

유방암에서 골수미세전이세포의 의의

영남대학교 의과대학 일반외과학교실

강수환 · 이수정 · 김상운 · 권평보

= Abstract =

The Significance of Bone Marrow Micrometastasis (BMM) in Breast Carcinoma

Su Hwan Kang, M.D., Soo Jung Lee, M.D., Sang Woon Kim, M.D.
and Koing Bo Kwun, M.D.

Department of surgery, College of Medicine, Yeungnam University, Taegu, Korea

Purpose: This study was performed to determine the incidence of BMM and to correlate the presence of these micrometastases with prognosis and other clinicopathologic features. **Materials and Methods:** BMM was evaluated in 220 breast cancer patients between July, 1991 and January, 1997, using mouse monoclonal antibody (AE1/AE3) against cytokeratin in an immunofluorescent assay. **Results:** Of the 220 patients, 71 (32.3%) were positive for BMM. There were no association between bone marrow positivity and nodal status, TNM stage, known histopathologic parameters, and hormonal receptor. Median follow-up for 220 patients was 41.6 month. The relapse rate was 16.8% (37/220). Twenty-four (33.8%) of 37 patients were positive for BMM and 13 (8.7%) were negative ($p<0.05$). Bone metastasis occurred in 16 cases, and was more common in BMM positive patients (14 of 24, 54.2%, versus 2 of 13, 15.4%, $p<0.05$). Twenty-six patients were died of relapsed breast cancer. In overall survival, patients who was negative for BMM showed higher survival rate ($p<0.05$). **Conclusions:** BMM was a good predictor for distant metastasis, especially bone metastasis, and for poor prognosis. But no association was found between bone marrow positivity and tumor size, nodal status, stage, histologic parameter and hormonal receptor status. (*Journal of Korean Breast Cancer Society* 1999;2:180~189)

Key Words: Breast cancer, Micrometastasis, Immunofluorescence

서 론

원발성 유방암 수술당시 액와부 림프절 전이가

있는 환자도 10년 동안의 재발률은 30% 정도되며, 원격전이 환자의 10-20% 정도에서는 액와부 림프절 전이가 없다^{1,2)}. 이러한 이유는 지금까지 사용하고 있는 기존의 진단방법으로는 발견할 수 없는 미세전이가 이미 존재하는 것을 의미하며 지금까지의 병기 분류법이 완전하지 못함을 시사하는 것이다^{3,4)}.

현재 많은 외과위가 초기 유방암환자에서 불필요한 전신요법을 줄이기 위해 고위험군에서만 전신요

연락처: 이수정, 705-717, 대구광역시 남구 대명동 317-1
영남대학교 의과대학 부속병원 일반외과학교실
Tel: 053-620-3580, Fax: 053-624-1213

법을 사용하고 있으나 지금까지 사용하고 있는 예후 인자로는 개인별로 미세전이 유무를 확인할 수 없다.

뼈와 골수는 유방암이 전이를 가장 잘하는 장소이며 전이된 암을 발견했을 때 가장 흔히 발견되는 장소이다. 또한 뼈의 전이는 암세포가 일단 골수에 안착한 후 점차 주위 뼈로 침투한다. 따라서 골수검사는 병기 초기에 전이유무를 알기 위해 중요하다⁵⁾. 그러나 종래의 골수 세포 검사로는 골수에서 암세포를 찾기 힘들어서 명백한 골 전이가 없는 경우에는 1%이며 명백히 골 전이가 있다 해도 28% 밖에 찾을 수가 없었다⁶⁾. 그 외 X-ray, 골주사(bone scanning), 생화학 검사 등으로도 초기 진단율은 아주 낮다⁷⁾.

1980년 Sloane 등이 유방암 환자의 골수에서 면역세포화학적 검사방법으로 전이세포를 찾는 방법을 처음 개발하여 이 세포들을 미세전이세포라고 명명하였다⁸⁾. 그 후 골수미세전이세포를 찾기 위한 연구가 진행되었으며 PCR (polymerase chain reaction)을 이용하거나, 면역형광법, 면역세포화학적 검사법, ELISA를 이용한 분석방법 등이 개발되었다^{9,10)}. 아울러 골수 미세전이세포가 발견된 경우에 추적검사를 통하여 실제적으로 유방암의 예후와 어떤 연관성이 있는지에 대한 연구도 병행되어 왔다¹¹⁻¹⁴⁾.

현재 유방암에서 골수미세전이세포의 의의는 예후 인자로서의 가치 및 항암 치료의 지표 및 치료 방법의 효과판정의 지표로서 부각되고 있으며 심지어 TNM 분류법에 선택적으로 포함해야 한다는 주장도 있다¹⁵⁾.

본 연구는 원발성 유방암 환자에서 면역형광법을 이용하여 골수미세전이세포의 양성율을 조사하여 기존의 예후인자와의 상관관계 및 골수미세전이세포가 가지는 예후 인자로서의 가치를 알고자 하였다.

대상 및 방법

1991년 7월부터 1997년 1월까지 영남대학교 의과대학 일반외과학교실에서 수술이 가능하였던 유방암 환자 220명을 대상으로 하여 양측의 전방 장골릉(anterior iliac crest)에서 골수를 채취하여 검사하였다. 모든 환자는 병기분류를 위해 흉부 X-선 사진,

골 주사검사(bone scan), 간 초음파검사 및 혈액검사에서 골수전이가 없었던 환자를 대상으로 하였으며 병기분류법은 1992년 제정된 American Joint Committee (AJC) System에 따라 분류하였다.

환자들의 평균 추적검사 기간은 41.62개월이었다.

1. 골수천자(bone marrow sampling)

유방절제술 후 전신 마취된 상태에서 해파린 처리된 주사기로 양측 앞쪽 장골릉에서 6cc씩 골수를 천자한 후 검사실에서 2배 분량의 RPMI-1640에 혼합한 후 Ficoll Hypaque density gradient용액 위에 조심스럽게 부은 후 400xg로 20분간 원심 분리하여 계층면만을 뽑아내어 여기에 다시 RPMI-1640을 첨가하였다. 이것을 다시 원심시켜 RPMI-1640을 빼낸 후 다시 RPMI 3 ml를 주입하여 파이펫으로 침전된 세포들을 모았다. 혈구 계산반으로 한 cytospin에 1×10^6 cell 이 들어가도록 계산하여 슬라이드를 cytospin에 장착한 후 2000 rpm으로 20분간 원심 시킨 후 95% ethanol로 고정하여 -20℃에서 보관하였다.

2. 단클론항체(Monoclonal antibody)

상피세포의 특이한 항원으로서 대부분의 유방암 세포와는 반응하나 골수세포인 혈액세포나 간엽조직세포와는 반응하지 않는¹⁶⁾ Acidic cytoskeletal cytokeratin intermediate filaments에 대한 마우스 단클론 항체인 AE-1 (Boehringer Mannheim, USA)을 사용하였다^{17,18)}.

3. 면역형광염색(Immunofluorescent stain)

냉장고에서 꺼낸 슬라이드를 녹여 말린 후 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 10분간 씻은 후 억제혈청(5% rabbit serum in PBS-0.1% albumin) 100 μ l를 슬라이드 위에 점적하여 30분간 둔 후 PBSA (PBS-0.1% BSA)로 5분간 씻은 후 단클론 항체를 1:40-1:75로 희석하여 슬라이드 당 200 μ l씩 떨어뜨린 후 실내온도에서 1시간 방치한 후 PBSA 용액에 5분간씩 3번 씻었다. Fluorescein-conjugated rabbit antimouse antiserum (DAKO, USA)은 1:75로 희석하여 슬라이드 당 200 μ l씩 떨어뜨린 후 실내온도에서 암실에서 1시간 방치하였다. 그 다음 PBSA

에 5분씩 3번 씻은 후 90% glycerol로 wet mount 하였다. 이 염색과정은 wet chamber에서 시행하였으며 즉시 판독하거나 4℃ 암실에서 보관한 후 적어도 12 시간 내에 형광현미경으로 판독하였다.

4. 병리조직학적 검사

유방암조직에서 조직학적 분화도, 핵분화도, 유사분열상의 정도, 혈관침투 유무, 림프관 침윤 유무, 신경침윤 유무를 조사하여 골수 미세전이 유무와의 상관관계를 비교하였다.

5. 에스트로겐 및 프로게스테론 검사

에스트로겐 및 프로게스테론 수용체의 염색은 5 μ m 두께의 동결절편에 3% 과산화수소를 5분간 작용시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척한 다음 protein blocker를 5분간 도포하였다. 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체에 대한 일차항체는 각각 ER-IL (Novocastra, U.K.)과 PGR-IL (Novocastra, U.K.)을 희석하지 않고 사용하였으며 상온에서 1시간 동안 방치시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척하였다. 그 후 이차항체인 link antibody (LSAB kit, DAKO, USA)를 37℃에서 30분간 도포한 다음 Tris 완충액으로 3회 세척하였다. Streptavidin-HRP (Zymed, USA)를 30분간 도포한 다음 Tris 완충액으로 3회 세척한 후 DAB (Diaminobenzidine tetrachloride)를 5-10분간 도포하여 발색하고 10% Mayer's hematoxylin으로 대조염색하였다.

6. 임상적 분석

골수미세전이와 기존의 예후인자와의 상관관계는 Chi-square test로 검증하였다. 무병생존율 및 평균생존율에 대한 생존율은 Kaplan-Meier method로 계산하였으며, 생존곡선간의 비교는 logrank test에 기초하였다.

통계적처리는 SPSS (Statistical Product & Service Solutions)를 사용하였다.

결 과

대상 환자 220명의 평균 나이는 46.02세(범위; 23-78세)였으며, 이 가운데 상피세포 양성반응을 보인 예는 71명으로 32.3%에서 골수미세전이세포를 관찰할 수 있었다(Table 1). 액와부 림프절 전이가 없었던 102명 가운데 30명(29.4%)에서 골수전이 양성이었으며 액와 림프절 전이가 있었던 경우는 118명 가운데 41명(34.7%)에서 골수전이 양성반응을 보여 액와부 림프절 전이 유무와 골수미세전이세포 양성률은 통계학적 차이가 없었다($p>0.05$, Table 2). 암의 크기가 2 cm 미만인 경우는 78예 중 21예(26.9%), 2-5 cm인 경우가 119예 중 41예(34.5%), 5 cm 이상인 경우가 23예 중 9예(39.1%)에서 양성 반응을 나타내었으며 암의 크기에 따른 통계학적인 유의성은 없었다($p>0.05$, Table 2). 병기 분류법에 따른 양성률은 0기 환자 3명 중에서 골수미세전이세포 양성인 환자는 없었으며, 1기에서 38명 중 10명(26.3%), 2기에서 140명 중 45명(32.1%), 3기에서 39명 중 16명(41.0%)으로 병기와 양성률과의 유의한 차이는 없었다(Table 2).

면역조직학적 검사에서 에스트로겐 수용체 음성인 경우는 80명 중 32명(40.0%), 양성인 경우는 73명 중 22명(30.1%)에서 골수미세전이 양성반응을 보였으며, 프로게스테론 수용체에 대해서는 음성인 경우 71명 중 28명(39.4%), 양성인 경우 82명 중 26명(31.7%)에서 양성반응을 보였으며 통계학적 의미는 없었다(Table 2).

병리조직학적 검사(Table 3)에서 혈관 침윤과의 상관관계를 보면 혈관침윤이 없었던 경우는 100명

Table 1. Detection of Occult Micrometastasis in Bone Marrow Aspirates of Patients with Operable Breast Cancer

Number of cases	Bone marrow micrometastasis	
	Positive (%)	Negative (%)
220	71 (32.3)	149 (67.7)

Table 2. Association between Clinicopathologic Characteristics and BMM* Positivity

Characteristics	Total No.	BMM positivity (%)	p value
Axillary lymph node status			>0.05
Negative	102	30 (29.4)	
Positive	118	41 (34.7)	
Tumor size			>0.05
≤2	78	21 (26.9)	
2~≤5	119	41 (34.5)	
>5	23	9 (39.1)	
TNM stage			>0.05
0	3	0	
I	38	10 (26.3)	
II	140	45 (32.1)	
III	39	16 (41.0)	
Estrogen receptor			>0.05
Negative	80	32 (40.0)	
Positive	73	22 (30.1)	
Progesterone receptor			>0.05
Negative	71	28 (39.4)	
Positive	82	26 (31.7)	

* BMM: bone marrow micrometastasis.

중 29명(29.0%), 혈관침투가 있었던 경우는 22명 중 10명(45.5%)에서 골수전이 양성반응을 보여 혈관침투가 있었던 경우에 높은 양성률을 나타내었으나 통계학적인 의의는 없었다. 림프관 침투에 있어서는 림프관 침투가 없었던 66명 중에서는 18명(27.3%)이 양성반응을 보였고, 림프관 침투가 있었던 예에서는 50명 중 21명(42.0%)에서 양성반응을 나타내어 림프관 침투가 있었던 경우의 골수미세전이 빈도가 높았으나 통계적인 의의는 없었다. 신경침윤에서는 신경침윤이 없었던 경우가 16명 중 3명(18.8%), 신경침윤이 있었던 경우가 4명 중 1명(25.0%)으로 신경침윤이 있었던 경우 미세전이빈도가 높았으나 통계학적인 의의는 없었다. 핵분화도는 grade I인 경우 4명 중 2명(50.0%), grade II인 경우 48명 중 7명(14.6%), grade III인 경우 77명 중 36명(46.8%)으로 grade I이 2명으로 증례수가 적어서 통계적인 의미를 둘수가 없었다. 유사핵분열지수에서 가장 핵분열이 심한 grade III에서는 52명 중 23명(44.2%), grade II에서는 29명 중 8명(27.6%), grade I에서는 47명 중

13명(27.7%)으로 차이를 보이지만 통계적인 의의는 없었다. 조직학적 분화도에서 가장 악성인 grade III인 경우는 79명 중 33명(41.8%), grade II는 33명 중 9명(27.3%), grade I인 경우 14명 중 2명(14.3%)에서 양성반응을 보여 조직학적 분화도가 높아질수록 골수미세전이율이 높았으나 통계학적인 의의는 없었다.

전체 220명의 환자의 평균 추적기간은 41.6개월이었다. 이 중 국소재발이나 원격전이를 보인 환자는 37명(16.8%)이었다. 이들 220명 환자의 평균무병기간은 골수미세전이가 없었던 경우는 42.79 ± 19.90 개월이었으며, 골수미세전이 양성을 보인 환자들에게서는 35.30 ± 21.20 개월로 통계학적인 의의가 있었다($p < 0.05$). 전체 재발환자 37명 중 골수미세전이세포 양성인 환자는 24명으로 64.9%였다. 재발률에 있어서도 골수미세전이가 없었던 환자는 149명 중 13명(8.7%)에서 재발하였으며, 골수미세전이가 있었던 환자는 71명 중 24명(33.8%)에서 재발하여 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다(Table 4). 즉, 골수미세전이세포가 발견된 환자일수록 더욱 빠르고

빈번한 재발을 나타내었다($p < 0.05$, Fig. 1). 재발장소를 보면 골수미세전이 음성이었던 환자군에서는 폐(5명), 골(2명), 뇌(2명), 림프절전이, 국소 재발, 간, 골 전이 없는 다발성 전이의 순이었으며 이들 환자의 평균무병생존기간은 28.85개월이었다. 골수미세전이 양성을 보인 환자는 골 단독전이 및 골 전이를 포함한 다발성 전이(14명: 58.4%), 골 전이 없는 다

발성 전이, 흉막, 간, 국소 재발이 각각 2예, 폐와 임파선전이가 각 1예의 순으로 재발을 보였으며 이들의 평균 무병생존기간은 26.54개월이었다. 재발된 환자 37명에서의 재발까지의 기간 즉, 평균 무병생존기간은 골수미세전이세포의 유무와는 유의할 만한 상관관계가 없었다(Table 4). 재발된 환자 중에서 골 전이의 빈도는 골수미세전이가 음성이었었던 경우

Table 3. Association between Histopathologic Findings and BMM* Positivity

Status	No. of total cases	No. of BMM(+) cells (%)	p value
Lymphatic invasion			$p > 0.05$
Absent	66	18 (27.3)	
Present	50	21 (42.0)	
Vascular invasion			$p > 0.05$
Absent	100	29 (29.0)	
Present	22	10 (45.5)	
Neural invasion			$p > 0.05$
Absent	16	3 (18.8)	
Present	4	1 (25.0)	
Histologic grade			$p > 0.05$
Grade I	14	2 (14.3)	
Grade II	33	9 (27.3)	
Grade III	79	33 (41.8)	
Nuclear grade			$p < 0.05^{\dagger}$
Grade I	4	2 (50.0)	
Grade II	48	7 (14.6)	
Grade III	77	36 (46.8)	
Mitotic index			$p > 0.05$
Grade I	47	13 (27.7)	
Grade II	29	8 (27.6)	
Grade III	52	23 (44.2)	

* BMM: bone marrow micrometastasis.

\dagger This trend did not reach the level of the statistical significance due to small number of patients in grade I.

Table 4. Association between Recurrence and BMM* Positivity

	relapse rate	mean DFI of relapsed patients
BMM(+)	24/71 (33.8)	26.54 month
BMM(-)	13/149 (8.7)	28.85 month
Total	37/220 (16.8)	27.35 month
p-value	< 0.05	> 0.05

* BMM: bone marrow micrometastasis.

DFI: disease free interval.

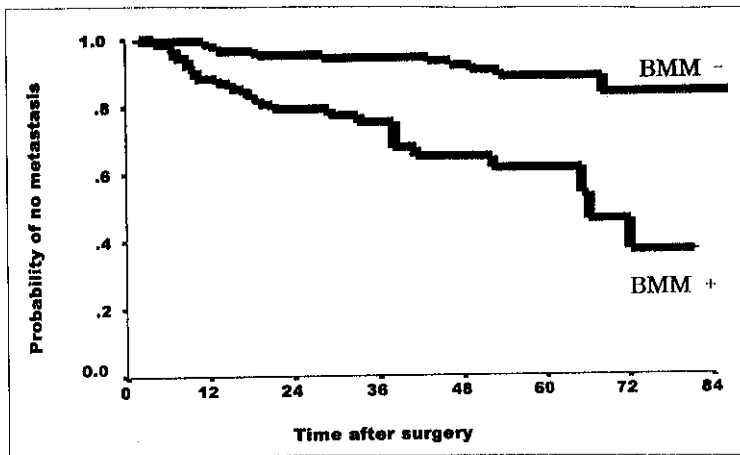


Fig. 1. Distant disease-free survival of patient with primary breast cancer according to the presence or absence of bone marrow micrometastasis. (BMM+ or BMM-, respectively; $p < 0.001$; logrank test).

가 13명 중 2명(15.4%), 양성이었던 경우 24명 중 14명(54.2%)으로 골수미세전이 양성이었던 환자에서 실제 골전이의 빈도가 높음을 보여주었다(Table 5). 따라서 골수미세전이가 있었던 경우에 높은 재발률을 보이고 특히 골 전이의 빈도가 높았음을 알 수 있었다. 골수미세전이와 국소재발률과는 상관관계가 없었다.

전체 220명 환자의 평균 41.6개월의 추적 기간 중 26명이 사망하였으며 골수미세전이세포가 양성인 71명 중에서는 17명(23.9%)이 사망하였고, 골수미세전이세포 음성인 149명 중에서는 9명(6.0%)이 사망하여 골수미세전이세포 유무와 사망률간에는 유의한 상관관계를 보였다($p < 0.05$, Table 6). 또한 평균 생존율에서도 두 군 간에는 통계적으로 의미 있는 차이를 보였다($p < 0.05$, Table 6, Fig. 2).

이상에서, 골수미세전이세포가 발견된 유방암 환자일수록 더 빈번하고 빠른 재발률을 보이고, 또한 짧은 생존기간과 높은 사망률을 보였으며 이는 모두 통계적으로 유의하였다.

고 찰

골수미세전이세포를 찾기 위한 노력은 1980년대에 유방암이 초기에 원격전이를 할 것이라는 가정

Table 5. Association between Bone Metastasis and BMM* Positivity

	Bone metastasis(%)	p-value
BMM(+)	54.2	<0.05
BMM(-)	15.4	

BMM: bone marrow micrometastasis.

Table 6. Death Rate and Overall Survival according to BMM* Status

	Death rate (%)	Overall survival (month)
BMM(+)	23.9	37.37
BMM(-)	6.0	43.79
p-value	<0.05	<0.05

* BMM: bone marrow micrometastasis.

하에 수술이 가능한 유방암 환자의 골수세포에서 면역세포화학적 검사방법으로 골수미세전이세포를 찾기 위한 연구가 시작되면서부터⁸⁾ 지금까지 이에 대한 많은 연구가 보고되고 있다.

지금까지 알려진 유방암과 관련된 항원으로는 milk fat globule membrane, mammary carcinoma

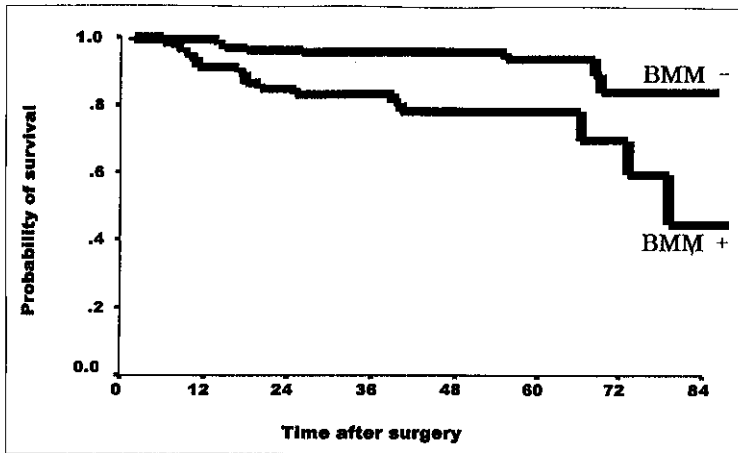


Fig. 2. Overall survival of patients with primary breast cancer according to the presence or absence of bone marrow micrometastasis. (BMM+ or BMM-, respectively; $p < 0.001$; logrank test).

metastasis breast cancer cell lines, receptors, intermediate filament (keratin) 등이 있으며 현재까지 이들 항원에 대한 골수에서의 종양세포를 검출하기 위해 24종의 항체가 사용되고 있다¹⁹⁾. 이들 중 intermediate filament는 대부분의 세포의 세포질에 존재하며 이 중 특히 true epithelium에 나타나는 것을 cytokeratin이라 하며 이에 대한 단클론항체인 AE1/AE3는 각각 acidic과 basic한 subfamily로서 human epidermal keratin에 대한 antibody이며 epithelium은 적어도 이들 한 가지는 가지고 있으므로 이들의 단클론 항체를 사용 시에 유방암을 포함한 모든 암종과 반응한다고 한다.

Cytokeratin은 성숙핵세포의 구조물이므로 원발암이나 전이암에서 원래의 intermediate filament의 구조는 변하지 않으므로 다른 종류의 단클론항체에서 볼 수 있는 암세포의 다상성(heterogeneity)에 대한 것이 큰 문제가 되지 않으며 최근 소수의 예외는 있지만 carcinoma의 경우 100% 특이하다고 한다¹⁶⁾.

지금까지 보고된 수술가능한 환자에서의 골수 미세전이 양성률은 16-48%로서^{12,13,16)} 저자들의 32.3%와 비슷하였으나 이러한 미세전이 양성률의 차이는 사용하는 항체의 종류에 따라 다르며 anti-EMA나 anticytokeratin 등을 혼합해서 사용한 경우 양성률이 더 높다는 보고도 있다. 또한 한 군에 이상의 골수에

서 천자함에 따라서 빈도가 높아질 수 있다고 한다^{12-14,16,20)}. 골수천자 시기에 있어, 수술 중 골수천자 시 37.9%, 수술 2-4주 후 골수천자 시에는 17.1%의 미세전이 양성률을 보여 골수천자 시기에 따라 양성률의 차이가 있다고 보고하는 자도 있으며 저자들은 수술 중에 전신마취 상태에서 골수천자를 시행하였다.

가양성 세포의 염색을 줄이기 위해 단클론 항체의 선정이 중요한데 anti-EMA의 경우 림프 계통의 세포 특히 형질세포나 미성숙세포인 조기 골수양세포(early myeloid cell)와 교차반응이 있을 수 있으므로 비교적 교차반응이 적은 anti-keratin이 좋다고 하며²¹⁾, 저자들도 anti-keratin의 일종인 AE1/AE3를 사용하였다^{17,18)}.

1980년 Sloane 등⁸⁾의 연구에서부터 지금까지, 골수 미세전이 세포 양성률과 기존의 다른 예후인자들과의 상관관계에 대한 연구가 진행되고 있다.

림프절 전이 유무에 따른 골수 미세전이 세포 양성률에 대해 Porro 등은 159명의 환자에서 액와부 림프절 전이가 있었던 경우에 14%, 액와부 림프절 전이가 없었던 경우에 17%로서 차이가 없다고 하였으며²²⁾, 그 외에도 Cote 등 Menard 등과 Salvadori 등의 보고에서도 액와부 림프절 전이 유무와 골수 미세전이 세포 양성률과는 상관관계는 없다고 하였으나^{16,20,22)}, Mansi 등과 Diel 등 Coombes 등은 상관관계

를 가진다고 보고하였다^{7,13,14}).

Diel 등¹³⁾의 보고에서는 727명의 환자 중 43%인 315명에서 골수미세전이가 관찰되었으며 이들 골수미세전이세포 양성 환자에서 암의 병기, 액와부 림프절전이 유무, 폐경기 유무, 암의 크기 등과는 상관관계를 가지나 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체의 유무와는 상관관계가 없었다고 하였다.

Stephen 등은 214명의 환자 중 42명(20%)에서 골수미세전이 양성을 보였으며 이는 종양의 등급, 크기, 에스트로겐 수용체 유무, 액와부 림프절 전이유무와는 상관관계가 없고 혈관침투 유무 및 신생혈관형성정도와의 상관관계가 있다고 하였으며, 원발 종양에서의 신생혈관 생성 정도와 혈관침투 유무가 골수미세 전이의 가능성을 높인다고하여 이 두 인자의 중요성을 강조하였다²³⁾. 또한 Mansi 등도 암조직 내의 림프관침윤과 혈관침투가 골수전이와 직결되는 중요한 조직학적 소견이라고 하였다¹⁴⁾.

1980년부터 1997년까지의 골수미세전이와 여러 예후인자와의 관계를 비교한 보고들을 정리한 보고에서¹⁹⁾, Mansi 등의 보고¹⁴⁾를 제외한 다른 보고들에서는 에스트로겐 수용체와 골수미세전이와의 상관관계가 없다고 하였다.

저자들의 연구에서는 암조직 내의 림프관 침윤이 있는 경우 골수미세전이 양성률이 높은 것으로 나타났으며, 액와부 림프절 전이가 있는 경우, 암조직 내의 혈관침투가 있는 경우, 신생혈관이 있는 경우 골수미세전이 양성률이 높았으나 통계적 의의는 없었다. 암의 크기나 병기와도 상관관계를 보였으나 통계학적인 유의성은 없었다. 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체의 유무와는 상관관계가 없었다. 이러한 결과는 다른 보고자들의 보고와 부분적인 일치치를 보이나 아직은 명확한 상관관계는 정립되지 않은 상태이다. 핵분화도와 유사핵분열지수와 골수미세전이 양성률과의 상관관계는 없었으나 이에 대한 보고가 없어 비교할 수는 없었다.

골수미세전이가 있는 환자의 예후에 있어 Diel 등은 727명의 환자에 대해 평균 36개월간 추적 조사한 결과 143명의 환자에서 원격전이를 보였으며 이 중 109명(76%)에서 골수미세전이 양성을 보였으며, 재발하기까지의 기간에 있어 골수미세전이가 있었던

경우가 21.5개월로 음성인 경우의 33.5개월에 비해 짧은 무병생존기간을 보였다. 그리고 유방암으로 사망한 67명의 환자 중 57명(83%)에서 골수 미세전이 세포가 양성이었다고 하였다¹³⁾. 또한 이들은 골수미세전이가 양성인 경우 비단 골 전이(76%) 뿐만 아니라 골 전이를 제외한 원격전이(73%) 및 국소재발(62%)의 빈도도 높다고 하였으며, 이는 골수미세전이가 유방암에서의 원격전이 능력을 반영하고 나아가서는 뼈에 국한된 것이 아니라 전신질환의 표식자로서 중요성을 강조하는 것이다.

저자들의 경우 평균 41.6개월의 추적기간동안 220명 중 37명(16.8%)의 환자에서 재발을 보였으며 이 중 골수미세전이가 있었던 경우가 24명(33.8%), 음성이었던 경우가 13명(8.7%)으로 골수미세전이가 있었던 경우에서 높은 재발률을 보였다. 하지만 이들 재발환자의 무병생존기간에 있어서는 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 재발 장소에 있어서는 골수미세전이가 양성인 경우 골 전이의 빈도가 높았으며(54.2%:15.4%) 이는 통계학적 의의를 가진다($p=0.012$). 이러한 결과는 Diel 등의 보고와 많은 부분에서 일치하고 있다.

수술 당시 발견된 골수미세전이세포의 운명을 알기 위해 Mansi와 Coombes는 골수미세전이 세포가 발견된 82명에서 재발하기 전에 항암 요법을 시행한 군과 시행하지 않은 군에서 18개월 동안 반복 골수 천자검사서 항암제를 사용한 군이나 사용하지 않은 군에서 각각 2%와 3%에서 양성반응을 보였으나 국소 재발이 있는 환자에서 여러 곳에서 천자하였을 때 골수미세전이율은 19%였으며 뼈 이외의 원격전이가 있었던 경우는 30%였으나 X-선 촬영상 골전이가 있었던 경우는 100%에서 양성반응을 보였다고 보고하였다. 이러한 결과는 골수미세전이는 원발암에서의 암세포의 shedding의 결과라고 생각할 수 있으며 이 중 일부는 생존하며 일부는 생존하지 못하기 때문이라고 하였다. 따라서 원발암이 수술로 제거되면 shedding을 일으키는 원발장소는 제거되나 미세원격전이를 일으킨 암세포들은 잔존되나 확진되기는 어렵다^{7,14)}. 또한 현재까지의 보고에서는 골수미세전이세포의 수가 어느 정도되어야 예후가 나쁜지는 보고되고 있지 않으나 Cote 등에 따르면 골

수에서 발견되는 종양세포의 수가 많을수록 짧은 무병생존기간을 보인다고 한다¹⁶⁾.

액와부 림프절 전이 유무와 골수미세전이세포 양성률의 예후 인자로서의 효용성을 비교한 Diel 등의 보고에서는 골수미세전이세포가 양성인 경우에는 액와부 림프절전이가 있는 경우 불량한 예후를 보였으나 골수미세전이 음성인 경우에는 액와부 림프절 전이유무가 예후와는 유의할 만한 상관관계가 없다고 하였다. 또한 암의 크기가 2 cm 미만인 경우(T1)에는 골수미세전이 유무가 액와 림프선 유무에 비해 예후인자로서의 효용이 크고 2 cm 이상의 암에서는 두 인자간의 예후인자로서의 가치차이는 없었다고 한다. 따라서 암의 크기가 작고 액와부 림프절 전이가 없는 경우, 골수미세전이세포의 유무는 예후인자로서의 중요한 정보를 주며 항암제의 사용 기준이 될수 있다고 하였다¹³⁾.

골수미세전이세포 유무와 평균 생존율에 있어, 1980-1997년까지의 12편의 보고들 중 5편에서 이 두 가지 요인들 간에 유의한 상관관계가 있다고 보고하였다¹⁹⁾. 이 중 가장 많은 대상환자를 포함하고 있는 Diel 등의 보고에서는 골수미세전이세포 양성인 유방암 환자에서 유의성 있는 짧은 평균 생존률을 보였으며 이는 액와부 림프절 전이의 예후 인자로서의 효용성보다 우월하다고 보고하였다.

저자들의 연구에서도 수술당시 천자한 골수에서 미세전이세포가 발견된 환자일수록 높은 사망률 및 짧은 평균 생존률을 보여 Diel 등의 보고와 일치하였다.

현재 유방암을 포함한 다른 악성종양(소세포성 폐암)에서 골수미세전이세포의 발견은 불량 예후인자로 평가되고 있으며¹¹⁻¹⁴⁾, 항암치료의 지표나 치료 효과 판정의 기준으로 사용되고 있다^{24,25)}. 나아가서는 유방암 환자의 골수에서 미세전이세포가 발견되는 경우 이를 임의의 예후인자로 간주하여 M1(i)로 표기하고 TNM 분류에 포함하여야 한다는 주장도 있다¹⁵⁾.

따라서, 유방암에 있어 골수미세전이세포의 발견은 불량 예후 인자로 인정될 수 있으나, 독립된 예후인자로서의 의미를 가지기 위해서는 향후 표준화된 방법을 통해 검증해야 할 것으로 사료된다.

결론

유방암에 있어 골수미세전이세포가 있는 경우는 원격전이, 특히 골전이의 빈도가 높고 평균 생존률 및 무병생존율이 낮은 것으로 보아 예후가 나쁜 것으로 조사되었으나, 독립된 예후 인자로서의 의미를 가지기 위해서는 향후 표준화된 방법을 통해 검증되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

- 1) Leone BA, Romero A, Rabinovich MG, Vallejo CT, et al: Stage IV breast cancer: Clinical course and survival of patients with osseous versus extraosseous metastases at initial diagnosis. The GOCS (Grupo Oncologico Cooperativo del sur) experience. *Am J Clin Oncol*, 11:618-622, 1988
- 2) Rosen PR, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, et al: A long-term follow-up study of survival in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma. *J Clin Oncol* 7:355-366, 1989
- 3) Coleman RE, Rubens RD: The clinical course of bone metastases from breast cancer. *Br J cancer* 55:61-6, 1987
- 4) Harris JR, Hellman S, Henderson IC, Kinne DW: *Breast Diseases*. 1st ed, Lippincott, Philadelphia 1987, p135
- 5) Haagensen CD: *The disease of the breast*. 2nd ed, WD saunders, Philadelphia, 1971, p380.
- 6) Ridell B, Landys K: Incidence and histopathology of metastasis of mammary carcinoma in biopsies from the posterior iliac crest. *Cancer* 44(5):1782-1788, 1979
- 7) Coombes RC, Dearnaley DP, Buckman R, Jones JM, et al: Detection of bone metastasis in patients with breast cancer. *Invasion Metastasis* 2(3):177-184, 1982
- 8) Sloane JP, Ormerod MG, Neville AM: Potential pathological application of immunocytochemical methods to the detection of micrometastases. *Cancer*

- Res 40:3079-3082, 1980
- 9) Höchtlen-Vollmar W, Gruber R, Bodenmüller H, Felber E, et al: Occult epithelial cells detected in bone marrow by an enzyme immunoassay specific for cytokeratin 19. *Int J Cancer* 70:396-400, 1997
- 10) Little VR, Warren RS, Moore D 2nd, Pallavicini MG: Molecular cytogenetic analysis of cytokeratin 20-labelled cells in primary tumors and bone marrow aspirates from colorectal carcinoma patients. *Cancer* 79:1664-1670, 1997
- 11) Berger U, Bettelheim R, Mansi JL: The relationship between micrometastases in the bone marrow, histopathologic feature of the primary tumor in breast cancer and prognosis. *Am J Pathol* 90:1-6, 1988
- 12) Cote RJ, Rosen, Lesser M: Prediction of early relapse in patients with operable breast cancer by detection of occult bone marrow micrometastases. *J Clin Oncol* 9:1749-1756, 1991
- 13) Diel IJ, Kaufmann M, Costa SD, Holle R, et al: Micrometastatic breast cancer cells in bone marrow at primary surgery: Prognostic value in comparison with nodal status. *J Natl Cancer Inst* 88:1652-1664, 1996
- 14) Mansi JL, Easton D, Berger U: Bone marrow micrometastases in primary breast cancer: Prognostic significance after 6 years' follow-up. *Eur J cancer* 27:1552-1555, 1991
- 15) Hermanek P: pTNM and residual tumor classifications: problems of assessment and prognostic significance. *World J Surg* 19:184-190, 1995
- 16) Cote RJ, Rosen PP, Hakes TB: Monoclonal antibodies detect occult breast carcinoma metastases in the bone marrow of patients with early stage disease. *Am J Surg Pathol* 12:333-340, 1988
- 17) Chung JS, Lee SJ, Kwun KB: Immunofluorescent monoclonal antibody (AE1/AE3) detection of bone marrow micrometastasis with primary breast cancer. *J Kor Cancer Assoc* 25(6):912-919, 1993
- 18) Lee SJ, Kwun KB: Immunofluorescent monoclonal antibody (AE1/AE3) detection of MCF-7 human breast cancer cells. *J Kor Sur Assoc* 44(4):497-507, 1993
- 19) Ilona Funke, Winfried S: Meta-analysis of studies on bone marrow micrometastases: an independent prognostic impact remains to be sustained. *J Clin Oncol* 16:557-566, 1998
- 20) Menard S, Squicciarini P, Luini A, Salvadori B, et al: Immunodetection of bone marrow micrometastases in breast carcinoma patients and its correlation with primary tumor prognostic features. *Br J cancer* 69:1126-1129, 1994
- 21) Cooper D, Schermer A, Sun TT: Classification of human epithelia and their neoplasia using monoclonal antibodies to keratins: Strategies, Applications, and limitations. *Lab invest* 52(3):243-256, 1985
- 22) Porro G, Menard S, Tagliabue E, Salvadori B, et al: Monoclonal antibody detection of carcinoma cell in bone marrow biopsy specimens from breast cancer patients. *Cancer* 61:2407-2411, 1988
- 23) Stephen B. fox, Leek RD, Bliss J, Mansi JL, et al: Association of angiogenesis with bone marrow micrometastases in breast cancer patients. *Joun Nat cancer ins.* 16:89(14):1044-1049, 1997
- 24) Hay FG, Ford A, Leonard RCF: Clinical application of immunocytochemistry in the monitoring of the bone marrow in small cell lung cancer (SCLC). *Int J Cancer* 2:8-10, 1998
- 25) Leonard RCF, Duncn LW, Hay FG: Immunocytological detection of residual marrow disease at clinical remission predicts metastatic relapse in small cell lung cancer. *Cancer Res* 50:6545-6548, 1990