for two specific epithelial markers, carcinoembryonic antigen (CEA) and cytokeratin 20 (CK-20), we examined 34 gastric cancer patients who had been histologically diagnosed and 22 patients had undergone serosal and peritoneal brushing.

Results: In 10 (29.4%) of the 34 gastric cancer patients, we detected CK20 mRNA before manipulation, and in 17 (51.5%) of those patients, after we detected it. The density of the CK20 mRNA band was increased in 11 cases (33.3%) and the density was decreased in 2 cases (6.1%). In 16 (48.5%) of the 34 gastric cancer patients, we detected CEA mRNA before manipulation, and in 17 (51.5%) patients after we detected it. The density of the CEA mRNA band was increased in 8 cases (24.2%) and decreased in 3 cases (9.1%).

Conclusion: These result suggest that the "no-touch isolation technique" might be useful when operating on advanced gastric cancer patients and that serosal or Douglas pouch brushing can be used to determine the status of micrometastasis. (J Korean Gastric Cancer Assoc 2003;3:128-133)

Key Words: Gastric cancer, Micrometastasis, Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR), Carcinoembryonic antigen (CEA), Cytokeratin 20 (CK-20)

중심 단어: 위암, 미세전이, 역전사-중합효소연쇄반응, 암배아성 항원, CK20

서 론

위암은 진단 당시 1/3의 환자에서 전이를 보이고 육안적인 전이가 없는 환자에서도 약 절반의 환자에서 미세전이가 있으며, 이는 수술 후 재발의 원인이 된다고 알려져 있다. 현재, 위암의 미세전이나 잔류 암의 진단은 영상 진단이나 현미경적인 검사를 통해서 이루어지는데 이는 그 민감도에 많은 의문이 있다. 암 표지자를 이용한 전이암의 진단이 유용하다는 보고들이 있으나, (1) 특이성과 예민도가 낮아서 효과적인 임상적 이용이 힘들다. 결국 이러한 진단 방법으로 전이나 잔류암이 판명되지 않은 환자가 적절한 치료를 받지 못할 수 있으므로, 미세전이를 치료 전 또는 치료 중에 발견할 수 있는 진단 방법의 개발은 정확한 치료를 위해서 중요하다.

또한 암세포의 수술 중 혈관을 통한 전이를 예방하기 위해서 수술조작 전에 혈관을 결찰을 하는 'no-touch isolation' 술식이 위장관암의 전형적인 수술 방법으로 여겨져 왔다. 하지만 재발과 생존율에서 좋은 효과를 보고한 1967년 Turnbull 등(2)의 보고 이후에 많은 논란이 되어 왔다. 또한 복막의 전이는 복강 내의 부유하는 유리 암 세포는 복막재발을 정확히 반영하지 않고 복막에 부착되어 있는 암세포가 복막재발에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 이러한 이유로 인하여 명확한 복막전이를 보이지는 않지만 복강

책임저자 : 김영진, 광주광역시 동구 학동 8번지
전남대학교병원 위장관 외과, 501-757
Tel: 062-220-6456, Fax: 062-227-1537
E-mail: kimyj@jnu.ac.kr

접수일 : 2003년 5월 29일, 게재승인일 : 2003년 7월 7일

내 전이의 가능성이 높은 환자를 조기에 발견하는 것이 매우 중요하다.

본 연구는 'no touch isolation' 술식의 효과를 확인하기 위해 위암의 유출 정맥을 결찰하고 수술조작 전후에 혈중의 암세포의 변화를 관찰하고자 하였다. 위암의 장막부위와 복막에서 부착되어 있는 암 세포를 브러시를 이용하여 얻어서 이를 분자 생물학적인 방법으로 복강 내 전이를 정확히 예측할 수 있는 방법을 고안하고자 하였다.

방 법

전남대학교 병원에서 위암으로 진단 받은 환자들 중에서 무작위로 추출한 34명을 대상으로 수술 중 유출 정맥을 결찰하고 정맥에서 10 ml의 혈액을 얻었고, 수술 조작이 끝나는 시기에 다시 정맥에서 10 ml의 혈액을 채취하였다. 또한 22예의 환자에서 장막과 더글라스와를 칫솔을 이용하여 문지른 후 PBS 용액에 세척하여 전분을 얻었는데, 이들 환자는 전례에서 원발암이 T2 이상이었고, 7예는 육안적으로 복막 전이를 보이고 있었다. 또한 Cytokeratin 20 mRNA (CK20)와 Carcinoembryonic antigen (CEA) mRNA를 RT-PCR을 이용해 확인하고 이들 때의 밀도를 구분하였다. 양성 대조군으로는 MCF-7 세포를, 음성 대조군으로는 정상인의 정맥혈을 사용하였다.

1) RNA의 추출

위암 환자에서 위벽의 장막에 침윤이 있는 환자에서 CK20과 CEA mRNA의 발현을 비교하기 위해 대조군과 수술 환자의 중앙 정맥혈로부터 단핵세포를 분리하여 Trizol (Gibco BRL) 시약을 사용하여 total RNA를 추출하였다.

음성 대조군으로는 정상인의 정맥혈을, 양성 대조군으로는 육안상 및 조직 검사 상 복강 내 전이가 명백한 환자 7예를 사용하였다.

2) Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)을 이용한 mRNA의 발현 비교

수술 전후의 환자 혈액에서 mRNA 발현 양을 비교하여 차이가 있는지 비교하고, 이를 환자의 예후와 비교하여 상관 관계가 성립하는지 알아보려고 하였다. cDNA를 얻기 위해서 total RNA 500 ng과 random primer (1 μ g/ μ l), 0.2 mM의 dNTPs, 1 μ l의 0.1 M DTT를 포함하는 20 μ l의 완충액 (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH7.5, 1. MgCl₂)에 10 units의 RNasin 및 10 unit의 역전사 효소를 넣고 반응물을 42°C에서 1시간 반응시켜 cDNA를 형성한 후 94°C에서 5분간 작용시켜 반응을 중지시킨다. Cytokeratin 20과 CEA의 극미량을 검출하기 위해 PCR은 nested PCR을 시행하였다. 1차 PCR은 반응은 완충액(50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 2.5 mM MgCl₂)에 0.2 mM의 dNTPs, 30 pmol의 sense 및 anti-

sense oligonucleotide primer, 2.5 unit의 Taq polymerase를 첨가하고, cDNA는 100 ng에 해당하는 양을 넣어 GeneAmp PCR system (Perkin Elmer 9600, Foster City, CA)에서 반응시킨다. 1차 PCR 반응 후 2차 반응은 동일한 반응액에 1차 반응한 template를 5 μ l를 넣어 반응하였다. 각각의 반응의 조건은 Cytokeratin 20의 경우에는 95°C, 60°C, 70°C에서 30초씩 30회를 1차 시행하고, 95°C, 65°C, 72°C에서 20회를 2차 반응시켰다. CEA의 경우는 95°C에서 1분, 72°C에서 2분간 30회를 1차 시행하고, 95°C에서 30초, 68°C에서 30초, 72°C에서 1분간 20회를 2차 반응시켰다. Cytokeratin 20의 반응 산물은 Ethidium Bromide가 함유된 한천배지에 전개하고 자외선 투시기로 비추어 사진을 찍은 후 densitrometer를 사용하여 mRNA의 상대적인 발현 정도를 비교하였다. Cytokeratin 20과 CEA를 검출하기 위해 사용한 primers는 다음과 같다.

Cytokeratin 20 forward primer는 F: 5'-AATGTGGAGGTTGATGC TGCTC-3', reverse primers인 R1: 5'-GCGGCGGTAAGTAGCAATTTTC-3'과 R2: 5'-GGTTGGCTAACTGGCTGCTGTAAC-3'를 사용하였고, PCR 산물은 314 bp이다. PCR 반응은 CEA forward primer는 F1: 5'-TCTGG AACTTCTCCTGGTCTCTCAGCTGG-3'와 F2: 5'-GGGCCACTGTCCGCATCATGATTGG-3'를 reverse primers는 R: 5'-TGTAAGCTGTTGCAAATGCTTTAAGGAAGAA-3'를 사용하였고, PCR 산물은 132 bp이다. 환자 샘플간의 정량은 β -actin을 사용하여 발현을 비교하였고, forward primer는 F:5'-TCATCACCATTGGCAATGAG-3'이고, reverse primer는 R: 5'-CACTGTGTTGGCGTACAGGT-3'를 사용하였고, PCR 산물은 154 bp이다.

결 과

1) CK20과 CEA mRNA 발현을

위암의 유출 정맥혈에서 RT-nested PCR을 시행한 34예의 환자 중 CK20 mRNA는 정맥혈에서 수술조작 전 10예(29.4%), 수술 조작 후 17예(51.5%)에서 양성소견을 보였다. 수술 조작 전후를 비교한 결과 11예(33.3%)에서 수술 조작 후 증가를 보였고 2예(6.1%)에서 감소를 보였다. CEA는 정맥혈에서 수술 조작 전 16예(48.5%), 수술 조작 후 17예(51.5%)에서 양성소견을 보였고, 8예(24.2%)에서 증가소견을 보였으며, 3예(9.1%)에서 감소 소견을 보였다. CK20 mRNA는 장막에서 22예 중 13예(59.1%), 복막에서 22예 중 17예에서 양성소견을 보였고, CEA는 장막에서 22예 중 16예(72.7%), 복막에서는 13예(59.1%)에서 양성소견을 보였다. Fig. 1은 RNA의 양을 500 pg으로 일치시켜서 25 cycle의 RT-PCR의 결과를 보여주고 있는데, 이는 β -actin으로 동일한 양의 RNA를 사용했다는 것과 313 bp의 CK20과 132 bp의 CEA 때를 보여주고 있으며, 조작 전후의 더글라스와 및 장막의 브러싱의 결과를 나타낸 그림이다.

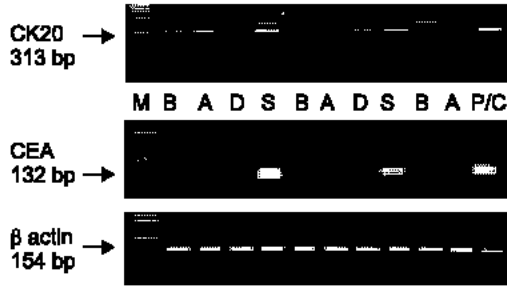


Fig. 1. Photograph of electrophoresis of RT-PCR products for CK-20 mRNA and CEA mRNA in gastric cancer patients. M = size marker; B = before surgical dissection; A = after surgical dissection; D = brushing of Douglas pouch; S = brushing of gastric serosa; P/C = positive control.

Table 1. Relationship between detection of CK20 mRNA and CEA mRNA in drainage vein according to the TNM classification of gastric cancer

Variables		CK20 mRNA (%)	CEA mRNA (%)
Tumor	T1	0/2 (0%) P=0.089	1/2 (50%) P=0.45
	T2	1/3 (33%)	3/3 (100%)
	T3	5/21 (24%)	7/21 (33%)
	T4	4/6 (67%)	3/6 (50%)
LN	N0	0/7 (0%) P=0.085	3/7 (43%) P=0.26
	N1	4/10 (40%)	6/10 (60%)
	N2	2/7 (29%)	5/7 (71%)
	N (distant)	4/8 (50%)	1/8 (13%)
Liver	H0	8/29 (28%) P=0.46	12/29 (41%) P=0.41
	H+	2/3 (67%)	2/3 (67%)
Peritoneum	P0	4/21 (19%) P=0.097	7/21 (33%) P=0.21
	P+	6/11 (55%)	7/11 (64%)
Total		10/32 (31%)	14/32 (44%)

2) 정맥혈에서 검출된 CK20과 CEA mRNA 발현율과 TNM stage와의 관계

각각의 stage 별로 다양하게 나타났으나, CK20의 경우에는 stage IV에서 16예 중에 7예(44%)에서 양성으로 나와 의미 있는 수치를 나타냈으며, CEA의 경우에는 stage I과 II인 조기 암에서도 각각 2예와 3예로 양성을 나타내었다(Table 1, 2).

3) 정맥혈에서 검출된 CK20과 CEA mRNA 발현율과 병리학적 특성과의 관계

CK20이 검출된 10예의 환자와 CEA가 검출된 14예의 환자들은 중앙 세포의 분화도 및 유형에 별 관계없이 다양하게 나타났으나, 특히 고분화 선종 및 미분화 선종에서보다

Table 2. Relationship between detection of CK20 mRNA and CEA mRNA in drainage vein according to the TNM stage of gastric cancer

Stage	CK20 mRNA (%)	CEA mRNA (%)
I	0/3 (0%) P=0.097	2/3 (67%) P=0.44
II	1/5 (20%)	3/5 (60%)
III	2/8 (25%)	2/8 (25%)
IV	7/16 (44%)	7/16 (44%)
Total	10/32 (31%)	14/32 (44%)

Table 3. Relationship between detection of CK20 mRNA and CEA mRNA in drainage vein according to the histologic types of gastric cancer

Histologic type	CK20 mRNA (%)	CEA mRNA (%)
w-tube	2/4 (50%)*	2/4 (50%)*
m-tube	1/9 (11%)	4/9 (44%)
p-tube	7/15 (47%)*	7/15 (47%)*
Signet	0/3 (0%)	0/3 (0%)
Mucinous	0/1 (0%)	1/1 (100%)
Total	10/32 (31%)	14/32 (44%)

P < 0.05.

Table 4. Relationship between detection of CK20 mRNA and CEA mRNA in drainage vein according to the level of serum CEA in gastric cancer

Serum CEA	CK20 mRNA (%)	CEA mRNA (%)
< 5 ng	7/24 (29%)	8/24 (33%)
> 5 ng	3/8 (38%)	6/8 (75%)*
Total	10/32 (31%)	14/32 (44%)

*P = 0.042.

유의하게 높게 발현되었다(Table 3).

4) 정맥혈에서 검출된 CK20과 CEA mRNA 발현율과 혈청 CEA 수치와의 관계

CK20이 검출된 환자나 CEA가 검출된 환자에서 혈청 CEA 수치가 5 ng 이상인 경우가 각각 3예(38%)와 6예(75%)로 나와 두 인자 모두 의미 있는 결과를 보였다(Table 4).

Table 5. Relationship between detection of CK20 mRNA and CEA mRNA from serosa and peritoneum according to the TNM classification of gastric cancer

Variables	CK20 (%)		CEA mRNA (%)		
	Serosa	Peritoneum	Serosa	Peritoneum	
Tumor	T1	0/1 (0%)	0/1 (0%)	0/1 (0%)	0/1 (0%)
	T2	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
	T3	12/15 (80%)	14/15 (93%)	13/15 (87%)	10/15 (67%)
	T4	3/3 (100%)*	3/3 (100%)*	3/3 (100%)*	3/3 (100%)*
LN	N0	2/5 (40%)	3/5 (60%)	3/5 (60%)	1/5 (20%)
	N1	3/6 (50%)	3/6 (50%)	3/6 (50%)	3/6 (50%)
	N2	5/6 (83%)	6/6 (100%)	4/6 (67%)	5/6 (83%)
	N (distant)	5/5 (100%) [†]	5/5 (100%) [†]	5/5 (100%) [†]	5/5 (100%) [†]
Liver	H0	13/20 (65%)	15/20 (75%)	14/20 (70%)	12/20 (60%)
	H+	2/2 (100%)	2/2 (100%)	2/2 (100%)	1/2 (50%)
Peritoneum	P0	8/15 (53%)	10/15 (67%)	9/15 (60%)	7/15 (47%)
	P+	7/7 (100%)	7/7 (100%)	7/7 (100%)	6/7 (86%)
Total		15/22 (68%)	17/22 (77%)	16/22 (73%)	13/22 (59%)

*P<0.01, [†] P<0.05.

Table 6. Relationship between detection of CK20 mRNA and CEA mRNA from serosa and peritoneum according to the TNM stage of gastric cancer

Stage	CK20 mRNA (%)		CEA mRNA (%)		
	Serosa*	Peritoneum*	Serosa*	Peritoneum*	
I	0/2 (0%)	0/2 (0%)	0/2 (0%)	0/2 (0%)	
II	1/3 (33%)	1/3 (33%)	1/3 (33%)	0/3 (0%)	
III	5/7 (71%)	6/7 (86%)	5/7 (71%)	4/7 (57%)	
IV	10/10 (100%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)	9/10 (90%)	
Total		16/22 (73%)	17/22 (77%)	16/22 (73%)	13/22 (59%)

*P<0.01. M = size marker; B = before surgical dissection; A = after surgical dissection; D = brushing of Douglas pouch; S = brushing of gastric serosa; P/C = positive control.

5) 장막과 복막에서 검출된 CK20과 CEA mRNA 발현율과 TNM stage와의 관계

CK20은 장막에서 22예 중 16예(73%), 복막에서 17예에서 양성소견을 보였고, CEA는 장막에서 22예 중 16예(73%), 복막에서 13예(59%)에서 양성 소견을 보였다. 또한 각각의 병기별로는 1기에서는 검출되지 않았으며, 병기가 높아질수록 양성 소견이 의미 있게 높아짐을 알 수 있었다(Table 5, 6).

고 찰

위암에서 암의 전파경로는 장관벽 내와 인접장기로의 침윤, 림프절의 전이, 혈행성 전이 및 복막파종 등의 경로로 전이가 된다. 위암의 수술 목적은 첫째, 환자의 증상을 해결하고, 둘째, 절제 후 국소 재발을 최소화하고, 수술에 의한 암의 전이를 억제하는데 있다. 수술 중 종양의 조작에 의해서 문맥에서의 암세포 응집이 발견된다는 보고가 있는데, 이러한 암세포의 응집은 하나의 세포에 비해서 원격전이를 일으키기 쉽다. 그래서 Turnbull 등(2)이 종양의 조작 전에

혈관을 결찰하는 'no-touch isolation technique'의 방법을 사용함으로써 문맥의 암세포 발견 빈도를 줄일 수 있다고 하였으며, Wigger 등(3)은 수술 유병률과 사망률이 증가하지 않는다고 보고하였다. 그러나 동일한 암 병기에서는 광범위한 절제반으로도 동일한 생존율을 보인다는 보고도 있다.(4) 또한 고형 종양 환자에서 광범위 림프절 광침술을 포함한 근치 수술을 시행하더라도 전이성 재발이 자주 나타나는 것은 병의 초기에 적은 수의 암 세포들이 이미 전신에 전이되었기 때문이다.(5) 그러므로 이 같은 전이 세포들을 미리 발견하지 못하면 치료에 실패할 확률이 높고 따라서 세밀하고, 정확한 림프절 전이 검사가 요구된다. 이러한 미세전이의 진단은 병기를 상향 조정시킬 뿐만 아니라 예후에도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.(6)

최근 유전자의 구조와 기능에 대한 정보의 급격한 증가와 재조합 DNA 기법(recombinant DNA technology) 등의 기술적인 발전 등은 종양 세포에서의 유전자변이와 유전자의 과표현을 분자생물학 수준에서 분석이 용이하게 하였다.(7) 이에 따라 종양세포 내 특정 염기 서열을 증폭하여 유전자의 구조이상을 탐지는 RT-PCR (역전사-중합효소 연쇄 반응)법을 이용하여 미세전이를 더욱 민감하게 진단할 수 있게 되었다. 이중 유방암은 CK19, CEA, MUC1, EGF-R, erbB2, hCG, maspin, 폐암은 P53, *Ki-ras* mutation, CK-19, surfactant 등을 이용하고, 자궁경부암은 HPV16, E6/E7를 이용하며, 결장 및 직장암의 전이는 *Ki-ras*, p53 mutation, CEA, CK19, CK20을, 위암은 CEA, CK-20를 전립선암은 PSA, PSM, CK19, hK2 등을 이용하여 혈중이나 골수 내 혹은 장내 암 세포의 진단에 사용되고 있다.(1)

Trojani 등(8)과 Lindemann 등(9)은 종양세포 내 cytokeratin에 대한 단클론 항체를 이용한 면역조직화학검사를 하여 조직학적 검사에서 놓친 미세전이를 진단하였는데, cytokeratin은 상피세포와 이들에 기원하는 종양 세포에서만 특이적으로 표현되는 세포골격구조로서 27개의 아형이 알려져 있다. 그러나 이 방법은 시간이 많이 소요되고 검사 과정이 너무 힘들다는 문제로 인하여 임상에 적용하기에는 어려움이 있다.

또한 현재 위, 대장암, 유방암 환자에서 술 후의 면역조직화학 검사를 통한 CEA 측정이 근치 유무의 판정 내지 잔존암에 의한 조기재발의 예측에 유용하다고 믿고 있다. 그러나 이에 대한 문제점으로 Holyoke와 Cooper (10) 및 Zamacheck 등(11)은 술 후 CEA치가 정상으로 떨어진 상당수의 암 환자들에서도 뒤늦은 재발이 발견되고 있는 바, 현재로서는 미세전이의 상태로 존재하는 작은 종양피는 CEA란 표식자로서도 발견해낼 수는 없다고 지적하였다.

위에 언급한 바와 같이 통상의 Hematoxylin and Eosin stain 이나 면역 조직화학 염색 방법보다 cytokeratin이나 CEA의 mRNA를 검출하는 것은 RT-PCR이 매우 민감한 방법으로 Lockett 등(12)은 의하면 백만개의 정상세포 중 존재

하는 1개의 종양 세포를 찾아낼 수 있으며, 조직학적 림프절 전이 음성 환자 중 48%에서 잠재 전이를 발견할 수 있으며, 위 음성을 5% 이내에서 시행될 수 있다고 하였다. 그러나 RT-PCR의 특이성은 그리 절대적이지 못하다. 왜냐하면 극히 소량의 상피 mRNA라도 간접 세포 내로 오염된다면 증폭 과정에 의해 표현될 것이기 때문이다. 따라서 재료와 방법에서 소개한 바와 같이 위 양성 결과를 막기 위하여 암 조직이나 정상 상피 세포들로 인한 오염을 방지하여야 함은 물론이고, 이 방법이 임상적 중요성을 갖고 있는지 확인하기 위하여 대규모의 전향적 연구가 이루어져야 할 것이다.(4)

말초혈액이나 골수에서 미세 전이를 탐색하기 위한 RT-PCR의 일반적인 이용은 1991년 Delage 등(13)에 의해서 혈액양성 종양환자에서 처음 시도되었다. 그 뒤 많은 연구자들에 의해 유전 표식자들을 이용한 종양의 미세전이에 대한 연구가 발표되었는데, 최근 Datta 등(14)은 유방암의 혈액이나 골수에서 CK19 mRNA를 측정하여 유방암의 전이를 보고하고 있고, Nakamori 등(15)은 대장암에서 혈중과 림프절에서 CK19 및 CK20 mRNA의 검출을 하여 여러 가지 암의 예후인자와 관계가 있음을 보고하였으며, Futamura 등(6)은 림프절에서 CEA 및 CK20 mRNA를 이용하여 이를 검출함으로써 조직학적으로 전이가 검출되지 않은 림프절에서 50% 정도에서 양성반응을 보였음을 보고하였다. 위암에서도 골수에서 cytokeratin 양성 세포를 CK18에 대한 단일 클론 항체를 이용함으로써 immunocytochemical technique를 이용하여 검출하여 cytokeratin의 검출이 원격전이의 진단에 유용함이 알려졌다.(16) 암중 주위의 유출 혈관에서의 암 세포의 검출에 대한 연구는 전무한 상태다.

저자들은 최근 미세전이를 유전자 수준에서 발견하는 진단적인 방법 중 하나인 RT-PCR을 이용하여 위암에서 특이적인 CK20과 CEA의 mRNA를 표적 유전자로 이용하여 미세전이의 유무 및 임상적인 특징에 알고자 이 실험을 고안하였다. 연구 결과 위암 환자에서 혈청 암 배아성 항원을 측정한 결과 28.9%의 환자에서 5 ng/dl 이상을 보였고, 이는 위암의 예후와 관계가 있었다. 그리고 위암 조직에서 면역조직 화학적인 방법으로 시행한 조직 CEA의 염색 결과는 67.1%의 양성반응을 보였으며, 이도 또한 예후와 관계가 있었다. 이러한 결과를 토대로 위암 조직은 암배아성 항원을 분비한다고 생각되는데 분비 정도를 측정함으로써 이들이 어떠한 예후적인 가치가 있고, 또한 위암의 유출 정맥에서 수술 조작 전후에 암 배아성 항원을 측정하여 이의 차이를 규명하여 간접적으로 수술 조작 중의 암의 전이 가능성을 알고자 하였다.

저자들은 이번 연구를 통하여 CK20과 CEA mRNA를 이용한 RT-PCR이 조직학적 방법으로 찾지 못하는 미세 전이를 발견해내는 고도의 예민성 높은 방법임을 확인하였다. 특히 조직학적 검사에서 조기 위암으로 나온 stage I과 II

환자에서도 양성소견을 발견할 수 있었는데, 이는 특히 주목할 만하였으며, 수술 중 유행 암세포를 입증하여 암의 유행 정맥 내의 암세포가 암 수술의 조작 후 증가하는 경우가 많아서 수술 조작에 의한 암의 혈행성 전이의 가능성이 증가한다고 할 수 있기 때문에 수술 전 혈관을 결찰하여야 한다고 생각한다.

미세 전이의 예후의 중요성은 아직 논쟁의 여지가 있다.(16,17) 그러나 미세 전이가 암세포의 증식을 억제하는 항암화학요법의 사용 지표가 아닌 부작용이 적은 면역 치료제의 기준은 될 수 있을 것이라고 미세 전이의 의의를 찾는 이도 있다.(18) 따라서 오랜 기간에 걸쳐 전향적 방법으로 유전 표식자를 이용한 RT-PCR법으로 미세 전이 유무를 확인하고 이를 분석하면 임상적으로 대장암 환자의 치료 및 예후 판정에 많은 도움이 있을 것으로 생각한다.

결 론

이상의 연구결과를 토대로 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 위암의 절제 조작 전에 정맥혈관을 결찰하는 'no-touch isolation' 술식은 수술 조작에 의해 정맥에 누출되는 암세포를 차단하는 효과를 가짐으로써 암세포의 전이를 예방할 수 있을 것으로 여겨진다.

2. 장막과 복강 내의 더글라스 와에서 브러싱으로 얻은 표본은 복수검사보다는 미세한 복막전이를 더 잘 예측하고, 진단하는데 유용한 방법이 될 수 있을 것으로 생각하며, 앞으로 CK20과 CEA mRNA가 양성으로 나타난 환자들의 지속적인 추적관찰이 필요할 것으로 생각한다.

REFERENCES

- Pantel K, Knebel Doeberitz. Current Opinion in Oncology. 2000;23:95-101.
- Turnbull RB Jr, Kyle K, Watson FR, Spratt J. Cancer of the colon: The influence of the no touch isolation technique on survival rates. Ann Surg 1967;166:420-427.
- Wigger T, Jeckel J, Arends JW. No-touch isolation technique in colon cancer: acontrolled prospective trial. Br J Surg 1988; 75:409-415.
- Enker WE, Laffer UT, Block GE. Enhanced survival of patients with colon and rectal cancer is based upon wide anatomic resection. Ann Surg 1979;190:350-360.
- Izbicki JR, Hosch SB. Minimal dissemination of solid epithelial tumors: impact on staging and therapeutic strategy. Br J Surg 1997;84:897-898.
- Hanazaki K, Wakabayashi M, Sodeyama H, Makiuchi A, Igarashi J, Yokoyama S, Sode Y, Kawamura N, Ohtsuka M, Miyazaki T. Surgical outcome in early gastric cancer with lymph node metastasis. Hepatogastroenterology 1997;44:907-915.
- Futamura M, Takagi H, Koumura H, Kida H, Tanemura H, Shimokawa K, Saji S. Spread of colorectal cancer micrometastases in regional lymph nodes by reverse transcriptase-polymerase chain reactions for carcinoembryonic antigen and cytokeratin 20. J of Surg Oncol 1998; 68:34-40.
- Trojani M, Mascarel I, Bonichon F, Delsol G. Micrometastasis to axillary lymph nodes from carcinoma of breast: detection by immunohistochemistry and prognostic significance. Br J Cancer 1987;56:838-839.
- Lindemann F, Schlimok G, Dirschedl P, Witte J, Riethmuller G. Prognostic significance of micrometastatic tumor cells in bone marrow of colorectal cancer patients. Lancet 1992;340:685-689.
- Holyoke ED, Cooper EH. CEA and tumor markers. Semin Oncol 1976;3:377-385.
- Zamcheck N, Doos WG, Prudeute R. Prognostic factors in colon carcinoma: Correlation of serum CEA level and tumor histopathology. Monogr Pathol 1977;18:133-148.
- Lockett MA, Metcalf JS, Baron PL, O'Brien PH, Elliott BM, Robison JG, Cole DJ. Efficacy of reverse transcriptase-polymerase chain reaction screening for micrometastatic diseases in axillary lymph nodes of breast cancer patients. The Am Surg 1998;64:539-544.
- Delage R, Soiffer RJ, Dear K, Ritz J. Clinical significance of ber-abl gene rearrangement detected by polymerase chain reaction after allogeneic bone marrow transplantation in chronic myelogenous leukemia. Blood 1991;78: 2759-2767.
- Datta YH, Adams PT, Drobyski WR, Ethier SP, Terry VH, Roth MS. Sensitive detection of occult breast cancer by the reverse-transcriptase polymerase chain reaction. J Clin Oncol 1994;12:475-482.
- Nakamori S, Kameyama M, Furukawa H, Takeda O, Sugai S, Imaoka S, Nakamura Y. Genetic detection of colorectal cancer cells in circulation and lymph nodes. Dis Colon Rectum 1997;40:S29-S36.
- Maehara Y, Baba H, Ohno S, Sugimachi K. Cytokeratin staining reveals micrometastasis in lymph nodes of early gastric cancer. Surgery 1995;117:480-488.
- Gunven P, Maruyama K, Okabayashi K, Sasako M, Kinoshita T. Non-ominous micrometastases of gastric cancer. Br J Surg 1991;78:352-357.
- Riethmuller G, Schneider-Gadicke E, Schlimok G, Schmiegel W, Raab R, Hoffken K, Gruber R, Pichlmaier H, Hirche H, Pichlmarr R. Randomised trial of monoclonal antibody for adjuvant therapy of resected Dukes' C colorectal carcinoma. German Cancer Aid 17-1A Study Group. Lancet 1994;343: 1177-1185.