

위암 환자의 골수에서 발견된 Cytokeratin 양성세포의 임상적 의의

경북대학교병원 외과, ¹해부병리과

신정혜 · 구기범 · 박성훈 · 정호영 · 유완식 · 배한익¹

목적: 암 환자의 골수에서 발견되는 cytokeratin 양성세포와 암의 재발과의 상관관계에 대해서는 알려진 바가 많지 않다. 이에 위암환자의 골수에서 발견되는 cytokeratin 양성세포가 위암 환자의 재발과 생존율을 예측할 수 있는지 알아보려고 하였다.

대상 및 방법: 1998년 6월부터 2000년 7월까지 경북대학교병원 외과에서 원발성 위암으로 수술받은 환자 419명을 대상으로 하였다. 수술 직전 장골능선에서 골수를 흡인하여 단핵구를 분리하고 항 cytokeratin 항체를 이용하여 면역세포화학적 염색을 하였다.

결과: Cytokeratin 양성세포는 219예(52.4%)에서 발견되었고, 위암의 침윤깊이(P=0.021), 병기(P=0.026)에 따라서 통계학적으로 유의한 차이가 있었으나, 암의 위치, 육안형, 림프절전이, 원격전이, 분화도에 따라서는 유의한 차이가 없었다. 골수의 cytokeratin 양성세포 유무에 따른 5년 생존율은 유의한 차이가 없었고(P=0.248), 재발여부, 재발부위도 유의한 차이가 없었다.

결론: 위암 환자의 골수에서 cytokeratin 양성세포 유무는 예후인자로 사용되기 어렵고 재발양상을 예측하기도 어렵다.

중심 단어: 위암, Cytokeratin 양성세포, 단일암세포, 골수, 예후

서 론

위암은 우리나라에서 가장 흔히 발생하는 암이며, 최근 위암으로 인한 사망률이 점차 감소하고 있는 추세이지만 아직은 폐암에 이어 두 번째로 흔한 암 관련 사망원인이다.(1) 최근 광범위 림프절 광청술 및 주위 침범 장기의 합병절제를 포함한 근치적 위절제술의 수술 기법의 발전으로 인하여 위암 환자의 치료성적이 많이 향상된 것이 사실이지만, 이런 근치적 위절제술을 받은 후에도 상당수의 환자들에서 재발이 관찰되고 있다. 이는 수술 당시 이미 상당

수의 환자들이 암세포 전이가 이루어진 상태였음을 의미한다.(2,3) 이런 미세 잔존암은 근치적 암절제술 후 심각한 결과로 이어지며, 이에 International Union Against Cancer (UICC)의 암-림프절-전이 분류법 6판 위암 병기분류에서는 미세 전이암의 상태에 대한 Mi의 개념을 도입하였다.(4) 그러나 단일암세포 혹은 소집단의 암세포들(small cluster of tumor cells)의 전이능력에 대해서는 아직 의문이 많으며, UICC 6판에서도 단일암세포의 전이능력의 증거는 명확하지 않으며 혈관이나 림프절로의 침투능력 또한 명확하지 않다고 명시하고 있다.

흔히 사용되는 영상진단방법 및 혈액학적인 진단법, 수술 중 육안적 확인만으로는 단일 암세포의 전이 여부를 확인하는 것이 불가능하였기 때문에, 좀 더 예민한 검사법이 필요하게 되었다. 1977년 Ceriani 등이 포유류의 상피세포와 반응하는 항혈청에 대해 보고한 후 획기적인 발전을 거듭해온 면역세포화학적 방법이 단일암세포를 진단할 수 있는 방법으로 제시되었고, 현재는 상피성 세포골격의 구성인자로서 cytokeratin에 대한 항체들을 이용하는 것이 단일 상피성 암세포를 확인하는 가장 예민하고 특이한 방법으로 받아들여지고 있다.(5) 정상적으로는 상피세포가 존재하지 않는 골수 및 림프절 등, 중간엽 이차 기관들에서 cytokeratin 양성세포가 발견될 수 없기 때문에 골수에서 cytokeratin 양성세포가 확인된다는 것은 상피성 암세포의 발현으로 해석할 수 있고, 골수에서 육안적으로 확인할 수 없는 암세포를 면역세포화학검사로 확인하는 것의 예후적 중요성은 다양한 임상연구에서 확인된 바 있다.(26)

유방암,(6,7) 대장암,(8) 췌장암,(9,10) 식도암(11)의 경우 골수에서의 cytokeratin 양성세포의 여부가 예후에 영향을 미치는 인자로 여겨지고 있지만, 비소세포성폐암(12,13)이나 위암에서의 역할에 대해서는 아직 의문시 되고 있다. 이에, 골수에서의 cytokeratin 양성세포 유무가 위암 환자의 재발여부와 생존율을 예측할 수 있는지를 알아보려고 하였다.

방 법

1) 환자

경북대학교병원 외과에서 1998년 6월부터 2000년 7월까지 원발성 위암으로 수술받은 환자 419명을 대상으로 하였

책임저자: 유완식, 대구광역시 중구 삼덕 2동 50번지
경북대학교병원 외과, 700-721
Tel: 053-420-5616, Fax: 053-421-0510
E-mail: wyu@mail.knu.ac.kr

접수일 : 2006년 7월 20일, 게재승인일 : 2006년 9월 4일
본 논문의 요지는 2005년 대한위암학회 제20회 추계학술대회에서 발표되었음.

으며, 중간추적관찰기간은 56개월이었다. 여자는 129명이었고 남자는 270명이었다. 나이는 24세부터 87세였으며, 중간연령은 60세였다. 병기는 IA기가 133예(31.7%), IB기가 89예(21.2%), II기가 95예(22.9%), IIIA기가 46예(11.0%), IIIB기가 18예(4.3%), IV기가 38예(9.0%)였다. 수술은 10예에서 유문보존 위절제술을, 304예에서 위아전절제술을, 104예에서 위전절제술을, 2예에서 췌기절제술을 시행하였으며, 이들 중에서 근치적 수술을 받은 환자는 396명이었다. 암 병기는 UICC 분류법 6판(4)에 따랐다.

2) 골수 흡인생검 및 면역세포화학적 염색

전신마취 하에서 복부 피부절개를 하기 직전에 장골능선에서 해파린 처리된 주사기로 10 ml의 골수를 흡인한 후, Ficoll-Hypaque (SIGMA, USA) 밀도기울기 원심분리를 이용하여 단핵구를 분리하였다. Tris buffered saline (TBS) plus tween 20을 20배 희석한 용액으로 2회 세척한 후 1×10^6 cells/ml의 농도로 현미경 슬라이드에 위치시키고 1시간동안 건조시켰다. 95% alcohol에 30분간 고정시킨 후, 100% alcohol에 탈수시켜서 TBS로 2번 씻었다.

이후의 과정은 ULTRATECH HRP kit (IMMUNOTECH, USA)를 사용하였다. 비특이적 결합을 막기 위해 kit의 protein blocking agent와 5회 반응시켰다. 항 cytokeratin 항체 (AE-1/AE-3 PAN-CYTOKERATIN, SIGNET, USA)를 첨가한 후 30분 내지 1시간 반응시킨 후 TBS로 3회 씻었다. Kit의 biotin을 첨가하고 15분 후에 TBS로 3회 씻어내고 kit의 streptavidine을 첨가하여 15분간 반응시켰다. 다시 TBS로 3회 세척한 후 발색액인 DAB+CHROMOGEN (DAKOCYTO-MATION, USA)과 반응시켰다. 실온에서 건조시킨 후 hematoxylin으로 대조염색하였다. Alkaline phosphatase법을 이



Fig. 1. Cytokeratin-positive cancer cells are forming a cluster in the bone marrow of a patient with gastric cancer ($\times 400$). Hematopoietic cells are negative. The cytological preparation was stained with AE-1/AE-3 PAN-CYTOKERATIN.

용한 도말 골수세포의 면역염색은 HRP 대신에 ENHANCED V/Red kit (VENTANA, USA)를 선정하여 alkaline phosphatase가 붙은 avidin을 사용하여 fast red로 발색하였다. 도말세포의 면역염색은 열을 가해 항원을 노출시키는 과정 (heat-induced antigen retrieval)을 생략하였다.

세포막에 갈색으로 염색된 세포가 2개 이상 있으면 cytokeratin 양성으로 판정하였다. 양성대조를 위해서 사람의 피부조직을, 음성대조를 위해서 정상 쥐의 혈청을 같은 방법으로 처리하여 면역세포화학염색을 시행하였다.

3) 통계학적 분석

Cytokeratin 양성세포 유무와 위암의 임상병리학적 특성과의 관계 및 재발부위와의 관계는 chi-square test를 이용하여 분석했다. 수술 후 생존율은 Kaplan-Meier 방법으로 구하여 log-rank 방법으로 비교하였으며, 0.05 미만의 P value를 유

Table 1. Rate of cytokeratin-positive cells in the bone marrow according to clinicopathologic parameters

Variable	Cytokeratin-positive cells	P value
Location		0.844
Upper 1/3	35/67 (53.4)	
Middle 1/3	72/141 (51.1)	
Lower 1/3	110/206 (52.2)	
Whole	2/5 (40.0)	
Histology		0.590
Differentiated	116/203 (57.1)	
Undifferentiated	103/216 (47.9)	
Depth of invasion		0.021
pT1	67/149 (45.0)	
pT2	108/181 (59.9)	
pT3	40/84 (47.6)	
pT4	4/5 (80.0)	
Lymph node metastasis		0.728
pN0	123/230 (53.5)	
pN1	64/121 (53.3)	
pN2	21/42 (50.0)	
pN3	11/26 (42.3)	
Metastases		0.563
pM0	214/411 (52.2)	
pM1	5/8 (62.5)	
Stage		0.026
IA	60/133 (45.1)	
IB	56/89 (62.9)	
II	55/95 (58.3)	
IIIA	17/46 (37.0)	
IIIB	10/18 (55.6)	
IV	21/38 (55.3)	

Values in parentheses are percentages.

의수준으로 하였다.

결 과

골수에서 cytokeratin 양성세포는 219예(52.4%)에서 발견되었다(Fig. 1). 위암의 임상병리학적 특성과 골수의 cytokeratin 양성세포 유무와의 관계는 Table 1과 같다. 골수의 cytokeratin 양성세포의 발견율은 침윤깊이에 따라서 유의한 차이가 있었고($P=0.021$), 병기에 따라서도 유의한 차이가 있었다($P=0.026$). 위암의 위치나 분화도, 림프절전이, 원격전이에 따라서는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

근치적 절제술을 받은 396예 중에서 재발이 있었던 경우는 골수에서 cytokeratin 양성세포가 발견된 204예 중 30예(14.7%), cytokeratin 양성세포가 발견되지 않은 192예 중 23예(12.0%)로 통계학적으로 유의한 차이가 없었다($P=0.426$). 재발환자의 재발부위와 cytokeratin 양성세포 유무와는 통계

학으로 유의한 차이가 없었다($P=0.398$; Table 2).

수술 후 5년 생존율은 골수에서 cytokeratin 양성세포가 발견된 경우는 70.8%, 발견되지 않은 경우는 78.3%로 유의한 차이는 아니었다($P=0.199$; Fig. 2). 병기에 따른 5년 생존율은 IIIA기에서 양성인 경우 67.4%, 음성인 경우 14.3%로 통계학적으로 유의한 차이를 나타내었으나($P<0.001$; Fig. 3), 다른 병기에선 유의한 차이가 없었다(Table 3).

고 찰

골수의 cytokeratin 양성세포의 존재는 유방암, 소세포성 폐암, 식도암 등의 상피성 암종의 예후인자로서 연구되어 왔고, 유방암, 췌장암, 식도암에서 나쁜 예후를 시사하는 것으로 알려져 있으나, 위암환자에서는 예후인자로서의 가치가 아직 확실하지 않다.

위암환자에서 골수의 cytokeratin 양성세포가 확인되는 빈

Table 2. Site of recurrence after curative surgery according to cytokeratin-positive cells in the bone marrow.

Site	Cytokeratin-positive cells (+)	Cytokeratin-positive cells (-)
Total	30	23
Peritoneum	13 (43.3)	10 (43.5)
Hematogenous	6 (20.0)	4 (17.4)
Lymphatic	6 (20.0)	3 (13.0)
Local	4 (13.3)	2 (8.7)
Multiple	1 (3.3)	4 (17.4)

Values in parentheses are percentages ($P=0.398$).

Table 3. Five year survival rates (%) according to cytokeratin-positive cell in the bone marrow

Stage	Cytokeratin-positive cell (+)	Cytokeratin-positive cell (-)	P value
IA	100.0	100.0	1.000
IB	90.5	86.1	0.380
II	69.2	73.1	0.870
IIIA	15.0	67.4	<0.001
IIIB	10.0	33.3	0.830
IV	8.4	18.8	0.940

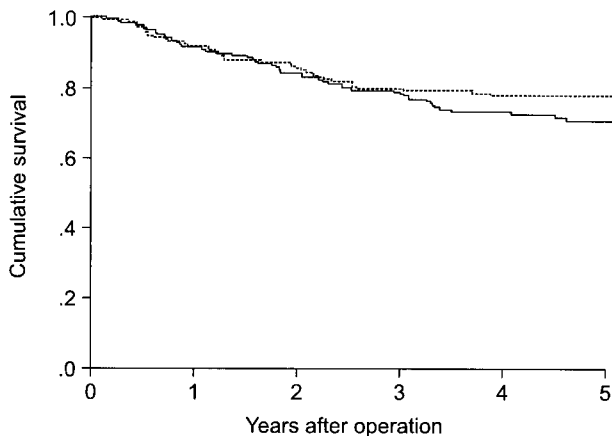


Fig. 2. Survival distributions of 419 patients with gastric cancer according to the presence (solid line, $n=219$) or absence (broken line, $n=200$) of cytokeratin-positive cells in the bone marrow ($P=0.199$).

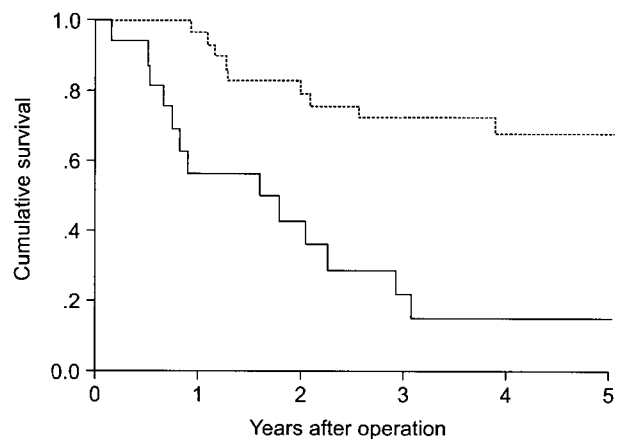


Fig. 3. Survival distributions of 46 patients with stage IIIA gastric cancer according to the presence (solid line, $n=17$) or absence (broken line, $n=29$) of cytokeratin-positive cells in the bone marrow ($P<0.001$).

도는 30%(14)에서 53%(15)로 보고되고 있으며, 본 연구에서는 52%였다.

Cytokeratin 양성세포의 존재와 위암의 주요 임상병리학적 요인들과의 상관관계에 대한 연구들은 상반된 결과들을 보고해왔다. 암의 침윤깊이 및 분화도는 cytokeratin 양성세포의 유무와 통계학적으로 유의한 차이가 있다는 연구결과도 있고,(16-19) 차이가 없다는 결과도 있다.(14,20-22) 본 연구에서는 침윤깊이와 병기에 따라서 유의한 차이가 있었다.

골수의 cytokeratin 양성세포의 존재가 예후인자로 작용하는 지에 대한 Schlimock 등의 보고에서는 근치적 위절제술을 받은 38명의 환자들에서 cytokeratin 양성세포의 존재가 단기 무병생존기간에 영향을 미치는 것으로 나타났다.(16) 또한 Jauch 등의 보고에 따르면 근치적 위절제술을 받은 109명의 환자들 중에서 N0, T1/T2에 해당하는 환자들은 골수에서 3개 이상의 암세포가 발견될 경우에 예후가 나쁘다고 하였다.(17) 반면에 Manzoni 등의 연구에 의하면 근치적 위절제술을 받은 92명의 환자들에서 cytokeratin 양성세포 유무에 따른 위암의 임상병리학적 요인 및 생존율은 유의한 차이가 없는 것으로 보고되고 있다.(23) 본 연구에서도 cytokeratin 양성세포 유무에 따른 재발 및 생존율은 유의한 차이가 없었다.

이런 연구결과들의 불일치는 세 가지 측면에서 설명할 수 있다. 하나는 위암의 특징이고, 다른 하나는 면역세포화학 염색법의 방법 자체의 문제이며, 마지막으로 미세전이와 단일암세포에 대한 개념의 혼용이다.

위암의 재발은 복막 또는 국소재발이 혈행성 전신재발에 비해 훨씬 빈번한 것으로 알려져 있다. 또한 본 연구의 결과에서도 혈행성 전이는 20.6%에 불과했다. 이는 골수의 cytokeratin 양성세포는 국소재발보다는 전신전이와의 상관관계가 있으므로 국소재발이 흔한 위암에서의 그 의미에 한계가 있을 수밖에 없다는 것을 의미한다. 다른 두 재발양상(국소재발과 전신재발)들이 각각의 단일 재발양상일 수도 있고, 하나의 복잡한 재발 단계 중 각각 다른 단계에 속한 사건일 수도 있으므로 분명한 점은 골수의 cytokeratin 양성세포의 존재와 임상적 결과와의 상관관계가 명확하지 않다는 점이다.

여러 연구의 면역세포화학 염색법에서 사용되는 항체의 다양한 민감도와 특이도뿐만 아니라 염색과정의 세부상황의 다양성 등이 이런 문제를 야기하는 것으로 보이며, 이런 점 때문에 위암 환자의 골수에서 cytokeratin 양성세포가 확인되는 비율이 연구에서마다 굉장히 다양한 분포를 나타내었던 것으로 생각된다. 결국 이런 각각의 연구가 좀 더 명확한 의미를 가지기 위해서는 면역세포화학 염색법의 표준화가 이루어지는 것이 급선무로 생각된다.

또한, 밀도기울기 원심분리 과정에서 단핵구의 손실을 완전히 배제할 수 없다는 점, 조혈세포와의 형태학적 유사

성에 의한 위양성의 위험성이 있다(24)는 점 역시 면역세포화학 염색법을 이용하여 cytokeratin 양성세포를 골수에서 확인하는 과정의 정확성에 문제가 있었다.

전이병변이 0.2 mm 이하인 경우를 단일암세포로 정의하고 0.2 mm보다 크고 2 mm를 넘지 않는 경우는 미세전이로 정의되는데 이 둘 사이에는 분명한 생물학적인 잠재력의 차이가 있는 것으로 알려져 있다.(25) 본 연구에서 확인된 cytokeratin 양성세포들은 미세전이가 아닌 단일암세포들이었기 때문에 이것이 예후인자로서 작용하지 못한 하나의 이유로 생각된다. 또한 예후인자로서의 가치여부에 대한 상반된 연구결과들도 미세전이와 단일암세포에 대한 개념의 혼용 때문일 수도 있겠다.

결 론

위암 환자의 골수에서 cytokeratin 양성세포 유무는 예후인자로 사용되기 어렵고 재발양상을 예측하기도 어렵다. 따라서 골수에서 발견된 cytokeratin 양성세포가 가지는 의미에 대해서는 염색과정의 표준화와 염색결과의 판정에 대한 일정한 기준을 마련한 후 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. <http://www.mohw.go.kr/> Accessed December 22, 2003.
2. Kell MR, Winter DC, O'Sullivan GC, Shanahan F, Redmond HP. Biological behaviour and clinical implications of micrometastases. *Br J Surg* 2000;87:1629-1639.
3. Izbicki JR, Hosch SB. Minimal dissemination of solid epithelial tumors: impact on staging and therapeutic strategy. *Br J Surg* 1997;84:897-898.
4. Sobin LH, Wittekind CH. TNM Classification of Malignant Tumours. 6th ed. New York: Wiley-Liss, 2002.
5. Cordell J, Richrdsen TC, Pulford KA, Ghosh AK, Gatter KC, Heyderman E, Mason DY. Production of monoclonal antibodies against human epithelial membrane antigen for use in diagnostic immunocytochemistry. *Br J Cancer* 1985;52:347-354.
6. Harbeck N, Untch M, Pache L, Eiermann W. Tumor cell detection in the bone marrow of breast cancer patients at primary therapy: results of a 3-year median follow-up. *Br J Cancer* 1994;69:566-571.
7. Braun S, Pantel K, Müller P, Janni W, Hepp F, Kentenich CR, Gastroph S, Wischnik A, Dimpfl T, Kindermann G, et al. Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II, or III breast cancer. *N Engl J Med* 2000;342:525-533.
8. Lindemann F, Schlimok G, Dischedl P, Witte J, Riethmuller G. Prognostic significance of micrometastatic tumor cells in

- bone marrow of colorectal cancer patients. *Lancet* 1992;340:685-689.
9. Stefan T, Jurgen R, Klaus P, Rudiger S. Immunocytochemical detection of isolated epithelial tumor cells in bone marrow of patients with pancreatic carcinoma. *Am J Surg* 1996;172:297-298.
 10. Van Heek NT, Tascilar M, Van Beekveld JL, Drillenburger P, Offerhaus GJ, Gouma DJ. Micrometastases in bone marrow of patients with suspected pancreatic and ampullary cancer. *Eur J Surg Oncol* 2001;27:740-745.
 11. Nakamura T, Matsunami K, Hayashi K, Ota M, Ide H, Takasaki K. Detection of bone marrow micrometastasis in esophageal cancer patients by immunomagnetic separation. *Oncol Rep* 2004;11:999-1003.
 12. Coello MC, Luketich JD, Litle VR, Godfrey TE. Prognostic significance of micrometastasis in non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2004;5:214-225.
 13. Saintigny P, Le Pimpec-Barthes F, Bernaudin JF. Micrometastases and non-small cell lung cancer. *Rev Mal Respir* 2004;21:105-116.
 14. Matsunami K, Nakamura T, Oguma H, Kitamura Y, Takasaki K. Detection of bone marrow micrometastasis in gastric cancer patients by immunomagnetic separation. *Ann Surg Oncol* 2003;10:171-175.
 15. Jauch KW, Heiss MM, Gruetzner U, Funke I, Pantel K, Babic R, Eissner HJ, Riethmuller G, Schildberg FW. Prognostic significance of bone marrow micrometastases in patients with gastric cancer. *J Clin Oncol* 1996;14:1810-1817.
 16. Schlimok G, Funke I, Pantel K, Strobel F, Lindemann F, Witte J, Riethmuller G. Micrometastatic tumor cells in bone marrow of patients with gastric cancer; methodological aspects of detection and prognostic significance. *Eur J Cancer* 1991;27:1461-1465.
 17. O'Sullivan GC, Collins JK, O'Brien F, Crowley B, Murphy K, Lee G, Shanahan F. Micrometastases in bone marrow of patients undergoing curative surgery for gastrointestinal cancer. *Gastroenterology* 1995;109:1535-1540.
 18. Maehara Y, Yamamoto M, Oda S, Baba H, Kusumoto T, Ohno S, Ichiyoshi Y, Sugimach K. Cytokeratin-positive cells in bone marrow for identifying distant micrometastasis of gastric cancer. *Br J Cancer* 1996;73:83-87.
 19. Heiss MM, Allgayer H, Gruetzner KU, Babic R, Jauch KW, Schildberg FW. Clinical value of extended biologic staging by bone marrow micrometastases and tumor-associated proteases in gastric cancer. *Ann Surg* 1997;226:736-744.
 20. Funke I, Fries S, Rolle M, Heiss MM, Untch M, Bohmert H, Schildberg FW, Jauch KW. Comparative analysis of bone marrow micrometastases in breast and gastric cancer. *Int J Cancer* 1996;65:755-761.
 21. Schott A, Vogel I, Krueger U, Kalthoff H, Schreiber HW, Schmiegel W, Henne-Bruns D, Kremer B, Juhl H. Isolated tumor cells are frequently detectable in the peritoneal cavity of gastric and colorectal cancer patients and serve as a new prognostic marker. *Ann Surg* 1998;227:372-379.
 22. Bonavina L, Soligo D, Quirici N, Bossolasco P, Cesana B, Lambertenghi Delilieri G, Peracchia A. Bone marrow-disseminated tumor cells in patients with carcinoma of the esophagus or cardia. *Surgery* 2001;129:15-22.
 23. De Manzoni G, Pelosi G, Pavanell F, Di Leo A, Pedrazzani C, Durante E, Cordinano C, Pasini F. The presence of bone marrow cytokeratin-immunoreactive cells does not predict outcome in gastric cancer patients. *Br J Cancer* 2002;86:1047-1051.
 24. Borgen E, Beiske K, Trachsel S, Nesland JM, Kvalheim G, Herstad TK, Schlichting E, Qvist H, Naume B. Immunocytochemical detection of isolated epithelial cells in bone marrow: non-specific staining and contribution by plasma cells directly reactive to alkaline phosphatase. *J Pathol* 1998;185:427-434.
 25. Singletary SE, Greene FK, Sobin LH. Classification of isolated tumor cells: clarification of the 6th edition of the American Joint Committee on Cancer Staging Manual. *Cancer* 2003;98:2740-2741.
 26. Pantel K, Cote RJ, Fodstad Ø. Detection and clinical importance of micrometastatic disease. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:1113-1124.

= Abstract =

Cytokeratin-positive Cells in the Bone Marrow of Patients with Gastric Cancer

Jung-Hye Shin, M.D., Ki-Beom Ku, M.D., Seong-Hoon Park, M.D., Ho Young Chung, M.D., Wansik Yu, M.D. and Han-Ik Bae, M.D., Ph.D.¹

Departments of Surgery and ¹Pathology, Kyungpook National University Hospital, Daegu, Korea

Purpose: Controversy still exists over in the prognostic significance of microscopic tumor cell dissemination in patients with cancer. This study evaluated the prognostic implication of isolated tumor cells in the bone marrow of patients with gastric cancer.

Materials and Methods: Four hundred nineteen (419) patients who underwent surgery for gastric cancer between June 1998 and July 2000 were enrolled in the study. Bone marrow aspirate was obtained from the iliac crest before removal of the primary tumor. Mononuclear cells were isolated and stained with AE-1/AE-3 PAN-CYTOKERATIN.

Results: Cytokeratin-positive cells were found in the bone marrow of 219 patients (52.3%). The incidence varied significantly with the depth of invasion ($P=0.021$) and the stage ($P=0.026$). The five-year survival rate of patients with cytokeratin-positive cells was 74.1% and that of patients without cytokeratin-positive cells was 81.1% ($P=0.2481$). There were no significant differences in the recurrence rate and the site of recurrence according to whether or not cytokeratin-positive cells were present in the bone marrow.

Conclusion: The presence of cytokeratin-positive cells in the bone marrow of patients with gastric cancer did not predict outcome and recurrence. Therefore, it cannot be used as a prognostic factor. (**J Korean Gastric Cancer Assoc 2006;6:221-226**)

Key Words: Gastric cancer, Cytokeratin-positive cells, Isolated tumor cells, Bone marrow, Prognosis