

악성 종양 환자에 대한 DR-70TM 면역 분석법의 의의: Validation Study

¹연세대학교 노화과학연구소, ²한양대학교의료원 종합검진센터, ³성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 진단검사의학과, ⁴아주대학교병원 가정의학과 종합검진센터, ⁵포천중문의과대학교 강남차병원 차바이오 메디컬센터

이기호^{1,2} · 조동희³ · 김광민⁴ · 김상만⁵ · 이득주⁵

Meaning of the DR-70TM Immunoassay for Patients with the Malignant Tumor

Ki-Ho Lee^{1,2}, Dong Hee Cho³, Kwang-Min Kim⁴, Sang-Man Kim⁵ and Duck-Joo Lee⁵

¹Yonsei University, Research Institute of Aging Science, Seoul, ²Hanyang University Hospital Health Promotion Center, Seoul, ³Department of Laboratory Medicine, Sungkyunkwan University School of Medicine, Samsung Cheil Hospital, Seoul, ⁴Department of Family Medicine, Ajou University, Suwon, ⁵Pochon Cha University Cha Bio Medical Center, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background: The DR-70TM immunoassay is a newly developed cancer diagnostic test which quantifies the serum fibrin degradation products (FDP), produced during fibrinolysis, by antibody reaction. The purpose of this study was to evaluate the potential of DR-70TM immunoassay in screening malignant tumor. **Methods:** Sample subjects were 4,169 adults, both male and female, who visited the health promotion center of a general hospital from March 2004 to April 2005 and underwent the DR-70TM immunoassay test and other tests for cancer diagnosis. The patient group was defined as 42 adults out of the sample subjects who were newly diagnosed with cancer during the same time period when the DR-70TM immunoassay test was performed. Final confirmation of a malignant tumor was made by pathological analysis. **Results:** The mean DR-70TM level was $0.83 \pm 0.65 \mu\text{g/ml}$ (range: 0.00 (0.0001) ~ $7.42 \mu\text{g/ml}$) in the control group (n=4,127) as opposed to $2.70 \pm 2.33 \mu\text{g/ml}$ (range: 0.12 ~ $9.30 \mu\text{g/ml}$) in the cancer group (n=42), and statistical significance was established ($p < 0.0001$, Student *t*-test). When categorized by the type of malignant tumor, all cancer patients with the exception of the subgroups of colon and rectal cancer showed significantly higher mean DR-70TM levels compared with the control group ($p < 0.0001$, Kruskal-Wallis test). The receiver operating characteristic (ROC) curve analysis revealed $\leq 1.091 \mu\text{g/ml}$ as the best cut-off value. Using this cut-off value, the DR-70TM immunoassay produced a sensitivity of 71.4%, a specificity of 70.1%, a positive predictability of 69.4%, and a negative predictability of 69.2% (1). **Conclusion:** A significant increase in the mean DR-70TM value was observed in the cancer group (thyroidal, gastric, breast, hepatic and ovarian) compared with the control group. In particular, the specificity and sensitivity of the DR-70TM immunoassay was relatively high in the subgroups of breast, gastric, and thyroidal cancer patients. There is need for further studies on a large number of malignant tumor patients to see how the DR-70TM level might be changed according to the differentiation grade and postoperative prognosis of the malignant tumor. (Immune Network 2006;6(1): 43-51)

Key Words: FDP, DR-70, immunoassay, cancer, tumor marker

책임저자 : 김광민, 아주대학교병원 가정의학과
☎ 443-721, 수원시 영통구 원천동 산 5번지 월드컵길 427
Tel: 02-2290-9565, Fax: 02-2290-9567
E-mail: malaux@paran.com

서 론

정상 상태에서의 지혈(haemostasis) 및 혈관 신생(an-

giogenesis) 작용은 엄격한 조절능력을 가지고 있는 생리학적 과정이지만 암 세포가 성장할 경우에는 이러한 조절 기능이 파괴된다(2). 일반적으로 종양은 혈액을 응고시키는 물질(procoagulants)과 섬유소 용해 인자(fibrinolytic factors)를 모두 지니고 있는 것으로 알려져 왔다. 종양이 성장, 침습(invasion) 및 전이를 일으키려면 종양 내의 외인 응고계(extrinsic coagulation system) 및 연속적 섬유소 용해 과정(fibrinolytic cascade)의 활성화와 연계되어야 하며, 국소적인 트롬빈(thrombin) 생성 및 피브린(fibrin) 축적과 용해 과정이 종양의 성장과 전파(dissemination)에 매우 중요한 과정으로 여겨진다(3-5). 또한 악성 종양의 세포들은 국소적 용해 과정을 유발시킬 수 있는 플라스미노겐 활성화인자(plasminogen activator)를 높은 수준으로 보유하고 있으며(6), 이와 같은 악성 종양의 플라스미노겐 활성 인자가 예후 인자로서의 역할을 할 수 있는 것으로 알려져 있다(7).

피브린 분해 산물(fibrin degradation products, FDP)은 혈관을 생성하고, 화학 유인 물질로 작용 하며, 항염증 기능을 지니고 있다(6). 악성 종양을 가지고 있는 환자의 혈청에서 피브린 분해 산물의 농도가 증가한다는 것은 이미 여러 문헌을 통해 잘 알려져 있는 바이다(8-11). 악성 종양은 높은 농도의 단백 분해 효소들을 지니고 있으며, 이러한 단백 분해 효소들이 응고 반응과 관련된 단백질에 작용을 나타내면서 피브린이 형성되게 된다(12,13). 그러므로 피브린 분해 산물을 악성 종양을 선별해 내는 방법의 하나로서 유용하게 사용할 수 있을 것이라는 가정에 도달하게 된다.

DR-70TM 면역 분석법은 이와 같은 피브린 분해 산물에 작용을 나타내며, FDP를 감지하는 항체를 이용한 검사 방법이라고 할 수 있다(8,12-14). 암 진단을 위한 DR-70TM 사용과 관련하여, DR-70TM 면역 분석 진단 키트를 사용하여 폐암의 소세포와 비소세포 양쪽에서 92%의 특이성과 66%의 민감도로 폐암을 진단할 수 있다는 환자, 대조군 연구가 있으며(8), 폐암 이외에도 위암, 유방암, 직장암, 결장암, 간암, 난소암, 식도암, 자궁암 등 특히 선암(adenocarcinoma)의 선별 도구로서 DR-70TM의 사용을 발표한 연구 결과들이 있었다(15).

본 연구는 악성 종양의 발견을 위한 검사로서, 피브린 분해와 관련된 면역학적 분석법을 기초로 하여, 새롭게 개발된 DR-70TM의 면역 분석법의 잠재성을 평가하고, 한국인에서의 남녀 및 연령대별 수치값을 비교하며, 악성 종양이 존재하는 군과 정상군 사이에서의 DR-70TM 평균을 비교함으로써, 종양의 성장 및 확산의 예측 지표로서 DR-70TM 결과의 의미를 분석할 목적으로 시행되었다.

대상 및 방법

연구 대상. 2004년 3월부터 2005년 4월까지 삼성제일병

원 종합검진센터에 내원하여 암 진단과 관련된 검사 및 DR-70TM 면역 분석 검사 방법을 시행 받은 성인 남녀 4,597명을 표본 대상으로 하였다.

4,597명의 대상자 중 문진, 이학적 검사 및 실험실 검사를 통하여, A, B, C 형 간염 표면 항체, 매독 반응, 후천성 면역 결핍증 검사 반응이 양성으로 나타났거나, 간 기능, 신장 기능에 장애가 있는 대상자, 당뇨병, 혈액 응고 질환, 관상 동맥 질환, 부정맥을 앓고 있는 자, DR-70TM 검사에서 위양성을 나타낼 수 있는 질환으로 알려진 폐렴, 기관지염 또는 급성 감염, 자가 면역 질환 및 최근의 외상 병력 등을 가지고 있는 대상자, 위 음성 결과를 나타낼 수 있는 고지혈증 환자 등은 연구 대상자에서 제외하였으며(8,16) 최종 연구 대상 수는 4,169명이었다. 이들 중 DR-70TM 면역 분석 검사 방법 시행 시점과 같은 시기에 위암, 간암, 대장암, 직장암, 난소암, 갑상선 유두상암 및 유방암 등의 악성 종양으로 새롭게 진단된 42명을 환자군으로 하였다.

암 환자군에는 19명의 유방암 환자, 5명의 직장 및 대장암 환자, 2명의 간세포암 환자, 7명의 난소암 환자, 5명의 위암 환자 및 4명의 갑상선 유두상암 환자가 포함되었으며, 이들은 모두 X-ray, 초음파 검사, 전산화 단층 촬영, 내시경 검사 및 최종적인 병리학적 검사를 통해 악성 종양으로 확진되었다.

재료 방법.

혈청: 8시간 이상의 금식 후 2 ml의 정맥혈을 공복 상태에서 오전 중에 채취하여 혈청 분리 튜브(Becton Dickinson)에 보관하였다. 30분 동안 실온에서 혈액을 보관한 후에 15분 동안 1,500 rpm의 속도로 원심 분리시켰다. 이후 얻어진 혈청들을 분석에 이용하였다.

DR-70TM 진단 키트: AMDL 사로부터 공급 받은 키트로서, 여기에는 친화성면에서 정제된 토끼의 DR-70TM 항체들이 코팅된 12×8 well strips 판에 포함되어 있다. 또한 한 병의 antibody-peroxidase conjugate, 각각의 희석 용액, TMB 기질 용액, 정지 용액, 세척 완충제, 저혈청 대조군과 고혈청 대조군, 5 calibrator가 포함되어 있다.

AMDL DR-70TM의 원리: DR-70TM 검사는 ELISA 방식의 검사로서, 친화성을 가진 정제된 토끼 DR-70TM을 Well에 고정시킨 뒤 희석된 혈청으로부터 DR-70TM 항체를 발견해 내는 방식이다. 세척 뒤에 부착된 항원들은 면역 샌드위치 형태로 항 DR-70TM 포함물이 붙어 있는 과산화효소(peroxidase)와 복합체를 이루게 된다. 그 결합된 효소 포함물은 TMB 기질에 의하여 양적으로 측정된다. 효소 반응이 끝남과 동시에 450 nm에서 흡광도를 측정한다.

DR-70TM 검사과정: 모든 혈청은 키트에서 제공하는 희석용액을 가지고 200배로 희석한다. 일반적으로 10 ul의 혈청에 2,000 ul의 희석 용액이 첨가된다. 혼합이 끝나는

대로, 희석된 혈청을 희석 판의 두개의 인접한 well에 첨가한다. 각각의 well에 200 μ l씩 첨가한다. 8-channel pipettor를 이용하여 100 μ l의 희석된 혈청을 희석판으로부터 항체가 코팅된 판으로 옮긴다. 판을 plate sealer에 의해 밀봉하고, 실내 온도에서 15분 동안 보관한다. 이후 300 μ l의 세척용액으로 6번 세척한다. Well들을 공기 중에서 2분간 건조시킨 후 100 μ l의 TMB 기질 용액을 각각의 well에 추가하고, 직사광선을 피하여 약 10분 동안 색의 변화 반응이 일어나도록 놓아둔다. 마지막으로, 100 μ l의 정지용액을 첨가하여 효소반응을 정지시키고, ELISA reader로 450 nm에서 흡광도를 측정한다. 5 calibrator의 흡광도 결과를 통해 기준 곡선을 만들었으며, 혈청의 DR-70TM양은 이 기준곡선을 통해 읽었다(8).

자료 분석. 환자의 성별에 따른 DR-70TM 결과의 평균 비교 및 연령대별 평균 비교를 위하여 각각 student *t*-test 및 ANOVA test를 시행하였다. 악성 종양(선암)이 존재하는 군과 정상 대조군 사이에서의 DR-70TM 수치에 대한 평균 비교를 위해 Student *t*-test 및 Mann-Whitney test를 사용하였으며 정상군과 각각의 종양에 대한 평균 비교를 위해 one way ANOVA test 및 Kruskal-Wallis test를 시행하였다. DR-70TM 면역 분석법에 대한 민감도와 특이도를 다양한 기준 농도에 따라 계산하였으며, ROC 곡선을 이용하여 DR-70TM 면역 분석 방법에 대한 최적의 cut-off 값을 측정하였다. DR-70TM의 특정 기준치에 대하여 측정값이 양측 검정에서 *p*값이 0.05 이하일 경우를 통계적으로 유의성이 있다고 판단하였다.

통계 프로그램은 SPSS for Windows 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다.

결 과

종양이 없는 전체 대조군(*n*=4,127명)에서 DR-70TM의 평균은 $0.830 \pm 0.649 \mu\text{g/ml}$ 이었다(Table I, Fig. 1). 남자 대조군 전체(*n*=157)에서 DR-70TM의 평균은 $0.69 \pm 0.65 \mu\text{g/ml}$ 이었고, 여성 대조군 전체(*n*=3,970)에서 DR-70TM의 평균은 $0.84 \pm 0.65 \mu\text{g/ml}$ 로 측정되어, 여성의 평균이 남성에 비해 높았으며, 이러한 차이는 통계적으로 유의하였다(*p* < 0.05, Student *t*-test).

대조군을 연령대에 따라 분류하였을 때 전체 대조군 중 30대 이하에서 DR-70TM의 평균은 $0.58 \pm 0.60 \mu\text{g/ml}$, 40대는 $0.55 \pm 0.46 \mu\text{g/ml}$, 50대는 $0.80 \pm 0.57 \mu\text{g/ml}$, 60대는 $1.02 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$, 70대 이상에서는 $1.13 \pm 0.84 \mu\text{g/ml}$ 로 나타났고, 연령대별 차이는 통계적으로 유의하였으며(*p* < 0.0001, One way ANOVA test), 연령대를 40대 이하(I군), 50대(II군), 60대 이상(III군)으로 각각 세 그룹으로 나누었을 때, Tukey 사후 분석에서 연령대가 높을수록 DR-70TM의 평균이 유의하게 높았다.

남자 환자에서 각 연령대별 DR-70TM의 평균을 보았을

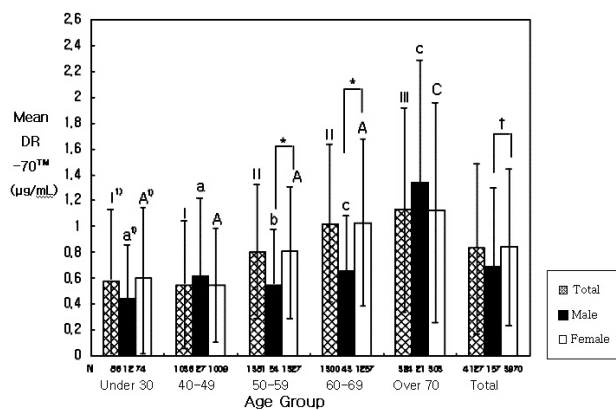
Table I. Comparison of the mean DR-70TM levels between genders and ages in total control group

Age	Male					Female					Total				
	N	Mean±SD ²⁾ ($\mu\text{g/ml}$)	Range ($\mu\text{g/ml}$)	DR-70 TM 95%	T ¹⁾	N	Mean±SD ²⁾ ($\mu\text{g/ml}$)	Range ($\mu\text{g/ml}$)	DR-70 TM 95%	T ¹⁾	N	Mean±SD ²⁾ ($\mu\text{g/ml}$)	Range ($\mu\text{g/ml}$)	DR-70 TM 95%	T ¹⁾
Under 30	12	0.44±0.47	0.07~1.53	0.74	A	74	0.60±0.62	0.02~4.37	0.75	a	86	0.58±0.60	0.02~4.37	0.71	
40~49	27	0.62±0.67	0.01~2.65	0.88	A	1009	0.55±0.45	0.01~5.89	0.58	a	1036	0.55±0.46	0.01~5.89	0.58	
50~59	54	0.55±0.46*	0.02~1.51	0.68	A	1327	0.81±0.57*	0.00~4.06 (0.0001)	0.85	b	1381	0.80±0.57 (0.0001)	0.00~4.06 (0.0001)	0.83	II
60~69	43	0.66±0.43*	0.07~1.91	0.79	A	1257	1.03±0.71*	0.00~7.42 (0.0001)	1.07	c	1300	1.02±0.71 (0.0001)	0.00~7.42 (0.0001)	1.06	III
Over 70	21	1.34±1.07	0.18~5.29	1.82	B	303	1.12±0.82 (0.0001)	0.00~7.08 (0.0001)	1.21	c	324	1.13±0.84 (0.0001)	0.00~7.08 (0.0001)	1.23	III
Total	157	0.69±0.65 [†]	0.01~5.29	0.79		3970	0.84±0.65 [†]	0.00~7.42 (0.0001)	0.86		4127	0.83±0.65 (0.0001)	0.00~7.42 (0.0001)	0.85	

**p* < 0.0001, One way ANOVA test, Compared to mean in different sex group; [†] *p* < 0.05, One way ANOVA test, Compared to mean in different sex group; ¹⁾ The same letters indicate non-significant difference between groups based on Tukey's multiple comparison test; ²⁾ Age adjusted mean.

때, 30대 이하에서는 $0.44 \pm 0.47 \mu\text{g/ml}$, 40대 $0.62 \pm 0.67 \mu\text{g/ml}$, 50대 $0.55 \pm 0.46 \mu\text{g/ml}$, 60대 $0.66 \pm 0.43 \mu\text{g/ml}$, 70대 이상에서는 $1.34 \pm 1.07 \mu\text{g/ml}$ 으로 각 연령대 사이에서 평균 DR-70TM 차이는 통계적으로 유의하였으며($p < 0.0001$, One way ANOVA test), Tukey의 사후 분석 결과를 보았을 때에는 70대 이상의 연령대와 나머지 군들간의 차이만 유의한 것으로 나타났다.

대조군 여성에서 각 연령대별 DR-70TM의 평균은, 30대 이하에서는 $0.60 \pm 0.62 \mu\text{g/ml}$, 40대 $0.55 \pm 0.45 \mu\text{g/ml}$, 50대 $0.81 \pm 0.57 \mu\text{g/ml}$, 60대 $1.03 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$, 70대 이상에서는 $1.12 \pm 0.82 \mu\text{g/ml}$ 으로 측정되었고, 각 연령 간의 평균 DR-70TM 차이는 통계적으로 유의하였으며($p < 0.0001$, One way ANOVA test), 30대 이하와 40대를 a군으로, 50대를 b군으로, 60대 및 70대 이상을 c군으로 놓았을 때에, Tukey에 의한 사후분석 결과 연령대가 높을수록



* $p < 0.0001$, One way ANOVA test

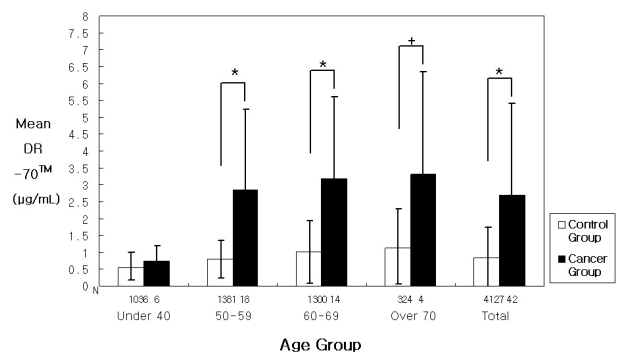
† $p < 0.05$, One way ANOVA test

1) The same letters indicate non-significant difference between groups based on Tukey's multiple comparison test

Figure 1. Comparison of the mean DR-70TM levels in each age group and gender.

DR-70TM의 평균이 높았으며, 각각의 집단 사이에 유의한 차이가 있었다(Table II). 각 연령대에 따라 남녀 간의 DR-70TM 평균을 비교하였을 때, 40대 이하 및 70대 이상의 연령대에서는 DR-70TM의 평균값에 대한 남녀 간 차이가 없었으나, 50대의 경우 남성의 평균이 $0.55 \pm 0.46 \mu\text{g/ml}$, 여성은 $0.81 \pm 0.57 \mu\text{g/ml}$ 로 여성의 평균값이 더 높았고($p < 0.0001$, Student *t*-test), 60대의 경우에도 남성의 평균은 $0.66 \pm 0.43 \mu\text{g/ml}$, 여성의 평균은 $1.03 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$ 로써 여성의 평균값이 통계적으로 유의하게 더 높았다($p < 0.0001$, Student *t*-test)

Fig. 2는 악성 종양이 있는 군과 정상 대조군 사이에서 전체 및 연령층에 따른 DR-70TM 값의 평균 차이를 보여주고 있다. 전체 대상자($n=4,169$)에서 악성 종양이 있는 군과 정상 대조군 사이에서 DR-70TM에 대한 평균값을 비교하였을 때, 암이 없는 군($n=4,127$)의 평균은 $0.83 \pm 0.65 \mu\text{g/ml}$ (range: 0.00 (0.0001) ~ $7.42 \mu\text{g/ml}$)였으나, 암이 있는 군($n=42$)의 평균은 $2.70 \pm 2.33 \mu\text{g/ml}$ (range: 0.12 ~



* $p < 0.001$, Student *t*-test

† $p < 0.05$, Mann-Whitney test

Figure 2. Comparison of the mean DR-70TM levels between the normal control group and the malignant tumor group in each age group.

Table II. Comparison of the mean DR-70TM levels in control group and in various types of the malignant tumors

	N	Mean \pm SD	Range ($\mu\text{g/ml}$)	T ¹⁾
Normal	4,127	$0.83 \pm 0.65 \mu\text{g/ml}$	0.00 (0.0001) ~ 7.42	a
Colorectal Cancer	5	$1.38 \pm 1.07 \mu\text{g/ml}$	0.31 ~ 3.18	a, b
Ovarian Cancer	7	$2.39 \pm 3.36 \mu\text{g/ml}$	0.18 ~ 9.30	b
Breast Cancer	19	$2.74 \pm 2.15 \mu\text{g/ml}$	0.12 ~ 7.43	c
HCC	2	$2.85 \pm 3.31 \mu\text{g/ml}$	0.51 ~ 5.19	c
Stomach Cancer	5	$2.97 \pm 1.30 \mu\text{g/ml}$	1.10 ~ 4.27	c
Thyroid Cancer	4	$4.32 \pm 3.09 \mu\text{g/ml}$	0.96 ~ 8.46	d
Total	4,169	$0.85 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$	0.00 (0.0001) ~ 9.30	

HCC: Hepatocellular carcinoma; $p < 0.001$, Kruskal-Wallis test; ¹⁾The same letters indicate non-significant difference between groups based on Tukey's multiple comparison test.

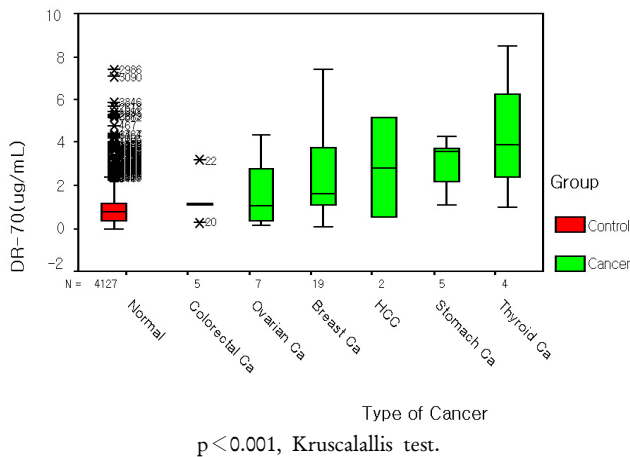


Figure 3. Comparison of the mean DR-70TM levels between control group and malignant tumor group.

9.30)으로 대조군의 3배 이상인 것으로 나타났으며 이와 같은 차이는 통계적으로도 유의하였다($p < 0.001$, Student *t*-test).

각 연령대에 따라 암환자군과 대조군의 DR-70TM 평균을 분석하였을 때, 40대에서 정상군의 DR-70TM 평균은 $0.55 \pm 0.46 \mu\text{g/ml}$, 암환자군은 $0.75 \pm 0.36 \mu\text{g/ml}$ 으로 암환자군의 평균이 높은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었고($p > 0.05$, Student *t*-test), 50대에서는 정상군 $0.80 \pm 0.57 \mu\text{g/ml}$, 암환자군 $2.84 \pm 2.44 \mu\text{g/ml}$, 60대에서는 정상군 $1.02 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$ 암환자군 $3.18 \pm 2.26 \mu\text{g/ml}$ 으로 암환자군의 평균이 높았으며($p < 0.001$, Student *t*-test), 70대에서도 정상군의 평균은 $1.13 \pm 0.84 \mu\text{g/ml}$, 암환자군은 $3.31 \pm 2.95 \mu\text{g/ml}$ 로 암환자군의 평균값이 통계적으로 유의하게 높았다($p < 0.05$, Mann-Whitney test).

악성 종양의 종류에 따른 DR-70TM의 평균과 정상 대조군의 평균을 비교하였을 때, 대조군에서 DR-70TM의 평균은 앞서 밝힌 바와 같이 $0.83 \pm 0.65 \mu\text{g/ml}$ 인 반면, 악성 종양의 종류(유방암, 직장 및 대장암, 간세포암, 난소암, 위암, 갑상선암)에 따른 DR-70TM의 평균값은 각각 유방암($2.74 \pm 2.15 \mu\text{g/ml}$), 직장 및 대장암($1.38 \pm 1.07 \mu\text{g/ml}$), 간세포암($2.85 \pm 3.31 \mu\text{g/ml}$), 난소암($2.39 \pm 3.36 \mu\text{g/ml}$), 위암($2.97 \pm 1.30 \mu\text{g/ml}$), 갑상선암($4.32 \pm 3.09 \mu\text{g/ml}$)인 것으로 나타났으며, 정상 대조군과 비교하였을 때, 직장 및 대장암을 제외한 모든 악성 종양의 DR-70TM의 평균 수치가 더 높았고 통계적으로도 유의하였다(Kruskal-Wallis test $p < 0.001$). 특히 Tukey 사후 검정에서, 갑상선 암의 경우 다른 모든 악성 종양에 비해 통계적으로 유의하게 DR-70TM의 평균치가 높았으며, 간세포성암, 난소암, 위암은 대장, 직장암 및 유방암에 평균 수치가 높았다(Table II, Fig. 3).

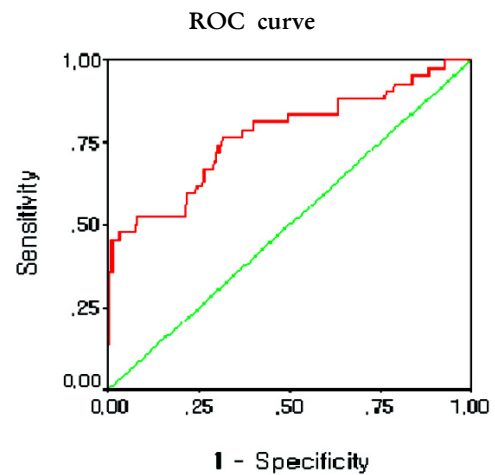


Figure 4. ROC curve of the DR-70TM for the diagnosis of malignant tumors.

Receiver operating characteristic (ROC) 곡선 분석(Fig. 4)을 시행하였을 때에 악성 종양과 건강한 대조군을 구별하는 DR-70TM에 대한 가장 최적의 cut-off value는 $\leq 1.091 \mu\text{g/ml}$ 로 측정되었으며, 이때의 곡선 아래 영역은 $0.771 \mu\text{g/ml}$ 이었다. Cut-off value 값으로 $\leq 1.091 \mu\text{g/ml}$ 를 사용했을 때에 악성 종양의 진단에 대한 민감도는 71.4%, 특이도는 70.1%이며 양성 예측도는 69.4%, 음성 예측도는 69.2%로 나타났다(1). 특이도 95% 수준에서의 악성 종양에 대한 DR-70TM의 cut-off value는 $1.854 \mu\text{g/ml}$ 이며 이 때의 민감도는 47.6%였다($p < 0.01$).

전체 집단에서 DR-70TM 값의 측정 빈도에 대한 95% 신뢰 수준을 기준으로 하였을 때, 정상 DR-70TM의 위쪽 한계는 $1.914 \mu\text{g/ml}$ 로 나타났으며, 이 값을 기준으로 하였을 때의 민감도는 47.6%, 특이도는 95.4%였다. 민감도가 100%, 95%, 90%, 85% 및 80%일 때의 DR-70TM 값은 각각 $0.118 \mu\text{g/ml}$, $0.222 \mu\text{g/ml}$, $0.3095 \mu\text{g/ml}$, $0.5095 \mu\text{g/ml}$, $0.929 \mu\text{g/ml}$ 이며, 이때의 특이도는 각각 6.8%, 23.6%, 36.4%, 60.2%로 나타났다. DR-70TM 값이 $6.13 \mu\text{g/ml}$ 이상일 때부터 특이도가 100%가 되었다.

Table III에서는 각각의 악성 종양에 대한 DR-70TM의 민감도와 특이도를 나타내고 있다. 유방암의 경우 DR-70TM이 $1.0905 \mu\text{g/ml}$ 일 때 민감도 73.7%, 특이도 70%, 95% 특이도 수준($\text{DR-70}^{\text{TM}} = 1.854 \mu\text{g/ml}$)에서의 민감도는 47.4%였고, 직장 및 대장암의 경우 DR-70TM $1.0905 \mu\text{g/ml}$ 에서 민감도 80%, 특이도 70.1%, 간세포암은 DR-70TM $1.0895 \mu\text{g/ml}$ 에서 민감도 50%, 특이도 70.1%, 95% 특이도 수준($\text{DR-70}^{\text{TM}} = 1.865 \mu\text{g/ml}$)에서의 민감도 50%, 난소암은 DR-70TM $0.5845 \mu\text{g/ml}$ 에서 민감도 57.1%, 특이도 57.1%, 95% 특이도 수준($\text{DR-70}^{\text{TM}} = 1.854 \mu\text{g/ml}$)에서의 민감도 28.6%, 위암은 DR-70TM $1.0905 \mu\text{g/ml}$ 에서의 민감도

Table III. The sensitivity and the specificity at the best cut-off values, and the sensitivity based on the 95% specificity level in each malignant tumor

	Sensitivity	Specificity	Sensitivity at 95% specificity	p-value
Breast Cancer (n=19)	73.7%	70%	47.4%	p<0.01
DR-70 TM level	1.0905µg/ml		1.854µg/ml	
Colorectal Cancer (n=5)	80%	70.1%	-	NS
DR-70 TM level	1.0905µg/ml		1.854µg/ml	
Hepatocellular carcinoma (n=2)	50%	70.1%	50%	NS
DR-70 TM level	1.089µg/ml		1.865µg/ml	
Ovarian Cancer (n=7)	57.1%	57.1%	28.6%	NS
DR-70 TM level	0.5845µg/ml		1.854µg/ml	
Stomach Cancer (n=5)	100%	70.1%	80%	p<0.01
DR-70 TM level	1.0905µg/ml		1.854µg/ml	
Thyroid Cancer (n=4)	75.0%	70.1%	75%	p<0.01
DR-70 TM level	1.0905µg/ml		1.854µg/ml	
Total	71.4%	70.1%	47.6%	p<0.01
DR-70 TM level	1.091µg/ml		1.854µg/ml	

도 100%, 특이도 70.1%, 95% 특이도 수준(DR-70TM=1.854µg/ml)에서의 민감도 80%, 갑상선 암의 경우 DR-70TM 1.0905µg/ml에서의 민감도 75.0%, 특이도 70.1%, 95% 특이도 수준(DR-70TM=1.854µg/ml)에서의 민감도 75%로 나타났으며, 유방암, 위암 및 갑상선 암의 경우에는 단독적으로도 DR-70TM을 이용하여 진단하는 것에 대한 민감도와 특이도 수준이 통계적으로 유의하였다(p<0.01).

고 찰

일반적으로 Fibrin 분해 산물의 생성이 종양의 양적인 성장(tumor load) 및 전이 부위의 개수와 양의 상관 관계를 가지고 있기 때문에, 종양이 발생할 경우 DR-70TM이 증가한다는 이론(3-11)은 악성 종양의 진단뿐만 아니라, 종양의 신생 혈관 작용 및 종양의 확산의 측면을 반영하여 종양의 증식에 대한 중요한 표식자로서 DR-70TM의 가치가 있다는 것을 의미하는 것이다. 이와 관련하여 연구들에서 악성 종양의 분화도가 심할수록 DR-70TM의 수치가 증가된다는 보고들이 있었다(17). 본 연구에서는 종양의 단계별 분류 및 변화에 대한 결과가 제시되지 않아 종양의 분화도와 관련된 DR-70TM 수치의 변화는 관찰하지 못하였으며 향후 이에 대한 추가적인 연구가 필요한 것으로 판단된다.

Gianfranco 등(18)은 plasma D-Dimer가 연령 및 성별에 따라 유의한 차이를 보이지 않는다고 보고하였으나, 본 연구 결과에서는 정상 대조군에서 남자 환자 전체(n=159)의 DR-70TM 평균은 0.688±0.653µg/ml, 여성 전체(n=3,970)의 평균은 0.836±0.648µg/ml로써 여성들의 전체 평균이 남성에 비해 높게 나타났다(p<0.05, Student-t test). 특히 50대 및 60대에서 여성의 평균이 남성

에 비해 유의하게 높았고, 또한 남자 환자에서 70대 이상의 연령대에서는 다른 연령대에 비해 평균 DR-70TM의 값이 유의하게 높았으며(p<0.0001, One way ANOVA test), 여성들의 경우에서도 30~40대(a군), 50대(b군) 및 60대 이상(c군)의 각 세 군에서 연령대가 커질수록 DR-70TM의 평균이 더 높게 측정되었고 통계적으로도 유의하였다(p<0.0001, One way ANOVA test). 이와 관련하여 폐경기 여성에서 여성 호르몬 대체 요법을 실시할 경우 D-dimer를 비롯한 fibrinolytic parameter들의 수치가 증가하거나(19), 경구 피임제 복용시 D-dimer, plasminogen (20) 및 fibrinolytic activity가(21) 증가한다는 연구 결과들이 있었으며, 50대 및 60대의 여성이 다른 연령대의 여성에 비해 DR-70TM의 평균이 높고 같은 연령대의 남성에 비해서도 DR-70TM의 평균이 높게 나타난 본 연구 결과는 향후 폐경기 여성에서 여성 호르몬 대체요법 여부에 따른 DR-70TM의 평균을 비교할 필요성을 제시해준다.

DR-70TM에 대해 분석한 이전의 연구 결과들(2,8)과 같이, 전체 대상자(n=4,169)에서 악성 종양이 없는 군(n=4,127)의 평균은 0.83±0.65µg/ml (range: 0.00~7.42µg/ml)였으나, 악성 종양이 있는 군의 평균은 2.70±2.33µg/ml (range: 0.12~9.30µg/ml)으로 악성 종양이 있는 군에서 DR-70TM의 평균이 대조군에 비해 3배 이상 높았으며 통계적으로도 유의하였다(p<0.001, Student t-test). 참고적으로 여성 대상자의 경우, 앞서 밝힌 바와 같이 남성에 비해 DR-70TM의 평균값이 유의하게 높았으므로 여성 대상자에서만 국한하여 악성 종양 유무에 따른 DR-70TM의 평균을 비교하였으며, 악성 종양이 없는 여성 환자(n=3,970) 및 종양이 있는 여성 환자(40명)의 DR-70TM에 대한 평균은 각각 0.84±0.65µg/ml (range: 0.00~7.42µg/ml)

ml) 및 $2.73 \pm 2.37 \mu\text{g/ml}$ (range: $0.12 \sim 9.30 \mu\text{g/ml}$)로써 악성 종양이 있는 여성 환자에서의 DR-70TM의 평균값이 유의하게 높게 나타나, 전체 대상자 사이에서 비교했을 때와 유사한 결과를 보였다(Table not shown, $p < 0.001$, Student-*t* test).

정상 대조군에서 각 연령대에 따라 DR-70TM의 평균이 다르게 측정되는 것과 관련하여, 악성 종양군과 대조군의 평균을 각 연령대로 나누어 비교 분석하였을 때 40대 이하의 연령에서는 통계적인 유의성은 없었으나 암 환자($n=6$)의 평균($0.75 \pm 0.36 \mu\text{g/ml}$)이 대조군($n=1,122$)의 평균($0.55 \pm 0.46 \mu\text{g/ml}$)에 비해서 높은 경향을 보였고($p > 0.05$, Student *t*-test), 50대 암 환자($n=18$)의 DR-70TM 평균은 $2.84 \pm 2.44 \mu\text{g/ml}$, 50대 대조군($n=1,381$)은 $0.80 \pm 0.57 \mu\text{g/ml}$ 으로 암 환자의 평균이 유의하게 높았으며($p < 0.0001$, Student *t*-test), 60대 이상에서도 암 환자($n=18$)의 평균은 $3.18 \pm 2.26 \mu\text{g/ml}$, 대조군($n=1,624$)은 $1.02 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$ 로 암 환자의 평균이 유의하게 높게 나타나($p < 0.0001$, Student-*t* test), 연령군에 관계없이 암 환자의 DR-70TM의 평균값이 정상 대조군에 비해 높았다. DR-70TM의 cut-off value로 지정한 $1.091 \mu\text{g/ml}$ 값을 기준으로 하여, 이 값에 비해 높고 낮음에 따른 악성 종양의 유무에 대해 연령대에 따라 층화 분석을 실시하였을 때에도 40대 이하를 제외한 모든 연령대에서 DR-70TM가 $1.091 \mu\text{g/ml}$ 보다 높으면 악성 종양이 발생하는 위험이 유의하게 높았다(40대 이하: $p > 0.05$, 50대: $p < 0.0001$, 60대: $p < 0.0001$, 70대 이상: $p < 0.05$, Table not shown, Mantel-Haenszel test).

Fields 등(2)은 Cross Cancer Institute에서 폐암의 진단을 위해 DR-70TM을 사용하는 것에 대한 임상 시험 결과를 1995년에 발표하였다. 결과는 DR-70TM이 비소세포성 폐암 및 소세포성 폐암을 동일한 수준으로 진단할 수 있다는 것이었다. 비세포성 폐암의 stage IV 환자에 대한 민감도는 83.7%였으며, 진행성 세포성 폐암에 대한 민감도는 80.0%였다. 특이도 92% 수준에서의 민감도는 66%였다. 이전의 결과들은 또한 DR-70TM이 폐암 이외의 많은 암을 발견해 낼 수 있다는 것을 제시하였다(17). 본 연구 결과에서도 이전의 연구들과 같이 DR-70TM 면역 분석법이 다양한 종류의 암을 감지해 낼 수 있다는 것을 다시 한 번 확인할 수 있었다.

Wu 등(8)은 폐암, 유방암, 위암, 직장암에 대한 DR-70TM의 연구를 수행하여 특히 위암에 대한 DR-70TM의 민감도가 높았고(92.6%), 직장암에서는 민감도가 낮은 것(66.7%)으로 보고하였으며, Kerber 등(22)은 cholangiocellular cancer와 esophageal cancer에서는 100%, Hepatocellular carcinoma 94.7%, pancreatic cancer는 92.3%, stomach cancer는 90.0%, colorectal cancer는 80.0%인 것으로 발표하였다. 이전의 연구들이 상당수의 진행성 악성 종

양을 포함하고 있거나, 암으로 진단을 받은 이후에 DR-70TM을 측정한 반면 본 연구는 DR-70TM을 위한 거의 모든 환자들의 채혈이 건강 검진 시 혹은 악성 종양으로 의심되어 최초 검사를 시행하는 시점에서 이루어졌기 때문에, 주로 조기 악성 종양만을 그 대상으로 시행하였으므로, 이 악성 종양의 조기 선별을 위한 DR-70TM의 민감도와 특이도를 판단하기 위해서는 본 연구결과의 의미가 상대적으로 중요할 수 있을 것으로 기대된다.

암 진단을 위한 DR-70TM의 유용성을 전통적인 종양 표지자들과 비교해 보면, 유방암의 경우 DR-70TM 수치 값 $1.091 \mu\text{g/ml}$ 에서 보았을 때, 민감도 73.7%, 특이도 70% 및 95% 특이도 수준($\text{DR-70}^{\text{TM}} = 1.854 \mu\text{g/ml}$)에서의 민감도는 47.4%로써($p < 0.0001$) 이전의 연구 결과들에서 Eskelinen 등(23)이 CEA, CA 15-3 및 TPS의 유방암 진단에 대한 민감도가 각각 23%, 27% 및 18%로 보고하였고 Arslan 등(24)도 유방암 수술 전 CA 15-3과 CEA의 민감도를 23.2% 및 95.3%로, 특이도를 17.4% 및 83.7%로 보고하였는데, 이들 결과들에 비해서 우월한 것으로 나타났고, 위암의 경우 CA 72-4가 68~93%의 특이도에서 27~84%의 민감도 수준을 보이는 것으로 보고한 문헌들에 비해(24,25), 본 연구 결과에서 DR-70TM의 민감도는 100%, 특이도는 70.1%, 95% 특이도 수준($1.854 \mu\text{g/ml}$)에서의 민감도는 80%로써($p < 0.01$), 위암 진단에 대해 DR-70TM가 CA 72-4에 비해 우월함을 보였으며, 특히 다른 소화기암에서는 CEA, AFP 등이 널리 이용되는 반면 뚜렷한 종양 표지자가 현재까지 존재하지 않는 위암에서 이와 같이 높은 민감도를 보였다는 것은 의미 있는 결과라 할 수 있을 것이다.

이전의 연구 결과들에서 분석되지 않았던 갑상선 암의 경우에서도 민감도가 75.0%, 특이도 70.1%로써 비교적 높은 수준을 나타내었고, 95% 특이도 수준($1.854 \mu\text{g/ml}$)에서도 75%의 민감도를 나타내었다($p = 0.005$). 직장 및 대장암의 경우 $1.0905 \mu\text{g/ml}$ 에서 민감도(80%), 특이도(70.1%), 95% 특이도 수준($1.854 \mu\text{g/ml}$)에서 20%의 민감도를 보여, 이전에 Wu 등(8)이 시행한 DR-70TM의 직장암에 대한 연구에 비해서는 민감도가 낮은 것으로 나타났으나 본 연구결과와 통계적인 유의성이 없어 정확히 비교하기가 어려웠다($p > 0.05$). 간암의 경우 약 50%의 민감도를 보였고, 난소암의 경우는 DR-70TM 값($0.5845 \mu\text{g/ml}$)에서 57.1%의 민감도, 59.5%의 특이도 및 95% 특이도 수준($1.854 \mu\text{g/ml}$)에서 28.6%의 민감도를 나타내었으나 통계적인 유의성이 없었다($p > 0.05$).

본 연구 결과에서 DR-70TM의 평균 수치는 모든 선암에서 정상 대조군에 비해 높게 나타났다. 특히 유방암, 위암, 갑상선암 및 간세포암은 대조군에 비해 유의하게 높았으며, 직장 및 대장암, 난소암 역시 통계적인 유의성은 없었으나 대조군에 비해서 DR-70TM의 평균값이 높은

Table IV. The comparison of malignant tumor incidence rate based on the best cut-off DR-70TM value (1.091 μ g/ml)

		D ^R 70 TM value		Total
		< 1.091 μ g/ml	\geq 1.091 μ g/ml	
Control Group	Frequency (%)	595 98.0%	240 88.9%	835 95.2%
Cancer Group	Frequency (%)	12 2.0%	30 11.1%	42 4.8%
Total	Frequency (%)	607 100.0%	270 100.0%	877 100.0%

$p < 0.001$, OR=6.20, Chi-Square Test.

Table V. The comparison of malignant tumor incidence rate based on the 95% specificity level (DR-70TM =1.854 μ g/ml)

		D ^R 70 TM value		Total
		< 1.854 μ g/ml	\geq 1.854 μ g/ml	
Control Group	Frequency (%)	797 97.3%	38 65.5%	835 95.2%
Cancer Group	Frequency (%)	22 2.7%	20 34.5%	42 4.8%
Total	Frequency (%)	819 100.0%	58 100.0%	877 100.0%

$p < 0.001$, OR=19.07, Chi-Square Test.

경향을 나타내었다. 따라서 DR-70TM을 특정한 악성 종양에 대한 종양 표지자로 사용하기는 어렵겠으나, 특별한 종양 형태가 아닌 전체적인 선암 발견 도구로서 임상적으로 유용하게 사용할 수 있을 것으로 판단되며, 특히 매년 시행되는 종합검진에서 암 선별 검사로써 이러한 DR-70TM 면역 분석법이 유용하게 사용될 수 있다는 것을 제안할 수 있을 것이다.

전체 대조군 대상자(n=4,169)의 20%를 무작위 표본 추출(n=835)하여 DR-70TM의 각 기준점에 대한 암 이환율의 위험도를 구하였다. 저자들이 best cut-off value로 밝힌 1.091 μ g/ml를 기준으로 사용할 경우, DR-70TM의 평균이 1.091 μ g/ml 이상인 대상자들은 악성 종양에 이환될 위험도가 6배 이상 높은 것으로 나타났으며(Table IV: OR=6.20, 95% C.I. (3.21~12.31), $p < 0.001$, Chi-Square test), DR-70TM의 평균이 95% 특이도 수준인 1.854 μ g/ml 이상인 경우에는 그 이하인 경우에 비해 암에 이환될 확률이 19배 이상 높은 것으로 확인 되었다(Table V: OR=19.07, 95% C.I. (9.59~37.92), $p < 0.001$, Chi-Square test).

본 연구의 제한점으로 정상 대조군에 비해 상대적으로

로 악성 종양 환자의 대상자 수가 적었으며, 특히 직장 및 대장암과 같은 특정 암의 경우에는 환자수가 매우 적어 통계적 검정력을 확보하기 어려웠고, 남녀의 대상자 수가 크게 차이가 났으며, 앞서 밝힌 바와 같이 종양의 분화 형태에 따른 DR-70TM 수치의 변화를 제시하지 못한 부분 및 치료 전후의 DR-70TM 수치 값을 분석하지 못한 것 등을 들 수가 있을 것이다.

그러나 본 연구가 동양인을 대상으로 선별 집단이 아닌 대규모 인구집단에서 일반 정상군과 악성 종양환자에게 DR-70TM 값을 측정된 최초의 연구이며, 이를 바탕으로 일부 선암에서 DR-70TM가 전통적인 종양 표지자에 비해 우월함을 밝힌 점 및 특히 현재까지 연구가 미비하였던 갑상선 암환자의 DR-70TM 수치가 매우 높게 나타나는 것을 관찰한 점에 의의를 둘 수 있을 것이다.

향후 남녀간 및 연령을 엄격히 보정하고 DR-70TM에 영향을 미칠 수 있는 교란인자를 구체적으로 분석하며 교란인자의 배제 기준을 정확히 마련한 다음, 보다 대규모의 악성 종양 환자를 대상으로 한 연구가 필요할 것으로 생각하며, 현재는 악성 종양이 없으나 DR-70TM의 값이 높게 측정되는 대상자들을 추적하여 전향적인 연구

를 진행해야 할 것으로 판단된다.

건강한 인구집단에 비해 갑상선암, 유방암, 위암 및 간암 환자들에서 DR-70TM의 평균값이 유의하게 높았다. 본 연구 결과를 놓고 볼 때, 급성 감염, 자가 면역성 질환 등이 없는 환자들에게 DR-70TM 검사를 시행하면 악성 종양에서 특히 선암에 대한 발견 및 선별검사에 유용할 것으로 판단된다. 대장·직장암 및 난소암에서도 DR-70TM의 평균값이 정상인에 비해 높은 경향을 나타냈으며, 특히 유방암, 위암, 갑상선 암에서는 DR-70TM가 암의 발견에 대해 비교적 높은 수준의 민감도와 특이도를 나타내었고 통계적으로도 유의하였다. 이와 같은 결과들은 DR-70TM이 선암에 대한 universal tumor marker 혹은 pan tumor marker로 이용될 수 있다는 것을 시사해준다. 향후 악성 종양을 가지고 있는 환자의 대상자수를 증가시켜 악성 종양의 분화도에 따른 DR-70TM의 평균 변화 및 수술 전후의 변화에 대한 연구가 필요하다고 판단된다.

참 고 문 헌

- Galen RS, Gambion SR: Beyond normality: the predictive value and efficiency of medical diagnosis. Wiley Biomedical Publication, 1975
- Carmeliet P, Jain RK: Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 407;249-257, 2000
- Blackwell K, Haroon Z, Broadwater G, Berry D, Harris L, Iglehart JD, Dewhirst M, Greenberg C: Plasma D-dimer levels in operable breast cancer patients correlate with clinical stage and axillary lymph node status. *J Clin Oncol* 18;600-608, 2000
- Dirix LY, Salgado R, Weytjens R, Colpaert C, Benoy I, Huget P, van Dam P, Prove A, Lemmens J, Vermeulen P: Plasma fibrin D-dimer levels correlate with tumor volume, progression rate and survival in patients with metastatic breast cancer. *Br J Cancer* 86;389-395, 2002
- Palumbo JS, Kombrinck KW, Drew AF, Grimes TS, Kiser JH, Degen JL, Bugge TH: Fibrinogen is an important determinant of the metastatic potential of circulating tumor cells. *Blood* 96;3302-3309, 2000
- Ossowski L, Quigley JP, Kellermann GM, Reich E: Fibrinolysis associated with oncogenic transformation. Requirement of plasminogen for correlated changes in cellular morphology, colony formation in agar, and cell migration. *J Exp Med* 138;1056-1064, 1973
- Mulcahy HE, Duffy MJ, Gibbons D, McCarthy P, Parfrey NA, O'Donoghue DP, Sheahan K: Urokinase-type plasminogen activator and outcome in Dukes' B colorectal cancer. *Lancet* 344;583-584, 1994
- Wu D, Zhou X, Yang G, Xie Y, Hu M, Wu Z, Yang G, Lu M: Clinical performance of the AMDL DR-70 immunoassay kit for cancer detection. *J Immunoassay* 19;63-72, 1998
- Okholm M, Iversen LH, Thorlacius-Ussing O, Ejlersen E, Boesby S: Fibrin and fibrinogen degradation products in plasma of patients with colorectal adenocarcinoma. *Dis Colon Rectum* 39;1102-1106, 1996
- Gerner C: Elevated plasma levels of crosslinked fibrinogen gamma-chain in dicarboxylate cancer-related fibrin deposition and fibrinolysis. *Thromb Haemost* 85;494-501, 2001
- Oya M, Akiyama Y, Yanagida T, Akao S, Ishikawa H: Plasma D-dimer level in patients with colorectal cancer: its role as a tumor marker. *Surg Today* 28;373-378, 1998
- Syven B: Cellular detachment by purified lysosomal cathepsin B. *Eur J Cancer* 4;559-562, 1968
- Poole AR, Tiltman KJ, Recklies AD, Stoker TA: Differences in secretion of the proteinase cathepsin B at the edges of human breast carcinomas and fibroadenomas. *Nature* 273;545-547, 1978
- Keppeler D, Abrahamson M, Sordat B: Secretion of cathepsin B and tumour invasion. *Biochem Soc Trans* 22;43-49, 1994
- Bast RC Jr, Feeney M, Lazarus H, Nadler LM, Colvin RB, Knapp RC: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J Clin Invest* 68;1331-1337, 1981
- Fields A, Poppema S, Jha N, Marcushamer S, McNamara C, Hanson J, Samson J, Kulyk J, Whittingham J, Shaw A: Serum levels of extracellular matrix complex (CEMC) in lung cancer patients: Potential use as a tumor marker. 12th international conference on human tumor marker, p11-14, New York, 1995
- Gartner U, Scheulen ME, Aghabi E, Wiefelsputz J, Delbruck H: Determination of CA 72-4 by IRMM of ELISA in the follow-up of gastric cancer patients. In: Klapdor R eds.: Current tumor diagnosis: applications clinical relevance research trends, p17-19, W. Zuckschwerdt Verlag, 1994
- Gianfranco B, Pierfederico T, Domenico F: Plasma levels of D-dimer in lung carcinoma. *Cancer* 97;3044-3052, 2003
- Teede HJ, McGrath BP, Smolich JJ, Malan E, Kotsopoulos D, Liang YL, Peverill RE: Postmenopausal hormone replacement therapy increases coagulation activity and fibrinolysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20;1404-1409, 2000
- Wiegatz I, Lee JH, Kutschera E, Winkler UH, Kuhl H: Effect of four oral contraceptives on hemostatic parameters. *Contraception* 70;97-106, 2004
- Meijers JC, Middeldorp S, Tekelenburg W, van den Ende AE, Tans G, Prins MH, Rosing J, Buller HR, Bouma BN: Increased fibrinolytic activity during use of oral contraceptives is counteracted by an enhanced factor XI-independent down regulation of fibrinolysis: a randomized cross-over study of two low-dose oral contraceptives. *Thromb Haemost* 84;9-14, 2000
- Kerber A, Trojan J, Herrlinger K, Zgouras D, Caspary WF, Braden B: The new DR-70 immunoassay detects cancer of the gastrointestinal tract: a validation study. *Aliment Pharmacol Ther* 20;983-987, 2004
- Eskelinen M, Kataja V, Hamalainen E, Kosma VM, Penttila I, Alhava E: Serum tumor markers CEA, AFP, CA15-3, TPS and Neu in diagnosis of breast cancer. *Anticancer* 17; 1231-1234, 1997
- Arslan N, Serdar M, Deveci S, Ozturk B, Narin Y, Ilgan S, Ozturk E, Ozguven MA: Use of CA15-3, CEA and prolactin for the primary diagnosis of breast cancer and correlation with the prognostic factors at the time of initial diagnosis. *Ann Nucl Med* 14;395-399, 2000
- Safi F, Kuhns V, Berger HG: Tumor markers in gastric cancer. In: Klapdor R ed.: Current tumor diagnosis: applications clinical relevance research-trends, p20-27, W. Zuckschwerdt Verlag, 1994