

자궁 경부 암에서 유식세포분석에 의한 DNA 양상과 임상적 특성과의 상관관계

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 산부인과
엄상탁 · 박창수 · 강선영 · 배덕수 · 이제호

-Abstract-

Flow Cytometric Analysis of DNA patterns in Carcinoma of the Uterine Cervix

Sang-Tag Eum, M.D., Chang-Soo Park, M.D., Sun-Young Kang, M.D.,
Duk-Soo Bae, M.D., Je-Ho Lee, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University,
School of medicine*

Objective: Flow cytometric deoxyribonucleic acid (DNA) content analysis has been shown to be of prognostic importance in some cancers. In this study, DNA patterns obtained by flow cytometry in patients with cervical cancer have been shown to be related to a prognostic importance in cervical carcinoma.

Methods And Materials: We retrospectively reviewed 59 cervical cancer patients who admitted to the department of obstetrics and gynecology, Samsung Medical Center from January 1995 to May 1997.

Results: A total of 59 archival paraffin-embedded blocks were processed, 42.4 percent were found to be DNA content aneuploid (DNA-A) and 57.6 percent DNA content diploid (DNA-D). The S-phase fraction was significantly increased with stage. The incidences of aneuploid and relative DNA index were not significantly increased with the stage($P=0.280$) and age of patients($P=0.088$). The results had no significant differences between the squamous cell carcinoma and adenocarcinoma, and no relationship between the groups with keratinizing cell type and nonkeratinizing type($P=0.409$). The DNA ploidy patterns were not significantly correlated with metastasis to lymph node($P=0.179$), tumor size($P=0.109$), invasion depth($P=0.361$) and recurrent group($P=0.285$). High S-phase fraction had a tendency to correlate with the invasion depth($P=0.011$), size($P=0.027$), lymph node metastasis($P=0.039$) and recurrence($P=0.099$) of cervical cancer.

Conclusion: Flow cytometric DNA content analysis is being used more frequently in the management of different malignant tumors. Our study shows that DNA content analysis may not serve as an important biological indicator in determining the prognosis in cervical carcinoma, but High S-phase fraction has been connected with more aggressive tumors.

Key Words: Uterine cervical carcinoma, Flow cytometric DNA content analysis

서 론

연구 대상 및 방법

자궁경부암은 빈도와 사망률에서 전세계적으로 가장 흔한 여성 암 중 하나로 매년 약 471000명 정도가 새롭게 진단된다.¹⁾ 이런 악성 종양의 정확한 생물학적 작용을 예측하는 것은 환자의 치료와 치료방법 결정에 많은 도움을 준다. 분자유전학의 발달로 악성종양의 발생 초기 단계에서 암세포는 정상세포와 달리 염색체의 재배열이 일어나 수와 구조적 이상을 초래하고 정상적인 성장조절기능에 변형을 일으켜 발생하는 것으로 밝혀졌다.²⁾

자궁 경부암에서 병기, 종양의 크기, 임파절 전이 유무, 조직학적 분류, 연령, 종양의 침윤 정도는 일반적으로 예후에 가장 중요한 요인으로 알려져 있다. 임상적 특징은 예후를 평가하는데 좋은 지표로 사용되고 있으나, 병변의 국소재발이나 원격 전이를 예측하는 면에 있어서 특히 한계를 나타낸다.

세포내 DNA 측정은 유세포분석기의 임상적 적용으로 세포 유전학적 방법 보다 쉽게 측정할 수 있게 되었다. 핵 속의 DNA양은 여러 종류의 악성종양에서 예후인자로 알려져 있고, 특히 고형암의 일부 유방암, 전립선 암, 난소암, 결장과 직장 암 등에서 비배수체 종양이 배수체 종양보다 나쁜 예후와 관련이 있다고 보고되어 있다.³⁻⁵⁾

유식세포분석에 의한 DNA 양상(Flow Cytometric DNA Content Analysis)은 부인과 종양을 가진 환자에서 나쁜 예후와의 상관관계가 지난 수 년 동안 연구되어 왔었다. Zanetta 등은 자궁경부암 병기 IB와 IIA 에서 High-proliferative-phase DNA content가 low-proliferative-phase tumor보다 나쁜 예후를 가지는 경향이 있다고 보고하였고,⁶⁾ Kristensen 등은 DNA ploidy와 S-phase fraction 분석은 예후 결정에 영향을 미치는 독립된 인자가 아닌 것으로 보고하였으며,⁷⁾ 아직 부인과 종양, 특히 자궁경부암에서의 예후인자로서의 유용성에 대해서는 논란이 있다.

이에 저자들은 유식세포분석기를 이용하여 보관된 자궁경부암의 포르말린 고정 파라핀 포매 조직에서의 DNA 양상을 관찰하고 자궁경부암의 예후와 밀접한 관계가 있는 임상적 특징들과의 상관 관계를 조사함으로써 예후인자로서의 가능성에 대해 알아보고자 한다.

1. 연구 대상

1995년 1월부터 1997년 5월까지 삼성서울병원 산부인과 부인암 클리닉에 내원한 자궁경부암 환자들 중 항암요법이나 방사선 치료를 받지 않은 상태에서 광범위 자궁적출술을 시행하고, 수술후 비교적 충분한 추적관리가 이루어진 59예를 대상으로 하였다.

환자의 연령별 분포는 26세에서 71세로 평균 연령은 46.4세였다. 대상 군은 50세이하군과 50세 이상 군으로 나누어 관찰하였고, FIGO의 분류에 따른 환자의 임상적 병기별 분포는 IA 10명, IB 35명, IIA 14명이였다.

2. 연구 방법

Flow cytometry 분석을 위하여 H & E 염색된 절편 슬라이드에서 종양을 나타내는 부분을 확인하여 종양세포를 구분하여 채취하였다. 파라핀 고정된 조직의 처리는 Hedley 등이 1983년 고안한 방법을 이용하였다.⁸⁾ 선택된 파라핀 고정 파라핀 포매 조직을 50um의 두께로 2내지 4개의 조직절편을 만들고 10ml 유리시험관에 넣었다. Clearene 용액(American, Baxter S/P, McGaw Park, IL)을 추가하고, 실온에서 10분간 방치한 후 Pasteur pipet을 사용하여 용액만 제거하였다. 이후 이 과정을 2회 반복하였다. 재수화(Rehydration)을 위하여 100%, 95%, 70%, 50% ethanol 용액을 단계적으로 첨가하여 시행하였고, Distilled water 10ml를 첨가 후 10분간 실온에서 방치 후 pipeting하여 상층액을 제거하였다. 0.5% pepsin과 PH 1.5의 적절한 phosphated buffer solution (PBS)을 37℃에서 30분간 배양하였고, 이 동안 2회 이상 mixer를 이용하여 혼합하였다. 이 용액을 62um nylon mesh를 통과시켜 원심분리 시험관에 넣었다. 1,500 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 pipeting하여 버린 후 PBS 용액을 추가한 후 다시 10분간 원심분리하였다. 이 과정을 2회 반복하였다. 이후 pipeting하여 상층액을 버린 뒤 Vindelov 등의 방법으로 propidium iodide 용액과 0.01% RNase의 혼합용액에 넣고 상온에서 30분간 방치하였다.⁹⁾

DNA의 분석은 FACScan(Becton/Dickson, Mountain View, CA.)을 사용하여 파장이 488nm인 15mW argon-ion laser를 이용하여 분석하였으며, 한 표본

당 최소 10,000개의 핵을 측정하여 기록하였다.

외부표준 검체는 정상 DNA 양을 가진 사람의 임파구를 사용하였으며, 결과분석은 Multicycle analysis software(Phonex Flow System, San Diego, CA)를 이용하여 각각의 histogram의 세포주기의 분포와 비배수체(aneuploidy), 이배수체(diploidy), 사배수체(tetraploidy)의 발생빈도를 관찰하였고 상대 DNA 지수를 산출하여 DNA의 양을 측정하였다. 정상 이배수체 휴지기(diploidy, G0/G1)세포의 상대 DNA 지수를 1.0으로 하여 여기서 DNA 정점을 보이는 경우를 이배수체 종양으로 정의하였고, 이 외의 다른 곳에서 DNA 정점을 보이는 종양을 비배수체 종양으로 정의하였다.

임상적 관찰은 병리보고서와 병록지를 이용하여 각 환자의 종양기를 FIGO의 분류에 따라 분류하였으며, 환자의 연령, 종양의 크기, 임파절 전이 유무, 암세포의 조직학적 특성, 자궁경부 침습정도, 재발 유무 등을 조사하였다.

통계적 분석은 SPSS-Win 8.0을 이용하여 T-test, chi-square test, Mann-Whitney U test, Kruskal Wallis test를 이용하였다.

결 과

1. 자궁경부암의 임상적 병기에 따른 세포주기의 양상

자궁경부암의 병기 Ia에서 종양의 세포주기 분포율은 휴지기(G0/G1 phase), 합성기(S-phase)와 분열기(G2/M)가 각각 $79.93 \pm 10.12\%$, $11.02 \pm 13.31\%$, $5.98 \pm 5.16\%$ 이었고 Ib에서는 $71.41 \pm 19.43\%$, $22.42 \pm 17.93\%$, $6.20 \pm 4.31\%$, $1.24 \pm 0.45\%$ 이었으며, IIa에서는 $72.54 \pm 21.08\%$, $27.11 \pm 20.37\%$,

$4.20 \pm 4.22\%$ 였다. 전체 종양의 S-phase fraction은 병기가 증가할수록 증가되었고 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p=0.023$). 휴지기, 분열기는 병기 증가에 따른 유의한 차이를 보이지 않았다($p=0.604$, 0.172). 비배수체 종양에서 S-phase fraction의 평균은 19.59% 였고, 배수체 종양에서는 22.64% 였다. 비배수체 종양에서 S-phase fraction은 병기가 증가함에 따라 증가되는 양상은 없었고, 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.392$). 상대 DNA 지수는 병기에 따라 증가되지 않았으며 통계적으로 유의한 차이는 없었다($P=0.466$)(Table 1)

2. 자궁경부암 병기에 따른 Aneuploid율

자궁경부암 환자에서 비배수체 종양은 전체 59례 중 25례(42.4%)였고 이배수체 종양은 34례(57.6%)이었다. 병기 Ia기중에서 비배수체 종양은 6(60.0%)명, 병기 Ib기에서는 12(34.3%)명, 병기 IIa기에서는 7(50.0%)명이었다. 병기 증가에 따른 비배수체 종양의 발생 빈도 증가는 보이지 않았으며, 또한 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.280$)(Table 2)

3. 연령에 따른 비배수체 종양의 발생빈도

자궁경부암 환자의 연령을 50세 미만 군과 50세 이상 군으로 분류하였으며 비배수체 종양은 50세 미만 군에서 13(34.2%)례, 50세 이상 군에서 12(57.1%)를 나타내었다. 연령의 증가에 따른 비배수체 종양의 증가가 나타났으나, 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.088$)(Table 2). 연령의 증가에 따른 S-phase fraction 증가는 50세 미만 군에서 $20.8 \pm 18.3\%$, 50세 이상군에서 $22.5 \pm 18.1\%$ 이었으나, 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.580$)(Table 3)

Table 1. Distribution of cell cycles and DNA index(mean \pm S.D.단위 %)

Stage	G0/G1	s-phase	G2/M	D.I	Number
Stage Ia	79.93 ± 10.12	11.02 ± 13.31	5.98 ± 5.16	1.28 ± 0.30	10
Stage Ib	71.41 ± 19.43	21.42 ± 17.93	6.20 ± 4.31	1.24 ± 0.45	35
Stage IIa	72.54 ± 21.08	27.11 ± 20.37	4.20 ± 4.22	1.29 ± 0.36	14
Total					59
P value*	0.604	0.023	0.172	0.466	

* Kruskal Wallis Test

Table 2. Incidence of aneuploidy and diploidy according to clinicopathologic characteristics of cervical cancer

		Aneuploidy	Diploidy	Number(%)	Probability*
Stage	Stage Ia	6(60.0%)	4(40.0%)	10	0.280
	Stage Ib	12(34.3%)	23(65.7%)	35	
	Stage IIa	7(50.0%)	7(50.0%)	14	
Age	< 50	13(34.2%)	25(65.8%)	38	0.088
	> 50	12(57.1%)	9(42.9%)	21	
Cell type	SCC keratinizing	9(52.9%)	8(47.1%)	17	0.409
	Nonkeratinizing	14(41.2%)	20(58.8%)	34	
	Adenocarcinoma	2(25.0%)	6(75.0%)	8	
Size	< 4cm	19(38.0%)	31(62.0%)	50	0.109
	> 4cm	6(66.7%)	3(33.3%)	9	
LN metastasis	Positive	1(45.3)	5(54.7%)	6	0.179
	Negative	24(16.7%)	29(83.3%)	53	
Invasion depth	< 1cm	14(37.8%)	23(62.2%)	37	0.361
	> 1cm	11(50.0%)	11(50.0%)	22	
Recurrence	Recur	2(25.0%)	6(75.0%)	8	0.285
	Non-recr	23(45.0%)	28(55.0%)	51	
	Total	25(42.4%)	34(57.6%)	59	

* Chi-square Test

4. 자궁경부암의 조직학적 세포종류에 따른 비배수체 종양의 발생빈도

조직소견상 각화성 편평상피암(keratinizing squamous cell carcinoma)을 보이는 17례 중 9(52.9%)례에서 비배수체 종양으로 나타났고, 비각화성 편평상피암(nonkeratinizing squamous carcinoma)을 보인 34례 중 14(41.2%)례에서 비배수체 종양으로 나타났으며, 선형세포암(adenocarcinoma)에서 8례 중 2(25.0%)례에서 비배수체 종양을 보였다. 자궁경부암의 조직소견에 따른 비배수체 종양의 발생 빈도는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.409$)(Table 2). 조직소견에 따른 S-phase fraction은 각화성 편평상피암에서 $32.4 \pm 21.1\%$, 비각화성 편평상피암에서 $12.1 \pm 9.3\%$, 선형세포암에서 $38.7 \pm 17.5\%$ 이었다.(Table 3)

5. 원발성 종양의 크기와 비배수체 종양의 발생빈도

종양의 크기를 4cm미만 군과 4cm이상 군으로 나누어 보면 비배수체 종양은 각각 19 (38%), 6(66%)의 빈도를 보였으며, 종양의 크기 증가에 따른 비배수체 종양의 발생 빈도 증가는 있었으나,통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다($P=0.109$)(Table 2). 종양의 크기에 따른 S-phase fraction은 4cm미만 군에서 $18.8 \pm 15.9\%$, 4cm이상 군에서 $39.1 \pm 24.3\%$ 로 증가하였으며, 통계적으로 유의한 차이를 보였다.($P=0.027$)(Table 3)

6. 임파절 전이 여부와 비배수체 종양의 발생빈도

골반내 임파절 절제술을 시행하여 임파절 전이가 있었던 6례중 비배수체 종양은 1(45.3%)례, 임파절 전이가 없는 비배수체 종양은 24(16.7%)례였으며 임파절 전이 유무에 따라 비배수체 종양은 증가하

Table 3. Distribution of cell cycles according to clinicopathologic characteristics of cervical cancer(mean±S.D.%)

		Cell cycles fraction		
		G0/G1	S	G2/M
Age	< 50	72.7±20.4	20.8±18.3	5.5±3.8
	> 50	73.2±18.4	22.5±18.1	5.8±5.3
Cell type	SCC keratinizing	74.3±18.5	32.4±21.1	4.9±3.6
	Nonkeratinizing	72.8±18.4	12.1±9.3	5.8±4.3
	Adenocarcinoma	72.4±21.5	38.7±17.5	6.3±6.2
Size	< 4cm	71.5±19.3	18.8±15.9	5.7±4.5
	> 4cm	81.8±10.8	39.1±24.3	5.4±4.2
LN metastasis	Positive	83.8±10.3	39.8±23.0	4.8±4.6
	Negative	71.9±18.9	19.5±16.8	5.7±4.4
Invasion depth	< 1cm	71.8±19.0	17.6±17.2	5.8±4.3
	> 1cm	75.4±18.0	28.1±18.4	5.3±4.6
Recurrence	Recur	70.8±20.4	33.3±23.2	4.3±3.0
	Non-recur	73.2±18.5	21.3±23.0	5.6±4.4

는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었다($P=0.179$)(Table 2). 임파절 전이에 따른 S-phase fraction은 임파절 전이가 없는 경우 $19.5 \pm 16.8\%$, 임파절 전이가 있는 경우 $39.8 \pm 23.0\%$ 으로 증가하였으며, 통계적으로 유의한 차이를 보였다.(0.011)(Table 3)

7. 자궁경부의 침윤정도에 따른 비배수체 종양의 발생빈도

자궁경부의 침윤정도를 1cm미만 군과 1cm이상 군으로 나누어 보면 1cm미만 군에서는 37례중 14(37.8%)례에서 비배수체 종양이었고, 1cm이상 군에서는 22례중 11(50.0%)례가 비배수체 종양이었다. 종양의 크기 증가에 따른 비배수체 종양의 빈도 증가가 나타났으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었다($P=0.361$)(Table 2). 그러나 세포의 증식도를 반영하는 S-phase fraction 은 1cm 미만 군에서 $17.65 \pm 17.27\%$, 1cm이상 군에서 $28.13 \pm 18.40\%$ 으로 침윤정도가 깊을수록 S-phase fraction이 증가하는 경향을 보였으며, 통계적으로 유의한 차이를 보였다.($P=0.011$)(Table 3)

8. 재발유무와 비배수체 종양의 발생빈도

전체 59례중 8례에서 재발이 있었으며 2(25.0%)례에서 비배수체 종양을 나타내었고, 6(75%)례에서 배수체 종양을 나타내었다. 재발하지 않은 군에서는 25(45.0%)례에서 비배수체 종양이었다. 재발 유무와 비배수체 종양 발생 빈도는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.285$)(Table 2). S-Phase fraction은 재발군의 비배수체 종양에서 $33.30 \pm 23.28\%$, 재발하지 않은 군에서 비배수체 종양에서 $21.39 \pm 23.2\%$ 로 나타났고, S-phase fraction 증가는 재발유무와 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.($P=0.099$)

고 찰

자궁경부의 이행성종이 침윤성 자궁경부암의 전구단계로 알려져 있지만 아직 정확한 생물학적 작용은 밝혀지지 않은 상태이다. 암 전구병변은 침윤성 암으로 수 년에 걸쳐 이행되며, 첫 성교의 나이

가 어리거나, 많은 성교 상대자 수 등 여러 가지가 역학적 요인으로 받아들여지고 있다.¹⁰⁾ 지난 수 년 동안 종양의 예후와 핵의 DNA 양과의 관계가 연구되어 왔으며, 자궁경부암에서 핵 DNA의 비배수체성은 단순포진 바이러스 2형(Herpes simplex virus-2)과 인유두종바이러스(Human papilloma virus)의 감염과 관계된 것과 virus 감염과 관계없는 세포 유전적인 손상이 축적된 결과로 발생하는 것으로 알려져 있다.¹¹⁻¹⁴⁾

자궁경부암의 치료방침을 결정하고 예후를 예측하는데 있어서 현재까지 FIGO(International Federation of Gynecology & Obstetrics)의 임상적 병기가 널리 사용되고 있으나, 임상적 병기에 따른 예후가 다양하게 보고되어 있다. 자궁경부암의 예후는 보고자에 따라 차이는 있지만 환자의 연령, 골반 림프절 전이, 조직학적 침윤 정도, 병소의 크기, 종양의 조직학적 등급, 항암화학요법 및 방사선 치료의 반응 여부, 숙주의 종양에 대한 방어기전 등 여러 요인들에 의해 결정된다. 그러나 임상적 종양의 병기는 수술 후 병리학적 종양 병기와 상이한 경우가 많기 때문에 완벽한 예후 예측의 지표로 이용될 수 없다. 또한 병리학적 종양 병기는 종양의 생물학적 특성을 반영하지만 연구자 사이의 일치성이 결여되어 있다.

Hedley 등이 고안한 Flow cytometry를 통한 DNA 양 분석방법은 단시간 내에 수많은 세포의 DNA를 측정할 수 있고, 10-15년 된 파라핀 포매 조직을 사용하여도 세포의 DNA 양을 측정할 수 있는 장점이 있다.⁸⁾ 그러나 DNA 배수체 검사 결과는 조직의 준비과정과 조작과정에 따라 많은 영향을 받고 조직 표본을 상온에 짧은 시간이라도 방치하게 되면 실제 DNA 배수체와는 다른 검사의 결과를 나타낸다.¹⁵⁾ 파라핀 포매 조직에서 얻은 coefficient of variation은 신선한 조직에서 얻은 것 보다 높게 나타는 것으로 알려져 있다.¹⁶⁾ 이러한 상황들은 파라핀 포매 조직에서 정확한 DNA 배수체 검사의 어려움을 나타내고, 신선한 조직을 이용하거나 적절한 조직의 준비과정과 조작과정을 요구한다.

Baisch 등이 처음으로 유식세포분석을 이용한 신세포암(Renal cellcarcinoma)에서 DNA양과 병리조직학적 병기와 연관성을 보고한 이래로 많은 종양에서 예후 예측지표로서의 가치에 대한 연구가 보고

되었다.¹⁷⁾ Strang 등은 자궁경부암의 임상적 병기가 증가할수록 합성기의 값이 증가한다고 보고하였으나,¹⁸⁾ Kristensen 등은 임상적 병기 증가에 따른 상대 DNA 지수의 증가와 합성기 값의 증가는 상관관계가 없다고 보고하였다.⁷⁾ 국내 연구에 의하면 1993년 김 등은 비배수체 종양의 발생빈도는 임상적 병기의 증가에 따라 유의하게 증가한다고 보고하였으며 S-phase fraction 증가는 병기의 증가에 따라 유의한 증가를 보이지 않았다고 보고하였고,¹⁹⁾ 1991년 김 등에 의하면 임상적 병기 증가에 따른 비배수체 종양 발생 빈도는 상관관계가 없다고 보고하였다.²⁰⁾ 본 연구에서는 유식세포분석을 시행한 59명 중 25례(42.4%)에서 비배수체 종양을 보였으며, 병기 증가에 따른 비배수체 종양 발생 빈도는 임상적 병기 증가와 무관하였다. 그러나 S-phase fraction 증가는 임상적 병기 증가와 상관관계가 있었다.

자궁경부암 연구에서 Jacobsen와 Chung 등은 DNA 비배수체 증가는 높은 빈도의 임파절 전이와 관계있고 종양의 크기와 무관하다고 보고하였다.^{21,22)} 1990년 Leminen 등은 ploidy와 S-phase fraction이 예후에 영향을 주는 독립된 인자이며 임파절 전이와 종양의 크기와 관련이 있다고 보고하였다.²³⁾ 본 연구에서는 DNA 비배수체 증가는 임파절 전이 및 종양의 크기와 무관하였으나, S-phase fraction 증가는 임파절 전이 및 종양의 크기에 따라 증가하였다.

Strang 등은 자궁경부암 환자 연령에 따른 비배수체 종양의 발생빈도는 연령이 높아짐에 따라 증가한다고 보고하였으나, 본 연구에서는 환자의 연령 증가와 무관하였다.¹⁸⁾ 조직학적 소견 및 재발유무는 비배수체 종양 증가와 S-phase fraction 증가 모두에서 통계적으로 유의하지 않았다. 자궁경부암의 조직 침윤 정도는 비배수체 종양 발생 빈도와 DNA 상대 지수 증가와 무관하였으며, 세포의 증식능력을 반영하는 세포주기 중 S-phase fraction은 침윤 정도가 깊을수록 S-phase fraction이 증가하는 양상을 보였고, 통계적으로 유의하게 증가하였다.

Jacobsen 등과 Nguyen 등은 파라핀 포매 조직을 이용한 연구에서 높은 DNA 상대 지수를 가진 비배수체 종양은 나쁜 예후와 상관관계가 있다고 보고하였으며,^{21,24)} Rutger 등은 비배수체 종양보다 peridiploid를 가진 종양에서 더 나쁜 예후를 보인다고

하였다.²⁵⁾ 그러나 Davis 등은 1989년 파라핀 포매 조직을 이용한 비배수체 종양 연구에서 높은 DNA 상대 지수는 예후와 연관성이 없음을 보고하였다.²⁶⁾ Kristensen 등은 1995년 465명의 자궁경부암 환자의 전향적인 연구에서 종양의 높은 DNA 상대 지수와 S-phase fraction은 예후나 치료방침 결정에 도움이 되지 않는 것으로 보고하였다.⁷⁾ 본 연구에서는 높은 DNA 상대 지수와 예후 인자는 상호 무관하였으나, S-phase fraction은 몇 가지 임상적 예후인자와 상관관계가 있었다.

이와같이 연구자들 사이의 차이는 연구대상의 범위가 적은 이유로 생각되며 추후 계속적인 실험으로 연구대상 숫자를 증가시키면 자궁경부암에서 비배수체 종양이 임상적인 예후 인자로써 효용성을 통계적으로 유의하게 증명할 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구의 결과는 자궁경부암 환자에서 유식세포 분석에 의한 DNA 양상은 S-phase fraction이 병기 증가에 따라 증가되는 양상을 보였지만, 다른 여러 가지 임상적 요소들과 함께 예후판정에 효율적으로 이용할 수 있을지는 더 많은 연구가 필요하며, 수술 후 치료방침을 결정하고 항암요법과 방사선치료 효과를 예측하는 것에도 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

- 참고문헌 -

1. Cannistra SA, Niloff J: Cancer of the uterine cervix. N Eng J Med 1996;334:1030-8.
2. Krontiris TG: The emerging genetics of human cancer. N Eng J Med 1983;309:404-9.
3. Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW: Application of DNA flow cytometry to paraffin-embedded archival material for the study of aneuploidy and its clinical significance. Cytometry 1985;6:327-33.
4. Frankfurt OS, Chin JL, Englander LS, Greco WR: Relationship between DNA ploidy, glandular differentiation and tumor spread in human prostate cancer. Cancer Res. 1985;45:1418-23.
5. Kokal W, Sheibani K, Terz J, Harada JR: Tumor DNA content in the prognosis of colorectal carcinoma. J Amer Med Assoc 1986;255:3123-7.
6. Zanetta GM, Katzmann JA, Keeney GL, Kinney WK,

- Cha SS, Podratz KC: Flow-cytometric DNA-analysis of stage IB and IIA cervical carcinoma. Gynecol Oncol 1992;46:13-9.
7. Kristensen GB, Kaern J, Abeler VM, Hagmar B, Trope CG, Pettersen EO: No prognostic impact of flow-cytometric measured DNA ploidy and S-phase fraction in cancer of the uterine cervix: a prospective study of 465 patients. Gynecol Oncol 1995;57:79-85.
8. Hedley DW, Freidlander ML, Taylor IW, Rugg CA: A method for analysis of cellular DNA content of paraffin embedded pathological material using flow cytometry. J Histochem Cytochem 1983;31:1333-5.
9. Vindelov LL, Christensen IJ, Nissen WI: A detergent trypsin method for preparation of nuclei for flow cytometric DNA analysis. Cytometry 1983;3:323-7.
10. Luthra UK, Prabhakar AK, Seth P, Aggarwal SS, Murthy NS, Bhatnagar P: Natural history of precancerous and cancerous lesions of the Uterine cervix. Acta cytol. 1987;31:226-31.
11. Downey GP, Bavin PJ, Deery ARS, Crow J, Griffiths PD, Emery VC: Relation between human papillomavirus type 16 and potential for progression of minor-grade cervical disease. Lancet 1994;13:432-5.
12. Kashyap V, Das DK, Luthra UK: DNA analysis in precancerous and cancerous lesion of the uterine cervix. Int J Cancer 1988;25:207-17.
13. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B: Genetic instabilities in human cancer Nature 1998;396:643-9.
14. Tomlinson IPM, Novelli MR, Bodmer AF: The Mutation rate and cancer. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93:14800-3.
15. Deitch AD, White RDV, Madewell BR: False DNA Aneuploidy in canine and human neoplasm. Anticancer Res 1993;13:2117-8.
16. Jacobsen AB, Fossa SD, Thorud E, Lunde S, Melvik JE, Pettersen EO: DNA flow cytometric values in bladder carcinoma biopsies obtained from fresh and paraffin-embedded material. APMIS 1988;96:25-9.
17. Baish H, Otto U, Konig K, Kloppel G: DNA content in relation to histological grading. Brit J Cancer 1982; 45:878-6.
18. Strang P, Stendahl U, Frankendal B, Lindgren A: A flow cytometric DNA patterns in cervical carcinoma. Acta Radiol Oncol 1986;25:249-54.
19. 김종훈, 이효표. 자궁경부암에서 유식세포분석에 의한 DNA 양상과 임상적 특성과의 상관관계에 관한 연구. 대한산부회지 1993;36:648-59.
20. 김영탁, 목정은. Flow cytometry를 이용한 자궁경부암의 DNA 분석 대한산부회지 1991;34:1254-60.
21. Jacobsen A: Prognostic impact of ploidy level in carcinoma of the cervix. Am J clin Oncol 1982;13:165-74.

22. Chung CK, Nahhas WA, Zaino R, Stryker JA, Mortel R: Histologic grade and lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1981;11: 191-4.
23. Leminen A, Paavonen J, Vesterinen E, Forss M, Wahlstrom T, Kulomaa P: Deoxyribonucleic acid flow cytometric analysis of cervical adenocarcinoma: prognostic significance of deoxyribonucleic acid ploidy and s-phase fraction. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:848-53.
24. Nguyen HN, Sevin BU, Averette HE, Ganjei P, Perras J, Ramos R: The role of DNA index as a prognostic factor in early cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1993 ;50:54-9.
25. Rutgers DH, van der Linden PM, van Peperzeel HA: DNA-flow cytometry of squamous cell carcinomas from the human uterine cervix: the identification of prognostically different subgroups. *Radiother Oncol* 1986;7: 249-58.
26. Davis JR, Aristizabal S, Way DL, Weiner SA, Hicks MJ, Hagaman RM: DNA ploidy, grade, and stage in prognosis of uterine cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1989;32:4-7.