

자궁경부암 수술 후 림프절 전이가 없는 경우 미세전이 발견을 위한 면역 조직 화학적 검사의 임상적 의의

순천향대학교 의과대학 부천병원 산부인과학교실¹, 진단병리학교실², 천안병원 산부인과학교실³

김정식¹ · 남계현¹ · 이해혁¹ · 김희경² · 배동한³

목적 : 자궁 경부암으로 수술후 조직학적 검사에서 골반 림프절 전이가 없는 것으로 보고된 경우, 면역 조직 화학적인 방법으로 미세전이의 유무를 확인 후 이에 대한 의미와 예후와의 관계를 분석하고자 하였다.

연구 방법 : 2001년 2월부터 2004년 5월까지 본원에서 자궁 경부암으로 근치적 자궁적출술 및 골반 림프절 절제술을 받은 79명의 환자들을 대상으로 하였다. 이들 중 병리조직학적 검사에서 골반 림프절 전이가 없는 것으로 보고된 51명의 골반 림프절들을 면역 조직화학적으로 검사하였으며, 총 282개의 골반 림프절 슬라이드를 anti-cytokeratin antibodies AE1/AE3 (DakoCytomation, California, USA)로 염색하였다.

결과 : 자궁 경부암 병기별 환자들의 분포는 1a1: 7명, 1a2: 4명, 1b1: 29명, 1b2: 5명, 11a: 5명, 11b: 1명이며, 환자들의 평균 나이는 45.3세(27-72세)였다. 면역 조직화학적인 방법으로 검사한 림프절들에서 미세전이는 51명 중에서 3명(5.9%), 전체 림프절 282개 중 3개(1.1%)에서 발견되었다. 한 명(임상병기 1b2)은 조직학적 유형으로 선암이었고, 나머지 2명(임상병기 1b1, 1b2)은 편평 상피 세포암이었다. 미세전이가 있는 3명 모두 림프 혈관 침윤(lymph-vascular space invasion)은 없었다. 이들 3명 중 2명에서만 재발이 되었고, 한 명(임상병기 1b1)은 재발로 인하여 사망하였다.

결론 : 자궁 경부암 환자에서 수술 후 미세전이 유무가 향후 재발 요인 및 예후에 대한 예측인자로서 가능성을 보이며, 수술 후 항암 방사선 요법 등의 치료 방침 설정 시에도 도움을 줄 것이라고 생각된다.

중심단어 : 자궁 경부암, 미세전이(micrometastasis), 면역 조직 화학적 검사

서 론

자궁 경부암은 거의 100% 예방이 가능한 질병이지만, 한국 부인암 등록사업 조사 보고서에 의하면 자궁 경부암이 2002년의 경우 3,564명에서 발생하였고 이 환자들의 85.9%가 FIGO 병기 I -II기를 차지하였다.¹

비록 자궁경부세포진 검사 등의 선별검사로 인해 자궁 경부암 전단계에서 치료가 늘어나 자궁 경부암의 발생빈도가 줄어들고 있지만, 점차 초기 병기 시기의 자궁 경부암 발견이 많아지고 있다. 자궁 경부암 병기 초기인 환자들은 대부분 근치적 자궁 적출술(radical hysterectomy)과 골반 림프절 절제술(pelvic lymphadenectomy)을

받으며, 이들의 전체적인 생존율은 약 85-90%이다.² 자궁경부암 초기 병기에서 골반 림프절 전이의 빈도는 8.5-21.4%, 병기 1b, 11a 의 경우 대동맥 주위 림프절 전이는 5-10%이며,² 이러한 자궁 경부암 환자의 예후인자들 중 림프절 전이는 가장 중요한 인자 중의 하나이다.³ 또한 골반 림프절 전이가 없는 환자의 3년 생존율은 86%이었으나, 한 개 이상의 림프절 전이가 있는 경우에는 74%로 감소하였고, 5개 이상의 림프절 전이가 있는 경우 5년 생존율이 0%라는 보고도 있다.⁴ 그러나 임상적으로 자궁 경부암 초기 병기(1b)의 환자들에서 조직학적으로 림프절 전이가 없는 경우에도 약 15%에서 재발이 발생한다.⁴

이렇게 림프절 전이가 없다고 보고된 환자들에서의 림프절 미세전이(micrometastasis)의 빈도와 의미는 아직 잘 알려져 있지 않다.

본원에서는 자궁 경부암으로 수술 후 조직검사에서

논문접수일 : 2006년 3월 31일 채택일 : 2006년 7월 4일
교신저자 : 남계현, 420-767 경기도 부천시 원미구 중동 1174
순천향대학교 부천병원 산부인과
전화 : (032) 621-5377 · 전송 : (032) 621-5018
E-mail : khnam@schbc.ac.kr

골반 림프절 전이가 없는 것으로 보고된 환자들을 대상으로 하여 면역 조직 화학적 검사로 미세전이의 유무를 조사하였고, 이에 대한 의미와 향후 예후 인자로서 가능성이 있는지에 대하여 연구하였다.

연구 대상 및 방법

2001년 2월부터 2004년 5월까지 본원에서 자궁 경부암(병기 I-IIb)으로 근치적 자궁 적출술 및 골반 림프절 절제술을 받은 79명의 환자들을 대상으로 하였다. 이들 중 병리 조직학적 검사에서 골반 림프절 전이가 없는 것으로 보고된 51명에 대한 림프절들에 대해, 파라핀에 담겨진 조직을 4 μ m 간격으로 절편을 만든 후, 면역 조직 화학적 방법으로 미세전이가 있는지 조사하였다(Table 1). 미세 전이의 정의는 전이된 하나의 종양세포 혹은

종양들의 작은 군집(small cluster)들을 의미하며, 면역 조직 화학적 또는 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR) 등의 방법으로 확인할 수 있다.

총 282개의 림프절 슬라이드를 anti-cytokeratin antibodies AE1/AE3 (DakoCytomation, California, USA) (1 : 50으로 희석)로 염색하였다. 이 마우스 단일클론항체(monoclonal antibodies)는 인간의 Cytokeratin에 특이적이며, 상피세포에 있는 Cytokeratin을 인지한다. 현재까지 약19종류가 발견된 Cytokeratin은 수용성 단백질로서, 분자량은 40-70 kD이며 상피세포의 세포골격(cytoskeleton)을 형성한다. AE1/AE3는 두 가지 단일클론항체의 복합체로 인간의 피부 경결부위(human callus) 케라틴을 가진 면역 마우스에서 얻어지며, AE1/AE3는 각질화된 상피, 내장기관(internal organ)의 중층 상피세포, 과다하게 증식하는 keratinocyte 및 단순 상피세포들과 반응한다. 각 슬라이드는 먼저 탈 파라핀과정과 전처리(demasking)를 한 후 일차 항체(primary antibodies)와 대조군(negative control) 단계를 거친다. 이후 DAKO ChemMate EnVision/ HRP를 각각의 검체에 충분히 적신 후 30분간 보관하며, 미리 만들어둔 Substrate chromogen solution으로 염색한다. 대비 염색(counterstain)의 방법으로 Mayer's Hematoxylin을 사용하였다. 최종적으로 각각의 슬라이드는 탈수와 봉입(mounting)과정을 거친 후 판독을 하였다.

결 과

자궁 경부암으로 근치적 자궁 적출술을 받은 후 림프절 전이가 없는 51명 환자들의 병기별 분포를 보면 1a1:

Table 1. Clinicopathologic characteristics of cervical cancer (n=51)

Age (yr)	45.3 (27-72)
Stage of disease	
IA1	7 (13.7)
IA2	4 (7.8)
IB1	29 (56.9)
IB2	5 (9.8)
IIA	5 (9.8)
IIB	1 (2.0)
Histology	
Squamous	45 (88.2)
Adenocarcinoma	3 (5.9)
Adenosquamous	1 (2.0)
Others	2 (3.9)

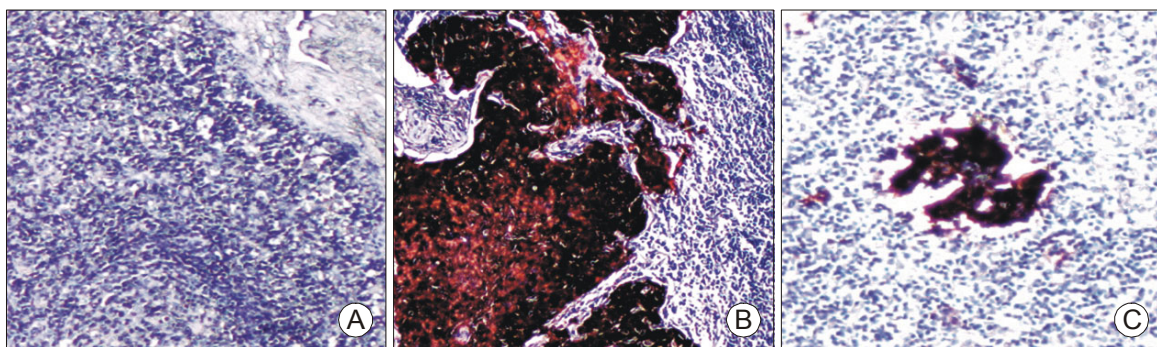


Fig. 1. (A) Negative control L/N, (B) Positive control L/N, (C) Cytokeratin positive cells. A cluster of micrometastatic tumor cells (C) detected by immunostaining by an AE1/AE3 antibody (original magnification $\times 100$).

7명, Ia2: 4명, Ib1: 29명, Ib2: 5명, IIa: 5명, IIb: 1명이며, 환자들의 평균나이는 45.3세(27-72세)였다. 병리 조직학적 유형으로 편평 상피 세포암이 45명이며 선암이 3명이었다(Table 1).

위 환자들 중 병리 조직학적으로 림프절 전이가 없는 51명에 대한 림프절들을 면역 조직 화학적 검사로 염색하였고, 슬라이드 검사상 51명 중 3명(5.9%), 전체 림프절 282개 중 3개(1.1%)에서 미세전이를 발견하였다(Fig. 1). 또한 미세전이가 발견된 세 명의 환자들은 검사된 림프절 수가 각각 19개, 19개, 22개였다. 두 명의 환자(임상 병기 Ib1, Ib2)들은 모두 병리 조직 검사상 편평 상피 세포암이었으며, 한 명(임상 병기 Ib2)은 선암이었고, 이들 모두 림프 혈관 침윤(lymph-vascular space invasion)은 없었다. 세 명의 환자들 모두 수술 후 추가 치료는 없었으며, 3명의 환자 중 2명에서 재발이 되었고, 재발로 인한 사망 1명(임상 병기 Ib1) 외에, 두 명은 현재 생존하여 외래에서 추적 관찰 중이다.

고 찰

림프절 전이는 대부분의 종양들에서 암세포 전이의 초기 현상이며, 병기 설정시 림프절 전이 유무를 평가해야 한다. 이는 예후 결정 및 치료 방향 설정에 매우 중요한 과정이다.⁵ 종양 세포는 직접 주위 조직에 침습하거나 혈액 또는 림프절 계통으로 침윤하여 전이가 된다. 임상 및 병리학적인 연구에 의하면 여러 종양들에서 초기 전이시 림프절을 통한 암세포의 전이가 가장 흔한 전이 방법이며 이들 세포들은 이미 존재하는 배액 경로를 따라 이동되며 또한 신생 림프관 형성(lymphangiogenesis)을 통하여 새로 형성된 림프절로 종양의 전이가 발생한다고 하였다.⁵

림프절 전이는 전이된 질병의 명백한 증거이므로 불량한 예후를 의미한다. 그러나 조직학적으로 림프절 전이가 없는 일부 환자들 경우 전이성 병변이 발생하여 결과적으로 생존율이 감소한다. 자궁 경부암 환자들의 생존율은 종괴의 크기, 기질 침범의 깊이, 조직 절단면에 잔류암 침윤, 림프절 전이의 유무, 조직학적 유형 등의 예후 인자들과 관련이 있으며, 이들 예후 인자 중 자궁 경부암 초기 병기 환자에서 가장 중요한 인자는 림프절 전이다.⁶

침윤성 자궁 경부암의 림프절 전이는 직접 국소 전이 하거나 림프절을 따라 전이된다. 현재 이용되고 있는 FIGO 병기는 자궁 경부암에 대한 임상적인 진찰 및 검사를 기본으로 하므로 림프절 전이 유무를 수술 전에 판단하기 어려우나, 치료 방침에는 골반 림프절 및 대동맥 주위 림프절 절제술이 포함되어 있다.⁷ Berek 등은 임상 병기에 따른 골반 림프절과 대동맥 주위 림프절 전이 빈도를 각각 Ia1기 0.5%/0%, Ia2기 4.8%/<1%, Ib기 15.9%/2.2%, IIa기 24.5%/11.0%, IIb기를 31.4%/19% 라고 보고 하였으나⁸ 자궁 경부암에서 림프절의 미세전이에 대한 발생율과 임상적 의의에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않다. 또한 여러 예후 인자들이 평가되고 있지만 재발의 위험성을 정확히 예측할 수 있는 방법은 현재로서는 불분명하다. 만약 예측이 가능하다면 이러한 고위험 환자군들에 대해서 항암제나 방사선 치료 등의 보조 요법을 시행할 수 있다.⁵ 현재까지는 불량한 예후인자를 가진 고위험군의 환자들 수술 후 항암제 또는 방사선 치료등의 추가 치료로 인해 재발의 위험성 감소나 생존율의 향상을 얻을 수 있지만, 초기 병기 환자가 다른 불량한 예후 인자는 없고 골반 림프절에 미세전이만 있는 경우 미세전이로 인해 추가치료를 해야 하는지에 대해서 이론적으로는 매우 중요한 역할을 할 것이라고 본다.⁹ 최근에 자궁 경부암에서의 미세전이에 대한 연구가 조금씩 보고되고 있다. 비록 모든 미세전이가 전이성 병변을 형성하지는 않지만, 미세전이의 유무가 임상적으로 중요하다는 증거가 있다. Van Trappen 등의 보고에 의하면 림프절 미세전이가 자궁 경부암 초기 병기 환자들에서 50%까지 발견되며, 미세전이가 많을수록 예후가 불량하다고 보고하였다.¹⁰ Juretzka 등은 자궁 경부암 병기 Ia2에서 Ib2 까지의 환자들만 대상으로 하여 미세전이의 빈도가 환자들의 8.1%, 전체 골반 림프절에서는 0.41%였고, 림프 혈관 침윤이 있는 경우에 미세전이가 더 많이 발견된다고 보고하였다(15.6% vs 75%).¹¹

본 연구에서는 자궁 경부암 초기 병기 환자들의 미세전이 빈도는 5.9%이었고, 전체 골반 림프절에서는 1.1%의 발견율을 보였다. 세 명의 환자들 모두 림프 혈관 침윤은 없었고, 불량한 예후인자들도 보이지 않았지만 두 명의 환자에서 재발이 되었다. 재발된 환자들은 모두 편평 상피 세포암으로서, 미세전이 외의 다른 재발의 위험인자들을 살펴보면 종양 크기는 4 cm 미만, 림프 혈관계

침범 없으며, 기질침범 깊이는 각각 2 mm, 5 mm이었고, 절단면 또한 침윤은 없었다. 재발의 위험인자들에 대해 Lentz 등은 비록 미세전이를 조직학적으로 음성인 림프절들에서 발견할 수 있지만, 미세전이가 다른 재발요인들과 뚜렷이 연관되지 않았다고 보고하였다.¹²

비록 본원의 연구 결과는 적은 연구 대상으로 인하여 미세전이의 임상적 의의에 대해 명확한 결론을 내리기는 어려우나, 면역조직화학적 방법을 통하여 재발의 위험성이 있는 환자들을 미리 발견할 수 있을 것으로 보이며, 불량한 예후인자를 가진 환자들 뿐만 아니라 미세전이를 보인 환자들도 수술 후 추가 치료의 대상이 될 수 있으리라고 생각할 수 있다.

자궁 경부암 환자에서 수술 후 미세 전이가 아직은 논란의 여지가 있으나, 재발 요인 및 예후에 대한 예측인자로서 가능성을 보이며, 생존율 향상을 위한 치료방침 설정(수술 후 항암 방사선 요법 등) 시에도 도움이 될 것으로 생각된다.

본 연구에서 자궁 경부암 환자들의 미세 전이 발견율은 5.9%이었지만 더 많은 수효의 환자와 림프절들을 대상으로 하면 비율이 더 증가할 것으로 판단되며, 향후 증례수의 한계를 극복하기 위해 다기관 연구로 전환하여 더 많은 증례의 축적과 면밀한 예후인자와의 관계, 추적 관찰의 결과를 분석하는 것이 필요하다고 생각된다.

참고문헌

1. Korean Society of Obstetrics and Gynecology. Annual Report of Gynecologic Cancer Registry program in Korea. Korean J Obstet Gynecol 2004; 47: 1029-70.
2. Berek JS, Hacker NF. Practical Gynecologic Oncology. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins;2000.p.373.
3. Benedetti-Panici P, Maneschi F, D'Andrea G, Cutillo G, Rabbitti C, Congiu M, et al. Early cervical carcinoma: the natural history of lymph node involvement redefined on the basis of thorough parametrectomy and giant section study. Cancer 2000; 88: 2267-74.
4. Delgado G, Bundy B, Zairo R, Sevin BU, Creasman WT, Major F. Prospective surgical-pathological study of disease-free interval in patients with stage Ib squamous cell carcinoma of the cervix: A Gynecologic Oncology Group study. Gynecol Oncol 1990; 38: 352-7.
5. Van Trappen PO, Pepper MS. Lymphatic dissemination of tumour cells and the formation of micrometastases. Lancet Oncol 2002; 3: 44-52.
6. Yuan C, Wang P, Lai C, Tsu E, Yen M, Ng M. Recurrence and survival analysis of 1,115 cervical cancer patients treated with radical hysterectomy. Gynecol Obstet Invest 1999; 47: 127-32.
7. Piver MS, Marchetti DL, Patton T, Halpern J, Blumenson L, Driscoll DL. Radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy versus radiation therapy for small (<3 cm) stage Ib cervical carcinoma. Am J Clin Oncol 1988; 11: 21-4.
8. Berek JS. Novak's Gynecology. 13th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2002.p.1211.
9. Peters WA III, Liu PY, Barrett FJ II, Stock RJ, Monk BJ, Berek JS, et al. Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix. J Clin Oncol 2000; 18: 1606-13.
10. Van Trappen PO, Gyselman VG, Lowe DG, Ryan A, Oram DH, Bosze P, et al. Molecular quantification and mapping of lymph node micrometastases in cervical cancer. Lancet 2001; 357: 15-20.
11. Juretzka MM, Jensen KC, Longacre TA, Teng NN. A Husain detection of pelvic lymph node micrometastasis in stage Ia2-Ib2 cervical cancer by immunohistochemical analysis. Gynecol Oncol 2004; 93: 107-11.
12. Lentz SE, Muderspach LI, Felix JC, Ye W, Groshen S, Amezcuca CA. Identification of micrometastasis in histologically negative lymph nodes of early-stage cervical cancer patients. Obstet Gynecol 2004; 103: 1204-10.

Immunohistochemical analysis of pelvic lymph node micrometastases in cervical cancer patients with histologically negative nodes

Jeong Sig Kim¹, Kye Hyun Nam¹, Hae Hyeog Lee¹, Hee Kyung Kim², Dong Han Bae³

Departments of Obstetrics and Gynecology¹, Pathology², College of Medicine,

Soonchunhyang University, Bucheon Hospital, Bucheon

Department of Obstetrics and Gynecology³, College of Medicine,

Soonchunhyang University, Cheonan Hospital, Cheonan, Korea

Objective : The purpose of this study was to identify, by immunohistochemistry, possible micrometastasis in the pelvic lymph nodes previously considered free by conventional histopathological examination, and to assess their influence on the survival of patients with cervical cancer.

Methods : This retrospective study included patients (n=51) operated on between February 2001 and May 2004 for cervical cancer without histopathologic lymph node involvement. Lymph nodes (n=282) from 51 patients with histologically node-negative cervical cancer were evaluated for micrometastasis. These were submitted to immunohistochemical study using AE1/AE3 anti-cytokeratin monoclonal antibodies to identify neoplastic epithelial cells.

Results : The mean age of the patients was 45.3 years (range, 27–72). Lymph node micrometastases were immunohistochemically detected in 3 of the 51 patients (5.9%), comprising 3 of 282 (1.1%) pelvic lymph nodes examined. One patient (Ib2) had adenocarcinoma and others (Ib1, Ib2), squamous cell carcinoma. All of them had negative lymph-vascular space invasion. In three patients, there were recurrences (66.7%, 2/3), and one patient (Ib1) died from the pelvic recurrence.

Conclusion : We recommend an immunohistochemical examination for lymph node micrometastases in cervical cancer patients with histologically negative nodes. This immunohistochemical method can be employed successfully in the detection of neoplastic cells in lymph nodes previously considered free. Micrometastasis could provide important information for further treatment strategies and follow up. Its clinical significance in cervical cancer warrants further study.

Key Words : Cervical cancer, Micrometastasis, Cytokeratin, Immunohistochemistry
